Entwicklungsbiologie und Genetik
der Pilze

SoSe 2019
Prof. Heinz D. Osiewacz

Pilze im weiteren Sinne- ***Definitionen*** - ***Lebensweise – Bedeutung –*** traditionellen ***Nahrungsmittelherstellung*** und –***verfeinerung – Herstellung alkoholischer Getränke*** (Bier, Wein) - Pilze in moderneren ***Biotechnologie*** (z.B. ***Medikamentenherstellung) - Biokontrolle*** von Schädlingen - ***entwicklungsbiologische Fragestellungen*** (z.B. ***Entwicklung von Arbeitsteilung – Fortpflanzungsbiologie - Grundlagenforschung*** (z.B. der Genetik, ***Alterung)*** - ***Interaktionen mit anderen Organismen***.

GOETHE UNIVERSITÄT FRANKFURT AM MAIN

Entwicklungsbiologie und Genetik (der Pilze)
7. und 8. Vorlesung, 25. Juni 2019

Rückblick

A. Einleitung (Fortsetzung)

Definitionen, Lebensweise und Bedeutung der Pilze

B. Schleimpilze

Echte und zelluläre Schleimpilze; *Dictyostelium* und die Arbeitsteilung in multizellulären Systemen

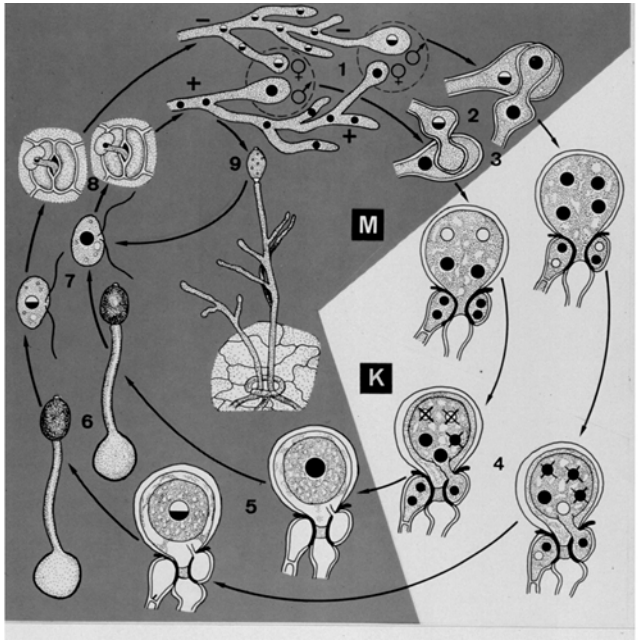
Schwerpunktsliteratur

1. Esser K, ***Kryptogamen***, Springer-Verlag, 3. Auflage, 2000
2. Kück U et al., ***Schimmelpilze- Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung.*** Springer Verlag, 3. Auflage 2009
3. Weiler E, Nover L, **Allgemeine und molekulare Botanik**, Thieme Verlag, 2008
4. Bresinsky et al., **Lehrbuch der Botanik** (‚Der Strasburger‘) Spektrum Akademischer Verlag, 36. Auflage, Heidelberg 2008
5. Walfort L et al, ***Entwicklungsbiologie***, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin1999
6. Bereiter-Hahn J, Peters WS (2002) Die Zelle, Innere Grenzen, Quelle & Meyer Verlag, Wiebelsheim (CD-ROM)

Welcher Organismus ist der Erreger der Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel?
Handelt es sich hierbei um einen zu den Mycobionta (echte Pilze) gehörenden Pilz. Ist es ein Ascomycet oder Basidiomycet?

- *Phythophthora infestans*
- Nein
- Keines von Beidem

Handelt es sich um einen heterothallischen, oder einen homothallischen Pilz? Begründen Sie Ihre Antwort.



- Heterothallisch. Zum Durchlaufen eines Entwicklungszyklus werden zwei genetisch verschieden determinierte Partner benötigt.

Der Erreger der Kraut- und Knollenfäule bildet eine Zellwand. Aus welchem Polymer besteht diese?

- Zellulose

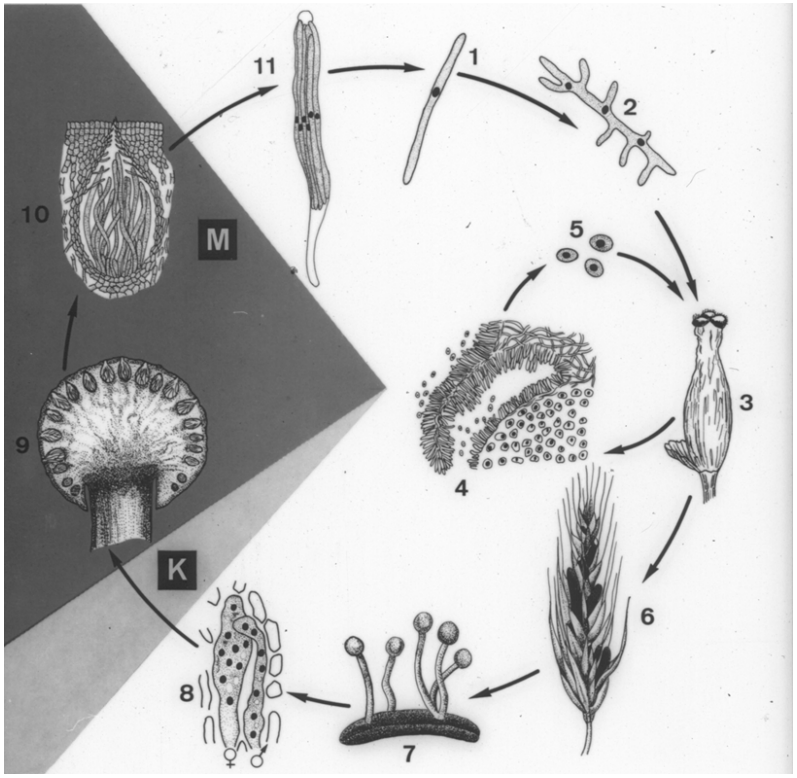
Gehört *Claviceps purpurea* zu den Mycobionta?

Ja

Zu welcher Gruppe gehört *Claviceps purpurea*? Zu den Zygomycetes, Chytridiomycetes, Oomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes? Begründen Sie Ihre Antwort.

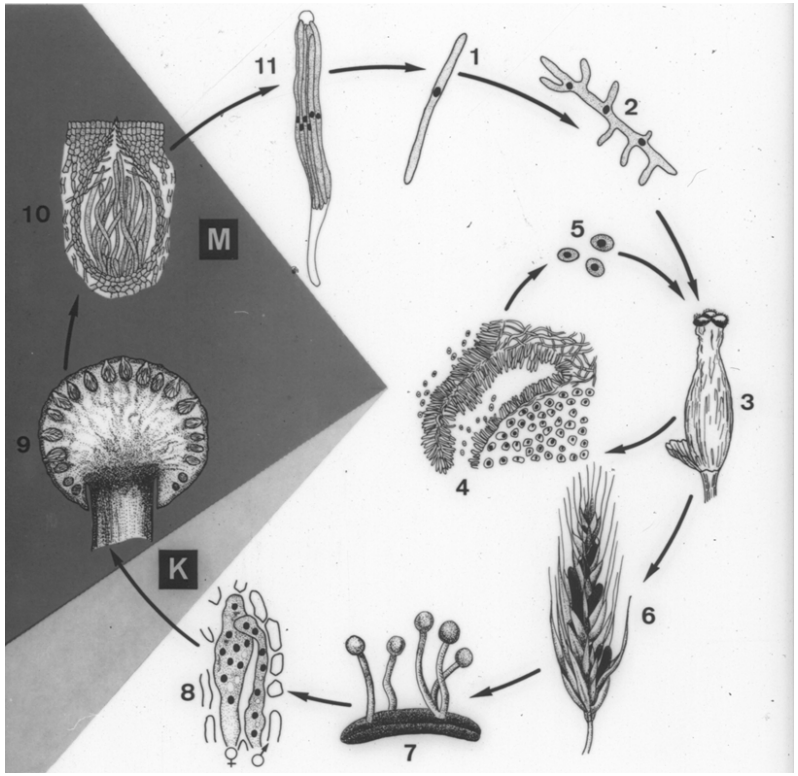
- Ascomycetes
- Bildet Asci als Meiosporangien

Claviceps purpurea ist ein Pflanzenpathogen mit biotechologischer Bedeutung. Welche Bedeutung kommt diesem Pilz zu?



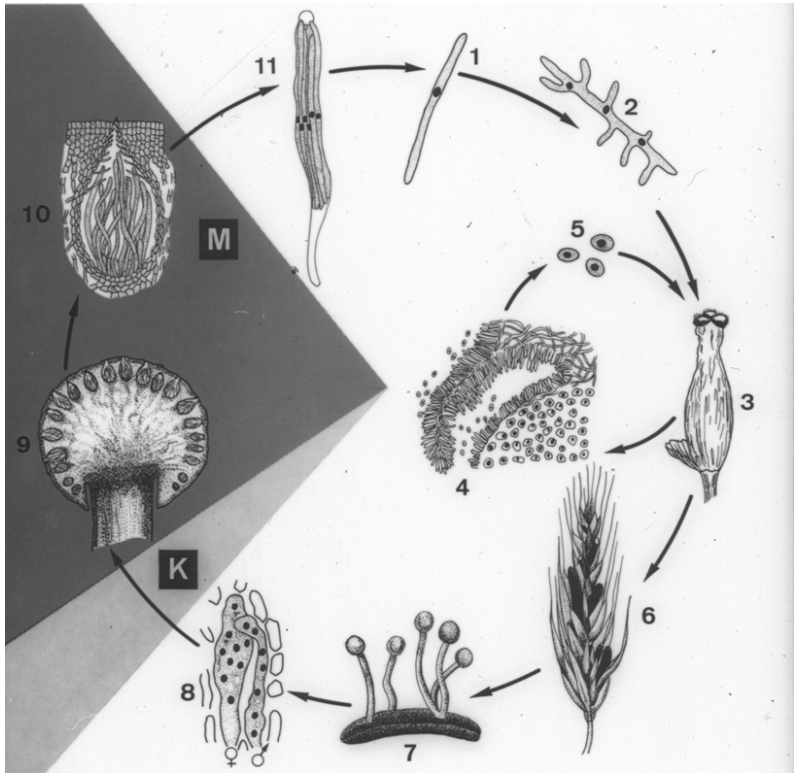
Produziert Ergotalkaloide, die als Wirkstoffe in der Medizin Verwendung finden.

Wie lebt *Claviceps purpurea ?* Erklären Sie was das heißt.



- Parasitisch
- *C. purpurea* bezieht seine energiereichen Kohlenstoffquellen aus Pflanzen, in denen der Pilz nach Infektion lebt.

Ist *Claviceps purpurea* homo- oder heterothallisch? Begründen Sie Ihre Antwort.



Homothallisch. Zum Durchlaufen eines Entwicklungszyklus wird nur ein Partner benötigt.

Was sind Plasmodien?

- Nackte (zellwandlose) Plasmamassen mit amöboider Bewegung.

Welche Eigenschaften verbindet die Schleimpilze mit tierischen (z.B. Protozoa) Organismen?

- Vegetationskörper ohne Zellwände
- Ernährung durch Phagozytose

Was sind Fusionsplasmodien?

- Vegetationskörper der echten Schleimpilze.

Wie entstehen die Fusionsplasmodien von *Physarum spec*?

- Durch Fusion von Myxoflagellaten oder von Myxamöben, Karyogamie, und anschließende mitotische Kernteilungen

Dictyostelium discoideum bildet einen Typ von Plasmodien. Welchen?

- Aggregationsplasmodien

Wie entstehen Aggregationsplasmodien?

- Durch Aneinanderlagerung einzelner Myxamöben, ohne Zellverschmelzung.

Wie werden Aggregationsplasmodien noch genannt?

- Pseudoplasmodien.

Welche Plasmodien sind polyenergid? Was heißt das?

- Fusionsplasmodien
- Der Vegetationskörper besteht aus einer, nicht durch Zellwände untergliederten Plasmamasse mit vielen Zellkernen

Die Bildung von Aggregationsplasmodien von *D. discoideum* wird durch ein bestimmtes Signal ausgelöst. Welches? Wo kommt es her?

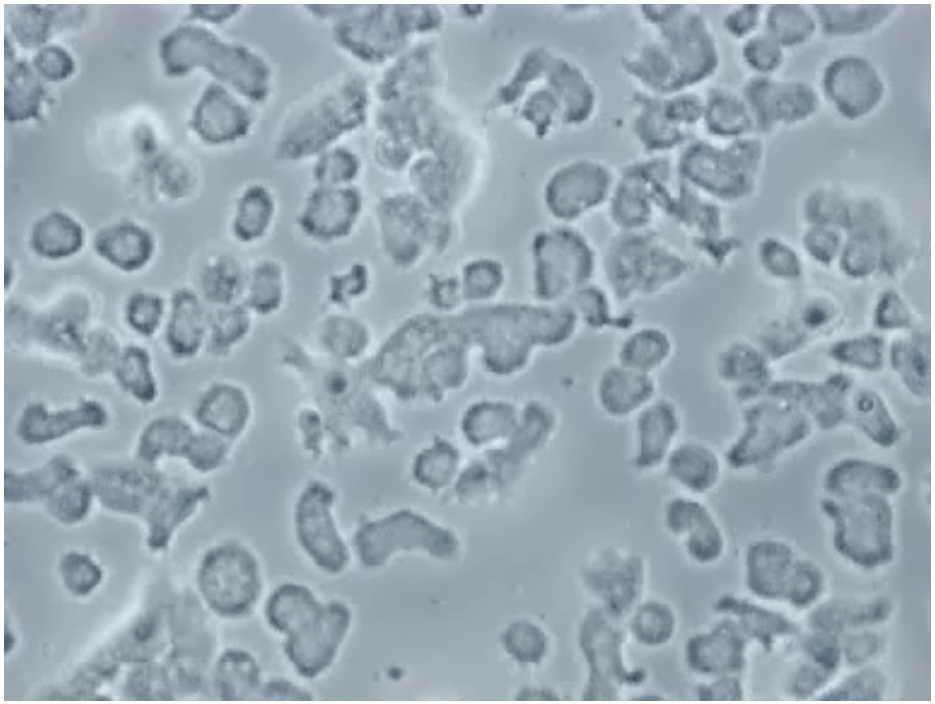
- cAMP
- Wird durch eine ‚hungernde' Myxamöbe synthetisiert

Was bewirkt das cAMP bei der Bildung von Aggregationsplasmodien?

- Nach Bindung an einen Rezeptor benachbarter, nicht cAMP bildender Amöben polymerisiert das Aktin/Myosin Cytoskelett unterhalb des Plasmalemmas. Es bilden sich Pseudopodien aus, die die Amöbe in Richtung der cAMP sekretierenden Amöbe bewegen.

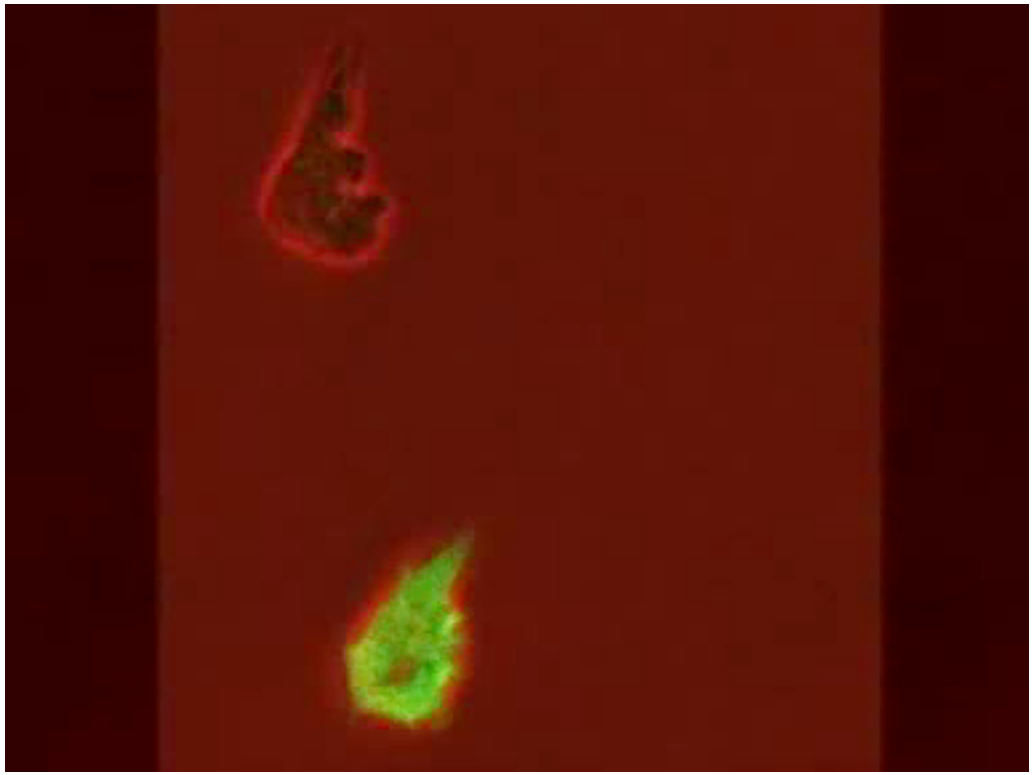
Bildung eines Aggregationsplasmodiums

Filmclip 3

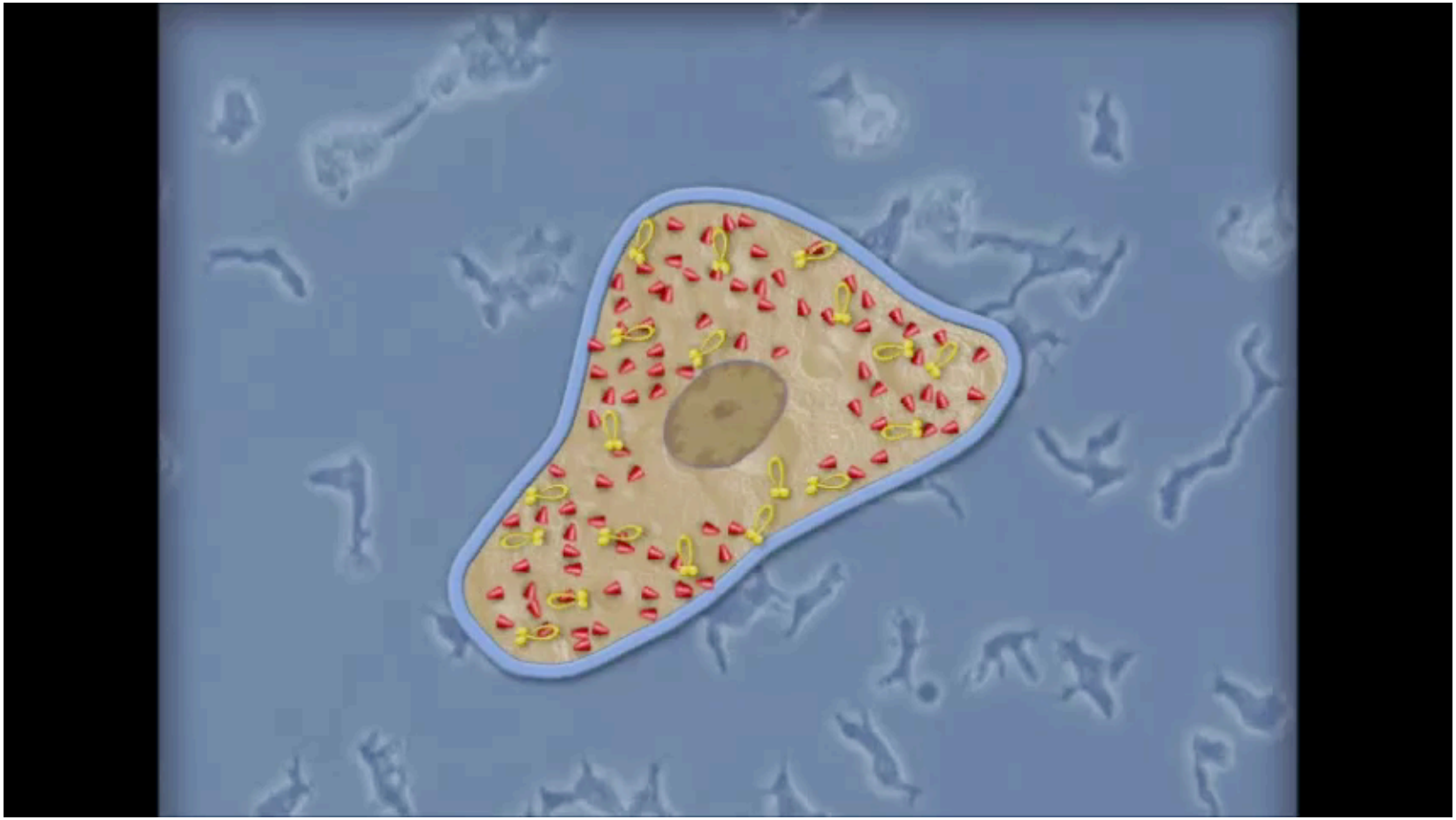


Aktivierung einer Amöbe durch cAMP

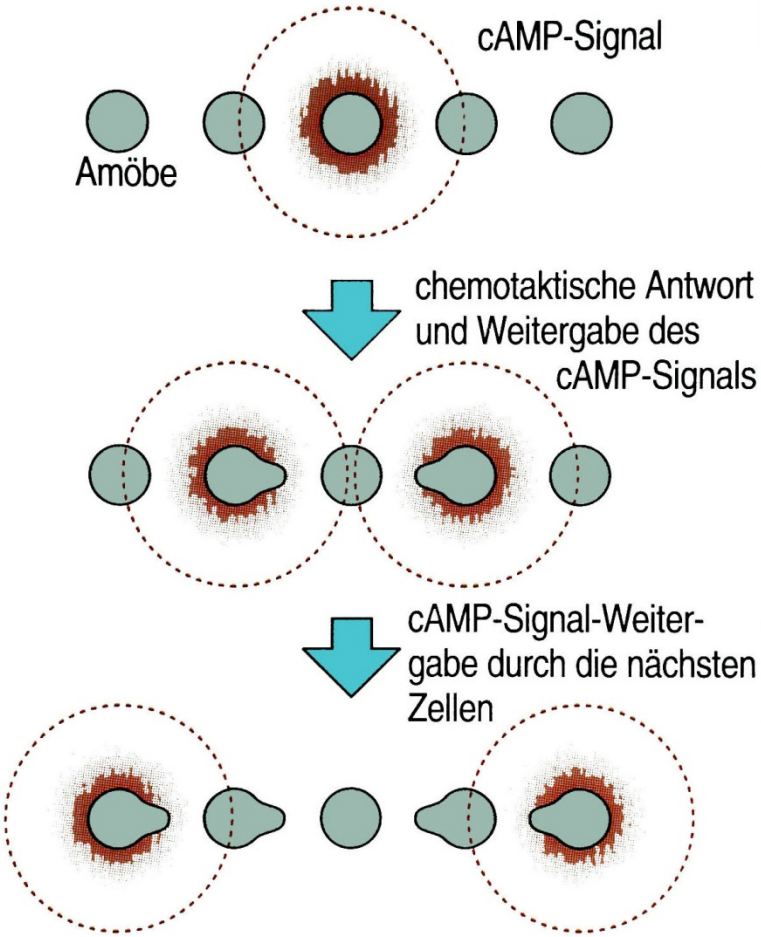
Filmclip 5

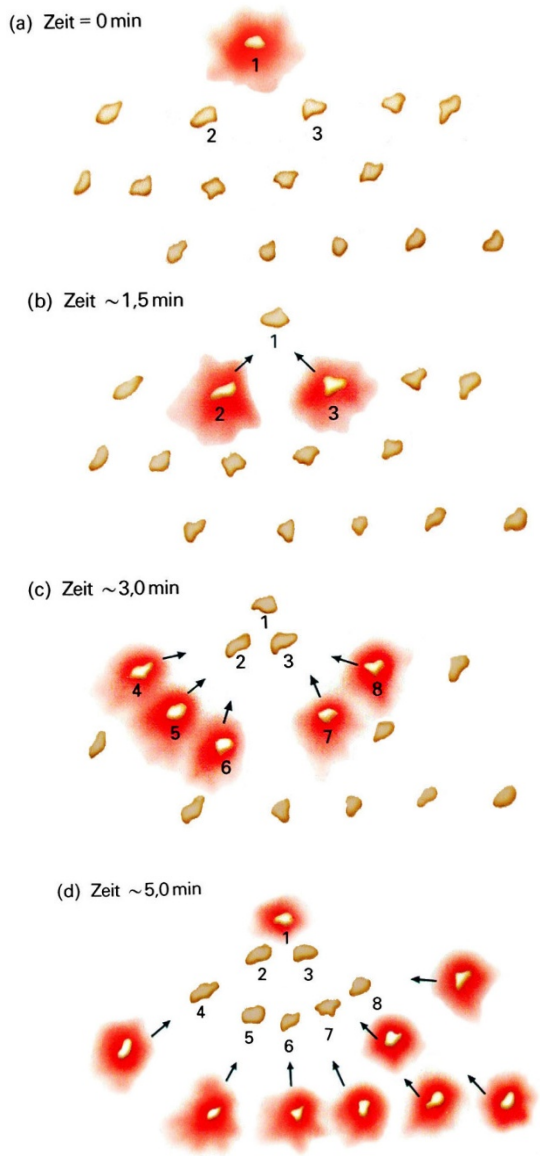


Veränderungen des Cytoskeletts nach Aktivierung einer Amöbe durch cAMP

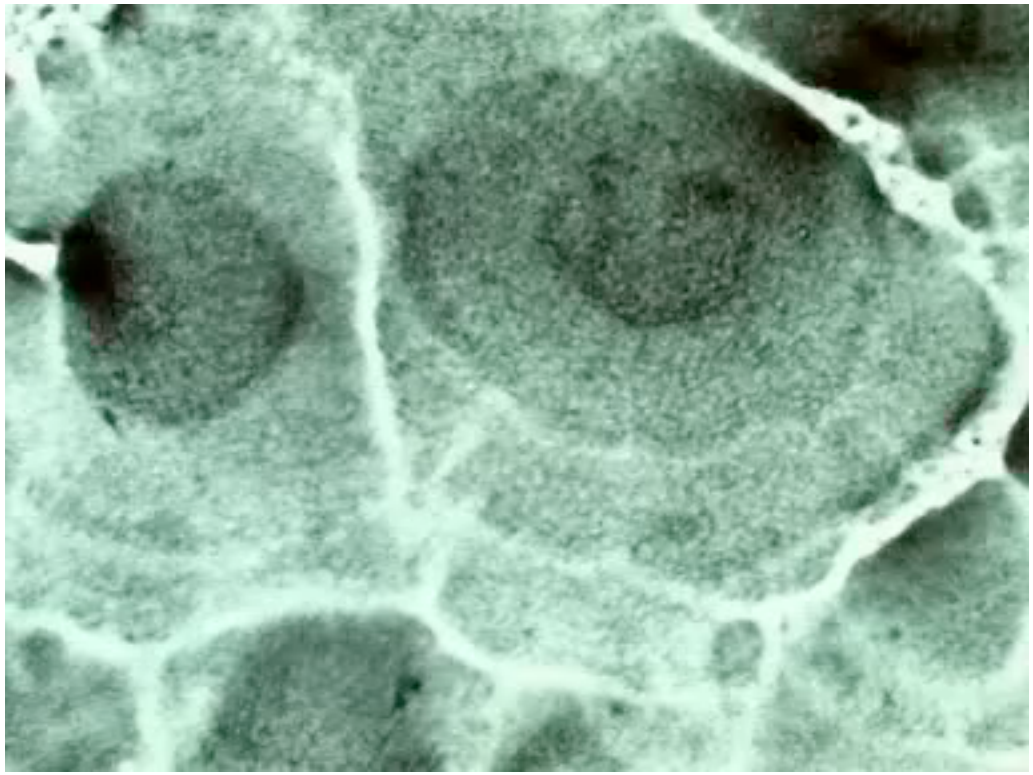


Weitergabe des cAMP Signals bei *Dictyostelium spec*



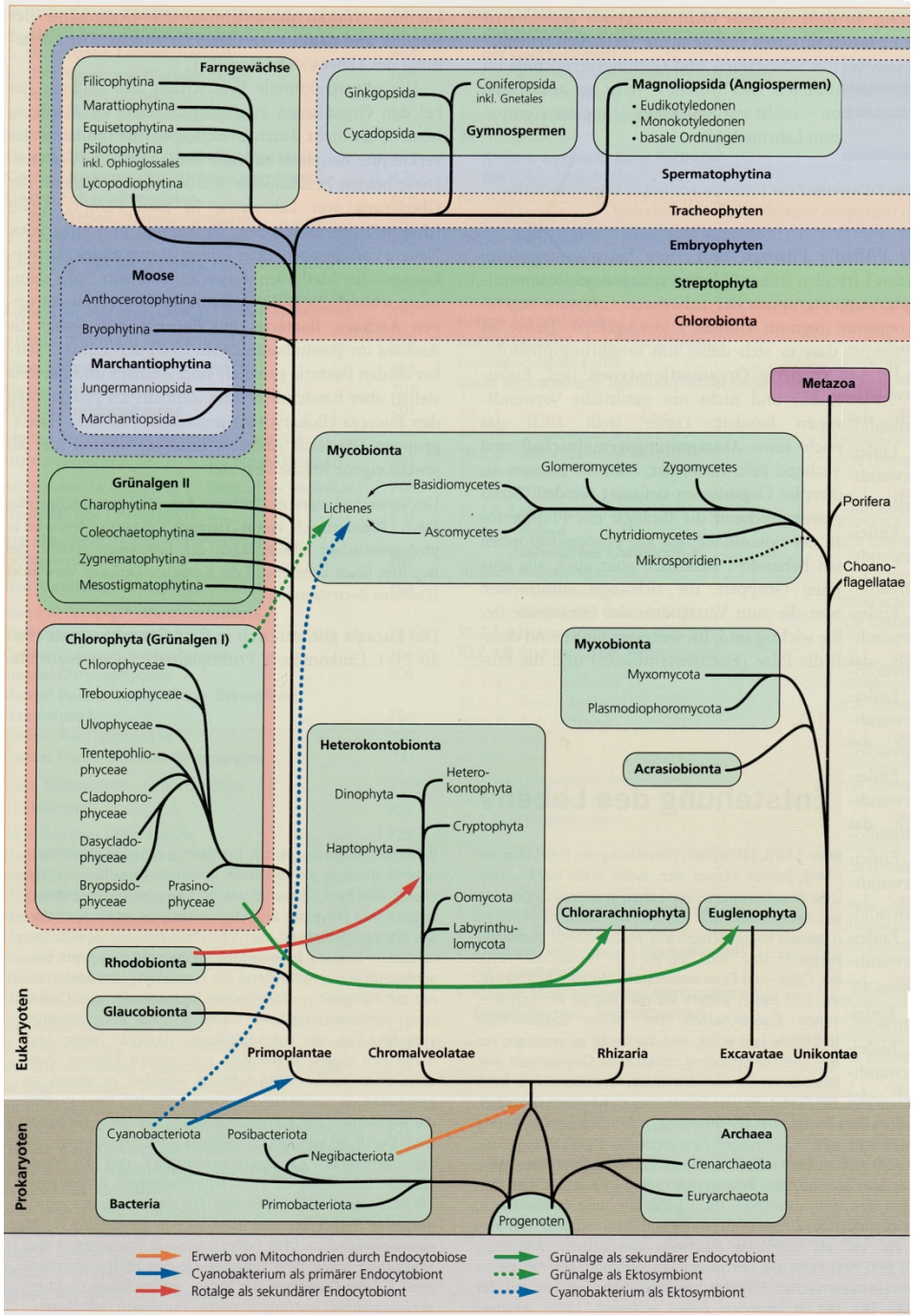


Die Bildung des Aggregationsplasmodiums erfolgt in Schüben

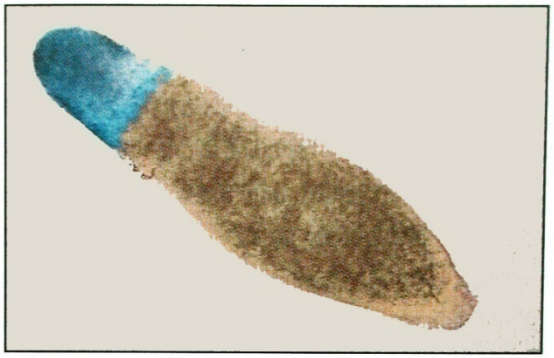


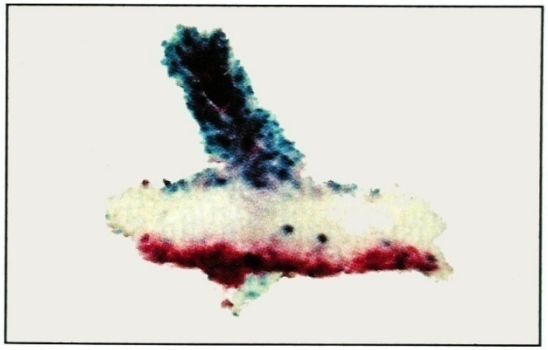
Stellung der Pilze im biologischen System

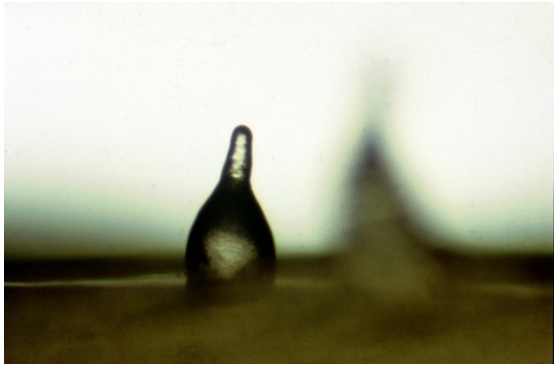
Bresinsky et al., **Lehrbuch der Botanik** (Strasburger) Spektrum Akademischer Verlag, 36. Auflage, Heidelberg 2008

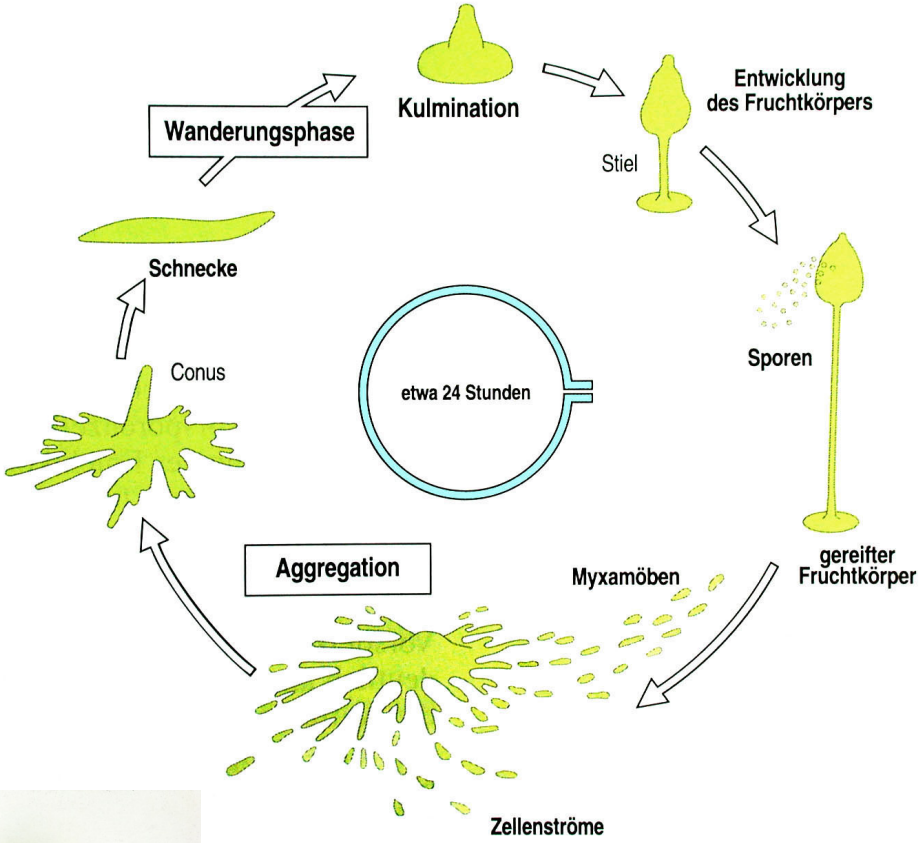


Dictyostelium discoideum



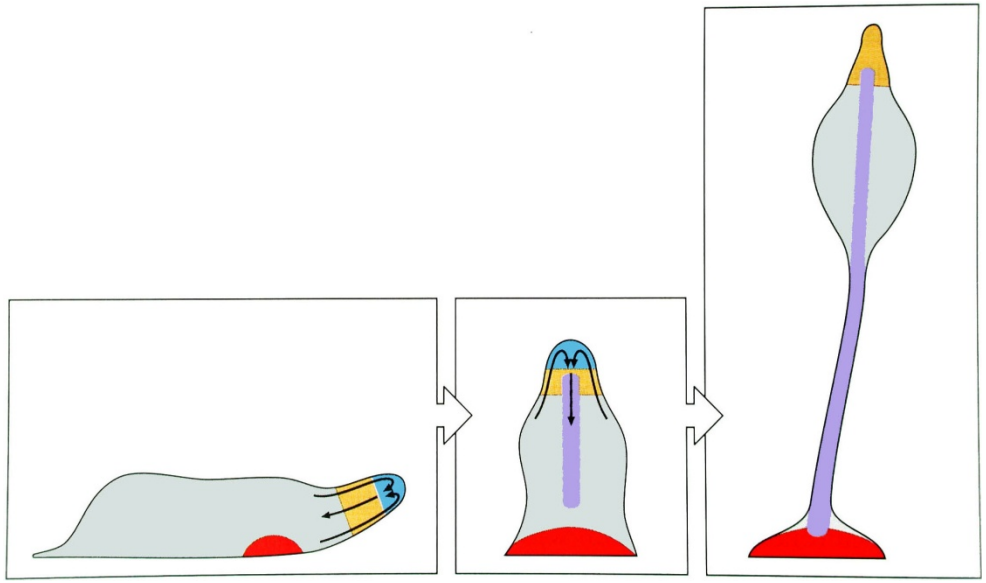


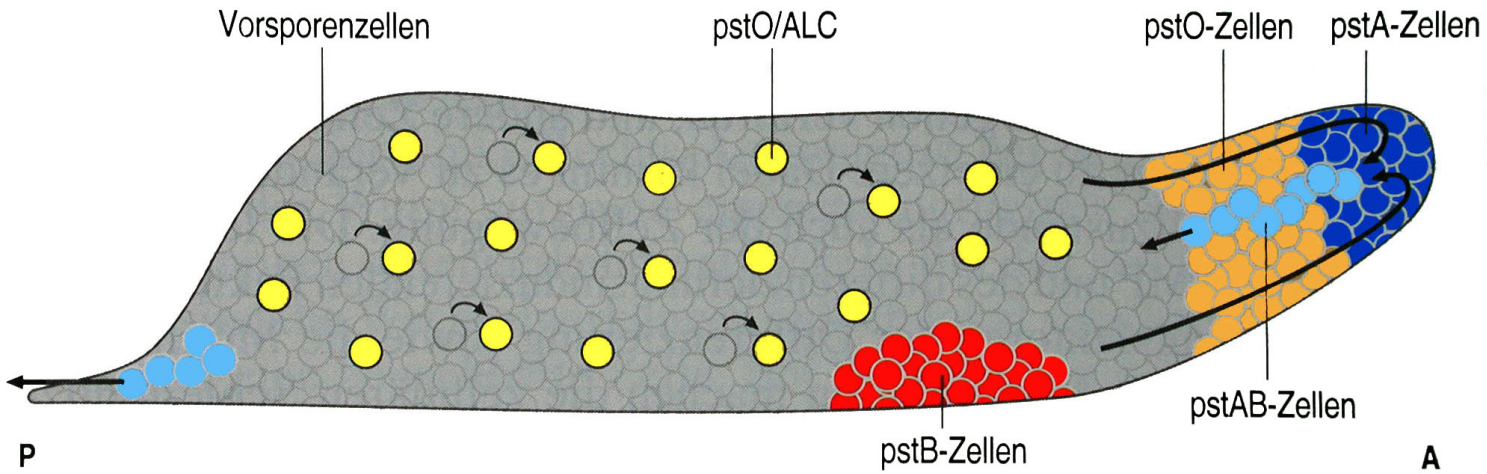




02200133

Sorokarpbildung bei *Dictyostelium spec*

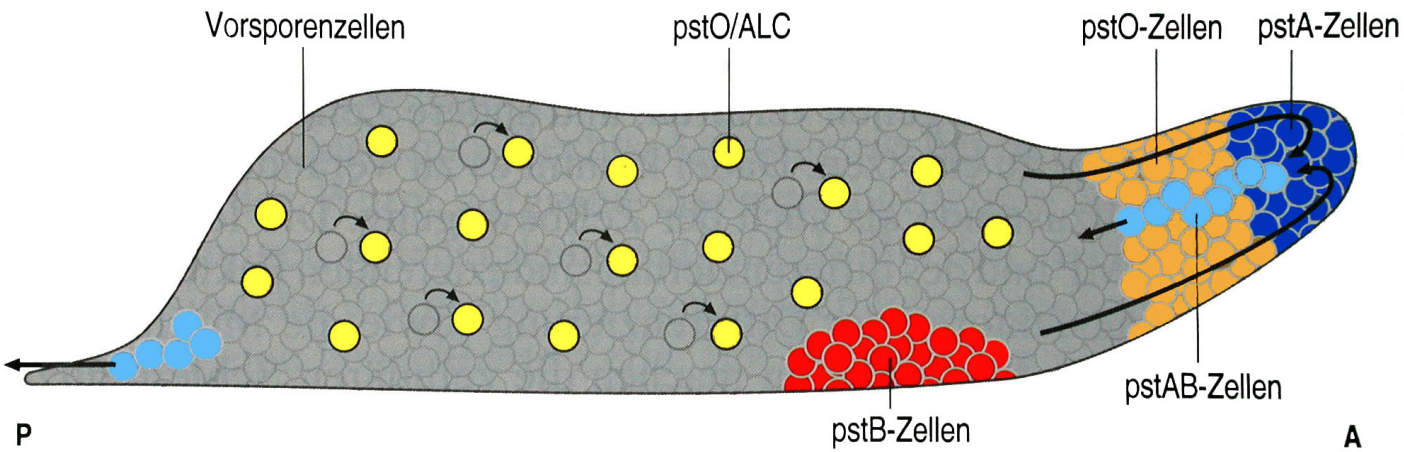




pst0/ALC (anteriorartige, anterior like cells)

pstA (prestalk: Vorstielzellen)

Sorokarpbildung bei *Dictyostelium spec*



•pstA-Zellen (Vorstiel; Spitze der Schnecke): starke Expression von *ecmA* (kodiert für extra-zelluläres Matrixprotein)

•pst0-Zellen (Vorstiel): nicht so starke Expression von *ecmA* (hintere, äußere Region der Spitze)

•pstAB-Zellen (Vorstiel): Expression von *ecmA* und *ecmB* (innerer Bereich unterhalb der Spitze und hinterer Teil der Schnecke; hier gehen Zellen pstAB-Zellen verloren)

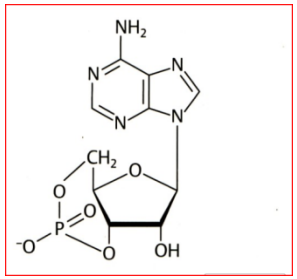
•pstB-Zellen: exprimieren nur *ecmB*. Wandern am Ende der Kulminationsphase nach unten und bilden Basalscheibe des Sorkarps

•***Positionseffekte*** und ***Zellsortierungsprozesse*** führen zur Bildung des Sorokarps

•pstAB-Zellen, die verloren gehen (hinten), werden ersetzt: Vorsporenzelle > pst0/ALC-Zellen (pst0/ anterior like cells) (ähneln stark pst0-Zellen der Spitze (*emcA* Expression) > wandern in die Spitze > entwickeln sich zu pst0 und dann zu pstA Zellen (diese zu pstAB)

Übersicht: Aggregation und Differenzierung bei zellulären Schleimpilzen

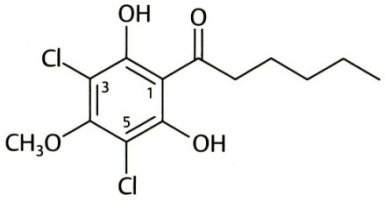
freilebende Myxamöben aggregieren und bilden eine vielzellige „Schnecke“



⇩

cAMP und DIF

Differenzierunsinduzierender Faktor, ein chloriertes Hexaphenol



DIF-1

Spezifizierung der Vorstiel- und Vorsporenzellen innerhalb der Schnecke

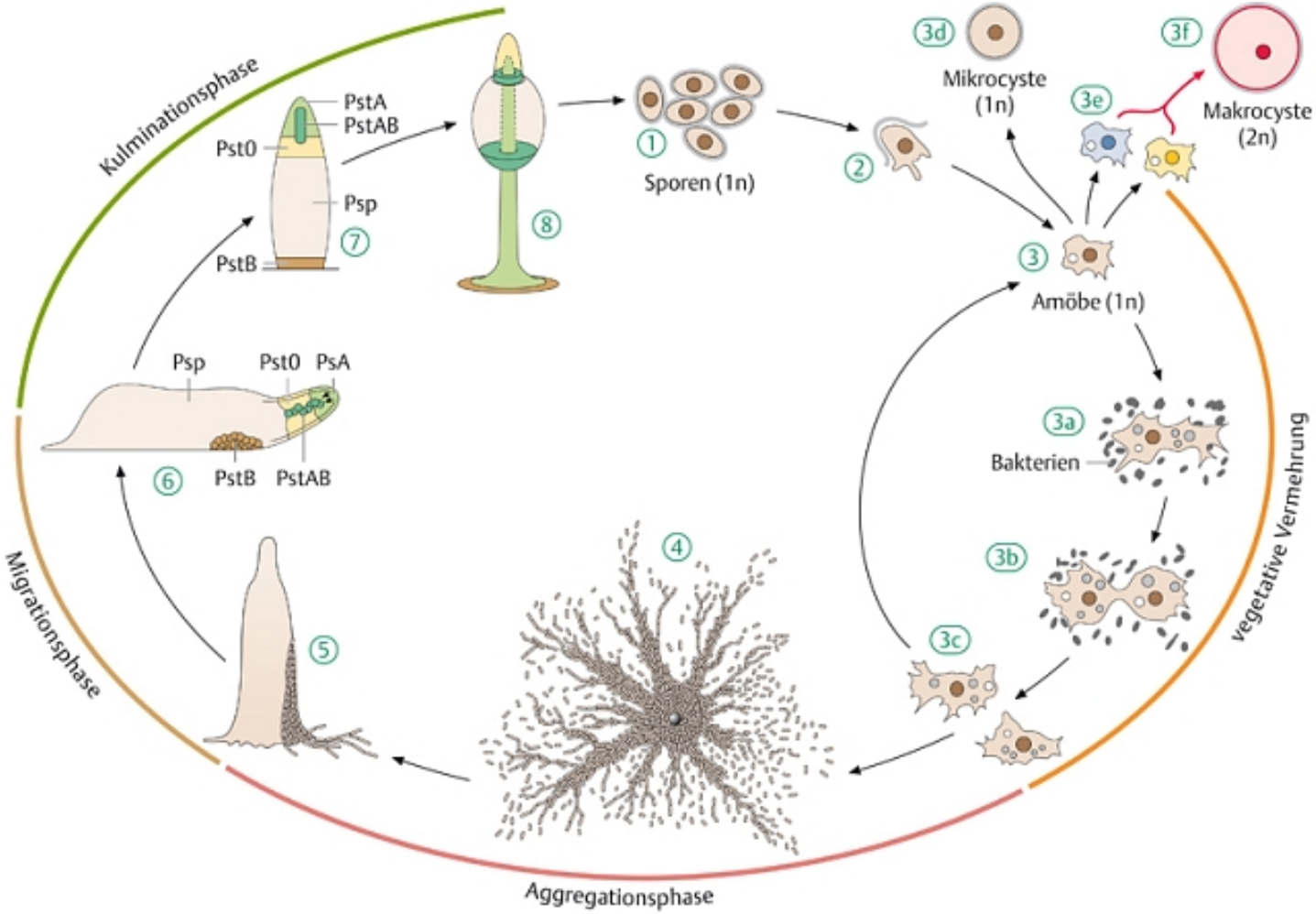
⇩

die Schnecke wandert mit den Vorstielzellen am anterioren Ende

⇩

die Schnecke hört mit der Bewegung auf und entwickelt einen Fruchtkörper mit einem zellulären Stiel und einem Kopf aus Sporen

Entwicklungszyklus von *Dictyostelium discoideum*



Georg Thieme Verlag, Stuttgart · New York
E. Weiler, L. Nover: Allgemeine und molekulare Botanik · 2008

Pause

Entwicklungsbiologie und Genetik (der Pilze)
7. und 8. Vorlesung, 25. Juni 2019

Rückblick

A. Einleitung (Fortsetzung)

Definitionen, Lebensweise und Bedeutung der Pilze

B. Schleimpilze

Echte und zelluläre Schleimpilze; *Dictyostelium* und die Arbeitsteilung in multizellulären Systemen

C. Ascomyceten (Schlauchpilze)

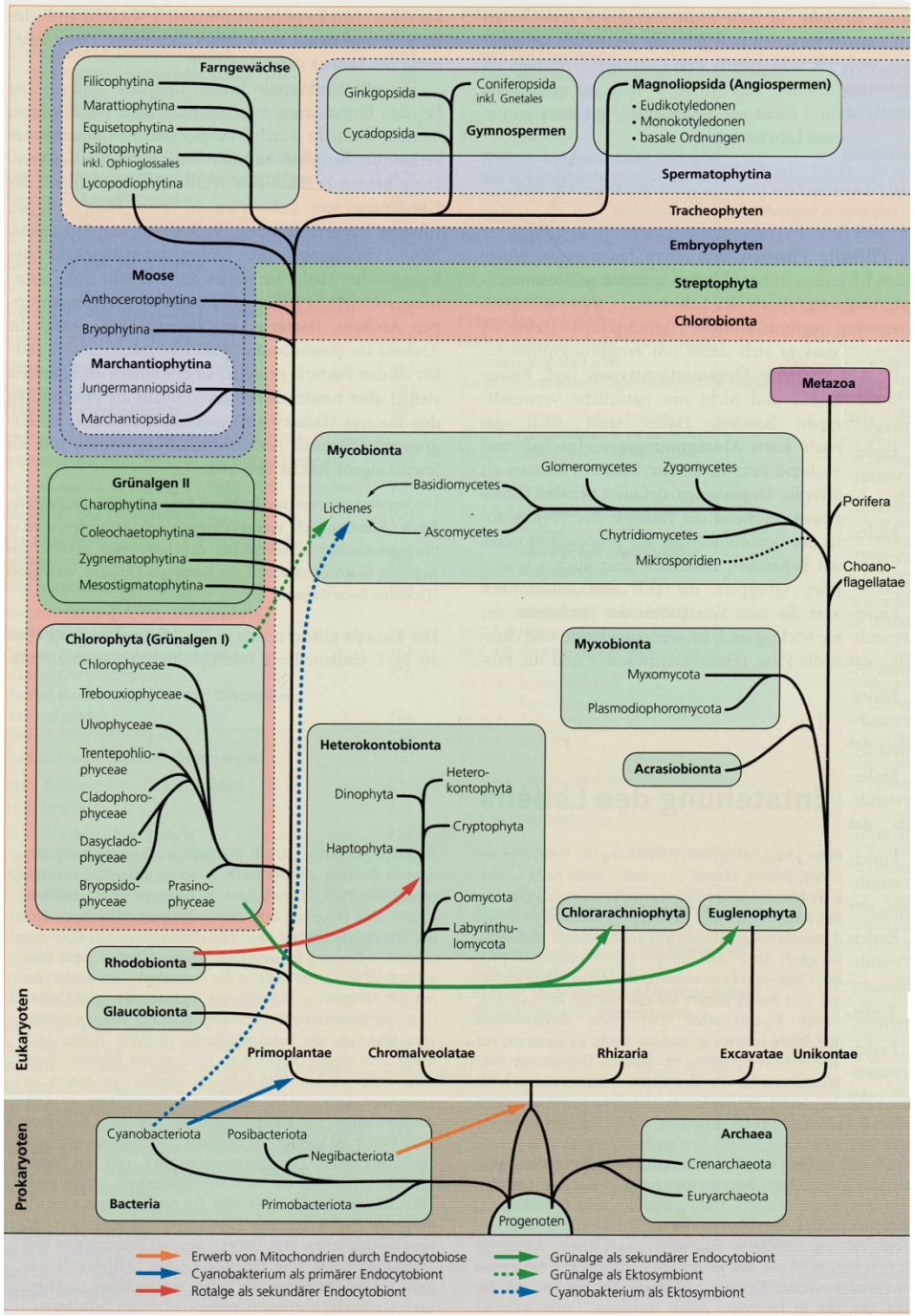
Hefen- filamentöse Pilze: Vegetative Fortpflanzung durch Sprossung und Spaltung, Dimorphismus, Hyphenspitzenwachstum,

Schwerpunktsliteratur

1. Esser K, ***Kryptogamen***, Springer-Verlag, 3. Auflage, 2000
2. Kück U et al., ***Schimmelpilze- Lebensweise, Nutzen, Schaden, Bekämpfung.*** Springer Verlag, 3. Auflage 2009
3. Weiler E, Nover L, **Allgemeine und molekulare Botanik**, Thieme Verlag, 2008
4. Bresinsky et al., **Lehrbuch der Botanik** (‚Der Strasburger‘) Spektrum Akademischer Verlag, 36. Auflage, Heidelberg 2008
5. Osiewacz HD (Ed.), ***Molecular Biology of Fungal Development***, Marcel Dekker, New York, 2002

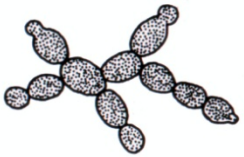
Stellung der Pilze im biologischen System

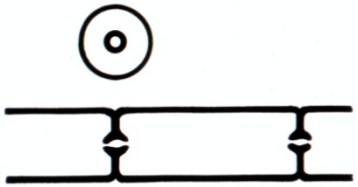
Bresinsky et al., **Lehrbuch der Botanik** (Strasburger) Spektrum Akademischer Verlag, 36. Auflage, Heidelberg 2008

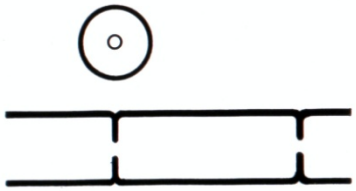


Filamentöse Pilze - Hefen

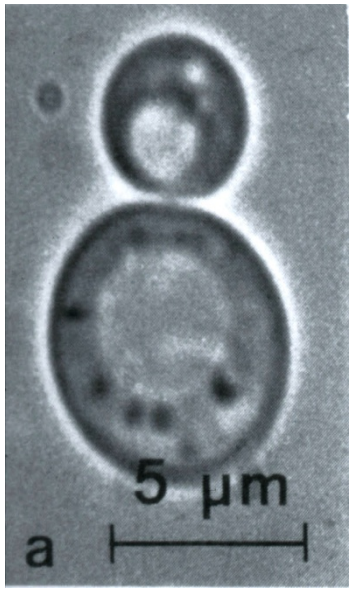
Filamentöse Pilze (Hyphenpilze): Das Individum ist vielzellig







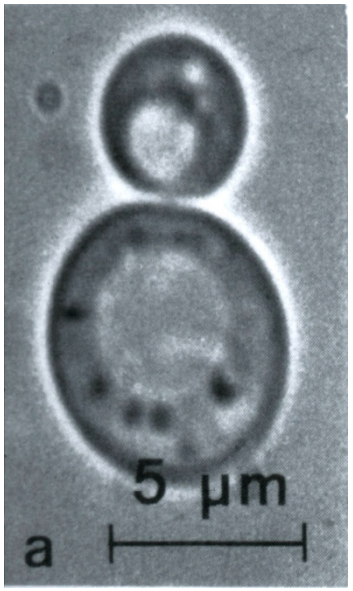
Hefen: Das Individuum lebt hauptsächlich als Einzeller.



Dimorphismus: Wechsel von der filamentösen zur Hefewuchsform oder *vice versa*

Filamentöse Pilze (Hyphenpilze): Das Individum ist vielzellig

Hefen: Das Individuum lebt hauptsächlich als Einzeller.



Filamentöse Pilze (Hyphenpilze) – Hefen

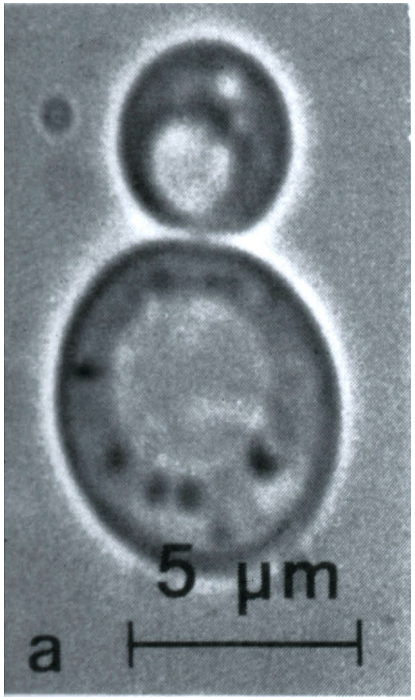
Eine artifizielle Einteilung, die KEINE natürliche Verbindungen/ Verwandtschaften wiedergibt:

-Es existieren mehr als 700 Hefen, die verschiedenen Pilzgruppen (z.B. Ascomyceten, Basidiomycen, Deuteromyceten) angehören

-Hefen und Hyphenpilze sind oft in der Lage in die alternative (Hyphen bzw Hefe) Form überzugehen

Das Genom von *Saccharomces cerevisiae* Vergleich

Sprosshefe
Saccharomyces cerevisiae



Saccharomyces cerevisiae **(Bäckerhefe)**
1996

Genomgröße: ca. 12 Mbp
~5.800 Gene

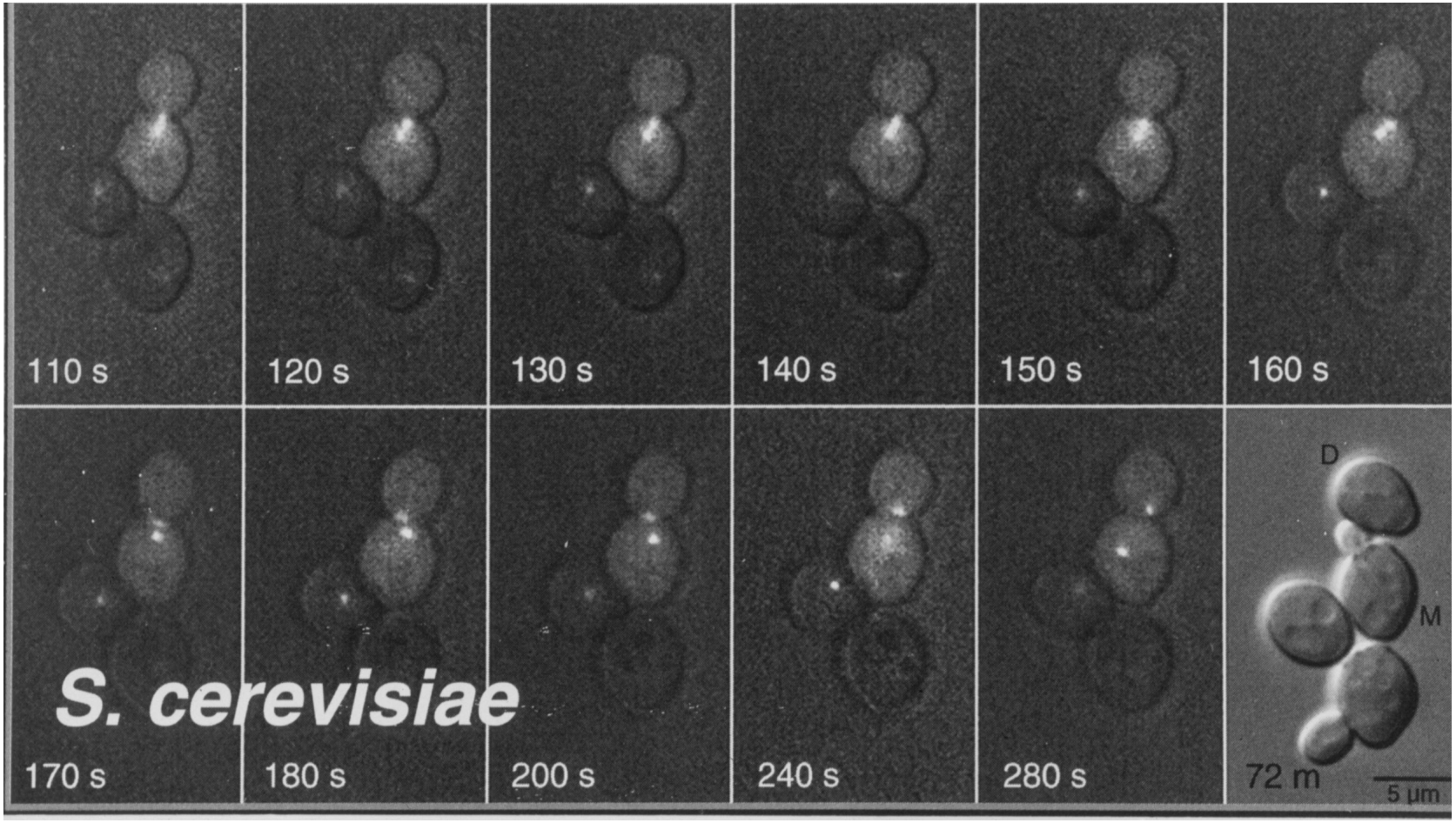
Homo sapiens **(Mensch)**
1990-2001 (2003)

Genomgröße: ~ 3000 Mbp
20.000-25.000 Gene

Escherichia coli, **K12**
1997

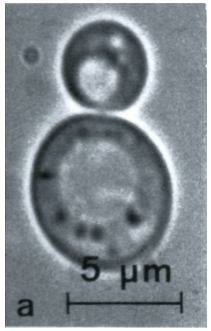
Genomgröße: ca. 4.6 Mbp

Vegetative Fortpflanung von *Saccharomyces cerevisiae*

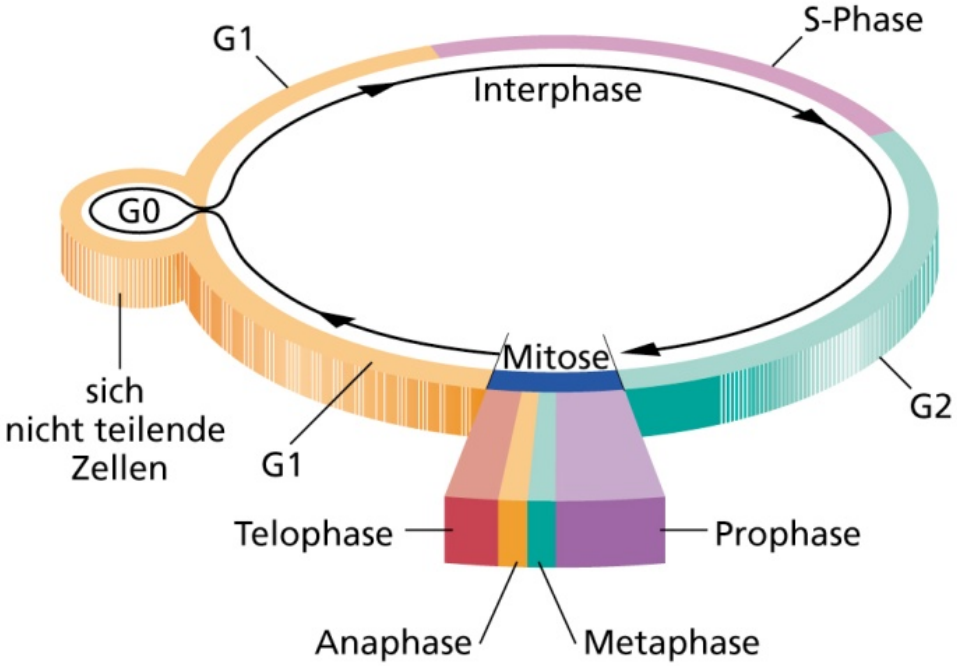


Sprossung vs. Spaltung: der Zellzyklus

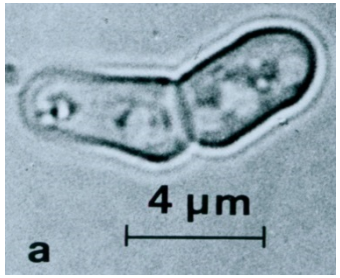
Sprosshefe
Saccharomyces cerevisiae



Wachstum der gesamten Sprosszelle
(isotropes Wachstum)



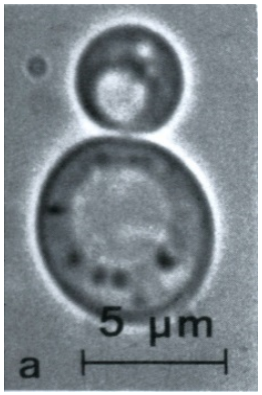
Spalthefe
Schizosaccharomyces pombe



Wachstum an beiden Spitzen > Zellverlängerung > Teilung

Sprossung, Sprosshefen

Sprosshefe
Saccharomyces cerevisiae

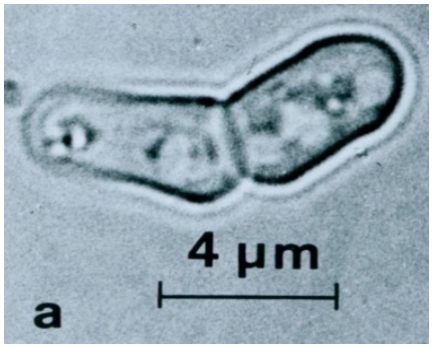


Wachstum der gesamten Sprosszelle
(isotropes Wachstum)

Diese erfolgt durch die Bildung von Tochterzellen an einer Mutterzelle. Die Tochterzelle wächst als kleiner Auswuchs von der Mutterzelle ausgehend und schwillt im Volumen an, bis bei Erreichen einer festgelegten Größe die Zelle vollständig von der Mutterzelle abgeschnürt wird. Es sind zwei Zellen entstanden, die beide einen Zellkern enthalten und die beide nur noch lose über Verbindungen der Zellwand miteinander verbunden sind. Dieser Prozess wird als ***Sprossung*** (englisch „budding“) bezeichnet. Hefen, die sich vegetativ durch diesen Vorgang teilen, werden als Sprosshefen bezeichnet.

Sprossung vs. Spaltung

Spalthefe
Schizosaccharomyces pombe

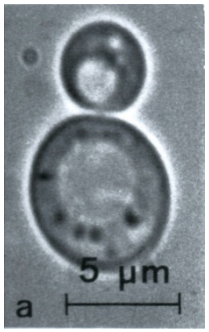


Wachstum an beiden Spitzen > Zellverlängerung > Teilung

Sie stehen im Gegensatz zu Hefen, die sich durch Teilung vermehren, bei der etwa in der Mitte einer verlängerten Zelle eine Zellwand eingezogen wird. Dieser Prozess wird als ***Spaltung*** bezeichnet und die entsprechenden Hefen werden als Spalthefen zusammengefasst. Ein Beispiel für eine Spalthefe ist *Schizosaccaromyces pombe*.

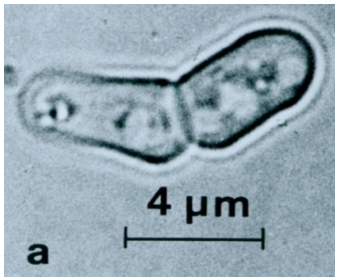
Wachstum Spross- vs. Spalthefen

Sprosshefe
Saccharomyces cerevisiae



Wachstum der gesamten Sprosszelle
(isotropes Wachstum)

Spalthefe
Schizosaccharomyces pombe



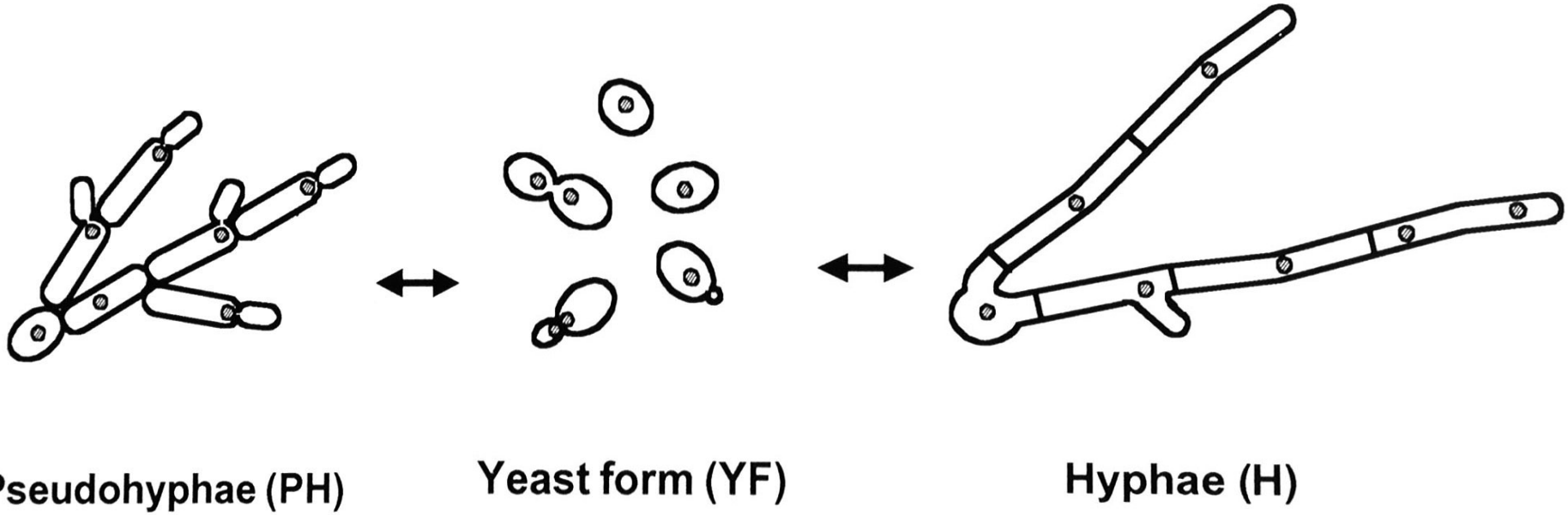
Wachstum an beiden Spitzen > Zellverlängerung > Teilung

Bei der Spalthefe erfolgt das Wachstum durch Einlagerung von neuem Zellwandmaterial an den beiden gegenüberliegenden Polen der Zelle, das heißt, hier liegt eine Art ***Spitzenwachstum*** vor. Bei der Sprosshefe wird über die gesamte Oberfläche der Zelle neues Zellwandmaterial eingelagert. Man spricht von ***isotropem*** Wachstum. Die beiden Hefen *Saccharomyces cerevisiae* und *Schizosaccharomyces pombe* waren wesentlich beteiligt an der molekularen und zellulären Aufklärung der Mechanismen des eukaryotischen Zellzyklus.

Vegetative Wuchsformen bei verschiedenen Sprosshefen

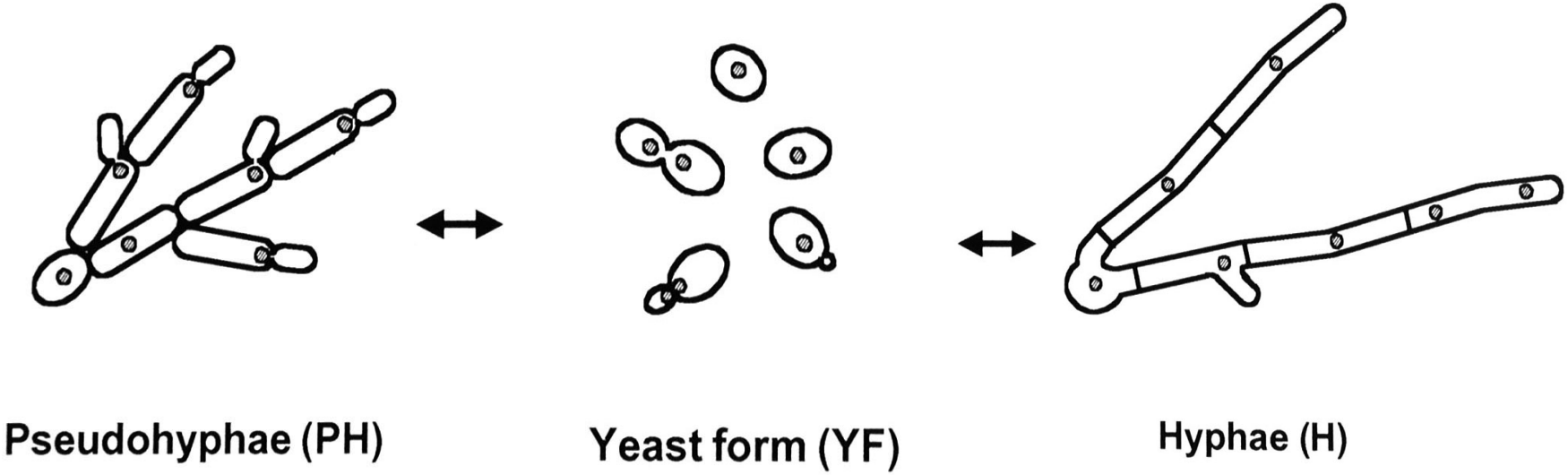
Sprossung verlängerter Zellen. Am Ende bleiben Zellen aneinander haften, da die Separation unvollständig bleibt.

Verlängerte Zellen; Entstehung nicht durch Sprossung, sondern durch Spitzenwachstum und anschließender Teilung durch Bildung von Septen.



*Pseudohyphales Wachstum bein industriellen Hefen wurde erstmals von E.C. Hansen (1886) beschrieben

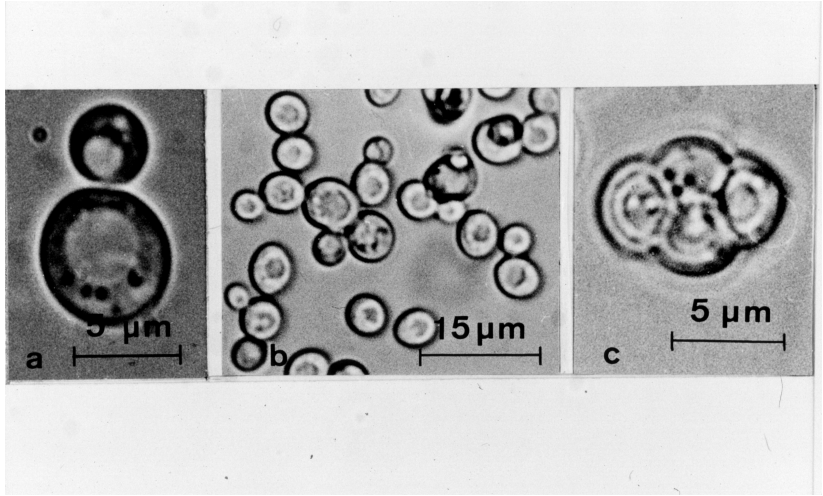
Charakteristika der verschiedenen Wuchsformen von Sprosshefen

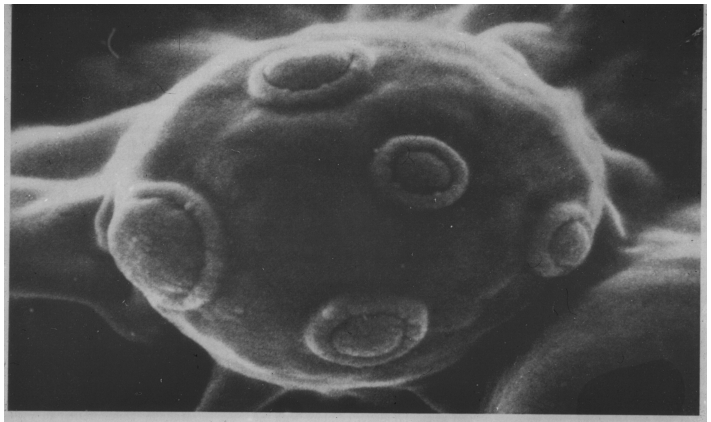


Hefeform: sehr ***ökonomisch*** bezüglich des benötigten Zellwandmaterials pro Cytoplasmavolumen (günstiger als bei filamentösen Zellen), ***resistenter*** gegen osmotische Schwankungen im Medium als Hyphenspitzen, ***effizientere Verbreitung in Wasser*** und durch Insekten; ***effizienterer Transport*** im vaskulären und lymphatischen System von Tieren.

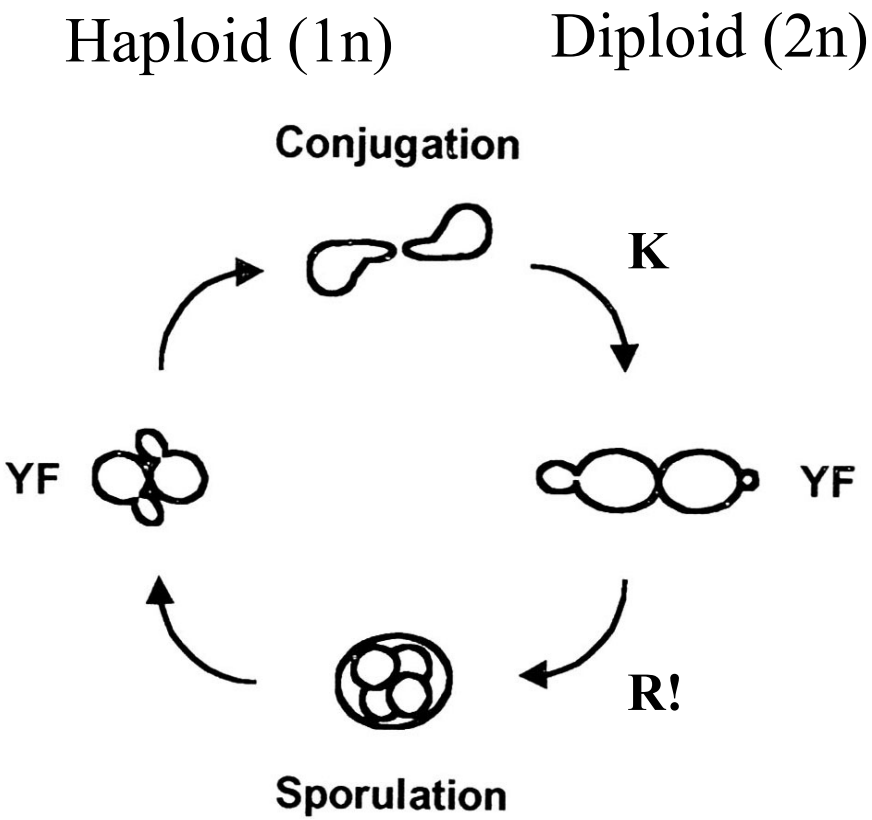
Hyphen (nicht bei *S. cerevisiae*) und Pseudohyphen: effizienteres ***Eindringen*** und ***Erschließen*** von Substraten> ermöglichen Erschließung neuer Habitate (z.B. über die Penetration von Barrieren während pathogener Entwicklung). ***Größere Oberfläche*** als Hefe> effizientere Aufnahme von Nahrung.

Lebenszyklus von *Saccharomyces cerevisiae*





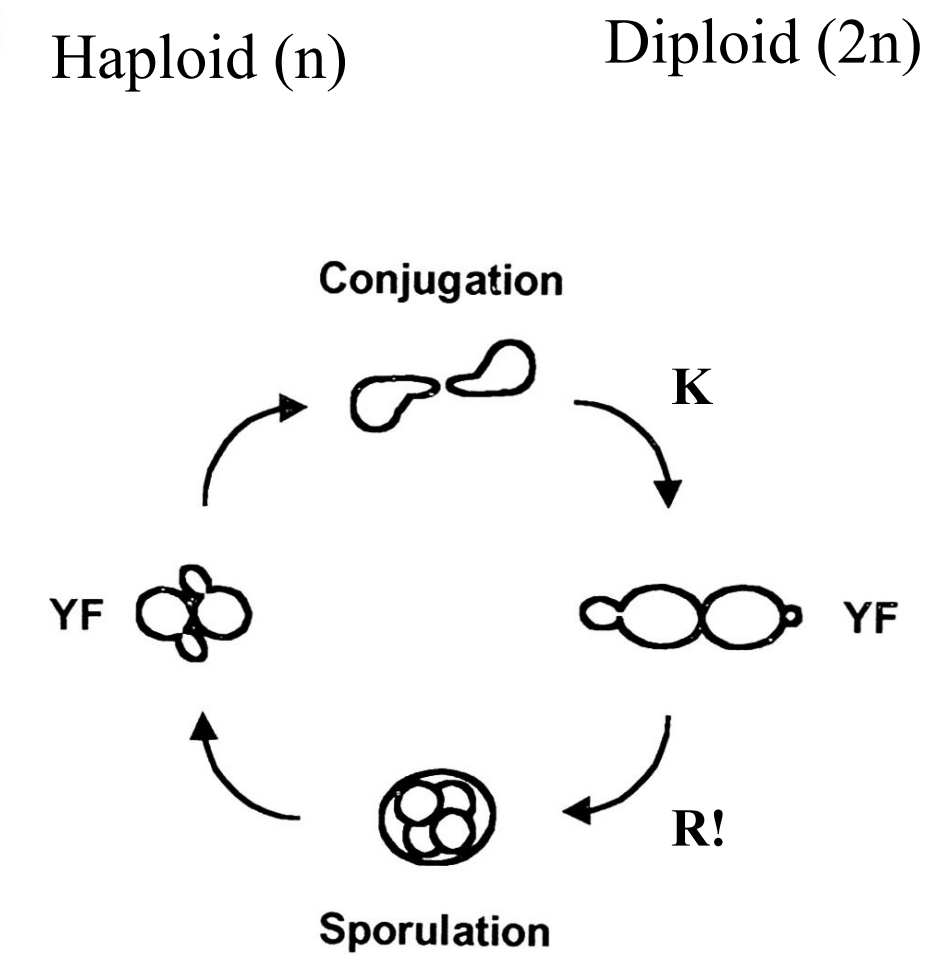
YEAST CELL, which is also a eukaryote, appears in this scanning electron micrograph of the species *Saccharomyces cerevisiae*. Yeasts can reproduce asexually by budding or sexually (*see top illustration on page 57*). The protuberances on this cell are scars where cells budded off. The micrograph, which enlarges the cell 12,500 diameters, was made by Martin W. Miller of University of California at Davis.



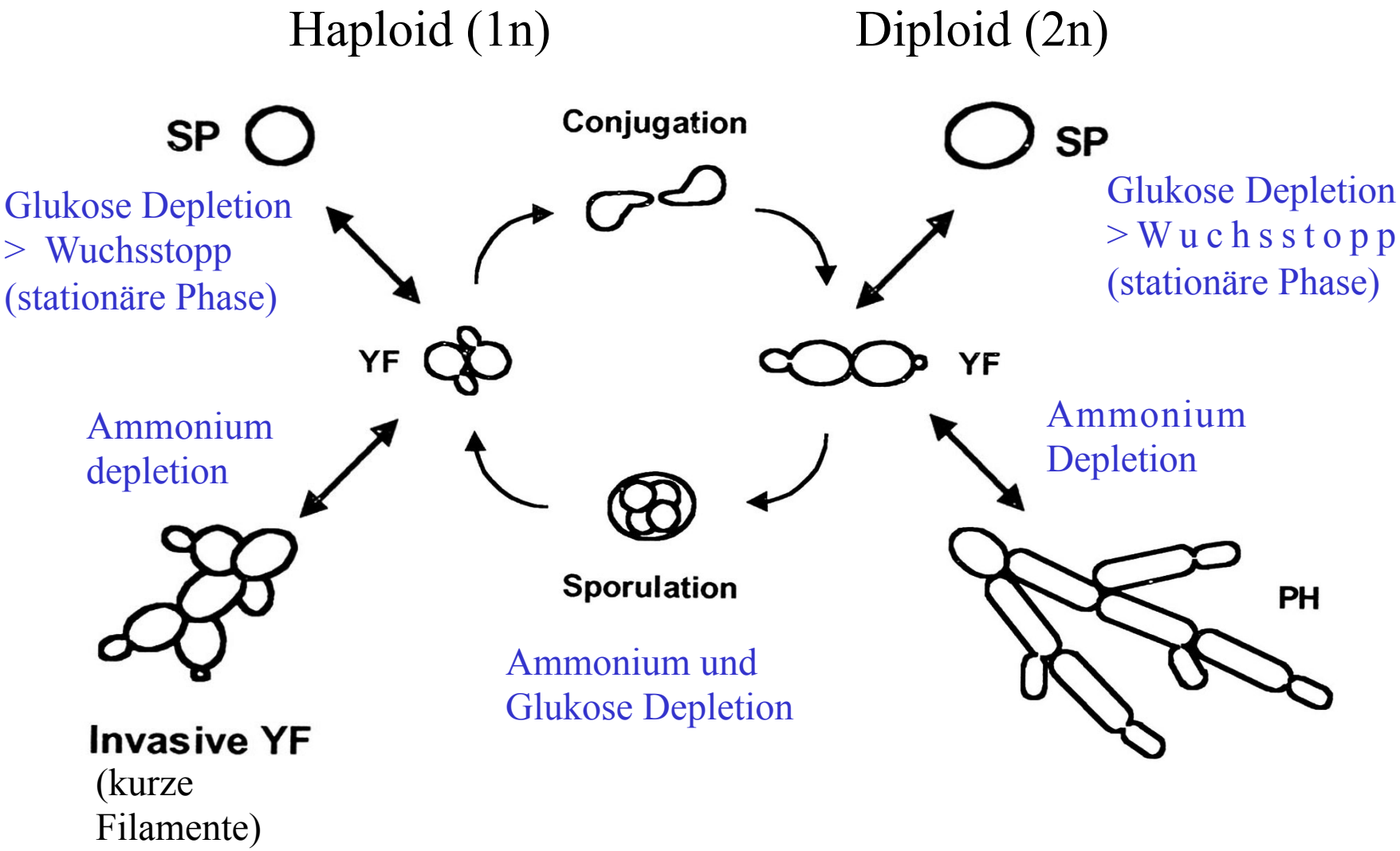
Lebenszyklus von *Saccharomyces cerevisiae*

•Die üblichen Laborstämme von *S. cerevisiae* wurden auf ihre Fähigkeit des Hefewachstums selektioniert > Organismen, die so wachsen, sind im Labor leichter handhabbar (z.B. Replikaüberimpfung).

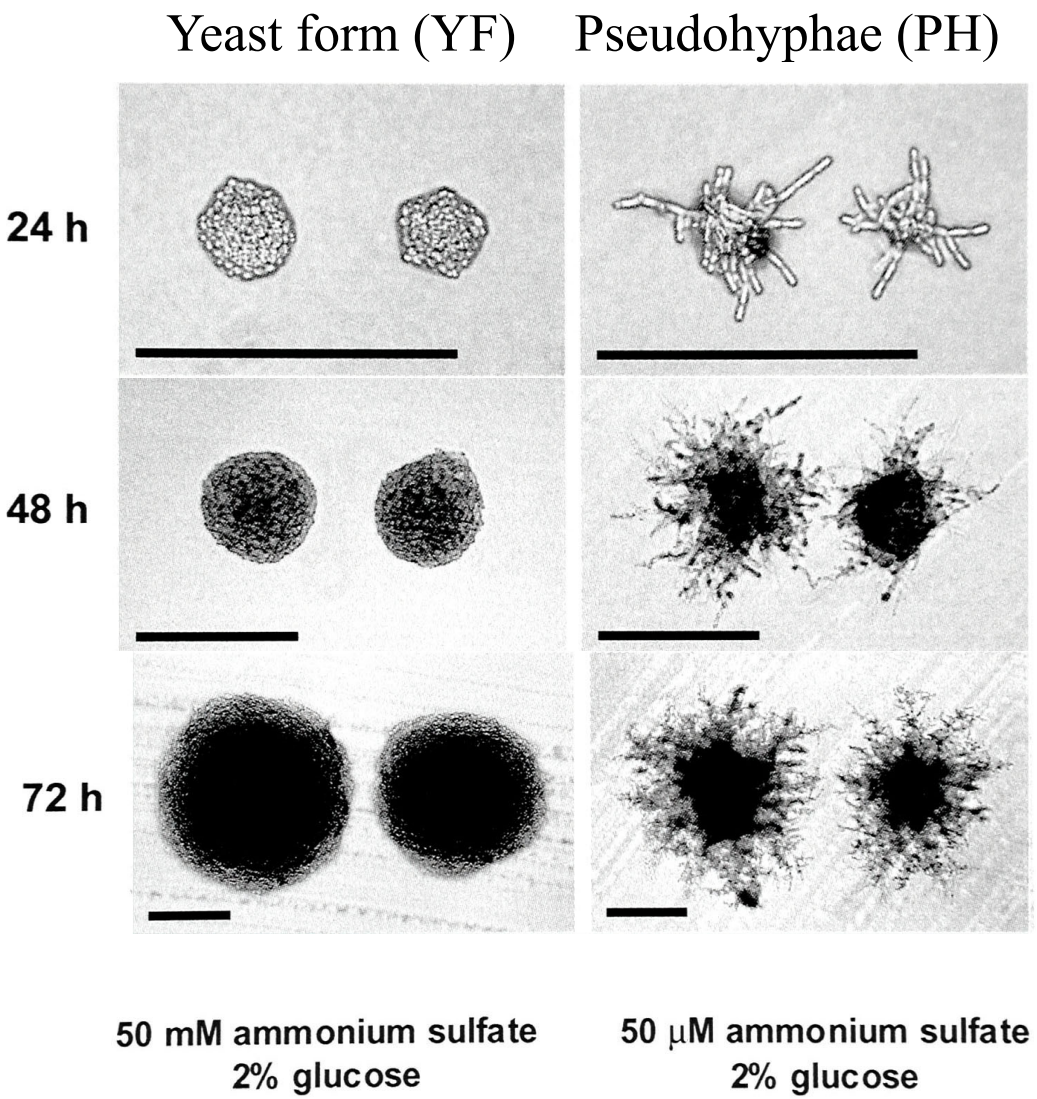
•Erst 1992 wurde wieder-entdeckt, dass Wildtypstämme der Hefe auch zu alternativem Wachstum (Pseudohyphen) befähigt sind > abhängig von genetischem Hintergrund



Wuchsformen von *Saccharomyces cerevisiae* hängen ab von der Nähstoffversorgung



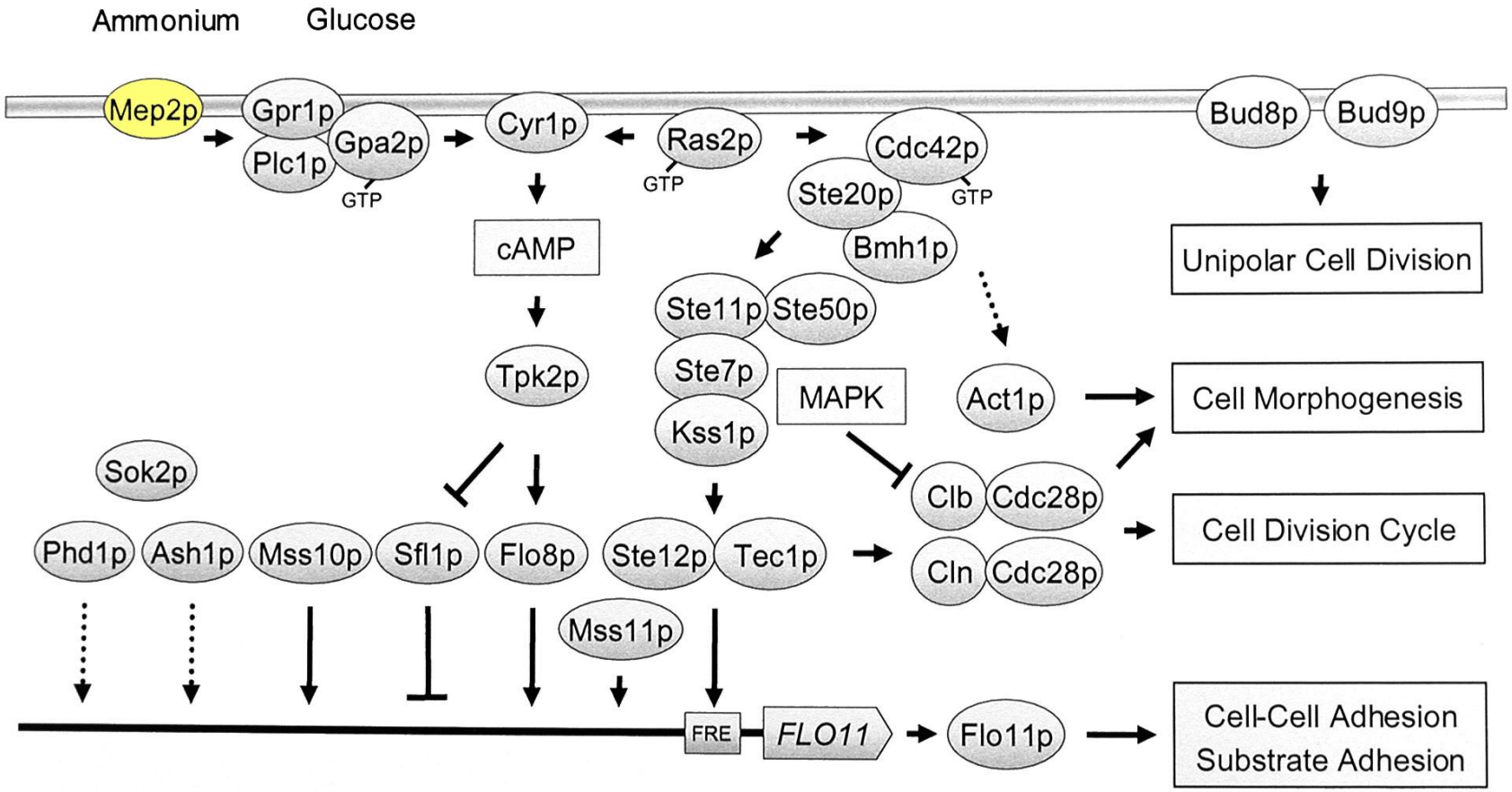
Induktion von pseudohyphalem Wachstum durch Stickstoffmangel in Gegenwart von Glukose



Auch andere Zucker, die pseudohyphales Wachstum ermöglichen: Galaktose, Saccharose, Maltose, Raffinose

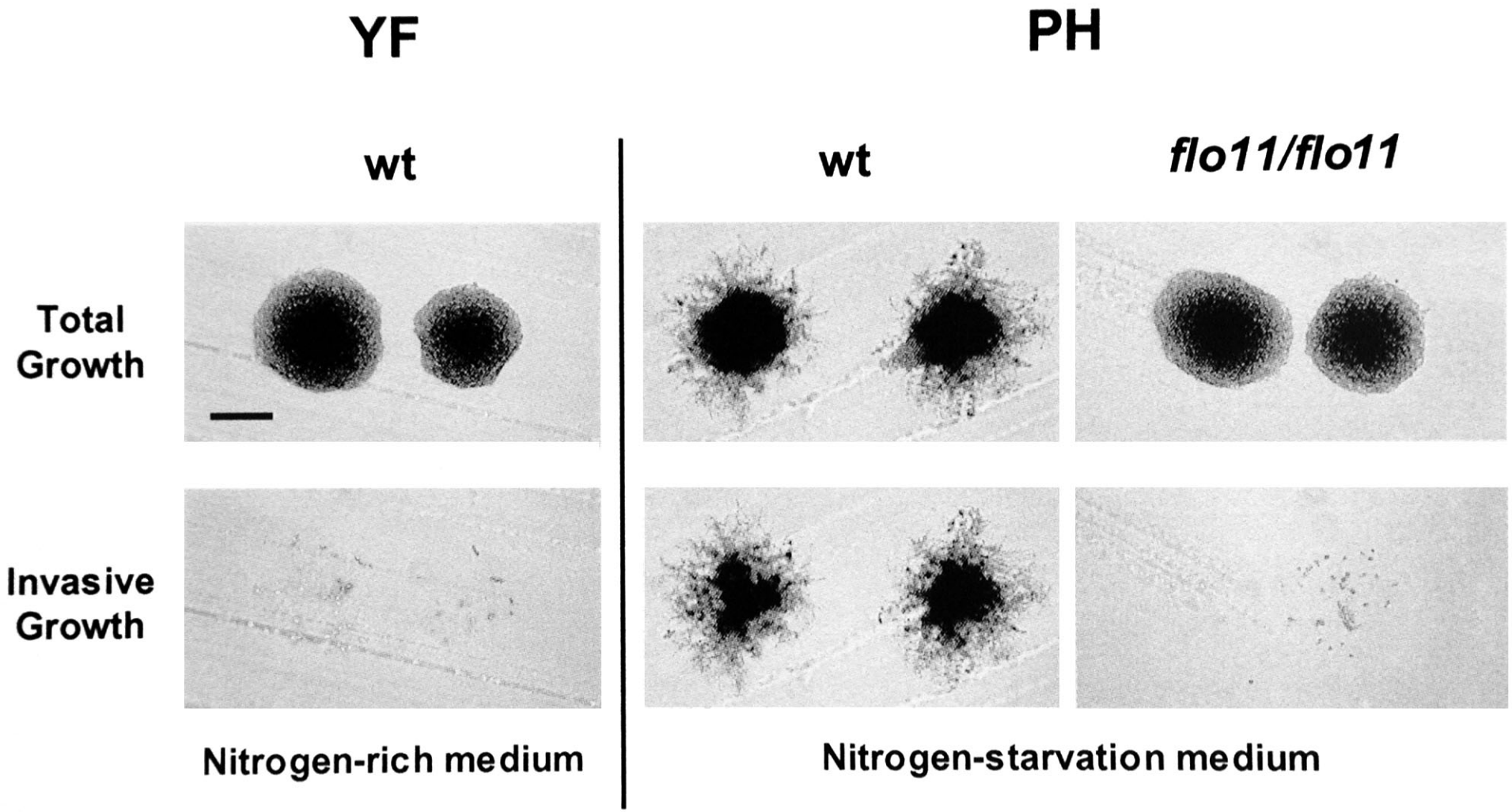
Acetat (nicht fermentierbar) ermöglicht kein pseudo-hyphales Wachstum
> Induktion von Sporulation

Signale, Sensoren und Signalwandlungswege regulieren pseudohyphales Wachstum bei *S. cerevisiae*



Mep2p: Hochaffinitäts Ammonium-Permease > Ammonium Sensor (in Plasmamembran) > gibt Signal weiter an intrazelluläre Signalwandlungswege

Induktion von Substratadhäsion und invasivem Wachstum durch Bildung von Pseudohyphen



Zusammenfassung: Pseudohyphales Wachstum bei Hefe

•**Pseudohyphales Wachstum** ist ein allgemeines ***Modell*** für einfache Differenzierungsprozesse mit Bedeutung für die Entwicklung von Strategien zur Bekämpfung von pathogenen Pilzen, die durch Umschaltung von einer Wuchsform in die andere Pathogenität gewinnen.

•Das zugrunde liegende molekulare Netzwerk, das die Form des Wachstums reguliert, wird aufgebaut durch ***Umweltsignale***, ***Sensoren*** und ***Signalwandlungswege***. Das Ergebnis ist ein Wechsel z.B. in der Zellpolarität und der Zellmorphologie und damit verbunden mit der Fähigkeit zu invasivem Wachstum.

• ***G-Proteine***, ***Proteinkinasen***, ***Transkriptionsfaktoren*** und andere Faktoren sind an der Regulation beteiligt.

- Ende der Vorlesung