

Barbara Żarowska

Biosynteza i charakterystyka
toksyn killerowych
drożdży *Debaryomyces*
hansenii

Spis treści

1. Wstęp	7
2. Cel pracy	16
3. Materiały i metody	17
3.1. Materiał biologiczny	17
3.2. Podłoża hodowlane	18
3.3. Metody hodowli	18
3.4. Metody wydzielania i zagęszczania toksyn killerowych	19
3.5. Oczyszczanie białek killerowych	19
3.6. Metody analiz	21
3.6.1. Oznaczanie aktywności toksyn killerowych	21
3.6.2. Ocena aktywności bójczej drożdży <i>D. hansenii</i>	22
3.6.3. Oznaczanie biomasy, glicerolu i kwasu cytrynowego	23
3.6.4. Metody mikroskopowe	23
3.6.5. Metody ekstrakcji i wizualizacji plazmidów	23
3.7. Analiza <i>in silico</i> genów kodujących toksyny killerowe	24
4. Wyniki	25
4.1. Dobór podłoża do biosyntezy toksyn killerowych przez drożdże <i>D. hansenii</i>	25
4.2. Izolacja i oczyszczanie białek killerowych	34
4.2.1. Ultrafiltracja i wysalanie	35
4.2.2. Chromatografia jonowymienna i powinowactwa	37
4.2.3. Sączenie molekularne	42
4.3. Charakterystyka toksyn killerowych <i>D. hansenii</i>	50
4.3.1. Aktywność i stabilność toksyn w różnym zakresie pH i temperatury	50
4.3.2. Podatność toksyn killerowych na enzymy proteolityczne	54
4.3.3. Wpływ β -merkaptoetanolu na aktywność killerową toksyn	56
4.4. Aktywność bójcza drożdży <i>D. hansenii</i> i ich toksyn wobec różnych drobnoustrojów	56
4.5. Badanie mechanizmu działania toksyn killerowych	59
4.6. Genetyczne uwarunkowania zjawiska killerowego u drożdży <i>D. hansenii</i>	73
5. Dyskusja nad wynikami	77
6. Wnioski	91
7. Piśmiennictwo	92