

Abstrakt

Jednobuněčné organismy jako například kvasinky jsou neustále vystavovány měnícímu se okolnímu prostředí, zvláště pak změnám koncentrace osmoticky aktivních látek. Kvasinkové druhy schopné čelit těmto měnícím se podmínkám lépe, jsou považovány za osmotolerantní (*Zygosaccharomyces rouxii*, *Pichia sorbitophila*, *Debaryomyces hansenii*, apod.). Osmotolerance kvasinek závisí na řadě fyziologických parametrů, ale nejdůležitější vlastností je účinný metabolismus tzv. vnitřních osmolytů. Tuto úlohu zastupuje ve většině kvasinkových druhů malá molekula glycerolu. Při hypoosmotickém stresu se kvasinky zásob glycerolu zbavují, při adaptaci na vysoký osmotický tlak (hyperosmotický stres) naopak glycerol syntetizují a akumulují. Modelová *Saccharomyces cerevisiae* má dva transportní systémy pro glycerol, kanál *ScFps1* sloužící především pro vypouštění glycerolu v případě hypoosmotických podmínek a současně také přenašeč *ScStl1* akumulující glycerol v průběhu hyperosmotického stresu.

V rámci této práce byly nejprve detailně studovány fyziologické vlastnosti tří výše zmíněných nekonvenčních osmotolerantních druhů. Bylo zjištěno, že i přestože se tyto druhy příliš neliší od modelové *S. cerevisiae* v základních morfologických vlastnostech, jejich rozdílnost spočívá především ve schopnosti přežívat vysychání, vyrovnávat se s přítomností toxických iontů, v hospodaření s K^+ jakožto i ve schopnosti využívat různé alternativní zdroje uhlíku. Dále bylo zjištěno, že genomy osmotolerantních kvasinkových druhů jsou ve většině případů nositeli většího počtu genů kódujících možné přenašeče glycerolu do buněk (homology *ScSTL1*). V genomu *Z. rouxii* byly nalezeny dvě takovéto sekvence (*ZrSTL1* a *ZrSTL2*) a v *D. hansenii* pak celkem osm (detailněji charakterizována byla jedna z nalezených sekvencí, *DhSTL2*). Oba geny nalezené v *Z. rouxii* kódují funkční přenašeče glycerolu v plasmatické membráně buněk a jejich vliv na metabolismus je mnohem širší než v případě *S. cerevisiae*. Získané výsledky potvrzují, že oba geny se výraznou měrou podílejí na celkové osmotoleranci *Z. rouxii* a jejich odlišná úroveň exprese zajišťuje komplexní řízení transportu glycerolu do buněk. Úspěšná heterologní exprese *ZrSTL1* v *S. cerevisiae* poukázala na skutečnost, že tento gen je schopen zcela nahradit *ScSTL1* a může být využit pro zlepšení vlastností průmyslově využívaných kmenů *S. cerevisiae*. Také podrobným studiem genů *ScSTL1*, *ScFPS1* a *ScHOG1* byly získány zcela nové poznatky týkající se jejich zapojení v metabolismu glycerolu kvasinky *S. cerevisiae*.