



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

TENTO PROJEKT JE SPOLUFINANCOVÁN EVROPSKÝM SOCIÁLNÍM FONDEM
A STÁTNÍM ROZPOČTEM ČESKÉ REPUBLIKY

C9045 - Biologie kvasinek



Hustopeče u Břeclavi



doc. Jan Paleček
jpalecek@sci.muni.cz
(garant – A2, 214)



prof. Augustin Svoboda

O čem se dozvíte?

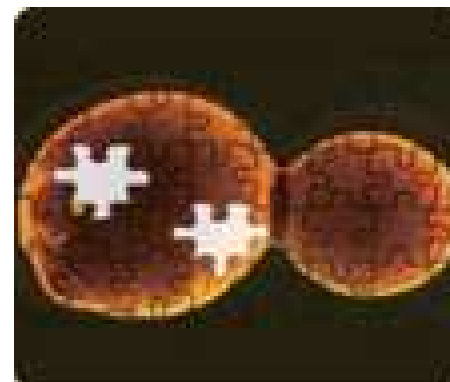
- Význam – výskyt, využití, výzkum ...
- Mikrobiologie - základní charakteristiky
- *Biotechnologie - metody*
- Genetika - metody
- Klinické aspekty – patogenní kmeny
- Buněčná biologie – buněčná stěna ...
- Molekulární biologie – buněčný cyklus, transkripce, chromosomy, evoluce

Rozvrh přednášek

08.10.2020	8-9.30hod	MS Teams	Doc. Paleček	Úvod – historie, význam
15.10.2020				
22.10.2020	8-9.30hod	MS Teams	Doc. Paleček	Základní charakteristiky kvasinek
29.10.2020	8-9.30hod	MS Teams	Doc. Paleček	Diagnostické a molekulárně biologické metody
05.11.2020	8-9.30hod	MS Teams	Doc. Paleček	Genetika kvasinkových organismů
12.11.2020	8-9.30hod	MS Teams	Dr. Špirek	Mitochondrie
19.11.2020	8-9.30hod	MS Teams	Doc. Paleček	Morfologie a buněčný cyklus, párovací proces,
26.11.2020	8-9.30hod	MS Teams	Doc. Paleček	Regulace transkripce, 1-2-3 hybridní systémy, reporter systémy
03.12.2020	8-9.30hod	MS Teams	prof. Svoboda	Protoplasty kvasinek jako modelový objekt
10.12.2020	8-9.30hod	MS Teams	prof. Svoboda	Struktura kvasinkové buňky, sekreční dráhy a endocytóza
17.12.2020	8-9.30hod	MS Teams	prof. Svoboda	Patogenní kvasinky, morfologická charakteristika, medicínské aspekty
07.01.2021	8-9.30hod	MS Teams	Doc. Paleček	Organizace genomu a evoluce kvasinek
14.01.2021	8-12hod	A7-2.17	Svoboda+Paleček	Cvičení k přednáškám
21.01.2021	9-12hod	A2-2.11	Doc. Paleček	test + předtermín zkoušky

Přednášky – nahrávat + PDF na IS po přednášce
Cvičení – blokově
2 termíny zkoušení
(na čem studenti pracují?)

test a přednáška



Osnova 1. přednášky

- Úvod
- Kvasinky – historie
- Výskyt a přenos
- Vztah k lidskému zdraví
- Význam pro biotechnologie a výzkum



Hustopeče u Břeclavi

Informační zdroje

Janderová & Bendová: Úvod do biologie kvasinek, nakladatelství Karolinum (1999)

Hinnebusch & kol: YeastBook ([An Encyclopedia of the Reference Eukaryotic Cell](#), 2012-2016, Genetics: <http://www.genetics.org/content/yeastbook>)

F. Sherman: Getting started with yeast, *Methods Enzymol.* **350**, 3-41 (2002):

... nejnovější články z časopisů Cell, Nature, Science, PNAS ... vždy uvedeny na stránce

SGD databáze: <http://www.yeastgenome.org/>
[http://wiki.yeastgenome.org/index.php/Commonly used strains](http://wiki.yeastgenome.org/index.php/Commonly_used_strains)

Community Information - Windows Internet Explorer

http://www.yeastgenome.org/ComContents.shtml

Search

Community Info | Submit Data | BLAST | Primers | PatMatch | Gene/Seq Resources | Advanced Search | Community Wiki

Community Info [Help](#)

Search Options
Advanced Search, YeastMine, Full-text Search (Textpresso), Search SGD web pages, Global Gene Hunter, Search Literature, and more.

Help Resources
Getting Started, Sitemap, FAQ, and more.

Analysis & Tools
BLAST, GBrowse, Gene/Seq Resources, YeastMine, Maps, and more.

Homology & Comparisons
PDB Homologs, Protein Domains/Motifs, Homologs, and more.

Function & Expression
Protein Info, Pathways, Expression Analysis (SPELL), and more.

Search SGD Colleagues
Use the 'Colleague' Option in the Category Search to search SGD for yeast colleagues

Yeast Laboratories
Links to PIs of yeast laboratories

Colleague Submission/Update
Add or update your information in SGD

Biosci Yeast Archives
Search the Yeast Biosci Newsgroup

Community wiki
Community-edited information about *S. cerevisiae* genes, gene products, and resources

Career Resources

Cherry et al., NAR, 2012

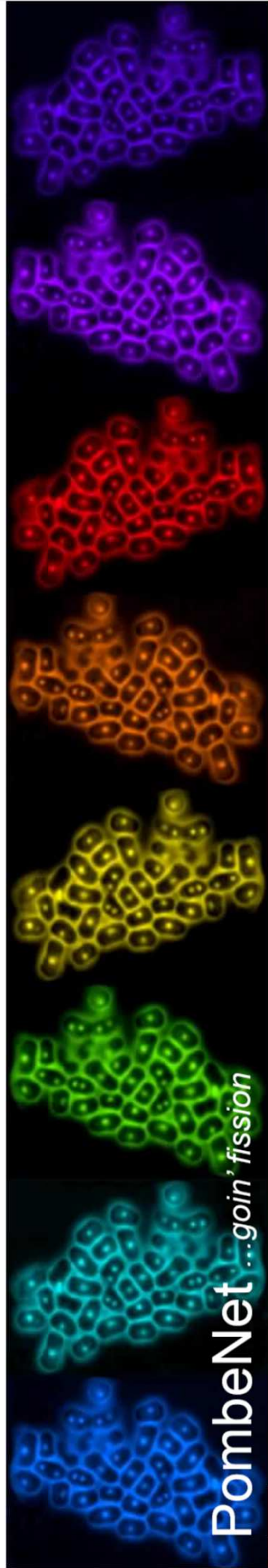
smc5 / SPAC14C4.02c details

smc5 summary			
GO molecular function	smc5	Characterisation status	published
GO biological process	Smc5-6 complex SMC P-loop ATPase subunit Smc5	Feature type	protein coding
GO cellular component	SPAC14C4.02c	Product size	1076 aa, 124.26 kDa
Single allele phenotype			



USC Dornsife

Dana and David Dornsife
College of Letters, Arts and Sciences



bählerlab

Genome Regulation

Search UCLCS UCL Home ▸ Research Department of Genetics, Evolution and Environment ▸ BählerLab Genome Regulation ▸ Home

- Home
- People
- Research Publications
- Resources
- Contact



The Bähler laboratory studies cellular quiescence, ageing and long non-coding RNA function using fission yeast and Turquoise Killfish as model systems. We apply diverse genetic, cellular, and systems-level approaches to analyse the regulation and evolution of genomes, complex ageing-associated processes, and relationships between genotype, phenotype and environment.

We are at **University College London** in the **Institute of Healthy Ageing** of the **Research Department of Genetics, Evolution & Environment**. We are also associated with the **UCL Cancer Institute**, the **UCL Genetics Institute**, and the **Institute of Structural and Molecular Biology**. Our research is mainly funded by a **Wellcome Trust Senior Investigator Award**, **BBSRC Project grants**, and a **Cancer Research UK Pioneer Award**.

Selected Publications:

Kanrad S, Grossbach J, Rodriguez-Lopez M, Townsend SD, Müllerer N, Cappelletti V, Stojanowski G, Plochl P, Beyer A, Raiser M, Bähler J (2020). Pyruvate kinase variant of fission yeast reprograms energy metabolism triggering systemic changes in cell regulation, growth and stress resistance. *Molecular Systems Biology* 16, e9270

Ellis DA, Mustonen V, Rodriguez-Lopez M, Rallis C, Malecki M, Jeffares DC, Bähler J (2019). Uncovering natural longevity alleles from intercrossed pools of aging fission yeast cells. *Genetics* 210, 733

Ahkinson SR*, Marguerat S*, Bitton DA*, Rodriguez-Lopez M, Rallis C, Lemay J-F, Cotobal C, Malecki M, Mata J, Bachand F, Bähler J (2018). Long noncoding RNA repertoire and targeting by nuclear exosome, cytoplasmic exonuclease, and RNAi in fission yeast. *RNA* 24, 1195

Malecki M, Bitton DA, Rodriguez-Lopez M, Rallis C, Garcia Calavia N, Smith GC, Bähler J (2016). Functional and regulatory profiling of energy metabolism in fission yeast. *Genome Biology* 17, 240

Jeffares DC, Rallis C et al. (2015). The genomic and phenotypic diversity of *Schizosaccharomyces pombe*. *Nature Genetics* 47, 235-241

Marguerat S, Schmidt A, Codlin S, Chen W, Abersold R, Bähler J (2012). Quantitative analysis of fission yeast transcriptomes and proteomes in proliferating and quiescent cells. *Cell* 151, 671-683

Wilhelm BT, Marguerat S, Watt S, Schubert F, Wood V, Goodhead J, Penkett C, Rogers J, Bähler J (2009). Dynamic repertoire of a eukaryotic transcriptome surveyed at single-nucleotide resolution. *Nature* 453, 1239-1243

MLP1 (YKR095W) Interaction Summary | BioGRID - Windows Internet Explorer

home help wiki tools contribute statistics downloads partners about us | Gene / Identifier Search

MLP1 (YKR095W) Interaction Summary | BioGRID - Windows Internet Explorer

Switch View: Summary Sortable Table 18 PTM Sites

Displaying 101 total unique interactors

9 1 [details]

NAB2 | YGL122C
Nuclear polyadenylated RNA-binding protein required for nuclear mRNA export and poly(A) tail length control; binds nuclear pore protein Mlp1p; autoregulates mRNA levels; related to human hnRNPs; nuclear localization sequence binds Kap104p

Experimental Evidence Code	Role	Publication	Throughput	Notes
Affinity Capture-MS	BAIT	Carmody SR (2010)	High Throughput	
Affinity Capture-RNA	BAIT	Batisse J (2009)	High Throughput	
Affinity Capture-Western	BAIT HIT BAIT	Green DM (2003) Vindiguerra P (2005) Batisse J (2009)	Low Throughput Low Throughput Low Throughput	
Reconstituted Complex	BAIT BAIT/HIT	Grant RP (2008) Fasken ME (2008)	Low Throughput Low Throughput	
Two-hybrid	BAIT HIT	Green DM (2003) Grant RP (2008)	Low Throughput Low Throughput	
Synthetic Rescue	BAIT	Vindiguerra P (2005)	Low Throughput	

1 5 [details]

MLP2 | YIL149C
Myosin-like protein associated with the nuclear envelope; connects the nuclear pore complex with the nuclear interior; involved in the Tel1p pathway that controls telomere length

2 2 [details]

YRA1 | YDR381W, SHE11
RNA binding protein required for export of poly(A)+ mRNA from the nucleus; proposed to couple mRNA export with 3-prime end processing via its interactions with Mex67p and Pcf11p; functionally redundant with Yra2p; another REF family member

Témata symposií a workshopů

Regulation of Gene Expression

RNA processing and regulation

Metabolism and stress response

Organelle dynamics

Cellular strategies of protein quality control

DNA replication, mutation and repair

Cell cycle, cytoskeleton and morphogenesis

Modern yeast biotechnology

New tools in yeast research - omics

Yeast population, comparative and evolutionary genomics

Systems biology and bioinformatics

Proteostasis, ageing and disease models

Yeast pathogens and host interaction



28th International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology (ICYGMB)

August 27 - September 1, 2017

Prague, Czech Republic



Kvasinkáři

- Brno – prof. Svoboda, ... doc. Paleček
- Praha – prof. Pálková, Dr. Hašek, Dr. Valášek ...
- SR - Bratislava – prof. Tomáška, prof. Nosek ...
- UK – prof. Nurse, Dr. Bahler, prof. Carr ...
- USA – prof. Schekman, prof. Forsburg ...

Pombelist Subscribers - Windows Internet Explorer

http://listserver.ebi.ac.uk/mailman/roster/pombelist

Soubor Úpravy Zobrazit Obíbené položky Nástroje Nápověda

Obíbené položky Program Proglasu hodinu za... Navrhované weby desktop.ini Free Hotmail Galerie oblastí Web Slice Lenovo _eská republika Novorozenecká _loutenka ... Navrhované weby

Nesmrt... Genom... O2 | 5... Teatro... Jethro... Zážna... The Lo... Biomol... E2 con... Po... x Nová z...

Stránka Zabezpečení Nástroje

Pombelist Subscribers

View this page in English (USA)

Click on your address to visit your subscription options page.
(Parenthesized entries have list delivery disabled.)

859 Non-digested Members of Pombelist:	289 Digested Members of Pombelist:
---	---

- [a.bianchi at sussex.ac.uk](mailto:a.bianchi@sussex.ac.uk)
- [136197 at mail.muni.cz](mailto:136197@mail.muni.cz)

... trochu (pre)historie

- přirozeně v prostředí mohou fermentovat sladké šťávy (např. nektar ...)
- lidé vyráběli nápoje podobné dnešnímu pivu a vínu již před ~9000 lety (Čína), chleba před ~4000 lety
- ve středověku v Evropě kvasily slad – název yeast pochází z německého *Gischt*/holandského *Gist* (název pro pěnu na povrchu kvasných produktů – „Ale“ se *svrchním kvašením* - používaná pro re-inokulaci nového kvašení)
- v Čechách se vařilo pivo od 9.století (kníže Václav zakázal vývoz chmelu pod trestem smrti)
- roku 1516 v Bavorsku poprvé definovali co a kdy se smí použít pro vaření piva (ječmen, voda a chmel – v období od 29.9. do 23.4. kvasinky brali jako vedlejší produkt)
- v letním období skladováno v jeskyních na ledu (skladování a chladné prostředí – kvasinky pro „Lager“ se *spodním kvašením*)

dle NGS
původem z Číny



Lager – *Saccharomyces
pastorianus*

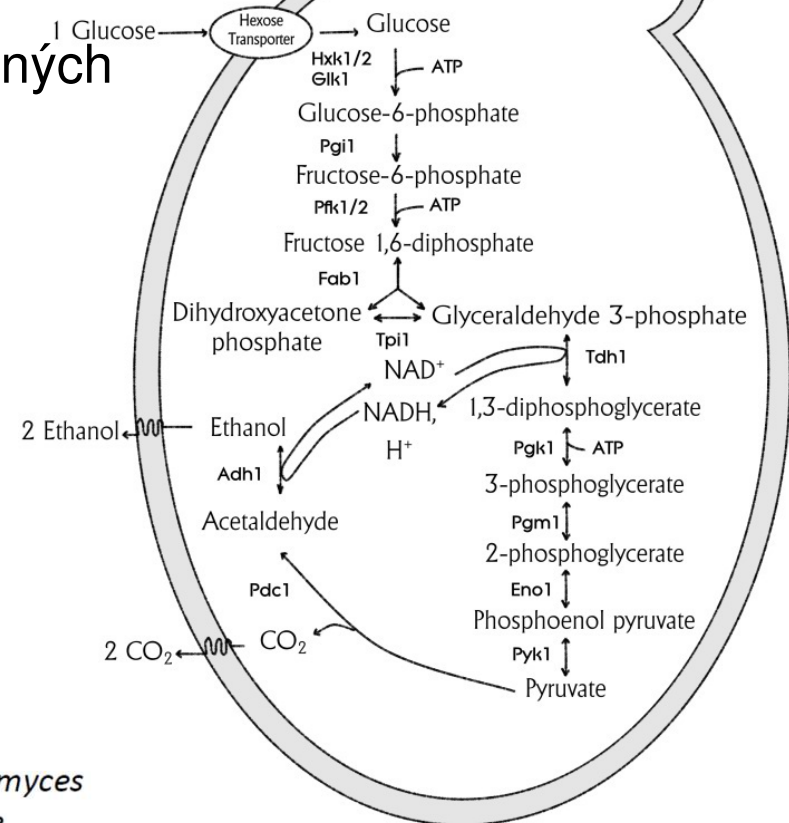
Monerawela a Bond, Biotech Adv, 2017



... trochu (experimentální) historie



- poprvé kvasinky pozoroval A. van Leeuwenhoek v roce 1680
- L. Pasteur prokázal aktivní účast při kvašení (polovina 19. století) – řešil problém francouzských vinařů s „kažením vína“ – zjistil, že k fermentaci dochází za anaerobních podmínek (Pasteurův efekt – lepší růst)
- název Zuckerpilz („cukerná houba“) tj. *Saccharomyces* od roku 1837 (Schwann)
- první čisté kultury *S. pastorianus* izolovány z piva (E.Ch.Hansen, Carlsberg) a *S.c.* z vína (Muller-Thorgau) v 80. letech 19. století (*cerevisiae* = pivo v latině, *pombe* = pivo ve swahili)
- Buchner připravil roku 1897 šťávu z rozdrcených kvasnic, prostou buněk (cukr byl touto „šťávou“ zkvašován – *zymáza* – základy oboru **biochemie**) – Nobelova cena (1907)
- Harden zkoumal enzymy účastnící se procesu kvašení a v roce 1906 objevil i nebílkovinné složky kozymázy tzv. koenzymy



Lager – *Saccharomyces pastorianus*

Monerawela a Bond, Biotech Adv, 2017



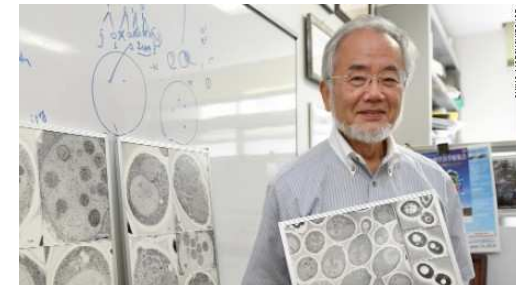
Ale – *Saccharomyces cerevisiae*

... trochu (vědecké) historie

- první systém pro klasifikaci (patogenních) kvasinek, založený na morfologii buněk a několika fyziologických testech (fermentace monosacharidů) vytvořil A. Guilliermond v roce 1912
- v Československu prof. Kratochvilová ...
- v 70. letech 20. století se začaly kvasinky využívat jako modelový eukaryotický organismus v molekulární biologii (navazoval na výzkum bakterií a bakteriofágů)
- nejintenzivněji studovanou eukaryotní buňkou byly kvasinky *S.cerevisiae* (USA) a *S. pombe* (UK, Japonsko)
- Nobelova cena: za výzkum buněčného cyklu - 2001 – **Hartwell**, Hunt, **Nurse**; za sekreci – 2013 – **Schekman**, za autofagii – 2016 – **Ohsumi**)
- *S. cerevisiae* první kompletně osekvenovaný eukaryotní genom (1996, *S. pombe*, 2002; v současnosti osekvenovány desítky druhů a stovky kmenů kvasinek)
- v současnosti několik set laboratoří na světě využívá *S. pombe* ...



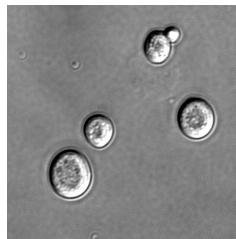
Fantes a Hoffman, Genetics, 2016



- savci pili alkoholický nektar miliony let



- *Tana pestroocasá* pije fermentovaný nektar z květu Bertramovy palmy
- dlouhodobá konzumace fermentovaných šťáv vedla k evoluční adaptaci tohoto savce – zvýšená exprese alkoholdehydrogenázy
- autoři spekulují o vlivu takovýchto přírodních alkoholických nápojů na evoluci ... nastavení hladiny ADH u člověka ;-)



- kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* aj. rostou na substrátech bohatých na cukr
- kvasinky fermentují sladký nektar z Bertramovy palmy



Přirozený výskyt

- **ve vodě** (dle čistoty – moře 10/l, jezera 100/l, odpadní až 10^8 /l; v arktických vodách *Leucosporidium*, v odpadních vodách *Candida parapsilosis*, *S. exiguus*, fekální znečištění indikuje *Hansenula anomala*, *C. albicans*, v olejem znečištěných vodách *Candida (Yarrowia) lipolytica*, *C. tropicalis*, v planktonu v závislosti na řasách např. *Rhodotorula*)
- **v půdě** (mnohem méně než bakterií, do 15cm hloubky – *Schwanniomyces*, *Lipomyces*, *Pichia*, *Cryptococcus*, schopny hydrolyticky štěpit celobiosu, lignin nebo produkty bakteriálního metabolismu)

-
- naproti tomu v Antarktidě jsou dominantní (méně bakterií)
 - výzkum v letech 2003-4: Izolovány 2x asco- a 16x basidiomyceta (7x nové druhy)

Conell et al., Microb Ecol 56 (2008)

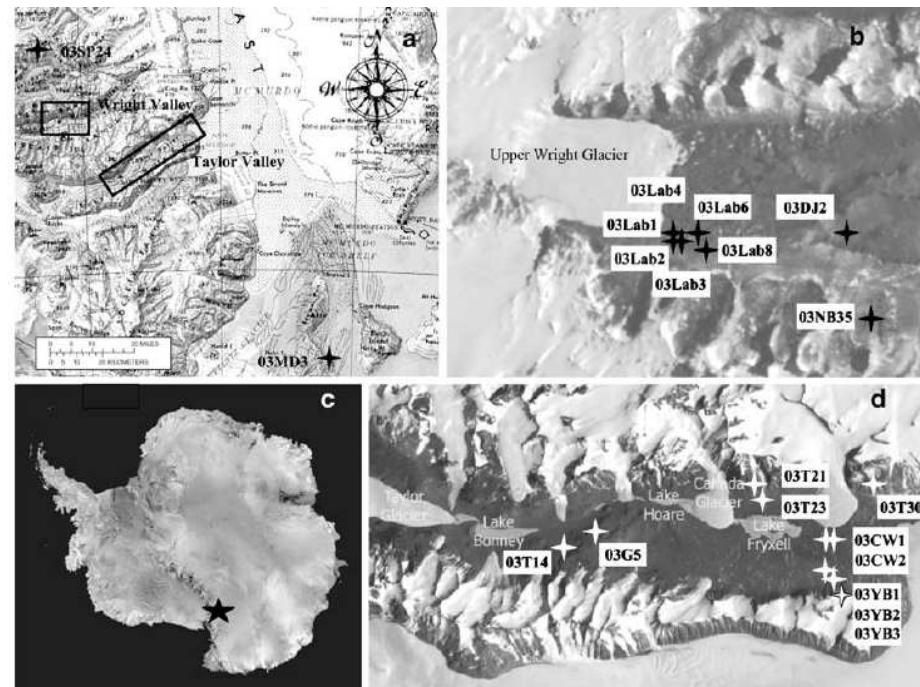


Figure 1 Sample site locations in South Victoria Land, Antarctica (2003–2004). Sites are identified by stars and labels. The entire study area with specific sites 03SP24 and 03MD3 is shown in (a). Sites in Wright

Valley are shown in (b) and Taylor Valley in (d). The location of the study area on the Antarctic continent is indicated with a star in (c)

Table 2 Species isolated from Southern Victoria Land soil

Species	Site isolated	Isolate number	GenBank accession	Closest match	Percent match
<i>Clavispora lusitaniae</i> ^a	03YB2	CBS 10625	EU149777	AY321475	99
<i>Cryptococcus nyarrowii</i>	03T21	CBS 10614	EU149778	AF400697	100
	03T23	CBS 10632	EU149780		
	03YB2	CBS 10740	DQ402536		
	03YB2	ANT 03-028	EU149779		
<i>Cryptococcus saitoi</i>	03DJI	CBS 10631	EU149783	AF444372	99
	03Lab1	CBS 10628	EU149782		
	03Lab2	CBS 10630	DQ402537		
	03Lab6	CBS 10618	EU149781		
* <i>Cryptococcus</i> sp 1	03YB1	ANT 03-149	EU149784	AB035045	94
<i>Cryptococcus carnescens</i>	03 G5	CBS 10755	EU149786	AB035050	99
	03CW1	CBS 10634	EU149785		
<i>Cryptococcus albidosimilis</i>	03Lab8	CBS 10619	EU149787	AF145325	100
<i>Cryptococcus vishniacii</i>	03Lab3	CBS 10616	EU149788	AF145320	100
<i>Debaryomyces hansenii</i> ^a	03Lab1	CBS 10629	EU149790	EF222227	100
	03Lab4	CBS 10751	EU149791		
	03T23	CBS 10686	EU149789		
* <i>Dioszegia</i> sp 1	03CW2	CBS 10623	EU149792	AB049613	95
	03YB1	ANT 03-101	EU149793		
* <i>Dioszegia</i> sp	2 03CW2	CBS 10637	EU149798	AF444379	91
* <i>Leucosporidium</i> sp 1	03MD3	CBS 10633	EU149802	AF444529	87
	03T14	CBS 10684	EU149803		
	03T30	CBS 10641	EU149804		
* <i>Leucosporidium</i> sp 2	03MD3	CBS 10638	EU149805	AF444529	96
	03CW1	CBs 10639	EU149806		
* <i>Leucosporidium</i> sp 3	03MD3	CBS 10620	EU149807	AF444529	85
* <i>Leucosporidium</i> sp 4	03MD3	CBS 10636	EU149808	AF444529	97
	03YB2	CBS 10640	EU149809		
<i>Mrakia stokesii</i>	03T30	CBS 10622	EU149810	AF144486	100
<i>Rhodosporidium kratochvilovae</i>	03Lab6	CBS 10617	DQ402534	AF444520	100
<i>Rhodotorula laryngis</i>	03T23	CBS 10621	EU149811	AF444617	98
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	03NB35	CBS 10685	DQ402533	AF444635	99
	03SP24	CBS 10752	EU149812		

Representative isolates with ITS GenBank accession numbers are listed. Isolates currently in the CBS collection are noted using the CBS accession number. The accession number of the closest match to described species listed in GenBank are shown

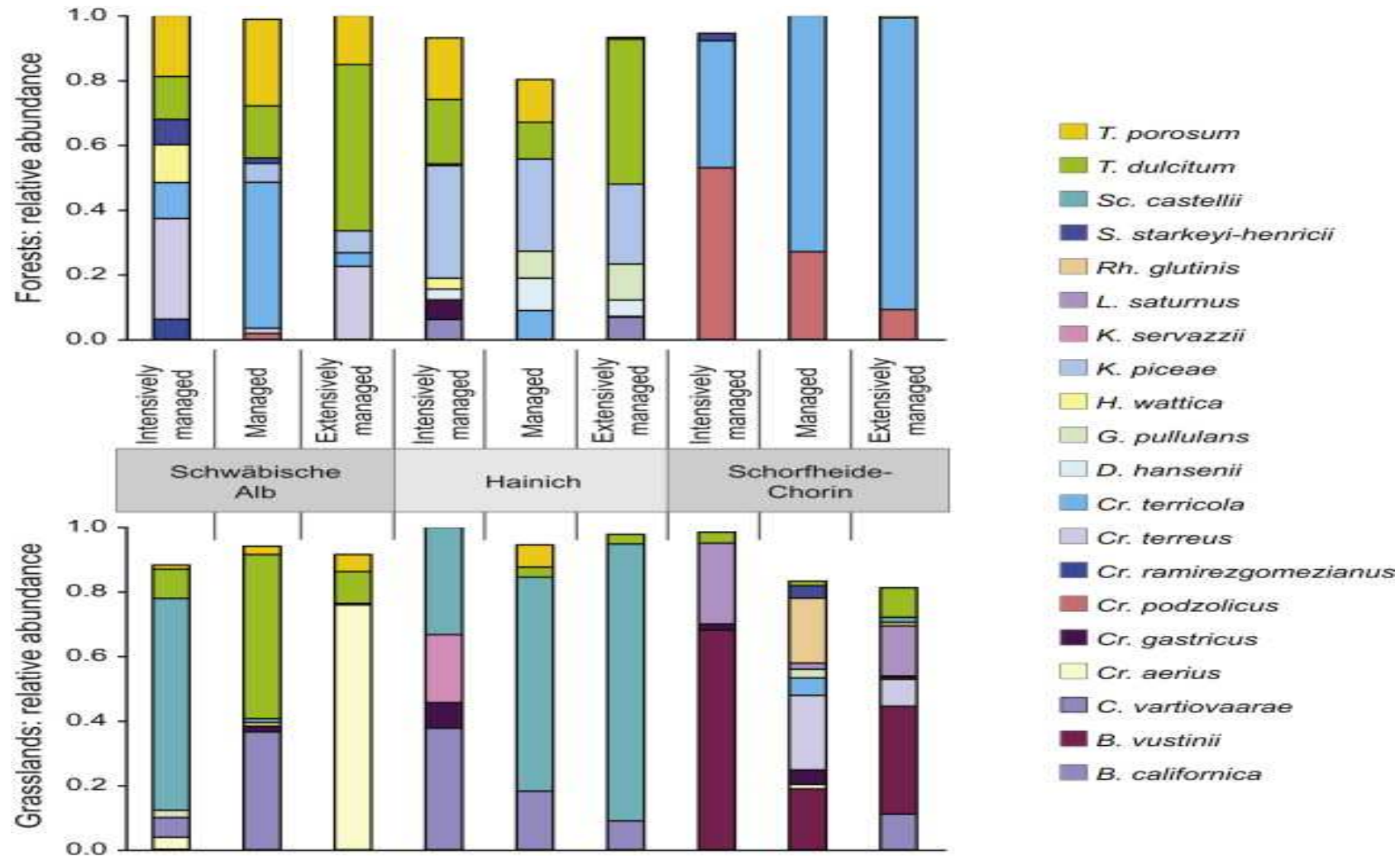
^aMembers of Ascomycota

* Nově objevené kvasinkové druhy

Půda a kvasinky

- Typ vegetace → složení půdních mikrobiálních komunit
- Kvasinky jsou kosmopolitní (většinou autochtonní, kromě kmenů výrobních)
- Množství a druhové složení kvasinek v půdách je nerovnoměrné (více v asociaci s rostlinami) – ovlivňuje mnoho faktorů
- Nejsou primárními degradátory těžko rozložitelných látek (lignocelulóza), ale degradátoři meziproductů rozkladu rostlinného materiálu (aerobní rozklad L-arabinózy, D-xylózy, celobiózy)
- Transformace živin
 - Koloběhy C, N, S, P v ekosystému
 - Aerobní respirace i fermentace živin
 - Nitrifikace = přeměna amoniaku na dusičnany (rody *Candida*, *Geotrichum*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Williopsis*)
 - Sulfurikace = oxidace síry na sírany, thiosírany (rody *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Williopsis*)
 - Rozpouštění těžko rozložitelných fosforečnanů (rody *Rhodotorula* a *Williopsis*) → podporuje růst rostlin



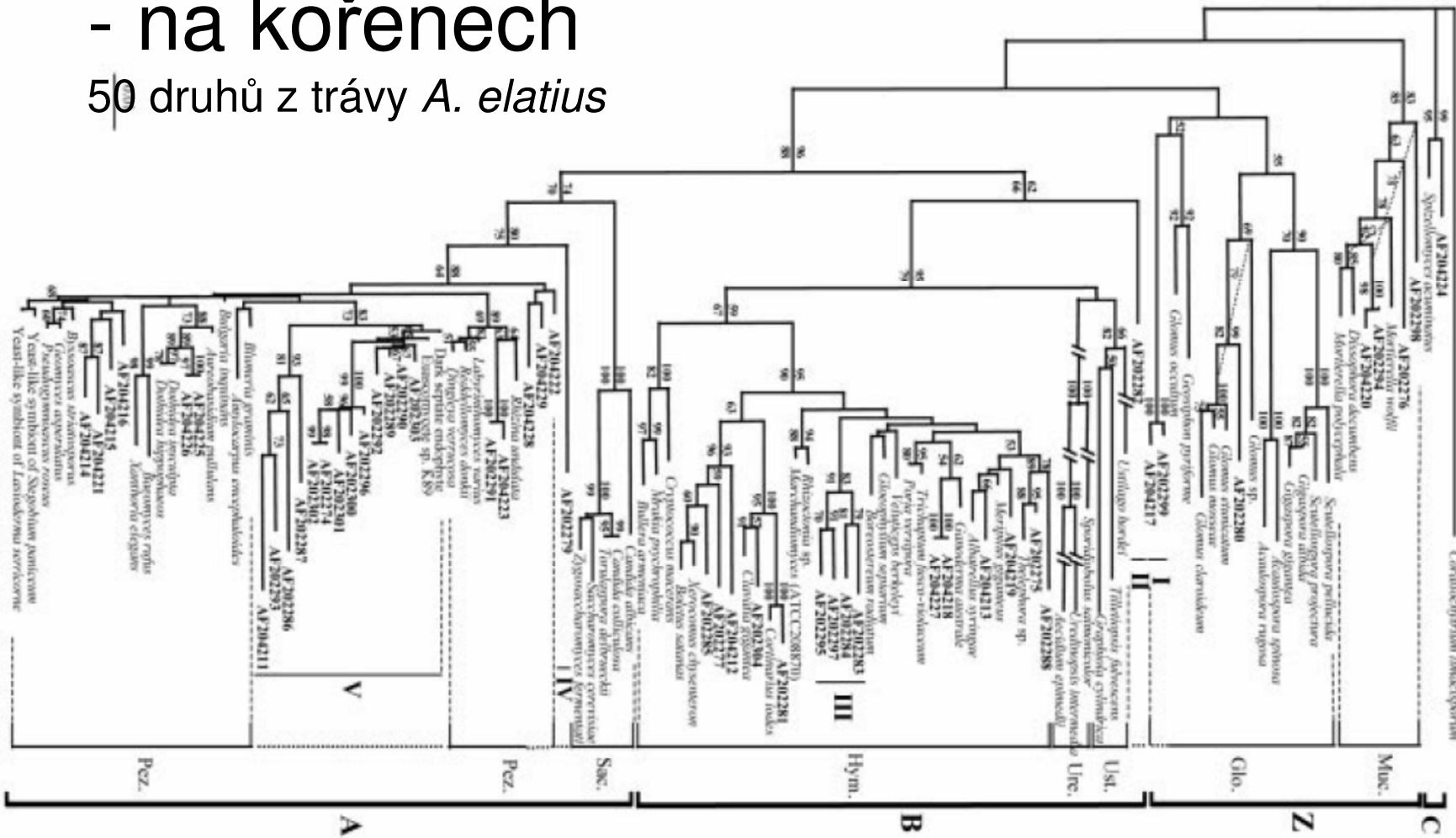


- Nerovnoměrné (komplexní) rozložení kvasinek
- Pokryv půdy má velký vliv na diverzitu a množství půdních kvasinek (lesy x pastviny), stejně tak i lidská činnost (oblasti zemědělsky a lesnický využívané x přirozené)

Rostliny a kvasinky

- na listech rostlin, květech (nektar palmy Bertramové ... červené kvasinky rodu *Rhodotorula*, *Rhodosporeidium*, *Sporobolomyces*, černá *Aureobasidium pullulans*,)

- na kořenech
50 druhů z trávy *A. elatius*



Rostliny a kvasinky

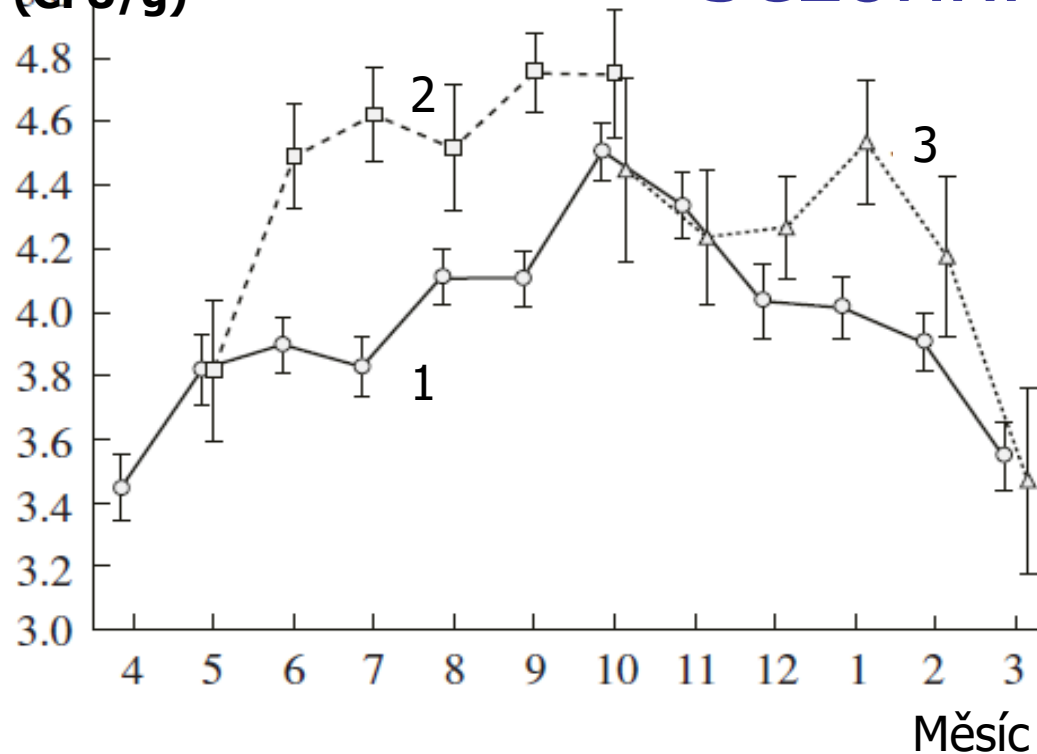
- především na kazících se plodech

(na spadlých rozkládajících se plodech ... schopny hydrolyticky štěpit celobiosu, lignin nebo produkty bakteriálního metabolismu - zahrávající kaktusy => pektolytické bakterie => kvasinky *Pichia cactophila*, *P. opuntiae* => přenos a výživa drosofila)



Sezónní dynamika kvasinek

Počet kvasinek, log (CFU/g)



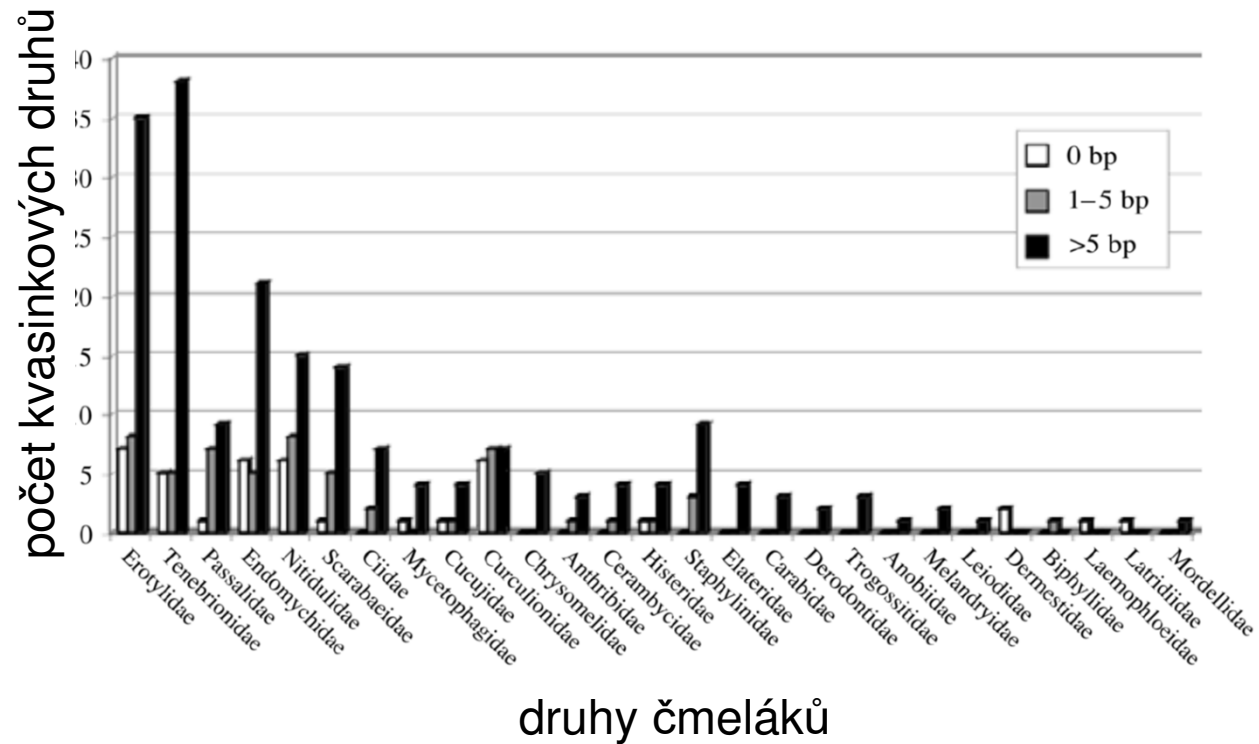
1 – listy
2 – květy
3 – hrabanka

Glushakova & Chernov, Microbiology, 2007

- Rozpouštění nerozpustné fosforečnany ... → podpora růstu kořenů (stimulátory růstu a biohnojiva)
- Symbionti nebo paraziti
- Interakce s houbami
 - Exocelulární polymery (glykolipidy, glykoproteiny) s fungicidními a fungistatickými účinky
 - Extracelulární enzymy (glukanázy)
 - Mykociny (proteiny)

Hmyz a kvasinky

- přenášeny hmyzem (opylovači) - včely, brouci, mouchy



Hmyz a kvasinky

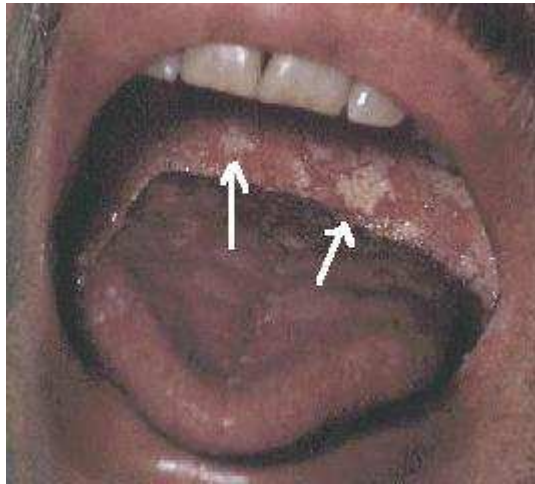
- kvasinky ve střevě mouchy *Drosophila* ...
- askus chrání spory během průchodu trávicím traktem, ale zároveň dochází k částečnému natrávení enzymy, čímž se usnadňuje kontakt mezi nepříbuznými gametami
- bylo zjištěno, že průchod trávicím traktem 10x zvyšuje frekvenci sexuálního rozmnožování s nepříbuznými gametami
- hypotéza: hmyz slouží jako vektor umožňující kvasinkám osidlovat nová prostředí, přičemž zvýšená rekombinace zvyšuje šance na přežití a adaptaci na ně

Sandhu & Waraich, Microb. Ecol., 1985



Kvasinky a savci

- *Tana pestroocasá* pije fermentovaný nektar z květu Bertramovy palmy ...
- i člověku se dostávají kvasinky do trávicího traktu např. při konzumaci burčáku, nefiltrované pivo ... neškodné pro zdravé jedince (! ale co pro imunokompromitované jedince?)



- nejčastěji je z gastrointestinálního traktu izolována *C. albicans* (*C. dubliensis*)
- kvasinky tvoří jen malou část stálé mikroflóry ve střevě - méně než 0,1 % mikroflóry
- kůže, ústní dutina, sputum, vaginální sekrety, výtěry z ušního kanálu, moč, stolice ...

Patogenní kvasinky

-cca15 druhů je potenciálními lidskými patogeny (vyvolávají onemocnění u oslabeného organismu – imunopresiva, cukrovka ... významným faktorem virulence je schopnost tvorby biofilmu - antibiotika na eukaryota nezabírají)

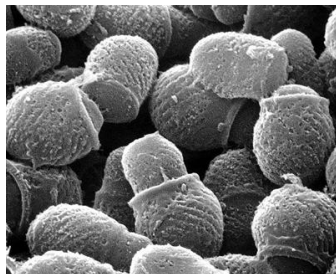
-**Kandidózy** (*C. albicans*, *dublinskiensis*, *krusei*, *tropicalis*, *parapsilosis*, *glabrata*, *utilis*, *lipolytica*)

-*Candida albicans* – urogenitální a krevní infekce (vyskytuje se u člověka přirozeně)

-*Cryptococcus neoformans* – 8% AIDS pacientů – plicní onemocnění až do mozku - (přenáší švábi a holubi – kreatinin z trusu používají jako zdroj dusíku)

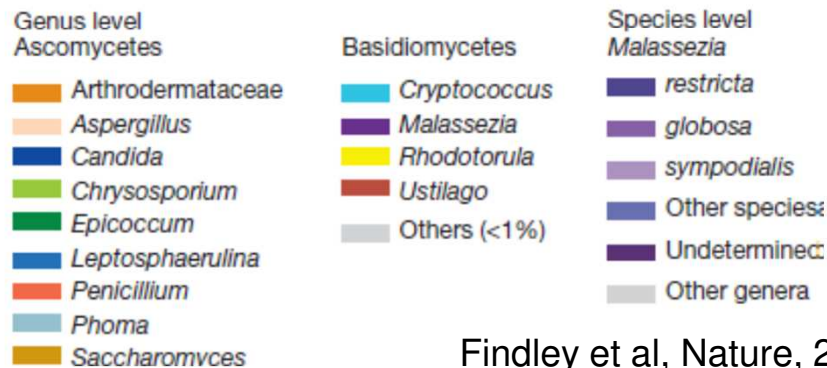
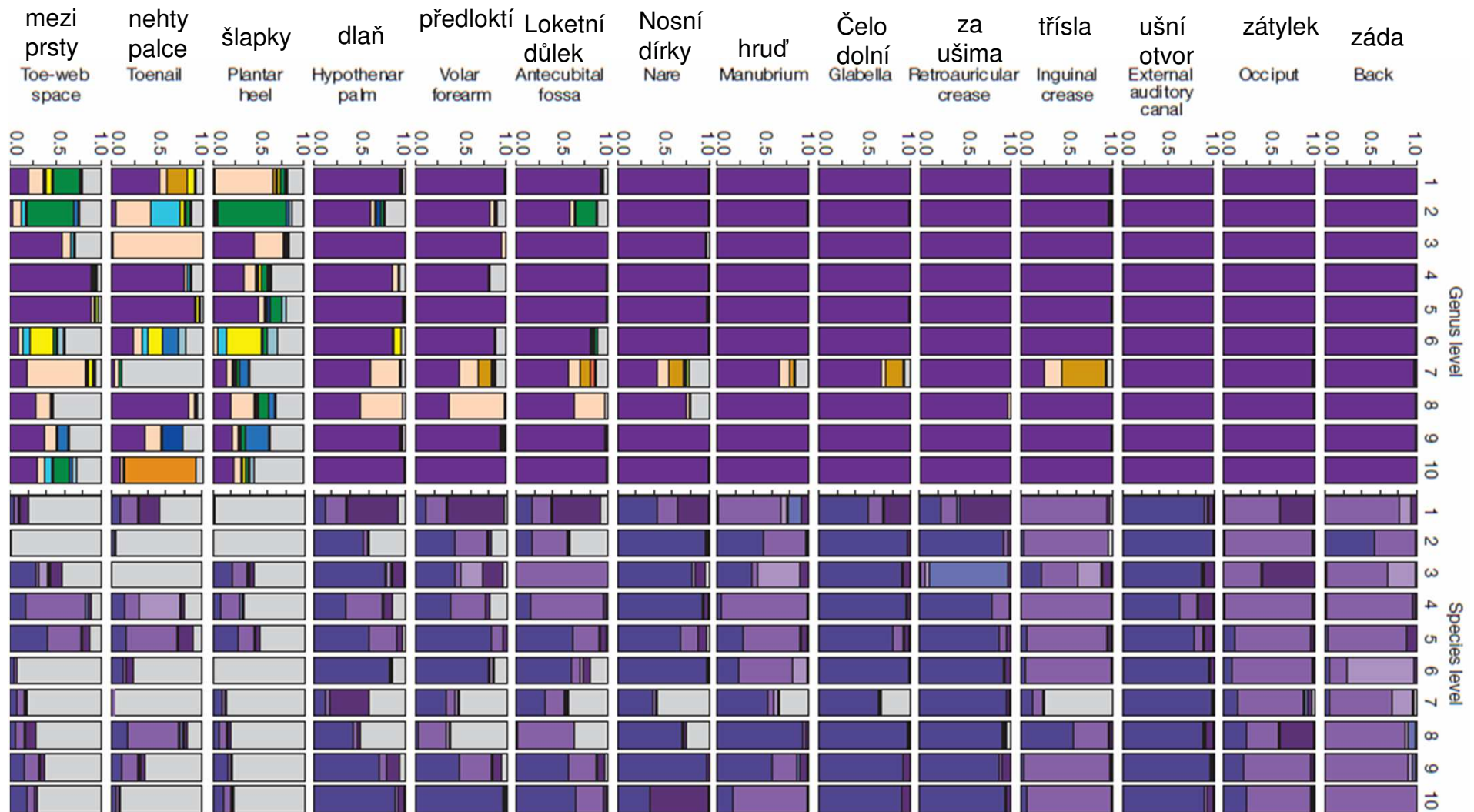
-*Malassezia* – poruchy pigmentace kůže a lupy tzv. **pityriázy** (*M. furfur*, *globosa*, *japonica*, *obtusa*, *restricta*, *yamatoensis*, *dermatis*, *slooffiae*, *sympodialis*, *nana*, *pachydermatis*)

-3 druhy *Trichosporon* (kůže)



Malassezia furfur
pityriasis versicolor





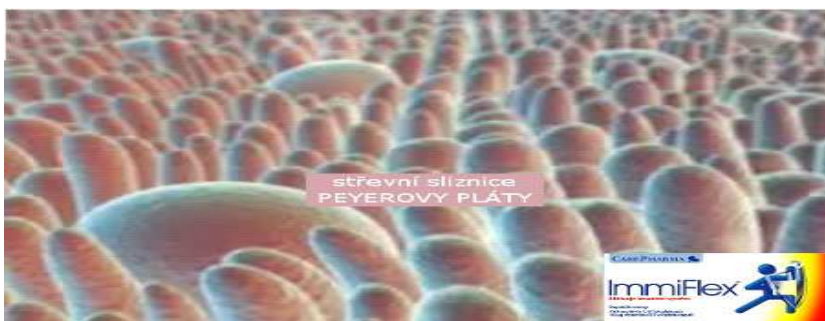
mikrobiom

- sekvenace vzorků od 10 zdravých jedinců
- ruce, nos, uši, záda, třísla ... *Malassezia*
- zatímco na nohou velká diverzita

Význam pro zdraví člověka

- Pangamin – kvasinkové lyzáty – vitaminy, nenasycené mastné kyseliny, minerály ...

- ImmiFlex – obsahuje beta 1-3,1-6 glukany z buněčných stěn kvasinek *S.c.* – aktivují imunitní systém (neutrofily) a zvyšují tak obranyschopnost organismu



Murzyn et al., 2010, FEMS Microbiol Lett.



- *Saccharomyces boulardii* – izolován z čínské švestičky Lyči (1920, Henri Boulard) - používán jako probiotikum při střevních potížích (Enterol, Salutil) - ochrana proti patogenům (*Salmonella typhimurium*, *C. albicans*) – modulují imunitní systém, inhibují účinky bakteriálních toxinů a růst hyf ...

- exprese proteinů - příprava „hepatitis B core“ antigenu, insulin (*S. cerevisiae*), anti-thrombin proti srážení krve (*Pichia pastoris*)

Průmyslový význam



Mgr. J. Kopecká



- výroba piva, vína, etanolu a pekařského droždí (*S.c.*), různé kmeny pro spodní (*S. bayanus*) a svrchní kvašení, vinařské a lihovarské (hybridní kmeny např. *S.c.* + *S.kudriavzevi*)
- krmná biomasa (*Candida utilis*), příprava mléčných výrobků (*Candida kefir*, *Klyuveromyces lactis*), získávání ergosterolu (prekurzor vitamínu D), zdroj komplexu vitamínů skupiny B ...
- štěpení škrobu amylolytickými enzymy (*Saccharmycopsis fibuligera*, *Schwanniomyces occidentalis*)
- štěpení dřevní hmoty – štěpí xylozu přímo na etanol za aerobních podmínek (*Aureobasidium*, *Candida utilis*, *Pachysolen tannophilus*, *Candida shehatae* a *Pichia stipitis*)
- odbourávání ropných produktů (*Yarrowia lipolytica*),
- sorpce těžkých kovů (odstranění znečištění)

Kov	Biosorpční kapacita (mg kovu/g suché hmotnosti biomasy)
Zn ²⁺	<i>A.nodosum</i> (25.6)> <i>P. chrysogenum</i> > (19.2)> <i>F. vesiculosus</i> (17.3)> aktivovaný kal(9,7)> <i>S. rimosus</i> (6.63)> <i>S. cerevisiae</i> (3.45)
Cu ²⁺	<i>S. rimosus</i> (9.07)> <i>P. chrysogenum</i> (8.62)> <i>F. vesiculosus</i> (7.37)> Aktivní sluge (5.54)> <i>S. cerevisiae</i> (4.93)> <i>A. nodosum</i> (4.89)
Ni ²⁺	<i>F. vesiculosus</i> (2.85)> <i>S. rimosus</i> (1.63)> <i>S. cerevisiae</i> (1.47)> <i>A. nodosum</i> (1.11)
Pb ²⁺	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (419,4)> <i>R. nigricans</i> (403,2)> <i>M. purpurea</i> (279,5)> <i>S. cerevisiae</i> (211,2)> <i>A. terreus</i> (201,1)> <i>M. inyoensis</i> (159,2)> <i>Streptomyces clavulgerus</i> (140.2)
Cd ²⁺	Protonované biomasy: <i>Bacillus lentus</i> (≈ 30)> <i>Aspergillus oryzae</i> > <i>S. cerevisiae</i> (<5)
Cu ²⁺	Rostoucí buňky: <i>S. cerevisiae</i> (7.11)> <i>K. Marxianus</i> (6.44)> <i>Candida</i> sp. (4.80)> <i>S. pombe</i> (1.27).

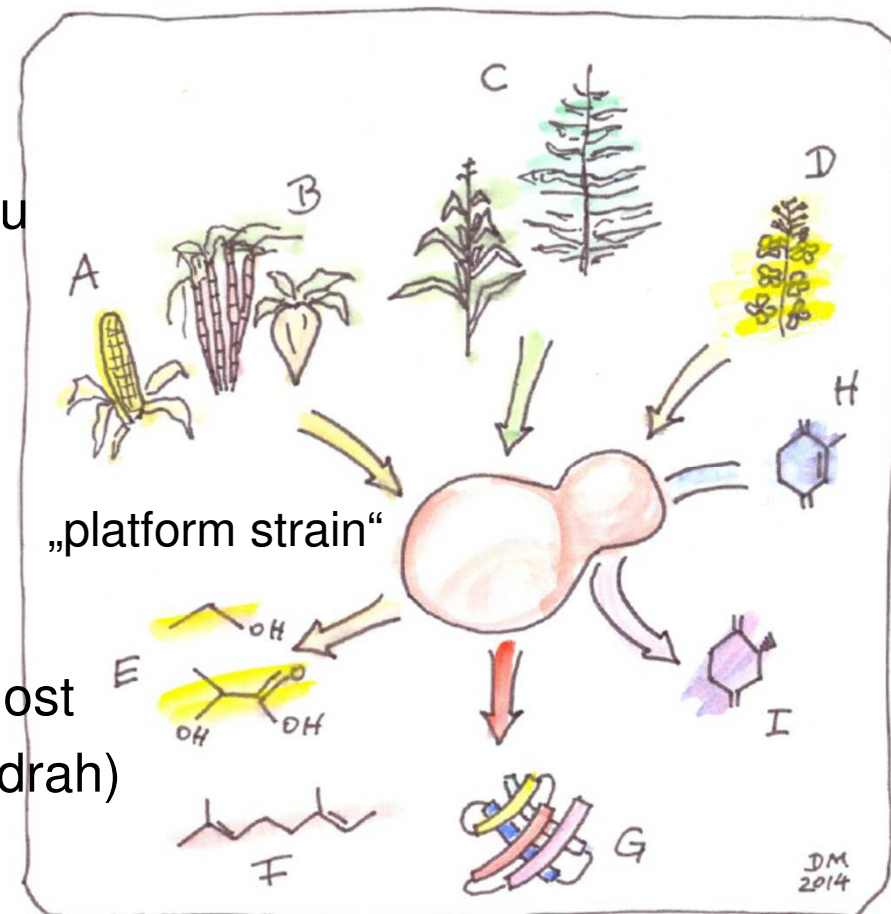
- též v příští přednášce

- kvasinky byly po tisíciletí hlavním mikroorganismem „biotechnologií“
- v polovině 20. století nástup bakteriálních technologií
- kvasinky (díky detailnímu poznání ...) opět nabývají na významu: produkce metabolitů, produkce rekombinantních proteinů, *in vivo* biotransformace
- *S. cerevisiae* – hlavní metabolismus glukosy vede k produkci etanolu (jiné druhy nejsou tak efektivní a užívají i jiné metabolické dráhy ... v přírodě není běžná vysoká konc. glukosy)

výhody kvasinek: vysoká rychlost
 „pohlcování“ substrátů a metabolismu
 velmi odolné vůči stresu

- butanol (lepší než etanol), kyselina mléčná, isoprenoidy (Artemisinin – antimalarikum)

sekvence genomů mnoha kvasinek
 (vhled do jejich metabolismu – možnost využití heterologních metabolických drah)

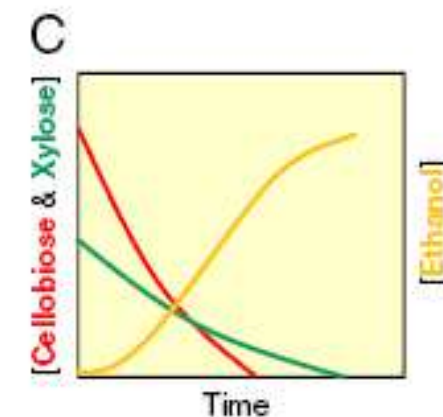
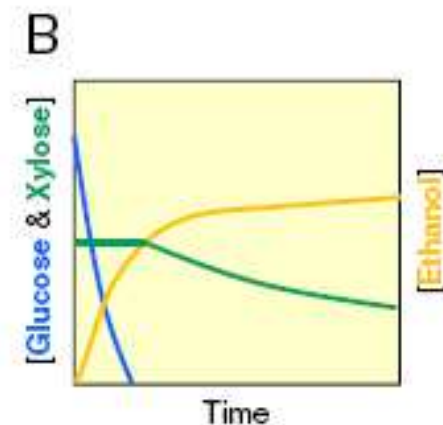
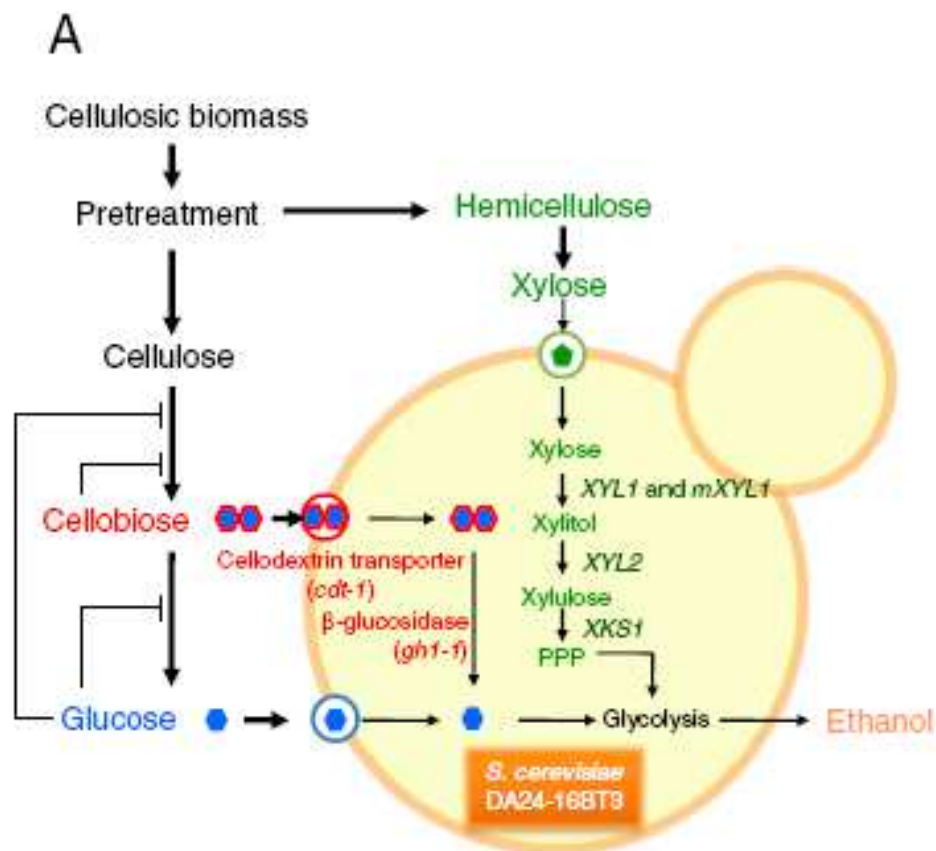


Využití *S. cerevisiae* pro výrobu biopaliv

- Nemají přirozenou metabolickou dráhu pro odbourání celobiosy a xylozy
- Vloženy geny *XYL1* and *XYL2* kódující xylózovou reduktázu (XR) a xylitolovou dehydrogenázu (XDH) z kvasinky *Pichia stipitis*
- Přednostní využívání glukózy (*glukózová represe v dalších přednáškách*)
- Transport celobiosy do buňky (*cdt-1* integrován do genomu) a jeho přeměna na glukózu uvnitř buňky (*gh1-1* z *Neurospora crassa* na „multicopy“ plazmidu) obešla reprezi



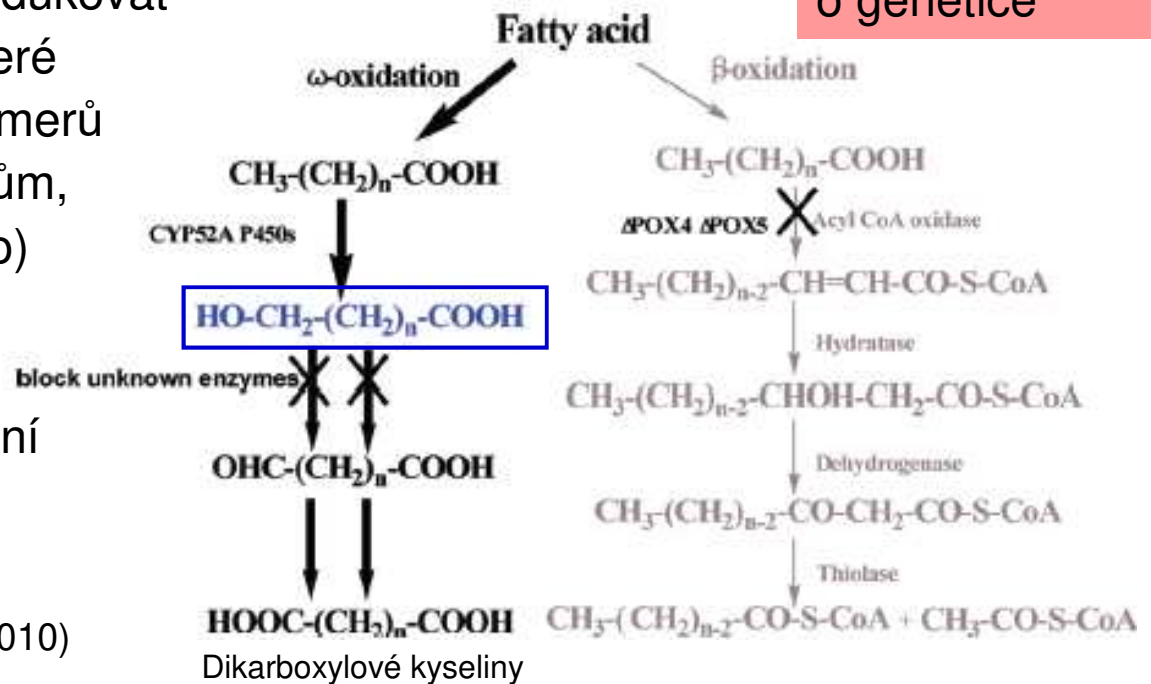
- Více v dalších přednáškách



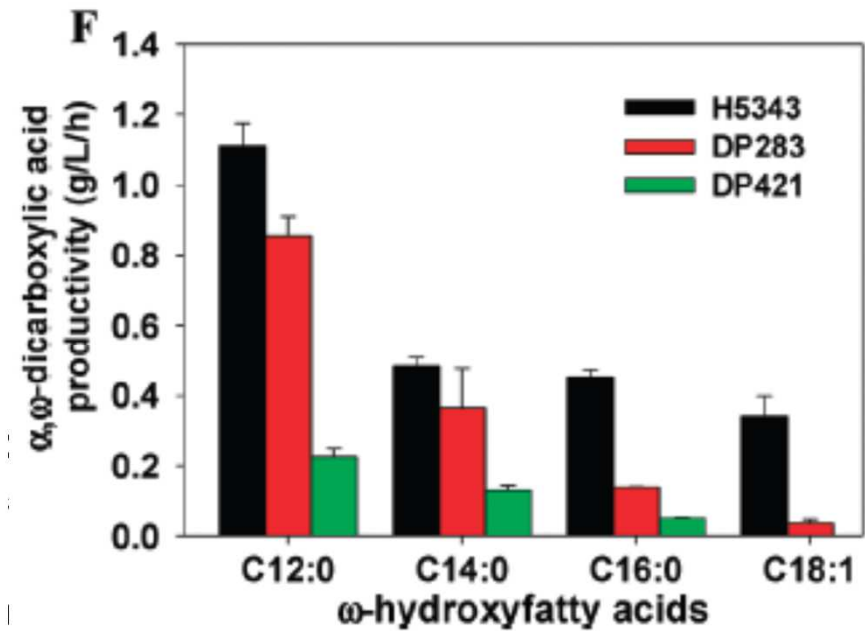
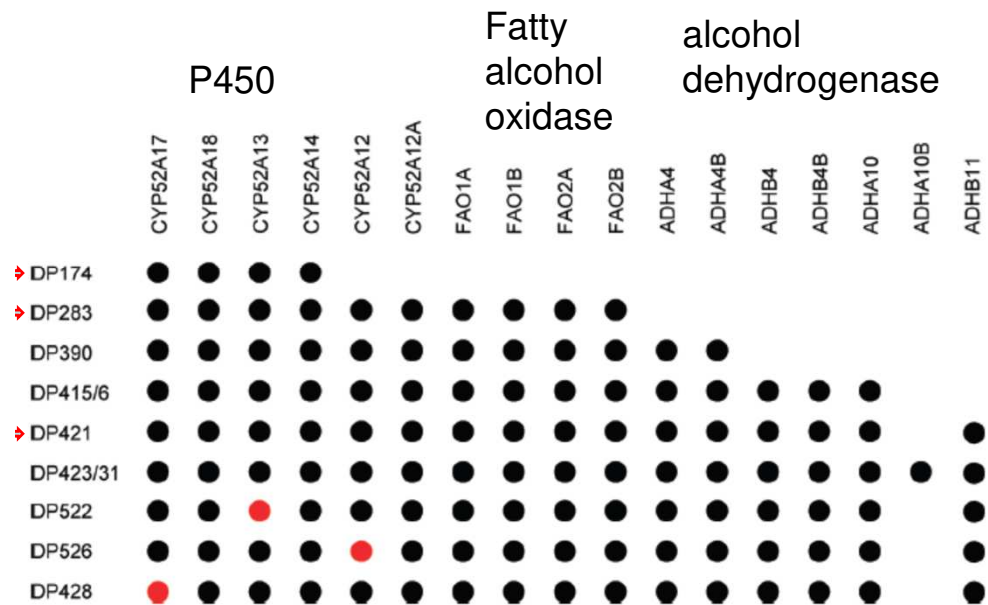
Příprava monomerů pro výrobu plastů – využití *Candida tropicalis*

- *Candida tropicalis* je schopna využít mastné kyseliny jako zdroj uhlíku (acetyl-CoA)
- mutantní kmen (P450: Δ POX4 ...) není schopen β -oxidace a přeměňuje je oxidací na di-karboxylové kyseliny (Picataggio et al, Biotechnology, 1992)
- další mutagenézí (pomocí flp rekombinasy – viz genetika) odstranili geny dalších oxidás (alkohol oxidázy) a dehydrogenás (alkohol dehydrogenás) aby eliminovali ω -oxidaci
- nový kmen je schopen produkovat ω -hydroxymastné kyseliny, které lze použít pro výrobu bio-polymerů (plastů podobných polyetylenům, bio-odbouratelné na bio-palivo)
- další modifikace kmene (integrace genů pro lipázy) by umožnilo přímé odbourávání odpadních olejů ...

Přednáška
o genetice

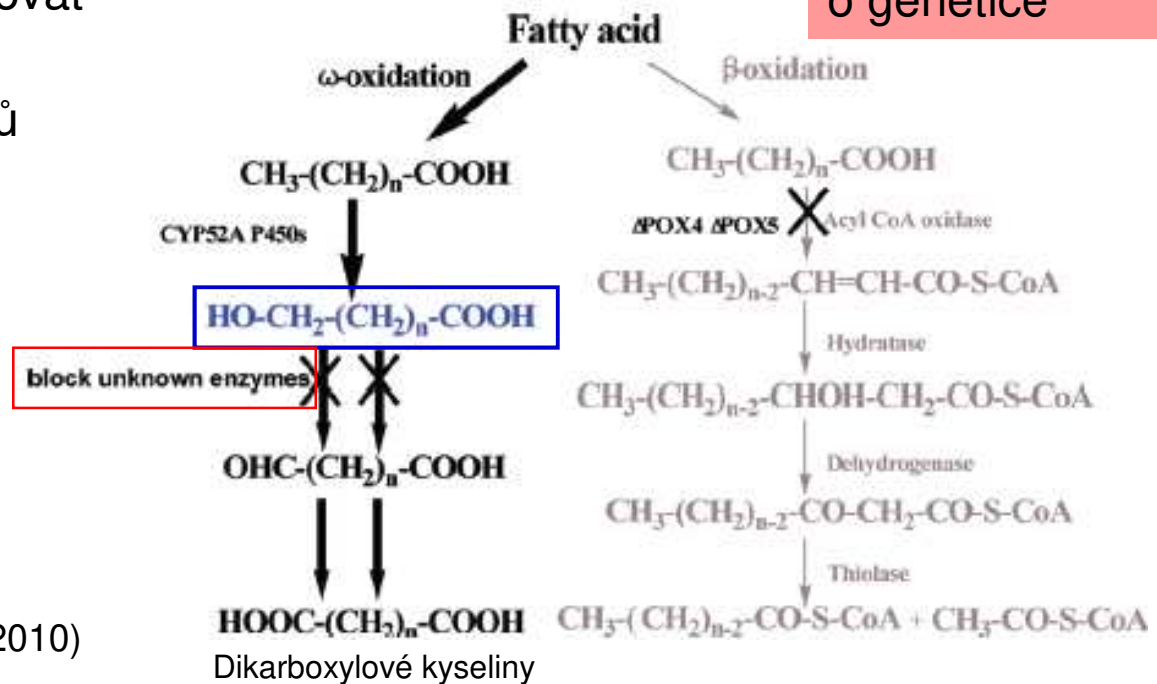


Lu et al., JACS (2010)



- nový kmen je schopen produkovat ω -hydroxymastné kyseliny, které lze použít pro výrobu bio-polymerů (plastů podobných polyetylenům, bio-odbouratelné na bio-palivo)
- další modifikace kmene (integrace genů pro lipázy) by umožnilo přímé odbourávání odpadních olejů ...

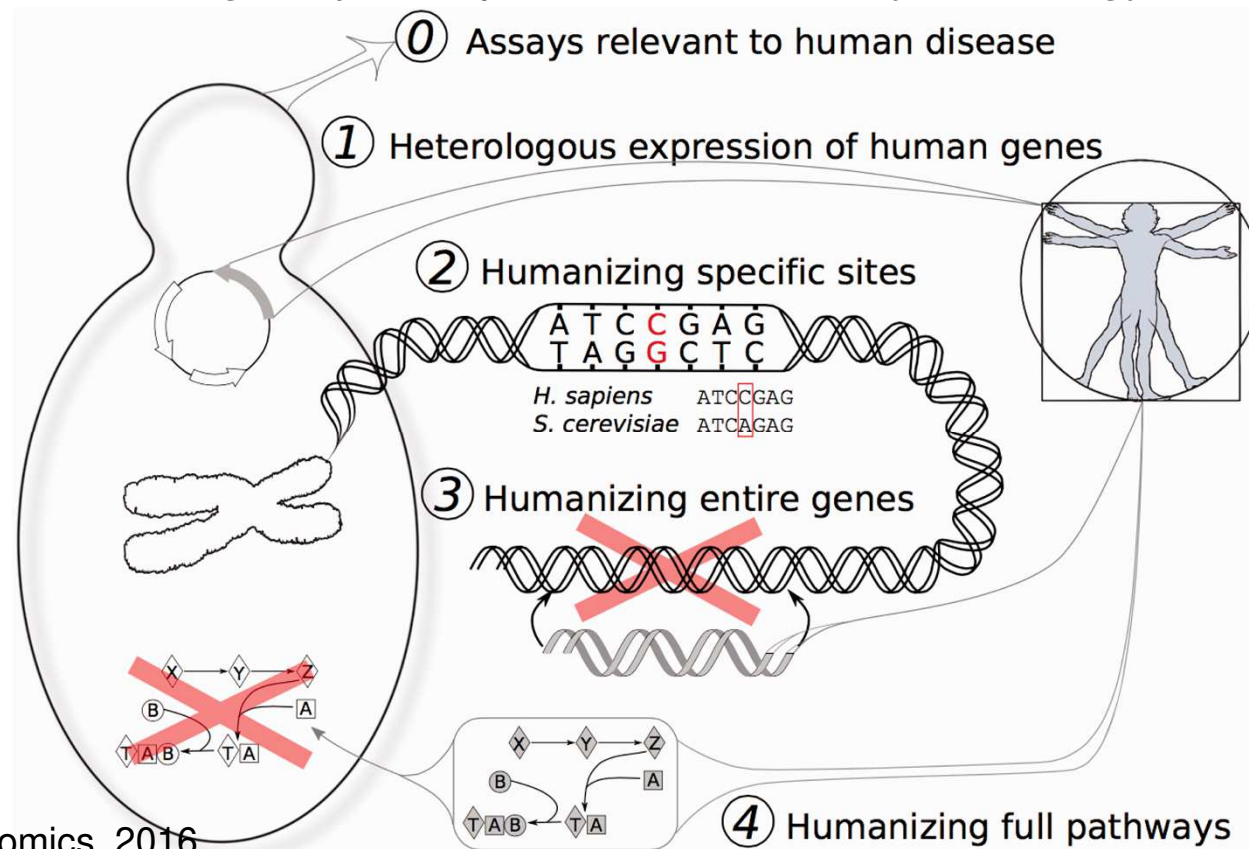
Lu et al., JACS (2010)



Přednáška o genetice

Výzkum

- Je třeba kvasinkám rozumět (na molekulární úrovni), aby bylo možné je využít např. pro biotechnologie, výzkum (od jednoduchých základních mechanismů ke studiu složitějších ... až k objasňování lidských nemocí)
- *S. cerevisiae* a *S.pombe* jsou modelovými organismy
 - jednoduchá eukaryotní buňka (základní procesy jako u vyšších eukar.)
 - 1. osekvenovaný eukaryotní genom, 1. syntetický eukar. chromosom (cca 2300 z 6000 genů má ortology v genomu člověka)
 - 1/2 z 550 esenciálních genů je komplementována lidskými ortology



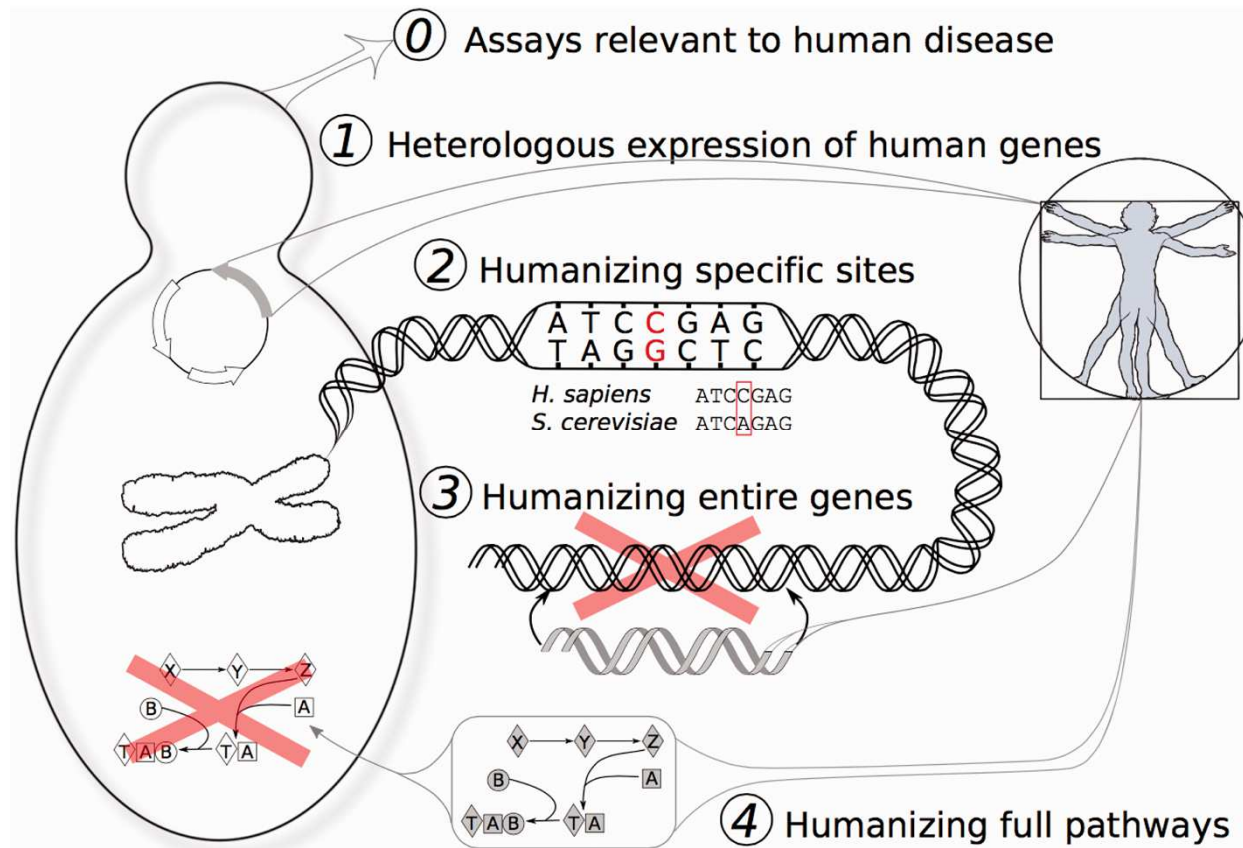
Kim et al., J Microb, 2020

Laurent et al, Brief in Funct Genomics, 2016

- Více v dalších přednáškách

Výzkum

- buněčný cyklus (sir P. Nurse)
 - podobné geny (ortology) ... podobné mechanismy
 - exprese lidských genů v kvasinkách ... **1. RAS (viz Y2H)**
- celé dráhy



Kim et al., J Microb, 2020

Laurent et al, Brief in Funct Genomics, 2016

- Více v dalších přednáškách

Human Gene  **Functional Complementation**
 For a given human gene(s), enter gene name or Entrez GeneID and retrieve information about cross-species functional complementation between yeast and humans.

<http://yeastmine.yeastgenome.org/yeastmine/results.do?trail=7?cquery>
[research group leader in t...](#) [ScholarOne Manuscripts](#) [Osobní stránka MUDr. Len...](#) [Klinika nemocí plicních a ...](#) [The Deubiquitinase USP37...](#) [Cohesin recruits the Escol...](#) [YeastMine: Query resul...](#) [YeastMine: invalid id -27...](#) [YeastMine: Template que...](#)
 Soubor Úpravy Zobražit Obilbené položky Nástroje Nápověda
 x EndNote 3.10 Capture ? Help
 Zprávy IDNES.cz - Přehled... Vltava - Klasická hudba, lit... Internet - Radio Proglas Po dlouhé nemoci zemřel...
 Stránka Zabezpečení Nástroje

Trail: Query
Human Gene  **Functional Complementation**
 For a given human gene(s), enter gene name or Entrez GeneID and retrieve information about cross-species functional complementation between yeast and humans.

Manage Columns Manage Filters Manage Relationships Save as List Generate Python code Export

Showing 1 to 3 of 3 rows

Complement Standard Name	Complement Organism . Short Name	Complement Cross References	Gene Primary DBID	Gene Systematic Name	Gene Standard Name	Gene Organism . Short Name	Complementation Direction	Complement Publication . Pub Med Id	Complement Source	Complement Notes
CCND1	H. sapiens	6 Cross References	S000000038	YAL040C	CLN3	S. cerevisiae	human gene complements S. cerevisiae mutation	1833066	P-POD	NO VALUE
CCND1	H. sapiens	6 Cross References	S000004812	YMR199W	CLN1	S. cerevisiae	human gene complements S. cerevisiae mutation	1833066	P-POD	NO VALUE
CCND1	H. sapiens	6 Cross References	S000006177	YPL256C	CLN2	S. cerevisiae	human gene complements S. cerevisiae mutation	1833066	P-POD	NO VALUE

Výzkum

- sekrece, endocytóza, buněčná stěna (prof. Schekman, prof. A. Svoboda)
- mechanismy opravy poškozené DNA (nádorové syndromy)

Human homologs		
Yeast	Human	Cancer syndrome
MEC1/TEL1	ATR/ATM	Ataxia telangiectasia
MRE11	MRE11	Ataxia telangiectasia-like disorder
XRS2	NBS1	Nijmegen breakage syndrome
RAD53/DUN1	hCHK2	Li-Fraumeni syndrome
SGS1	BLM/WRN/RTS	Bloom, Werner & Rothmund-Thomson syndromes

Srovnání 250 sekvencí lidských genů, jejichž mutace vedou ke vzniku onemocnění – cca 90 genů má *S.c.* homology

- Metody využívající kvasinek (např. 2-H, reporterové systémy – RAS systém)

Výzkum

- buněčný cyklus, ... mechanismy opravy poškozené DNA

Table 4 *Schizosaccharomyces pombe* genes related to human cancer genes

Human cancer gene	<i>S. pombe</i> gene/product	Systematic name
Xeroderma pigmentosum D; <i>XPB</i>	rad15, rhp3	SPAC1D4.12
Xeroderma pigmentosum B; <i>ERCC3</i>	rad25	SPAC17A5.06
Hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC); <i>MSH2</i>	msh2	SPBC24C6.12C
Xeroderma pigmentosum F; <i>XPF</i>	rad16, rad10, rad20, swi9	SPCC970.01
Immunodeficiency; DNA ligase 1	cdc17	SPAC57A10.13C
HNPCC; <i>PMS2</i>	pms1	SPAC19G12.02C
HNPCC; <i>MSH6</i>	msh6	SPCC285.16C
HNPCC; <i>MSH3</i>	swi4	SPAC8F11.03
HNPCC; <i>MLH1</i>	mlh1	SPBC1703.04
Haematological Chediak–Higashi syndrome; <i>CHS1</i>	–	SPBC28E12.06C
Darier–White disease; <i>SERCA</i>	pgak	SPBC31E1.02C
Bloom syndrome; <i>BLM</i>	hus2, rqh1, rad12	SPAC2G11.12
Ataxia telangiectasia; <i>ATM</i>	tel1	SPCC23B6.03C
Xeroderma pigmentosum G; <i>XPG</i>	rad13	SPBC3E7.08C
Tuberous sclerosis 2; <i>TSC2</i>	–	SPAC630.13C
Immune bare lymphocyte; <i>ABCB3</i>	–	SPBC9B6.09C
Downregulated in adenoma; <i>DRA</i>	–	SPAC869.05C
Diamond–Blackfan anaemia; <i>RPS19</i>	rps19	SPBC649.02
Cockayne syndrome I; <i>CKN1</i>	–	SPBC577.09
<i>RAS</i>	ste5, ras1	SPAC17H9.09C
Cyclin-dependent kinase 4; <i>CDK4</i>	cdc2	SPBC11B10.09
CHK2 protein kinase	cds1	SPCC18B5.11C
<i>AKT2</i>	pck2, sts6, pkc1	SPBC12D12.04C

* Scores are: +++, 1×10^{-40} to 1×10^{-100}; +, 1×10^{-10} to 1×10^{-20}; -, 1×10^{-2} to 1×10^{-4}; 0, 1×10^{-4} to 1×10^{-6}; -, 1×10^{-6} to 1×10^{-8}; +, 1×10^{-8} to 1×10^{-10}; +++, 1×10^{-10} to 1×10^{-100}.

Výzkum

- Buněčné mechanismy ...

Table 5 *Schizosaccharomyces pombe* genes related to human disease genes

Human disease gene	Disease	Score*	<i>S. pombe</i> gene/product
Wilson disease; <i>ATP7B</i>	Metabolic	++++	P-type copper ATPase
Non-insulin-dependent diabetes; <i>PCSK1</i>	Metabolic	++++	krp1, kinesin related
Hyperinsulinism; <i>ABCC8</i>	Metabolic	++++	ABC transporter
G6PD deficiency; <i>G6PD</i>	Metabolic	++++	zwf1 GP6 dehydrogenase
Citrullinaemia type I; <i>ASS</i>	Metabolic	++++	Argininosuccinate synthase
Wernicke–Korsakoff syndrome; <i>TKT</i>	Metabolic	+++	Transketolase
Variagate porphyria; <i>PPOX</i>	Metabolic	+++	Protoporphyrinogen oxidase
Maturity-onset diabetes of the young (MODY2); <i>GCK</i>	Metabolic	+++	hxx1, hexokinase
Gitelman’s syndrome; <i>SLC12A3</i>	Metabolic	+++	CCC Na-K-Cl transporter
Cystinuria type 1; <i>SLC3A1</i>	Metabolic	+++	α-glucosidase
Cystic fibrosis; <i>ABCC7</i>	Metabolic	+++	ABC transporter
Bartter’s syndrome; <i>SLC12A1</i>	Metabolic	+++	CCC Na-K-Cl transporter
Menkes syndrome; <i>ATP7A</i>	Neurological	++++	P-type copper ATPase
Deafness, hereditary; <i>MYO15</i>	Neurological	++++	myo51 class V myosin
Zellweger syndrome; <i>PEX1</i>	Neurological	+++	AAA-family ATPase
Thomsen disease; <i>CLCN1</i>	Neurological	+++	ClC chloride channel
Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6); <i>CACNA1A</i>	Neurological	+++	VIC sodium channel
Myotonic dystrophy; <i>DM1</i>	Neurological	+++	orb6 Ser/Thr protein kinase
McCune–Albright syndrome; <i>GNAS1</i>	Neurological	+++	gpa1 guanine nucleotide binding
Lowe’s oculocerebrorenal syndrome; <i>OCRL</i>	Neurological	+++	PIP phosphatase
Dents; <i>CLCN5</i>	Neurological	+++	ClC chloride channel
Coffin–Lowry; <i>RPS6KA3</i>	Neurological	+++	Ser/Thr protein kinase
Angelman; <i>UBE3A</i>	Neurological	+++	Ubiquitin-protein ligase
Amyotrophic lateral sclerosis; <i>SOD1</i>	Neurological	+++	sod1, superoxide dismutase
Oguchi type 2; <i>RHKIN</i>	Neurological	+++	Ser/Thr protein kinase
Familial cardiac myopathy; <i>MYH7</i>	Cardiac	++++	myo2, myosin II
Renal tubular acidosis; <i>ATP6B1</i>	Renal	++++	V-type ATPase

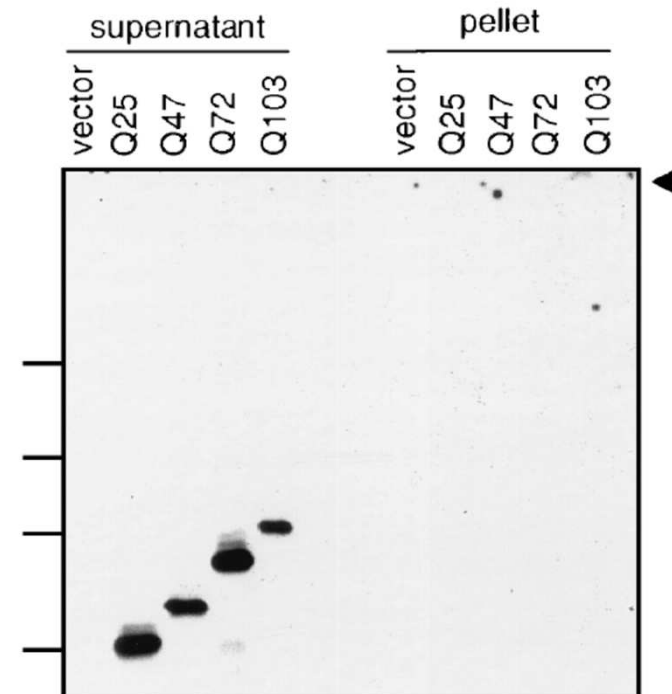
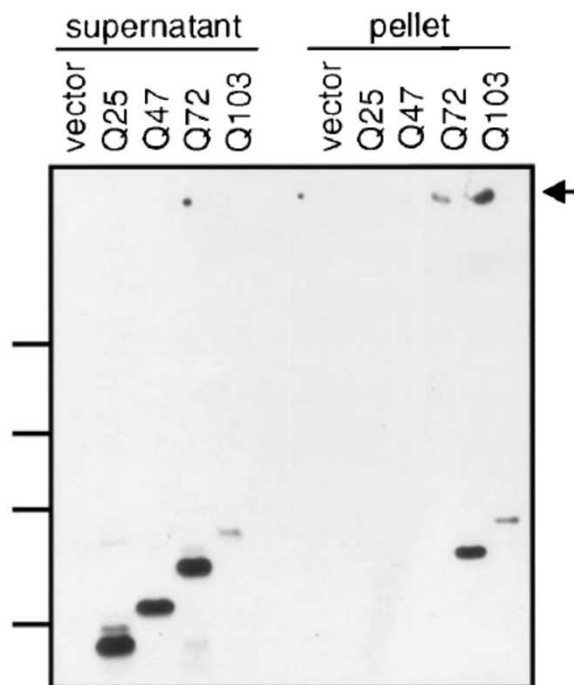
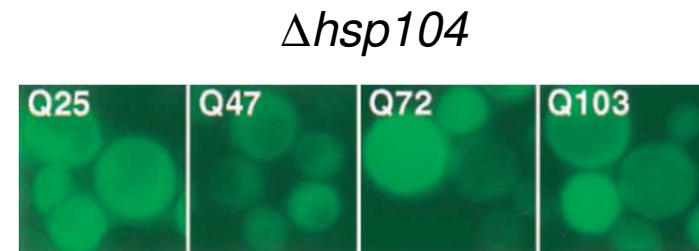
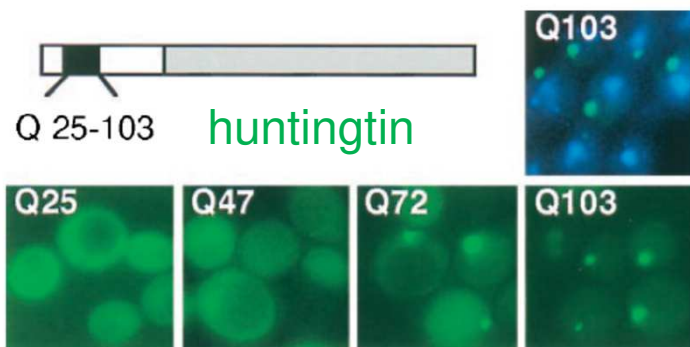
*Scores are: +++++, $<1 \times 10^{-100}$; +++, 1×10^{-40} to 1×10^{-100} .

Wood et al, Nature, 2002

Analýza polyQ (glutaminové repetice) v kvasinkách

- polyglutaminové repetice (CAG triplet slipage) v proteinech (huntingtin - Ht) způsobují závažné neurodegenerativní onemocnění (Huntingtonovu nemoc)
- Ht-GFP (s různě dlouhými polyQ) byly exprimovány v *S. cerevisiae* a sledován vznik agregátů/nerozpustných proteinů – závislost na chaperonech (delece

Hsp104 snižovala agregaci a zvyšovala rozpustnost)



Souhrn 1. přednášky

- Kvasinky – historie využití a výzkumu
- Kde všude a jak kvasinky rostou?
- Vztahy k lidskému zdraví
- Příklady biotechnologií a výzkumu



Hustopeče u Břeclavi