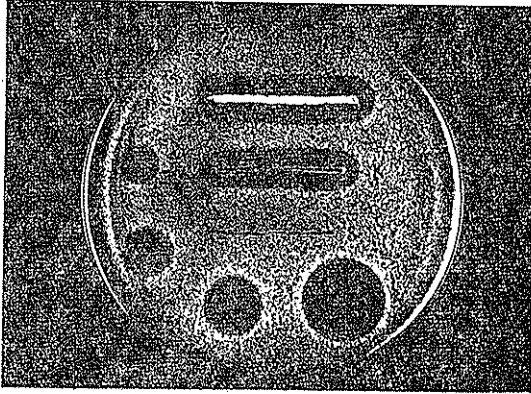


Öldürücü Maya (Killer Yeast)'nın Tanımı

Prof. Dr. M. Hilmi PAMİR

Bu olayla ilk defa 1963'de Oxford'dan bir katolik papaz olan Makeower karşılaşmış ve bu buluş giderek artan bir ölçüde ilgi görmüştür. Kuşkusuz bu ilginin doğmasında olayın amiline verilen kötü adın çarpıcılığı kadar organizmanın zehirleyici doğası da büyük rol oynamaktadır. Gerçekten zehirler ve zehirlenmenin mekanizması bilimin daima dikkatini çekmiştir. Olayı gözlemek için, bu öldürücü faktör (Killer Factor)'e hassas bir maya suşuyla hazırlanmış bir agar plat üzerine Resim 1'de görüldüğü gibi çok kuvvetli ve kuvvetli katilmaya ile hassas maya kültürlerinden 3 sürme yapılması (SK, K ve S) ve sonra agar platin inkübasyona bırakılması yeterli olmaktadır. Resimde görüldüğü katil mayalardan nüfuz eden toksin agar plata ekilmiş olan mayanın çoğalmasını önleyeceğinden SK ve K sürme yerlerinin çevresinde inhibisyon zonları oluştuğu halde, S sürme yerinin çevresinde böyle bir durum görülmemektedir. Agar platin aşağısında görülen inhibisyon zonları ise hücresiz toksik proteinin çeşitli dilüsyonlarına aittir. Bu dilüsyonların oranı sağdan sola olmak üzere 1, 1:50, 1:100 ve 1:500'dür.



Şekil 1 : Katil ve hasas fonotipler

SK = Süper Killer Strain

K = Killer

S = Sensitife

Ayrıca bu olaya hücresiz toksik protein filtratında veya içerisinde katil maya yetiştirilmiş pufferli bir besiyerinde hassas hücrelerin büyük ölçüde ölmeleri de kanıt teşkil edebilir. Bu ölüm oranı (1) filtrasyondan önce ka-

til hücrelerin ve (2) filtrasyondan sonra ise hassas hücrelerin inkübasyon süresine bağlıdır. Örneğin katil hücrelerin 48 saat yetiştirilmesini müteakip elde olunan bir filtratta 3 saatlik bir inkübasyondan sonra hassas hücrelerin ölüm oranı % 39'a kadar yükselbilmiştir. Keza homojenize edilmiş katil hücrelerden elde olunan bir filtrat taze bir besiyerine karıştırıldığı zaman öldürücü etki göstermiştir.

Öldüren faktörün dsRNA içeren virus benzeri partikül tabiatına dair elimizde 3 kanıt vardır: (1) Hüresiz filtratın 24 saat süreyle suya karşı diyalizinden sonra öldürücü aktivitenin durması, (2) 1 saat süreyle dakikada 40.000 devirle santrifügasyondan sonra aktivitede görülen, (3) Yoğunlaştırılmış bir filtratın elektron mikroskop altında incelenmesi halinde yaklaşık 350 A° büyüklüğünde görülen partiküller.

Bazı maya suşlarında «katil», «hassas» ve «nötral» suşlar olmak üzere 3 fenotip teşhis edilmiştir. Katil ve hassas maya suşları aynı besiyerinde birarada yetiştirildikleri zaman hassas suşların büyük bir kısmı ölür. Buna karşılık nötral suşlar katil veya hassas suşlarla birarada yetiştirildiklerinde ise, ölüm ortaya çıkmaz.

Katil mayalar içerisinde hüresiz öldürücü faktör bulunan besiyerinde 18 saat süreyle yetiştirilen hassas mayalardan elde olunabileceği bildirilmiştir. Fakat bu olay ancak enfeksiyonla açıklanabilir. Çünkü yapılan bir melezleme katil mayaların da hassas suşlar gibi aynı nükleer genotipe (nk) sahip olacaklarını göstermiştir. Aynı şekilde ister katil isterse nötral mayalar olsun, hiçbiri hassas hücrelerin hüresiz nötral besiyerindeki inkübasyonu ile elde olunamamıştır. Katil mayanın öldüren karakteri K sitoplazmik faktörüyle tayin edilir. K faktörü meydana getiren suşların fenotipi K⁺; katil olmayan suşlarınki ise K⁻ ile gösterilir. Zayıf K faktörü meydana getirenleri ifade etmek için de bazan K^w faktörü kullanılır. Nötral suşlar genellikle yalnız bir toksin tipine nötraldirler. Öldürücü faktöre karşı dayanıklılık

R⁺, hassasiyet ise R⁻ ile gösterilir. Buna göre katil suşların fenotipi K⁺R⁺ ile, nötralin ki K⁻R⁺, hassasınki ise K⁻R⁻ ile gösterilir. Bir diğer kombinasyon şekli olan K⁺R⁻ ise mevcut değildir. Çünkü katil mayalar daima kendi toksinlerine karşı bağışık (autoimmune)'tirlar. Bazı araştırmacılar R yerine (immun), - (minus) yerine O (sıfır) kullanırlar. O takdirde R⁻ yerine I^o kullanılmalıdır.

Katil mayalar etil - metan - sulfonat ile muamele etmek suretiyle hassas mutant suşlar elde edilebilmiştir. Bu işlemde mutasyon sıklığı % 0.26 olmuştur. Bu mutantlar orijinal suşun nükleer genotipini muhafaza ederler. Buna karşılık bugüne kadar hassas suşlardan mutasyon yoluyla ne katil ne de nötral mutantlar elde edilememiştir. Bütün bu gözlemler hassas suşların gerek katil gerekse nötral olanlardan sitoplazmik bir öğeden mahrum noksan oluşuyla ayrıldığını göstermektedir.

Maya hücrelerinin salgıladıkları dsRNA içeren toksinin L veya P₁ (mol. ağı. 2.5 x 10⁶) ve M veya P₂ (mol. ağı. 1.4 - 1.7 x 10⁶) olmak üzere iki tipi vardır. Ender olarak XL (mol. ağı. 3.8 x 10⁶) tipine de rastlanır. Bir hücrede M tipinin bulunması L tipinin varlığına bağlıdır. Bunun nedeni L tipi dsRNA M virus benzeri partikülün kapsid proteinini kodlaması ve bir yardımcı virus olarak görev yapmasıdır. Her iki molekül elektron mikroskopla incelendiği zaman lineer oldukları görülür.

Wickner (1976), Young ve Yagin (1978)'e göre *Saccharomyces* toksinleri K₁, K₂ ve K₃ olmak üzere 3 grup içinde toplanırlar. Bussey (1982) K₁ toksininin strüktür ve özelliklerini incelemiştir. Buna göre K₁ toksini molekül ağırlığı 11470 olan küçük bir proteindir. 109 amino asit içeren tek bir polipeptid zincirinden oluşmuştur. İzoelektrik noktası 4.5'dir. Aminoasitlerinin % 21'i asidik karakterlidir. Aralarında prolin ve arginin bulunmaz. *Staphyococcus aureus*'un V8 proteazıyla yapılan hidrolizasyonunda beklenen 23 - 24 peptidten en az 21'i saptanabilmiştir. Toksin hidrofobtur; 4.2 - 4.6 pH'da aktif ve en çok stabildir. Bu pH toksinin izoelektrik noktasına ve asidik amino asitlerin pK değerine yakındır. Yüksek pH değerlerinde tersinmez inaktifleşir. Protein ısıya karşı labil ise de, gliserin ilâvesiyle dayanıklılık artırılabilir ve nötral pH değerine kadar yükseltilebilir. Toksin 4.6 pH'da, % 15'lik gliserin içinde ve 4°C'de belirsiz olmayan bir süre aktif olarak kalır ve rutin olarak 18 - 22°C'de 4.6 pH'da gelişen hücreler üzerinde denendir.

Toksin ortama üs cinsinden gelişme safhasında salgılanır ve kültürden yüksek verimde kolaylıkla saf halde elde olunur. Bunun için kültür ultrafiltrasyondan geçirilerek ekstraselüler makromoleküller yoğunlaştırılır. Sonra çöktürme ve fraksiyone ayırma işlemleri ile saflaştırılır.

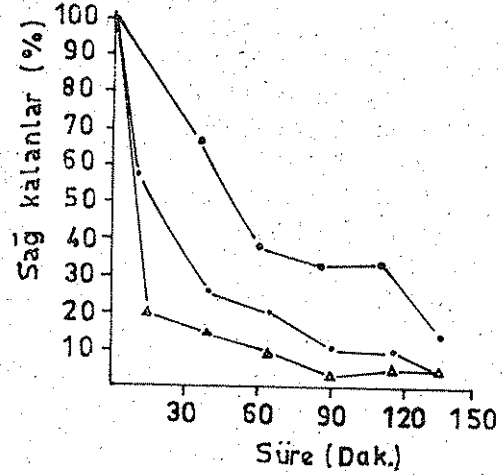
Bir minimal besiyerinde yoğunlaştırılan hücresiz besin üzerinde yapılan bir analiz sonucunu Tabol 1'de görülmektedir :

Tablo 1 : Katil ve hassas maya kültürlerinin minimal besiyeri konsantratlarının bileşimi

| Suş | Öldürücü birim/g hücre kuru mad. | Protein | mg/g hücre kuru mad. | | |
|------------------------|----------------------------------|---------|----------------------|--------|--------|
| | | | Polisak. | Pentoz | DNA |
| K ₁₂ ,M (k) | 2.0 x 10 ³ | 2.5 | 9.1 | 0.2 | ≥ 0.03 |
| S ₁₄ ,M (o) | 1.1 x 10 ² | 4.0 | 7.7 | 0.3 | ≥ 0.03 |
| S ₁₃ ,M (o) | ≥ 1.0 | 1.9 | 5.6 | 0.07 | ≥ 0.03 |

Bussey (1972 ve 1982)'e göre toksinin protein içerdiğine kanıt olarak proteazdan etkilenmesi ve termolabil olması gösterilebilir. Bu proteinin % 5 - 10 kadarını glikoproteinler oluşturur.

Toksin kolay erimez. Bu durum pH 4.7 (ölme optimumu)'de 10^4 ve 10^5 seyreltmeye tâbi tutulmuş toksinle muamele edilen hassas kültürlerin aynı ölme derecesi göstermesinden anlaşılır. Dış etkenlerin toksin aktivitesi üzerindeki etkisine gelince, şayet toksinle muamele edilen hücreler ekimden önce 30°C 'de 20 dakika pH'sı 7.0 olan bir pufferde inkübe edilirlerse, toksin etkisinin önemli derecede azaldığı görülür. (Şekil 1) Puffere % 1 glüsülaz ilâve edilirse, bu durum daha da belirgin olur. Maya hücre duvarını parçalayan ve yılından elde olunan bu enzimin olaydaki işlevi yalnız hücre duvarını parçalamasından ibaret olmalıdır. Çünkü aynı enziminin vitro deneylerde toksini inaktifleştiremediği saptanmıştır. Aynı zamanda tripsin dahil birçok proteazlarda bu bakımdan etkisiz kalmışlardır. Sağ kalan hücrelerin oranı süre uzadıkça düşerek 150'nci dakikada tanık değerine yaklaşmıştır. Bu makromoleküler olayların tamamen durdurulduğu yerdeki jenerasyon süresi yaklaşık 2 saattir. Bu olayı Tablo 2'de izlemek mümkündür.



Şekil 1: Dış etkenlerin toksin aktivitesi üzerine etkisi. 24°C 'de YEPD sıvı besiyerinde yetiştirilmiş üs cinsinden çoğalma safhasındaki S_{14} suşu başlangıçta toksinle muamele edildi. Δ , canlı hücre sayımıyla tayin edilmiş tanık öldürme eğrisi; O , plat yapmadan önce 30°C 'de, 20 dakika inkübe edilmiş ve pH'sı 7 olan 0.05 M sitrat - fosfat pufferle belli sürelerde seyreltilmiş kültürde canlı hücre sayımı; O , plat yapmadan önce 30°C 'ye 20 dakika inkübe edilmiş ve yukarıdaki puffer + % 1 glüsülaz ile seyreltilmiş kültürde canlı hücre sayımı. YEPD besiyerine yapılmış bütün platlar 30°C 'de inkübe edilmişlerdir.

Tablo 2: S_{14} hassas suşundaki makromoleküler proseslerin toksin tarafından inhibisyonu

| | Inhibisyonun ortaya çıkışında % ölüm | % 100 inhibisyonunda % ölüm | Jenerasyon süresi (s) | % 10 inhibisyona toksin ilâvesinden sonra ki jenerasyon süresi |
|----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|--|
| O ! a y | | | | |
| Tomurcuklanma ve hücre bölünmesi | 84 | 91 | 4.30 | 0.58 |
| Polisakkarit sentezlenmesi | 80 | 86 | 2.26* | 0.70 |
| Protein sentezlenmesi | 79 | 96 | 2.15* | 1.23 |
| Nükleik asit sentezlenmesi | 83 | 95 | 4.75 | 0.90 |
| DNA sentezlenmesi | 81 | 92 | 4.75 | 0.88 |
| | 72 | 78 | 4.8 | 0.52 |

* Kültürleri yetiştirmek için YEDP besiyeri kullanılmıştır.

Makromoleküler olaylar üzerinde toksinin etkisi bir kültürdeki hücrelerin toksini adsorplamasıyla doğrusal bir ilişki içinde olduğu tezi ileri sürülüyorsa da, böyle bir etki şeklinde hassas hücrelerde birçok komponentlerin sentezlenmesinin yavaş bir şekilde durması gerekir. Halbuki Tablo 2'de görüldüğü gibi ölüm olayı toksinin bağlanmasıyla ilişkili değildir. Çünkü henüz inhibisyon belirgin olarak ortaya çıkmadan önce ölüm olayı % 70-80 oranında vukua gelmektedir. Ölçülen proseslerin hiçbiri toksin ilâvesinden sonra en az jenerasyon süresinin yarısı kadar bir sürenin geçmesine kadar tamamen durmamıştır.

Bu durum bu olaylardan hiçbirinin inhibisyonun amili olmadığını düşündürüyor. Protein sentezlenmesinin inhibisyon süresi kültürün gelişme hızına tâbidir. Aynı zamanda inhibisyon nutrient besiyerinde yetiştirilen kültürlerde minimal besiyerinde yetiştirilenlerden daha erken olmuştur. Ayrıca inhibisyon toksin ilâvesinden sonraki jenerasyon süresiyle beklenildiği gibi uyumluluk göstermiştir. 20-22°C'de ve pH 4.7'de toksinle muamele edilmiş gelişmekte olan hücrelerin plat agar da koloni teşkil etme kabiliyetlerinden hızlı bir düşme gösterirler. En yüksek ölüm oranı suşa tabi olarak 2-3 saat sonra ortaya çıkar. Hücre içerisindeki metabolik ve makromoleküler biyosentez olayları ilk defa toksinin ilâvesinden yaklaşık 40 dakika sonra kendini gösterir. Bu olay plazma membranının hasar görmesiyle açıklanmaktadır. Böyle hücrelerin hacimleri küçülmektedir, fakat lize olmamakta veya büyük parçalar içermemektedir. Dolayısıyla makromoleküller hücre dışına çıkamamaktadır.

Toksinin etki mekanizmasına gelince, plazma membranının hasar görmesi yanında hücrelerin toksinin bir letal dozuyla buluşmasından sonra lag safhasının varlığı, toksinin hassas hücrelere girmesi de dahil, başka olanakları akla getiriyor. Bunun mekanizması şu aşamada bilinmiyor, fakat toksinin plazma membranına olan etkisiyle uyum halinde kanıtlar bulunmaktadır. Kanıtların ortaya çıkarılmasında toksinden etkilenmemiş hücrelerin fizyolojilerinin incelenmesinden başka radyoizotop kullanarak toksinin öldürme mekanizmasının izlenmesi ve hassas hücrelerden tok-

sine dayanıklı mutantların elde edilmesi de yararlı olmuştur. Bu çeşit analizlerden toksinin iki aşamalı bir faaliyet modeli ortaya çıkmıştır.

Buna göre toksin hücre duvarında bulunan bir reseptöre bağlanmaktadır. Bunun kanıtı toksine dayanıklı kre 1 ve kre 2 (killer resistant) mutantlarının «vildtype»den daha az toksini bağlamalarıdır. Keza ³⁵S-izotopu ile etiketlenmiş toksinin hassas bir suşun ve ondan elde olunmuş dayanıklı mutantın hücresi üzerindeki bir duvar reseptörüne bağlanması, reseptör hakkındaki iddiayı kuvvetlendirmiştir. ³⁵S-izotopu ile etiketlenmiş toksinin hassas hücrelere bağlanması hızla yapılabilir. Lag safhası yoktur. Enerjiye gereksinme göstermez ve pH 4.7'de 20°C'de 3 dakika içinde tamamlanır.

Toksin reseptörlerini «Zymolyase 60 000» ile muamele etmek suretiyle hücre duvarından çözünür hale getirmek mümkündür. Bu enzim *Arthrobacter luteus*'dan elde olunur ve endoglikanaz içerir. Çözünmüş reseptörler diyaliz olmazlar ve hassas hücrelerle toksinin bağlanması üzerinde yarışmalar ve hassas hücreleri ölümden kurtarırlar.

Reseptör molekülünün β - (1 → 6) - D - glükan'dan oluştuğu anlaşılıyor. Bu glükan, hücrenin diğer glükan ve mannanlarından alkali ve seyreltik asetik asitteki farklı çözünürlüğünden faydalanılarak saf halde elde olunabilir.

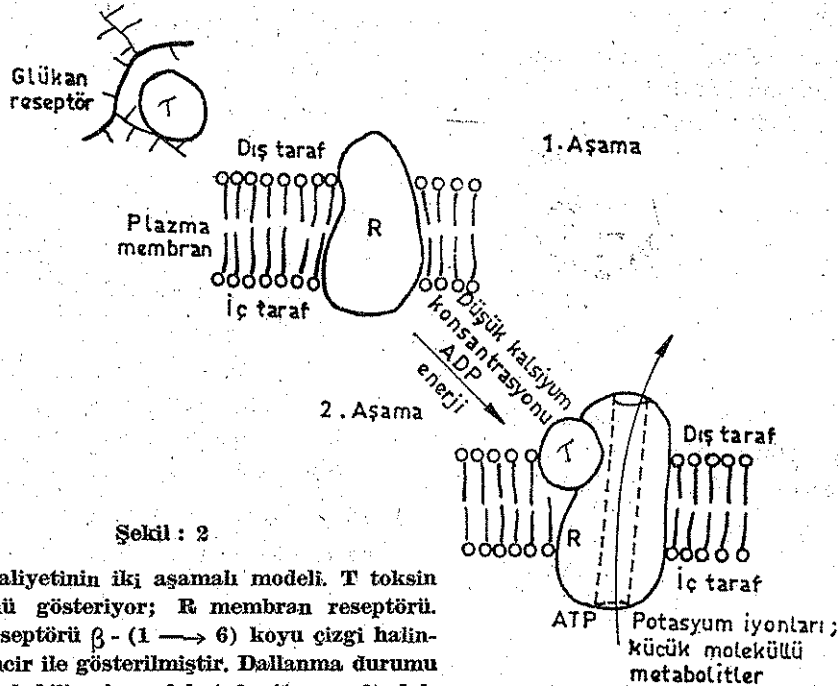
Toksinin etki gösterebilmesi için hücre duvarı reseptörüne gereksinme vardır, fakat öldürme işlemi bunun yegâne komponent olmadığı anlaşılıyor. Bazı kanılar plazma membranı üzerinde de bazı reseptörlerin bulunabileceğini gösteriyor. Hassas hücrelerin ölme kinetikleri hücre duvarı glükan reseptörünü doymuş hale getirmek için lüzumlu miktardan 50 kez daha düşük bir konsantrasyonda, 0.2 µM toksinin doymuşluğu sağlayabildiğini gösteriyor, bu durum başka reseptörlerin de varlığını kanıtlıyor. Çünkü öldürücü olabilen bu düşük konsantrasyonlar hücre duvarı reseptörlerinin ancak küçük bir kısmını işgal edebilir. Örneğin S 14a suşunda 2.8×10^4 toksin molekülü bir hücreyi öldürebilir. Halbuki bu hücrede 1.1×10^7 adet reseptör bulunmaktadır.

Toksinin plazma membranıyla interaksyonu sonucu olarak küçük moleküllü maddelerin permeabilitesinde değişiklik meydana getirmesi henüz açıklanmış değildir. Bunun mekanizmasının açıklanması hücre dışı proteinlerin hassas hücrelerin plazma membranıyla nasıl interaksyona girdiğinin anlaşılmasını sağlayacaktır. Üs cinsinden çoğalma safhasında bulunan hassas hücrelerin duraklama safhasından daha hassas olduğu bilinmektedir. Bu gözlem toksin tarafından meydana getirilmiş membran hasarının enerji gerektiren bir olay olduğunu göstermek için kullanılmıştır. Gerçekten de 2,4-dinitrofenol gibi, enerji üreten proseslere müdahale eden zehirler hassas hücrelerden toksinin neden olduğu potasyumun hücre dışına çıkışını önlemiştir. Fakat aynı zehirler toksinin hücre duvarı reseptörüne bağlanmasını önleyememiştir.

Başka bir gözlemden ise *Saccharomyces cerevisiae*'nin bir Saké suşundan elde olunan toksinin *Sacch. cerevisiae*'nin hassas suşlarından meydana getirdiği membran hasarını Ca^{2+} iyonlarının önlediği, fakat toksinin bağlanmasını önleyemediği saptanmıştır. Letal dozda toksinin ve Ca^{2+} iyonlarının bulunduğu platta hücreler gelişebilmişlerdir.

Bugünkü bilgilerimize göre toksinin faaliyeti iki aşamalı bir modelle görülmektedir. Bunu Şekil : 2'de şematik olarak görmekteyiz.

Şemadan da anlaşılacağı üzere toksin hücre duvarı glükan reseptörüne bağlanır. Bu proses enerjiye bağımlı değildir ve kre 1 ve kre 2 gen ürünleri ister. 2. safha hücre içinde devam eder ve toksin transmembran proteini R (kre 3 gen ürünü) ile doğrudan ilişkiye girer. Bu proteinin işlevi potasyumun, ATP'nin ve küçük moleküllü metabolitlerin hücre dışına çıkmasında bir kanal gibi görev yapmaktır. Prosesin 2. safhaya geçerek tamamlanması için, toksin ilavesinden sonra geçen zaman membran hasarının vukuundan önceki lag periyodu olmalıdır. Toksinin membrana nüfuzu veya bir membran proteininin toksin tarafından meydana getirilmiş kovalan modifikasyonu enerjiye bağımlı olabilir. Alternatif olarak iyon ve metabolitler membran proteininin porlarından geçerken enerji isteyebilir. Yukarıda bahsolunan Saké-mayası toksini sisteminde 2. aşama ADP ile teşvik edilir, fakat kalsiyum iyonlarıyla durdurulur. Bağışık protein, muhtemelen integral bir membran protein, modifikasyon tepkimesini bloke etmek suretiyle toksinin por veya kanal ile interaksyonunu önler.



Şekil : 2

Toksin faaliyetinin iki aşamalı modeli. T toksin molekülünü gösteriyor; R membran reseptörü. Glükan reseptörü β - (1 → 6) koyu çizgi halinde ana zincir ile gösterilmiştir. Dallanma durumu kesin olarak bilinmiyor, fakat β - (1 → 3) dallanma yerlerinin ve β - (1 → 6) yan zincirlerinin bulunduğu muhakkaktır.

Katıl maya toksinini laboratuvarında tayin etmek için (Tablo 3) Pfeifer ve Radler (1982)'in geliştirdikleri bir yöntem şöyledir : % 2 (w/v) glükoz; % 2 (w/v) pepton; % 1 (w/v) maya ekstraktı; % 1.2 (w/v) agar ve ayrıca olarak metilen mavisi katılmış besiyeri ile hassas bir suş olan *Sacch. cerevisiae* 67 kullanılarak ve 10^5 adet hücre içerecek şekilde bir agar plat hazırlanır. Agar plat üzerinde 10 mm çapında açılmış disklerle deney mikroorganizma kültürlerinden 0.1 ml konulur. Sonra platlar 5 gün 20°C 'de inkübe edilir. Toksinin bulunduğu, disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonu ile anlaşılır.

Ekstrasellüler toksin üretimi için de (Tablo 4) % 5 (w/v) glükoz, % 2 (w/v) DL-malat; % 0.05 (w/v) trisodyum sitrat dihidrat; % 0.004 (w/v) inozitol içeren ve pH'sı KOH ile 5.0'e ayarlanmış olan besiyerinde *Sacch. cerevisiae* 28 suşu 20°C 'de 3 gün inkübe edilir. Bu sırada manyetik bir karıştırıcıyla yavaş karıştırılır. Bu süre sonunda kültür 4°C 'de sant. rifüj edilerek sıvı kısım alınır ve Seitz EK filtresinden geçirilir. Sonra ultrafiltrasyon membran filtreden (Sartorius tip SM 12136) geçirilerek elde olunan filtrat yoğunlaştırma işlemine tâbi tutulur. Böylece toksinin konsantrasyonu 2000 defa daha artırılmış olur.

Tablo 3 : Katıl maya toksinin tayininde kullanılan besiyerinin bileşimi (Pfeifer ve Radler'e göre)

| Maddeler | Miktar (% w/v) |
|----------------|----------------|
| Glükoz | 2 |
| Pepton | 2 |
| Maya ekstraktı | 1 |
| Agar | 1.2 |
| Metilen mavisi | 0.5 |

Tablo 4 : Ekstrasellüler katıl maya toksininin üretiminde kullanılan besiyerinin bileşimi (Pfeifer ve Radler'e göre)

| Maddeler | Miktar (% w/v) |
|---------------------------|----------------|
| Glükoz | 5 |
| D7 - Malat | 2 |
| Trisodyum sitrat dihidrat | 0.05 |
| Inozitol | 0.004 |
| pH (KOH ile ayarlanmış) | 5.0 |

Katıl mayalardan elde olunan toksinler patojen mayalar üzerinde denenmiş ve iyi sonuçlar alınmıştır. Bu amaçla denenmiş mayalar *Candida albicans*, *Torulopsis glabrata* ve *Cryptococcus heiformans* toksine karşı hassas bulunmuşlardır. Burada toksin bir antifungal antibiyatik olarak görev yapmaktadır. Ancak bu toksinin antijenitesi ve birçok hallerde labil oluşu ve aynı zamanda pH stabilitesi terapötik antifungal ilaç olarak kullanımını zorlaştırmaktadır. Fakat bu alanda kullanılabilen antifungal ajanların azlığı da düşünülürse, bu oluştan ileri daha çok yararlanmak için yapılacak araştırmalar değerli olacaktır.

Katıl maya üzerindeki bilgilerimizin endüstriyel mikrobiyolojinin çeşitli alanlarında da faydalı sonuçları vardır. Günümüzde giderek kullanımı yaygınlaşan «karışık kültür» (Mixed Culture) birbirine metabolik faaliyetleri antagonist değil sinergotik olan mikroorganizmalardan oluşma koşuluna sıkı sıkıya bağlıdır. Bu nedenle maya ve maya benzerlerinin kullanıldığı endüstriyel mikrobiyolojinin çeşitli faaliyet alanlarında «katıl maya» ya terim ve anlam olarak önem vermek zorundayız.

KAYNAKLAR

1. Kockova - Kratochvilova, A. 1981. Biotechnology, Vol. 1. Verlag Chemie, Basel.
2. Bussey, H. 1981. Physiology of Killer Factor in Yeast. Advances in Microbial Physiology, 22: 93 - 122.
3. De La Pena, P. et al. 1981. Effect of Yeast Killer Toxin on Sensitive Cells of *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chemistry, 256: 10420 - 10425.
4. Bussey, H. 1972. Effects of Yeast Killer Factor on Sensitive Cells. Nature New Biology, 235: 73 - 75.
5. Pfeifer, P. ve F. Radler. 1982. Purification and Characterization of Extracellular and Intracellular Killer Toxin of *Saccharomyces cerevisiae* Strain 28. J. of General Microbiology, 128. 2699 - 2706.