

Diss. ETH 5469

Zur Lokalisation der Malat-Dehydrogenase
in *Schizosaccharomyces pombe*

ABHANDLUNG

zur Erlangung
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von

ANDRES ZIMMERLI
dipl. Natw. ETH-Z
geboren am 28. Juli 1945
von Zürich

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

Juris Druck + Verlag Zürich
1975

E. ZUSAMMENFASSUNG

Während des Wachstums von Schizosaccharomyces pombe auf glucosehaltigem Medium konnte im Rohextrakt das Auftreten von 4 Enzymformen der Malat-Dehydrogenase gezeigt werden (HEER, 1973).

In dieser Arbeit wurde durch Separierung der Mitochondrien vom Cytoplasma die Malat-Dehydrogenase lokalisiert.

Mit einer isopyknischen Zonen-zentrifugation in einem Saccharosegradienten konnten die Mitochondrien aus mechanisch aufgeschlossenen Zellen gereinigt und angereichert werden.

Die gereinigten und angereicherten Mitochondrien wurden aufgeschlossen und zur Identifikation der Malat-Dehydrogenaseformen isoelektrisch fokussiert. Zur Untersuchung des löslichen Teils der Zelle diente ein mitochondrienfreier Extrakt.

In den Mitochondrien konnte eine Malat-Dehydrogenaseform mit pI 6.3 gefunden werden, die bzgl. des pI mit der MDH-Form-I aus dem Rohextrakt reprimierter Zellen identisch ist. Eine Enzymform mit pI 5.7 fand sich im löslichen Teil der Zelle, diese ist mit einer der beiden Uebergangsformen (MDH-Form-III) aus dem Rohextrakt teilweise dereprimierter Zellen identisch.

Die Aktivität der Malat-Dehydrogenase in Schizosaccharomyces pombe setzt sich somit mindestens aus einem mitochondrialen und einem cytoplasmatischen Anteil zusammen.

Zur Erhöhung der Zuverlässigkeit der Zonal-Zentrifugations-Einrichtung wurde ein neuer Füllkopf (Seal Assembly) zur Füllung bzw. Entleerung des laufenden Rotors gebaut.

F. SUMMARY

During the Growth of Schizosaccharomyces pombe in synthetic glucose-limited medium under aerobic conditions, four forms of the enzyme malate dehydrogenase (MDH) can be shown (FLURY, 1973; HEER, 1973).

In the present work, the enzyme has been localized by separating mitochondria from the cytoplasm. The mitochondrial extract was purified and enriched by isopycnic-zonal-centrifugation in a density gradient (sucrose).

Identification by the isoelectric point (pI) of the malate dehydrogenase in disintegrated mitochondria and in a mitochondrial-free extract showed the presence of two different enzyme-forms. One form with an isoelectric point of 6.3 is localized in mitochondria, another form with an isoelectric point of 5.7 in the cytoplasm.

Also, the activity of malate dehydrogenase is composed of at least two forms: a mitochondrial and a cytoplasmic form.

The performance of the zonal-rotor has been improved by the construction of a new seal assembly.