

Diss. ETH 5878

**Untersuchungen über den Stoffwechsel
des Methanbakteriums Stamm AZ**

ABHANDLUNG

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

vorgelegt von

ARTHUR WELLINGER
dipl. Natw. ETH
geboren am 16. Februar 1947
von Zürich

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. K. Wuhmann, Referent
Prof. Dr. L. Ettliger, Korreferent

Juris Druck + Verlag Zürich
1977

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Der Metabolismus von H_2 oxidierenden Methanbakterien wurde anhand einer in unserem Labor isolierten Reinkultur mit der Bezeichnung Stamm AZ untersucht.

Sulfid stimuliert die Methanproduktion, am meisten bei einer Konzentration von 10^{-4} Mol/l. Ausserdem reguliert es die Ausscheidung von Aminosäuren, deren Synthese von Verbindungen des Citronensäurecyclus ausgehen.

Cystein hat ebenfalls eine stimulierende Wirkung auf die Methanbildung. Die höchste Produktionsrate - mit oder ohne Sulfid im Medium - wurde bei einem Cysteingehalt von $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/l gemessen. Cystein vermag den Schwefelbedarf für das Wachstum von Stamm AZ zu decken.

Mit Homocystein, S-Methylcystein, Dimethyldisulfid, CoM oder Glutathion als einziger Schwefelverbindung in Medium zeigt Stamm AZ kein Wachstum. Zusammen mit Sulfid jedoch können CoM und Glutathion Cystein ersetzen.

Zugabe von Sulfid zu Kulturen, die auf sulfidverarmtem Minimalmedium wuchsen, führte zur Bildung eines ATP-Maximums. Gleichzeitig wurde der hohe AMP-Pool abgebaut. Die AMP-Konzentration war dabei umgekehrt proportional zur Methanproduktionsrate. Zugabe von 2,4-Dinitrophenol (10^{-4} Mol/l) führte augenblicklich zur Hemmung der Methanproduktion mit einem gleichzeitigen starken Abfall des ATP-Pools.

Stamm AZ besitzt die gleichen spektralen Eigenschaften wie die den Faktor 420 enthaltenden Methanbakterien. In Phosphatpuffer suspendierte Zellen zeigen unter UV-Licht eine blaugrüne Fluoreszenz. Differenzspektren (Luft ox. minus $Na_2S_2O_4$ red.) ganzer Zellen haben bei 420 nm eine starke Absorptionsbande. Absolute Spektren luftoxidierter Zellen weisen bei 200 nm ein weiteres Absorptionsmaximum auf, das sich bei Oxidation mit Kaliumhexacyanoferrat noch verstärkt, bei Reduktion mit Natriumborohydrid aber verschwindet.

Zugabe von Fumarat in Konzentrationen grösser als 10^{-4} Mol/l zu Kulturen, die auf Minimalmedium wachsen, bewirkt eine Hemmung der Methanproduktion und des Wachstums. Trotz der Hemmwirkung wird Fumarat abgebaut. Zugabe von Malat in denselben Konzentrationen hat eine Steigerung der Methanproduktion zur Folge, ohne die Wachstumsgeschwindigkeit zu verändern. Ein Abbau von Malat war nicht zu beobachten.

ABSTRACT

This work deals with some metabolic aspects of Methanobacterium strain AZ.

Studies of the action of sulfur containing compounds on growth and methane production revealed a stimulation of the latter by sulfide and cysteine with optimal concentrations of 10^{-4} molar and $5 \cdot 10^{-4}$ molar respectively. Growth occurred on cysteine as sole sulfur source, whereas sulfide had an accelerating effect. Together with CoM or glutathion the latter could substitute for cysteine. Sulfide as well as cysteine was able to regulate the excretion of amino acids.

Fumarate in concentrations higher than 10^{-4} molar caused an inhibition of growth and methane production, whereas malate in the same concentration ranges produced a stimulation of the methane formation without a corresponding increase of the growth rate. Determination of the adenine nucleotide pools disclosed a linear dependance of the specific methane production on the concentration of AMP. Addition of sulfide to a culture growing on sulfide-free minimal medium led to formation of an ATP-maximum prior to the stimulation of the specific methane production.

Difference spectra of whole cells of Methanobacterium strain AZ showed the same characteristics as previously described for factor 420 with a maximal excitation at 420 nm.