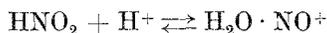
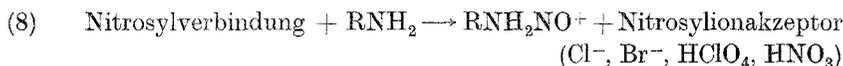
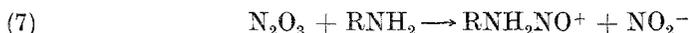
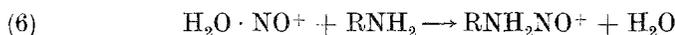
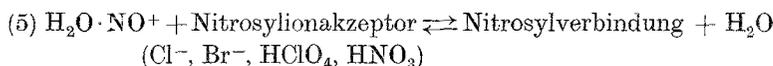
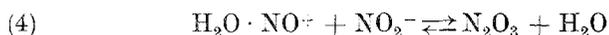
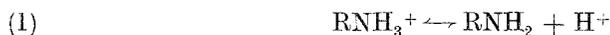


die Geschwindigkeiten der Hin- und Rückreaktion:

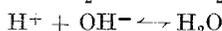
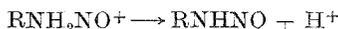


treten.

Das allgemeine Reaktionsschema der Diazotierung ist daher nach den bisherigen Ergebnissen:



¹⁰ Beziehungsweise:



Über die Änderung des respiratorischen Quotienten von Hefezellen bei der Übertragung aus einem Wachstumsmedium in ein Sporulierungsmedium und die Umkehrbarkeit dieses Effekts

(Kurze Mitteilung)

Von

Eszter Scheiber, O. Gabriel, O. Hoffmann-Ostenhof und J. J. Miller

Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Wien und dem Department of Biology, Hamilton College, McMaster University, Hamilton, Ontario

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 20. Mai 1957)

In einer vorhergehenden Mitteilung¹ berichteten wir über eine deutliche Verringerung des respiratorischen Quotienten (RQ) von Hefe-

¹ J. J. Miller, E. Scheiber, O. Gabriel und O. Hoffmann-Ostenhof, Mh. Chem. 88, 271 (1957).

zellen, welche sich einen Tag lang in einer verdünnten Natriumacetat-lösung befanden, die geeignet war, die Sporulierung der Hefe zu bewirken. Der Zeitraum von einem Tag ist an sich zu kurz für eine reichliche Entwicklung der Sporen; wir schlossen deshalb, daß der durch Acetat verursachte biochemische Effekt des Absinkens des RQ der morphologischen Veränderung, der Sporulierung, zeitlich vorausgeht. In der vorliegenden Mitteilung berichten wir nunmehr über Versuche, die Zeit genauer zu bestimmen, in welcher der RQ unter dem Einfluß der Acetatlösung absinkt; weiters untersuchten wir, inwieweit dieser Effekt reversibel ist, wenn man die Hefezellen aus dem Acetatmedium in ein Wachstumsmedium rücküberführt.

Die bei diesen Experimenten angewandten Methoden wurden in der vorhergegangenen Mitteilung¹ beschrieben.

Abb. 1 zeigt die Veränderungen des RQ während der ersten 4 Stdn. nach der Übertragung der Hefezellen aus dem Wachstumsmedium in

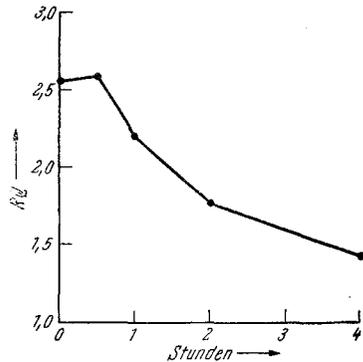


Abb. 1. Veränderungen des respiratorischen Quotienten während der ersten 4 Stdn. nach Übertragung der Hefezellen aus dem Wachstumsmedium in das Acetat-Sporulierungsmedium

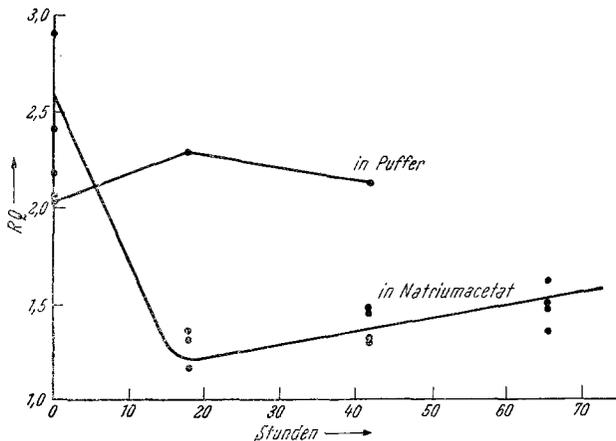


Abb. 2. Veränderungen des respiratorischen Quotienten im Acetat-Sporulierungsmedium und in m/30 Phthalatpuffer von pH 5

das Acetat-Sporulierungsmedium. Es geht daraus hervor, daß unter diesen Bedingungen bereits ein Zeitraum von 1 Std. genügt, um eine merkbare Verminderung des RQ zu bewirken; nach 4 Stdn. ist der Effekt

noch viel stärker. An dieser Stelle mag erwähnt werden, daß in zwei analogen Versuchsserien, bei denen aber an Stelle des Acetatmediums eine 0,1%ige Glucoselösung in Puffer verwendet wurde, die ebenfalls zur Induktion der Sporulierung geeignet ist, ein analoges, wenn auch geringeres Absinken des R.Q. nach 4 Stdn. beobachtet wurde.

Wie man aus Abb. 2 ersieht, war der R.Q. der Hefezellen nach 1 Tag noch immer sehr niedrig; während der folgenden 2 Tage erfolgte aber ein langsamer Anstieg. Wie bereits früher berichtet, erfolgt unter den Bedingungen unseres Versuches die reichlichste Sporenbildung am zweiten

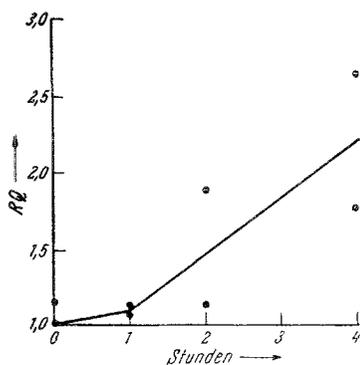


Abb. 3. Veränderungen des respiratorischen Quotienten von Hefezellen, die 3 Tage lang dem Einfluß des Acetat-Sporulierungsmediums ausgesetzt waren, in den ersten 4 Stdn. nach Übertragung in ein Wachstumsmedium

und dritten Tag nach der Überführung in das Acetatmedium. Bei den in Abb. 2 dargestellten Versuchen war die durchschnittliche Anzahl der Sporen nach 1 Tag 7,6%, nach 2 Tagen 38% und nach 3 Tagen 49%.

Eine mögliche Erklärung für das langsame Ansteigen des R.Q. an Zellen, die länger als 1 Tag dem Einfluß des Acetatmediums ausgesetzt sind, wäre, daß während dieser Zeit die Acetatkonzentration durch Verbrauch auf einen sehr niedrigen Wert absinkt, wodurch der R.Q. beginnt, auf den Wert anzusteigen, den er in einer Pufferlösung ohne Substrat aufweist. Um das experimentell zu prüfen, verglichen wir den R.Q. von Zellen, die 2 Tage lang im Acetatmedium waren, mit dem R.Q. von solchen, welche nach 1 Tag im Acetatmedium für 1 Tag in eine substratfreie Pufferlösung eingebracht worden waren. Der R.Q. der nach der zweiten Art behandelten Zellen war nicht höher als derjenige der Zellen, welche sich 2 Tage lang im Acetatmedium befanden. Ähnliche Ergebnisse wurden in gleichartigen Versuchen, bei denen aber an Stelle des Acetatmediums ein Sporulationsmedium mit 0,1% Glucose Anwendung fand, erhalten. Diese Ergebnisse machen es unwahrscheinlich, daß der oben gegebene Erklärungsversuch für das Ansteigen des R.Q. der Hefezellen nach längerem Aufenthalt im Sporulationsmedium zutrifft.

Abb. 3 zeigt schließlich die Veränderungen des R.Q. während der ersten 4 Stdn. bei Zellen, die 3 Tage dem Einfluß des Sporulierungsmediums ausgesetzt waren und dann in ein Wachstumsmedium (eine Lösung der von den Difco Laboratories, Detroit, Michigan, in den Handel gebrachten „Yeast Nitrogen Base“ nach Wickerham² mit 1% Glucose) eingebracht und bei 27° im Brutschrank langsam geschüttelt wurden.

² L. F. Wickerham, U. S. Dept. Agric. Techn. Bull. No. 1029 (1951).

Vor der Übertragung in das Wachstumsmedium enthielten die Kulturen etwa 70% Sporen. Die Ergebnisse zeigen, daß die Zeit von 4 Std. im Wachstumsmedium einen sehr deutlichen Anstieg des RQ bewirkt. Im gleichen Zeitraum ist der Übergang der Sporen in den vegetativen Zustand noch recht geringfügig; eine mikroskopische Untersuchung ergab, daß unter diesen Bedingungen in etwa 5 bis 10% der Sporen enthaltenden Zellen ein oder zwei Sporen zu keimen begannen. Auch hier sehen wir wieder, daß der biochemische Effekt vor den morphologischen Veränderungen zu beobachten ist.

In einer Arbeit von *Slonimski*³ wird berichtet, daß der RQ von Hefezellen, welche im *Warburg*-Apparat eine Glucoselösung veratmeten, innerhalb von 3 Std. von Werten zwischen 1,5 und 2 auf etwa 1 absank. Es scheint sich hier um dasselbe Phänomen zu handeln, das wir beobachten. *Slonimski* hat offenbar die Sporulierung der Hefe nicht in seine Betrachtungen einbezogen; er gibt auch keine Erklärung für den Effekt. Auch wir sind zur Zeit noch nicht in der Lage, etwas über den zugrunde liegenden Mechanismus auszusagen; wir glauben aber, zur Annahme eines Zusammenhanges zwischen den Veränderungen des RQ in Acetat- und Glucoselösungen und der Sporulierung der Hefe unter dem Einfluß derselben Substanzen berechtigt zu sein.

Eszter Scheiber dankt der Ungarn-Flüchtlingshilfe der Rockefeller Foundation, *O. Gabriel* dem Theodor-Körner-Stiftungsfonds und *J. J. Miller* der Ontario Research Foundation und dem National Research Council of Canada für die ihnen gewährte großzügige Hilfe.

³ *P. Slonimski*, *Actualités biochimiques* No. 17, Liège 1953.

Über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Sporulierung der Hefe

(Kurze Mitteilung)

Von

J. J. Miller, O. Gabriel, Eszter Scheiber und O. Hoffmann-Ostenhof

Aus dem Department of Biology, Hamilton College, McMaster University, Hamilton, Ontario, und dem I. Chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 20. Mai 1957)

Zahlreiche Hinweise deuten darauf hin, daß aerobe Bedingungen für die Sporulierung der Hefe erforderlich sind. *Lindegren* und *Hamilton*¹ fanden sporulierende Zellen nur in den äußeren Schichten von zerschnittenen Hefekolonien und *Maneval*² konnte Ascosporen ausschließlich an den Außenseiten von Hefeziegeln beobachten. Der Erfolg der klassischen Gipsblocktechnik zur Induktion der Hefesporulierung könnte zumindest

¹ *C. C. Lindegren* und *E. Hamilton*, *Botan. Gaz.* **105**, 316 (1944).

² *W. E. Maneval*, *Botan. Gaz.* **78**, 122 (1924).