

**Acetatkatabolismus
in *Methanothrix soehngeni***

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
HANS-PETER E. KOHLER
dipl. natw. ETH
geboren am 4. März 1955
von Zürich (ZH)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. G. Hamer, Referent
Prof. Dr. Th. Lëisinger, Korreferent

teilweise veröffentlicht in:
FEMS Microbiology Letters 21: 287-292 (1984)

ADAG Administration & Druck AG

Zürich 1986

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Abbau von Acetat in *Methanotrix soehngeni* untersucht.

Acetat wird zuerst über eine *Acetyl-CoA-Synthetase* aktiviert. *Acetat-Kinase*- und *Phosphotransacetylase*-Aktivität konnte nicht nachgewiesen werden. Es bestehen deshalb starke Hinweise, dass Acetyl-CoA das aktivierte Zwischenprodukt bei der Spaltung von Acetat zu Bicarbonat und Methan ist. Die kinetischen Eigenschaften (K_M für Acetat = 0.8 mM, K_M für CoA = 44 μ M, v_{max} = 5.0 U mg^{-1} Rohextraktprotein) der *Acetyl-CoA-Synthetase* deuten daraufhin, dass die Acetataktivierung nicht der geschwindigkeitslimitierende Schritt beim Katabolismus von Acetat sein kann.

Methanotrix soehngeni enthält sehr aktive *Kohlenmonoxiddehydrogenase*. Das kinetische Verhalten wurde im Rohextrakt untersucht (K_M für CO = 0.46 mM, K_M für MV = 0.17 mM, v_{max} = 2.9 U mg^{-1} Rohextraktprotein). Das Enzym erwies sich als nicht Sauerstoff-empfindlich. Es besitzt ein Molekulargewicht von 295 kdal und setzt sich aus zwei Untereinheiten von 82 und 76 kdal zusammen. Eine vorläufige Quartärstruktur von $(\alpha \beta)_2$ wird vorgeschlagen.

α -5-Methylbenzimidazolyl- β -cyanocobamid wurde als Hauptcorrinoid in *Methanotrix soehngeni* identifiziert. Dazu wurden verschiedene Corrinoiden biosynthetisch hergestellt und die kristallisierten Verbindungen wurden mittels NMR-Spektroskopie charakterisiert. Die Identifizierung der unbekanntenen Verbindung erfolgte mittels HPLC-Kochromatographie und UV-VIS-Spektrophotometrie.

Aufgrund der oben erwähnten Ergebnisse wurde ein Modell der Acetatspaltung in *Methanotrix soehngeni* vorgeschlagen und diskutiert.

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in FEMS Microbiology Letters 21: 287-292 (1984).

6. SUMMARY

In this work the acetoclastic reaction in *Methanotheris soehngeni* has been investigated.

Acetate is activated via *Acetyl-CoA-Synthetase* rather than *Acetat-Kinase* and *Posphotransacetylase*. Acetyl-CoA seems to be the activated intermediate in the acetoclastic reaction. The kinetic properties (K_M for acetate = 0.8 mM, K_M for CoA = 44 μ M, v_{\max} = 5.0 U mg^{-1} crude protein) of the enzyme indicate that acetate activation is not the rate limiting step in the degradation of acetate

Methanotheris soehngeni contains active *Carbonmonoxide-Dehydrogenase*. The kinetic properties (K_M for CO = 0.46 mM, K_M for MV = 0.17 mM, v_{\max} = 2.9 U mg^{-1} crude protein). have been investigated in crude extracts. The enzyme turned out not to be oxygen sensitive. It has a molecular weight of 295 kdal consisting of two different subunits (82 and 76 kdal). A $(\alpha\beta)_2$ structure has been proposed.

α -5-Methylbenzimidazolyl- β -cyanocobamide has been identified being the main corrinoid in *Methanotheris soehngeni*. Different corrinoids have been prepared biosynthetically and the crystalline compounds were characterized employing NMR-spectroscopy. The identification of the unknown corrinoid compound has been accomplished using HPLC-cochromatography and UV-VIS-spectrophotometry.

A model explaining the acetoclastic reaction in *Methanotheris soehngeni* has been proposed and discussed.

Parts of this work have been published in FEMS Microbiology Letters 21: 287-292 (1984).