



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Discovery and exploitation of the transcriptional regulatory system of pectinases in *Aspergillus niger*

Alazi, E.

Citation

Alazi, E. (2018, June 6). *Discovery and exploitation of the transcriptional regulatory system of pectinases in Aspergillus niger*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/62740>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/62740>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/62740> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Alazi, E.

Title: Discovery and exploitation of the transcriptional regulatory system of pectinases in *Aspergillus niger*

Issue Date: 2018-06-06

Samenvatting

Pectine is een complexe suikerpolymeer dat voorkomt in plantencelwanden en bestaat voornamelijk uit D-galacturonzuur (GA) subeenheden. De potentie van *Aspergillus niger* om van nature grote hoeveelheden pectinasen uit te scheiden om pectine af te breken, is gebruikt voor de industriële productie van pectinasen. Industrieel geproduceerde pectinasen van *A. niger* worden vervolgens voornamelijk gebruikt in de voedingsmiddelenindustrie en voor de hydrolyse van plantaardige biomassa om hernieuwbare energie te produceren. In dit proefschrift is de transcriptionele activator GaaR geïdentificeerd, die vereist is voor de expressie van de genen die coderen voor verschillende pectinasen, (vermoedelijke) GA transporters en de GA katabole pathway enzymen (Hoofdstuk 3). De $\Delta gaaR$ stam kan niet groeien op GA of PGA, maar vertoont restgroei op pectine, hetgeen aangeeft dat deletie van *gaaR* geen invloed heeft op het gebruik van andere monomere koolstofbronnen dan GA die aanwezig zijn in pectine. Transcriptome analyse van de $\Delta gaaR$ stam op pectine bevestigde dat de $\Delta gaaR$ stam nog steeds verschillende enzymen tot expressie brengt die voornamelijk werken op de zijketens van rhamnogalacturonan I. Metaboliet analyse van de GA katabole pathway deletie-mutanten resulteerde in de identificatie van 2-keto-3-deoxy-L-galactonaat als metaboliet dat accumuleert in de $\Delta gaaC$ mutant. Expressie analyse heeft laten zien dat de accumulatie van 2-keto-3-deoxy-L-galactonaat in de $\Delta gaaC$ mutant leidt tot hyperinductie van GA-reagerende genen wat impliceert dat 2-keto-3-deoxy-L-galactonaat de fysiologische inducer is van de GA-reagerende genen (Hoofdstuk 5).

Genoom sequencing van verschillende mutanten die constitutieve expressie van pectinasen vertoonden resulteerde in de identificatie van het repressor eiwit (GaaX) dat waarschijnlijk de transcriptionele activiteit van GaaR remt via eiwit-eiwit interactie onder niet-inducerende omstandigheden (Hoofdstuk 4). Eén mutant met constitutieve expressie van pectinasen bevatte de W361R mutatie in GaaR, wat aangeeft dat W361 belangrijk is voor de juiste interactie van GaaX en GaaR onder niet-inducerende omstandigheden (Hoofdstuk 7).

Overexpressie van *gaaR* via de sterke constitutieve *A. nidulans gpdA* promotor bracht de constitutieve expressie van pectinasen teweeg, en leverde verder bewijs dat GaaR actief is, zolang het niet door GaaX wordt geïnactiveerd. Dit suggereert dat in de aanwezigheid van de inducer, deze zich bindt aan GaaX, wat resulteert in een GaaX-ongebonden en actieve vorm van GaaR. Deletie van de belangrijkste repressor betrokken bij koolstof katabolietrepressie, *creA*, verhoogde de constitutieve expressie pectinasen in de *OegaaR* stam (Hoofdstuk 6).

Constitutieve expressie van enzymen zoals pectinasen komt vooral het gebruik van goedkope en hernieuwbare plantenbiomassa als grondstof voor schimmelfermentatie ten goede. Dit proefschrift bevat ook een hoofdstuk waarin de benaderingen voor het moduleren van de transcriptionele regulatie worden beschreven om de productie plantenbiomassa afbrekende enzymen in filamenteuze schimmels te verbeteren of constitutief tot expressie te laten komen (Hoofdstuk 2). Deze benaderingen omvatten accumulatie van de inducer, het uitschakelen van de koolstofbron-specifieke repressor eiwitten, constitutieve activatie en overexpressie van de transcriptionele activator en het elimineren van koolstof katabolietrepressie. Al deze benaderingen zijn met succes

geïmplementeerd in dit proefschrift om de productie pectinases in *A. niger* te verhogen en/of deze enzymen constitutief tot expressie te brengen.