

# Biotechnológie mikroorganizmov



## Huby v biotechnológiách

Ing. Lukáš Hleba, PhD.

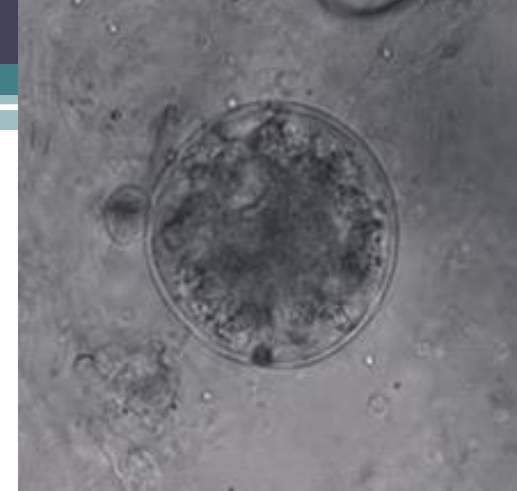
# Charakteristika húb

- Zaradujeme sem: MVH, kvasinky, múčnatky, snete, hrdze a huby (makromycéty)
- Sú eukaryotické, produkujú spóry, rozmnožujú sa pohlavne aj nepohlavne, rastú ako mycélium alebo ako kvasinkovité formy, heterotrofné, bez fotosyntézy, mnohé z nich sú saprofyty alebo symbionti, niektoré paraziticky u ľudí, zvierat alebo rastlín
- Živiny absorbujú do buniek celým povrchom mycélia
- Veľká enzymatická výbava
- Bunková stena polysacharidová

# Klasifikácia húb

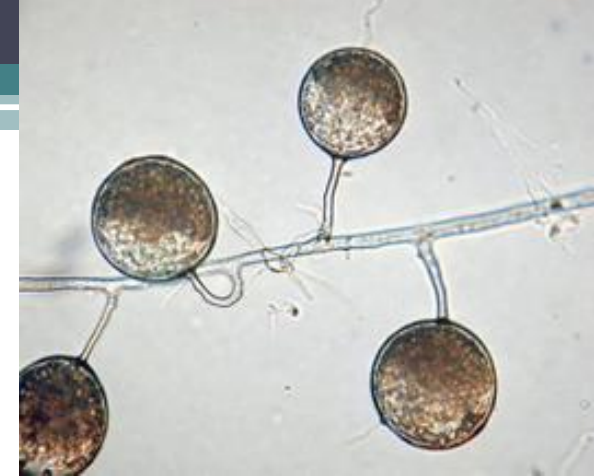
- Existuje 5 oddelení: *Chytridiomycota*, *Glomeromycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* a *Basidiomycota* – rozdelenie za základe molekulárnych vlastností
- Popísaných bolo asi 70tis. druhov, odhaduje sa však že ich je okolo 1,5 mil.
- Štúdiom 18S RNA bolo dokázané že majú bližšie k živočíchom ako k rastlinám alebo algae
- Rozdiely u húb sú v morfológii, reprodukčnom systéme a štruktúrach, a zložení bunkovej steny (kde sú 80-90 % polysacharidové polyméry)

# *Chytridiomycota*



- Morfologicky rozmanité – okolo 1000 známych druhov
- Bunková stena (chitín) – podpis húb
- Reprodukčné bunky (gaméty) – sú pohyblivé, iné huby sa nepohybujú
- Prostredie: voda – sladká a moria
- Mnohé z nich sú saprofyty
- *Rhizophlyctis rosea* – dekompozítor celulózy v pôde
- Ostatné sú paraziti rastlín, hmyzu a obojživelníkov

# *Glomeromycota*



- Väčšinou sú to mykorízne druhy, obligátne symbiotické s nepohlavným rozmnožovaním
- Mykorízne – zn. fyzická asociácia s koreňmi vyšších rastlín – výhoda pre rastliny v menej výživných pôdach, dĺžka mycélia môže dosahovať až 20 tis. km v 1 m<sup>3</sup>
- Mykorízne druhy majú veľký význam pre ekológiu a ekonomiku
- Asi 80 % cievnatých rastlín tvorí mykorízu
- Zvyšujú diverzitu u rastlín a pomáhajú chrániť rastliny pred škodcami ako sú nematódy a hubové patogény

# Zygomycota



- Členovia produkujú nepohyblivé nepohlavné spóry (zygospóry)
- Stielka (mycélium) je neseptovaná, cenocytická,
- Bunková stena – chitosan s chitín
- Pôdne saprofyty – *Mucor* a *Rhizopus*
- *Rhizopus nigricans* – produkcia kyseliny citrónovej
- *Entomophthora* – dôležitý parazit hmyzu ako sú muchy a vošky

# Ascomycota



- Je najväčším oddelením húb, obsahuje okolo 15 tis. druhov, sú tu zaradené jednobunkové kvasinky ale aj septované vláknité huby, v segmentoch viacerých jadri
- Bunková stena – chitín a glukány (manán u kvasiniek), pohlavné rozmnožovanie – asky
- *Neurospora* a *Saccharomyces* – najznámejšie v úlohe pre genetiku
- Iné druhy: *Schizosaccharomyces*, *Ceratocystis ulmi*, *Erysiphe graminis* – parazit cereálií

# Ascomycota

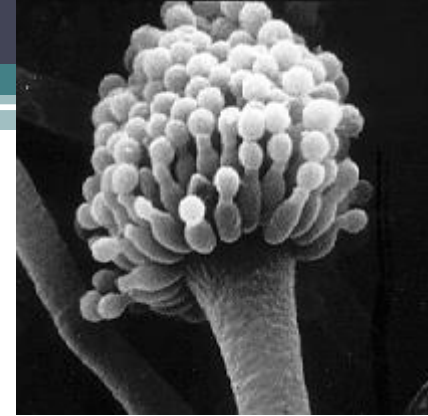
- *Saccharomyces* – známych asi 40 druhov
- *Saccharomyces cerevisiae* – na hrozne, cukor bohaté rastliny, rozmnožuje sa pučaním
- Fermentuje víno, pivo – pekárske kvasinky, mnohé biotechnologické využitie
- *Schizosaccharomyces pombe* – africké pivo, kvasí melasu, ryžu, palmové víno
- Delí sa binárne – hovoríme o binárnych kvasinkách

# Basidiomycota



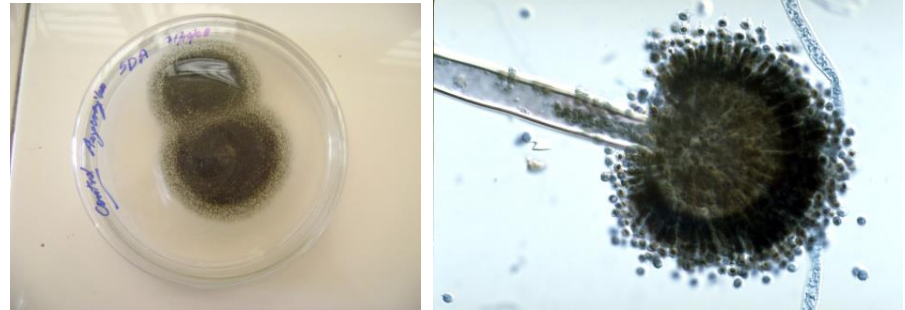
- Rozmnožujú sa pohlavne spórami v bazídiách
- Existujú tu jednobunkové a mnohobunkové formy – septované mycélium
- Bunková stena – chitín a glukány
- *Serpula lacrymans* – spôsobuje rozpad dreva
- *Puccinia graminis* – čierna hrdza tráv a cereálií
- *Ustilago maydis* – patogén kukurice
- *Agaricus* – ľudská výživa – najčastejšie pestovaný druh – rastie na organických kompostoch

# *Deuteromycetes*



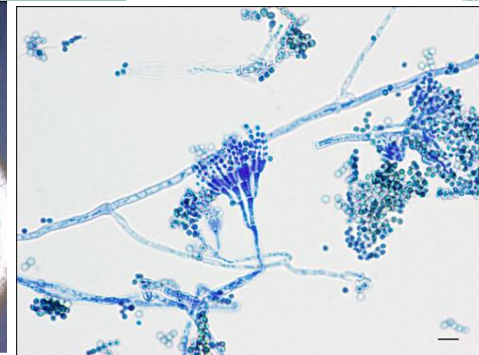
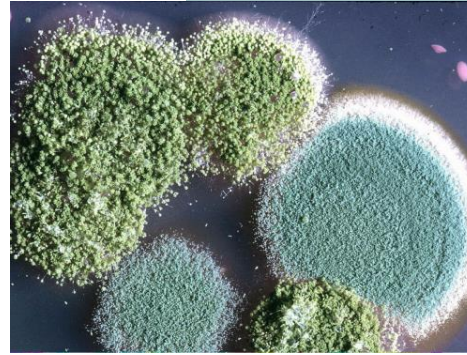
- Skupina húb u ktorých je známy iba ich nepohlavný spôsob rozmnožovania – fungi imeperfecti
- Jednobunkové a mnohobunkové septované mycélium podobné askomycétam a bazídiomycétam
- Bunková stena: chitín a glukány
- *Aspergillus* a *Penicillium* – najdôležitejšie pre biotechnológie

# Deuteromycetes



- *Aspergillus niger* – produkcia kyseliny citrónovej a glukónovej
- *Aspergillus oryzae* – v potravinárstve na fermentáciu ryže a sóje, proteolytické a amylolytické enzýmy
- Niektoré z *Aspergillus* – sú patogény rastlín
- *Aspergillus flavus* – produkcia aflatoxínu B – indukuje tvorbu rakoviny pečene u ľudí a kurčiat
- *Penicillium* – rozkladá množstvo materiálov, produkuje spóry, častý kontaminant,
- Alexander Fleming – penicilín – *Penicillium notatum*

# *Deuteromycetes*

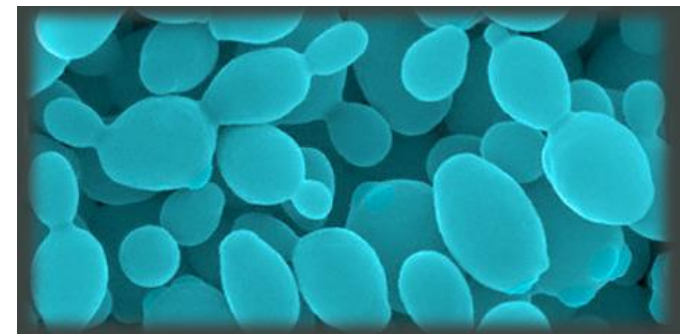


- *Penicillium griseofulvum* – produkcia griseofulvínu – podávaný orálne na liečenie hubových infekcií kože a nechtov
- Mnohé z penicílií sú dôležité v potravinárstve, *Penicillium camemberti*, *P. roqueforti* – syry
- Nie všetky sú však nápomocné – *P. italicum* a *P. digitatum* spôsobujú hnitie citrusov, *P. expansum* spôsobuje hnitie jablák
- Sú tiež producenti mykotoxínov

# Farmaceutické proteíny



- Používa sa *S. cerevisiae* – ako nepatogén
- Rýchly rast, látky v broth, ľahká izolácia
- Eukaryot – ľudské proteíny (interferóny, kožné rastové faktory, hemoglobín, antigén hepatitídy B vírusu, prvá bezpečná vakcína)
- Používajú sa expresné systémy z *Pichia pastoris* a *Hansenula polymorpha*





# Komerčné rekombinantné enzýmy

- Rekombinantné huby – zdroj cenných proteínov
- Potraviny – 45 %, detergenty – 34%, textílie – 11%, kože – 3%, papier – 1,2%,
- Väčšina potravinárskych proteínov má pôvod v hubách
- *Aspergillus niger* var *awamori* – bovinne proteíny
- *Aspergillus oryzae* – asparágová proteináza z *Rhizomucor miehei* pre produkciu syrov
- Produkcia lipáz – *R. miehei*, *Thermomyces lanuginous*, *Fusarium oxysporum* – pre ovocné džúsy, pečené potraviny, žiaduce chute syrov a pod., dôležité aj v detergentoch – čistenie, pranie, kože odstraňovanie tukov
- Prvá lipáza z *Humicola lanuginose* – gén vložený do *A. oryzae*

# Sekundárne metabolity húb

- Antibiotiká – z 12 tis. známych ATB je 22% práve z húb
- Prírodný penicilín G a semisyntetický penicilín V
- Cefalosporíny – semisyntetické
- Imunosupresívne látky – cyklosporín A – uzke spektrum antifungálnych peptidov produkované *Tolypocladium nivenum*
- Používané pri transplantáciách srdca, pečene a obličiek
- Mykofenolická kyselina – produkovaná rodom *Penicillium* – nikdy nebola používaná ako antifungálna látka ale ako imunosupresant pri transplantácii obličiek a srdca

# Hypocholesterolemické látky

- Statíny húb ako lovastatín, pravastatín a iné – inhibujú 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzým A reductázu, regulačný enzým cholesterolovej biosyntézy v pečeni
- Kompaktín – v minulosti bolo ATB, produkt *Penicillium brevicompactum* a *P. citrinum* – metylovaná forma kompaktínu – lovastatín väčšia aktivita
- Taxol – prírodná antitumorová látka, objavená v rastlinách, tiež produkt *Taxomyces andreanae* – liečba rakoviny prsníka a semenníkov – komerčne dostupná s účinkom blokovania depolymerizácie mikrotubúl

# Mykotoxíny

- Alkaloidy – produktom rôznych druhov *Claviceps* sp. – liečba mnohých ochorení ako migrény, cerebrálna cirkulačná porucha, maternicové kontrakcie, krvácanie pri pôrode, prevencia implantácie v začiatkoch tehotenstva
- Majú aj fyziologickú aktivitu – inhibujú účinok adrenalínu, noradrenalínu a serotonínu, kontrakcie hladkých svalov maternice
- Zearelanon – produkt *Gibberella zeae* – je estrogénom a jeho redukovaný derivát sa používa ako anabolikum u dobytká a oviec – zvyšuje rast a efektivitu krmiva
- Gyberelová kyselina – fytotoxický mykotoxín, známe ako giberelíny – produkt *Gibberella fujikuroi* – používané ako urýchľovače sladovania jačmeňa, zlepšuje kvalitu sladu, zvyšuje výnos zeleniny, znižuje čas potrebný na pestovanie šalátu a cukrovej repy
- Izoprenoidy – rastové regulátory ovládajúce kvitnutie, klíčenie a predlžovanie stoniek rastlín

# Pigmenty húb

- *Monascus purpureus* – používaný k príprave koji, červená ryža – medicínske účely a potraviná – pigment – monaskorubramín a rubropunktamín – produkované pri fermentácii
- Používané k príprave červenej ryže, vína, sójového syra, mäsa a rýb – Čína a Japonsko
- *Phaffia rhodozyma* – bohatý zdroj karotenoidu astaxantín – zodpovedný za oranžovo-ružovú farbu lososovitého mäsa a varených kôrovcov - prirodzene, používaná pri fermentáciách bieleho mäsa, kde dodá lososovitú farbu
- *Blakeslea trispora* – industriálna produkcia beta-karoténu v Rusku

# Polynenasýtené mastné kyseliny

- *Mortierella isabellina* a *Mucor circinelloides* – producenti velkého množství gama-linolovej kyseliny z melasy alebo glukózy
- *Mortierella alpina* – producent arachidonovej kyseliny