

Abstract

Project Code: MRG6180002

Project Title: Metabolic responses of *Aspergillus niger* ES4 to ethanol stress and effects on ethanol tolerance

Investigator:

Asst. Prof. Dr. Nawaporn Vinayavekhin Department of Chemistry, Faculty of Science, CU

Asst. Prof. Dr. Jittra Piapukiew Department of Botany, Faculty of Science, CU

Asst. Prof. Dr. Warinthorn Chavasiri Department of Chemistry, Faculty of Science, CU

E-mail Address: nawaporn.v@chula.ac.th

Project Period: May 2, 2018 – May 1, 2020

Abstract:

The knowledge of how *Aspergillus niger* responds to ethanol can lead to the design of strains with enhanced ethanol tolerance to be utilized in numerous industrial bioprocesses. However, the current understanding about the response mechanisms of *A. niger* toward ethanol stress remains quite limited. Here, we first applied a cell growth assay to test the ethanol tolerance of *A. niger* strain ES4, which was isolated from the wall near a chimney of an ethanol tank of a petroleum company, and found that it was capable of growing in 5% (v/v) ethanol to 30% of the ethanol-free control level. Subsequently, the metabolic responses of this strain toward ethanol were investigated using untargeted metabolomics, which revealed the elevated levels of triacylglycerol (TAG) in the extracellular components, and of diacylglycerol, TAG and hydroxy-TAG in the intracellular components. Lastly, stable isotope labelling mass spectrometry with ethanol- d_6 showed altered isotopic patterns of molecular ions of lipids in the ethanol- d_6 samples, compared to the non-labelled ethanol controls, suggesting the ability of *A. niger* ES4 to utilize ethanol as a carbon source. Together, the studies revealed the upregulation of glycerolipid metabolism and ethanol utilization pathway as novel response mechanisms of *A. niger* ES4 toward ethanol stress, thereby underlining the utility of untargeted metabolomics and the overall approaches as tools for elucidating new biological insights.

(Most contents presented in this report were adapted from the published article; the final publication is available at Wiley Online Library via <https://doi.org/10.1002/mbo3.948>.)

Keywords: *Aspergillus niger*, ethanol response, ethanol utilization pathway, glycerolipid metabolism, metabolomics

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG6180002

ชื่อโครงการ: การตอบสนองทางเมแทบอลิซึมของ *Aspergillus niger* ES4 ต่อความเครียดจากเอทานอลและผลต่อความทนทานต่อเอทานอล

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน:

ผศ. ดร.นภาพร วินยเวทิน

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผศ. ดร.จิตรตรา เพ็ญเขียว

ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผศ. ดร.วรินทร์ ชวศิริ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อีเมล: nawaporn.v@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 พฤษภาคม 2561 – 1 พฤษภาคม 2563

บทคัดย่อ:

ความรู้เกี่ยวกับกลไกที่ *Aspergillus niger* ตอบสนองต่อเอทานอลสามารถนำไปสู่การออกแบบสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อเอทานอลสูงขึ้น เพื่อใช้ในชีวกระบวนการในภาคอุตสาหกรรมหลากหลาย อย่างไรก็ตามความเข้าใจในปัจจุบันเกี่ยวกับกลไกการตอบสนองของ *A. niger* ต่อความเครียดจากเอทานอลยังมีอยู่ค่อนข้างจำกัด ในที่นี้ คณะวิจัยเริ่มด้วยการประยุกต์ใช้การทดสอบการเจริญเติบโตของเซลล์เพื่อทดสอบความทนทานต่อเอทานอลของ *A. niger* สายพันธุ์ ES4 ซึ่งแยกมาจากผนังใกล้เคียงปล่อยไอของถังเอทานอลของบริษัทปิโตรเลียมบริษัทหนึ่ง และพบว่า *A. niger* ES4 สามารถเจริญเติบโตได้ในเอทานอลความเข้มข้น 5% (v/v) ได้ถึง 30% ของระดับของชุดควบคุมที่ไม่มีเอทานอล จากนั้น สืบสวนการตอบสนองทางเมตาบอลิซึมของสายพันธุ์นี้ต่อเอทานอลโดยใช้วิธีการเมตาบอลิซึมแบบไม่มีเป้าหมาย ซึ่งแสดงให้เห็นการเพิ่มขึ้นของระดับของไตรเอซิลกลีเซอรอล (TAG) ในส่วนประกอบนอกเซลล์ และของไดเอซิลกลีเซอรอล TAG และ ไฮดรอกซี-TAG ในส่วนประกอบในเซลล์ สุดท้าย การทดลองแมสสเปกโตรเมตรีโดยการติดฉลากไอโซโทปเสถียรแสดงให้เห็นรูปแบบไอโซโทปที่เปลี่ยนไปของไอออนโมเลกุลของไขมันในตัวอย่างที่ใส่ ethanol- d_6 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลที่ไม่ติดฉลาก ซึ่งบ่งชี้ถึงความสามารถของ *A. niger* ES4 ในการใช้เอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อรวมกัน ผลการศึกษาเปิดเผยถึงการเพิ่มขึ้นของการควบคุมวิถีเมตาบอลิซึมของกลีเซอรอลิพิดและวิถีของการใช้เอทานอล ซึ่งเป็นกลไกการตอบสนองของ *A. niger* ES4 ต่อความเครียดจากเอทานอลในรูปแบบใหม่ แสดงถึงการเน้นความสำคัญของการใช้ประโยชน์ของเมตาบอลิซึมแบบไม่มีเป้าหมายและวิธีการทั้งหมดสำหรับใช้เป็นเครื่องมือทำความเข้าใจทางชีววิทยาอย่างลึกซึ้ง

คำหลัก: *Aspergillus niger*, การตอบสนองต่อเอทานอล, วิถีการใช้เอทานอล, วิถีเมตาบอลิซึมของกลีเซอรอลิพิด, เมตาบอลิซึม