ETH zürich

ETH Library

Wachstum von Methanol assimilierenden Hefen

eine Chemostat-Studie über die Regulation der Methanol dissimilierenden Enzyme

Doctoral Thesis

Author(s):
Egli, Thomas

Publication date:
1980

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-000198290

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. ETH Nr. 6538

Wachstum von Methanol assimilierenden Hefen

EINE CHEMOSTAT-STUDIE ÜBER DIE REGULATION DER METHANOL DISSIMILIERENDEN ENZYME

ABHANDLUNG

zur Erlangung der Würde
eines Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE ZÜRICH

vorgelegt von
THOMAS EGLI
Dipl. Natw. ETHZ
geboren am 22. August 1950
von Kirchberg (SG)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. A. Fiechter, Referent
Prof. Dr. Th. Leisinger, Korreferent

Zürich 1980

5. ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY

Das Wachstum der beiden methylotrophen Hefen *Hansenula polymorpha* CBS 4732 und *Klöckera* sp. 2201 und die Regulation der Synthese der dissimilatorischen Methanol-Enzyme Alkohol-Oxidase, Katalase, Formaldehyd- und Formiat-Dehydrogenase wurde in Batch- und Chemostat-Kultur mit Glucose, Methanol oder Glucose/Methanol-Mischungen als Kohlenstoffquelle untersucht.

Glucose als C-Quelle: Beim Wachstum in Glucose-limitierter Chemostat-Kultur wurden alle dissimilatorischen Methanol-Enzyme mit fallender Verdünnungsrate zunehmend dereprimiert. Der Grad der Derepression war für die einzelnen Enzyme verschieden, was auf keine koordinierte Kontrolle der Synthese dieser Enzyme hindeutet. Alkohol-Oxidase unterlag in Zellen von *Klöckera* sp. 2201 einer wesentlich stärkeren Repression durch Glucose als in Zellen von *H. polymorpha*.

Methanol als C-Quelle: Die Enzymmuster der dissimilatorischen Methanol-Enzyme in *Klöckera* sp. 2201 waren in Methanol-limitiert gewachsenen Zellen qualitativ und quantitativ mit denjenigen in *H. polymorpha*, wie sie von van Dijken (1976) beschrieben wurden, identisch.

Glucose/Methanol-Mischungen als C-Quelle, D = konstant: Bei niederen Verdünnungsraten wurde im Chemostaten Glucose und Methanol durch beide Hefen gleichzeitig assimiliert. Die Abhängigkeit der Ausbeutekoeffizienten für Methanol, resp. Glucose wurde als Funktion der Zusammensetzung der Glucose/Methanol-Mischung überprüft. Zusätzliche Induktion durch Methanol wurde für alle Methanol oxidierenden Enzyme gefunden.

Glucose/Methanol-Mischung (38.8%/61.2%, w/w), D = variabel: Die Abhängigkeit der simultanen Glucose/Methanol-Verwertung von der Verdünnungsrate wurde untersucht. Es wurden dabei

stufenförmige X-D-Diagramme gefunden, die dadurch charakterisiert waren, dass bei niederen Verdünnungsraten Glucose und Methanol gleichzeitig abgebaut und assimiliert wurden, bei höheren dagegen nur noch Glucose. Mit dem Aussetzen der Methanolverwertung wurde gleichzeitig die Repression der dissimilatorischen Methanol-Enzyme beobachtet. Eine Steigerung der kritischen Verdünnungsrate für die Methanolverwertung konnte durch das Angebot von Glucose/Methanol-Mischungen erreicht werden.

Stickstoff-limitiertes Wachstum: Es wurde gezeigt, dass nicht nur bei hohen Glucosekonzentrationen, sondern auch unter Stickstoff-limitierten Bedingungen eine Repression der Synthese der dissimilatorischen Methanol-Enzyme, verbunden mit einem Abbau der peroxisomalen Enzyme Alkohol-Oxidase und Katalase, eintritt. Die Abbauraten der Methanol oxidierenden Enzyme beim Uebergang von C-Limitation zu N-Limitation wurden bestimmt.

The regulation of the synthesis of the four methanol dissimilating enzymes, namely alcohol oxidase, catalase, formaldehyde- and formate-dehydrogenase, of the two methylotrophic yeasts *Hansenula polymorpha* CBS 4732 and *Klöckera* sp. 2201 during growth on glucose, methanol or various mixtures of glucose/methanol as sole source of carbon and energy was investigated in batch and chemostat culture.

Glucose-limited growth: In glucose-limited chemostat culture increasing derepression of all dissimilatory methanol enzymes was found with decreasing dilution rate. Varying degrees of derepression of the individual enzymes in each organism was observed. This points to no coordinated control of the synthesis of these enzymes. Much stronger repression of alcohol oxidase by glucose was found in cells of *Klöckera* sp. 2201 than in cells of *H. polymorpha*.

Methanol-limited growth: In methanol-limited chemostat culture qualitatively and quantitatively identical enzyme patterns were found in both organisms.

Glucose/methanol-mixtures as carbon source, D = constant: In chemostat culture both organisms were able to assimilate glucose and methanol simultaneously at low dilution rates. The individual yield factors of glucose and methanol were determined as a function of the composition of the supplied glucose/methanol-mixture. Thereby, besides derepression, additional induction of the methanol oxidizing enzymes by methanol was found.

Glucose/methanol-mixture (38.8%/61.2%, w/w), D = variable: The simultaneous assimilation of a glucose/methanol-mixture was studied as a function of dilution rate. Step-shaped X-D-diagrams were observed where both carbon sources were assimilated at low dilution rates, whereas at high dilution rates only glucose was found to be utilized. When methanol utilisation ceased, repression of the dissimilatory methanol enzymes was found. By supplying this glucose/methanol-mixture as carbon source enhanced critical dilution rates of methanol utilisation were achieved.

Nitrogen-limited growth: By shifting the cells from a carbon-limited to a nitrogen-limited environment it was shown that not only high glucose concentrations but also nitrogen limitation causes repression of the syntesis of the dissimilatory methanol enzymes.