

Ueber den Reservekohlenhydratstoffwechsel von *Saccharomyces cerevisiae*

Doctoral Thesis

Author(s):

Küenzi, Martin

Publication date:

1970

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000091390>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. Nr. 4544

**Über den Reservekohlenhydratstoffwechsel
von *Saccharomyces cerevisiae***

ABHANDLUNG

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften
der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

MARTIN KÜENZI

dipl. Ing.-Agr. ETH
geboren am 13. August 1941
von Uebeschi (Kt. Bern)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. A. Fiechter, Referent
Prof. Dr. Ph. Matile, Korreferent

Juris Druck + Verlag Zürich
1970

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit hatte die Untersuchung des Reservekohlenhydratstoffwechsels wachsender Zellen von Saccharomyces cerevisiae zum Ziel.

In Fließkultur unter Glucoselimitierung und aeroben Bedingungen tritt der Organismus in drei, nach morphologischen und physiologischen Merkmalen und nach ihrem Reservekohlenhydratstoffwechsel unterscheidbaren Zelltypen auf.

Bei höheren spezifischen Wachstumsraten (fermentativer Abschnitt der Verdünnungsrate) tritt als alleinige Erscheinungsform der Typ der gärenden Zelle auf. Rein respirativ wachsende Kulturen spalten dagegen in zwei Zelltypen auf. Nach dem Beginn einer kontinuierlichen Züchtung bilden sich zuerst die lichtmikroskopisch hellen H-Zellen. Im weiteren Verlauf des Wachstums werden diese teilweise durch die dunklen D-Zellen verdrängt. Die Differenzierung der Kultur ist populationsdynamisch mit der Anreicherung einer Mutante vergleichbar. Die vermutlich erblich bedingten Unterschiede zwischen H- und D-Zellen müssen durch einen komplexen Mechanismus reguliert werden, denn die typischen Merkmale beider Zelltypen verschwinden, wenn Substrat im Ueberschuss vorhanden ist, und es bilden sich gärende Zellen.

Im Chemostaten liessen sich mit einer neu entwickelten Methode in Kulturen von H-Zellen stabile Synchronschwingungen induzieren.

Die Dynamik der stabilen Synchronschwingungen wurde untersucht. Die grösseren und älteren H-Zellen bestimmen mit ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit, welche gegenüber dem durchschnittlichen Wert der Population erhöht ist, die Periode der Synchronschwingung. In der durch den Abbau von Kohlenhydratreserven bedingten, periodischen Ausschüttung von Aethanol und in der Aenderung der aktuellen Glucosekonzentration während dem Sprossungszyklus wurden wahrscheinliche Ursachen für die Stabilisierung der synchronen Sprossungen erkannt.

Die Abhängigkeit der Kohlenhydratzusammensetzung von der spezifischen Wachstumsrate und die Bedeutung der endogenen Reserven für den Vermehrungsprozess der drei Zelltypen wurden untersucht. Entgegen der allgemeinen Vorstellung, dass nur ein Ueberschuss an Energie bei gleichzeitiger Hemmung des Wachstums durch andere Faktoren zur Speicherung von Kohlenhydraten führt, nimmt die Synthese von Reserven bei allen drei Zelltypen mit steigender Beschränkung der Energie- und Kohlenstoffzufuhr (abnehmende Wachstumsgeschwindigkeit) zu.

H-Zellen enthalten am meisten Reservekohlenhydrate. Vor der Ausstülpung der Sprosse beginnen sie Glycogen und Trehalose teilweise abzubauen. Sie decken

damit den zusätzlichen Energie- und C-Bedarf für die Sprossung. Die Menge mobilisierter Reserven nimmt mit sinkender Verdünnungsrate zu. Die Kohlenhydrate werden während der Einzelzellphase wieder aufgebaut. Durch den Auf- und Abbau von Reserven entsteht für die Zellen ein Energieverlust. Der H-Typ wächst zudem, verglichen mit den D-Zellen, bei einer höheren aktuellen Substratkonzentration.

Es muss sich bei ihm um eine Erscheinungsform handeln, welche eher für eine Ueberdauerung ungünstiger Umweltsverhältnisse als für die Vermehrung bei Substratmangel geeignet ist.

D-Zellen enthalten gegenüber den H-Zellen weniger Trehalose. Sie verwenden einen grösseren Teil des Substrates direkt katabolisch. Energieverluste durch einen Umtrieb von Kohlenhydraten während dem Sprossungszyklus müssen kleiner sein oder ganz fehlen. Dank der Fähigkeit, eine bestimmte Wachstumsgeschwindigkeit bei einer niedrigeren aktuellen Substratkonzentration zu erreichen als die H-Zellen, sind sie für ein Wachstum bei stark eingeschränkter Substratversorgung besonders geeignet.

Diese Interpretation wird durch die Beobachtung einer morphologischen und physiologischen Verwandtschaft der D-Zellen mit den Zellen von *Pseudomycel* gestützt.

Gärende Zellen ($D > 0,24 \text{ h}^{-1}$) enthalten nur Spuren von Trehalose. Bei maximaler spezifischer Wachstumsrate zeigen die Zellen in Synchronkultur unverändert einen sehr niedrigen Reservekohlenhydrat-Pool. Mit sinkender Wachstumsgeschwindigkeit nimmt der Glycogengehalt stärker zu als bei den beiden anderen Zelltypen.

Die Strukturkohlenhydrate Mannan und Glucan zeigen nur eine geringe Abhängigkeit von der Wachstumsgeschwindigkeit, vom Sprossungszyklus und vom Zelltyp.

Die Reservespeicherung wachsender Zellen steht mit den spezifischen Aktivitäten von Enzymen des Reservekohlenhydratstoffwechsels in enger Beziehung. Langsam wachsende Zellen, welche einen grösseren Teil des Substrates für die Reservesynthese verwenden, weisen stark erhöhte spezifische Aktivitäten der UDPG-Pyrophosphorylase und der Glycogenphosphorylase auf. Durch die Erhöhung der Menge aktiven Enzyms kann die Zelle den Substratfluss auch bei starker Substratlimitierung verstärkt in Richtung Reserve-Kohlenhydratsynthese lenken.

Ueber den Sprossungszyklus bleibt die Phosphorylaseaktivität konstant, während bei der Trehalase eine Aktivitätszunahme in der Zeit des stärksten Trehaloseabbaues auftritt. Daraus darf nicht auf eine zyklusgebundenen de novo Synthese

se des Enzyms geschlossen werden, denn die spezifische Aktivität der Trehalase kann auch bei einer durch Cycloheximid gehemmten Proteinsynthese zunehmen. Die Trehalase muss in der Zelle in verschieden aktiver Form vorliegen.

Die Bedeutung der Tatsache, dass die katabolisch wirksamen Enzyme Phosphorylase und Trehalase auch während der Zeit der Reservesynthese in der Zelle vorhanden sind, wurde diskutiert.