

Kvasac

IZVOR ZNANJA O ŽIVOTU

Igor STUPAREVIĆ, Zagreb

Iz povijesti

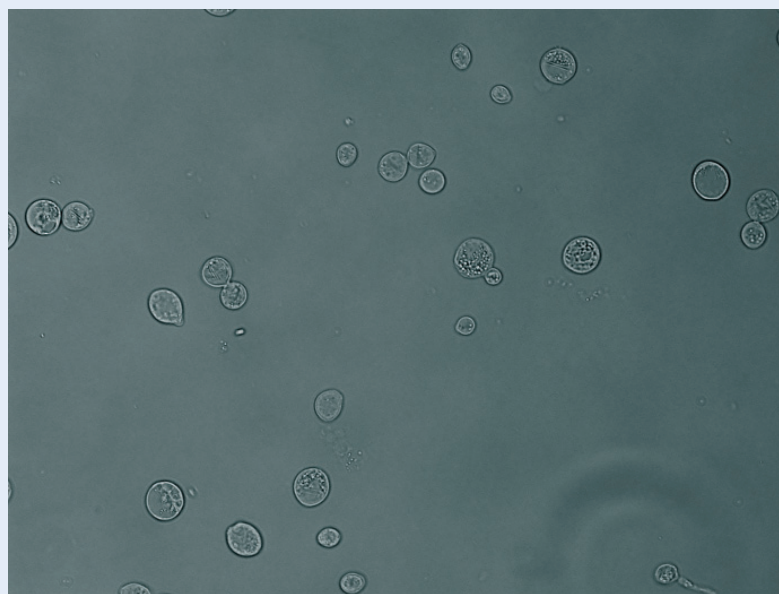
Što je prvo što nam padne na pamet kad čujemo riječ kvasac? Pivo. Kruh. Vino. Da, upravo tako. Kvasac je naš vjerni pratitelj već tisućama godina i koristi se za proizvodnju proizvoda u kojima uživamo svakodnevno. Zanimljivo je da su već Sumerani oko 6000. g. pr. Kr. koristili kvasac i proces fermentacije za proizvodnju piva i vina, a stare egipatske kulture oko 5000. g. pr. Kr. za dizanje tijesta. Isto tako postoje zapisi da su Vikinzi koristili »pivske štapiće« pri proizvodnji piva, a to su zapravo bili drveni štapići koji su sadržavali kolonije stanica kvasca. Međutim, sve te stare kulture nisu razumjele ni ulogu kvasca u proizvodnji kao niti sam proces fermentacije. Tek je 1680. godine nizozemski istraživač Anton van Leeuwenhoek promatrao pivski kvasac pomoću jednostavnog svjetlosnog mikroskopa, a 1857. godine francuski istraživač Louis Pasteur klasificirao kvasac kao fakultativni anaerob, što znači da se kvasac pri nedostatku kisika prebacuje na anaerobni metabolizam koji nazivamo fermentacija. To je proces koji stanicama kvasca omogućuje metaboliziranje šećera i proizvodnju alkohola kao nusprodukta. Latinski naziv najpoznatijeg soja kvasca je *Saccharomyces cerevisiae*, riječ *saccharomyces* prevodi se kao slatka gljivica, jer dolazi od grčkih riječi *saccharo* (šećer) i *myco* (gljivice), a riječ *cerevisiae* preveli bi kao pivski.

Što je kvasac?

Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* je eukariotski, nepatogeni mikroorganizam koji pripada carstvu gljiva. Iako postoji mnogo

različitih sojeva kvasaca najpoznatiji i najviše upotrebljavan u industrijskoj proizvodnji je soj *Saccharomyces cerevisiae*. Veličine je 5 do 10 mikrometara u promjeru i ima okrugli do ovalni oblik.

Kvasac je jednostanični organizam čija je stanična struktura slična višim eukariotima u koje pripadaju i ljudske stanice. Dvije činjenice, da je kvasac jednostanični eukariotski organizam i da su mnogi fiziološki procesi u kvascu slični procesima u ljudskim stanicama (npr. replikacija DNA, transkripcija, procesiranje RNA, stanični ciklus i njegova regulacija), čine kva-



Slika 1. Kvasac vrste *Saccharomyces cerevisiae*.

sac odličnim modelnim organizmom za znanstvena istraživanja. Drugim riječima, neke općenite zakonitosti stanične strukture i funkcije koje su otkrivene znanstvenim istraživanjima kvasca mogu se primijeniti na sve eukariotske stanice. Osim toga stanice kvasca rastu brzo (dijele se svakih 90 do 120 minuta) i lako ih je uzgojiti vrlo jednostavnim laboratorijskim tehnikama koristeći jednostavnu opremu. Važno je napomenuti da je kvasac prvi eukariotski organizam kojemu je sekvenciran cijeli genom što je učinilo genetičko inženjerstvo u kvascu još praktičnijim. Sve te činjenice učinile su kvasac jednim od učestalih mikroorganizama koji se koristi u biokemijskim, molekularno-biološkim i genetičkim istraživanjima u laboratorijima širom svijeta. Istraživanja sa stanicama kvasca dovela su do mnogih važnih spoznaja o molekularnim mehanizmima kompleksnih bioloških procesa u eukariotskim stanicama.

Kvasac u znanstvenim istraživanjima i industriji

Već 70tih godina prošlog stoljeća Leland Hartwell, dobitnik Nobelove nagrade za medicinu 2001. godine, otkrio je proteine važne za odvijanje i regulaciju staničnog ciklusa koristeći stanice kvasca. Stanični ciklus je kompleksan proces koji uključuje niz biokemijskih događaja u stanici, poput replikacije i razdvajanja DNA u jezgri stanice prije diobe. Kvasac je također uspješno korišten i za istraživanja te razumijevanje uloge telomera. Telomere su ponavljajuće sekvence DNA na krajevima kromosoma koje sprječavaju razgradnju DNA te se zna da se tijekom životnog vijeka skraćuju što utječe na starenje stanica. Yoshinori Oshumi, japanski znanstvenik, razjasnio je procese razgradnje sastojaka citoplazme u vakuolama (autofagocitoza) također koristeći kvasac. Proces autofagocitoze je stanični mehanizam normalnog obnavljanja organela, koji se uključuje i kao posljedica starenja ili stresa, ali isto tako ima ulogu u zaštiti stanica od patogena i rasta tumora. Jedna od vodećih molekularnih biologinja današnjice, Angelica Amon, s MIT-a (*Massachusetts Institute of Technology*) smatra da je kvasac idealan modelni organizam za znanstvena istraživanja molekularnih mehanizama jer omogućuje brži dolazak do spoznaja o staničnim procesima koje se onda koriste pri istraživanjima kompleksnijih procesa u stanicama viših eukariota.

Osim u znanstvenim istraživanjima, stanice kvasca koriste se u proizvodnji farmaceutskih i medicinskih biotehnoloških proizvoda. Tako je tehnologija genetičkog inženjerstva korištena kako bi se kvasac genetički izmijenio i mogao proizvoditi cjepivo za hepatitis B. Stanice kvasca se koriste i za komercijalnu proizvodnju biofarmaceutskih proteina kao što su inzulin, hemoglobin i albumin ljudskog seruma. Danas su za proizvodnju 20 % od svih proizvedenih proteina u svijetu, koji se koriste u farmaceutici, korištene stanice kvasca.

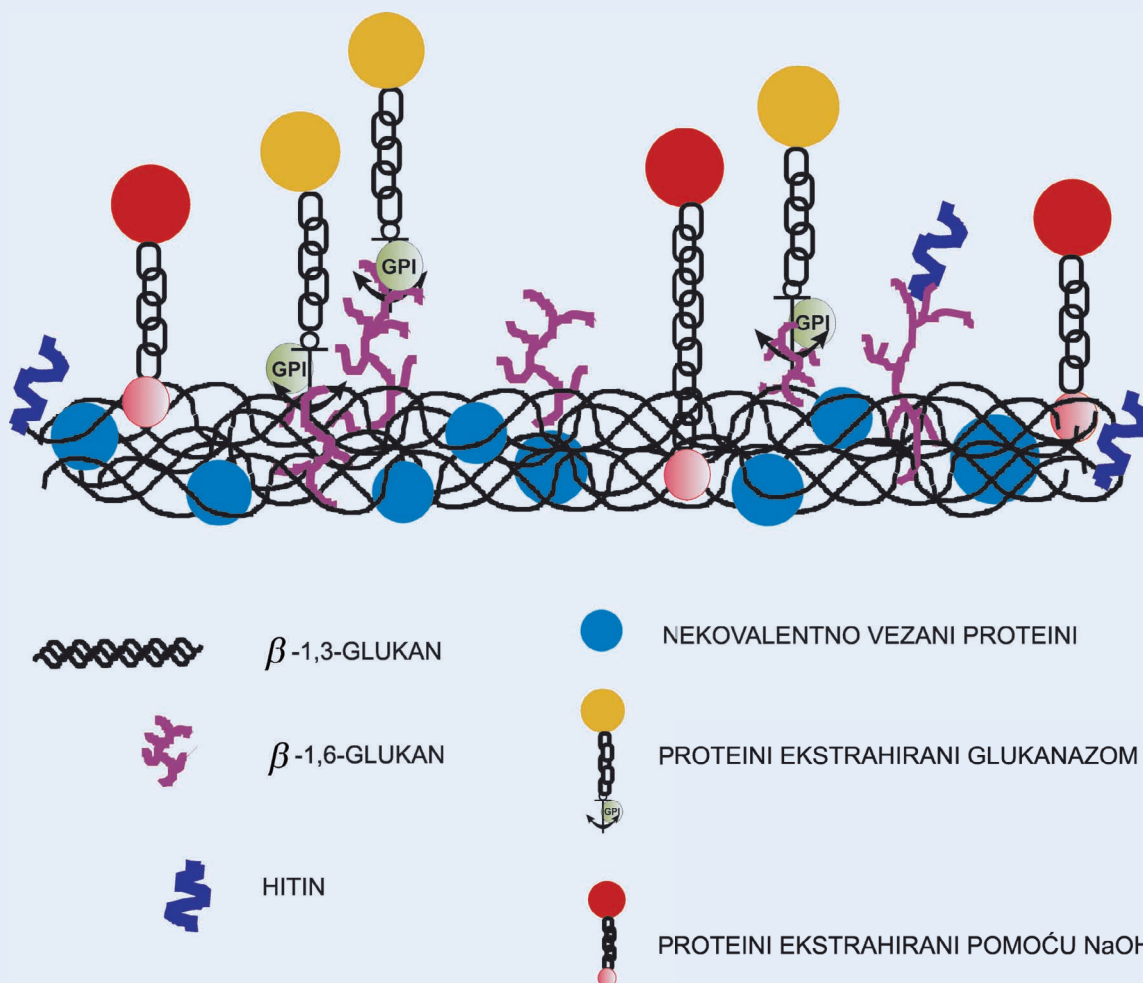
Laboratorij za biokemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta

Laboratorij za biokemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu osnovan je 1956. godine, a prvi pročelnik bio mu je prof. emeritus Pavao Mildner. On je imao ključnu ulogu za stvaranje uvjeta za istraživački rad, tada prvenstveno usmjeren na istraživanje odnosa strukture i djelovanja enzima. Stanice kvasca počele su se koristiti kao modelni organizam u Laboratoriju 1960-tih nakon usavršavanja prof. Blanke Ries, tadašnje asistentice prof. Mildnera, u Tehničkom istraživačkom centru u Finskoj, u tada novom znanstvenom području koje je nazvano biotehnologija. Od tada je kvasac *Saccharomyces cerevisiae* modelni organizam u našem Laboratoriju, a danas je jedno područje znanstvenih istraživanja struktura i biosinteza stanične stijenke kvasca čiji je glavni istraživač prof. Vladimir Mrša, a drugo područje su mehanizmi regulacije ekspresije gena u kvascu koje vodi prof. emeritus Slobodan Barbarić.

Kvasac kao modelni organizam

Stanična stijenka kvasca predstavlja ekstracelularnu strukturu koja daje mehaničku stabilnost stanici, selektivno propušta različite molekule u stanicu i iz nje te služi za komunikaciju stanice s okolinom. Proteini vezani na staničnu stijenku, tzv. glikoproteini (na proteinski lanac su vezani šećeri u procesu glikozilacije proteina) imaju bitnu ulogu u interakcijama stanice s drugim stanicama ili molekulama koje se nalaze u njejoj okolini. Kako se proteini u staničnu stijenku mogu ugraditi na različite načine i različitim vrstama veza, bitno je razumijevanje njihovih mehanizama ugradnje. Dugo vremena je identifikacija pojedinačnih proteina stanične stijenke predstavljala problem zbog onečišćenja intracelularnim proteinima prilikom mehaničkog razaranja stanica. Taj problem riješen je specifičnim obilježavanjem proteina stanične stijenke kvasca biotinom, reagensom koji neće ući u stanice, a vezat će se na proteine. Korištenjem biotinizacije identificirano je više od 30 različitih proteina koji su na strukturne polisaharide u staničnoj stijenci vezani kovalentnim ili nekovalentnim vezama. Tako veliki broj proteina dugi je niz godina zaokupljao mnoge istraživačke grupe u svijetu, a i naš je Laboratorij dao svoj doprinos u određivanju uloge tih proteina

Uz važnost određivanja uloge pojedinih proteina stijenke istraživanja su usmjerena i na staničnu stijenku kao metu za djelovanje antimikotika s obzirom na to da stijenka predstavlja vitalnu staničnu strukturu. Ta istraživanja bazirana su na inhibiciji jednog od enzima stanične stijenke (β -1,3-glukanaza) koji igra ulogu u izgradnji stijenke pa bi njegova inhibicija bila letalna za stanicu kvasca.



Slika 2. Shema građe stanične stijenke kvasca.

Stečena znanja o staničnoj stijenci kvasca omogućila su razvoj sustava imobilizacije enzima od interesa na polisaharidnu mrežu u staničnoj stijenci kvasca. Tako imobilizirani enzimi primjenjivi su u različitim sustavima u biotehnologiji poput proizvodnje farmaceutskih pripravaka ili različitih enzima za upotrebu u prehrambenoj industriji.

Drugo područje našeg istraživanja su mehanizmi regulacije procesa transkripcije gena pri čemu je fokus istraživanja na mehanizmima remodeliranja strukture kromatina pri indukciji gena. Transkripcija je proces sinteze informacijske molekule RNA (mRNA) koji katalizira enzim RNA-polimeraza. Prilikom transkripcije slijed nukleotida u novosintetiziranoj mRNA određen je slijedom na molekuli DNA i proces transkripcije čini prvi korak u procesu ekspresije gena koja u konačnici dovodi do sinteze određenog proteina. Molekula DNA u eukariotskim stanicama je u kompleksu s histonskim proteinima, odnosno u strukturi kromatina.

Regije DNA važne za početak i regulaciju transkripcije nazivaju se promotori. Danas je opće poznata činjenica da različite kovalentne i strukturne modifikacije kromatina promotorske

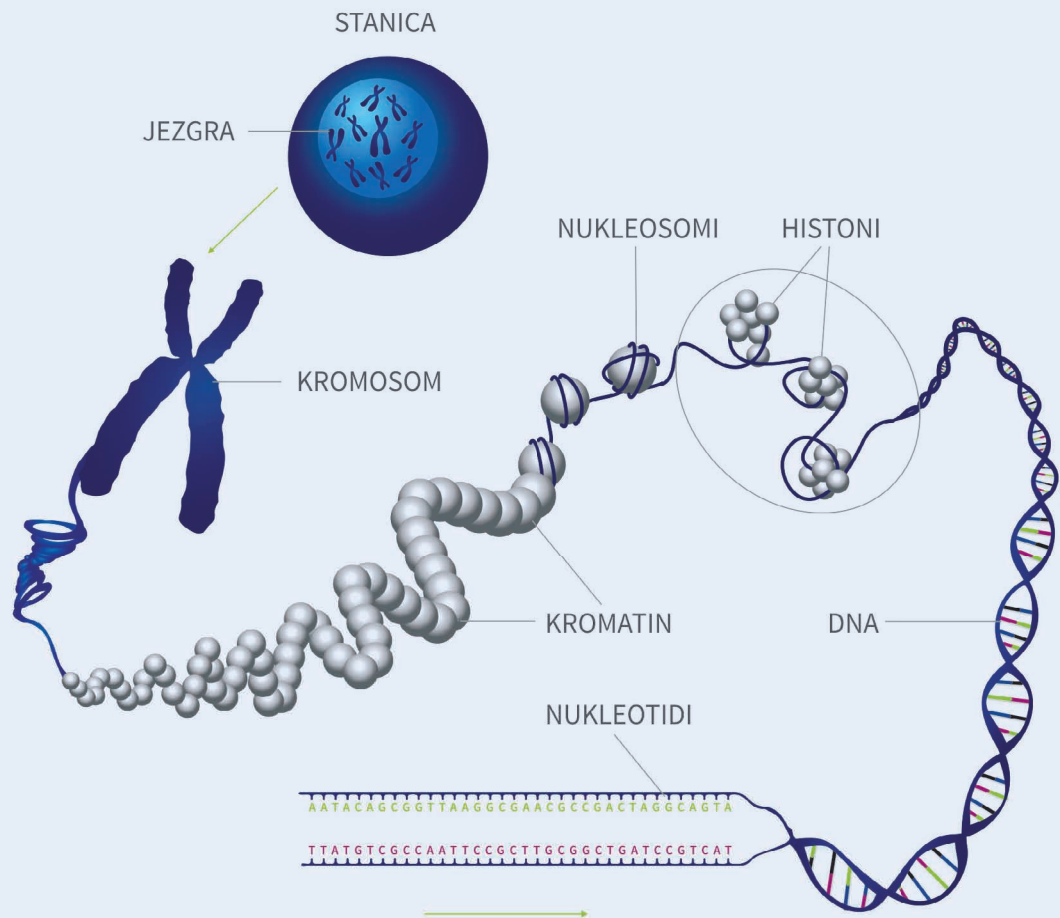
TKO JE AUTOR OVOG ČLANKA?

Dr. sc. Igor Stuparević zaposlen je kao docent u Laboratoriju za biokemiju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uže područje njegovog znanstveno-istraživačkog rada su mehanizmi i uloga nekodirajućih RNA u regulaciji transkripcije gena jer njihovo razumijevanje pridonosi znanju o molekularnim procesima koji dovode do različitih bolesti.

regije predstavljaju prvu, bitnu razinu regulacije procesa aktivacije transkripcije gena. Te razne modifikacije kromatina reguliraju dostupnost DNA, tj. mogućnost vezanja RNA-polimeraze i drugih proteina na promotor o čemu ovisi aktivacija odnosno početak transkripcije. Naša dugogodišnja istraživanja s promotorom *PHO5* kao modelnim sustavom dala su značajan doprinos spoznajama o osnovnim principima i mehanizmima procesa remodeliranja strukture kromatina pri regulaciji transkripcije.

Suvremena istraživanja usmjerena su na korištenje najnovijih tehnologija (npr. tehnologija sekvenciranja nove generacije;

Slika 3. Struktura kromatina



engl. *next generation sequencing*, NGS) jer te tehnologije značajno pridonose boljem razumijevanju složenih molekularnih procesa. A kvasac kao modelni organizam ispričat će nam još mnogo zanimljivih priča i ostati naš vjerni pratitelj još tisućama godina

Literatura

- Hoffman M. Yeast biology enters a surprising new phase, *Science* (March 20, 1992) 1210–1511.
- Chan K. C. i sur. Kinetic analysis of a molecular model of the budding yeast cell cycle, *Mol. Biol. Cell* 11 (2000) 369–391.
- Amon A. B. Unanticipated success stories: an interview with Angelika Amon, *Genetics* 198 (2014) 425–426.
- Mrša V. i sur. Specific labelling of cell wall proteins by biotinylation. Identification of four covalently linked O-mannosylated proteins of *Saccharomyces Cerevisiae*, *Yeast* 13 (1997) 1145–54.
- Teparić R., Stuparević I. i Mrša V. Incorporation of homologous and heterologous proteins in *Saccharomyces cerevisiae* cell wall, *Food Technol. Biotech.* 48 (2010) 317–328.
- Musladin S., Krietenstein N., Korber P., Barbaric S. The RSC chromatin remodeling complex has a crucial role in the complete remodeler set for yeast *PHO5* promoter opening, *Nucleic Acids Res.* 42 (2014) 4270–4282.
- Lardenois A., Stuparevic I. i sur. The conserved histone deacetylase Rpd3 and its DNA binding subunit Ume6 control dynamic transcript architecture during mitotic growth and meiotic development *Nucleic Acids Res.* 43 (2015) 115–128.