

Využití zymocinů v průmyslu

863.452.2
863.12

Dr. VLADIMÍR VONDREJS, CSc., Dr. BLANKA JANDEROVÁ, CSc. a Prof. Dr. OLGA BENDO VÁ, DrSc., Přírodovědecká fakulta UK, Praha, katedra genetiky, mikrobiologie a biofyziky

Klíčová slova: kvašení, kvasinky, smrtící kvasinky, zymocin

Podstata působení smrtících kvasinek

V roce 1978 byl v časopise Kvasný průmysl uveřejněn článek [1], který poukázal na citlivost pivovarských kmenů kvasinek z československé sbírky vůči zymocinům (synonyma: killer faktory, killer toxiny), produkovaným tzv. smrtícími kvasinkami (synonyma: killer kvasinky, zymocinogenní kvasinky). Označení killer (anglicky zabiják) zavedli objevitelé smrtících kvasinek *Bevan* a *Ma-kower* [2].

Smrtící kvasinky nejsou ani v přírodě ani mezi sbírkovými kmeny vzácností [3, 4, 5, 6]. Jejich buňky produkují látku bílkovinné povahy [7, 8, 9], zabíjející citlivé buňky obvykle příbuzných druhů kvasinek. Běžné smrtící kmeny jsou proti svým zymocinům odolné. Optimální pH pro účinek zymocinů se pohybuje v rozmezí od 4 do 5. Zymociny jsou většinou malé bílkoviny o molární hmotnosti $1 \cdot 10^4$ g · mol⁻¹. Jejich odolnost proti teplotě a mechanickému namáhání bývá nízká [3].

Specifičnost účinku zymocinů spočívá v tom, že citlivé kmeny mají v buněčné stěně specifické receptory [10, 11].

Ve většině případů je informace pro zymocin zapsána ve dvojřetězcové RNA (tzv. MdsRNA), která je umístěna

v cytoplazmatických částicích podobných virům (virus like particles) [12, 13]. Podle MdsRNA se syntetizuje jeden velký polypeptid [obr. 1], jehož molární hmotnost je ještě zvyšována posttranslační glykosylací [14].

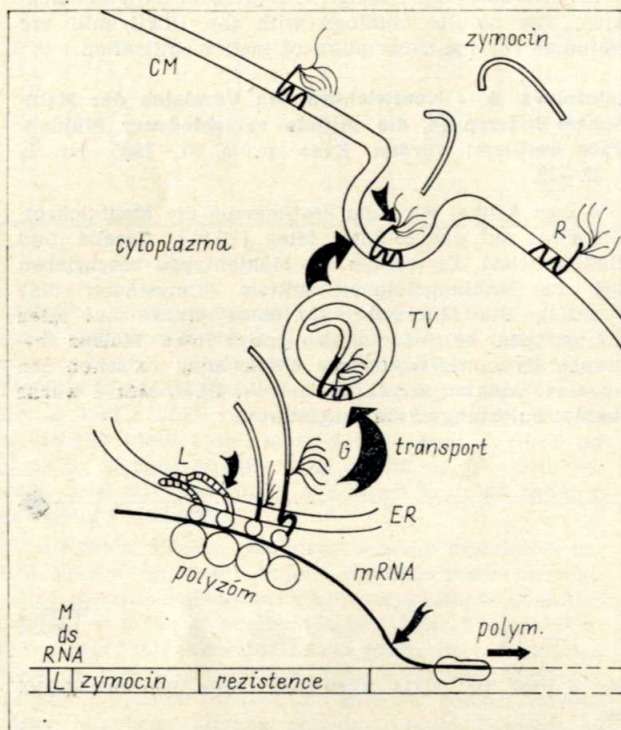
Tento prekurzor zymocinu je zakotven v membráně transportních vezikulů, které fúzíjí s cytoplazmatickou membránou tak, že C-konec polypeptidu zůstane zakotven v membráně a N-konec zkrácený o sekvenci, která již dříve sehrála roli při vstupu polypeptidu do membrány, vystupuje na vnější straně protoplastu. Proteolytický enzym uvolní úsek odpovídající zymocinu. Na vnější straně membrány zůstane pouze část polypeptidu opatřená polysacharidem, který zajišťuje buňce rezistenci proti vlastnímu zymocinu [14].

Smrtící kmeny lze podle spektra účinku, rezistence vůči různým zymocinům a dalších vlastností rozdělit do několika skupin [15, 16, 17]. Příslušníci jedné skupiny se navzájem neusmrcují. Zástupci různých skupin se mohou navzájem zabíjet, pokud mají na svých stěnách příslušné receptory.

Produkce zymocinu a reprodukce částic nesoucích MdsRNA je určena ještě mnoha jadernými i cytoplazmatickými geny, z nichž zvláště významnou roli při repro-

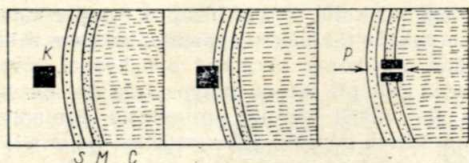
dukci hraje tzv. LdsRNA umístěná také v cytoplazmatických částicích. Přehled těchto genů je shrnut v řadě přehledných referátů [3, 18].

Částice podobné virům nejsou infekční, mohou se přenášet pouze v souvislosti se sexuální hybridizací buněk a uměle např. cytodukcí nebo fúzí protoplastů [19, 20, 21]. Buňky lze snadno zbavit schopnosti usmrcovat, např. kultivací při zvýšené teplotě [22]. Kultivační teplota se volí tak, aby se buňky ještě dělily, ale aby k reprodukci MdsRNA již nedocházelo. Buňky tak ztrácejí informaci pro zymocin i rezistenci.



Obr. 1. Produkce zymocinů kvasinkou

Na MdsRNA jsou sekvence: L pro zaváděcí úsek polypeptidu, který zajišťuje transport zymocinu, pro zymocin a pro úsek polypeptidu určující rezistenci proti zymocinu. RNA-polymeráza syntetizuje mRNA podle uvedených úseků vcelku. Úseky polypeptidu vstupujícího do endoplazmatického retikula (ER) jsou značeny přerušovaně (L), bíle (zymocin) a černě (úsek zajišťující rezistenci). Poslední úsek je glykosylován (G). Transport probíhá přes Golgiho aparát a transportní vezikuly (TV), které fúzí s cytoplazmatickou membránou (CM).



Obr. 2. Mechanismus smrtícího účinku zymocinu

Zymocin (K) se váže na receptor v buněčné stěně (S) a vstupuje do cytoplazmatické membrány (CM), ve které vytvoří pór (P). Tím je umožněna výměna iontů mezi cytoplazmou a médiem.

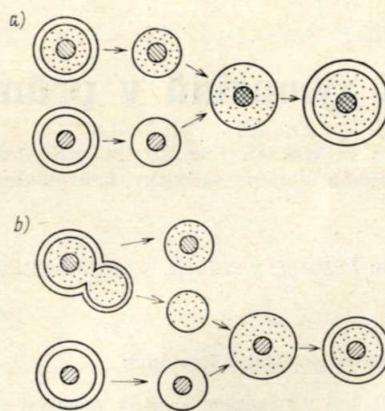
U kvasinek druhu *Kluyveromyces lactis* bylo zjištěno, že smrtící charakter není určen dsRNA, nýbrž DNA ve formě dvou druhů lineárních plazmidů [23, 24, 25]. Přenos těchto plazmidů lze pochopitelně zajistit i transformací buněk izolovanou plazmidovou DNA [26, 27].

Mechanismus smrtícího účinku (obr. 2) všech dosud studovaných zymocinů se zdá být podobný. Krátce po navázání na stěnový receptor je zrušen gradient iontů na cytoplazmatické membráně a tím je také zastaven syntéza protonů a aminokyselin [28, 29]. Přímým důkazem interakce zymocinu s membránou bylo zjištění, že zymocin vyvolává zvýšení fluorescence membránové sondy, která byla zabudována do membrány před jeho přidáním [30]. Poslední výsledky [31, 32] naznačují, že zymocin vytváří v membráně póry, kterými mohou procházet ionty. Tím se zruší jejich gradient, který je nezbytný pro řadu funkcí cytoplazmatické membrány.

Konstrukce rezistentních a smrtících kmenů kvasinek

V písemnictví se objevily zprávy [33, 34, 35], že byl kvasný pochod narušen, buňky hynuly a kvalita průmyslového produktu se zhoršila následkem kontaminace smrtícími kvasinkami. Nezveřejněných případů bylo ve světě pravděpodobně mnohem více. Z toho důvodu Japonci jako první přistoupili ke genetické ochraně kvasinek používaných při výrobě saké [36, 37]. Podobné kmeny pivovarských kvasinek byly konstruovány v Československu [38, 39] a Velké Británii [40]. Princip přípravy těchto kmenů byl ve všech případech obdobný. Do průmyslového kmene byla přenesena determinanta pro rezistenci vůči zymocinu, která provází gen pro zymocin.

Pouze v případě zymocinu z *Kluyveromyces lactis* lze takový přenos uskutečnit transformací průmyslových kvasinek plazmidovou DNA nesoucí informaci pro produkci zymocinu a současně i rezistenci vůči němu. Vnitrodruhový a mezidruhový přenos byl již úspěšně proveden [26, 27].



Obr. 3. Konstrukce smrtících kvasinek

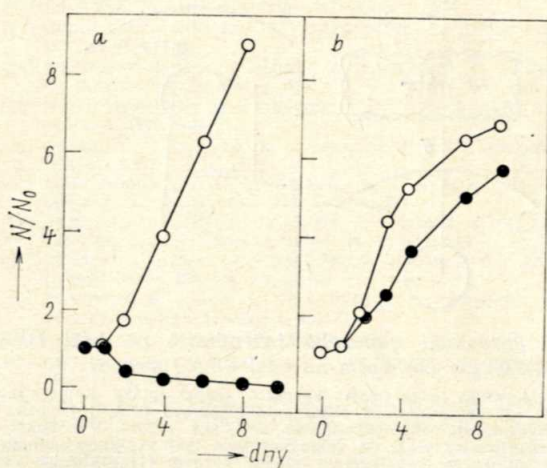
a) Fúzí protoplastu smrtící (vytečkovaná) a citlivé (bílé) kvasinky. b) Cytodukcí zajištěnou pomocí fúze bezjaderného protoplastu obsahujícího zymocinogenní faktory a protoplastu citlivé kvasinky. První fázi obou postupů je příprava protoplastů. Následuje fúze a reverze hybridních protoplastů.

U zymocinů determinovaných dsRNA je situace složitější. Vnitrodruhový přenos sexuální hybridizací, fúzí i cytodukcí je možný, neboť potřebné jaderné geny jsou v novém kmenu vždy přítomny (obr. 3). Dosud nebylo jednoznačně prokázáno, zda je možná mezidruhová cytodukce, tj. přenos samotných cytoplazmatických genů bez jaderných. Proto byl přenos dsRNA pro zymocin uskutečněn prozatím mezidruhovou fúzí, např. smrtících kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* T158C a *Saccharomyces uvarum* P9 [39]. Mezi hybridními klony byl vybrán takový, který produkoval zymocin a vykazoval technologicky požadované vlastnosti průmyslového kmene *S. uvarum* P9.

V souvislosti s konstrukcí kmenů odolných proti zymo-

cinu je třeba připomenout, že přenos informace pro odolnost lze oddělit od přenosu informace pro zymocin tak, že se část MdsRNA poškodí nebo odstraní. Lze tedy získat kmeny rezistentní proti zymocinu, které však zymocin neprodukují. Za určitých okolností však může být užitečná nejen rezistence, ale i produkce zymocinu, neboť chrání kulturu průmyslového kmene před kontaminací citlivými kmeny kvasinek (obr. 4).

Vhodnou volbou zymocinu by bylo možno chránit průmyslové kvasné výroby nejen pivovarské, ale i vinařské a další (tab. 1). Je pochopitelné, že nejde o univerzální všelék proti kvasinkové kontaminaci. Takové nově kon-



Obr. 4. Průběh odstraňování kontaminace *Saccharomyces exiguus* zymocinem produkovaným kmenem *S. uvarum* P9-LK-12/1

a) Společná kultivace kmene P9-LK-12/1 (o) a *S. exiguus* (●). N/N_0 relativní počet buněk. Kontaminace na počátku představovala 0,1 z celkového počtu buněk.
b) Označení jako v a) pouze hybridní kmen P9-LK-12/1 nahrazen rodičovským kmenem *S. uvarum* P9 (Smichov), od kterého byl hybrid odvozen.

Tabulka 1. Přehled uplatnění kvasinkových kmenů v průmyslu

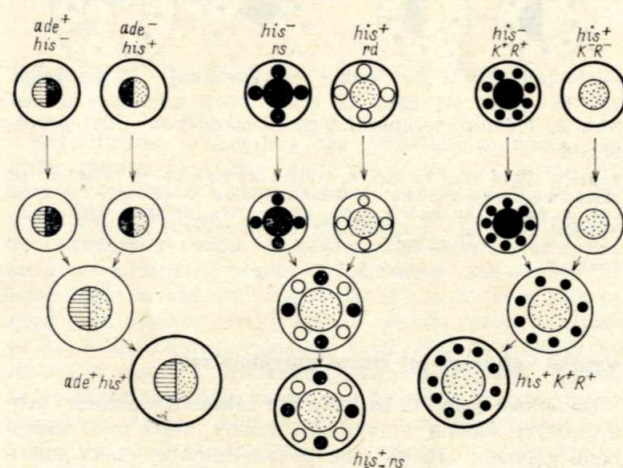
Průmyslové odvětví	Druh	Živná půda	pH	Teplota °C
pivovarství	<i>Saccharomyces uvarum</i>	mładina	5,8–4,1	6–10
vinařství	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	hroznový mošt	2,9–3,3	15–30
lihovarství	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	melasa	4,0–6,0	30–35
pekařské droždí	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	melasa	4,0–6,0	30–35
kvasná biomasa (SCP)	<i>Candida utilis</i>	sulfitové výluhy	4,5–4,7	30–35
	<i>Candida lipolytica</i>	n-alkany	4,2–5,0	30–35
	<i>Candida utilis</i>	ethanol		30–35
	<i>Hansenula polymorfa</i>	methanol		30–35
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	syrovátka	3,5–5,5	30–32
Produkce polypeptidů	Kmeny konstruované genově inženýrskými postupy*)	syntetická a polosyntetická média	obvykle 4,0–6,0	obvykle 25–30

*) Tyto kmeny jsou nejčastěji odvozeny od *Saccharomyces cerevisiae*

struované kmeny kvasinek mají naději na uplatnění jen v těch provozech, kde podmínky, zejména pH a teplota, jsou pro účinnost použitého zymocinu alespoň únosné. Pro konstrukci zymocinogenních kmenů jsou příhodnější postupy, při kterých se nepřenáší jaderné geny smrtícího kmene, neboť jejich projev může ovlivnit vlastnosti hybridu. Přenos cytodukcí nemusí být vždy úspěšný.

Selekce hybridních kvasinek pomocí zymocinů

Při konstrukci nových kmenů kvasinek lze aplikovat metody sexuální hybridizace a indukované fúze protoplastů, s jejichž pomocí se vytváří hybridní kmen spojením původního průmyslového kmene s „dárce“ požadovaných vlastností. Nejnáročnějším krokem postupu je nalezení vhodného způsobu rozeznání a selekce hybridních klonů.

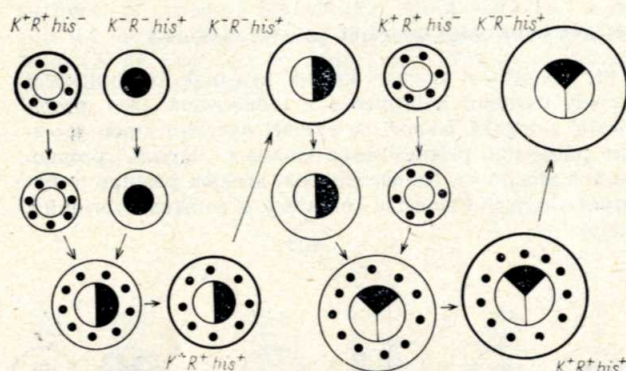


Obr. 5. Porovnání tří technik vhodných pro selekci hybridů získaných indukovanou fúzí protoplastů

a) Rodičovské buňky: auxotrofní mutanty ade^+ his⁻ (plné kruhy), ade^- his⁺ (otevřené kruhy). Hybrid: ade^+ his⁺ jako jediný revertuje na minimálním médiu bez adeninu a histidinu. b) Rodičovské buňky: respiračně suficientní rs (plné kruhy) a respiračně deficientní (otevřené kruhy). Hybrid jako jediný revertuje na minimálním médiu bez histidinu a s glycerolem jako jediným zdrojem uhlíku. c) Rodičovské buňky: K^+ produkují zymocin a jsou k němu rezistentní (R^+) (plné kruhy) resp. K^- neprodukují a jsou citlivé (R^-) (otevřené kruhy). Hybrid: his⁺ K^+ R^+ jako jediný dobře revertuje na minimálním médiu bez histidinu a s přidavkem zymocinu. Pozor: metoda b), c) selektuje i cytoduktanty, u kterých byla do prototrofa přenesena pouze cytoplazma ze zymocinogenního kmene.

V naší laboratoři byla vypracována metoda pro selekci hybridů mezi smrtící a citlivou buňkou [41]. Citlivý kmen je odstraňován přidáváním zymocinu (obr. 5), smrtící kmen např. na základě auxotrofie selekci na minimálním médiu. Hybridy vytvoří za těchto podmínek kolonie, neboť jsou prototrofní a rezistentní vůči zymocinu. Odstranění jednoho z kmenů probíhá na základě jeho přirozené vlastnosti, tj. citlivosti vůči zymocinu. Tento kmen tedy nemusí být mutagenizován, což je oceňováno zejména v souvislosti se zlepšováním průmyslových kmenů. Produkce zymocinu (K^+) a rezistence vůči němu (R^+) může být využita i jako dočasný znak pouze pro účely selekce. Získaný hybrid může být od K^+R^+ charakteru „vyléčen“. Na závěr je třeba upozornit, že uvedenou metodou jsou

selektovány i hybridy, které vznikly cytodukcí K^+R^+ charakteru do průmyslového kmene. Naproti tomu nelze pravděpodobně použít selekci dvěma typy zymocinů při hybridizaci dvou smrtících kmenů, neboť hybrid obvykle získá rezistenci pouze proti jednomu smrtícímu faktoru.



Obr. 6. Princip polyplodizace „kaskádovou“ fúzí protoplastů

Značení stejné jako na obr. 5. Hybrid $K^+R^+his^+$ je „vyléčen“ od zymocinogenních faktorů (MdsRNA). Diploid $K^-R^-his^+$ je fúzován s dalším haploidem typu $K^+R^+his^-$. Selekcí triploidního hybridu $K^+R^+his^+$ probíhá opět na minimálním mediu se zymocinem. Cyklus léčení-hybridizace-selekcce může být několikrát opakován.

Využití zymocinů při řízené polyplodizaci

Genetická stabilita by měla být základní vlastností průmyslových kmenů. Polyplodní kmene, které mají znáso-benu genovou výbavu, jsou pochopitelně mnohem stabilnější než haploidní.

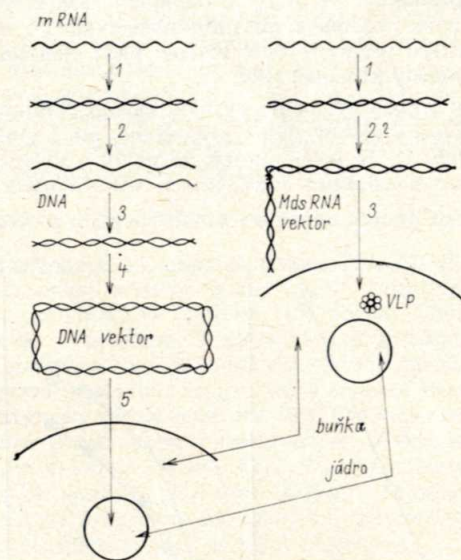
Kombinací fúze protoplastů stejného párovacího typu se selekčním postupem, využívajícím zymociny, vznikla nová metoda řízené polyplodizace, kterou označujeme jako kaskádovou fúzi protoplastů [obr. 6] [41]. Po každém hybridizačním kroku následuje „léčení“ hybridů od K^+R^+ charakteru. „Vyléčený“ hybrid (K^-R^-) může být v dalším kroku opět hybridizován se smrtící kvasinkou. Postupně tak vznikají hybridy o vyšším a vyšším počtu chromozómových sad.

Možnost využití zymocinogenních faktorů v genomovém inženýrství

V současné době jsou známy dva typy zymocinogenních faktorů: Mimochromozomální plazmidová DNA a dsRNA uvnitř virových částic. Zymocinogenní DNA z *Kluyveromyces lactis* byla již použita jako vektor pro genomové inženýrství u kvasinek [23, 24, 25]. Transformací lze tuto DNA přenášet i meziodově [26]. Lze tedy očekávat, že tyto vektory vhodně doplní dosud používané deriváty 2 μ plazmidů, které byly dosud používány v genomovém inženýrství kvasinek nejčastěji.

Druhý typ zymocinogenních faktorů by mohl být využit pro genomové inženýrství, založené na RNA vektorech, které dosud nebylo metodicky rozpracováno vzhledem k obtížím souvisejícím s rekombinací RNA in vitro. MdsRNA by jako vektor poskytla řadu výhod: obsahuje sekvence potřebné pro uvolňování produkované bílkoviny do média [obr. 1]. Řada genů z mnohobuněčných organismů je snáze izolovatelná ve formě mRNA a musí se nejprve (v klasickém genomovém inženýrství založeném na DNA) převést na DNA pomocí reverzní transkriptasy a DNA programované polymerasy DNA. Porovnání klasického systému a hypotetického RNA systému genomového inženýrství je zná-

zorněno na obr. 7. RNA systém by mohl obsahovat menší počet kroků potřebných pro dosažení cíle.



Obr. 7. Porovnání genomového inženýrství na bázi DNA s hypotetickým postupem na bázi RNA (vpravo)

Vlevo: (1) mRNA je za účasti reverzní transkriptázy kopírována do DNA, (2) denaturací se získá jednořetězcová DNA, (3) pomocí DNA-programované DNA-polymerázy se získá dsDNA, (4) rekombinací in vitro se vloží do vektorové DNA, (5) vzniknou molekulární chimérou se transformuje buňka. Vpravo: (1) mRNA se doplní na dvořetězcovou formu, (2) rekombinuje se s vektorovou dsRNA, (3) RNA-chimérou se transformuje buňka.

Zymociny odstraňující kontaminaci a patogenní kvasinky

Nejjednodušším způsobem aplikace zymocinů je využití jejich schopnosti zabít kvasinky jako kontaminanty různých průmyslových výrobků, např. nápojů. Zymociny účinné proti patogenním kvasinkám by mohly být využity i ve zdravotnictví. V písemnictví se prozatím neobjevila žádná zpráva o těchto aplikacích zymocinů, které jsou limitovány jejich velkou citlivostí k zvýšené teplotě a poměrně úzkým rozmezím pH, ve kterém si zymociny zachovávají svou smrtící aktivitu.

Závěr

Znalosti o účinku a produkci zymocinů nacházejí řadu praktických uplatnění v průmyslu. Zvýšení biologické stability výrobků, selekce nových průmyslových kmenů kvasinek, řízená polyplodizace a využití zymocinogenních faktorů v genomovém inženýrství, to jsou hlavní možnosti jejich uplatnění v praxi.

Literatura

- [1] BENDOVÁ, O. - PARDONOVÁ, B.: Kvas. prům., **24**, 1978, s. 121
- [2] BEVAN, E. A. - MAKOWER, M.: Proc. 11th Int. Congr. Genet. **1**, 1963, s. 202
- [3] BENDOVÁ, O.: Biologické listy, **48**, 1983, s. 36
- [4] NAUMOV, G. I. - THURINA, L. V. - BURJAN, N. I. - NAUMOVA, T. I.: Biol. Nauki, **16**, 1973, s. 103
- [5] PKILLISKIRK, G. - YOUNG, T. W.: Antoine van Leeuwenhoek, **41**, 1975, s. 147
- [6] VODKIN, M. - KATTERMAN, F. - FINK, G. R.: J. Bacteriol. **117**, 1974, s. 681
- [7] YOUNG, T. W. - YAGIU, M.: Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol. **44**, 1978, s. 59
- [8] WICKNER, R. B. - LEIBOWITZ, M. J.: Genetics, **82**, 1976, s. 429
- [9] PALFREE, R. - BUSSEY, H.: Eur. J. Biochem. **93**, 1979, s. 487
- [10] BUSSEY, H.: Nature New Biol. **235**, 1972, s. 73
- [11] BUSSEY, H. - SAVILLE D. - HUTCHINS, K. - PALFREE, R. Q. E.: J. Bacteriol. **140**, 1979, s. 888

- [12] BEVAN, E. A. - HERRING, A. J. - MITCHELL, D. J.: Nature **245**, 1973, s. 81
- [13] HERRING, A. J. - BEVAN, E. A.: J. Gen. Virol. **22**, 1974, s. 387
- [14] BOSTIAN, K. A. - JAYACHANDRAN, S. - TIPPER, D. J.: Cell **32**, 1983, s. 169
- [15] PHILLISKIRK, G. - YOUNG, T. W.: Antoine van Leenwenhoek, J. Microbiol. Serol. **41**, 1975, s. 147
- [16] ROGERS, D. - BEVAN, E. A.: J. Gen. Microbiol. **105**, 1978, s. 199
- [17] YOUNG, T. W. - YAGIU, M.: Antoine van Leenwenhoek, J. Microbiol. Serol. **44**, 1978, s. 59
- [18] BEVAN, E. A. - MITCHELL, D. J.: V Lemke, P. A. ed. Viruses and Plasmids in Fungi, Marcel Dekker Inc., New York, Basel, 1979, s. 199
- [19] BEVAN, E. A. - SOMERS, J. A.: Genet. Res. **14**, 1969, s. 71
- [20] KOŽINA, T. N. - ČEPUKOVÁ, O. V.: Genetika, **16**, 1980, s. 360
- [21] PŠENIČKA, I. - JANDEROVÁ, B. - BENDOŮVÁ, O. - VONDREJS, V.: Abstr. Int. Symp. on Overproduction of Microbial Products, 1981, s. 237
- [22] WICKNER, R. B.: J. Bacteriol. **117**, 1974, s. 1356
- [23] GUNGE, N. - MURATA, K. - SAKAGUCHI, K.: J. Bacteriol. **151**, 1982, s. 462
- [24] WESOŁOWSKI, M. A. - ALGERI, A. - GOFFRINI, P. - FUKUHARA, H.: Curr. Genet. **5**, 1982, s. 191
- [25] WESOŁOWSKI, M. A. - DUMAZERT, P. - FUKUHARA, H.: Curr. Genet. **5**, 1982, s. 199
- [26] GUNGE, N. - MURATA, K. - SAKAGUCHI, K.: J. Bacteriol. **151**, 1982, s. 462
- [27] LOUVENCOURT, L. - FUKUHARA, H. - HESLOT, H. - WESOŁOWSKI, M.: J. Bacteriol. **154**, 1983, s. 737
- [28] PEÑA, P. - BARROS, F. - GASKÓN, S. - RAMOS, S. - LAZO, P. S.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **96**, 1980, s. 544
- [29] PEÑA, P. - BARROS, F. - GASKÓN, S. - LAZO, P. S. - RAMOS, S.: J. Biol. Chem. **256**, 1981, s. 10420
- [30] VONDREJS, V. - GAŠKOVÁ, D. - PLÁŠEK, J. - PROSSER, V.: Gen. Physiol. Biophys. **1**, 1982, s. 435
- [31] KAGAN, B. L.: Nature, **302**, 1983, s. 709
- [32] HIANIK, T. - LAPŮTKOVÁ, G. - VONDREJS, V.: Gen. Physiol. Biophys. **3**, 1984, s. 93
- [33] MAULE, A. P. - THOMAS, P. D.: J. Inst. Brew. **79**, 1973, s. 137
- [34] YOUNG, T. W. - PHILLISKIRK, V.: Proc. EBC Nice, 1975, s. 333
- [35] SPENCER, J. F. T. - SPENCER, D. M.: Ann. Rev. Microbiol. **37**, 1983, s. 121
- [36] HARA, S. - HIMURA, Y. - OTSUKA, K.: Am. J. Enol. Vitic. **31**, 1980, s. 28
- [37] OUCHI, K. - AKIYAMA, H.: J. Ferment. Technol. **54**, 1976, s. 615
- [38] KUPCOVÁ, L.: Diplomová práce, Přír. fak., Karlova Universita, Praha, 1982
- [39] BENDOŮVÁ, O. - KUPCOVÁ, L. - JANDEROVÁ, B. - VONDREJS, V. - VERNEROVÁ, J.: Monatschr. f. Brauwiss. **36**, 1983, č. 4, s. 167
- [40] YOUNG, T. W.: J. Inst. Brew. **87**, 1981, s. 292
- [41] VONDREJS, V. - PŠENIČKA, I. - KUPCOVÁ, L. - DOSTÁLOVÁ, R. - JANDEROVÁ, B. - BENDOŮVÁ, O.: Folia biologica (Praha) **29**, 1983, s. 372

Vondrejs, V., JanderoVá, B., Bendová, O.: Využití zymocinů v průmyslu. Kvas. prům. **31**, 1985, č. 2, s. 29—33.

Zymociny (killer faktory) jsou bílkoviny produkované některými druhy kvasinek a jim podobných organismů. Charakter smrtících kvasinek, tj. schopnost produkovat zymocin a rezistence k němu, je určena dvojřetězcovou RNA anebo zřídka DNA. Zymociny usmrcují buňky citlivých kmenů kvasinek. Molekulární mechanismus účinku zymocinů a vyjádření charakteru smrtících kvasinek je podrobně popsán na několika příkladech. Přenos smrtícího charakteru mezi kvasinkovými kmeny je možný pomocí sexuální hybridizace, indukované fúze protoplastů nebo cytodukce. Smrtící kvasinky mohou být „vyléčeny“ od svého smrtícího charakteru.

Nové metody selekce, polyploidizace a konstrukce smrtících kmenů pomocí zymocinů jsou popsány. Je poukázáno na možnost použití zymocinů proti patogenním kvasinkám a kvasinkové kontaminaci průmyslových produktů. Slibným se jeví využití genetických determinant smrtícího charakteru v genovém inženýrství kvasinek.

Вондрейс, В., Яндерова, Б., Бендова, О.: Использование зимицинов в промышленности. Квас. прум. **31**, 1985, № 2, стр. 29—33.

Зимицины (киллер-факторы) представляют собой

белковые вещества, выпускаемые некоторыми штаммами дрожжей. Они убивают дрожжевые клетки, чувствительные к их воздействию. Способность выделять зимицин и стать резистентным к его воздействию детерминирует двуспиральная РНК или, в исключительных случаях, двуспиральная ДНК. Молекулярный механизм действия зимицинов и экспрессии гена, детерминирующего признак «киллер», описан подробнее с приведением нескольких примеров. Способность убивать (киллер — характер) можно передать чувствительному штамму посредством половой гибридизации, слияния протопластов или цитодукции, а дрожжи-убийцы лишит киллер-характера. Приведены новые методы селекции, полиплоидизации и конструкции штаммов-убийцев с помощью зимицинов. Показаны возможности применения зимицинов против патогенных дрожжей и дрожжей, заражающих бродильное производство. Представляется перспективным использование генетической детерминации киллер-характера в генетической инженерии.

Vondrejs, V. - JanderoVá, B. - Bendová, O.: The industrial use of zymocins. Kvas. prům. **31**, 1985, No. 2, pp. 29—33.

Killer-toxins [zymocins] are proteins produced by killer strains of yeasts and yeast-like organisms. An ability to produce a killer toxin and resistance to it (i.e. the killer-character) are determined by doublestranded RNA and only rarely by DNA. The killer-toxins kill sensitive strains of yeasts. A molecular mechanism of killer-toxin action and expression of the killer-character have been already determined in several cases. Transfer of the killer character among yeast cells is possible by means of sexual hybridization, induced protoplast fusion or cytoduction. Killer yeasts can be cured of their killer character. A new method of selection, polyploidization and killer strain construction by means of killer factor have been described. Possibility of killer toxin application against pathogenic yeast and an yeast contamination of industrial products is mentioned. The use of genetic determinants of the killer character in genetic engineering of yeasts is promising.

Vondrejs, V. - JanderoVá, B. - Bendová, O.: Die industrielle Anwendung der Zymozine. Kvas. prům. **31**, 1985, Nr. 2, S. 29—33.

Als Zymozine [Killerfaktore] sind Einweißstoffprodukte bezeichnet, die durch bestimmte Hefestämme erzeugt werden und empfindliche Hefezellen töten. Die Fähigkeit zur Zymozinproduktion und die Resistenz gegenüber ihre Wirkung wird meistens durch dsRNS oder durch ds DNS determiniert. Die molekulare Zymozinwirkungsweise und der Killerhefecharakter wurde mittels einiger Beispiele ausführlich beschrieben. Es ist möglich den Killercharakter an empfindliche Hefestämme übertragen und zwar mit Hilfe der sexuellen Hybridisierung, der induzierten Protoplastenfusion oder der Cytoduktion. Die Killerhefestämme können geheilt werden, das heißt sie können des Killercharakters loswerden.

Neue Selektionmethoden, Polyploidisierung und Killerhefestämmekonstruktion mit Verwendung der Zymozine werden in dem Artikel angegeben. Es wird auch Zymozinanwendungsmöglichkeit gegenüber pathogenen Hefen und Hefenkontamination in der Gärungsindustrie aufgeführt. Es zeigt sich auch möglich das die genetische Killercharakterdeterminante in dem sog. genetischen Engineering angewendet kann.