

Vliv deficiencie růstových faktorů na intracelulární hladinu malých molekul

RNDr. VLADIMÍR JIRKŮ, CSc., Vysoká škola chemickotechnologická, katedra kvasné chemie a bioinženýrství, Praha
Ing. ALENA ČEJKOVÁ, CSc., Mikrobiologický ústav ČSAV, Praha

Klíčová slova: deficiencie růstových faktorů, fruktosa-1,6-difosfát, glyceraldehyd-3-fosfát, dihydroxyacetonfosfát, pyruvát, acetyl-CoA, citrát, NAD^+ , $\text{NADH} + \text{H}^+$

Cílem uvedených experimentů bylo získat stručný obraz biochemického potenciálu deficientní kvasinkové buňky, a to na základě změny hladiny malých molekul, které mají funkci významného metabolitu nebo koenzymu. V této souvislosti byla sledována intracelulární hladina fruktosa-1,6-difosfátu, glyceraldehyd-3-fosfátu, dihydroxyacetonfosfátu, pyruvátu, acetyl-CoA, citráta a hladina NAD^+ , $\text{NADH} + \text{H}^+$. Změna hladin uvedených komponentů byla sledována v populacích exponenciálních a stacionárních buněk kultivovaných v prostředí s glukosou, sacharosou nebo maltosou. Důvodem volby těchto experimentálních podmínek byla skutečnost, že jednotlivé deficiencie indukují v prostředí uvedených zdrojů C buď výraznou akumulaci (glukosa) nebo méně výrazné (sacharosa) až výrazné (maltosa) snížení hladin lipidů jednotlivých skupin [1]. Stanovené hodnoty udávají hladinu sledovaných komponentů v kontrolní populaci a v populaci deficientních buněk, která je přibližně ve středu exponenciální a stacionární fáze růstu.

MATERIÁL A METODY

Kmen. *Saccharomyces cerevisiae* 92 — drožďařská rasa Union (sbírka pracoviště) byl uchováván při teplotě 4 °C na šikmém agaru (Malt Extract Agar, Oxoid), při pravidelném pasážování v intervalu 21 dnů.

Médium. Kultivace a příprava deficientních populací byly provedeny v syntetickém médiu [2] modifikovaném úplným vynecháním biotinu nebo thiaminu, nebo jednotlivým snížením koncentrace pyridoxinu, pantothenátu a inositolu na 60 % optimální koncentrace (v textu dále označováno jako 40 % deficiencie). Sledované zdroje C byly přítomny v 1% výchozí koncentraci. Výchozí hodnoty pH média byly v rozmezí 3,8–4.

Příprava inokula. V experimentech sledujících důsledky deficiencie růstových faktorů byla jako inokula použita výhradně buněčná populace pozdní exponenciální fáze získaná kultivací v nepřítomnosti biotinu nebo thiaminu nebo v přítomnosti snížených koncentrací inositolu, pantothenátu nebo pyridoxinu. Způsob kultivace těchto kultur se nelišil od kultivací použitých ve vlastních experimentech.

Kultivace. Objemy 100 ml média byly inokulovány při dodržení standardní optické hustoty ($\text{OD } 0,08$) a kultivovány za aktivní aerace při 30 °C na třepacím stroji (88 kvů. min^{-1}) kombinovaném s vodní lázní.

Příprava vzorku pro analytické stanovení. Standardní objem promyté buněčné populace byl převeden do 3 ml 7 % HClO_4 (1 °C). Po 15 min byl pevný podíl odstraněn membránovou filtrací a získaný filtrát upraven na pH 6,5 [KOH , $c = 1,5 \text{ mol. l}^{-1}$].

Stanovení fruktosa-1,6-difosfátu, dihydroxyacetonfosfátu a D-glyceraldehyd-3-fosfátu. Stanovení jednotlivých komponentů bylo provedeno podle Michala a Beutlera [3]. Hladiny příslušných komponentů jsou vyjádřeny v $\mu\text{mol. mg}^{-1}$ buněčné sušiny.

Stanovení pyruvátu. Stanovení bylo provedeno podle Czoka a Lamprechta [4]. Hladina pyruvátu je vyjádřena v $\mu\text{mol. mg}^{-1}$ buněčné sušiny.

Stanovení acetylCoA. Vlastní stanovení bylo provedeno podle Deckera [5]. Intracelulární hladina acetylCoA je vyjádřena v $\mu\text{mol. mg}^{-1}$ buněčné sušiny.

Stanovení intracelulární hladiny citrátu. Stanovení bylo provedeno podle Dagleye [6]. Hladina citrátu je vyjádřena v $\mu\text{mol. mg}^{-1}$ buněčné sušiny.

Stanovení NAD^+ . Stanovení bylo provedeno podle Klingenberg [7]. Hladina NAD^+ je vyjádřena v $\mu\text{mol. mg}^{-1}$ buněčné sušiny.

Stanovení $\text{NADH} + \text{H}^+$. Standardní objem promyté buněčné populace byl převeden do 3 ml 3 % KOH v ethanolu při $t = 20^\circ\text{C}$. Po 30 min byl pevný podíl odstraněn membránovou filtrací a získaný filtrát standardně upraven na hodnotu pH 7, 8. Stanovení bylo provedeno podle Klingenberg [7]. Hladina $\text{NADH} + \text{H}^+$ byla vyjádřena v $\mu\text{mol. mg}^{-1}$ buněčné sušiny.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Změna hladiny fruktosa-1,6-difosfátu. Vliv deficiencie v prostředí s glukosou shrnuje tab. 1. Je zřejmé, že v prostředí tohoto zdroje C všechny sledované deficiencie vyvolávají výraznou akumulaci fruktosa-1,6-difosfátu, a to v buňkách exponenciálních i stacionárních.

Celkem opačná situace byla zaznamenána v prostředí obsahujícím sacharosu (tab. 1). V tomto případě sledované deficiencie indukují snížení hladiny fruktosa-1,6-difosfátu. Výjimkou jsou pouze deficiencie pyridoxinu

Tab. 1 Změna obsahu fruktosa-1,6-difosfátu indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficiencie ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A Glukosa Sacharosa Maltosa	2,16	521	331	586	797	748
	7,11	68	61	59	16	81
	7,10	105	63	69	108	32
B Glukosa Sacharosa Maltosa	1,36	603	387	665	854	779
	2,34	53	63	108	40	185
	1,24	167	161	155	262	139

a) Obsah fruktosa-1,6-difosfátu je vyjádřen v 10^{-7} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu fruktosa-1,6-difosfátu je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

a inositolu, které ve stacionárních buňkách vyvolávají zvýšení hladiny tohoto komponentu.

Akumulace fruktosa-1,6-difosfátu byla rovněž zaznamenána ve všech deficitních populacích stacionárních buněk získaných kultivací v prostředí maltosy (tab. 1). Deficientní exponenciální buňky získané kultivací za těchto experimentálních podmínek mají hladinu fruktosa-1,6-difosfátu buď sníženu, nebo nezměněnu.

Změna hladiny glyceralddehyd-3-fosfátu. Tabulka 2 ukazuje, že v deficitních buňkách rostoucích v prostředí s glukosou je jedinou změnou hladiny tohoto komponentu její výrazná akumulace.

Celkem opačná situace byla zaznamenána v deficitních buňkách rostoucích v prostředí se sacharosou, ve kterých hladina glyceralddehyd-3-fosfátu je buď výrazně snížena (stacionární buňky), nebo není výrazně změněna (exponenciální buňky). Výjimkou jsou exponenciální buňky deficientní na biotin, ve kterých je hladina daného komponentu výrazně snížena.

V prostředí s maltosou všechny sledované deficiencie stimulují menší či výrazné snížení hladiny glyceralddehyd-3-fosfátu, a to v buňkách stacionárních i exponenciálních.

Změna hladiny dihydroxyacetonfosfátu. Z tab. 3 je zřejmé, že v prostředí s glukosou je převládajícím důsledkem deficiencí akumulace dihydroxyacetonfosfátu.

V prostředí se sacharosou deficiencie biotinu, thiaminu a pantothenátu indukují ve stacionárních buňkách snížení hladiny dihydroxyacetonfosfátu a deficiencie pyridoxinu a inositolu zvýšení hladiny tohoto komponentu.

Tab. 2 Změna obsahu D-glyceralddehyd-3-fosfátu indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficiencie ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A						
Glukosa	3,22	544	564	527	748	638
Sacharosa	14,17	32	92	99	97	97
Maltosa	20,40	25	70	83	64	29
B						
Glukosa	2,69	668	582	568	810	677
Sacharosa	5,95	25	43	11	47	88
Maltosa	10,96	26	72	36	40	92

a) Obsah D-glyceralddehyd-3-fosfátu je vyjádřen v 10^{-7} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu D-glyceralddehyd-3-fosfátu je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

Tab. 3 Změna obsahu dihydroxyacetonfosfátu indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficiencie ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A						
Glukosa	7,12	121	98	343	353	256
Sacharosa	16,91	64	68	149	104	104
Maltosa	24,42	53	70	83	106	40
B						
Glukosa	6,43	134	97	398	379	292
Sacharosa	6,52	22	49	125	29	188
Maltosa	1,15	93	96	109	123	111

a) Obsah dihydroxyacetonfosfátu je vyjádřen v 10^{-7} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu dihydroxyacetonfosfátu je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

Podobně není jednotný účinek sledovaných deficiencí ani v exponenciálně rostoucích buňkách.

Deficientní stacionární buňky získané kultivací v prostředí s maltosou nemají hladinu dihydroxyacetonfosfátu výrazně změněnu.

V deficitních exponenciálních buňkách rostoucích v přítomnosti tohoto zdroje C převládá snížení hladiny zmíněného komponentu.

Změna hladiny pyruvátu. V buňkách stacionárních, získaných kultivací v prostředí s glukosou (tab. 4,) deficiencie biotinu a inositolu podmiňují zvýšení hladiny pyruvátu. V ostatních případech bylo zaznamenáno méně výrazné snížení. V buňkách exponenciálních je to pouze deficiencie inositolu, která za těchto kultivačních podmínek podmiňuje výraznou změnu hladiny pyruvátu, a to její snížení. Ostatní sledované deficiencie indukují méně výrazné snížení nebo zvýšení hladiny tohoto komponentu.

Tab. 4 Změna obsahu pyruvátu indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficiencie ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A						
Glukosa	4,92	123	89	38	114	74
Sacharosa	5,94	43	74	72	73	95
Maltosa	14,37	75	50	369	163	68
B						
Glukosa	4,41	169	97	190	89	88
Sacharosa	5,28	152	68	88	84	167
Maltosa	3,21	40	31	187	108	133

a) Obsah pyruvátu je vyjádřen v 10^{-7} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu pyruvátu je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

Ve stacionárních buňkách kultivovaných v prostředí se sacharosou bylo zaznamenáno jednak zvýšení hladiny pyruvátu (deficiencie biotinu a pyridoxinu) jednak její snížení (ostatní deficiencie). V buňkách exponenciálních všechny sledované deficiencie podmiňují snížení hladiny pyruvátu.

V deficitních stacionárních a exponenciálních buňkách rostoucích v prostředí s maltosou rovněž nemá změna hladiny pyruvátu jednotný charakter. Deficiencie biotinu a thiaminu podmiňují v obou případech snížení hladiny pyruvátu, deficiencie inositolu pak její zvýšení.

Změna hladiny acetyl-CoA. Je zřejmé (tab. 5), že všechny sledované deficiencie s výjimkou deficiencie inositolu podmiňují v exponenciálních buňkách kultivovaných v prostředí s glukosou výrazné zvýšení hladiny acetyl-CoA. Výrazné zvýšení hladiny tohoto komponentu bylo rovněž zaznamenáno ve stacionárních buňkách deficitních na biotin a inositol. Ostatní deficiencie pak v buňkách stacionárních podmiňují více či méně výrazné snížení hladiny tohoto komponentu. V prostředí se sacharosou všechny sledované deficiencie vyvolávají v exponenciálních buňkách výrazné snížení hladiny acetyl-CoA a v buňkách stacionárních (s výjimkou vlivu deficiencie inositolu, kde hladina acetyl-CoA zůstala nezměněna) pak výrazné zvýšení hladiny tohoto komponentu.

V prostředí s maltosou u stacionárních deficiencí buněk zůstává hladina acetyl-CoA nezměněna nebo je nepříliš výrazně zvýšena s výjimkou deficiencie pyridoxinu, která vyvolává výraznou akumulaci tohoto komponentu. U deficiencí exponenciálních buněk kultivovaných za těchto podmínek je hladina acetyl-CoA nevýrazně zvýšena (pantothenát, pyridoxin, inositol) nebo snížena (biotin, thiamin).

Změna hladiny citrátu. Tab. 6 ukazuje, že všechny sledované deficiencie indukují ve stacionárních buňkách rostoucích v prostředí s glukosou výrazné snížení hla-

Tab. 5 Změna obsahu acetyl-CoA indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficience ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A Glukosa Sacharosa Maltosa	0,24	196	400	92	758	575
	1,59	46	41	35	12	18
	0,21	96	96	113	104	113
B Glukosa Sacharosa Maltosa	1,03	553	28	510	96	82
	2,52	471	193	100	194	282
	0,40	100	100	111	119	550

a) Obsah acetyl-CoA je vyjádřen v 10^{-7} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu acetyl-CoA je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

Tab. 6 Změna obsahu citrátu indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficience ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A Glukosa Sacharosa Maltosa	12,13	172	110	105	305	138
	11,32	72	79	42	35	111
	6,88	46	28	152	64	258
B Glukosa Sacharosa Maltosa	27,24	66	23	67	20	14
	24,44	47	41	74	42	45
	25,34	34	32	92	21	84

a) Obsah citrátu je vyjádřen v 10^{-7} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu citrátu je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

diny citrátu. Za těchto kultivačních podmínek byla opačná situace zaznamenána v exponenciálních buňkách, ve kterých deficience biotinu, pantothenátu a pyridoxinu podmiňují zvýšení hladiny citrátu. Deficience thiaminu a inositolu nevyvolávají potom výraznější změny.

V deficientních buňkách stacionárních a exponenciálních rostoucích v prostředí se sacharosou podmiňují všechny sledované deficience snížení hladiny citrátu. Výjimkou je pouze deficience pyridoxinu, která se v exponenciálních buňkách neprojevuje výraznější změnou hladiny tohoto komponentu.

U deficientních buněk narostlých v prostředí s maltosou bylo zaznamenáno více i méně výrazné snížení hladiny citrátu. Za těchto podmínek deficience biotinu, thiaminu a pantothenátu indukují rovněž snížení hladiny citrátu, a to v buňkách exponenciálních. V těchto buňkách je pak hladina citrátu výrazně zvýšena vlivem deficience pyridoxinu a inositolu.

Změna hladiny NAD⁺. Z tab. 7 je zřejmé, že kultivace v prostředí glukosy vede u stacionárních deficientních buněk k akumulaci NAD⁺, která je zvlášť výrazná v případě deficience pantothenátu. Výjimkou je pouze deficience pyridoxinu, která vyvolává snížení hladiny sledovaného komponentu. U exponenciálních buněk nastává za uvedených podmínek poměrně výrazné snížení hladiny NAD⁺.

Uniformní změnou v případě kultivace deficientních stacionárních buněk v prostředí sacharosy je snížení hladiny NAD⁺, zatímco u exponenciálních buněk (s výjimkou deficience pantothenátu) dochází k výrazné akumulaci tohoto komponentu.

Obraz změny vyvolané jednotlivými deficiencemi v případě kultivace v prostředí s maltosou není jednotný. U stacionárních buněk dochází k akumulaci NAD⁺ při deficienci biotinu, inositolu a pantothenátu na rozdíl od ostatních deficiencí, které podmiňují nevýrazné snížení hladiny tohoto komponentu. Opačná situace nastává potom u exponenciálních buněk, kde deficience thiaminu a inositolu podmiňuje výrazné zvýšení hladiny NAD⁺, naproti tomu však ostatní deficience mají za následek méně výrazné snížení obsahu zmíněného komponentu.

Změna hladiny NADH + H⁺. Tab. 8 shrnuje hladiny NADH + H⁺ indukované deficiencí růstových faktorů v prostředí sledovaných zdrojů C u exponenciálních a stacionárních buněčné populace. Je zřejmé, že kultivace v prostředí glukosy vede k více či méně výrazné akumulaci tohoto komponentu v obou sledovaných růstových fázích. Výjimkou jsou pouze deficience inositolu a pyridoxinu, které v případě exponenciálních buněk podmiňují výrazné snížení hladiny NADH + H⁺.

Kultivace v přítomnosti sacharosy vede u exponenciálních buněk k výraznému snížení koncentrace NADH + H⁺, zatímco ve stacionárních deficientních buňkách se akumuluje zmíněný komponent.

Celkem odlišná je situace v případě kultivace v prostředí maltosy, kde uniformní změnou u exponenciálních deficientních buněk je zvýšení hladiny NADH + H⁺. U stacionárních buněk je výrazně zvýšena pouze u deficience pantothenátu a snížena u deficience inositolu.

Sledování změn hladin klíčových metabolitů bylo pro-

Tab. 7 Změna obsahu NAD⁺ indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficience ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A Glukosa Sacharosa Maltosa	1,66	82	19	26	28	21
	1,56	170	150	130	85	165
	0,98	97	150	57	34	214
B Glukosa Sacharosa Maltosa	1,35	173	109	55	245	155
	1,35	90	41	55	45	48
	2,40	203	86	181	286	88

a) Obsah NAD⁺ je vyjádřen v 10^{-6} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu NAD⁺ je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

Tab. 8 Změna obsahu NADH + H⁺ indukovaná v přítomnosti různých zdrojů C v exponenciálních (A) a stacionárních (B) buňkách *Saccharomyces cerevisiae* deficiencí růstových faktorů

Zdroj C	Kontrolní pokus ^{a)}	Deficience ^{b)} (%)				
		Biotin (100)	Thiamin (100)	Inositol (40)	Pantothenát (40)	Pyridoxin (40)
A Glukosa Sacharosa Maltosa	4,48	120	100	60	102	58
	1,74	51	11	80	13	63
	1,04	240	450	170	160	210
B Glukosa Sacharosa Maltosa	1,83	183	243	120	312	156
	1,61	156	225	113	306	131
	2,58	100	84	50	169	100

a) Obsah NADH + H⁺ je vyjádřen v 10^{-6} mol tohoto komponentu na mg buněčné sušiny

b) Změna obsahu NADH + H⁺ je vyjádřena v % jeho obsahu stanoveného v kontrolní buněčné populaci

vedeno s cílem získat základní informace o pohybu intracelulárních koncentrací těchto komponentů. Vzhledem k polyfunkční úloze růstových faktorů [8] a předpokladu značného nepřímého účinku jejich deficience ani poměrně velké množství shromážděných dat neumožňuje předložit model metabolismu deficientní buňky. V této souvislosti je zároveň zřejmé, že určité anomálie buněčného metabolismu budou bezpochyby výsledkem kombinace vlivu vlastní deficience a historie buňky, tedy vlivu všech faktorů daných kultivačním prostředím a kultivačními podmínkami, ve kterých deficience působí. V tomto směru jsou tedy získané výsledky především podkladem pro teoretický odhad změny hladin buněčných komponentů, jejichž biosyntéza je odvozena od sledovaných intermediátů.

Podle našich informací bylo zatím podobné přiblížení metabolismu deficientní buňky provedeno pouze u kvasinkových buněk deficientních na biotin [9]. Konfrontace těchto výsledků s našimi však není možná z toho důvodu, že publikované výsledky byly získány ve značně odlišném kultivačním prostředí a v podmínkách kontinuální kultivace.

Indukované změny koncentrace oxidované a redukováné formy nikotinamidových koenzymů jsou dílčím pohledem na vztah deficience a biochemické aktivity, která je uvedenými koenzymy podmíněna.

Zaznamenané změny zároveň potvrzují, že sledované deficience růstových faktorů mohou podmnít značné alterace buněčného metabolismu, které se mohou promítat do řady průmyslově významných vlastností kvasinkové buňky. V těchto souvislostech práce navazuje na již publikovaná sdělení [10—13].

Literatura

- [1] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A., PÁČA, J.: Sborník VŠCHT - Praha E55, 1983, s. 143
 - [2] OLSON, B. H., JOHNSON, M. J.: J. Bacteriol., **57**, 1949, s. 235
 - [3] MICHAL, G., BEUTLER, H. O.: In Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer, H. U. (Ed.), 1974, s. 1314
 - [4] CZOK, R., LAMPRECHT, W.: In Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer, H. U. (Ed.), 1974, s. 1446
 - [5] DECKER, K.: In Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer, H. U. (Ed.), 1974, s. 1988
 - [6] DAGLEY, S.: In Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer, H. U. (Ed.), 1974, s. 1562
 - [7] KLINGENBERG, M.: In Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer, H. U. (Ed.), 1974, s. 2045
 - [8] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A., BASAŘOVÁ, G.: Kvas. prům. **30**, 1984, s. 128.
 - [9] OURA, E., SUOMALAINEN, H.: J. Inst. Brew., **84**, 1978, s. 283
 - [10] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A., PÁČA, J.: Experientia, **37**, 1981, s. 39
 - [11] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A.: Z. Allg. Mikrobiol., **21**, 1981, s. 423
 - [12] JIRKŮ, V., LUDVÍK, J., ČEJKOVÁ, A., KRUMPHANZL, V.: Z. Allg. Mikrobiol., **22**, 1982, s. 389
 - [13] JIRKŮ, V., ČEJKOVÁ, A.: Kvas. prům. **31**, 1985, s. 111.
- Jirků, V. — Čejková, A.: Vliv deficience růstových faktorů na intracelulární hladinu malých molekul.** Kvas. prům. **33**, 1987, č. 2, s. 43—46.
- Vliv deficience na hladinu nízkomolekulárních komponentů byl studován u buněk *Saccharomyces cerevisiae*. Interakce deficience s hladinou fruktosa-1, 6-difosfátu, glycerinaldehyd-3-fosfátu, dihydroxyacetonfosfátu, pyruvátu, acetyl-CoA, citrátu, NAD⁺ a NADH + H⁺ byla potvrzena stejně jako vliv zdroje uhlíku a růstové fáze.
- Йирку, В. — Чейкова, А.: Влияние дефициенции факторов роста на интрацеллюлярный уровень малых молекул.** Квас. прум. **33**, 1987, № 2, стр. 43—46.
- Влияние дефициенции на уровень низкомолекулярных компонентов исследовали для клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Взаимодействие дефициенции с уровнем фруктозы-1,6-дифосфата, глицеральдегид-3-фосфата, дигидроксиацетонфосфата, пирувата, ацетил-КоА, цитрата, NAD⁺ и NADH+H⁺ было подтверждено также как влияние источника углерода и фазы роста.
- Jirků, V. - Čejková, A.: Effect of Growth Factor Deficiency on Intracellular Level of Low Molecular Weight Components.** Kvas. prům. **33**, 1987, No. 2, pp. 43—46.
- Effect of deficiency on intracellular level of low molecular weight components was studied by using *Saccharomyces cerevisiae* cells. The interaction of deficiency with the level of fructose-1,6-disphosphate, glyceraldehyde-3-phosphate, dihydroxyacetone phosphate, pyruvate, acetylcoenzyme A, citrate, NAD⁺ and NADH+H⁺ was confirmed as well as significant effect of carbon source and growth phase.
- Jirků, V. — Čejková, A.: Einfluß der Defizienz der Wachstumsfaktoren auf das intrazelluläre Niveau der kleinen Moleküle.** Kvas. prům. **33**, 1987, Nr. 2, S. 43—46.
- Der Einfluß der Defizienz auf das Niveau der niedermolekularen Komponenten wurde an den Zellen *Saccharomyces cerevisiae* studiert. Die Interaktion der Defizienz mit dem Niveau von Fruktose-1,6-Diphosphat, Glycerinaldehyd-3-Phosphat, Dihydroacetonphosphat, Pyruvat, Acetyl-CoA, Citrat, NAD⁺ und NADH + H⁺ wurde bestätigt sowie auch der Einfluß der Kohlenstoffquelle und der Wachstumsphase.