

Průmyslově významné genetické manipulace

683.15
579.28

RNDr. VLADIMÍR JIRKŮ, CSc., Prof. ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha

Jednou ze základních charakteristik života na jednobuněčné úrovni je efektivní ekonomie buněčných procesů, podmíněná striktní kontrolou biosyntetického a biodegradačního potenciálu buňky. V této souvislosti je zřejmé, že genetický program buňky je ve své podstatě obvykle v rozporu se základním požadavkem průmyslového využití mikroorganismu, tj. požadavkem nadprodukce nebo biochemické hyperaktivity. Řešení tohoto problému bylo v podstatě zahájeno studiem stability průmyslově významných vlastností čistých kultur, přesněji poznatkem, že i v čistých kulturách vzniká potomstvo, které se svými vlastnostmi liší. Vývoj od těchto poznatků popisné vědy přes první využití spontánních (později indukovaných) změn genotypu až k posledním poznatkům a možnostem molekulární genetiky však trval přibližně století. Současný stav lze ilustrovat shrnutím dnes používaných způsobů kvalitativních i kvantitativních modifikací genofondu jednobuněčného organismu, kterým však není již pouze buňka mikrobiální, ale i průmyslově významné jednobuněčné formy buněk rostlinných a živočišných.

1. Mutageneze

Mutagenezi, jako způsob extracelulárně indukované změny genotypu, lze bez výhrad označit za způsob používanější a z teoretického hlediska nejvíce poznány. Přibližně 40letý zájem předních laboratoří přinesl množství informací o mechanismech mutagenese a aplikaci mutagenů [1]. Současně byl na molekulární úrovni poznán i mechanismus reparačních systémů, což v kombinaci s informacemi o procesu replikace (popř. rekombinace) DNA značně přispělo k současným možnostem přesné lokalizace mutačního procesu. Univerzální aplikaci těchto poznatků však brání skutečnost, že byly získány studiem mikroorganismů, které jsou taxonomicky vzdáleny od průmyslově používaných kmenů. Současný stav lze stručně ilustrovat přehledem jednotlivých typů mutant, které byly v průmyslové praxi již využity nebo jsou potenciálně použitelné.

Mutanty s rezistencí k inhibitoru. V této kategorii jsou zařazeny mutanty, jejichž izolace je založena na inhibičním účinku analogů běžných metabolitů, především aminokyselin. Principem inhibičního účinku je interakce analogu s alosterickým enzymem, která je svým mechanismem obdobná mechanismu inhibice konečným produktem. V důsledku této „falešné“ zpětné vazby je po extracelulárním dodání analogu zastavena příslušná biosyntetická dráha. Selektivní tlak, který vytváří prostředí s analogem, lze využít pro selekci (popř. koncentrování) mutant necitlivých k analogu, což jsou v daném případě především kmeny s poruchou regulace zpětnou vazbou. Jelikož vypojení tohoto regulačního mechanismu je obvykle provázáno nekontrolovanou produkcí příslušného metabolitu, lze na základě rezistence k účinku použitého analogu identifikovat mutanty s očekávanou nadprodukcí daného metabolitu [2]. Se stejnými důsledky lze za určitých kultivačních podmínek (a v případě některých metabolických drah) nahradit účinek analogu zvýšenou extracelulární koncentrací příslušného metabolitu [3]. Při experimentální realizaci těchto principů je nutno si uvědomit, že citlivost použitého mikroorganismu k účinku analogu (antimetabolitu) je vždy pod vlivem zvolených kultivačních podmínek, tedy celkového

fyzilogicko-biochemického stavu buňky [4]. Mutanty izolované jako rezistentní k účinku analogu aminokyseliny byly zatím použity v průmyslové výrobě argininu, citrulinu, histidinu, izoleucinu, leucinu, prolinu, valinu [5, 6]. Na stejném principu je založena i sledovaná příprava hyperproducentů lysinu a dalších aminokyselin [7]. Fenotyp rezistence k analogu — antimetabolitu byl využit i při izolaci mutant s nadprodukcí nukleosidů [8]. Na základě rezistence k inhibitorům jiného typu byla prokázána možnost izolovat mutanty s nadprodukcí antibiotik [9] a kyseliny citrónové [10].

Auxotrofní mutanty. Potenciální průmyslové využití těchto mutant je v akumulaci intermediátu určité biosyntetické dráhy, která je v důsledku (mutací podmíněné) inaktivace klíčového enzymu přerušena. Je zřejmé, že cílená příprava těchto mutant je možná jen tehdy, kdy biosyntetická dráha a její regulace jsou dokonale poznány. Tuto situaci dnes ilustrují především průmyslově používané polyauxotrofní mutanty [5]. Kromě producentů aminokyselin (lysinu, threoninu, homoserinu, valinu, methioninu, citrulinu) je na tomto principu založena i příprava producentů purinových nukleotidů [11]. Průmyslová použitelnost těchto kmenů závisí často na další mutaci (mutacích), které podmiňují uvolňování akumulovaných primárních metabolitů do vnějšího prostředí buňky. V případě některých metabolických drah mohou k optimálnímu charakteru průmyslového kmene přispět i mutace ovlivňující regulaci konečným produktem a v neposlední řadě i mutace supresorové [12].

Konstitutivní mutanty. Tento termín je obecně vyhrazen kmenům, u kterých produkce inducibilního katabolického enzymu v nepřítomnosti jeho substrátu přibližně odpovídá jeho indukované syntéze v populaci „divokého“ kmene. Konstitutivní mutantou je tedy nazýván kmen s poruchou regulace syntézy enzymu, a to bez ohledu na určité rozdíly regulace genové aktivity prokaryotní a eukaryotní buňky [13]. Selektce těchto kmenů je obvykle založena na studiu růstové charakteristiky buněčné populace rostoucí v přítomnosti dvou alternujících substrátů. Růst bez charakteristické diauxie naznačuje konstitutivní produkci enzymu, který je klíčový pro odbourání druhého substrátu. Tento princip lze realizovat v různém experimentálním uspořádání [14–16].

Druhou skupinu v kategorii těchto tzv. regulačních mutant tvoří kmeny *necitlivé ke katabolické represí*, tedy mechanismu adaptace buňky k nevhodnějšímu zdroji uhlíku. Molekulární podstata tohoto mechanismu represe syntézy určitých enzymů v určitých kultivačních podmínkách je v buňce prokaryotní pravděpodobně kontrolována pouze jedním genem [17]. Mnohem méně je tento regulační mechanismus poznán u buňky kvasinkové. Genetická analýza kvasinkových mutant však ukazuje, že zmíněný regulační mechanismus je složitější a je kontrolován více geny [18].

Další skupinou této kategorie jsou mutanty se *změněnou rychlostí syntézy enzymu*. Z hlediska úlohy regulačních prvků bakteriálního operonu je tento fenotyp podmíněn mutací v oblasti promotoru, která ovlivní jeho interakci s RNA polymerasou a tím i rychlost přepisu DNA [13]. Studium těchto mutací je aktuální nejen v případě tzv. mikrokonstitutivních kmenů [19], ale i v případě hyperkonstitutivních mutant, u kterých lze touto cestou rychlost syntézy enzymu dále zvýšit [20]. Podstatné je

i to, že mutace v oblasti promotoru mohou současně řídit i fenotypový projev znaku necitlivosti ke katabolické represi [21]. Je zřejmé, že vývoj izolačních technik zachycujících tuto pleiotropii regulačních mutantů má základní význam pro přípravu hyperproducentů průmyslově významných enzymů [22].

V těchto souvislostech má potenciální význam i studium mutací strukturálních genů, tedy mutací ovlivňujících afinitu enzymu k substrátu, jeho katalytické vlastnosti i kinetiku jeho reakce. Izolace těchto mutantů obvykle vyžaduje nepřímý experimentální přístup, který ilustruje např. příprava kmenů s modifikovanou ribitol dehydrogenasou [23, 24].

Mutace ovlivňující permeabilitu. Obecný význam těchto mutací je podmíněn skutečností, že permeabilita buňky je klíčovým faktorem při využití jejího biosyntetického, biodegradačního i biotransformačního potenciálu. Kvalitativní změna specifity transportních systémů může tedy znamenat i získání nové metabolické aktivity [25, 26]. Metody selekce a izolace těchto mutantů často vycházejí z poznatků o vztahu permeability a kvalitativních a kvantitativních změn cytoplazmatické membrány. Ilustrujícím příkladem je metoda selekce potenciálních mutantů se změněnou permeabilitou, jako mutantů rezistentních k účinku polyenových antibiotik, která vychází z poznatků o mutacemi podmíněných změnách sterolové složky biologické membrány [27].

Rozdíly v biosyntetické aktivitě různých kmenů mohou být důsledkem jejich rozdílné citlivosti k antibiotikům, které produkují [28]. Tento předpoklad motivuje zájem o přípravu kmenů s výraznou rezistencí k vlastním metabolitům s negativní biologickou aktivitou. Možnost použití mutagenese v tomto směru zatím dokumentují především práce věnované producentům tetracyklinových antibiotik [29, 30].

Je zřejmé, že příprava nových průmyslových kmenů, která je založena na mutaci a selekci, vyžaduje podrobné informace o příslušné biochemické aktivitě a její genetické determinaci. Na rozdíl od procesu mutagenese, který je z metodického hlediska celkem uniformní, selekce a izolace určitých mutantů vyžaduje vývoj zcela individuálních technik a přístupů, které se v budoucnosti již neobejdou bez určité aplikace výpočetní techniky a automatizace. V těchto souvislostech je rovněž zřejmá určitá nerovnováha v použití těchto přístupů při přípravě producentů primárních metabolitů a metabolitů sekundárních, především antibiotik. Rovněž lze připomenout, že vývoj v této oblasti není pouze na úrovni genetické manipulace, ale i v nových formách aplikace získaných mutantů. Příkladem může být dvoustupňová i vícestupňová příprava konečného produktu směsnou kulturou kmenů, které byly pro tento účel geneticky programovány [31]. Jinou variantou je tzv. *mutasyntéza* (mutational synthesis), která byla zatím nejvíce aplikována při produkci aminoglykosidových — aminocyklotolových a makrolidových antibiotik [32]. Tento proces je založen na mutantách neschopných biosyntézy dílčího komponentu daného antibiotika, avšak schopných tato antibiotika syntetizovat, je-li chybějící komponent nebo jeho analog exogenně dodán [32].

2. Zvýšení dávky genu

Skutečnost, že tvorba enzymově aktivní bílkoviny je řízena specifickou standardní alelou (popř. funkcí více alel), postuluje, že objem této genetické informace je limitujícím faktorem, kterému je (mimo regulační mechanismy) celková hladina enzymu vždy podřízena. Zvýšení dávky genu — genová amplifikace — je tedy další možností genetické optimalizace průmyslových kmenů. Z obecného hlediska je zvýšení dávky genu nutno chá-

pat jako dočasnou kvantitativní změnu genotypu, která je důsledkem jeho interakce s vnějším prostředím. Změna vnějšího prostředí je přitom krátkodobá a z hlediska adaptace organismu nevyžaduje permanentní kvalitativní změnu jeho genotypu.

Stimulace zvýšení dávky genu je zatím dobře dokumentována jen v případě několika enzymů. Společným rysem je celkem jednotný experimentální přístup založený na kontinuální kultivaci s limitací růstu zdrojem uhlíku. V tomto případě bylo dosaženo tandemové duplikace konstitutivního lac operónu [33, 34] a zvýšení dávky genetické informace pro ribitol dehydrogenasu [35]. S použitím kmene s poruchou regulace his operónu a kultivačních podmínek umožňujících selekci kmene se zvýšenou dávkou genu, jako kmene rezistentního k analogu histidinu, bylo dosaženo tandemové duplikace his operónu [36]. Specifickou cestou zvýšení dávky genu je proces *specializované transdukce*. Amplifikace určitého genu je dosaženo pomocí bakteriofága, jehož DNA je obohacena o žádaný genetický materiál, který se po kontaminaci recipientní buňky stává součástí její genetické informace. V souvislosti s cílenou změnou dávky genu je i tato genetická manipulace popsána především jako experimentální model [37, 38]. Z těchto důvodů je proto nejperspektivnější cestou konstrukce plazmidů obohacených o určitý gen. Vnesení tohoto plazmidu do recipientní buňky umožňuje (při jeho vlastní replikaci) jeho selektivní namnožení, tedy i zvýšení objemu genetické informace, kterou nese [39, genové inženýrství].

3. Výměna genetické informace in vivo

Schopnost mikroorganismů rekombinovat svůj genotyp je základem metod mezibuněčného, jednosměrného a reciprokého přenosu genetické informace. Metody tohoto přenosu — konjugace, transformace a transdukce — byly však poměrně málo použity jako průmyslově významné genetické manipulace. Pro případ vnitrodruhových rekombinací haploidních mikroorganismů nelze zatím citovat práce, které by rekombinační techniky ilustrovaly jako potenciální alternativu již zmíněných způsobů genetické manipulace. Z teoretického hlediska bude mít vnitrodruhová rekombinace význam pouze tehdy, bude-li použita v návaznosti na mutagenézi, tedy v situaci, kdy rekombinační technika je aplikována v populaci s indukovanou kvalitativní variabilitou genetické informace. V uvedených souvislostech jsou proto mnohem perspektivnější *rekombinace mezidruhové* [40]. I v těchto případech však přehled literatury ukazuje, že fenotyp hybridního potomstva často nespĺňuje požadavky experimentátora. Integrace fragmentu druhově vzdálené DNA do recipientního chromozómu závisí na stupni homologie obou genomů [41], přičemž exprese příslušných genů je podřízena vlivu dalších faktorů. Perspektivu mezidruhové rekombinace, jako průmyslově významné genetické manipulace, lze zatím ilustrovat pouze přehledem rekombinantů rodu *Streptomyces* [42].

4. Buněčné inženýrství

Tímto termínem je označována příprava vnitrodruhových i mezidruhových hybridů celých buněk — *hybridomů*. Principem je fúze (splynutí) protoplastů rodičovských (donorových) buněk. Z experimentálního hlediska lze v přípravě hybridní mikrobiální buňky schopné auto-reprodukce rozlišit následující manipulace: a) příprava protoplastů a jejich stabilizace; b) vlastní fúze protoplastů; c) resyntéza a regenerace buněčné stěny hybridního protoplastu; d) izolace, charakterizace a stabilizace hybridního klonu. Metody přípravy protoplastů i podmínky resyntézy buněčné stěny nevyžadují v daném případě výrazných specifických modifikací. V této souvislosti je

možno čtenáře odkázat na monografie a přehledné články věnované enzymové degradaci buněčné stěny a její re-syntéze [43–46]. Samovolná fúze protoplastu je značně pomalý proces s nízkou frekvencí vzniku fúzátů. Z těchto důvodů je používáno výhradně indukované fúze, tedy fúze zprostředkované účinkem určitého fúzogenu. V současnosti je používán polyetylen glykol, který je obvykle aplikován v kombinaci s Ca^{++} ionty [47, 48]. V poslední době jsou rovněž citovány i metody založené na účinku elektrického pole [49, 50].

Problematika přípravy hybridních klonů má však i oblasti, které jsou poměrně málo poznány. Především je to otázka dějů souvisejících s reorganizací intracelulárního prostředí hybridního protoplastu a jeho genetického aparátu. Tato oblast se bezprostředně týká i konverze protoplastu v hybridní buňku schopnou normální autoreprodukce, a to při zachování žádaných vlastností. S těmito otázkami bezprostředně souvisí i optimální metodika detekce a selekce hybridu. Z obecného hlediska jde v těchto souvislostech o komplexní problematiku, jejíž řešení se opírá o poznatky řady biologických disciplín. Její současný stav shrnují přehledné práce, které zároveň ilustrují možnosti indukované fúze protoplastů jako metody konstrukce průmyslově významných kmenů [51–57].

5. Genové inženýrství

Ve srovnání s předcházejícími možnostmi je tato oblast genetických manipulací založena na komplexu technik, které umožňují cílené vnášení funkčně definovaných fragmentů DNA, a tím konstrukci kvalitativně odlišného genofondu recipientního organismu. Zrod genového inženýrství byl především podmíněn dosaženým stavem poznatků v oblasti enzymologie nukleových kyselin, poznáním bakteriálně restričních systémů a poznatky z oblasti molekulární biologie plazmidů [58]. Náročnost přípravy mikroorganismu s novou formou genetické informace ilustrují jednotlivé její fáze:

- a) Separace a příprava fragmentu DNA, kterým má být obohacen genofond recipientního mikroorganismu.
- b) Volba a příprava nosiče (vektoru) nové genetické informace.
- c) Integrace fragmentu DNA do DNA nosiče — příprava rekombinované DNA.
- d) Volba a příprava příjemce rekombinované DNA.
- e) Přenos rekombinované DNA do recipientní buňky.
- f) Selektce jedinců s hybridní genetickou informací, popř. její namnožení a další izolace.

Uvedený komplex operací splňuje zároveň tři cíle. Použitý hostitelský mikroorganismus je obohacen o nové vlastnosti. Použití nosiče s vlastní kontrolou replikace umožňuje jednak snadné zvýšení a regulaci dávky daného genu, jednak namnožení těžko dostupných a průmyslově cenných fragmentů DNA. Pro bližší orientaci v metodické oblasti i v současném stavu a perspektivách genového inženýrství lze doporučit následující monografie [58 až 61].

6. Závěr

Uvedený přehled je předkládán jako shrnutí literatury, kterou lze doporučit pro podrobné studium metodik, možností a výsledků, kterých dosáhla aplikace genetiky v průmyslové mikrobiologii. V této souvislosti je třeba dodat, že úspěch v tomto směru není podmíněn jen zvládnutím metodik, ale i zvolenou strategií jejich použití. Práce genetiky je dále neoddelitelná od účasti dalších biologických disciplín a v neposlední řadě od přesné a efektivní práce analytické. S přípravou nového kmene přirozeně souvisí i dlouhodobé ověřování stability jeho fenotypu a nalezení optimálního způsobu jeho uchování a konzervace.

Literatura

- [1] SINGER, B., KUŠMIEREK, J. T.: Ann. Rev. Biochem. 52, 1982, s. 655
- [2] NORRIS, R. D., LEA, P. J.: Sci. Prog. (Oxford) 63, 1976, s. 65
- [3] RAMAKRISHNAN, T., ADELBERG, E. A.: J. Bacteriol. 87, 1964, s. 566
- [4] MOLIK, V. S.: Adv. Appl. Microbiol. 15, 1972, s. 297
- [5] YMADA, K.: Biotechnol. Bioeng. 19, 1977, s. 1563
- [6] KIKUCHI, M.: Biotechnol. Bioeng. Suppl. 1, 22, 1980, s. 198
- [7] TOSAKA, O., HIRAKAWA, H., TAKINAMI, K.: Agric. Biol. Chem. 43, 1979, s. 285; 491
- [8] ISHII, K., SHIIO, I.: Agric. Biol. Chem. 36, 1972, s. 1511
- [9] TAKEDA Chemical Industries, Ltd.: Japan, 1975, Patent JA-110723
- [10] TABUCHI, T., TANAKA, M., ABE, M.: J. Agric. Chem. Soc. Jpn. 42, 1968, s. 440
- [11] NAKAO, Y.: V „Microbial Technology“, 2nd ed., H. J. Peppler, D. Perlman, Eds. Vol. 1, 1979, s. 311
- [12] DEMAIN, A. L.: Ferment. Technol. Today, Proc. Int. Ferment. Symp., 1972, s. 239
- [13] CHALOUPKA J.: Biologické listy 45, 1980, s. 81
- [14] HORIUUCHI, T., TOMIZAWA, J., NOWICK, A.: Biochim. Biophys. Acta 55, 1962, s. 152
- [15] SAINT-GIRONS, I., MARGARITA, D.: J. Bacteriol. 124, 1975, s. 1137
- [16] SIKYTA, B.: „Metody technické mikrobiologie“, SNTL, 1978, s. 227
- [17] SCHWARTZ, D., BECKWITH, J. R.: V „The lactose operon“, J. R. Beckwith, D. Zipser, Eds. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y., 1970, s. 417
- [18] ENTIAN, K. D., ZIMMERMANN, F. K.: J. Bacteriol. 151, 1982, s. 1123
- [19] PARDEE, A. R., BENZ, E. J., ST. PETER, D. A., KRIEGER, J. N., MEUTH, M., TRIESHMANN, H. W.: J. Biol. Chem. 246, 1971, s. 6792
- [20] BRUENN, J., HOLLINGSWORTH, H.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 70, 1973, s. 3693
- [21] BERMAN-KURTZ, M., LIN, E. C. C., RICHEY, D. P.: J. Bacteriol. 106, 1971, s. 724
- [22] MCPARTLAND, A., SOMERVILLE, R. N.: J. Bacteriol. 128, 1976, s. 557
- [23] LERNER, S. A., WU, T. T., LIN, E. C. C.: Science 146, 1964, s. 1313
- [24] HARTLEY, B. S.: Symp. Soc. Gen. Microbiol. 24, 1974, s. 151
- [25] MEAGHER, R. B., MCCORKLE, G., ORNSTON, M. K., ORNSTON, L. N.: J. Bacteriol. 111, 1972, s. 465
- [26] DEMAIN, A. L., BIRNBAUM, J.: Curr. Top. Microbiol. Immunol. 46, 1968, s. 1
- [27] SUBDEN, R. E., SAFE, L., MORRIS, D. C., BROWN, R. G., SAFE, S.: Can. J. Microbiol. 23, 1977, s. 751
- [28] CELLA, R., VINING, L. C.: Can. J. Microbiol. 20, 1974, s. 1591
- [29] VESELOVA, S. I.: Genetika 12, 1967, s. 73
- [30] DULANCY, E. L.: Mycologia 45, 1953, s. 481
- [31] FURUMAI, T., TAKEDA, K., KINUMAKI, A., ITOH, Y., OKUDA, T.: J. Antibiotik. 32, 1979, s. 891
- [32] ZELENÝ, K.: Biologické listy 47, 1982, s. 59
- [33] HORIUUCHI, T., HORIUUCHI, S., NOVICK, A.: Genetics 48, 1963, s. 157
- [34] LANGRIDGE, J.: Mol. Gen. Genet. 105, 1969, s. 74
- [35] RIGBY, P. W. J.: Nature (London) 251, 1974, s. 200
- [36] ANDERSON, R. P., MILLER, C. G., ROTH, J. R.: J. Mol. Biol. 105, 1976, s. 201
- [37] GILBERT, W., MÜLLER-HILL, B.: V „The Lactose Operon“, J. R. Beckwith, D. Zipser, Eds. Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, N. Y., 1970, s. 93
- [38] PANASENKO, S. M., CAMERON, J. R., DAVIS, R. W., LEHMAN, I. R.: Science 196, 1977, s. 188
- [39] CLARKE, L., CARBON, J.: Cell 9, 1976, s. 91
- [40] KOSIKOV, K. V.: Microbiology USSR 44, 1975, s. 615
- [41] SANDERSON, K. E.: Ann. Rev. Microbiol. 30, 1976, s. 327
- [42] MALIK, V. S.: Adv. Genet. 20, 1979, s. 37
- [43] VILLANUEVA, J. R., GARCÍA-ACHA, I., GASCÓN, S., URUBURU, F.: Yeast, Mould and Plant Protoplasts, Academic Press, London, New York, 1973
- [44] PEBERDY, J. F., ROSE, A. H., ROGERS, H. J., COCKING, E. C.: Microbial and Plant Protoplasts, Academic Press, London, New York, San Francisco, 1976
- [45] PHAFF, H. J.: Adv. Chem. Series 160, 1977, s. 244
- [46] NEČAS, O.: Bacteriol. Rev. 35, 1971, s. 149
- [47] KAO, K. N., MICHAYLUK, M. R.: Planta 115, 1974, s. 355
- [48] WALLIN, A., GLIMOLIUS, U., ERIKSSON, T.: Z. Pflanzenphysiologie 74, 1974, s. 64
- [49] WEBER, H., FÖRSTER, W., JACOB, H. E., BERG, H.: Z. Allg. Mikrobiol. 21, 1981, s. 555
- [50] ZIMMERMANN, U., SCHEURICH, P.: Planta 151, 1981, s. 26
- [51] FERENCZY, L., FARKAŠ, G. L.: Advances in Protoplast Research, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1980
- [52] ALFÖLDI, L.: „Genetic Engineering of Microorganisms for

Chemicals", A. Hollaender, R. D. De Moss, S. Kaplan, J. Konisky, D. Savage, R. S. Wolfe, Eds., Plenum Publishing Corporation, 1982, s. 59

- [53] BENDOŤÁ, O.: Kvasný průmysl 28, 1982, s. 115
- [54] JANDEROVÁ, B.: Kvas. prům. v tisku
- [55] PEBERDY, J. F.: Ann. Rev. Microbiol. 33, 1979, s. 21
- [56] PEBERDY, J. F.: „Protoplasts Application in Microbial Genetics“, Nottingham, University of Nottingham, 1979
- [57] HOPWOOD, D. A.: Ann. Rev. Microbiol. 35, 1981, s. 237
- [58] CHAKRABARTY, A. M.: „Genetic Engineering“, CRC Press, 1978
- [59] SAKAGUCHI, K., OKANISHI, M.: „Molecular Breeding and Genetics of Applied Microorganisms“, Kodansha Ltd., Tokyo, 1980
- [60] GROBSTEIN, C.: „A Double Image of the Double Helix“, W. H. Freeman and Co., 1979
- [61] DAVIS, R. W., BOTSTEIN, D., ROTH, J. R.: „Advanced Bacterial Genetics“, Cold Spring Harbor Lab., Cold Spring Harbor, New York 11724, 1980

Jirků, V., Basařová, G.: Průmyslově významné genetické manipulace. Kvas. prům., 29, 1983, č. 4, s. 80—83.

Tento přehledný článek pojednává o aspektech mutační a rekombinační genetiky, které jsou významné z hlediska přípravy a šlechtění mikrobiálních kmenů, používaných při výrobě komerčně významných metabolitů a enzymů. Takzvané screeningové metody, podobně jako otázky stability kmenů a způsoby jejich uchování nejsou uvedeny.

Ирку, В., Басаржова, Г.: Генетические манипуляции, представляющие большой интерес для промышленности. Квас. прум. 29. 1983, № 4, стр. 80—83.

Настоящая обзорная статья рассматривает аспекты

мутационной и рекомбинационной генетики, которые являются значительными с точки зрения получения и селекции микробиальных штаммов, применяющихся в производстве торговых важных метаболитов и экзимонов. Так называемые методы скрининга подобно как вопросы стабильности штаммов и способы их хранения не приводятся

Jirků, V. - Basařová, G.: Industrially significant genetic manipulations. Kvas. prům., 29, 1983, č. 4, s. 80—83.

This survey article deals with these aspects of mutational and recombinational genetics that are of importance of creating and improving microbial strains utilized in the production of commercial metabolites and enzymes. Screening methods as well as the questions concerning strain stability and storage are not covered here.

Jirků, V. - Basařová, G.: Genetische Manipulationen von industrieller Bedeutung. Kvas. prům., 29, 1983, Nr. 4, S. 80—83.

Der zusammenfassende Artikel behandelt die Aspekte der Mutations- und Rekombinationsgenetik, die bei der Aufbereitung und Züchtung mikrobieller Stämme für die Produktion kommerziell wichtiger Metabolite und Enzyme appliziert werden. Die sog. Screening-Methoden sowie auch die Probleme der Stabilität der Stämme und die Methoden ihrer Aufbewahrung werden in diesem Artikel nicht angeführt.