

# Biotin a biochemická aktivita kvasinkové buňky

RNDr. VLADIMÍR JIRKŮ, CSc., Vysoká škola chemicko-technologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha

Ing. ALENA ČEJKOVÁ, CSc., Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha

Prof. Ing. GABRIELA BASAŘOVÁ, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha

577.164.18 582.282.232 663.12

**Klíčová slova:** biotin, růstový faktor, deficiencie, strukturní analog

Studium vitamínů přineslo již ve 30. letech informace, které vedly k závěrům, že některé z těchto látek jsou nutnou součástí kultivačního prostředí průmyslově používaných kvasinkových kmenů. Značný zájem, který byl vitamínům s funkcí tzv. růstových faktorů věnován, nepřinesl však informace, které by umožnily uspokojivě odpovědět na otázky související s mechanismem jejich stimulačních účinků. Kromě toho současný stav informací neumožňuje neempirické použití růstových faktorů při modelování nových kultivačních prostředí podobně jako neumožňuje hodnotit kvalitu komplexních substrátů z hlediska aktuálních koncentrací těchto látek. Nedostatečné jsou i informace o požadavcích kvasinkových kmenů na klíčové růstové faktory, informace o optimálních koncentracích těchto látek a především informace o důsledcích jejich deficiencie.

V uvedených souvislostech je tento přehled zaměřen na úlohu biotinu, která je aktuálním problémem zejména v případě průmyslových kultur droždářských kmenů.

## 1. Biochemické procesy vyžadující biotin

Historicky lze počátky studia biologické úlohy biotinu spojit se studiem optimálních podmínek průmyslových kultur některých kvasinkových kmenů. Známý spor mezi *Liebigem* a *Pasteurem* [1, 2] o významu přítomnosti kvasinkového extraktu byl však teoreticky zdůvodněn až začátkem našeho století, a to předpokladem, že optimální růst a množení kvasinkové populace je u některých druhů striktně podmíněno přítomností termostabilní organické látky, kterou *Wildiers* [3] nazval „bios“. Izolace a identifikace biologicky aktivních podílů této látky („bios I“, „bios II“ a později „bios IIA“ a „bios IIB“), provedené ve 20. a 30. letech, vedly k identifikaci komponentu s vlastnostmi růstového faktoru kvasinkové buňky, kterou *Kögl* [4] nazval biotin, a jehož laboratoř přinesla také první podstatné informace o jejím charakteru. Vývoj představ v tomto směru, popis prvních izolací a vývoj syntézy biotinu je podrobně shrnut v monografii *Frágnera et al.* [5].

Ve 30. a 40. letech byl zaznamenán velký pokrok v ob-

lasti výzkumu a studia prakticky všech vitamínů rozpustných ve vodě. Bylo zjištěno, že úloha těchto látek v biochemických procesech spočívá v tom, že fungují jako koenzymy nebo jsou součástmi koenzymů některých enzymů. Funkce biotinu zůstávala však zhruba dalších 20 let záhadou. Teprve v roce 1959 *Lynen* [6] se svými spolupracovníky prokázal karboxylaci biotinu a tím jeho úlohu v mechanismu účinku karboxylas.

Od této doby bylo prokázáno, že biotin je aktivním komponentem těchto enzymů [7]:

a) acetyl-CoA-karboxylasy (EC 6.4.1.2), která katalyzuje vznik malonyl-CoA a má základní regulační úlohu v syntéze mastných kyselin;

b) pyruvátkarboxylasy (EC 6.4.1.1), která katalyzuje vznik oxalacetátu a je klíčovým enzymem při odbourávání glukózy a jako taková má důležitou regulační úlohu;

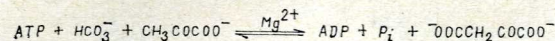
c)  $\beta$ -methylkrotonyl-CoA-karboxylasy (EC 6.4.1.4), která má důležitou úlohu v metabolismu leucinu;

d) propionyl-CoA-karboxylasy (EC 6.4.1.3), která katalyzuje vznik methylmalonyl-CoA z propionyl-CoA;

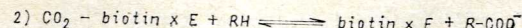
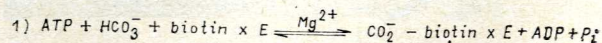
e) geranyl-CoA-karboxylasy (EC 6.4.1.5), která je zapojena v bakteriální degradaci isoprenových sloučenin. Tento enzym katalyzuje karboxylaci geranyl-CoA a farnesyl-CoA;

f) močovina karboxylasy (EC 6.3.4.6), která katalyzuje karboxylaci močoviny za vzniku kyseliny allofanové. Přítomnost tohoto enzymu umožňuje některým mikroorganismům (kvasinkové kmeny, některé zelené řasy), kterým chybí ureasa, využívat močoviny jako zdroje dusíku.

V názvech zmíněných enzymů je vždy uvedena sloučenina, která je finálním akceptorem karboxylu. Reakce katalyzované těmito enzymy mají tento obecný průběh:



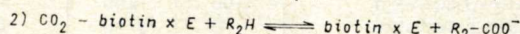
Z hlediska mechanismu vlastní reakce je možno rozlišit dvě fáze:





Představa o dvou dílčích reakcích nebo o existenci dvou specifických reakčních míst vychází z kinetických studií [8, 9].

Od uvedených enzymů se liší transkarboxylasy. Rozdíl spočívá v tom, že v reakcích, které jsou katalyzovány těmito enzymy není zapojen volný  $\text{CO}_2$  nebo  $\text{HCO}_3^-$ . I v tomto případě lze z hlediska mechanismu vlastní reakce rozlišit dvě fáze:



Je zřejmé, že v druhé fázi je průběh reakce stejný jako v případě enzymů katalyzujících karboxylaci.

Z enzymů, jejichž aktivita je závislá na biotinu, je možno jmenovat ještě dvě dekarboxylasy, a to methylmalonyl-CoA-dekarboxylasu a oxalacetátdekarboxylasu. První enzym je přítomen v buňkách *Micrococcus lactilyticus*. Tento enzym katalyzuje rychlou dekarboxylaci sukcinátu za vzniku propionátu a  $\text{CO}_2$ . Dekarboxylasa oxalacetátu byla zjištěna u *Aerobacter aerogenes*, kde má charakter inducibilního enzymu [10].

Z uvedeného je zřejmé, že enzymy, jejichž aktivita je závislá na biotinu, je možno z hlediska povahy reakce označit jako karboxylasy, transkarboxylasy a dekarboxylasy. Mechanismus vlastních reakcí karboxylasy a transkarboxylasy však zahrnuje v obou případech krok transkarboxylace. V případě reakcí, které jsou katalyzovány karboxylasami, probíhá proces transkarboxylace jako druhá reakce po vlastní karboxylaci enzymu, která probíhá za účasti ATP a kterou pravděpodobně vzniká komplex enzym-biotin- $\text{CO}_2$  za uvolnění ADP a orthofosfátu. Vlastní transkarboxylace, která navazuje na tuto reakci, se vyznačuje již substrátovou specifitou a znamená přenos karboxylu z  $\text{CO}_2$ -enzymu na specifický akceptor. Rozdíl mezi karboxylasami a transkarboxylasami tedy spočívá především v existenci karboxylačního mechanismu, tedy ve vytvoření donoru karboxylu, který je katalyzován stejným enzymem katalyzujícím i proces transkarboxylace [11].

Studium mechanismu obou typů reakcí souviselo se studiem struktury těchto enzymů. Výsledky získané v tomto směru v 60. letech přinesly jednak informaci o molekulové hmotnosti těchto enzymů, jednak prokázaly jejich subjednotkovou strukturu [12].

V případě karboxylace kvasinkové buňky byla začátkem 70. let porovnána fyzikálně chemická charakteristika dvou enzymů, acetyl-CoA-karboxylasy a pyruvát-karboxylasy [13]. Tato studie prokázala identické sedimentační koeficienty, přibližně stejnou citlivost k snížení iontové síly a pH. Disociace obou enzymů vedla k identifikaci subjednotek o stejných sedimentačních koeficientech [12, 9 a 6 S]. Zároveň bylo prokázáno, že subjednotky o sedimentačním koeficientu nižším než 15 S již nekatalyzují karboxylaci acetyl-CoA a pyruvátu. Různými technikami (včetně imunologických) bylo prokázáno, že 6 S subjednotky jsou nejmenšími stavebními jednotkami s úplnou strukturou nativního enzymu. Jinými slovy, těžší komponenty disociovaného enzymu jsou již agregáty 6 S subjednotek. Rozdílné imunologické vlastnosti obou zmíněných enzymů naznačuje skutečnost, že protilátka k acetyl-CoA neinaktivuje pyruvát-karboxylasu. Tyto experimenty vedly k závěru, že karboxylace biotinu, která je podmíněna přítomností ATP reakce (která je společná acetyl-CoA i pyruvát-karboxylase) je katalyzována substrukturou, která i když má identickou katalytickou funkci, má odlišnou primární strukturu.

Velmi účinným inhibátorem enzymových aktivit se závislostí na biotinu je avidin. Inhibice je podmíněna vytvořením komplexu biotin-avidin, který je v podmínkách vyšší iontové síly výrazně termostabilní [14].

Studium biotinu v širších souvislostech potvrdilo jeho vliv na některé základní biosyntetické procesy buňky. Byl uvažován vztah biotinu k syntéze pyridinových nukleotidů [15], k syntéze nukleových kyselin [16], k syntéze purinových a pyridinových bází [17], k proteosyntéze [17, 18], k syntéze polysacharidů [19] a především pak k syntéze mastných kyselin [20].

## 2. Biosyntéza biotinu

Aplikace poznatků o biologické úloze biotinu vyžaduje i poznání procesu jeho biosyntézy. Experimentální řešení této otázky je však komplikováno především tím, že schopnost syntetizovat biotin není univerzální vlastností mikroorganismů. Existující informace vedly především k představě dvou alternativ finálního kroku této biosyntézy, kterým je:

- inkorporace atomu síry do desthiobiotinu,
- inkorporace karbonylové skupiny do kyseliny cis-3,4-diamino-2-tetrahydrothiofen-n-valerové.

Pro první alternativu svědčí schopnost mikroorganismů konvertovat desthiobiotin na biotin. Pro druhou alternativu svědčí výsledky pokusů sledujících substituci biotinu zmíněnou kyselinou u kmenů rodu *Lactobacillus* a kmene *Saccharomyces cerevisiae* [21].

V souvislosti s otázkou raných prekurzorů biotinové dráhy je především uvažována úloha kyseliny pimelové a jí příbuzných látek. Experimentálně byl tento předpoklad potvrzen konverzí značené kyseliny pimelové ve značený biotin [22]. Izumi *et al.* [23] označují jako první krok v biosyntéze biotinu vznik pimelyl-CoA. Enzym katalyzující tuto reakci vyžaduje přítomnost kyseliny pimelové, CoA, ATP a  $\text{Mg}^{2+}$  iontů. Z nepřímých důkazů lze v této souvislosti uvést zvýšenou akumulaci desthiobiotinu v přítomnosti kyseliny pimelové [24] a dále zjištění, že je inhibován růst mikroorganismů schopných syntetizovat biotin v přítomnosti kyseliny  $\epsilon$ -(2,4-dichlor-sulfanilido)-kapronové, která je antagonistou kyseliny pimelové, přičemž tato inhibice je vratná účinkem kyseliny pimelové nebo biotinu. Podobně jako kyselinou pimelovou bylo zvýšení hladiny biotinu stimulováno i kyselinou azelainovou, která je prvním degradačním produktem kyseliny pimelové. Z dalších předpokládaných intermediátorů biotinové dráhy lze jmenovat kyselinu 7,8-diaminopelargonovou. Syntéza desthiobiotinu a biotinu vycházející z této látky byla prokázána u různých druhů mikroorganismů [25]. Podobné výsledky byly získány i v případě kyseliny 7-keto-8-aminopelargonové [26]. Keränen [27] popisuje možnost konverze diaminobiotinu v biotin. V této práci je rovněž uvedena stimulace syntézy biotinu kyselinou asparagovou, kterou lze zvýšit přítomností kyseliny olejové. Tyto a další výsledky naznačují, že v případě kvasinkové buňky se kyselina asparagová v biosyntetické dráze biotinu vyskytuje pravděpodobně před kyselinou 7,8-diaminopelargonovou. Stimulace růstu kvasinkové biomasy i intracelulární hladiny biotinu byla rovněž indukována přítomností kyseliny 8-oxopelargonové a 8-ketopelargonové [27]. Ogata *et al.* [28] označili jako výrazný intermediát biotinové dráhy kyselinu glutarovou. Jejich předpoklad byl rovněž potvrzen stimulačním účinkem L-lysinu, jehož degradačním produktem je právě kyselina glutarová.

Současný stav informací lze zatím shrnout v představu, že syntéza biotinu vychází z kyseliny pimelové a biotin vzniká přes kyseliny 7,8-diketopelargonovou, 7-keto-8-aminopelargonovou, 7,8-diaminopelargonovou a desthiobiotin [29]. Otevřenou otázkou zůstává mechanismus inkorporace atomu síry do molekuly biotinu. Podle některých předpokladů je v procesu konverze desthiobiotinu na biotin zdrojem síry cystein [30]. Atom síry vstupuje do molekuly biotinu jako cystaminový zbytek a biotin vzniká z cysteinu, pimelyl-CoA a karbamylfos-



fátu [31]. Určité výsledky podporují také hypotézu, podle které zdrojem síry biotinové molekuly může být thioesterová skupina  $R-CH_2-S-CH_2-R$ , která je např. společná thiaminu, methioninu a dalším látkám [32].

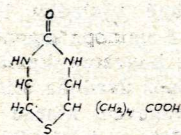
Otevřenou otázkou je rovněž regulace této biosyntetické dráhy. V této souvislosti lze předpokládat, že biosyntéza biotinu podléhá běžným mechanismům regulace biosyntetických drah. Možnou cestu studia této otázky ukazuje použití antibiotika acidomycinu, které je strukturním analogem biotinu, stimulujícím jeho biosyntézu [33]. Akumulace biotinu může být ovlivněna i stupněm jeho degradace [34] a vlivem podmínek kultivačního prostředí [35].

Kromě biochemické analýzy, která sleduje faktory ovlivňující aktivitu některých předpokládaných enzymů biosyntetické dráhy biotinu [36], byla tato dráha sledována i z hlediska genetické determinace zúčastněných enzymů a genetické analýzy pokusů kontrolujících jejich syntézu. V této souvislosti bylo izolováno poměrně velké množství biotinových auxotrofů bakteriálních kmenů [37]. Geny, ve kterých proběhly mutace podmiňující auxotrofii nebo konstitutivní charakter biotinových mutantů, byly částečně identifikovány a lokalizovány [38]. Rovněž byly lokalizovány regulační geny biotinového operonu [39]. V případě kvasinkové buňky však tyto informace nejsou k dispozici.

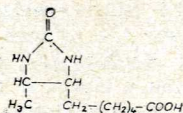
### 3. Analogy biotinu

Enzymy, jejichž aktivita je podmíněna biotinem, se v závislosti na druhu mikroorganismu částečně liší. Z těchto důvodů může mít substituce biotinu jeho analogem pozitivní nebo negativní důsledek. Dualismus účinku těchto látek dobře ilustruje schopnost analogů biotinu funkčně nahradit biotin (tab. 1).

Z dalších analogů biotinu lze upozornit na inhibiční účinky biotinsulfonu. Homobiotin vykazuje výrazné antagonistické účinky v případě řady kvasinkových kmenů, avšak u jiných druhů mikroorganismů tento analog funguje jako růstový faktor. Ze strukturně vzdálených analogů biotinu lze uvést kyselinu ureylencyklohexylvalerovou, která vykazuje silný inhibiční účinek, a to jak v případě kvasinkových tak i jiných mikrobiálních kmenů. Z mnoha důvodů je však nejvíce studovaným analogem biotinu jeho přímý prekurzor — desthiobiotin.



D - Biotin



Desthiobiotin

Zájem o tuto látku podmínil i vznik několika způsobů její přípravy [41]. Experimentální důkazy o možném nahrazení biotinu desthiobiotinem jsou poměrně starého data. Již první experimenty však naznačily, že schopnost konverze desthiobiotinu na biotin není univerzální vlastností všech mikroorganismů [42]. V těchto souvislostech lze obecně shrnout, že stupeň substituce biotinu jeho analogem je vždy závislý na kompetici, která mezi oběma látkami existuje. Inhibiční účinek analogů biotinu se tedy výrazně neprojevuje, jsou-li aplikovány na pozadí určité koncentrace biotinu. Tato situace je zejména aktuální v případě těch analogů, které vznikají degradací biotinu [43].

### 4. Transport biotinu

Poznání mechanismu a podmínek vstupu biotinu do mikrobiální buňky je především aktuální v případě prů-

Tabulka 1. Produkce biomasy v prostředí s biotinem nebo jeho analogy<sup>a</sup> [40]

Biotin/analog	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus arabinosus</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
D-biotin	100	100	100
D-biotinmethyl-ester	100	0	0
Biocytin	100	0	100
Biotin-D-sulfoxid	100	100	0
Biotin-L-sulfoxid	0	5	5
D-desthiobiotin	100	0	0
DL-oxybiotin	25	50	40

<sup>a</sup> vyjádřeno v procentech celkového nárůstu biomasy

myslových kultivací kmenů s omezenou nebo chybějící schopností jeho biosyntézy. Tyto mikrobiální druhy se staly také nejvíce sledovaným experimentálním modelem. V této souvislosti dílčí studie postupně prokázaly, že transport biotinu je spojen s energetickým požadavkem a je pod vlivem teploty, pH, zdroje C a dalších faktorů kultivace [44]. Podrobnější studium podmínek vstupu biotinu do buněk *Lactobacillus plantarum* však naznačilo i možnost transportu biotinu jinými mechanismy [45]. V těchto souvislostech je podstatné i zjištění, že transportní systémy a biosyntéza biotinu jsou nezávisle regulovány [44]. Stručně lze shrnout, že transport biotinu je regulován extracelulární hladinou biotinu a inhibován některými jeho analogy. Tyto vlivy se však vždy projevují na pozadí účinku základních podmínek kultivace. Je zřejmé, že poznání vzájemné interakce všech těchto faktorů je klíčovým požadavkem modelování optimální hladiny biotinu v kultivačním prostředí kmenů dependentních na tento růstový faktor.

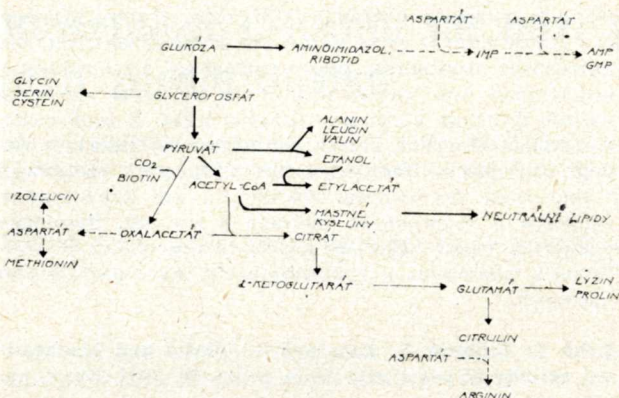
### 5. Deficience biotinu

V uvedených souvislostech lze obecně deficience označit specifickou modifikací biochemických aktivit buňky, která byla vyvolána nedostatkem biotinu (nebo obecně jiného růstového faktoru). Změny v buněčných procesech, strukturách a funkcích mohou být nedostatkem biotinu indukovány přímo nebo nepřímo, přičemž lze uvažovat o těchto možnostech:

1. Příslušná biosyntéza je podmíněna funkcí enzymů, jejichž aktivita je podmíněna růstovým faktorem.
2. Růstový faktor podmiňuje aktivitu enzymů fungujících v procesu odbourávání příslušného buněčného komponentu.
3. Definice růstového faktoru stimuluje změny buněčných struktur, které fungují v katabolismu nebo anabolismu klíčových buněčných komponentů.
4. Změna hladiny určitého buněčného komponentu je výsledkem celkové reakce buňky na danou deficience a v tomto smyslu může mít negativní i pozitivní význam.
5. Změna hladiny určitého buněčného komponentu je indukována sekundárně tím, že deficience růstového faktoru ovlivňuje pool přímých i nepřímých prekurzorů daného komponentu.
6. Definice růstového faktoru stimuluje změny ve složení a funkční anomálie buněčné stěny a biologické membrány.
7. Deficience růstového faktoru stimuluje změny v energetickém metabolismu.

Je zřejmé, že změny ve složení a funkci deficientní buňky mohou být i důsledkem kombinace uvedených možností včetně zásahů SOS mechanismů buňky a jejího regulačního aparátu.





Obr. 1. Důsledky deficiencie biotinu v metabolismu kvasinkové buňky metabolické dráhy, jejichž průběh zůstává beze změn (—); dráhy s projevující se vlivem deficiencie biotinu (---); dráhy ovlivněné indukovanou deficiencí kyseliny asparagové (· · · ·).

Tyto obecné představy byly v případě deficientní kvasinkové buňky zatím specifikovány pouze v několika dílčích analýzách deficientních populací. Představy o metabolismu kvasinkové buňky za podmínek deficiencie biotinu shrnuje schéma (obr. 1). Je zřejmé, že modifikace metabolismu deficientní kvasinkové buňky je v tomto případě podmíněna změnou aktivity pyruvátcarboxylasy (přímý důsledek nepřítomnosti biotinu), což bezprostředně vede k potlačení produkce oxalacetátu. Na pozadí omezené anabolické funkce Krebsova cyklu je akumulován pyruvát a posílena fermentativní povaha metabolismu deficientní buňky. V dílčích aspektech to znamená, že u deficientní kvasinkové buňky lze očekávat produkci ethanolu, zvýšení intracelulární hladiny alaninu, leucinu, valinu a ethylacetátu a vyšší intracelulární hladiny lipidů a mastných kyselin. Omezená produkce oxalacetátu způsobuje omezení anabolických procesů a tím i zpomalení celkového růstu biomasy. Tato ilustrace předpokládá změny metabolismu deficientní buňky však nevyklučuje, že nepřítomnost nebo suboptimální hladina biotinu nevyvolává paralelně další změny v biochemických aktivitách buňky. Rovněž je nutno říci, že mimo kvasinkové kmeny se striktní dependenci na růstové faktory existují kmeny s určitou bazální syntézou těchto látek a tedy schopností růstu a reprodukce v nepřítomnosti nebo snížené koncentraci růstového faktoru. Zachování nezměněné růstové charakteristiky deficientní populace není tedy spolehlivým kritériem pro volbu optimální koncentrace těchto látek, a to vzhledem k tomu, že nezměněná růstová charakteristika není spolehlivým důkazem tvrzení, že daná deficiencie nemá negativní důsledky. Prakticky všechny změny, které jsou jednotlivými deficiencemi indukovány při nezměněné růstové charakteristice, je možno označit jako změny s podmíněným vyjádřením, tzn. že jejich projev může být zaznamenán pouze v určitých podmínkách a souvislostech. Jinými slovy, buněčná populace získaná v podmínkách deficiencie se může vyznačovat změněnou stabilitou a citlivostí buňky, jinou nutriční hodnotou, kvalitativními a kvantitativními změnami v intracelulárním i extracelulárním prostředí a změněnými funkčními vlastnostmi, pro které byla připravena. Zároveň je zřejmé, že z těchto hledisek mohou mít jednotlivé deficiencie i pozitivní vliv. Tyto předpoklady zároveň ukazují na možnost individuální revize požadavků růstových faktorů v případě průmyslových kultivací kvasinkových kmenů a nutnost studia otázky deficiencie při přípravě nových průmyslových kmenů.

Změny v metabolismu deficientní buňky naznačují, že deficiencie růstového faktoru může pozitivně i negativně ovlivnit průmyslově významné biosyntetické, biodegradční, biotransformační procesy. Například prokázaný vliv deficiencie na hladinu lipidů jednotlivých skupin [45] nabízí možnost využít tuto změnu kultivačního prostředí pro cílenou manipulaci obsahu těchto komponentů. Vzhledem k tomu, že převládající látkou sterolové složky kvasinkové buňky je ergosterol, naznačují tyto poznatky určitou cestu pro přípravu kultur s vysokým obsahem buněčného ergosterolu. Vzhledem k tomu, že deficiencie biotinu a dalších růstových faktorů ovlivňují citlivost buněk k účinku polyenových antibiotik [46], lze deficientní populace využít jako experimentální model pro studium metabolismu účinku těchto látek. Zjištění vlivu deficiencie na citlivost kvasinkové buňky k účinku „killer“ toxinu [47] má význam z hlediska možných kontaminací průmyslových kultur producentů „killer“ toxinu. Možnost změn průmyslově významných vlastností naznačují i cytologické změny deficientních kvasinkových buněk [48].

Uvedené poznatky zároveň ilustrují experimentální přístupy, které jsou použitelné pro hodnocení významu základních růstových faktorů pro určitý průmyslový kmen. Průmyslová praxe však vyžaduje, aby poznatky, které získá mikrobiolog, převzal a zpracoval technolog příslušného směru. Vzhledem k tomu, že průmyslové praxe používá přirozené komplexní substráty s výrazně se měnící hladinou růstových faktorů, jsou neoddelitelnou součástí celé problematiky analytické metody, které umožňují charakterizovat v tomto směru použité substráty. Metody tohoto druhu, které by byly dostupné a proveditelné v provozní laboratoři, však zatím neexistují.

## Literatura

- [1] LIEBIG, J., van: Ann Chim. Phys., 4. Serie, 23, 1871, č. 5, s. 42
- [2] PASTEUR, L.: Ann. Chim. Phys., 3. Serie, 58, 1860, s. 323
- [3] WILDIERS, E.: Cellule (Belg.), 18, 1901, s. 313
- [4] KOGL, F., TONNIS, B.: Z. Physiol. Chem., 242, 1936, s. 43
- [5] FRÄGNER, J.: Vitamíny, jejich chemie a biochemie, Nakl. ČSAV, Praha 1961
- [6] LYNNEN, F., KNAPPE, J., LORCH, E., JUTLING, G., RINGELMANN, E.: Angew. Chem., 71, 1959, s. 481
- [7] MOSS, J., LANE, M. D.: Adv. Enzymol., 35, 1971, s. 321
- [8] NORTHROP, D. S.: J. Biol. Chem., 244, 1969, s. 5808
- [9] KNAPPE, J.: Ann. Rev. Biochem., 39, 1970, s. 757
- [10] WOOD, H. W.: Trends in Biochem. Sci., 1, 1976, s. 4
- [11] HALENDT, D. R., LANE, M. D.: J. Biol. Chem., 235, 1960, s. 878
- [12] LYNNEN, F.: Biochem. J., 102, 1967, s. 381
- [13] SUMPER, M., RIEPERTINGER, C.: Eur. J. Biochem., 29, 1972, s. 237
- [14] GREEN, N. M.: in Methods of Enzymology, Vol. XVIII., p. A, 414, COLLOWICK, S. P., KAPLAN, N. O. eds., Academic Press 1970
- [15] ROSE, A. H.: J. Gen. Microbiol., 43, 1960, s. 143
- [16] AHMAD, F., ROSE, A. H., GARG, N. K.: J. Gen. Microbiol., 24, 1961, s. 89
- [17] SUOMALAINEN, H., KERANEN, A. J. A.: Biochim. Biophys. Acta, 70, 1969, s. 493
- [18] SUOMALAINEN, H., KERANEN, A. J. A., KITUNEN, M.: VII. Intern. Congr. Microbiol., Stockholm 1958, s. 143
- [19] DUNWELL, J. L., AHMAD, F., ROSE, A. H.: Biochim. Biophys. Acta, 51, 1981, s. 51
- [20] LYNNEN, F.: Fed. Proc., 20, 1961, s. 941
- [21] NIIMURA, T., SUZUKI, T., TAHASHI, Y.: J. Vitaminol., 10, 1964, s. 231
- [22] ELFORT, H. L., WRIGHT, L. D.: Fed. Proc., 21, 1962, s. 467
- [23] IZUMI, Y., MORITA, H., TANI, Y., OGATA, K.: Agr. Biol. Chem., 38, 1974, s. 2257
- [24] CAMPBELL, L. L., WILLIAMS, O. B.: J. Bacteriol., 65, 1963, s. 146
- [25] OGATA, K., IZUMI, Y., OIKE, T., TANI, Y.: Agr. Biol. Chem., 37, 1973, s. 1093
- [26] IZUMI, Y., MORITA, H., TANI, Y., OGATA, K.: Agr. Biol. Chem., 38, 1972, s. 510
- [27] KERANEN, A. J. A.: J. Bacteriol., 100, 1969, s. 557
- [28] OGATA, K., IZUMI, Y., TANI, Y.: Agr. Biol. Chem., 34, 1970, s. 1870



- [29] PAI, C. H.: J. Bacteriol., 105, 1970, s. 793  
 [30] UMBARGER, E., DAVIS, B. D.: in The Bacteria Vol. 3, Academic Press, 1962, s. 169  
 [31] LEZIUS, A., RINGELMAN, E., LYNEN, Z.: Biochem. Z., 338, 1963, s. 510  
 [32] BERTOLDI, M., CECIGONANI, G.: J. Gen. Microbiol., 84, 1974, s. 214  
 [33] OGATA, K., IZUMI, Y., TANI, Y.: Agr. Biol. Chem., 34, 1970, s. 1872  
 [34] OGINO, S., FUJIMOTO, S., AOKI, Y.: Agr. Biol. Chem., 38, 1974, s. 707  
 [35] UZUKA, Y., NAGANUMA, T., TANAKA, K.: J. Gen. Appl. Microbiol., 20, 1974, s. 277  
 [36] EISENBERG, M. A.: J. Bacteriol., 123, 1975, s. 248  
 [37] PAI, Ch.: J. Bacteriol., 121, 1975, s. 1  
 [38] KRELL, K.: J. Mol. Biol., 68, 1972, s. 89  
 [39] PAI, C. H., YAU, H. C.: Can. J. Microbiol., 21, 1975, s. 1116  
 [40] SUOMALAINEN, H., OURA, E.: in The Yeasts, Vol. 2, ROSE, A. H., HARRISON, J. S. eds., Academic Press 1971, s. 22  
 [41] WRIGHT, L. D., CRESSON, E. L.: J. Am. Chem. Soc., 76, 1954, s. 4158  
 [42] DITTMER, K., MELVILLE, D. B., du VIGNEAUD, V.: Science, 99, 1944, s. 203  
 [43] OGATA, K., IZUMI, Y., TANI, Y., Agr. Biol. Chem., 37, 1973, s. 1087  
 [44] PRAKASH, O., EISENBERG, M. A.: J. Bacteriol., 129, 1974, s. 785  
 [45] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A., PÁČA, J.: Sci. Papers Prague Inst. Chem. Technol. E 55, 1983, s. 143  
 [46] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A.: Experientia, 37, 1981, s. 39  
 [47] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A.: Z. Allg. Mikrobiol., 21, 1981, s. 423  
 [48] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A.: Z. Allg. Mikrobiol., 22, 1982, s. 389

**Jirků V., Čejková A., Basařová G.: Biotin a biochemická aktivita kvasinkové buňky.** Kvas. prům. 30, 1984, č. 6, s. 128—132.

Biotin byl poprvé izolován a identifikován jako růstový faktor kvasinkové buňky v roce 1935. Od této doby jsou jeho biologická úloha, struktura a mechanismus účinku intenzivně studovány. Biotin je esenciální kofaktor pro malé množství enzymů, které mají různé metabolické funkce. V této souvislosti tento přehledný článek pojednává o vývoji našich znalostí o biochemických procesech dependentních na biotinu, biosyntéze biotinu i jeho strukturních analogů a buněčném transportu biotinu. Pozornost je také věnována účinkům deficiencie biotinu, a to zvláště ve vztahu k průmyslové kultivaci kvasinek.

**Иирку, В., Чейкова, А., Басаржова, Г.: Биотин и биохимическая активность дрожжевой клетки.** Квас. прум. 30, 1984, № 6, стр. 128—132.

Биотин впервые установили и определили как фактор

роста дрожжевой клетки в 1935 году. С того времени его биологическая роль, структура и механизм действия интенсивно изучаются. Биотин является эссенциальным кофактором для малого количества ферментов, имеющих разные функции в процессе метаболизма. В этой связи настоящая обзорная статья рассматривает развитие наших сведений о биохимических процессах, связанных с биотином, биосинтезом биотина и его структурных аналогов и транспортом биотина в клетках. Внимание уделяется также действию дефицита биотина, и то особенно в отношении к промышленному культивированию дрожжей.

**Jirků V., Čejková A., Basařová G.: Biotin and biochemical activity of yeast cell.** Kvas. prům. 30, 1984, No. 6, pp. 128—132.

Biotin was first isolated and identified as a yeast growth factor in 1935. Since then, its biological role, structure, and mechanism of action have been investigated vigorously. Biotin is an essential cofactor for a small number of enzymes that have diverse metabolic functions. In this connection, this review deals with the development of our knowledge of the biochemical processes dependent on biotin, biosynthesis of biotin, biotin vitamers and cellular transport of biotin. Attention is also paid to the effects of biotin deficiency, especially in relation to the industrial cultivation of yeasts.

**Jirků, V. - Čejková, A. - Basařová, G.: Biotin und die biochemische Aktivität der Hefezelle.** Kvas. prům. 30, 1984, Nr. 6, S. 128—132.

Das Biotin wurde im Jahr 1935 zum ersten Mal isoliert und als ein Wachstumsfaktor der Hefezelle identifiziert. Seit dieser Zeit werden seine Aufgabe, Struktur und Wirkungsmechanismus intensiv studiert. Das Biotin ist ein essentieller Kofaktor für kleine Enzymmengen, die verschiedene metabolische Funktionen haben. In diesem Zusammenhang befaßt sich der zusammenfassende Artikel mit der Entwicklung unserer Erkenntnisse über die biochemischen Prozesse, die von Biotin, der Biosynthese von Biotin und seinen Strukturanalogen und dem Zelltransport des Biotins abhängen. Die Aufmerksamkeit wird auch den Wirkungen der Biotindefizienz gewidmet, und zwar besonders mit Hinsicht zu der industriellen Hefenkultivation.

## Následnosť druhov v populáciach mliečnych baktérií počas výroby vína

Autori sledovali následnosť druhov v populáciach mliečnych baktérií počínajúc zrejmým hroznom až po víno, resp. po ukončení jablčno-mliečného kvasenia v podmienkach výroby červeného vína v oblasti Bordeaux r. 1980 a pri výrobe bieleho vína v oblasti Charentes a Bordeaux r. 1981.

Počas zrenia hrozna do zberu sa mliečne baktérie vyskytujú veľmi zriedkavo — 2 až 3 bunky na 1 bobuľu (zistili *Lactobacillus hilgardii* a *L. plantarum*). Na začiatku nakvasovania muštu modrých kultivarov (sírénie 100 mg.l<sup>-1</sup>) sa v mušte mliečne baktérie nevyskytovali, pri sírení od 0 do 50 mg.l<sup>-1</sup> SO<sub>2</sub> našli <10 buniek.ml<sup>-1</sup>. Pri dokvášaní muštu sa počet zvýšil na niekoľko sto buniek na 1 ml, pričom dominuje *Leuconostoc oenos*. Počas

manipulácií vína prudko vzrastá počet populácií mliečnych baktérií, ktorých počet dosiahol 10<sup>7</sup> buniek.ml<sup>-1</sup>. Dominovali opäť *Lc. oenos*.

Pri výrobe bielych vín prevládali v oblasti Bordeaux *Lc. oenos*, v oblasti Charentes *L. hilgardii*, *L. casei*, *Lc. mesenteroides* a *Lc. oenos*. V samotoku zistili 800 buniek.ml<sup>-1</sup> muštu: našli *L. casei*, *L. brevis* v počte 1300 buniek.ml<sup>-1</sup>. 1. deň fermentácie sa tento počet ešte zvýšil. 60 % tvorili *Lc. mesenteroides*, 20 % *Lc. oenos* a 20 % *L. plantarum*, 2. deň kvasenia rod *Lactobacillus* vymizol, zostali *Lc. mesenteroides*, 3. deň prevládal *Lc. oenos*. Posledný druh prevládal aj ku koncu kvasenia, počas ležania (vyrievania) vína až po destiláciu.

CARRE, E., LAFON-LAFOURCADE, S.: Succession des espèces dans les populations de bactéries lactiques au cours de la vinification. Rapport des Activités de Recherches 1981—1982. Université de Bordeaux II, Institut d'Oenologie, s. 77—80, Talence 1983.

Minárik