

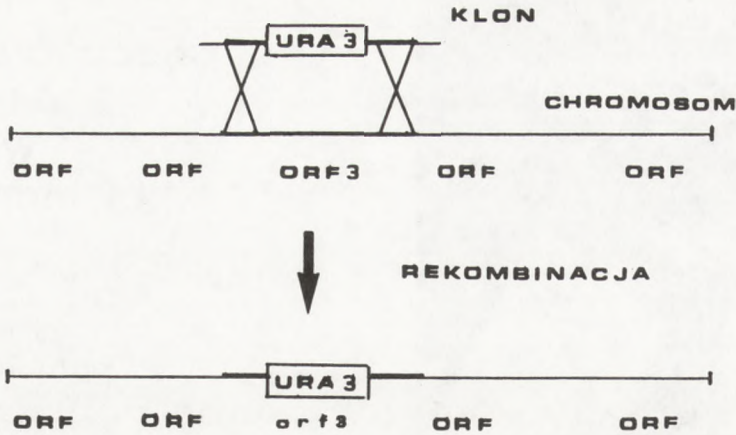


Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* w nauce i biotechnologii

Stanisław Ułaszewski
Zakład Genetyki
Instytut Mikrobiologii
Uniwersytet Wrocławski

1. Wstęp

Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* są organizmami jednokomórkowymi, należą do grzybów *Ascomycetes* (1). Stanowią ważne ogniwo w łańcuchu ewolucyjnym pomiędzy organizmami Prokaryota i Eukaryota, są także pomostem pomiędzy światem roślin i zwierząt. Pełnią funkcję idealnego modelu badawczo-biotechnologicznego. Od ponad 8000 lat drożdże są nieodłącznie związane z postępem, jaki człowiek zrobił w tym czasie (2). Można zaryzykować twierdzenie, że świat byłby z pewnością inny i być może bardziej nieszczęśliwy bez drożdży. Nie byłoby, ani chleba w jego obecnie akceptowanej formie, ani piwa i wina w różnych odmianach (3). W 1982 r. wyprodukowano na świecie 171 milionów ton piwa, wina i chleba (4). Nazwiska słynnych uczonych, takich jak Gay-Lussac, Lavoisier, van Leeuwenhock, Buchner, Parnas, Embden, Meyerhoff, Harden, Young i wreszcie Pasteur, który położył podwaliny współczesnej biotechnologii są związane z badaniami drożdży. Od 10



Rys. 1. Zamiana genu. Mutacja może dotyczyć przykładowo genu ORF3 (*open reading frame* — otwarta ramka odczytu) lub każdego innego genu. W zrekombinowanym klonie zawierającym gen ORF3 *in vitro* usunięto część sekwencji i zastąpiono selekcyjnym markerem, w tym wypadku URA3. Komórki drożdży z dzikim genem ORF3 transformuje się fragmentami DNA zawierającymi funkcjonalnie zniszczony gen ORF3. Dzięki selekcji w kierunku prototrofii Ura⁺ przeżywają tylko te transformanty w których część sekwencji dzikiego genu ORF3 posłużyła jako miejsce homologicznej rekombinacji. Wszystkie różnice jakie wynikają z porównania fenotypu komórek dzikiego szczepu ORF3 i mutantu *orf3* dostarczają informacji odnośnie do funkcji produktu dzikiego genu ORF3.

lat drożdże stopniowo wyparły bakterię *Escherichia coli*, jako model badawczy bardziej praktyczny i uniwersalny (5). W ostatnich latach dużym zaskoczeniem było odkrycie w komórkach drożdży licznych białek i struktur subkomórkowych, które są obiektem intensywnych badań w komórkach ssaków. Należy do nich zaliczyć kalmodulinę, klatrynę, myozynę, aktynę, tubulinę, produkty onkogenów, peptydowe czynniki wzrostowe. Elementy retrowirusów, transportowe ATPazy, permeazy, proteazy, kinazy białkowe, feromony i regulatory cyklu komórkowego, mitochondria, wakuole, wrzeciono podziałowe, błonę komórkową i aparat Golgiego (6,7,8). Funkcje tych białek i struktur komórkowych mogą być badane dzięki mutagenzie ukierunkowanej i niszczeniu *in vitro* wyizolowanych genów drożdżowych (8,9). Dzikie geny można zastąpić zmutowanymi wykorzystując wyjątkową właściwość, jaką jest niezwykle wydajna homologiczna rekombinacja *in vivo* pomiędzy genomem drożdży, a linearnymi fragmentami DNA (rys. 1) wprowadzonymi dzięki transformacji do komórek drożdży (10). Aby dobrze zrozumieć rolę drożdży w nauce i biotechnologii należy zastanowić się, dlaczego są one doskonałym modelem badawczym, i doskonałym organizmem przemysłowym.

Po pierwsze, cykl życiowy drożdży (11) stwarza możliwość badania mechanizmów dziedziczenia oraz ulepszania szczepów metodami klasycznej genetyki dzięki rekombinacji chromosomalnej w trakcie mejozy i mitozy (11,12,13,14,15,16) oraz metodą fuzji protoplastów (17,18).

Po drugie, łatwość manipulowania genetycznego (19,20) i molekularnego (21,22,23) oraz różnorodność technik transformacji (21,22,24,25,26) sprawia, że drożdże są szczególnie użytecznym gospodarzem w molekularnym klonowaniu obcych genów, do zastosowań przemysłowych (27,28,29). Metodami inżynierii genetycznej można je zaprogramować w kierunku syntezy nowych i wartościowych białek, można ulepszać stare szczepy i konstruować nowe dla fermentacji przemysłowej, zmieniając szlaki metaboliczne (14,16,30,31). Ponadto, jako Eukaryota drożdże prowadzą w swoich komórkach liczne posttranslacyjne modyfikacje białka, takie jak fosforylacja, acylacja, glikozylacja, ograniczona proteoliza (32,33,34). Procesy te nie zachodzą w komórkach bakteryjnych.

Po trzecie, metabolizm komórek drożdży pozwala na badanie genetycznej determinacji enzymów łańcucha oddechowego i biogenezy mitochondriów (20,35,36,37,38,39,40,41). Synteza i regulacja enzymów łańcucha oddechowego jest pod kontrolą dwóch systemów genetycznych, genów jądrowych i mitochondrialnych (42,43,44,45). W obecności mutacji prowadzącej do zablokowania oddychania tlenowego drożdże uruchamiają alternatywną drogę uzyskiwania energii — fermentację. U innych organizmów uszkodzenie łańcucha oddechowego jest efektem letalnym, stąd też badania takie są niemożliwe.

Wreszcie należy podkreślić łatwość operowania dużymi populacjami komórek oraz ich niepatogenność dla człowieka, co ułatwia na dużą skalę syntezę produktów spożywczych i farmaceutycznych wolnych od toksycznych zanieczyszczeń (3,28).

2. Genom drożdży *Saccharomyces cerevisiae*

2.1. Genetyczny system jądrowy

Aparat genetyczny drożdży zlokalizowany jest w jądrze (46), mitochondriach (44) i cytoplazmie komórki (47,48,49,50). Haploidalna komórka zawiera zestaw 16 chromosomów różnej wielkości od 200 do 2200 kb (*kilobase pairs* -kilopar zasad) plus pojedynczy gen zlokalizowany na 17 chromosomie. Całkowita długość mapy genetycznej genomu drożdży wynosi około 4500 cM, a jej fizyczna długość około 14 000 kb (46,51,52). Rozpatrując relację pomiędzy mapą fizyczną i genetyczną stwierdzono, że przeciętny wskaźnik dla tej zależności mieści się w granicach 2,5 – 3,2 kb/cM (46,51), a przeciętny wskaźnik rekombinacji dla pary markerów wynosi 0,63 cM/Kb (46). Do połowy 1993 r. zmapowano około 800 genów, co stanowi 15% przewidywanej liczby 6500 wszystkich genów (53). Większość genów należących do genomu drożdży nie ma większego wpływu na wzrost i podziały komórek (54). Podana charakterystyka genomu nie obejmuje transpozonów Ty, które występują w różnych miejscach i w różnej liczbie w zależności od szczepu drożdży (55).

2.1.1. Sekwencjonowanie genomu

Sekwencjonowanie genomu drożdży* budzi duże zainteresowanie zarówno z naukowego, jak i przemysłowego punktu widzenia. Sekwencję porównuje się ze słownikiem, w którym można znaleźć wybrane słowa. Dlaczego do sekwencjonowania wybrano genom drożdży? W porównaniu do innych organizmów eukariotycznych genetyka, biochemia i biologia molekularna drożdży jest najlepiej rozwinięta, a co więcej są one wykorzystywane na dużą skalę w przemyśle. Poznanie sekwencji genomu drożdży w połączeniu z techniką rekombinacji DNA i klonowaniem genów otworzy nowe praktyczne możliwości zastosowań biotechnologicznych. Ponadto, drożdże mają najmniejszy genom (14 000 kb), który jest 200 razy mniejszy od genomu ludzkiego (3 000 000 kb). Obecnie zakończono sekwencjonowanie chromosomu III (57), a na ukończeniu jest sekwencja chromosomu II. Całkowita realizacja projektu przewidziana do końca XX w. może być przełomem w biologii i medycynie XXI w. Tak zatem, znajomość sekwencji genomu komórki drożdżowej, a w przyszłości ludzkiej, pozwoli na ich porównanie i znalezienie wspólnych lub podobnych genów. W konsekwencji przyczyni się to do bezpośredniej identyfikacji funkcji genów ludzkich oczywiście pod warunkiem, że będzie ona znana dla podobnych genów drożdżowych. Dzięki genetycznej metodzie specyficznego niszczenia genów drożdżowych będzie można ustalić, czy ich funkcja jest niezbędna dla życia komórki. Jeśli tak, to konstruowanie szczepów z mutacjami temperaturowrażliwymi w tych genach pozwoli na precyzyjniejsze badanie fenotypu mutantów i funkcji poszczególnych genów. Przykładem mogą być genetyczne manipulacje z onkogenem RAS2 VAL¹⁹, mutacja ta wiąże się z rakiem pęcherza moczowego u ludzi (58).

2.2. Genetyczny system mitochondrialny

DNA mitochondrialny stanowi około 15% całej puli DNA komórki drożdżowej. Haploidalna komórka zawiera około 50 cząsteczek mitDNA, a diploidalna dwukrotnie więcej (44). Kolisty cząsteczek mitDNA długości 21 – 25 μm zawierają 78 – 85 $\times 10^6$ nukleotydów z przewagą par A:T (44,45). Analiza informacji genetycznej mitochondrialnego genomu wykazała, że tylko 35,4%

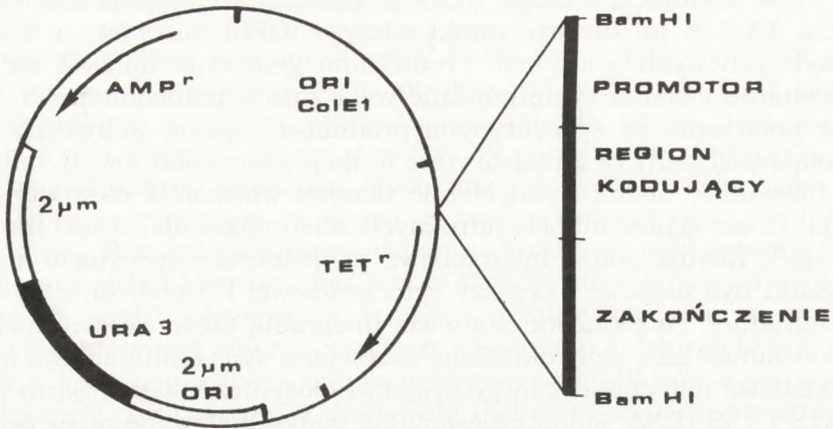
* Autorem obecnie realizowanego projektu programu sekwencjonowania genomu komórki drożdżowej jest Andre Goffeau z Uniwersytetu w Louvain-la-Neuve w Belgii (56). Koordynatorem programu sekwencjonowania od strony naukowej jest S. Oliver z Uniwersytetu w Manchesterze w W. Brytanii, a koordynatorem prac poszukiwania funkcji genów o znanej już sekwencji nukleotydów jest P. Slonimski z Instytutu CRNS w Gif-sur-Yvette we Francji. Centrum komputerowe i baza danych sekwencjonowania pod kierunkiem Y. Mewes mieści się w Monachium w Niemczech. W programie sekwencjonowania biorą udział 34 laboratoria z państw EWG. Koszty całego przedsięwzięcia szacuje się na 50 mln \$. Są one rozłożone na Europę, Japonię i USA. W Europie projekt jest finansowany głównie przez EWG w ramach dużego programu „BAP TO BRIDGE”, oraz przez liczne firmy między innymi Gist-Brocades (Delft), Ciba-Geigy (Basel), Carlsberg Laboratory (Copenhagen) i Artois (Leuven).

stanowi część kodującą, z czego 16,2% przypada na ekspresję genów strukturalnych, 15,3 % na otwarte ramki odczytu (OFR) intronów, a 3,9 % na ORF międzygenowych sekwencji. Produktami genowymi mitDNA są kwasy rybonukleinowe i białka syntetyzowane wyłącznie w mitochondriach. Produkty te w połączeniu ze specyficznymi produktami genów jądrowych tworzą system odpowiedzialny za 2 podstawowe funkcje mitochondriów, tj. mitochondrialną biosyntezę białka i oddychanie tlenowe włącznie z oksydacyjną fosforylacją. Część genów mitochondrialnych zidentyfikowano dzięki mutacjom mit^- i ant^R . Kodują one 1 hydrofobową podjednostkę apocytochromu b, 3 podjednostki hydrofobowe oksydazy cytochromowej i 3 podjednostki ATPazy mitochondrialnej. Podjednostki stanowią integralną część wewnętrznej błony mitochondrialnej. Inne geny określone mutacjami syn^- i ant^R kodują niektóre części składowe mitochondrialnego systemu biosyntezy białka. Są to podjednostki 21S i 15S rRNA, jedno rybosomalne białko kodowane przez gen *var1*, jedna podjednostka NADH dehydrogenazy oraz 25 różnych tRNA (44,45,59).

2.2.1. Informacja genetyczna cytoplazmy

Z punktu widzenia rekombinacji DNA *in vitro* drożdże mają zdecydowaną przewagę nad innymi organizmami eukariotycznymi ponieważ jako jedyne mają w cytoplazmie dużą liczbę kopii (50 – 100) autonomicznie replikującego się dwuniciowego 2 μ m DNA tzw. plazmidu *Scp* (*Saccharomyces cerevisiae* plasmid) (47,48). Jego sekwencję stanowi 6218 bp (49). Unikatową właściwością struktury tego plazmidu jest obecność dwóch dokładnie odwróconych powtórzeń sekwencji o długości 599 bp. Plazmid ten występuje w 2 izomerycznych formach A i B i ma pojedynczy, obejmujący 350 bp bardzo wydajny początek replikacji (*ori*). Replikacja *Scp* jest pod kontrolą cyklu komórkowego. Fragment plazmidu zawierający *ori* został wykorzystany do konstrukcji innych plazmidów, między innymi wektorów wahadłowych (60,61,62). Analiza sekwencji plazmidu *Scp* wskazuje na potencjalną możliwość kodowania białek (49). Jednak funkcja biologiczna tych produktów translacji nie jest poznana, a postulowany udział w biogenezie błon i mechanizmie wielorakiej oporności komórek na inhibitory metabolizmu (48) nie został potwierdzony.

Niektóre szczepy drożdży zawierają w cytoplazmie komórek spleciony w helisę dwuniciowy kwas rybonukleinowy (dsRNA). Jest to tzw. czynnik „killero-owy” warunkujący syntezę substancji białkowych (toksyn), które są toksyczne w stosunku do innych drożdży tego samego lub innego gatunku, a czasem także grzybów należących do innych rodzajów (50). Ponadto, w cytoplazmie komórek drożdżowych mogą występować inne genetyczne determinanty modyfikujące supresję (czynnik ψ) (63), i oporność na inhibitory (czynniki π i τ) (48,64).



Rys. 2. Wahadłowy wektor do efektywnej ekspresji obcych białek w komórkach drożdży.

Przykład typu wektora, który może z dużą wydajnością transformować zarówno komórki *E. coli*, jak też i komórki drożdży *S. cerevisiae*. Skonstruowano go wychodząc z sekwencji 2 μ m plazmidu drożdży i plazmidów pochodzenia bakteryjnego. System selekcji w komórkach *E. coli* zapewniają geny Amp^R i Tet^R warunkujące oporność na antybiotyki, natomiast w komórkach drożdży selekcja zależy od genu $URA3$ i dotyczy syntezy uracylu. Odpowiednie sekwencje rozpoznawane przez enzymy restrykcyjne zapewniają możliwość manipulacji genetycznych *in vitro*. Kasetka ekspresyjna zakończona sekwencjami nukleotydów rozpoznawanych przez restryktazę *Bam* HI, ułatwia wprowadzenie i ekspresję obcego genu do wektorów tego typu.

3. Rekombinowanie i klonowanie DNA w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae*

3.1. Wektory

Genetyczne zaprogramowanie komórek drożdży mające na celu produkcję obcych białek obejmuje kilka etapów. Pierwszy, dotyczy konstrukcji i wyboru odpowiednich plazmidowych wektorów pełniących rolę transportera obcego DNA do komórki gospodarza (21,22). Wektory te to dwuniciowe koliste cząsteczki DNA osiągające wielkość nawet do 20 kb. Idealny wektor zbudowany jest z 2 części: eukariotycznej i prokariotycznej, dzięki czemu może on występować zarówno w komórkach drożdży jak i bakterii (23,60,61,62). Wektorem może być cząsteczka DNA dobrze scharakteryzowana genetycznie i fizycznie, która potrafi wnikać do komórki biorcy. Istnieją wektory, które replikują autonomicznie w komórce biorcy, inne integrują do chromosomu. Replikacje wektorów zapewniają odpowiednie sekwencje nukleotydów (ori i ARS) kontrolowane i regulowane przez komórkę gospodarza (60). Dobry wektor (rys. 2) używany do ekspresji obcych genów w komórkach drożdży oprócz typowych dla wektora cech (początek replikacji, markery selekcyjne, odpowiednie sekwencje rozpoznawane przez enzymy restrykcyjne) powinien także charakteryzować się następującymi właściwościami:

- transformować komórki gospodarza z dużą częstotliwością,
- w zależności od potrzeb występować w komórkach w dużej lub małej liczbie kopii,
- wykazywać niską segregację w trakcie podziałów komórkowych, co decyduje o jego stabilności.

Aby osiągnąć bardzo wysoką stabilność klonowanego genu stosuje się wektory integrujące do genomu drożdży (62).

3.1.1. Regulacja ekspresji

W celu osiągnięcia dobrej ekspresji klonowanego genu należy wektor wyposażyć w jeden lub kilka silnych promotorów, tak aby wstawiając w ich sąsiedztwo fragment obcego DNA można było liczyć na wydajną ekspresję klonowanych genów (27,28). Promotory są raczej specyficzne w swoim działaniu, dlatego też promotory wyższych organizmów eukariotycznych wykazują małą efektywność w komórkach drożdży. W związku z tym do ekspresji obcych genów w komórkach drożdży stosuje się typowe homologiczne promotory drożdżowe (28). Do najczęściej stosowanych należą promotory genów: dehydrogenazy glicero-3-fosforanu (PGD1), kinazy glicero-fosforanu (PGK1), enolazy (ENO1), dehydrogenazy etanolowej (ADR2), galaktokinazy (GAL1), fosfatazy (PHO5).

Przykładowo promotory PGD1, PGK1, ENO1 (27,28) cechuje bardzo silna ekspresja w komórkach drożdży rosnących w obecności glukozy lub w przypadku promotora GAL1-galaktozy. Tak też stężeniem cukru można regulować ekspresję wymienionych promotorów. Są one odpowiednie dla regulacji produktów fermentacji na dużą skalę lub też syntezy ludzkiego interferonu α . Przeciwnie, promotor dehydrogenazy etanolowej II (65) jest nieaktywny przy dużym stężeniu glukozy i bardzo aktywny przy jej niskim stężeniu.

Stwarza to optymalne warunki dla ekspresji obcych genów i produkcji białek po zakończeniu wzrostu komórkowego przy niskim stężeniu cukru. Jest to bardzo użyteczny system dla syntezy i sekrecji ludzkiego hormonu stymulującego wzrost naskórka, EGF (28). Inna możliwość, to zastosowanie systemu regulowanego zmianami temperatury do produkcji obcych białek na dużą skalę. Wtedy to rolę gospodarza pełnią komórki temperaturowrażliwego mutantu, które w podwyższonej temperaturze przypominają komórki diploidalne i w których nie dochodzi do ekspresji α lub α specyficznych produktów genowych komórki (28). Rozważając problem ekspresji genów w komórkach drożdży należy podkreślić, że komórki te z wyjątkiem *Schizosaccharomyces pombe*, są niezdolne do enzymatycznej obróbki obcych genów mozaikowych (66,84).

3.1.2. Sekrecja obcych białek

Z ekonomicznego punktu widzenia ważne jest aby produkt klonowanego genu był wydzielany z komórek na zewnątrz do środowiska. Ułatwia to izolację

i oczyszczanie białek oraz zapewnia większą wydajność w procesie ciągłej fermentacji. Mechanizm sekrecji białek w komórkach drożdży podobny jest do mechanizmu wydzielania, jaki ma miejsce w komórkach wyższych organizmów eukariotycznych (67). Aby uzyskać dobrą sekrecję produktu klonowanego genu należy wprowadzić do wektora odpowiednie sygnały, tj. sekwencje nukleotydów pochodzące z genów kodujących egzoproteiny — białka drożdżowe wydzielane na zewnątrz komórki. Należą do nich inwertaza, kwaśna fosfataza lub feromon płciowy α (11,68). Doskonały model genetyczno-biochemiczny pozwalający lepiej zrozumieć mechanizm sekrecji białek w komórkach drożdży *Saccharomyces cerevisiae* opisał Schekman i wsp. (67). W początkowej fazie białka wnikają do endoplazmatycznego retikulum, gdzie dochodzi do wstępnego procesu glikozylacji. Około 9 produktów genów SEC wymaganych jest do transportu białek do aparatu Golgiego, gdzie ponownie dochodzi do glikozylacji. Kilka produktów genowych ułatwia upakowanie glikolizowanych białek do pęcherzyków sekrecyjnych, które są następnie przemieszczane do pączkującej komórki, gdzie dochodzi do fuzji z błoną komórkową przy udziale co najmniej 10 innych produktów genowych (67). Aparat Golgiego odgrywa kluczową rolę w procesie sekrecji. Z niego bowiem proenzymy są transportowane do wakuoli w celu proteolitycznej obróbki, a białka sekrecyjne są pakowane do pęcherzyków sekrecyjnych (67). Sygnały, które decydują o wyborze jednej z wymienionych możliwości nie są jeszcze dobrze poznane. Na bazie feromonu α Brake i wsp. (69) opracowali metodę sekrecji obcych białek z komórek drożdży. Drożdże typu koniugacyjnego α produkują i wydzielają na zewnątrz feromon α — peptyd zbudowany z 13 aminokwasów (70). Peptyd ten wiąże się ze specyficznymi receptorami na powierzchni komórek przeciwnego typu koniugacyjnego α , powodując zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G1 (71). Jest to niezbędny warunek zlania się komórek. Odwrotnie, komórki typu koniugacyjnego α wydzielają zbudowany z 11 aminokwasów feromon α , który z kolei przyłącza się do komórek α w celu indukcji procesu koniugacji (72). Feromon α jest syntetyzowany w postaci prekursora białkowego zbudowanego ze 165 aminokwasów, włącznie z sekwencją liderową 85 aminokwasów. Sekwencja liderowa ma charakter dwudomenowy i wraz z sekwencją przerywnikową α faktora zawiera sygnał konieczny do proteolitycznej modyfikacji białka i jego wydzielania z komórki (70). System genetyczny obejmujący wektor z genem kodującym obce białko w połączeniu z sekwencją liderową feromonu α umożliwia sekrecję obcego produktu z komórek drożdży. Tak skonstruowany system genetyczny został z powodzeniem wykorzystany do produkcji i sekrecji kilku białek pochodzenia ludzkiego w komórkach drożdży. Do najważniejszych należy zaliczyć (EGF) hormon stymulujący wzrost naskórka (69), hormon wzrostu (73), białko aktywujące tkankę łączną (74), interferon- α (75), interleukinę-2 (76) i proinsulinę (77). Aby osiągnąć ekspresję obcych genów w komórkach drożdży wprowadza się do wektora tzw. system kasetowy (28) zawierający klonowany gen, odpowiedni promotor drożdżowy i sekwencje kończące transkrypcję genu (rys. 2).

3.2. Transformacja

Zabieg rekombinowania DNA *in vitro* nabiera sensu, wtedy gdy nową kombinację materiału genetycznego można wprowadzić do komórek gospodarza, a często dopiero, wówczas gdy uzyskamy ekspresję zrekombinowanych genów w tych komórkach. Jedną z pierwszych klasycznych metod transformacji komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* polegała na dodaniu zrekombinowanego wektora do zawiesiny uprzednio przygotowanych sferoplastów (21,22). Tą metodą można było uzyskać od 3000 do 50 000 transformantów na 1 μg DNA. Następnie uproszczono metodę transformacji omijając etap sferoplastyzacji dzięki zastosowaniu LiCl i glikolu polietylenowego w celu uzyskania kompetentnych komórek drożdży zdolnych do pobrania obcego DNA (24). Ta ostatnia metoda jest obecnie powszechnie stosowana w laboratoriach na świecie, choć wydajność transformacji jest znacznie niższa niż w metodzie sferoplastów. Wydajność transformacji można rutynowo zwiększyć nawet 100 razy dodając jednoniciowy lub zdenaturowany wysoką temperaturą dwunucowy DNA, pełniący rolę nośnika dla zrekombinowanego wektora (25). Stosunkowo nowa, najłatwiejsza i najszybsza metoda transformacji nienaruszonych komórek drożdży, to elektroporacja (impuls elektryczny 2,7 KV cm w czasie 15 milisekund); pozwala osiągnąć wydajność nawet 10^7 transformantów/ $1\mu\text{g}$ DNA (26).

4. Komórki drożdży jako producenci obcych białek

Zastosowanie inżynierii genetycznej drożdży w biotechnologii zaowocowało sukcesami, na co wskazuje liczba sklonowanych genów i otrzymanych tą drogą na skalę przemysłową biologicznie aktywnych substancji białkowych ssaków. Najbardziej zaawansowana od strony biotechnologicznej okazała się produkcja insuliny (77), hormonu wzrostu (73), hormonu stymulującego wzrost naskórka (69), interferonów (75), interleukiny-2 (76), tkankowego aktywatora plazminogenu (74), szczepionki przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby (78) i inhibitora tripsyny (27). Na plan pierwszy wysuwają się szczepionki, które mogą być produkowane w oparciu o wektory drożdżowe, a które nie wymagają potranslacyjnej modyfikacji białka (27,28). Jedną z pierwszych wyprodukowanych tą metodą szczepionek był antygen powierzchniowy wirusa-B odpowiedzialny za zapalenie wątroby (28,78). Inne szczepionki to powierzchniowe antygeny wirusa opryszczki (79), wirusa kociej leukemii (80), *Plasmodium vivax* — malarii (81). Wkrótce na rynek farmaceutyczny wejdzie 20 nowych szczepionek, być może włącznie ze szczepionką przeciwko wirusowi HIV (27,28). Na szczególną uwagę zasługuje masowa już produkcja w komórkach drożdży interferonów α , β , γ , o działaniu przeciwwirusowym i przeciwnowotworowym (75,82). Ponadto, w drożdżach wytwarzany jest hormon EGF, który stymuluje wzrost naskórka zarówno *in vivo*, jak i *in vitro* w hodowlach tkankowych. Odgrywa on bardzo ważną rolę w okulistyce, w leczeniu

poparzeń i gojeniu ran po wypadkach i po operacjach (69,83). Stężenie wymienionych produktów białkowych w drożdżach stanowi 1 – 5% wszystkich białek komórki (27).

Biorąc pod uwagę właściwości drożdży (tj. możliwość syntezy obcych białek, ich potranslacyjnej modyfikacji i sekrecji z komórek) należy sądzić, że drożdże będą nadal odgrywać poważną rolę w życiu człowieka. Istnieje duże prawdopodobieństwo, że wkrótce komórki drożdży staną się doskonałą „fabryką” produkującą w dużych ilościach nowe, biologicznie aktywne, cenne — z ekonomicznego punktu widzenia — polipeptydy.

Wiadomo, że liczne białka składają się z funkcjonalnie niezależnych domen. Następną generacją enzymów przemysłowych i leków farmaceutycznych będzie obejmować takie enzymy i takie domeny, które odpowiednio zmodyfikowane za pomocą mutagenyzy *in vitro* będą tworzyć całkowicie nowe produkty.

Ujemne cechy systemu drożdżowego to przede wszystkim różny od innych eukariontów wzorzec O-glikozylacji (84) i niska wydajność ekspresji heterologicznych białek w warunkach laboratoryjnych (27).

Przy okazji należy także wspomnieć o innych gatunkach drożdży takich jak *Hansenula polymorpha* i *Pichia pastoris*, które mogą być w przyszłości bardzo użyteczne dla celów biotechnologicznych. Jednak ich genetyka i fizjologia jest obecnie jeszcze stosunkowo słabo poznana.

5. Rola drożdży w rozwiązywaniu problemów współczesnej biologii i medycyny

Do najważniejszych osiągnięć medycyny molekularnej w ostatniej dekadzie należy zaliczyć odkrycie kilku genów, których produkty mogą powodować transformację ludzkich komórek normalnych w komórki nowotworowe. Są to przede wszystkim onkogeny RAS1 i RAS2 (85,86,87,88). Mutacja w genie RAS2 powodująca zmianę aminokwasu glicyny w walinę w pozycji 19 polipeptydu powoduje raka pęcherza moczowego u ludzi (89,90). Podobne onkogeny typu RAS wyizolowano z genomu komórki drożdżowej (85,86). Zniszczenie obu genów RAS prowadzi do śmierci komórek, a brak funkcji jednego z nich powoduje zahamowanie wzrostu komórek w punkcie START fazy G1 cyklu komórkowego (86,87). Sugeruje to, że funkcja produktów onkogenów RAS potrzebna jest do inicjacji nowej rundy cyklu komórkowego. Tym samym onkogeny ssaków, które dezorganizują kontrolę wzrostu komórek są podobne zarówno funkcjonalnie, jak i strukturalnie do genów drożdżowych. Mutacja punktowa w genie drożdżowym RAS2 w pozycji Val¹⁹ powoduje interesującą zmianę fenotypu komórki drożdżowej. Jest to czterokrotny wzrost stężenia cAMP, a w konsekwencji zahamowanie sporulacji (różnicowania się) komórek diploidalnych w warunkach głodzenia (86,91). Oba geny RAS1 i RAS2 obok genów CDC35 i CDC25 biorą udział w komórkowym metabolizmie cAMP (91). Cykliczny AMP odgrywa kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego drożdży

i wyższych Eukaryota, kontrolując wybór pomiędzy proliferacją, a różnicowaniem się komórek. Działa on jako pozytywny efektor proliferacji w punkcie START fazy G1 cyklu komórkowego i odwrotnie, jako negatywny efektor inicjacji mejozy i sporulacji, tj. różnicowania się komórek. Stężenie wewnątrzkomórkowej puli cAMP jest najprawdopodobniej sygnałem, od którego zależy fosforylacja (za pomocą kinaz zależnych od cAMP) pewnych białek w kaskadowym przebiegu inicjacji proliferacji (86,87). Drożdże zawierają w swoim genomie około 10 genów uderzająco podobnych pod względem struktury i funkcji do onkogenów ssaków odpowiedzialnych za procesy nowotworowe (86). Określenie funkcji biologicznej tych genów w komórkach mutantów drożdży pozwoli na głębsze zrozumienie biologii komórek ssaków i przyczyni się do lepszego poznania mechanizmów odpowiedzialnych za procesy nowotworowe.

Aktualnie prowadzone badania regulacji i biosyntezy ergosterolu w komórkach drożdży mogą w przyszłości przyczynić się do rozwiązania problemu hipercholesteremii w komórkach ssaków. Synteza cholesterolu, który jest jedną z przyczyn arteriosklerozy i w konsekwencji powoduje zawały serca u ludzi jest bardzo zbliżona do syntezy ergosterolu w komórkach drożdży (90). Głównym etapem biosyntezy obu związków jest etap przekształcenia HMG-CoA (3-hydrokso-3-metylglutaryl-Coenzyme A) do mewalonianu, katalizowany przez HMG-CoA reduktazę. Synteza i aktywność tego enzymu jest kontrolowana na poziomie transkrypcji, translacji i potranslacyjnej modyfikacji (90). Cholesterol lub ergosterol w pewnym stężeniu działają jako częściowe represory transkrypcji strukturalnego genu HMG-CoA reduktazy, co w efekcie obniża poziom enzymu, a w konsekwencji syntezę obu związków. Do całkowitego zahamowania syntezy tego enzymu i cholesterolu na zasadzie sprzężenia zwrotnego wymagany jest także inny jeszcze nie znany produkt o charakterze niesterolowym, najprawdopodobniej pochodna mewalonianu. Utrudnia to bardzo poważnie leczenie schorzenia hipercholesteremii. Aktualnie w terapii stosuje się lek lovastatin (mevinolin) inhibitor HMG-CoA reduktazy (90,92). Inhibitor obniżając aktywność tego enzymu zmniejsza również stężenie lub aktywność nieznanego czynnika hamującego transkrypcję strukturalnego genu kodującego enzym HMG-CoA reduktazę. W konsekwencji komórka odbiera działanie tego leku jako sygnał do wzmożonej syntezy cholesterolu pomimo obniżenia samej aktywności HMG-CoA reduktazy (90). Następną generacją leków powinna uwzględnić obecność tego nieznanego inhibitora, występującego w komórkach ssaków, a także być może i drożdży. Należy podkreślić stosunkowo dużą homologię genów strukturalnych kodujących HMG-CoA reduktazę ssaków, muszki owocowej *Drosophila melanogaster* i w komórkach drożdży (93,94). Obecność i ekspresja ludzkiego genu kodującego HMG-CoA reduktazę w komórkach drożdży pozbawionych swojego genu pozwala na ich normalne funkcjonowanie i wzrost (90). Tak zatem, funkcje obu genów są wymienne i podlegają takiej samej kontroli ekspresji na poziomie transkrypcji i translacji w komórkach ssaków i drożdży.

Traktowanie komórek drożdży lekiem stosowanym w leczeniu ludzi powoduje podobne efekty, tj. obniżenie poziomu steroli w komórce, przy równo-

czesnym wzroście aktywności reduktazy (90,92). Istnieje duże prawdopodobieństwo, że izolacja odpowiednich mutantów drożdżowych defektywnych pod względem aktywności HMG-CoA reduktazy pozwoli na identyfikację i izolację nieznanego inhibitora transkrypcji genu kodującego reduktazę, który być może jest taki sam w komórkach drożdży i ludzi. Ponadto, analiza innych mutantów drożdżowych defektywnych pod względem syntezy steroli, jak też możliwość testowania komórek drożdży potencjalnymi lekami przeciw hipercholesteremii, przyczyni się do lepszego poznania mechanizmu regulacji i biosyntezy steroli i cholesterolu w komórkach drożdży i ludzi. Wyniki tych badań mogą mieć podstawowe znaczenie praktyczne w terapii.

Innym bardzo interesującym przykładem opisanym przez Thomas i wsp. (95) jest badanie funkcji mózgu ssaków za pomocą enzymów proteolitycznych występujących w komórkach drożdży. Pewne enzymy izolowane z komórek drożdży i mózgu są funkcjonalnie wymienne tzn. są zdolne zarówno do enzymatycznej obróbki prekursora POMC (propiomelanokortikotropin) na mniejsze neuropeptydy w mózgu, jak też i obróbki dużego prekursora białkowego, z którego jest uwalniany feromon α w komórkach drożdży (96). Jeden z wielu genów drożdżowych kodujących enzymy wymagane do obróbki prekursora feromonu α tzw. gen KEX 2, koduje enzym proteolityczny zdolny do fragmentacji prekursora białkowego POMC na mniejsze neuropeptydy w mózgu ludzi. Właściwa modyfikacja POMC jest decydująca dla wielu funkcji organizmu (97,98). Podobieństwo i wymiennosc funkcji enzymów proteolitycznych stwarza duże możliwości praktycznego działania. Sukcesem zakończyło się klonowanie genu KEX2 w wektorze wirusowym i infekcja zrekombinowanym wirusem linii myszy niezdolnych do obróbki proteolitycznej prekursora białkowego POMC. Zgodnie z oczekiwaniami produkt klonowanego genu KEX2 znosił defekt funkcji mózgu myszy (95). Z wymienionych przykładów wynika, że drożdże mogą pełnić istotną rolę w rozwiązywaniu problemów współczesnej biologii i medycyny. Nieograniczone wprost możliwości poznawcze — i być może praktyczne — stworzy w XXI w. znajomość sekwencji genomu komórki drożdżowej i ludzkiej.

6. Podsumowanie

Drożdże *Saccharomyces cerevisiae* są organizmami jednokomórkowymi, eukariotycznymi należą do grzybów *Ascomycetes*. Można je uznać za idealny model badawczy i biotechnologiczny.

Metodami inżynierii genetycznej można zaprogramować komórki drożdży w kierunku syntezy nowych i wartościowych białek, można ulepszać stare szczepy i konstruować nowe dla fermentacji przemysłowej, zmieniając szlaki metaboliczne. Łatwość manipulowania genetycznego i molekularnego oraz różnorodność technik transformacji sprawia, że drożdże są szczególnie użytecznym obiektem pełniącym rolę gospodarza w molekularnym klonowaniu obcych genów z zastosowaniem przemysłowym. Drożdże mogą także pełnić istotną rolę w rozwiązywaniu problemów współczesnej biologii i medycyny.

Literatura

1. Barnett J. A., Payne R. W., Yarrow D., (1983), *Yeasts: characteristics and identification*, Cambridge University Press.
2. Knorr D., Sinskey A. J., (1985), *Science*, 229, 1224 – 1229.
3. Rose A. H., Harrison J., (1969), *The Yeasts*, Academic Press, New York.
4. Sozzi T., Hose H., (1986), *Biofutur*, 53, 54 – 58.
5. Hartwell L., (1985), *The Cetus-UCLA Symposium on Yeast Cell Biology*, Keystone, Colorado, USA.
6. Hicks J., (1986), *Yeast Cell Biology*, Alan R. Liss, New York.
7. Rose A. H., Harrison J., (1987), *The Yeasts*, 2nd ed. Academic Press, New York.
8. Pringle J. P., Hartwell L. H., (1982), in: *The Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces cerevisiae: Life Cycle and Inheritance*, Eds. Strathern J. N., Jones E. W., Broach J. R., Cold Spring Harbor, New York, 97 – 142.
9. Shortle D., Novick P., Botstein D., (1984), *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 81, 4889 – 4894.
10. Rudolph H., Koenig-Rauseo J., Hinnen A., (1985), *Gene*, 36, 87 – 95.
11. Herskowitz J., (1988), *Microbiol. Rev.*, 52, 536 – 553.
12. Holmberg S., (1984), *Trends in Biotech.*, 2, 98 – 102.
13. Orr-Weaver T., Szostak J. W., (1985), *Microbiol. Rev.*, 49, 33 – 58.
14. Spencer J. F. T., Spencer D. M., (1983), *Ann. Rev. Microbiol.*, 37, 121 – 142.
15. Stewart G. G., (1981), *Can. J. Microbiol.*, 27, 973 – 990.
16. Bakalinsky A. T., Snow R., (1990), *Yeast*, 6, 367 – 382.
17. Skała J., Kotylak Z., (1984), *Acta Microbiol. Polon.*, 33, 25 – 33.
18. Skała J., Luty J., Kotylak Z., (1988), *Curr. Genet.*, 13, 101 – 104.
19. Hawthorne D. C., Mortimer R. K., (1960), *Genetics*, 45, 1085 – 1110.
20. Sherman F., (1963), *Genetics*, 48, 375 – 385.
21. Hinnen A., Hicks J. B., Fink G. R., (1978), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 1929 – 1933.
22. Beggs J. D., (1978), *Nature (London)*, 275, 104 – 108.
23. Sikorski R. S., Hieter P., (1989), *Genetics*, 122, 19 – 27.
24. Ito H., Fukuda Y., Murata K., Kimura A., (1983), *J. Bacteriol.*, 153, 163 – 168.
25. Schiestl R. H., Gietz D. R., (1989), *Curr. Genet.*, 16, 339 – 346.
26. Meilhoc E., Masson J. M., Teissie J., (1990), *Biotechnology*, 8, 223 – 227.
27. Kingsman S. M., Kingsman A. J., Mellor J., (1987), *Tibtech.*, 5, 53 – 56.
28. Valenzuela P., (1988), *Arch. Biol. Med. Exp.*, 21, 231 – 240.
29. Rine J., (1989), *Amer. Zool.*, 29, 605 – 616.
30. Gunge N., (1966), *Japan J. Genetics*, 41, 203 – 214.
31. Subden R. E., (1987), *CRC Crit. Rev. Biotech.*, 5, 49 – 65.
32. Clarke S. G., McGrath J. P., Levinson A. D., (1985), *Mol. Cell Biol.*, 5, 2746 – 2752.
33. Fujiyama A., Tamanoi F., (1986), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 1266 – 1270.
34. Sheares B. T., Robbins P. W., (1986), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 1993 – 1997.
35. Ephrussi B., Hottinguer H., Tavlitzki J., (1949), *Ann. Inst. Pasteur*, 76, 419 – 450.
36. Sherman F., Ephrussi B., (1962), *Genetics*, 47, 695 – 700.
37. Sherman F., Słonimski P. P., (1964), *Biochim. Biophys. Acta (Amst.)*, 90, 1.
38. Jakob H., (1965), *Genetics*, 52, 75 – 80.
39. Lachowicz T. M., Kotylak Z., Kołodyński J., Sniegocka Z., (1969), *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 17, 72 – 85.
40. Ułaszewski S., Lachowicz T. M., (1974), *Mol. Gen. Genet.*, 131, 69 – 77.
41. Tzagoloff A., Dieckmann C. L., (1990), *Microbiol. Rev.*, 54, 211 – 225.
42. Słonimski P. P., Tzagoloff A., (1975), *Europ. J. Biochem.*, 61, 27 – 35.
43. Tzagoloff A., Akai A., Needleman R. B., (1975), *J. Bacteriol.*, 122, 826 – 831.
44. Dujon B., (1981), in: *The Molecular Biology of the yeast Saccharomyces cerevisiae: Life Cycle and Inheritance*, Eds. Strathern J. N., Jones E. W., Broach J. R., Cold Spring Harbor, New York, 505 – 635.

45. Mahler H.R., Hanson D.K., Lamb M.R., Perlman P.S., Anziano P.G., Glaus K.R., Haldi M.L., (1982), in: *Mitochondrial Genes*, Eds. Slonimski P. P., Borst P., Attardi G., Cold Spring Harbor, New York, 185 - 199.
46. Mortimer R. K., Schild D., (1985), *Microbiol. Rev.*, 49, 181 - 212.
47. Clark-Walker G. D., Miklos G. L. C., (1974), *Eur. J. Biochem.*, 41, 359 - 365.
48. Guerineau M., Slonimski P. P., Avner P. R., (1974), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 61, 462 - 469.
49. Hartley J. L., Donelson J. E., (1980), *Nature (London)*, 286, 860 - 865.
50. Gotowczyc M., Oberman H., Drewicz E., (1992), *Biotechnologia*, 2, 36 - 43.
51. Carle G. F., Olson M. V., (1985), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 3756 - 3760.
52. Link A. J., Olson M. V., (1990), *Genetics*, 127, 681 - 698.
53. Mortimer R. K., Schild D., Contopoulou C. R., Kans J. A., (1989), *Yeast*, 5, 321 - 403.
54. Goebel M., Petes T. D., (1986), *Cell*, 48, 983 - 992.
55. Williamson V. M., (1983), *Int. Rev. Cytol.*, 83, 1 - 25.
56. Goffeau A., Vassarotti A., (1991), *Res. Microbiol.*, 142, 901 - 903.
57. Oliver S. G., plus 124 authors, (1992), *Nature (London)*, 357, 38 - 46.
58. Tamanoi F., (1988), *Biochim. Biophys. Acta*, 948, 1 - 15.
59. Tzagoloff A., Myers A. M., (1986), *Ann. Rev. Biochem.*, 55, 249 - 285.
60. Broach J. R., Hicks J. B., (1980), *Cell*, 21, 501 - 508.
61. Chevalier M. R., Bloch J. C., Lacroute F., (1980), *Gene*, 11, 11 - 19.
62. Bonneaud N., Kalogeropoulos O. O., Li G., Labouesse M., Sebastia L. M., Lacroute F., (1991), *Yeast*, 7, 609 - 615.
63. Tuite M. F., Cox B., McLaughlin C. S., (1983), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 2824 - 2829.
64. Kruszewska A., Szczeńniak B., (1978), *Molec. Gen. Genet.*, 160, 171 - 181.
65. Russel D. W., Sith M., Williamson V. M., Young E. T., (1983), *J. Biol. Chem.*, 258, 2674 - 2683.
66. Wolf K., Del Giudice L., (1988), *Adv. Genet.*, 25, 185 - 308.
67. Scheckman R., Novick P., (1982), in: *The Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces cerevisiae*: Eds. Strathern J. N., Jones E. W., Broach J. R., Cold Spring Harbor, New York, 2, 361 - 398.
68. Carlson M., Botstein D., (1982), *Cell*, 28, 145 - 154.
69. Brake A. J., Merryweather J. P., Coit D., Heberlein U., Masiarz F. R., Mullenbach G. T., Ureda M. S., Valenzuela P., Barr P. J., (1984), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 4642 - 4646.
70. Kurjan J., Herskowitz J., (1982), *Cell*, 30, 933 - 943.
71. Chan R. K., Otte C. A., (1982), *Moll. Cell. Biol.*, 2, 21 - 29.
72. Betz R., Crabb J. W., Meyer H. E., Witting R., Duntze W., (1987), *J. Biol. Chem.*, 262, 546 - 548.
73. Barr P. J., Mullenbach G. T., Brake A. J., Valenzuela P., (1983), *Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol.*, 42, 1160 - 1166.
74. Mullenbach G. T., Tabrizi A., Blacher R., Steimer K. S., (1985), *J. Biol. Chem.*, 261, 719 - 722.
75. Singh A., Chen E. Y., Lugory J. M., Chang C. N., Hitzeman R. A., Seeburg P., (1983), *Nucleic Acids Res.*, 11, 4049 - 4063.
76. Shaw A. R. E., Bleackley R. C., Merryweather J. P., Barr P. J., (1985), *Cell. Immunol.*, 4, 117 - 128.
77. Villox G., Studnicka G. M., (1988), *Biotech. Appl. Biochem.*, 10, 500 - 509.
78. McLeer W. J., Buynak E. B., Maigetter R. Z., Miller W. J., Hilleman M., (1984), *Nature (London)*, 307, 178 - 180.
79. Stanberry L. R., Bernstein D. J., Burke R. L., Pacht C. A., Myers M. G., (1987), *J. Infect. Dis.*, 255, 914 - 919.
80. Luciw P., Parkes D., Van Nest G., Dino G., Hendrix K., Gardner M. B., (1986), in: *Recombinant DNA Approaches to FELV Immunization in Genetic Engineering of*

- Animals: An Agricultural Perspective*, Eds. Evans J. W., Hollander A., Plenum Press, New York, 207 - 215.
81. Barr P. J., Gibson H. L., Enea V., Arnot D. E., Hollingale M. R., Nussenzweig V., (1987), *J. Exp. Med.*, 165, 1160 - 1171.
 82. Hitzeman R. A., Hagie F. F., Levine H. L., Goeddel D. W., Ammerer G., Hall B. D., (1981), *Nature (London)*, 293, 717 - 722.
 83. Brown G. L., Curtsinger L., Brightwell J. R., Ackerman D. M., Tobin G. R., Polk H. C., Nascimento G. C., Valenzuela P., Schultz G. S., (1986), *J. Exp. Med.*, 163, 1319 - 1324.
 84. Tanner W., Lehle L., (1987), *Biochim. Biophys. Acta*, 906, 81 - 99.
 85. DeFeo - Jones D., Scolnick E. M., Koller R., Dhar R., (1983), *Nature (London)*, 306, 707 - 709.
 86. Wheals A. E., (1985), *Bio Essays*, 3, 108 - 112.
 87. Tatchell K., (1986), *J. Bacteriol.*, 166, 364 - 367.
 88. Tamanoi F., (1988), *Biochim. Biophys. Acta*, 948, 1 - 15.
 89. Der C. T., Krontiris T., Cooper G., (1982), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 3637 - 3640.
 90. Rine J., (1989), *Amer. Zool.*, 29, 605 - 616.
 91. Toda T., Uno J., Ishikawa T., Powers S., Katoka T., Broek D., Cameron S., Broach J., Matsumoto K., Wigler M., (1985), *Cell*, 40, 27 - 36.
 92. Lorenz R. T., Parks L. W., (1990), *J. Exp. Med.*, 34, 1660 - 1665.
 93. Basson M. E., Thorsness M. K., Finer-More J., Stroud R. M., Rine J., (1988), *Mol. Cell. Biol.*, 8, 3797 - 3808.
 94. Gertler F. B., Dhin C. Y., Richter-Mann L., Chin D. J., (1988), *Mol. Cell. Biol.*, 8, 2713 - 2721.
 95. Thomas G. B. A., Thorne L., Thomas R. G., Allen D. E., Hruby R., Fuller R., Thorner J., (1988), *Science*, 241, 226 - 241.
 96. Fuller R., Sterne R. E., Thorner J., (1988), *Ann. Rev. Physiol.*, 50, 345 - 362.
 97. Crapo L., (1985), *Hormones: The messengers of life*, W. H., Freeman and Company, New York.
 98. Lynch D. R., Snyder S. H., (1986), *Ann. Rev. Biochem.*, 55, 773 - 799.

The yeast *Saccharomyces cerevisiae* in science and biotechnology

Summary

The baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* is a unicellular eukaryotic organism very attractive for studies of fundamental processes in cellular and molecular biology. Yeast cells can be genetically engineered toward synthesizing of new and valuable proteins and possibly used to improve old strains or to develop new strains for industrial fermentation through changes in metabolic pathways. The variety of transformation techniques associated to the available industrial technology for a large scale culture make yeast the host of choice for expression of foreign proteins. Furthermore, yeast cells can be used to study current problems of importance to human medicine and biology.

Key words:

Saccharomyces cerevisiae, gene expression, yeast cells.

Adres dla korespondencji:

Stanisław Ułaszewski, Zakład Genetyki, Instytut Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski, ul. Przybyszewskiego 63/77, 51 - 148 Wrocław.