

## **Tubuläre Einschlüsse in Microbodies von *Saccharomycopsis (Candida) lipolytica*-Protoplasten**

*Kurze Mitteilung*

R. MAY und G. BARTH

Akademie der Wissenschaften der Deutschen Demokratischen Republik, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin, Zentralinstitut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena

Mit 4 Abbildungen

Eingegangen am 3. September 1976

### **Summary**

#### **Tubular Inclusions within Microbodies of *Saccharomycopsis (Candida) lipolytica*-Protoplasts**

Electron micrographs of *Saccharomycopsis lipolytica*-cells grown in a medium with lactate as carbon source and fixed with glutaraldehyde- $\text{OsO}_4$  or  $\text{KMnO}_4$  show 3–4 profiles of microbodies per section in average. The number of microbodies is about three times greater when cells are cultivated in a medium with n-hexadecane. The spherical to avoid microbodies (0.3–0.8  $\mu\text{m}$  in diameter) have a homogeneous matrix.

After conversion of cells into protoplasts by the aid of snail gut juice tubular inclusions occur in microbodies. The single tubulus has an outer diameter of about 25 nm, a length up to 0.8  $\mu\text{m}$  and contains a central rod. Several tubules form bundles or layers. It is suggested that the tubules could be enzyme protein assembling by osmotic shock with hypertonic solutions during preparation of protoplasts.

### **Zusammenfassung**

Auf Ultradünnschnitten Glutaraldehyd- $\text{OsO}_4$  oder  $\text{KMnO}_4$  fixierter *Saccharomycopsis lipolytica*-Zellen, die in einem Medium mit Laktat als C-Quelle wuchsen, werden durchschnittlich 3–4 Anschnitte von Microbodies gefunden. Ihre Anzahl erhöht sich etwa um das Dreifache, wenn n-Hexadecan die C-Quelle ist.

Nach der Umwandlung der Zellen zu Protoplasten mit Hilfe von Enzymgemischen von *Helix pomatia* enthalten die Microbodies tubuläre Einschlüsse. Diese Tubuli, deren äußerer Durchmesser etwa 25 nm beträgt, haben eine zentrale Verdichtung und erreichen Längen bis zu 0,8  $\mu\text{m}$ . Sie sind in Bündeln oder Schichten angeordnet. Die Tubuli bilden sich möglicherweise durch Assemblierung von Enzymproteinen, wenn die Zellen während der Umwandlung zu Protoplasten mit hypertonischen Lösungen osmotisch geschockt werden.

Microbodies kommen bei Hefen nur in geringer Anzahl vor, wenn die Zellen in Nährmedien mit Glucose, Äthanol, Acetat, Laktat oder Glycerin als

C-Quelle wachsen (MARQUARDT 1962 a, b, AVERS und FEDERMANN 1968, PERLMAN und MAHLER 1970, TODD und VIGIL 1972, PARISH 1975). Die cyto- und biochemische Charakterisierung dieser Strukturen ergab, daß in ihnen L- $\alpha$ -Hydroxysäureoxidase, Malatsynthetase, Isocitratlyase, Katalase sowie Flavin-abhängige Oxidasen, die  $H_2O_2$  erzeugen, lokalisiert sind (AVERS und FEDERMANN 1968, SZABO und AVERS 1969, PERLMAN und MAHLER 1970, TODD und VIGIL 1972, PARISH 1975), und sie deshalb nicht nur strukturell, sondern auch funktionell mit den Peroxisomen der tierischen und pflanzlichen Zelle (DE DUVE und BAUDHUIN 1966, FREDERICK *et al.* 1968, HRUBAN und RECHCIGL 1969, TOLBERT 1971) sowie den Glyoxysomen von Pflanzenkeimlingen (BREIDENBACH *et al.* 1968, TOLBERT 1971) vergleichbar sind (HOFFMANN *et al.* 1970, AVERS 1971).

Microbodies treten gehäuft auf, wenn Hefezellen Methanol (FUKUI *et al.* 1975 a, b, SAHM *et al.* 1975, VAN DIJKEN 1975, VAN DIJKEN *et al.* 1975) oder n-Alkane (OSUMI und FUKUI 1972, OSUMI *et al.* 1974, TERANISHI *et al.* 1974 a, b, OSUMI *et al.* 1975 a, b, TANAKA *et al.* 1976) verwerten. Auch in diesem Fall konnten Enzymsysteme, die für Peroxisomen charakteristisch sind, nachgewiesen werden (FUKUI *et al.* 1975, OSUMI *et al.* 1975 b, VAN DIJKEN *et al.* 1975, TANAKA *et al.* 1976).

Kristalloide Einschlüsse, die in Peroxisomen und Glyoxysomen häufig beobachtet wurden (Literaturübersicht s. FREDERICK *et al.* 1968, HRUBAN und RECHCIGL 1969), waren bisher nur in Microbodies Methanol-verwertender Hefen nach Glutaraldehyd- $OsO_4$ -Fixierung nachweisbar (FUKUI *et al.* 1975 a, b, ROGGENKAMP *et al.* 1975, SAHM *et al.* 1975, VAN DIJKEN *et al.* 1975). Man vermutet, daß sie Katalase (FUKUI *et al.* 1975 a) oder Alkoholoxidase (SAHM *et al.* 1975) enthalten.

Wir finden eine auffallend große Anzahl von Microbodies in Zellen von *Saccharomycopsis lipolytica* bei aerober Kultivierung mit Laktat und besonders mit n-Alkanen als C-Quelle. Nach der Umwandlung dieser Zellen zu Protoplasten mit Hilfe von Enzymgemischen aus dem Darmtrakt von *Helix pomatia* treten in den Microbodies tubuläre Einschlüsse auf. In der vorliegenden kurzen Mitteilung wird darüber berichtet.

Untersuchungsobjekt war *Saccharomycopsis lipolytica*<sup>1</sup>, Stamm YB-423-12. Die Zellen wuchsen aerob in einem Nährmedium nach OHNISHI *et al.* (1966) mit Laktat als C-Quelle oder in einem Mineralmedium<sup>2</sup> nach HAGGSTRÖM (1969) mit 2% (v/v) n-Hexadecan (Cetan der Fa. Schuchardt). Die Herstellung der Protoplasten, die Fixierung der Zellen und Protoplasten mit Glutaraldehyd (GA)- $OsO_4$  oder Kaliumpermanganat sowie die elektronenmikroskopischen Untersuchungen erfolgten nach den von MAY (1974) beschriebenen Methoden.

<sup>1</sup> Herrn Dr. CLETUS P. KURTZMAN, Northern Regional Research Laboratory, Peoria/Illinois, USA, danken wir für die Überlassung dieses Hefestammes.

<sup>2</sup> Herrn Dr. HEYER danken wir für die Anzucht der Zellen im Mineralmedium mit n-Hexadecan.