



Doctoral Thesis

## Untersuchungen zur Genetik und zur Tryptophanbiosynthese von *Acetobacter aceti*

**Author(s):**

Cohn, William

**Publication Date:**

1973

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000187455> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. Nr. 5138

UNTERSUCHUNGEN ZUR GENETIK UND ZUR  
TRYPTOPHANBIOSYNTHESE VON ACETOBACTER ACETI

ABHANDLUNG

zur Erlangung  
des Titels eines Doktors der Naturwissenschaften  
der

EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

WILLIAM COHN



Dipl. Natw. ETH  
geboren am 12. Oktober 1944  
von Zürich (Kt. Zürich)

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. R. Hütter, Referent  
Prof. Dr. L. Ettliger, Korreferent

1973

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Eine Methode zur Gewinnung von Mutanten von Acetobacter aceti durch Induktion mit MNNG wurde entwickelt. Im Hinblick auf auxotrophe Mutanten wurden die Bedingungen für eine optimale Anwendung von MNNG bei der Mutagenese ausgearbeitet. Der Einfluss verschiedener Voll- und Minimalmedien auf die Mutantenauslese wurde untersucht. Durch die Verwendung einer indirekten Selektionsmethode gelang es, nach der Mutagenese eine zusätzlich Anreicherung von auxotrophen Mutanten zu erzielen.
2. Für Acetobacter aceti wurde genetische Rekombination nachgewiesen. Die Rekombinationsfrequenz liegt etwa bei  $10^{-7}$ .
3. 78 tryptophanauxotrophe Mutanten von Acetobacter aceti wurden isoliert und charakterisiert. Mutanten, die jeweils in einer Reaktion der biosynthetischen Sequenz zwischen Chorisminsäure und L-Tryptophan blockiert sind, wurden für jeden der Syntheseschritte gefunden. Die genetischen Loci von 6 verschiedenen Klassen tryptophanauxotropher Mutanten konnten aufgrund von Wachstums-, Akkumulations- und Enzymtests definiert werden. Werden tryptophanauxotrophe Mutanten unter Tryptophanmangel gehalten, so sind die Enzymspiegel aller intakten Tryptophansynthesenzyme gegenüber dem Wildtyp um einen Faktor von 2 bis 3 erhöht. Es konnten drei Regulationsmutanten charakterisiert werden, welche gleichzeitig für alle Tryptophansynthesenzyme 2 bis 3 mal höhere spezifische Aktivitäten aufweisen als der Wildtyp. Die Regulationsmutanten wurden als Indolanalog-Resistenzmutanten isoliert. In Gegenwart von grossen Indolmengen wird das Wachstum von Acetobacter aceti gehemmt. Diese Inhibition kann entweder durch Zugabe von Chinasaure oder durch gleichzeitigen Zusatz von L-Tyrosin und L-Phenylalanin zum indolhaltigen Medium aufgehoben werden.

## SUMMARY

1. The optimal conditions for mutagenesis by MNNG in Acetobacter aceti are described. The influence of the use of minimal or complete medium on the isolation of different mutant types was investigated. An enrichment technique with ampicillin and D-cycloserin was highly effective in isolating tryptophan auxotrophic mutants.
2. Genetic recombination has been shown to occur in A. aceti. Recombination frequencies are of the order of  $10^{-7}$ .
3. 78 auxotrophs of A. aceti requiring L-tryptophan for growth were isolated and characterized. Mutants blocked in each reaction of the synthetic pathway from chorismic acid to tryptophan were obtained. The six auxotrophic classes requiring only tryptophan were defined by growth requirements, accumulation of intermediats and enzymatic analysis.
4. The wild type showed constitutive levels of the tryptophan biosynthetic enzymes whether grown in minimal media or in medium containing tryptophan. Tryptophan starvation of the auxotrophic mutants resulted in a 2 to 3-fold increase in the levels of all the tryptophan biosynthetic enzymes in comparison to the wild type level. Three regulatory mutants were obtained as mutants resistant to the indole analog 5-fluor-indole and 5-methyl-indole. These mutants produce the tryptophan biosynthetic enzymes in a 2 to 3-fold excess over the wild type level. High concentrations of indole may inhibit the growth of A. aceti. No growth inhibition occurs when quinic acid or L-tyrosin and L-phenylalanin are simultaneously added in the indole containing medium.