



# Laboratoř buněčné biologie

PROJEKT

## Mnohobuněčné kvasinky

Libuše Váchová

ve spolupráci s laboratoří Prof. Palkové (PřFUK)

Do laboratoře přijímáme studenty  
se zájmem o vědeckou práci

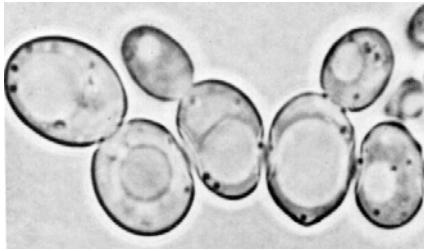
Kontakt:

[vachova@biomed.cas.cz](mailto:vachova@biomed.cas.cz)

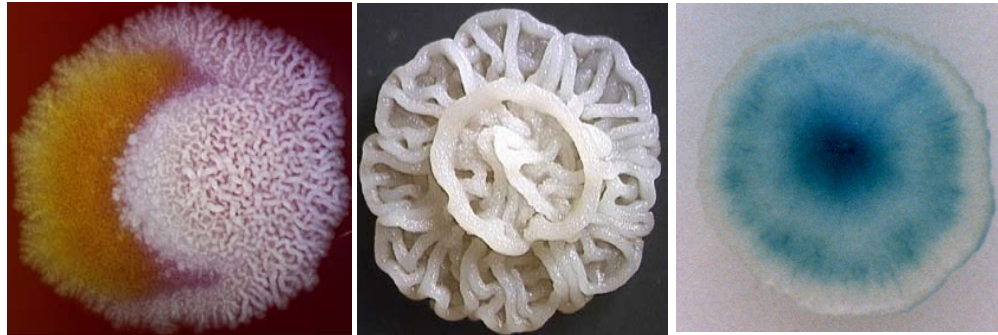


Modelový organismus:  
kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*  
= pekařské droždí

Jednobuněčný eukaryotický mikroorganismus:  
Používán jako model pro studium základních buněčných procesů



**JEDNOTLIVÉ  
KVASINKOVÉ BUŇKY**



**POPULACE KVASINKOVÉ KOLONIE**

Kvasinky jsou  
studovány na úrovni  
**jednotlivých buněk** ve  
třepaných kulturách

Kultivace za  
příznivých podmínek

V původním přirozeném ekosystému se kvasinky  
téměř nevyskytují jako jednotlivé buňky.

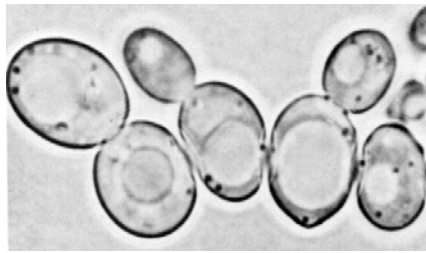
V přírodě vytvářejí různě složité **mnohobuněčné  
struktury**

Příklady: **Kolonie, biofilmy**

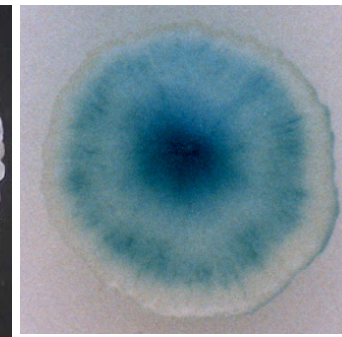
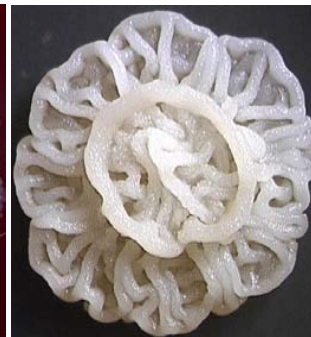
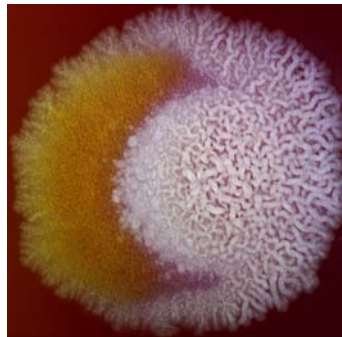
# Jaké možnosti mohou buňkám poskytnout mnohobuněčné struktury ?

Buňky populace mohou interagovat, komunikovat a synchronizovat vývoj

Buňky populace mohou diferencovat a tvořit specializované formy



**JEDNOTLIVÉ  
KVASINKOVÉ BUŇKY**



**POPULACE KVASINKOVÉ KOLONIE**

Populace se může lépe adaptovat na změny prostředí

Populace může být lépe chráněna před vlivy prostředí

Existují procesy, které jsou specifické pro mnohobuněčné populace

?

O jaké procesy jde

?

## 2 typy kmenů

Laboratorní kmeny  
*S. cerevisiae*



Tvoří hladké  
kolonie

vlastnosti shodné  
i odlišné

Přírodní divoké kmeny  
*S. cerevisiae*



Tvoří kolonie strukturované

Kmeny čerstvě izolované z přírody

Jaká je skutečnost ?

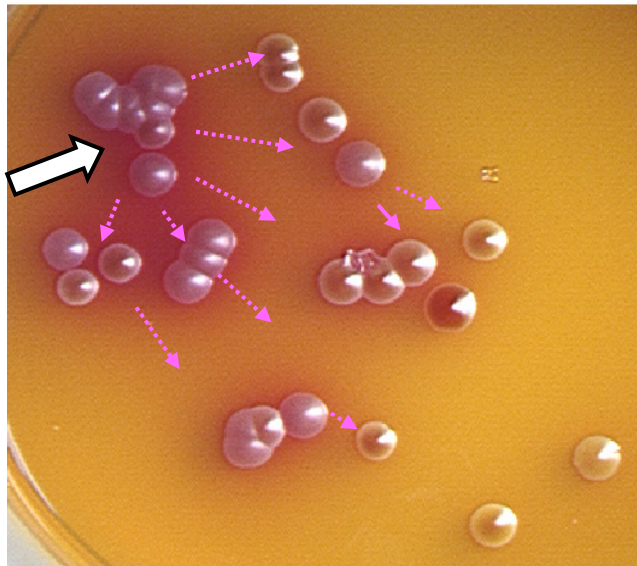




Laboratorní kmeny

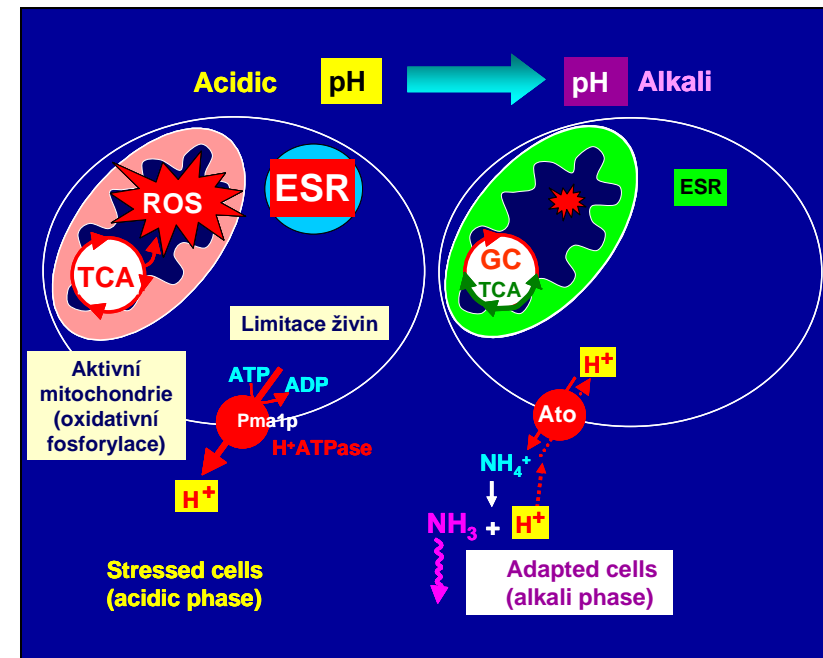
Jaké vlastnosti mají populace kolonie, které je zvýhodňují ve srovnání se samostatnými buňkami ?

Jsou schopné komunikovat  
Signální molekula: **amoniak**



Kolonie na agaru s pH indikátorem  
žluté zbarvení – kyselé pH  
fialové zbarvení – alkalické pH vyvolané  $\text{NH}_3$

Jsou schopné adaptovat  
svůj metabolismus



Populace postupně vyčerpá dostupné živiny, zvyšuje se produkce ROS  
amoniak naindukuje v buňkách změny metabolismu, které jsou výhodné pro další přežití



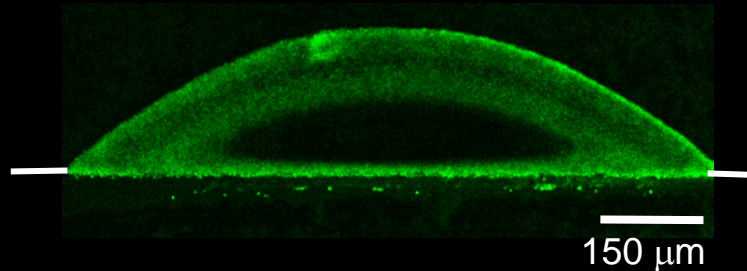
Laboratorní kmeny

## Buňky jsou schopné diferencovat v rámci populace

Vytvářejí specializované buněčné  
skupiny se speciálními funkcemi

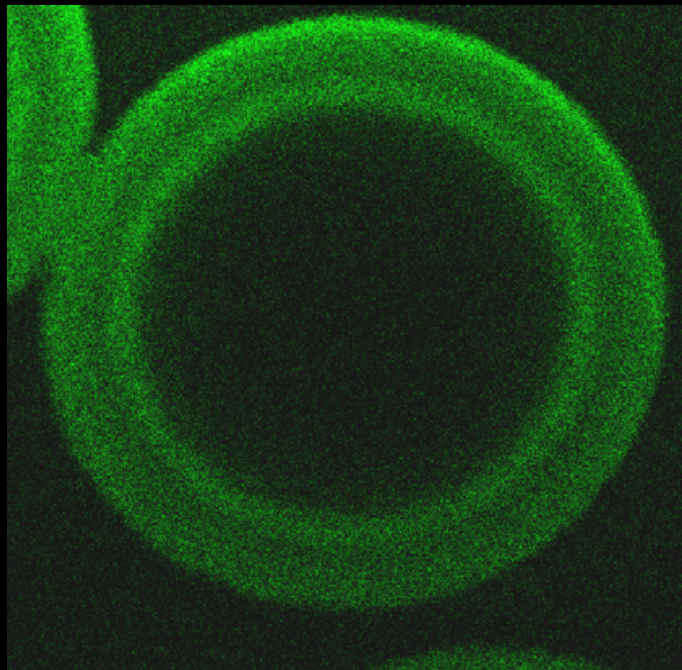
Příčný řez kolonií

pozorování  
2-fotonovým  
konfokálním  
mikroskopem



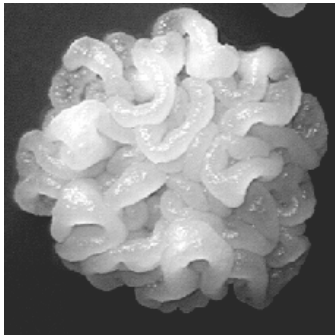
povrch agaru

150 μm



Pohled na kolonii  
zespodu

Pouze populace buněk v  
zelené oblasti kolonie  
produkuje specifický  
membránový protein,  
který je označen GFP



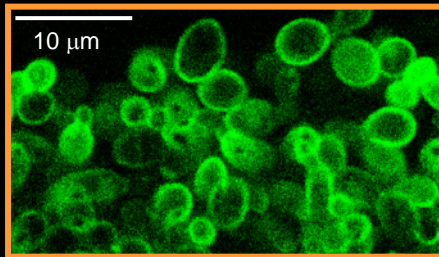
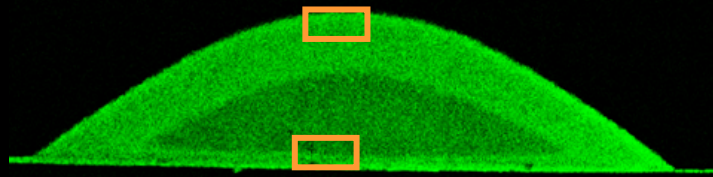
Přírodní kmeny

Žijí v méně příznivých podmínkách  
Odlišné vlastnosti ?

Vnitřní struktura kolonie je odlišná

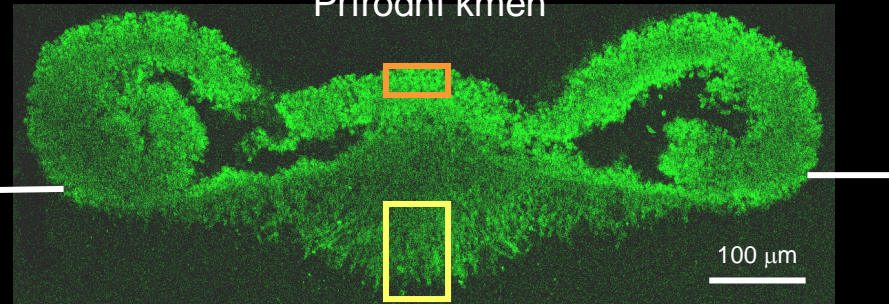
Jsou pevně přichyceny k podkladu

Laboratorní kmen

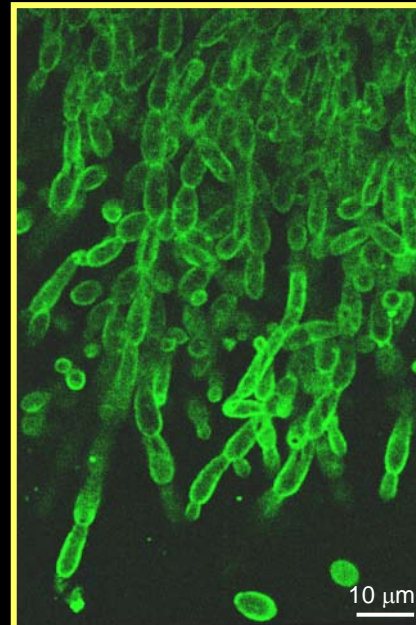


Oválné buňky  
laboratorní: celá kolonie  
přírodní: jen vrchní část

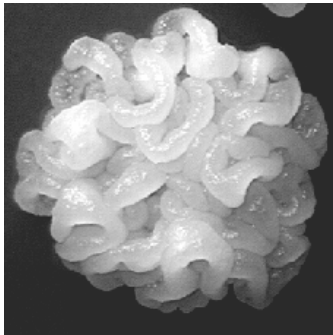
Přírodní kmen



Příčný řez kolonií



Ve spodní části vytvářejí  
struktury, jakési „kořínky“

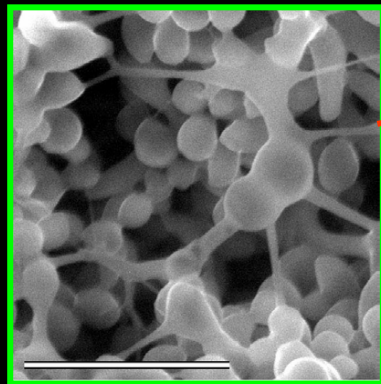


Přírodní kmeny

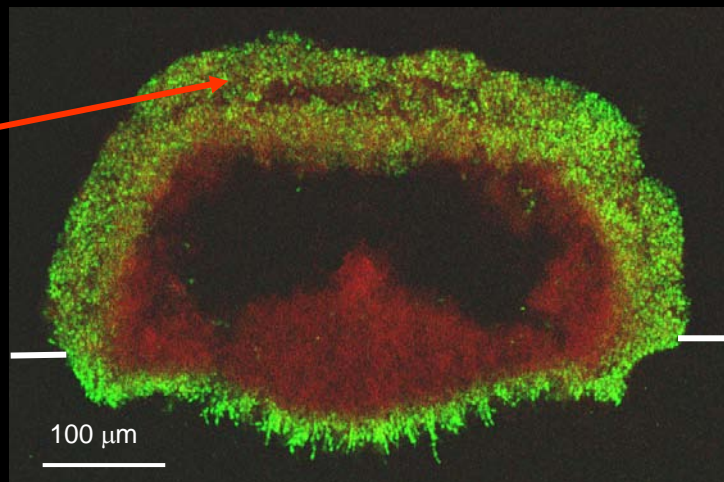
## Používají dva hlavní typy ochranných mechanismů

Produkují ochrannou extracelulární hmotu

Tvořena hlavně polysacharidy



pohled do povrchových vrstev kolonie skenovacím elektronovým mikroskopem



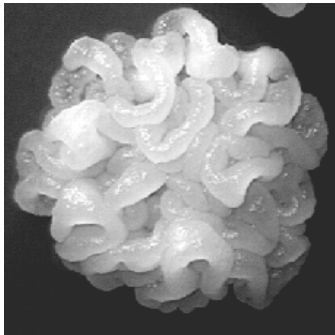
Příčný řez kolonií (38 h)

povrch agaru

Extracelulární hmota v červené oblasti je málo propustná

Zabraňuje pronikání nežádoucích látek





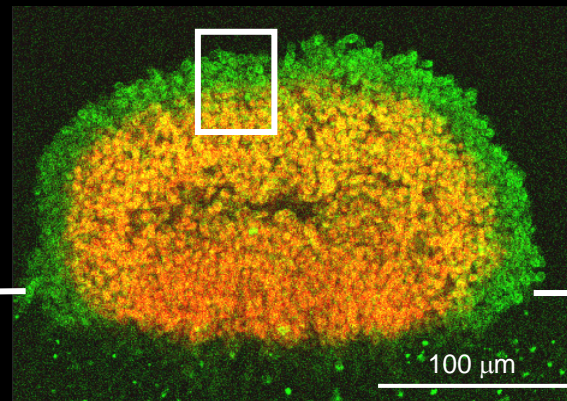
Přírodní kmeny

## Používají dva hlavní typy ochranných mechanismů

Produkují a aktivují transportéry mnohočetné lékové resistance

Konkrétně  
Pdr5p a Snq2p

Mohou odstraňovat extracelulární toxické látky

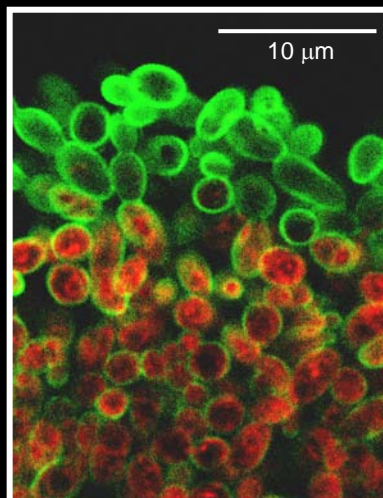


Příčný řez kolonií

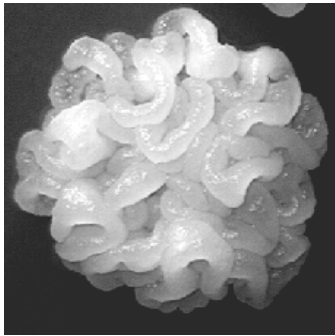
Barvení:

ConA/Nile red

povrch agaru



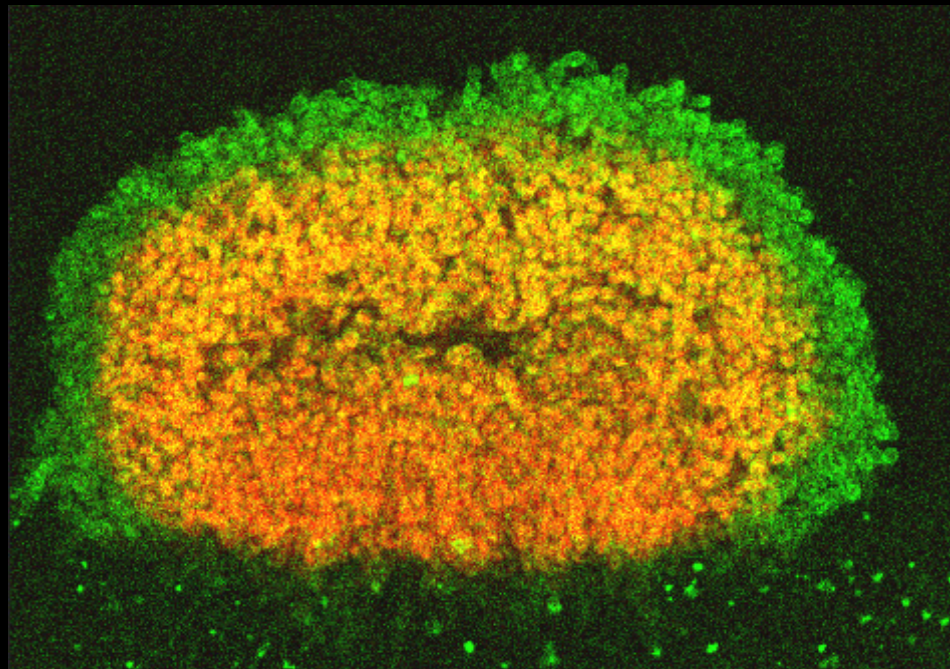
V povrchové zeleně zbarvené oblasti kolonie jsou aktivní transportéry mnohočetné lékové resistance



Přírodní kmeny

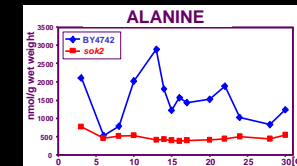
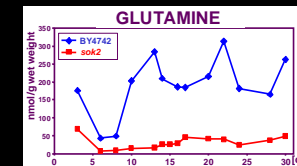
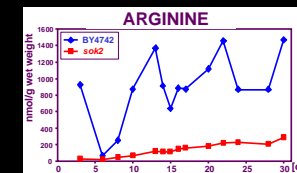
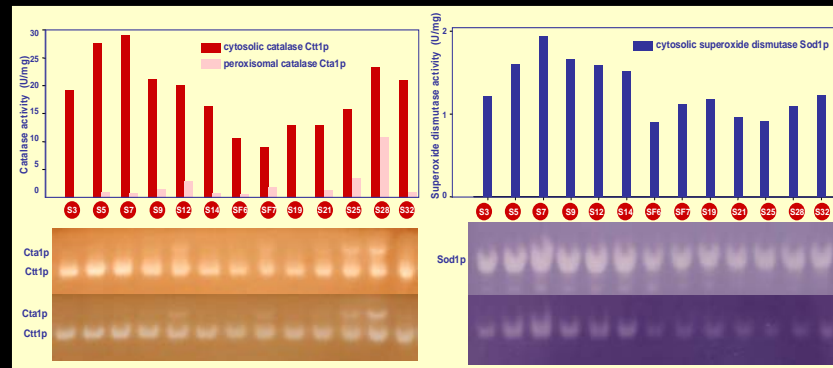
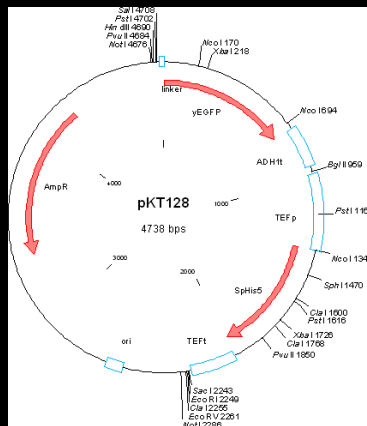
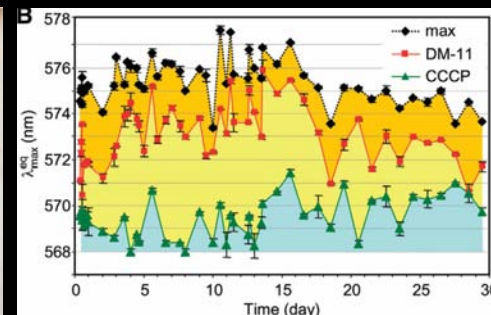
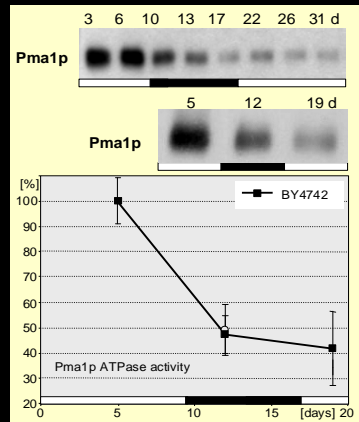
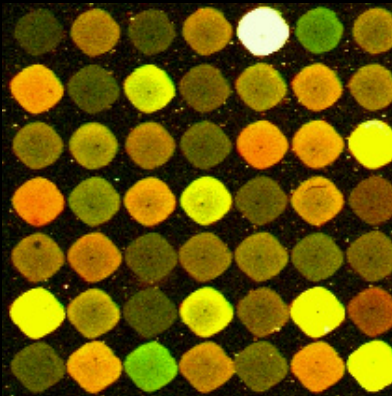
Naše představa: Oba mechanismy se doplňují  
Transportéry aktivně odstraňují škodlivé látky  
přicházející z prostředí a extracelulární hmota  
zabrání jejich průniku dovnitř kolonie.

Populace v kolonii se může nerušeně vyvíjet a  
přežívat po dlouhou dobu



# METODIKY

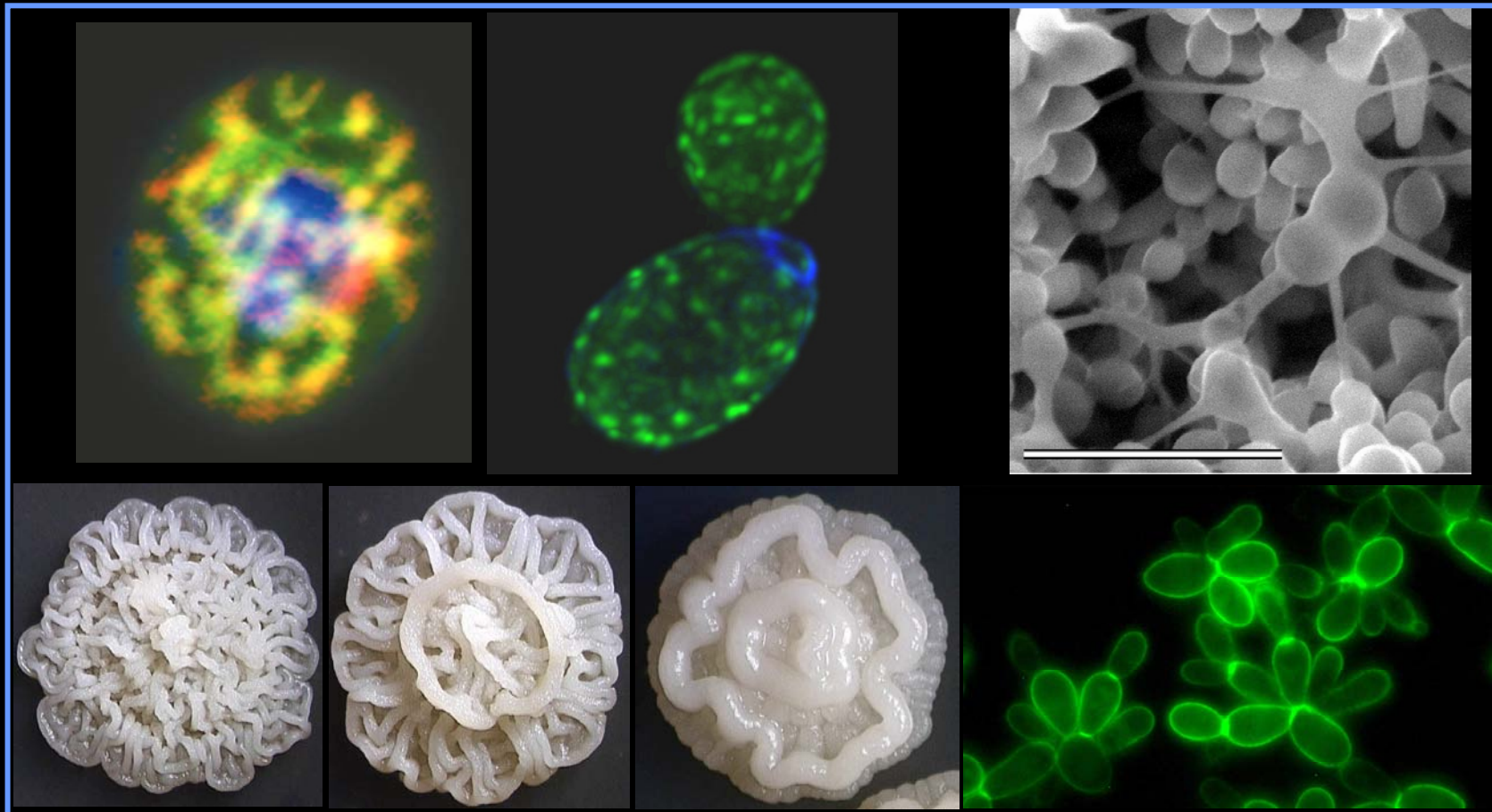
- Genetické a genové manipulace
- Analýza proteinů (elektroforéza, imunodetekce, HPLC)
- Analýza enzymů
- Microarrays - změny exprese genomu





# METODIKY

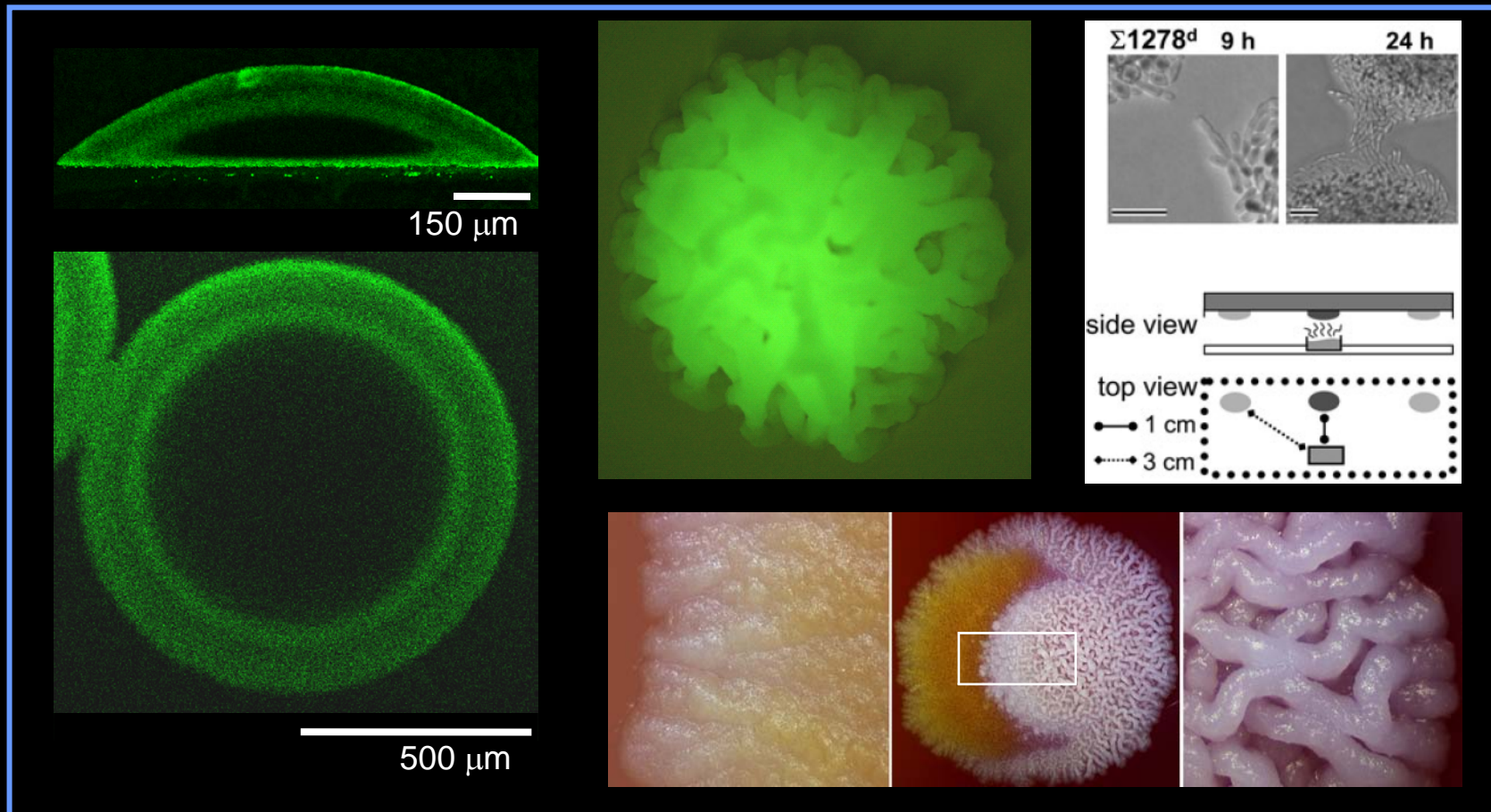
- Mikrobiologické techniky
- Konfokální a fluorescenční mikroskopie (fluorescenční proteiny, barvení)
- Elektronová mikroskopie





# METODIKY

- Speciální techniky analýzy kolonií





Děkuji za pozornost !