

El = O; X = Cl, Br, OCOR; R = (Perfluor) Organogruppe;

El = S; X = Cl, R = C₆H₅;

R¹ = *p*-CH₃C₆H₄, *p*-(CH₃)₂NC₆H₄; X = Cl, *p*-OSO₂C₆H₄CH₃

Lewis-Base, zu den Derivaten (7) bzw. (7a) reagieren, wobei der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die heterolytische Spaltung ist.

In präparativer Hinsicht interessant sind die überraschende Stabilität des Thiobenzoyliumions und die völlig neuartigen, polymeren Tetracarbonylthiobenzoylmangan-Verbindungen. Thioacylhalogenide scheinen – wie ihr Verhalten gegenüber Organometall-Lewis-Basen gezeigt hat – reaktionsfreudiger als andere Säurehalogenide zu sein.

Meinen Mitarbeitern Herren Dr. H. Kranz, Dr. H. Weber, Dr. G. Vitzthum, Dipl.-Chem. H.-G. Karmann, Dipl.-Chem. U. Kunze, Dipl.-Chem. H.-D. Ebert und Dipl.-Chem. K.-M. Matejcek, die entscheidenden Anteil an diesen Untersuchungen gehabt haben, sowie den Herren H. Schieß, R. Lehner und H. Scheer, die ebenfalls wertvolle Beiträge geleistet haben, möchte ich herzlich danken. Herrn Professor Dr.-Ing. H. Behrens gilt mein aufrichtiger Dank für das Interesse an dieser Arbeit und deren großzügige Förderung. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie, Fonds der Chemischen Industrie, spreche ich für die finanzielle Unterstützung ebenfalls meinen verbindlichsten Dank aus.

Eingegangen am 29. Januar 1969 [A 741]

Wege der Energiegewinnung in Anaerobiern^[**]

Von K. Decker, K. Jungermann und R. K. Thauer^[*]

Biologische Redoxprozesse sind nötig zur Synthese „energiereicher“ Verbindungen, die mit dem universellen Energieträger Adenosinriphosphat (ATP) in enzymgesteuerter Wechselwirkung stehen. Die grundlegenden Chemismen biologischer Energietransformation sind Substratstufen- (SSP) und Elektronentransport-Phosphorylierungen (ETP). Im anaeroben Stoffwechsel werden die zahlreichen verwertbaren Nahrungsstoffe nur wenigen Substratstufen-Phosphorylierungen zugeführt; es ist fraglich, ob es in chemotrophen Anaerobiern eine mit Elektronentransport gekoppelte Energiekonservierung gibt. Zur Lösung dieses Problems scheint zur Zeit die Bestimmung des ATP-Umsatzes (Y_{ATP}) in wachsenden Zellen die aussichtsreichste Methode zu sein. Die derzeitigen Kenntnisse über sauerstoffabhängige Enzymreaktionen und ihre molekulare Evolution liefern Ansatzpunkte einer biochemischen Definition aerober und anaerober Organismen.

1. Einleitung

Die biologische Energiegewinnung sollte nach Lavoisier an Oxidationsreaktionen mit Luftsauerstoff gebunden sein; über ein Jahrhundert lang beherrschte diese Auffassung die Naturwissenschaften^[1]. Heute weiß man, daß vor ca. 3·10⁹ Jahren, als die ersten Lebewesen auf

der Erde entstanden^[2], die Energiegewinnung durch Verbrennungsreaktionen keine Rolle spielen konnte, da die Erde noch von einer sauerstofffreien, reduzierenden Atmosphäre umgeben war^[2,3]. Die ersten lebenden Organismen waren deshalb höchstwahrscheinlich Anaerobier.

„Leben ohne Sauerstoff“ gibt es auch heute noch auf der Erde; es findet sich dort, wo Fäulnisprozesse oder übergroßer Sauerstoffverbrauch aerober Zellen sauerstoffarme Nischen schaffen. Dieses anaerobe Leben wird entweder durch die Strahlungsenergie der Sonne

[*] Prof. Dr. K. Decker, Dr. K. Jungermann und Dr. R. K. Thauer, Biochemisches Institut der Universität 78 Freiburg, Hermann-Herder-Straße 7

[**] Nach einem Vortrag vor dem GDCh-Ortsverband Freiburg-Südbaden, am 2. Februar 1968 in Freiburg/Breisgau.

[1] A. P. Lavoisier u. P. S. de Laplace 1784: Oeuvres de Lavoisier. Band II, Paris 1864–1893; J. Loeb: Vorlesungen über die Dynamik des Lebens. Barth, Leipzig 1906, S. 30.

[2] D. H. Welte, Naturwissenschaften 57, 17 (1970).

[3] H. Urey: The Planets, their Origin and Development. Yale University Press, New Haven 1952.

(Phototrophie) oder durch die chemische Energie sauerstoffunabhängiger Reaktionen (Chemotrophie) unterhalten. Es gibt Gründe für die Annahme, daß der photosynthetische Apparat eine relativ späte Errungenschaft der Anaerobier ist und daß ursprünglich der chemotrophe Stoffwechsel die Energie bereitstellte. Somit gewinnt das Studium der strikten Anaerobier auch unter dem Aspekt der Evolution der Zellchemien besonderes Interesse.

In diesem Aufsatz wird zunächst das Prinzip biologischer Energietransformation beschrieben. Bei der sehr großen Zahl potentieller Nahrungsstoffe ist es wenig sinnvoll, hier alle bisher bekannten Wege der Substratverwertung in Anaerobiern zu diskutieren. Es soll vielmehr an einigen erst kürzlich aufgeklärten Beispielen gezeigt werden, wie die Vielzahl der Substrate (Kohlenhydrate, Aminosäuren) einigen wenigen Substratstufen-Phosphorylierungs-Reaktionen zugeführt wird. Da Elektronentransport-Phosphorylierungen bisher nur in chemotrophen aeroben (Atmungskette^[6]) oder in phototrophen Zellen^[9] mit Sicherheit nachgewiesen worden sind, ist die Frage, ob sie auch im chemotrophen anaeroben Stoffwechsel verwirklicht sein können, zur Zeit von größtem Interesse. Sie ist daher auch ein wesentlicher Gegenstand der folgenden Ausführungen.

Weiterhin soll die Bedeutung von Wachstumsertragsmessungen für die Bestimmung des in-vivo-ATP-Umsatzes und damit für das Verständnis der Zusammenhänge zwischen Gesamtstoffwechsel und Zellwachstum besprochen werden. Abschließend wird die molekulare Evolution biologischer Energietransformation und damit die Stellung der Anaerobier in der Phylogenie diskutiert. Dabei wird versucht, der physiologischen Definition anaerober Organismen und ihrer Abgrenzung gegenüber fakultativ und obligat aeroben Zellen eine biochemische Grundlage zu geben.

2. Biologische Energietransformation

Der Gesamtstoffwechsel lebender Zellen bildet ein offenes System, das durch ständigen Zu- und Abfluß von Materie und Energie gekennzeichnet ist und dessen chemische Reaktionsketten sich im Fließgleichgewicht befinden. Er kann funktionell untergliedert werden in den Energiestoffwechsel (Katabolismus), der den molekularen Energieträger Adenosintriphosphat (ATP) bereitstellt, und den Baustoffwechsel (Anabolismus), der ATP-Energie – z. B. für Monomersynthesen, Polymerisationen und aktiven Transport – verbraucht (Abb. 1).

Der Energiestoffwechsel ist ein exergones System elektronenabgebender und -aufnehmender Reaktionen oder Reaktionsketten, die durch Elektronenträger gekoppelt sind. Der abgebende Teilprozeß umfaßt den Elektronenfluß vom Donorsubstrat bis zum ersten Elektronenträger (meist NAD); als aufnehmender Teil wird der Weg vom ersten Elektronenträger zum endgültigen Acceptor verstanden.

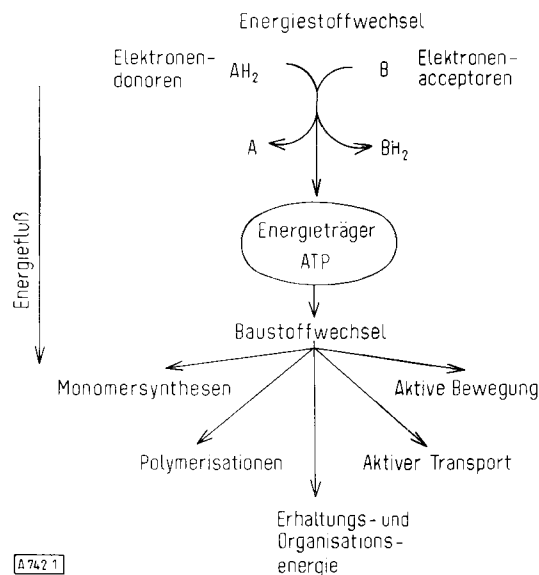
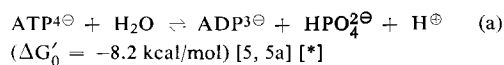


Abb. 1. Der Energiefluß im Stoffwechsel.

Der für den Chemismus der Zelle nutzbare Anteil der Gesamtenergie, welche bei den Redoxprozessen frei wird, liegt zunächst in Form „energiereicher“ Verbindungen^[4] vor. Diese stehen mit dem ATP-System



in enzymgesteuerter Wechselwirkung.

Die Energiekonservierung über das ATP*-System^[**] erfolgt auf zweierlei Weise: *Substratstufen-Phosphorylierungen* (SSP) übersetzen die Freie Hydrolysenenthalpie (das „Gruppenpotential“)^[4] einer „energiereichen“ chemischen Bindung in eine Pyrophosphatbindung von ATP, sie finden im elektronenliefernden Teil des Gesamtprozesses statt. *Elektronentransport-Phosphorylierungen*^[6,7,7a] (ETP) wandeln die elektrochemische Potentialdifferenz zweier Redoxpartner im elektronenaufnehmenden Teil des Energiestoffwechsels in eine „energiereiche“ (Pyrophosphat-) Bindung um (s. Tabelle 1).

Erst die vollständige Aufklärung der Elektronentransport-Phosphorylierung wird zeigen, ob eine Abgrenzung gegenüber der Substratstufen-Phosphorylierung mechanistisch gerechtfertigt ist. Gegenwärtige Vorstellungen^[6] sprechen dafür, daß Elektronentransport-Phosphorylierungen wesentlich mit physikalischen Prozessen (Ionengradienten, Membranpotentiale) an partikulären Zellelementen verbunden sind, während Substratstufen-Phosphorylierungen durch lösliche Enzyme katalysierte chemische Prozesse darstellen.

[4] F. Lipmann, *Advances in Enzymol.* 1, 99 (1941).

[5] K. Burton, *Ergebn. Physiol., biol. Chem. expt. Pharmacol.* 49, 275 (1957).

[5a] R. C. Phillips, P. George u. R. J. Rutman, *J. biol. Chemistry* 244, 3330 (1969); R. A. Alberty, *ibid.* 244, 3290 (1969).

[*] $\Delta G'_0 \equiv \Delta G_0$ bei pH = 7 (alle anderen Reaktionspartner 1 mol/l, 25 °C).

[**] Das Symbol ATP* wird verwendet, wenn nur der Umsatz oder die Freie Hydrolysenenthalpie der β, γ -Pyrophosphatbindung des Adenosintriphosphats gemeint sind.

[6] G. Schatz, *Angew. Chem.* 79, 1088 (1967); *Angew. Chem. internat. Edit.* 6, 1035 (1967).

[7] M. E. Pullman u. G. Schatz, *Annu. Rev. Biochem.* 36, 539 (1967).

[7a] H. A. Lardy u. S. M. Ferguson, *Annu. Rev. Biochem.* 38, 991 (1969).

Tabelle 1. Beispiele zum Energiestoffwechsel als System gekoppelter Dehydrierungen und Hydrierungen [a].

		Elektronenabgabe (Dehydrierung)	Elektronenaufnahme (Hydrierung)	$\Delta G'_0$ (kcal/Reakt.) [b]
Chemotrophie [c]	Fermentation	Glucose $\xrightarrow{\text{ATP (SSP)}}$ 2 Pyruvat [⊖] + 2 H [⊕] + 4 [H]	4 [H] + 2 Pyruvat [⊖] \longrightarrow 2 Lactat [⊖]	~ 47.5
	Atmung	Glucose + 12 H ₂ O $\xrightarrow{\text{ATP (SSP)}}$ 6 HCO ₃ [⊖] + 6 H [⊕] + 24 [H]	24 [H] + 6 O ₂ $\xrightarrow{\text{ATP (ETP)}}$ 12 H ₂ O	~ 680.2
Phototrophie	Photosynthese	H ₂ O $\xrightarrow{h\nu}$ 1/2 O ₂ + 2 H [⊕] + 2 e [⊖]	2 e [⊖] + 2 H [⊕] $\xrightarrow{\text{ATP (ETP)}}$ 2 [H] (NCPP)	~ 56.7
		Chl $\xrightarrow{h\nu}$ Chl [⊕] + e [⊖]	e [⊖] + Chl [⊕] $\xrightarrow{\text{ATP (ETP)}}$ Chl (CPP)	0

[a] SSP = Substratstufen-Phosphorylierung. ETP = Elektronentransport-Phosphorylierung. NCPP, CPP = Nichtcyclische bzw. cyclische Photophosphorylierung. [b] Ohne ATP*-Bildung und ohne Strahlungsenergie; s. Tabelle 2 und 3. [c] Im angelsächsischen Sprachgebrauch werden Chemosynthese und Chemotrophie häufig synonym verwendet [8] und bezeichnen die biologische Energiegewinnung allein aus chemischen Reaktionen. Der Begriff Chemosynthese ist daher den Begriffen Fermentation und Atmung übergeordnet. Dagegen versteht man im deutschen Sprachgebrauch unter Chemosynthese nur die Energiegewinnung aus Redoxprozessen zwischen anorganischen Elektronendonoren und Elektronenacceptoren, insbesondere Sauerstoff. Chl = Chlorophyll.

2.1. Biologische Redoxprozesse

Die in der Natur ablaufenden Stoffwechselprozesse zeichnen sich durch die Vielfalt der Substrate aus, die der Energiegewinnung dienen können. Dies gilt vor allem für die Elektronendonoren, in erheblichem Umfang aber auch für die -acceptoren; sie können sowohl organischer als auch anorganischer Natur sein. Die formelle Aufteilung des Energiestoffwechsels in elektronenliefernde (Tabelle 2) und -aufnehmende (Tabelle 3) Teilreaktionen ermöglicht es, die Vielzahl der Stoffwechseltypen durch Kombination aus der wesentlich kleineren Zahl solcher Teilprozesse zusammenzustellen.

Donor- und Acceptorsysteme unterscheiden sich in der Art der Energiekonservierung. Donorprozesse sind nur mit Substratstufen-Phosphorylierung verbunden (Tabelle 1); sie sind prinzipiell für aerobe und anaerobe Organismen gleich. Bei den Elektronenacceptorprozessen bedienen sich Aerobier des Sauerstoffs als terminalem Oxidans, während Anaerobier sowohl organische (z.B. Pyruvat, Crotonat, Acetaldehyd) als auch anorganische (z.B. H[⊕], HCO₃[⊖], SO₄^{2⊖})* Elektronenacceptoren verwenden.

Die Hydrierung von Sauerstoff in der Atmungskette ist mit einer sehr wirkungsvollen Art der ATP-Synthese (ETP) verbunden. Die Reduktion der anaeroben Elektronenacceptoren scheint dagegen keine ATP-Synthese durch ETP zu erlauben; nur wenige Elektronenacceptoren haben dafür ein genügend positives Redoxpotential (Tabelle 5).

[8] R. Y. Stanier, M. Doudoroff u. E. A. Adelberg: General Microbiology. MacMillan, London 1963, S. 292.

[9] G. Hind u. J. M. Olson, Annu. Rev. Plant Physiol. 19, 249 (1968); N. Pfennig, Annu. Rev. Microbiol. 21, 285 (1967); H. Gest, A. San Pietro u. L. P. Vernon: Bacterial Photosynthesis. The Antioch Press, Yellow Springs/Ohio, USA, 1963.

Auch Protonen können als Elektronenacceptoren wirken [Gl. (113), Tabelle 3], wobei sie in Wasserstoff übergehen. Dadurch wird zwar einerseits die Zahl der anaerob möglichen Elektronendonorprozesse vergrößert, da nun bei jeder Dehydrierung die Elektronen über das Hydrogenasesystem entfernt werden können, andererseits muß dieser Vorteil mit einem hohen thermodynamischen Preis erkaufte werden: Die endergone Wasserstoffbildung [Gl. (113)] benötigt 4.6 kcal/mol, die vom exergonen, dehydrierenden Teilprozeß zusätzlich bereitgestellt werden müssen. Wasserstoffbildung als einzige elektronenaufnehmende Reaktion eines Energiestoffwechsels ist noch nie beobachtet worden.

Auch für die elektronenliefernden Prozesse ergeben sich aus der Anaerobiose Einschränkungen. So kommen gesättigte Carbonsäuren aus energetischen Gründen kaum als Donorsubstrate in Frage, da ihre Dehydrierung [Tabelle 2, Gl. (8) und (9)] so stark endergon ist, daß eine Kopplung mit anaeroben Acceptorprozessen bei gleichzeitiger ATP*-Synthese kaum möglich erscheint (s. dazu jedoch [16, 17]). Ebenso können unter

[10] E. R. Stadtman in N. O. Kaplan u. E. P. Kennedy: Current Aspects of Biochemical Energetics. Academic Press, New York 1966, S. 39.

[11] J. G. Hauge, J. Amer. chem. Soc. 78, 5266 (1956).

[12] H. R. Mahler u. E. H. Cordes: Biological Chemistry. Harper & Row, London 1967, S. 207, 411.

[13] Landolt-Börnstein: Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik. Bd. II, Teil 7 II, S. 752, Springer, Berlin 1960.

[14] J. R. Postgate, Bacteriol. Rev. 29, 425 (1965).

[*] Nitrat und Nitrit sollen in diesem Zusammenhang nicht als typische anaerobe Acceptorsubstrate angesehen werden, da sie wahrscheinlich erdgeschichtlich erst nach dem Auftreten von Sauerstoff entstanden sind [15].

[15] A. Nason, Bacteriol. Rev. 26, 16 (1962).

[16] T. C. Stadtman u. H. A. Barker, J. Bacteriol. 61, 67 (1951).

[17] T. C. Stadtman u. H. A. Barker, J. Bacteriol. 61, 81 (1951).

Tabelle 2. Dehydrierungen. — Elektronenabgebende, formell wasserstoffbildende Teilprozesse des Energiestoffwechsels.

Gl.-Nr.	Substrate	Produkte	$\Delta G'_0$ (kcal/ mol H_2) [a]	Bildung ATP/ Reakt. (SSP)	$\Delta G'_0$ (kcal/ Reakt.) [a]	Weg [b]	Lit.
1. Carbonsäuren							
(1)	Acetat [⊖] + 4 H ₂ O (Citratcyclus)	2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 4 H ₂	+ 6.4	0	+25.5		[5]
(2)	2 Acetat [⊖] + 2 H ₂ O (Glyoxylatcyclus)	1 HCO ₃ [⊖] + Pyruvat [⊖] + 3 H ₂	+12.6	−2	+37.7		[5]
(3)	Acetat [⊖] + H ₂ O	1 HCO ₃ [⊖] + CH ₄			− 6.8		[5]
(4)	Propionat [⊖] + 3 H ₂ O	1 HCO ₃ [⊖] + Acetat [⊖] + H [⊕] + 3 H ₂	+ 5.9	1	+17.8		[10]
(5)	Propionat [⊖] + 7 H ₂ O	3 HCO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 7 H ₂	+ 6.2	0	+43.3	CC/OD	[10]
(6)	Butyrat [⊖] + 10 H ₂ O	4 HCO ₃ [⊖] + 3 H [⊕] + 10 H ₂	+ 6.1	1	+61.3	CC	[5]
(7)	Succinat [⊖] + 8 H ₂ O	4 HCO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 7 H ₂	+ 5.4	1	+38.1	CC/OD	[5]
(8)	Butyrat [⊖] + 2 H ₂ O	2 Acetat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	+ 5.0	1	+10.1	BO	[5]
(9)	Capronat [⊖] + 4 H ₂ O	3 Acetat [⊖] + 2 H [⊕] + 4 H ₂	+ 5.0	2	+20.2	BO	[c]
2. α-Ketocarbonsäuren							
(10)	Pyruvat [⊖] + 2 H ₂ O	Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + H ₂	−12.1	1	−12.1	OD	[5]
(11)	Pyruvat [⊖] + 6 H ₂ O	3 HCO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 5 H ₂	+ 2.7	1	+13.5	OD/CC	[5]
(12)	Glyoxylat [⊖] + 2 H ₂ O	Formiat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + H ₂	− 8.3	1	− 8.3	OD	[5]
(13)	Glyoxylat [⊖] + 3 H ₂ O (Dicarbonsäurecyclus)	2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 4.1	1	− 8.2	OD	[5]
(14)	α-Ketobutytrat [⊖] + 2 H ₂ O	Propionat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + H ₂	−12.1	1	−12.1	OD	[d]
(15)	α-Ketoglutarat ^{2⊖} + 2 H ₂ O	Succinat ^{2⊖} + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + H ₂	−10.9	1	−10.9	OD	[5]
(16)	Oxalacetat ^{2⊖} + 3 H ₂ O	Acetat [⊖] + 2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + H ₂	−18.6	1	−18.6	OD	[5]
3. α,β-Ungesättigte Carbonsäuren, Hydroxycarbonsäuren							
(17)	Lactat [⊖] + 2 H ₂ O	Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 0.9	1	− 1.8	OD	[5]
(18)	Malat ^{2⊖} + 3 H ₂ O	Acetat [⊖] + 2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 3.6	1	− 7.2	OD	[5]
(19)	Citrat ^{3⊖} + 3 H ₂ O	Succinat ^{2⊖} + 2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 2.9	1	− 5.8	CC	[5]
(20)	Isocitrat ^{3⊖} + 3 H ₂ O	Succinat ^{2⊖} + 2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 3.7	1	− 7.4	CC	[5]
(21)	β-Hydroxybutyrat [⊖] + H ₂ O	2 Acetat [⊖] + H [⊕] + H ₂	− 9.9	1	− 9.9	BO	[5]
(22)	Crotonat [⊖] + 2 H ₂ O	2 Acetat [⊖] + H [⊕] + H ₂	− 8.1	1	− 8.1	BO	[e]
(23)	Acrylat [⊖] + 3 H ₂ O	Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 0.2	1	− 0.4	OD	[f]
(24)	Fumarat ^{2⊖} + 4 H ₂ O	Acetat [⊖] + 2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 4.0	1	− 8.0	CC/OD	[5]
(25)	Glykolat [⊖] + 2 H ₂ O	Formiat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	+ 3.3	1	+ 6.6	OD	[5]
4. Aldehyde (Aldosen, Ketosen)							
(26)	Formaldehyd + H ₂ O	Formiat [⊖] + H [⊕] + H ₂	− 5.5	1	− 5.5		[5]
(27)	Acetaldehyd + H ₂ O	Acetat [⊖] + H [⊕] + H ₂	− 8.5	1	− 8.5		[5]
(28)	Glycerinaldehyd + H ₂ O	Glycerat [⊖] + H [⊕] + H ₂	− 8.9	1	− 8.9	EM	[g]
(29)	Glycerinaldehyd	Pyruvat [⊖] + H [⊕] + H ₂	−15.5	1	−15.5	EM	[h]
(30)	Glycerinaldehyd + 2 H ₂ O	Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 2 H ₂	−13.3	2	−26.6	EM/OD	[h]
(31)	Glycerinaldehyd + 6 H ₂ O	3 HCO ₃ [⊖] + 3 H [⊕] + 6 H ₂	− 0.3	2	− 1.9	EM/CC	[h]
(32)	3 Ribose	5 Pyruvat [⊖] + 5 H [⊕] + 5 H ₂	−13.6	5	−67.8	TT/EM	[h]
(33)	Ribose	Acetat [⊖] + Pyruvat [⊖] + 2 H [⊕] + H ₂	−39.1	2	−39.1	PK	[h]
(34)	Glucose	2 Pyruvat [⊖] + 2 H [⊕] + 2 H ₂	−13.4	2	−26.8	EM	[h]
(35)	Glucose + 4 H ₂ O	2 Acetat [⊖] + 2 HCO ₃ [⊖] + 4 H [⊕] + 4 H ₂	−12.8	4	−51.0	EM/OD	[h]
(36)	Glucose + 2 H ₂ O	Acetat [⊖] + Pyruvat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + 3 H [⊕] + 3 H ₂	−13.0	2	−39.0	PK/EM	[h]
(37)	Glucose + 12 H ₂ O	6 HCO ₃ [⊖] + 6 H [⊕] + 12 H ₂	0	4	+ 0.3	EM/CC	[5]
(38)	3 Heptose	7 Pyruvat [⊖] + 7 H [⊕] + 7 H ₂	−13.1	7	−91.8	TT/EM	[h]
(39)	Gluconat [⊖] + H ₂ O	Acetat [⊖] + Pyruvat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 2 H ₂	−15.1	2	−30.3	PK/EM	[h]
(40)	Gluconat [⊖]	2 Pyruvat [⊖] + H [⊕] + H ₂ + H ₂ O	−18.2	1	−18.2	ED	[h]
(41)	3 Gluconat [⊖] + 3 H ₂ O	5 Pyruvat [⊖] + 3 HCO ₃ [⊖] + 5 H [⊕] + 8 H ₂	− 5.1	5	−42.0	TT/EM	[h]
(42)	6 Gluconat [⊖] [3 × Gl. (37) + (38)]	11 Pyruvat [⊖] + 3 HCO ₃ [⊖] + 8 H [⊕] + 11 H ₂	− 8.7	8	−95.6		[h]
5. Alkohole							
(43)	Methanol + H ₂ O	Formiat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	+ 2.6	1	+ 5.2		[5]
(44)	Methanol + 2 H ₂ O	HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 3 H ₂	+ 1.8	1	+ 5.4		[5]
(45)	Äthanol + H ₂ O	Acetat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	+ 0.8	1	+ 1.5		[5]
(46)	Äthylenglykol	Acetat [⊖] + H [⊕] + H ₂	−19.6	1	−19.6		[10]
(47)	Glycerin	Pyruvat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	− 3.1	1	− 6.3	EM	[5]
(48)	Glycerin + 2 H ₂ O	Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 3 H ₂	− 6.1	2	−18.4	EM/OD	[5]
6. Aminosäuren							
(49)	2 Glycin + 4 H ₂ O	Acetat [⊖] + 2 HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + 2 NH ₄ [⊕] + 2 H ₂	− 6.0	1	−12.0	OD	[5]
(50)	Glutamat [⊖] + 3 H ₂ O	2 Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + NH ₄ [⊕] + H ₂	−10.9	1	−10.9	OD	[5]
(51)	Alanin + 3 H ₂ O	Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + NH ₄ [⊕] + 2 H ₂	+ 0.5	1	+ 1.0	St	[5]
(52)	Leucin + 3 H ₂ O	Isovalerat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H [⊕] + NH ₄ [⊕] + 2 H ₂	+ 0.5	1	+ 1.0	St	[i]
(53)	Cholin [⊕] + H ₂ O	Acetat [⊖] + H [⊕] + (CH ₃) ₃ NH [⊕] + H ₂		1			
7. Sulfonium-Verbindungen							
(54)	Propiothetin + 3 H ₂ O	Acetat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + (CH ₃) ₂ S + 2 H ₂	− 5.1	1	−10.1	OD	[10]

Gl.-Nr.	Substrate	Produkte	$\Delta G'_0$ (kcal/ mol H ₂) [a]	Bildung ATP/ Reakt. (SSP)	$\Delta G'_0$ (kcal/ Reakt.) [a]	Weg [b]	Lit.
8. Anorganische Elektronendonoren							
(55)	2 NH ₄ ⁺	N ₂ + 2 H ⁺ + 3 H ₂	+ 6.3	0	+ 18.9		[5]
(56)	NH ₄ ⁺ + 2 H ₂ O	NO ₂ ⁻ + 2 H ⁺ + 3 H ₂	+35.0	0	+105.0		[5]
(57)	NH ₄ ⁺ + 3 H ₂ O	NO ₃ ⁻ + 2 H ⁺ + 4 H ₂	+35.9	0	+143.5		[5]
(58)	NO ₂ ⁻ + H ₂ O	NO ₃ ⁻ + H ₂	+38.6	0	+ 38.6		[5]
(59)	H ₂ S	S + H ₂	+ 6.6	0	+ 6.6		[5]
(60)	H ₂ S + 4 H ₂ O	SO ₄ ²⁻ + 2 H ⁺ + 4 H ₂	+ 9.2	0	+ 36.9		[5]
(61)	S + 4 H ₂ O	SO ₄ ²⁻ + 2 H ⁺ + 3 H ₂	+10.1	0	+ 30.3		[5]
(62)	S ₂ O ₃ ²⁻ + 5 H ₂ O	2 SO ₄ ²⁻ + 5 H ₂	+10.3	0	+ 51.5		[5]
(63)	S ₂ O ₃ ²⁻ + 3 H ₂ O	2 SO ₃ ²⁻ + 3 H ₂	+18.4	0	+ 55.2		[5]
(64)	2 Fe ²⁺ + 2 H ⁺	2 Fe ³⁺ + H ₂	+54.8	0	+ 54.8		[13]

[a] Die $\Delta G'_0$ -Werte wurden aus den $\Delta G_0(f)$ -Werten berechnet und auf eine Dezimale auf- oder abgerundet. In den $\Delta G'_0$ -Werten sind Bildung oder Verbrauch von ATP* nicht enthalten. [b] EM = Embden-Meyerhof-Weg; OD = Oxidative Decarboxylierung; CC = Citratcyclus; BO = Fettsäuren- β -Oxidation; ED = Entner-Doudoroff-Weg; PK = Phosphoketolase-Weg; TT = Transaldolase-Transketolase-Weg; St = Stickland-Reaktion. [c] Berechnet analog Gl. (8). [d] Berechnet analog Gl. (10). [e] $\Delta G_0(f)$ von Crotonat = -66.1 kcal/mol, berechnet aus $\Delta G_0(f)$ von Butyrat [5] und E_0 von Butyrat/Crotonat [11]. [f] $\Delta G_0(f)$ von Acrylat = -68.4 kcal/mol, berechnet aus Gl. (92) und $\Delta G_0(f)$ von Propionat [10]. [g] Berechnet analog zu Glycerinaldehyd-3-P/3-P-Glycerat [12]. [h] Berechnet aus den $\Delta G_0(f)$ -Werten (kcal/mol) folgender Gruppen: -COO⁻, -86.5; -CHO, -31.0; >CHOH, -37.0; -CH₂OH, -40.5; >CH₂, +1.2; -CH₃, -2.9. [i] Berechnet analog Gl. (51).

anaeroben Bedingungen die dehydrierenden Cyclen [s. Tabelle 2, Gl. (1), (2) und (13)] nicht als Energielieferanten dienen. Der endergone Citratcyclus erlaubt außerdem pro C₂-Einheit (Acetat) keine Netto-ATP*-Synthese durch Substratstufen-Phosphorylierung. Ein über Acetat hinausgehender Abbau eines Substrats wird daher für die Energiegewinnung nur sinnvoll, wenn die Oxidation der im Cyclus entstehenden Reduktionsäquivalente mit einer Elektronentransport-Phosphorylierung verbunden werden kann. Dies läßt sich jedoch mit den bekannten anaeroben Acceptor-systemen nicht erreichen.

Sofern beim Energiestoffwechsel eines anaeroben Organismus kein Wasserstoff frei wird, muß die Wasserstoffbilanz intern ausgeglichen werden. Dadurch ergeben sich weitere Einschränkungen in den möglichen Stoffwechselwegen. Während aerobe Stoffwechselprozesse immer intermolekular sind, muß der anaerobe Energiestoffwechsel häufig intramolekular ablaufen. Bei intermolekularen Redoxprozessen sind der elektronenabgebende und der elektronenaufnehmende Teilabschnitt (Tabelle 1) nur über den Elektronenträger gekoppelt, während in den intramolekularen Redoxprozessen sowohl Elektronen-

träger als auch Elektronenacceptor als Kopplungsglied fungieren (Abb. 2). Dadurch verlieren die intramolekularen Redoxprozesse einen „Freiheitsgrad“; das Ausmaß der möglichen Dehydrierungen des Donorsubstrats und damit auch der ökonomische Wirkungsgrad sind dadurch eingeschränkt, daß die Wasserstoffbilanz über ein aus dem Donor entstehendes Zwischenprodukt (Produktkoppelung) ausgeglichen werden muß.

2.2. Energiereiche Verbindungen

Die bei den Redoxprozessen des Zellstoffwechsels gebildeten „energiereichen“ Verbindungen werden durch ihre Freien Hydrolysenenthalpien („Gruppenpotentiale“) charakterisiert, die im Bereich von 6–15 kcal/mol liegen. Als „energiereich“ im biochemischen Sinne müssen jedoch auch solche Verbindungen bezeichnet werden, bei denen nicht das Hydrolysen-, sondern das elektrochemische Potential (gegenüber einem entsprechenden Elektronenacceptor) die Bildung einer „energiereichen“ Pyrophosphatbindung bewirkt; dazu gehören Substanzen wie NAD(P)H, FADH₂, FMNH₂, gewisse Hydrochinone und reduzierte Cytochrome. Entscheidend ist stets, daß diese Verbindungen unter den gegebenen Bedingungen zur ATP*-Bildung dienen können, d.h. mit dem ATP-System in einem enzymatischen Gleichgewicht stehen. Die für Substratstufen-Phosphorylierungen im anaeroben Stoffwechsel bedeutungsvollen Substrate sind in Tabelle 4, die für Elektronentransport-Phosphorylierungen in Frage kommenden Systeme in Tabelle 5 zusammengestellt. Man erkennt – vor allem auch aus der Stoffwechselübersicht der Abbildung 3 – daß die vielfältigen Nährsubstrate, die in anaeroben Organismen zur Verfügung stehen, nur sechs bis acht Substratstufen-Phosphorylierungs-Schritten zugeführt werden können.

Viele anaerobe Mikroorganismen müssen die gesamte ATP*-Bildung durch eine einzige Substratstufen-Phos-

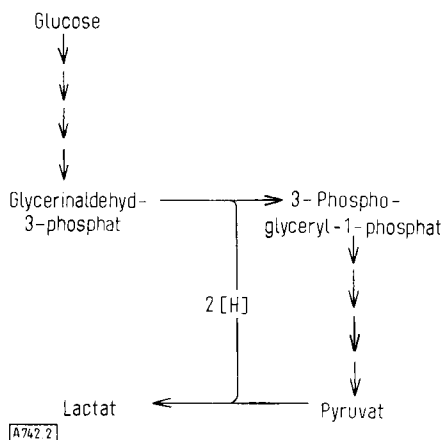


Abb. 2. Produktkoppelung bei der Glykolyse. Pyruvat als Produkt.

Tabelle 3. Hydrierungen. — Elektronenaufnehmende, formell wasserstoffverbrauchende Teilprozesse des Energiestoffwechsels.

Gl.-Nr.	Substrate	Produkte	$\Delta G'_0$ (kcal/mol H ₂) [a]	Bedarf ATP/ Reakt.	$\Delta G'_0$ (kcal/Reakt.) [a]	Lit.
1. Carbonsäuren						
(65)	Formiat [⊖] + H [⊕] + H ₂	Formaldehyd + H ₂ O	+ 5.5	1	+ 5.5	[5]
(66)	Formiat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	Methanol + H ₂ O	− 2.6	1	− 5.2	[5]
(67)	Formiat [⊖] + H [⊕] + 3 H ₂	Methan + 2 H ₂ O	−10.7	1 (?)	− 32.2	[5]
(68)	Acetat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	Äthanol + H ₂ O	− 0.8	1	− 1.5	[5]
(69)	2 Acetat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	Butyrat [⊖] + 2 H ₂ O	− 5.0	1	− 10.1	[5]
(70)	Acetat [⊖] + Propionat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	Valerat [⊖] + 2 H ₂ O	− 5.0	1	− 10.1	[b]
(71)	Acetat [⊖] + Butyrat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	Capronat [⊖] + 2 H ₂ O	− 5.0	1	− 10.1	[b]
(72)	Butyrat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	Butanol + H ₂ O	− 2.0	1	− 3.9	[5]
(73)	Propionat [⊖] + H [⊕] + 2 H ₂	Propanol + H ₂ O	− 1.2	1	− 2.5	[5, 10]
(74)	2 Acetat [⊖] + 2 H [⊕] + 2 H ₂	Acetoin + 2 H ₂ O	+ 6.3	2	+ 12.5	[c]
(75)	2 Acetat [⊖] + 2 H [⊕] + 3 H ₂	2,3-Butandiol + 2 H ₂ O	+ 2.0	2	+ 4.0	[c]
(76)	2 Acetat [⊖] + H [⊕]	Aceton + HCO ₃ [⊖]		1	+ 8.8	[5]
(77)	2 Acetat [⊖] + H [⊕] + H ₂	Isopropanol + HCO ₃ [⊖]	+ 2.8	1	+ 2.8	[5]
2. α-Ketocarbonsäuren						
(78)	Pyruvat [⊖] + H ₂	Lactat [⊖]	−10.3		− 10.3	[5]
(79)	Pyruvat [⊖] + H ₂ O + H ₂	Äthanol + HCO ₃ [⊖]	−13.6		− 13.6	[5]
(80)	Pyruvat [⊖] + H ₂	Acrylat [⊖] + H ₂ O	−11.7		− 11.7	[d]
(81)	Pyruvat [⊖] + 2 H ₂	Propionat [⊖] + H ₂ O	−15.0		− 29.9	[5, 10]
(82)	2 Pyruvat [⊖] + 2 H ₂ O + H ₂	2,3-Butandiol + 2 HCO ₃ [⊖]	−20.2		− 20.2	[c]
(83)	2 Pyruvat [⊖] + H ₂ O + 2 H ₂	2,3-Butandiol + HCO ₃ [⊖] + Formiat [⊖]	−10.2		− 20.4	[c]
(84)	2 Pyruvat [⊖] + H ₂ O + 2 H ₂	Butanol + 2 HCO ₃ [⊖]	−19.1		− 38.1	[5]
(85)	Pyruvat [⊖] + Acetat [⊖] + H ₂	Butyrat [⊖] + HCO ₃ [⊖]	−22.2		− 22.2	[5]
(86)	Pyruvat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H ₂	Malat ^{2⊖} + H ₂ O	− 5.0	1	− 5.0	[5]
(87)	Pyruvat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + H ₂	Fumarat ^{2⊖} + 2 H ₂ O	− 4.0	1	− 4.0	[5]
(88)	Pyruvat [⊖] + HCO ₃ [⊖] + 2 H ₂	Succinat ^{2⊖} + 2 H ₂ O	−12.3	1	− 24.6	[5]
(89)	α-Ketobutyrat [⊖] + 2 H ₂	Butyrat [⊖] + H ₂ O	−15.0		− 29.9	[e]
(90)	Oxalacetat [⊖] + 2 H ₂	Succinat ^{2⊖} + H ₂ O	−15.6		− 31.1	[5]
(91)	Acetacetat [⊖] + H ₂	β-Hydroxybutyrat [⊖]	− 6.9		− 6.9	[12]
3. α,β-Ungesättigte Carbonsäuren, Hydroxycarbonsäuren						
(92)	Acrylat [⊖] + H ₂	Propionat [⊖]	−18.2		− 18.2	[f]
(93)	Crotonat [⊖] + H ₂	Butyrat [⊖]	−18.2		− 18.2	[g]
(94)	Fumarat ^{2⊖} + H ₂	Succinat ^{2⊖}	−20.6		− 20.5	[5]
(95)	Lactat [⊖] + H ₂	Propionat [⊖] + H ₂ O	−19.6		− 19.6	[5, 10]
(96)	β-Hydroxybutyrat [⊖]	Butyrat [⊖] + H ₂ O	−20.0		− 20.0	[5]
(97)	Malat ^{2⊖} + H ₂	Succinat ^{2⊖} + H ₂ O	−19.7		− 19.7	[5]
(98)	Glykolat [⊖] + H ₂	Acetat [⊖] + H ₂ O	−18.8		− 18.8	[5]
(99)	Propiothetin + H ₂	Propionat [⊖] + H [⊕] + (CH ₃) ₂ S	−27.9		− 27.9	[10]
4. Aldehyde						
(100)	Formaldehyd + H ₂	Methanol	−10.7		− 10.7	[5]
(101)	Acetaldehyd + H ₂	Äthanol	−10.0		− 10.0	[5]
(102)	Aceton + H ₂	Isopropanol	− 5.9		− 5.9	[5]
(103)	Glycerinaldehyd + H ₂	Glycerin	− 8.3		− 8.3	[c]
5. Alkohole						
(104)	Methanol + H ₂	Methan + H ₂ O	−27.0		− 27.0	[5]
(105)	Äthanol + H ₂	Äthan + H ₂ O	−19.1		− 19.1	[c]
(106)	Äthylenglykol + H ₂	Äthanol + H ₂ O	−21.1		− 21.1	[10]
(107)	Glycerin + H ₂	1,3-Propanediol + H ₂ O	−19.7		− 19.7	[c]
6. Aminosäuren						
(108)	Glycin + H ₂	Acetat [⊖] + NH ₄ [⊕]	−18.7		− 18.7	[5]
(109)	Prolin + H ₂	δ-Aminovalerat				
(110)	Ornithin [⊖] + H ₂	δ-Aminovalerat + NH ₄ [⊕]				
(111)	Arginin [⊖] + H ₂	δ-Guanidinovalerat + NH ₄ [⊕]				
(112)	Tryptophan + H ₂	Indolpropionat [⊖] + NH ₄ [⊕]				
7. Anorganische Elektronenacceptoren						
(113)	H [⊕] + NAD(P)H	H ₂ + NAD(P) [⊖]	− 4.6		− 4.6	[5]
(114)	HCO ₃ [⊖] + H ₂	Formiat [⊖] + H ₂ O	− 0.2		− 0.2	[5]
(115)	HCO ₃ [⊖] + 2 H ₂ + H [⊕]	Formaldehyd + 2 H ₂ O	+ 2.7		+ 5.4	[5]
(116)	HCO ₃ [⊖] + 3 H ₂ + H [⊕]	Methanol + 2 H ₂ O	− 1.8		− 5.4	[5]
(117)	HCO ₃ [⊖] + 4 H ₂ + H [⊕]	Methan + 3 H ₂ O	− 8.1		− 32.3	[5]
(118)	2 HCO ₃ [⊖] + 4 H ₂ + H [⊕]	Acetat [⊖] + 4 H ₂ O	− 6.4		− 25.6	[5]
(119)	S + H ₂	H ₂ S	− 6.5		− 6.5	[5]
(120)	S + H ₂	HS [⊖] + H [⊕]	− 6.6		− 6.6	[5]
(121)	SO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 2 H ₂	S + 3 H ₂ O	−16.0	[h]	− 32.1	[5]
(122)	SO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 3 H ₂	H ₂ S + 3 H ₂ O	−12.9	[h]	− 38.6	[5]
(123)	SO ₃ [⊖] + H ₂	SO ₃ [⊖] + H ₂ O	+ 1.9	2 [h]	+ 1.9	[5]
(124)	SO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 3 H ₂	S + 4 H ₂ O	−10.1	2 [h]	− 30.3	[5]
(125)	SO ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 4 H ₂	H ₂ S + 4 H ₂ O	− 9.2	2 [h]	− 36.8	[5]
(126)	S ₂ O ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 4 H ₂	2 H ₂ S + 3 H ₂ O	−10.3		− 41.3	[5]
(127)	S ₂ O ₃ [⊖] + 2 H [⊕] + 2 H ₂	2 S + 3 H ₂ O	−14.1		− 28.2	[5]

Gl.-Nr.	Substrate	Produkte	$\Delta G'_0$ (kcal/mol H ₂) [a]	Bedarf ATP/ Reakt.	$\Delta G'_0$ (kcal/Reakt.) [a]	Lit.
(128)	$N_2 + 2 H^{\oplus} + 3 H_2$	$2 NH_4^{\oplus}$	- 6.3		- 18.8	[5]
(129)	$2 NO_2^{\ominus} + 2 H^{\oplus} + 3 H_2$	$N_2 + 4 H_2O$	-63.7		-191.1	[5]
(130)	$NO_2^{\ominus} + 2 H^{\oplus} + 3 H_2$	$NH_4^{\oplus} + 2 H_2O$	-35.0		-105.0	[5]
(131)	$NO_3^{\ominus} + H_2$	$NO_2^{\ominus} + H_2O$	-38.5		- 38.5	[5]
(132)	$NO_3^{\ominus} + 2 H^{\oplus} + 4 H_2$	$NH_4^{\oplus} + 3 H_2O$	-35.9		-143.5	[5]
(133)	$2 NO_3^{\ominus} + 2 H^{\oplus} + 5 H_2$	$N_2 + 6 H_2O$	-53.6		-268.1	[5]
(134)	$O_2 + H_2$	H_2O_2	-32.7		- 32.7	[5]
(135)	$H_2O_2 + H_2$	$2 H_2O$	-80.7		- 80.7	[5]
(136)	$O_2 + 2 H_2$	$2 H_2O$	-56.7		-113.4	[5]

[a] Vgl. [a], Tabelle 2. [b] Berechnet analog Gl. (69). [c] Vgl. [h], Tabelle 2. [d] Vgl. [f], Tabelle 2. [e] Berechnet analog Gl. (81). [f] Berechnet analog Gl. (93). [g] Tabelle 2, Fußnote [e]. [h] Zur Sulfat-Aktivierung werden 2 ATP benötigt, während zur Sulfid-Reduktion kein ATP notwendig zu sein scheint [14].

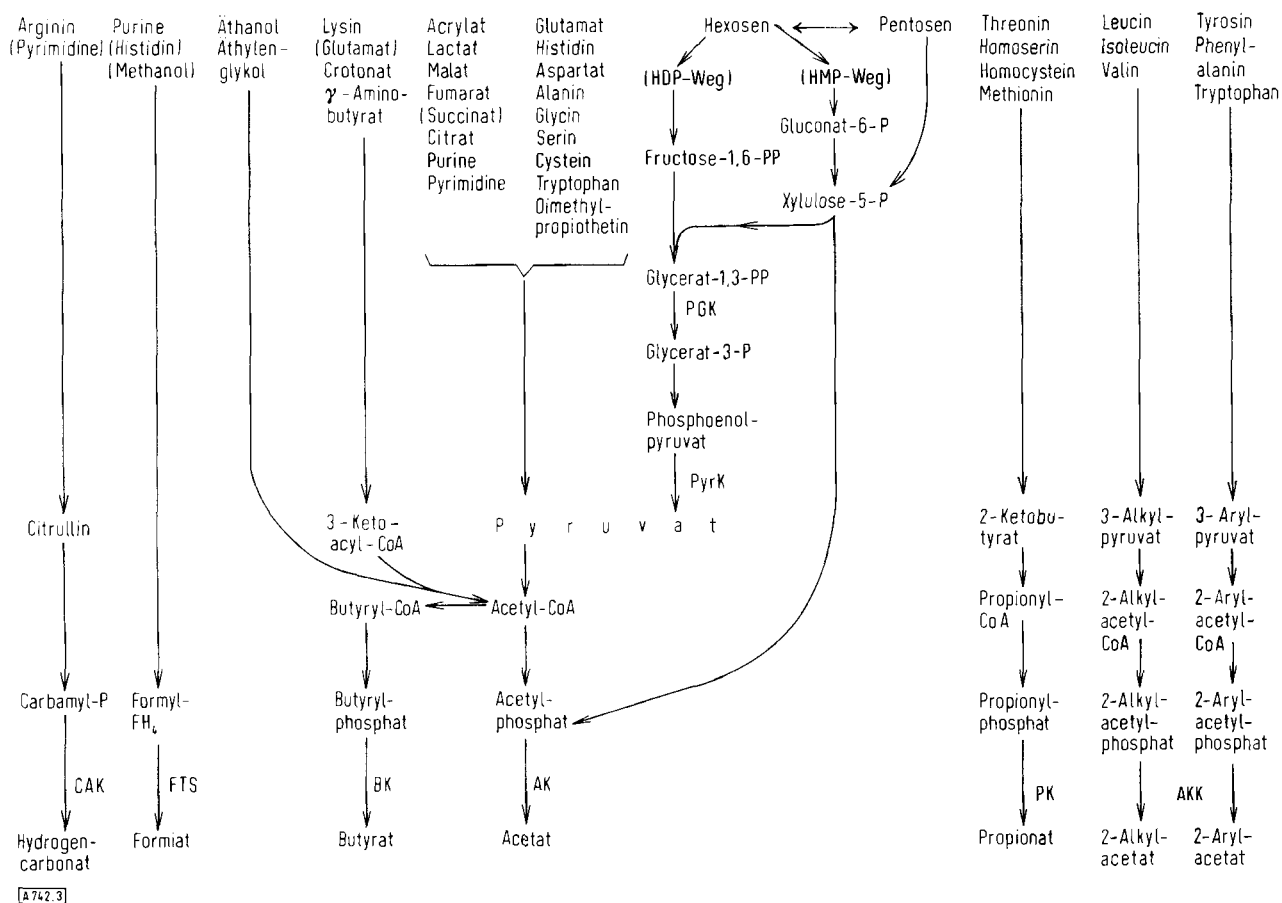


Abb. 3. Beteiligung der ATP*-synthetisierenden Reaktionen am Katabolismus (Energiestoffwechsel) von Kohlenhydraten, Aminosäuren, Carbonsäuren, Alkoholen und Nucleinbasen in Anaerobiern. HDP (Hexosediphosphat)-Weg; HMP (Hexosemonophosphat)-Weg; CAK = Carbamat-Kinase; FTS = Formyltetrahydrofolat-Synthetase; AK = Acetat-Kinase; PK = Propionat-Kinase; BK = Butyrat-Kinase; AAK = Alkyl(Aryl)-acetat-Kinase; PGK = Phosphoglycerat-Kinase; PyrK = Pyruvat-Kinase.

phorylierung bewerkstelligen, während den meisten aeroben Zellen nicht nur mehrere Substratstufen-Phosphorylierungen, sondern vor allem auch das sehr wirkungsvolle Elektronentransport-Phosphorylierungs-System der Atmungskette zur Verfügung stehen.

2.3. Wirkungsgrade

Die Bereitstellung „energiereicher“ Verbindungen und damit die Möglichkeit zur Energieübertragung auf den zentralen Energieträger ATP setzt einen Gesamtstoffwechselprozeß voraus, der – formuliert mit dem Konzentrationsverhältnis der exogenen Substrate und der

Produkte^[*] – in ausreichendem Maße exergon^[**] ist [Gl. (b)]:

$$\Delta G' = \Delta G'_0 + 1.4 \log \cdot [\text{Produkte}]/[\text{exogene Substrate}] \quad (b)$$

[*] Hierin ist auch das biosynthetisierte Zellmaterial enthalten. Bei Anaerobiern kann es als Produkt ohne große Fehler meist vernachlässigt werden (s. Tabelle 7).

[**] Bei mikrobiologischen Züchtungen beträgt das Konzentrationsverhältnis zwischen Produkten und exogenen Substraten zu Anfang einer Wachstumsphase im allgemeinen $\geq 10^{-2}$ und gegen Ende $\leq 10^2$. Daher schwankt die tatsächlich verwertbare Energie eines Stoffwechselprozesses $\Delta G'$ höchstens ± 2.8 kcal/mol um seine Standard-Freie Enthalpie $\Delta G'_0$. Es ist deshalb erlaubt, zur Beurteilung der Thermodynamik eines Gesamtstoffwechsels $\Delta G'_0$ als den Mittelwert zwischen $\Delta G'_{\text{Anfang}}$ und $\Delta G'_{\text{Ende}}$ zu verwenden.

Tabelle 4. Die „energiereichen“ Substrate der ATP-synthetisierenden Enzyme (Substratstufen-Phosphorylierung).

ADP + Substrat \sim P \rightleftharpoons ATP + Substrat (137)

ADP + P_a + Substrat \sim X \rightleftharpoons ATP + Substrat + X (138)

P_a = anorganisches Phosphat

Verbindungstyp	Substrat \sim P bzw. Substrat \sim X in Gl. (137) u. (138)	$\Delta G'_0$ (kcal/mol)	Enzym	Gl.
Phosphoacylanhydrid	Acetylphosphat	-10.7 [10]	Acetat-Kinase (E.C. 2.7.2.1.)	(137)
	Carbamylphosphat	-10.2 [a] [18]	Carbamat-Kinase (E.C. 2.7.2.2.)	
	3-Phosphoglyceril-1-phosphat	-14.9 [a] [12]	3-Phosphoglycerat-Kinase (E.C. 2.7.2.3.)	
	Propionylphosphat	-10.7 [b]	Propionat-Kinase (E.C. 2.7.)	
	Butyrylphosphat	-10.7 [b]	Butyrat-Kinase (E.C. 2.7.)	
Phosphoenolester	Phosphoenolpyruvat	-13.9 [a] [12]	Pyruvat-Kinase (E.C. 2.7.1.40.)	(138)
Acylthioester	Succinyl-Coenzym A	- 9.0 [5]	Succinat-Thiokinase (E.C. 6.2.1.4.)	
Acylanilid	N ¹⁰ -Formyltetrahydrofolat	- 6.2 [a] [19]	N ¹⁰ -Formyltetrahydrofolat-Synthetase (E.C. 6.3.4.3.)	

[a] Berechnet aus $\Delta G'_0$ von ATP* = -8.2 kcal/mol [Gl. (a)] und den $\Delta G'_0$ -Werten der Kinasereaktionen. [b] Analog zu Acetylphosphat.

Tabelle 5. Mögliche „energiereiche“ Verbindungen für die Elektronentransport-Phosphorylierung. Das Redoxpotential „energiereicher“ Verbindungen muß bei pH = 7 gegenüber dem des jeweiligen Elektronenacceptors soviel negativer sein, daß aufgrund der Potentialdifferenz die Synthese von einem mol ATP* energetisch möglich wird. Das bedeutet, daß in einer Elektronentransportkette zwischen zwei benachbarten Redoxpartnern bei einem Zwei-Elektronen-Transport $\Delta E'_0$ mindestens 200 mV ($\Delta G'_0$ = -9.2 kcal/mol) betragen muß.

Elektronendonator	E'_0 [a] (mV)	Elektronenacceptor	Lit.
Acetat/Acetaldehyd	-600	SO_4^{2-}/SO_3^{2-}	[5]
	-460		[5]
Ferredoxin ox./red.	-420	$CO_2/HCOOH$	[20]
	-420		[5]
	-420		[5]
NAD ⁺ /NADH + H ⁺	-320	S/H ₂ S	[5]
	-280		[5]
	-280		[21]
	-280		[5]
	-280		[5]
FAD/FADH ₂ [b]	-280	HCO_3^-/CH_4	[5]
	-240		[5]
	-220		[22]
	-220		[5]
	-200		[5]
FMN/FMNH ₂ [b]	-190	Pyruvat/Lactat	[5]
	-190		[22]
	-140		[5]
	-70		[5]
	-10		[5]
Cytochrom c Fe ³⁺ /Fe ²⁺	-15	Crotonyl-CoA	[11]
	+30	Butyryl-CoA	[5]
	+170	Fumarat/Succinat	[5]
	+170	Methanol/Methan	[5]
	+220	NO_2^-/NH_4^+	[12]
	+340		[5]
	+420		[5]
	+420		[5]
	+815		[5]
	+970	NO_2^-/N_2	[5]

[a] E'_0 \equiv E₀ (Standardbedingungen) gegen H-Elektrode bei pH = 7 und 25 °C, berechnet aus den $\Delta G'_0$ -Werten der Tabellen 2 und 3.

[b] Die Redoxpotentiale von Flavinenzymen schwanken mit ± 200 mV um die Werte der freien Coenzyme.

[18] P. P. Cohen in P. D. Boyer, H. Lardy u. K. Myrback: The Enzymes. Academic Press, New York 1962, Bd. 6, S. 479.

[19] R. H. Himes u. J. C. Rabinowitz, J. biol. Chemistry 237, 2903 (1962); 237, 2915 (1962).

[20] R. C. Valentine, Bacteriol. Reviews 28, 497 (1964).

[21] F. Lynen u. O. Wieland, Methods in Enzymol. I, 566 (1955).

[22] W. M. Clark: Oxidation Reduction Potentials of Organic Systems. The Williams and Wilkins Comp., Baltimore 1960, S. 444.

[22a] P. D. Boyer in D. R. Sanadi: Current Topics in Bioenergetics. Band 2. Academic Press, New York 1967, S. 99.

Erst eine Reaktion mit einer Freien Enthalpie von -8.2 kcal/mol kann bei reversibler Führung ein ATP* synthetisieren. Der thermodynamische Wirkungsgrad η [Gl. (c)] eines solchen idealisierten in-vitro-Prozesses beträgt 100%.

$$\eta = \frac{n \cdot \Delta G'_0 \text{ (ATP-Hydrolyse)}}{\Delta G'_0 \text{ (Gesamtprozeß)}} \cdot 100 (\%) \quad (c)$$

n = mol ATP*/Gesamtprozeß gebildet

Ein so hoher Wirkungsgrad kann in lebenden Zellen, die offene Systeme mit Fließgleichgewichten sind, nicht erreicht werden, da hier die reversible oder auch quasireversible Führung aller Einzelprozesse nicht gegeben ist. Vor allem aber bedingt die stöchiometrische Kopplung von energieliefernden Teilreaktionen und ATP*-Bildung eine „Quantelung“ der Energieübertragung: Es können jeweils nur Beträge von 7–9 kcal/mol zur Energiekonservierung verwertet werden. Exergone Prozesse, die wesentlich geringere Beträge an Freier Enthalpie liefern, verschlechtern den Wirkungsgrad des Gesamtprozesses; dies gilt auch für den Energieteil stark exergoner Reaktionen, der 7–9 kcal/mol übersteigt (Abb. 4).

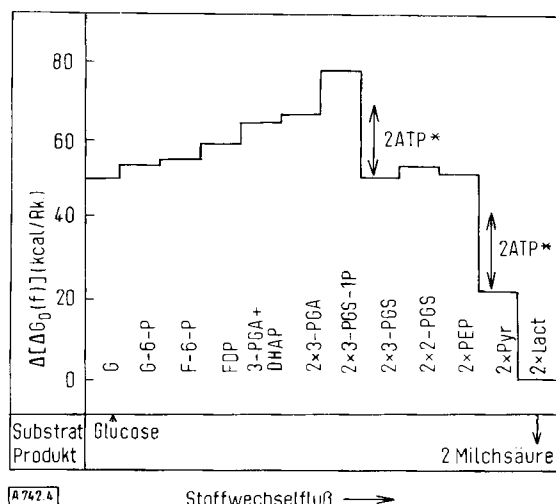


Abb. 4. Energieprofile der Metabolite der Glykolyse. Die Freien Bildungsenthalpien $[\Delta G(f)]$ des anorganischen Phosphats sind bei der Berechnung der Differenzen berücksichtigt. G = Glucose; F = Fructose; 3-PGA = 3-Phosphoglycerinaldehyd; DHAP = Dihydroxyacetonphosphat; PGS = Phosphoglycerinsäure; PEP = Phosphoenolpyruvat; Pyr = Pyruvat; Lact = Lactat.

Eine theoretische Ableitung der Obergrenze des Wirkungsgrades von Stoffwechselprozessen in lebenden Organismen ist bislang noch nicht gelungen. Die Erfahrung hat jedoch gezeigt, daß η -Werte von mehr als 50% für Gesamtprozesse sehr unwahrscheinlich sind. Die Mehrzahl der Anaerobier arbeitet mit 15- bis 30-proz. Wirkungsgrad. Durch die Einschaltung von Elektronentransport-Phosphorylierung erreicht eine Zelle mit Sauerstoff als Acceptor eine erhebliche Verbesserung des *ökonomischen Wirkungsgrades* γ [Gl. (d)]

$$\gamma = \frac{\text{mol ATP* gebildet}}{\text{mol Umsatz}} \quad (\text{d})$$

aber nur eine geringfügige Steigerung des thermodynamischen Wirkungsgrades η (z. B. Glucose-Vergärung $\gamma = 2$, $\eta = 34\%$; Glucose-Veratmung $\gamma \leq 38$, $\eta \leq 46\%$).

Soweit der Energiestoffwechsel eines Organismus bekannt ist, lassen sich die η -Werte nach Gl. (c) errechnen. Sie betragen z. B. für die anaeroben Milchsäuregärungen [Tabelle 2 und 3; Gl. (34) + 2 \times Gl. (78)] 34.5% (Embden-Meyerhof-Weg, $\gamma = 2$) und 17.3% (Entner-Doudoroff-Weg, $\gamma = 1$); für die anaeroben Alkoholgärungen [Gl. (34) + 2 \times Gl. (79)] sind die entsprechenden η -Werte 30.4% bzw. 15.2%. Die Beziehungen zwischen $\Delta G'_0$ des Stoffwechsels, der ATP-Ausbeute (γ) und der Zellsynthese, die miteinander in engem Zusammenhang stehen, werden in Abschnitt 2.4 ausführlicher besprochen.

Gewisse Voraussagen über den Ablauf von in-vivo-ATP-Synthesen erscheinen aus thermodynamischen Daten möglich; dabei sind folgende Grundsätze für die Formulierung und Beurteilung des Energiestoffwechsels nützlich:

1. Entscheidend für die Leistungsfähigkeit des Zellstoffwechsels ist sein ökonomischer [γ nach Gl. (d)], nicht sein thermodynamischer [η nach Gl. (c)] Wirkungsgrad.
2. Der thermodynamische Wirkungsgrad des Stoffwechsels von chemoheterotrophen Anaerobiern übersteigt nicht 50%; er liegt meist zwischen 15 und 35%.
3. Die Energieübertragung durch das ATP-System (Substratstufen-Phosphorylierung und Elektronentransport-Phosphorylierung) ist stöchiometrisch mit dem Substratumsatz verbunden (Energie-, „quantelung“).
4. Erlaubt $\Delta G'_0$ eines Katabolismus die Bildung nur einer „energiereichen“ Verbindung und ist mechanistisch eine Substratstufen-Phosphorylierung formulierbar, so ist diese wahrscheinlicher als eine denkbare Elektronentransport-Phosphorylierung.

Die Anwendung dieser Regeln wird an mehreren Beispielen anaerober Energiestoffwechselprozesse im Abschnitt 3 diskutiert.

2.4. ATP*-Umsatz in wachsenden Zellen

2.4.1. Wachstumsbegrenzung durch den Energiestoffwechsel

Infolge der zentralen Stellung des ATP* im Energiestoffwechsel sind Bildung und Verbrauch dieser Verbindung eng mit dem Gesamtumsatz an Freier Enthal-

pie in der Zelle verbunden. Da die intrazelluläre Konzentration des ATP in der Größenordnung von 1–5 mmol/l liegt und somit eine stationäre ATP*-Energie von weniger als 0.04 kcal/g Frischzellen repräsentiert, kommt dem Adenylsäuresystem eine katalytische Rolle zu. Es läßt sich abschätzen, daß während der Verdoppelung der Zellmasse einer wachsenden Bakterienkultur ATP* wenigstens 4000-mal^[*] verbraucht und wieder resynthetisiert werden muß. Zwangsläufig folgt aus der Funktion des ATP* als Schaltstelle des Energiedurchsatzes auch, daß die ATP-bildenden und -verbrauchenden Prozesse in einem kinetischen Gleichgewicht stehen:

$$v_{\text{ATP*-Bildung}} = v_{\text{ATP*-Verbrauch}} = v_{\text{Wachstum}}$$

v: Reaktionsgeschwindigkeit

Der Teilprozeß mit der geringeren Kapazität wird demnach zum limitierenden Faktor des Zellwachstums.

Bei aeroben Organismen ist meist der Baustoffwechsel geschwindigkeitsbegrenzend. Die Anpassung der energieliefernden Prozesse kann dann erfolgen, indem a) die erhöhte ATP- oder die erniedrigte ADP-(AMP)-Konzentration eine regulatorische Funktion erfüllt; b) ATP*-Energie in die Synthesen von Speicherstoffen (Polysaccharide, Fette, Poly- β -hydroxybuttersäure u.ä.) umgeleitet wird; c) die energieliefernden Prozesse entkoppelt oder kurzgeschlossen werden, wodurch entweder weniger ATP gebildet oder aber ein Teil – unter Wärmeentwicklung – gespalten wird („ATP-asen“). In den Fällen b) und c), die man in aeroben Bakterien verwirklicht findet, besteht dann keine Proportionalität zwischen der ATP*-Bildung und der Zellsynthese.

In Anaerobiern scheint überwiegend die ATP*-Regenerierung im katabolen Stoffwechsel der wachstumsbegrenzende Faktor zu sein. Dies wird verständlich, wenn man die Relation von Energie- zu Baustofflieferung bei aeroben und anaeroben Organismen vergleicht.

Folgendes Beispiel mag dies verdeutlichen:

Eine aerobe und eine anaerobe Zelle verfüge über die gleiche enzymatische Kapazität und über die gleichen Mechanismen (soweit relevant) des Anabolismus und des Katabolismus (z. B. Lactat- bzw. CO₂-Bildung aus Glucose); der anabole Maximaldurchsatz pro Zelle sei willkürlich mit 30 C₃-Einheiten (z. B. Pyruvat)/min, der katabole mit 100 C₆-Einheiten (z. B. Glucose)/min angenommen. Die Überführung einer C₃-Einheit in fertiges Zellmaterial benötigt im Durchschnitt 8 ATP*.

Ein aerober Organismus kann die Kapazität des Anabolismus auslasten durch vollständigen Abbau [Gl. (37) und (136)] von $(8 \times 30)/38 = 6.3$ C₆-Einheiten zur Energie- und $30/2 = 15$ C₆-Einheiten zur Substratbereitstellung, also insgesamt durch Inanspruchnahme von nur ca. 20% seiner katabolen Kapazität.

Der Anaerobier müßte dazu aufwenden [Gl. (34) und (79)] $(8 \times 30)/2 = 120$ C₆-Einheiten allein für die Energiegewinnung, weitere 15 für das Bausubstrat, also 135% seiner tatsächlichen katabolen Kapazität.

[*] Unter der Annahme, daß 5 μ mol ATP/g Feuchtzellmasse vorliegen und der durchschnittliche Wachstumsertrag (Y_{ATP}) 10 g Trockenzellen (entsprechend 50 g Feuchtzellen) pro mol ATP beträgt, ergibt sich ein Bedarf von 20000 μ mol ATP für die Neusynthese von 1 g Feuchtzellen. Der ATP-Pool muß demnach zur Zellverdoppelung mindestens 4000-mal umgeschlagen werden.

2.4.2. Wachstumserträge (Y_S , Y_P , Y_{ATP})

Der ATP*-Umsatz („turnover“) in einer lebenden Zelle ist nicht oder nur sehr schwierig (z.B. durch ^{18}O -Inkorporation aus Wasser in Phosphat)^[22a] zu messen. Daher muß diese so wichtige Größe durch Messung der Wachstumserträge bestimmt werden.

Der Wachstumsertrag („Yield“) Y_S oder Y_P ist definiert als Gramm-Menge Z an Zellmaterial (Trockenmasse), die unter Verbrauch von S mol des energieliefernden Substrates bzw. unter Bildung von P mol des Produktes neugebildet wurde.

$$Y_S = \frac{Z[\text{g}]}{S[\text{mol}]} \quad (\text{e})$$

$$Y_P = \frac{Z[\text{g}]}{P[\text{mol}]} \quad (\text{e}')$$

Bei Kenntnis des Stoffwechsels von S, insbesondere der beteiligten Phosphorylierungsreaktionen, läßt sich weiterhin der Netto-ATP*-Gewinn γ (ökonomischer Wirkungsgrad) in Bezug auf das verbrauchte Substrat S oder das gebildete Produkt P angeben.

$$\gamma_S = \frac{\text{mol ATP* gebildet}}{\text{mol Substrat verbraucht}} \quad (\text{d}')$$

$$\gamma_P = \frac{\text{mol ATP* gebildet}}{\text{mol Produkt gebildet}} \quad (\text{d}'')$$

Daraus erhält man den ATP-Wachstumsertrag (Y_{ATP}) zu

$$Y_{ATP} = \frac{Y_S(P)}{\gamma} \frac{[\text{g Zellen}]}{[\text{mol ATP}]} \quad (\text{f})$$

dem Zellwachstum. Sollte er sich als eine biologische Konstante erweisen, könnten umgekehrt aus Ertragsmessungen Schlüsse auf unbekannte Stoffwechselwege und insbesondere auf die Zahl der ATP*-bildenden Schritte (Substratstufen- und Elektronentransport-Phosphorylierung) gezogen werden.

Voraussetzung für eine sinnvolle Anwendung der Ertragsmethoden sind sehr streng definierte experimentelle Bedingungen^[23–26]; insbesondere muß sichergestellt sein, daß das Wachstum energielimitiert (durch das energieliefernde Substrat begrenzt) ist, die Messungen nur während der aktiven (logarithmischen) Wachstumsphase vorgenommen werden, die Stoffwechselbilanz des Energiesubstrats durch Messung von Y_S und Y_P quantitativ erfaßt wird und Zusätze zum Nährmedium – z.B. Hefeextrakte – nur für den Bau- und nicht für den Energiestoffwechsel verwendet werden. Die individuellen Unterschiede der Zellen hinsichtlich Art, Struktur und Zusammensetzung der Proteine, Nucleinsäuren und Polysaccharide heben sich durch den annähernd gleichen ATP-Bedarf ihrer Synthesen auf (Tabelle 6).

Y_{ATP} -Werte um 10.5 werden erhalten, wenn man den Zellen für die Zellsynthese Monomere – hier kommen im wesentlichen die Aminosäuren infrage – in Form von Proteinhydrolysaten anbietet (Komplexmedium). Falls dem Medium keine Monomeren zugesetzt werden (Minimalmedium), wird zusätzlich Energie für deren Synthese aus dem Energiesubstrat benötigt; deshalb findet man unter solchen Bedingungen kleinere Y_{ATP} -Werte (Tabelle 7). Die Tatsache, daß der Unterschied der Y_{ATP} -Werte bei Wachstum auf Minimal- und Komplexmedium nur gering ist, deutet darauf hin,

Tabelle 6. ATP*-Bedarf des Baustoffwechsels von *C. kluyveri* [27, 28].

			Protein	RNA	DNA	Lipide	Lösl. Anteile [a]
Anteil am Trockengewicht (%)			68	7.6	1.4	5	20
ATP*-Bedarf	mmol/100 mg Fraktion [b]	Monomerensynthesen [c]	4.0	5.2	5.9	—	5.0
		Polymerisationen	2.7	0.6	0.7	7.2 [d]	—
		Summe	6.7	5.8	6.6	7.2	5.0
	mmol/100 mg Trockenzellen	Monomerensynthesen	4.2				
		Polymerisationen	2.3				
		Summe	6.5				
Y_{ATP}	Polymerisationen (ber.)		43.5				
	Monomerensynthesen + Polymerisationen (ber.)		15.4				
	Gesamtstoffwechsel (gef.)		9.1				

[a] Extrahierbar in 0.5 N HClO_4 bei 4 °C. CH_3COO^- , HCO_3^- , SO_4^{2-} , NH_4^+ , HPO_4^{2-} .

[b] Aus der Bausteinanalyse und mit dem ATP*-Bedarf der Biosynthesen.

[c] Ausgehend von

[d] Durchschnittlicher ATP*-Bedarf pro Monomereinheit ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$) = 2.

Er gibt an, wieviel g Zellmasse auf Kosten eines mols ATP* synthetisiert werden. Y_{ATP} ist demnach der Kopplungsfaktor zwischen dem ATP*-Umsatz und

daß auch bei supplementierten Medien ATP für die Bereitstellung der Monomeren erforderlich ist.

Während der ATP-Bedarf für Monomerensynthesen und Polymerisationen berechnet werden kann (Tabelle 6), ist dies zur Zeit noch nicht möglich für die anderen ATP-verbrauchenden Leistungen (Abb. 1) wie Bewegungsenergie (besonders bei geißeltragenden

[23] W. W. Forrest in: Microbial Growth, 19. Sympos. der Society for General Microbiology, London 1969, Cambridge University Press, Cambridge 1969, S. 65.

[24] T. Bauchop u. S. R. Elsdén, J. gen. Microbiol. 23, 457 (1960).

[25] I. C. Gunsalus u. C. W. Shuster in I. C. Gunsalus u. R. Y. Stanier: The Bacteria. Academic Press, New York 1961, Bd. 2, S. 1.

[26] J. C. Senež, Bacteriol. Reviews 26, 95 (1962).

[27] R. K. Thauer, K. Jungermann u. K. Decker, Europ. J. Biochem. 1, 482 (1967).

[28] R. K. Thauer, Dissertation, Universität Freiburg 1968.

Tabelle 7. Übersicht über Methoden und Ergebnisse von Wachstumsertragsbestimmungen bei Einzellern (Bakterien und Hefen) unter anaeroben und aeroben Bedingungen.

Organismus	Substrate	Y _S	Produkte	Y _P	γ (theor.)	Medium	T (°C)	Umgebung [d]	Züchtung[e]	E [f]	Bestimmung[g]	Y _{ATP}	Lit.
<i>Streptococcus faecalis</i>	Glucose	22	?		2/Gl.	halb-synthetisch		an	b		Trüb.	11	[25]
	Glucose Arginin Ribose	22 10.5 21	?		2/Gl. 1/Arg. 2/Rib.	1 % Caseinhydrolysat	37	an	b c b	1	Trüb.	11 10.5 10.5	[24]
	Glucose Glucose Arginin	33.5 30.6 18.3	? ? gemessen		2/Gl. 2/Gl. 1/Arg.	1 % Caseinhydrolysat	37	an	b b c		Trüb.	16.7 15.3 18.3	[29]
	Glucose [a] Glucose [b]	32 21	bis 50 % WDFS [h] Lactat		2/Gl.	2 % Hefeextrakt + 2 % Pepton	37	an	b		Trüb.	10.5	[30]
	Glucose	33	WDFS			1 % Caseinhydrolysat + 0.1 % Hefeextrakt + Arginin	37	an	b		Trüb.		[31]
	Glucose Mannit Pyruvat Glycerin	58.2 64.6 15.5 24.7	80% als Acetat + CO ₂		4/Gl. 4/Man. 1/Pyr. 2/Gly	komplex		ae ae ae ae	b	3	Gr.	14.5 16.1 15.5 12.4	[32]
	Glucose Pyruvat	21.5 6.0	? ?		2/Gl.	komplex		an an	b	2	Gr.	10.7	
<i>S. diacetil-lactis</i>	Glucose Glucose Galaktose Maltose Glucose	33.7 32 36.4 64.5 43.4 [c]	?		2/Gl. 2/Gl. 2/Gal. 4/Malt. 2/Gl.	1 % Pepton + Hefeextrakt oder 0.5 % Caseinhydrolysat	32	an	b c b b c	3.3	Trüb.	16.8 16.0 18.2 16.1 21.7	[29]
<i>S. lactis</i>	Glucose	40	?		2/Gl.		32	an	b		Trüb.	20	[29]
<i>S. cremoris</i>	Glucose	32	?		2/Gl.		32	an	b		Trüb.	16	[29]
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Glucose	19.6	?		2/Gl.	komplex		an	b			9.8	[25]
<i>L. plantarum</i>	Glucose	18.8	?		2/Gl.	3 % Zusätze	30	ae	b		Trüb.	9.4	[34]
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Glucose Arabinose	14.2 16.2	?			komplex		an	b				[25]
<i>Micrococcus lactilyticus</i>	Lactat	10.1	?					an	b				[25]
<i>Propionibact. pentosaceum</i>	Glucose Glycerin Lactat	37.5 20 7.6	?			0.5 % Caseinhydrolysat	30	an	b		Trüb.		[24]
<i>Pseudomonas lindneri</i>	Glucose	8.3	?		1/Gl.	komplex	30	an	b		Trüb.	8.3	[24]
<i>Pseudomonas C₁₂B</i>	Acetat 1-Dodecanol	23.5 217	?			minimal	30	ae	b		Gr. + Trüb.	10.7	[35]
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Pyruvat + Sulfat Lactat + Sulfat Pyruvat + Sulfit	9.4 9.9 9.5	?			minimal	32	an	b			9.5	[26]
<i>Escherichia coli</i>	Glucose	25.8	gemessen	berücks.	3/Gl.		37	an	b			11.2	[33]
<i>Ruminococcus albus</i>	Cellobiose	102	gemessen		9/Cb.	minimal		an	c		Trüb.	11.3	[36]
<i>Selenomonas ruminantium</i>	Glucose	62				1.5 % Hefeextrakt		an	c		Trüb.		[37]
<i>Bacteroides amylophilus</i>	Maltose Glycerin	160 20	?		9/Malt. 2/Glyc.	komplex		an	b + c		Trüb.	17.8 10	[38]
<i>Clostridium tetanomorphum</i>	Glutamat	6.8	quantitativ erfaßt	berücks.	0.62/Glu.	1 % Hefeextrakt	37	an	b		Gr.	10.9	[39]
<i>Clostridium aminobutyricum</i>	Hydroxybutyrat Aminobutyrat	8.9 7.6	nicht quantitativ erfaßt		0.5/Hb 0.5/Ab	0.4 % Hefeextrakt		an	b			17.8 15.2	[40]
<i>Clostridium sp.</i>	Dimethylpropiothetin	3.3	nicht quantitativ erfaßt		0.33/Dpt.		37	an	b			10.0	[10]

Organismus	Substrate	Y _S	Produkte	Y _P	γ (theor.)	Medium	T (°C)	Umgebung [d]	Züchtung[e]	E [f]	Bestimmung[d]	Y _{ATP}	Lit.
<i>Clostridium glycolicum</i>	Äthylenglykol	7.7	quantitativ erfaßt		0.5/Äth.	0.75 % Caseinhydrolysat	37	an	b			15.4	[41]
<i>Clostridium kluyveri</i>	Crotonat	4.8	Acetat Butyrat H ⁺	4.8 9.6 9.1	0.5/ Crot. 1/H ⁺	minimal	33	an	b	3.1	Gr.	9.1	[42]
	Äthanol Acetat	1.5 n.s. [h]	H ₂ H ⁺ Butyrat Capronat	4.6 9.1 n.s. [h] n.s. [h]	0.5/H ₂ 1/H ⁺		33	an	b	1.3	Gr.	9.1	[42]
<i>Methanosarcina barkeri</i>	Methanol	3.3	?		0.25/ Meth.			an	b		Gr.	13.2	[43]
<i>Methanobacillus omelianskii</i>	Äthanol/ CO ₂	1	?					an	b		Gr.		[43]
<i>Gluconobacter liquefaciens</i>	Fructose	21.0	?		2/Fr.	komplex	30	ae	b	14		10.5	[44]
<i>Aerobacter aerogenes</i>	Glucose	26.1	quantitativ erfaßt			minimal	37	an	b	14.5		10.2	[45]
	Fructose	26.7										10.7	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	21	?			1 % Caseinhydrolysat	30	an	b			10.5	[24]
	Glucose	89	CO ₂		28/Gl.		38	ae	c	61.8		8.5	[46, 6]
<i>Torulopsis utilis</i>	Glucose	108	CO ₂		38/Gl.		38	ae	c	74.1		10.9	[46, 6]

[a] Logarithmisch wachsende Zellen. [b] Linear wachsende Zellen. [c] Korrigiert für Erhaltungsenergie und Substrateinbau. [d] an = anaerob, ae = aerob. [e] b = batch, c = kontinuierlich. [f] E = Substrateinbau in Mol-% des Substratumsatzes. [g] Bestimmung der Zellmasse: Trüb. = Trübungsmessung, Gr. = Gravimetrie. [h] WDFS = wasserdampf-flüchtige Substanzen; n.s. = nicht stöchiometrisch.

Zellen), Transportenergie (aktive Aufnahme von Molekülen oder Ionen des Mediums, aktiver Transport innerhalb der Zelle), „Erhaltungsenergie“^[47–49] (Resynthese von Zellbestandteilen im Zusammenhang mit ihrem „dynamischen Zustand“)^[50] und schließlich „Organisationsenergie“ (negative Entropie der zellulären Organisation^[23, 26, 51]).

[29] H. H. Moustafa u. E. B. Collins, J. Bacteriol. 96, 117 (1968).

[30] W. W. Forrest u. D. J. Walker, J. Bacteriol. 89, 1448 (1965).

[31] R. W. Beck u. L. R. Shugart, J. Bacteriol. 92, 802 (1966).

[32] A. J. Smalley, P. Jahrling u. P. J. Van Denmark, J. Bacteriol. 96, 1595 (1968).

[33] A. H. Stouthamer in J. R. Norris u. D. W. Ribbons: Methods in Microbiology. Academic Press, London 1969, S. 644.

[34] M. S. Oxenburgh u. A. M. Snoswell, J. Bacteriol. 89, 913 (1965).

[35] W. R. Mayberry, G. J. Prochazka u. W. J. Payne, J. Bacteriol. 96, 1424 (1968).

[36] R. E. Hungate, J. Bacteriol. 86, 848 (1963).

[37] P. N. Hobson, J. gen. Microbiol. 38, 167 (1965).

[38] P. N. Hobson u. R. Summers, J. gen. Microbiol. 47, 53 (1967).

[39] R. Twarog u. R. S. Wolfe, J. Bacteriol. 86, 112 (1963).

[40] J. K. Hardman u. T. C. Stadtman, J. Bacteriol. 85, 1326 (1963).

[41] L. W. Gaston u. E. R. Stadtman, J. Bacteriol. 85, 356 (1963).

[42] R. K. Thauer, K. Jungermann, H. Henninger, J. Wenning u. K. Decker, Europ. J. Biochem. 4, 173 (1968).

[43] T. C. Stadtman, Annu. Rev. Microbiol. 21, 139 (1967).

[44] A. H. Stouthamer, Biochim. biophysica Acta 56, 19 (1962).

[45] L. P. Hadjipetrou, J. P. Gerrits, F. A. G. Teulings u. A. H. Stouthamer, J. gen. Microbiol. 36, 139 (1964).

[46] S. L. Chen, Nature (London) 202, 1135 (1964).

[47] A. G. Marr, E. H. Nilson u. D. J. Clark, Ann. New York Acad. Sci. 102, 536 (1962).

[48] S. J. Pirt, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B 163, 224 (1965).

[49] N. van Uden, Arch. Mikrobiol. 58, 145 (1967); 62, 34 (1968); Annu. Rev. Microbiol. 23, 473 (1969).

[50] R. Schönheimer: The Dynamic State of Body Constituents. Hafner, New York 1964, S. 3.

[51] H. J. Morowitz, Biochim. biophysica Acta 40, 340 (1960).

Es wird angenommen, daß die Bewegungsenergie und in den meisten Fällen – vor allem bei nichtaktiver Aufnahme des Energiesubstrats – auch die osmotische Energie nur einen geringen Betrag des gesamten Energieumsatzes in Anspruch nimmt; ebenso scheint der „turnover“ der Zellbestandteile in aktiv wachsenden Zellen keine große Rolle zu spielen. Die Frage, wieviel Energie die wachsende Zelle in Form negativer Entropie der Organisation aufzuwenden hat, ist mehrfach theoretisch und mit unterschiedlichen Ergebnissen abgehandelt worden^[23, 26], relevantes experimentelles Material liegt kaum vor.

Wenn auch die obengenannten experimentellen Bedingungen im allgemeinen nur annähernd erfüllt wurden (Tabelle 7), so lassen die erhaltenen Daten doch den Schluß zu, daß ein Y_{ATP}-Wert von ca. 10.5 unter energielimitierten Bedingungen und bei Wachstum auf Komplexmedien allgemein für Anaerobier gilt. Aufgrund einer Bausteinanalyse von *C. kluyveri* (Tabelle 6) und mit Hilfe der bekannten biosynthetischen Mechanismen wurde ein Y_{ATP} von ca. 15 berechnet^[28], der als die obere Ertragsgrenze bei Verwendung von Minimalmedien gelten kann.

2.4.3. Messung von Y_{ATP} im Crotonatstoffwechsel von *Clostridium kluyveri*

Der Energiestoffwechsel von *C. kluyveri* mit Crotonat und Hydrogencarbonat als einzigen Kohlenstoffsubstraten^[52] erwies sich infolge seiner Übersichtlichkeit als ein gutes Objekt zur Bestimmung von Y_{ATP}; die in Abschnitt 2.4.2 genannten experimentellen Bedingungen ließen sich an diesem strikten Anaerobier einhalten^[42].

[52] R. K. Thauer, K. Jungermann, J. Wenning u. K. Decker, Arch. Mikrobiol. 64, 125 (1968).

Die anaerobe Disproportionierung der Crotonsäure gehorcht Gl. (g) [Summe von Gl. (22) und (93) in Tabelle 2 bzw. 3]:

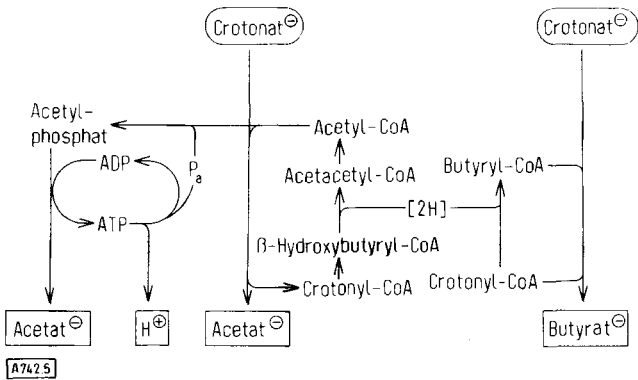
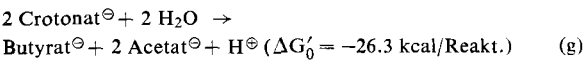


Abb. 5. Schema der Crotonat-Gärung in *Clostridium kluyveri*. P_a – anorganisches Phosphat.

Aus der schematischen Darstellung des Energiestoffwechsels (Abb. 5) wird deutlich, daß dieser Prozeß stöchiometrisch mit einer Substratstufen-Phosphorylierung gekoppelt ist und pro entstandenem Proton ein ATP* durch die Acetat-Kinase-Reaktion [Gl. (h)] gebildet wird.

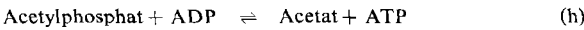


Tabelle 8. Y_{ATP}-Werte des Crotonatstoffwechsels von *Clostridium kluyveri* [a].

Substrat oder Produkt [b]	Y _{S(P)}	γ	Y _{ATP}
Crotonat	4.8	0.5	9.6
Butyrat	9.6	1.0	9.6
Acetat	4.8	0.5	9.6
H [⊕]	9.1	1.0	9.1

[a] Bei der Reduktion von Acetat und CO₂ über Pyruvat zur mittleren Reduktionsstufe des Zellmaterials wird ein H[⊕] verbraucht. Bei der Messung des Wachstumsertrags pro mol H[⊕] erfaßt man deshalb nur die ATP-Menge, die bei der Synthese des Zellmaterials, ausgehend von Pyruvat, verbraucht wird. Die Abweichung liegt wegen der geringen Inkorporation (3.1%, s. Tabelle 7) innerhalb der Fehlerbreite der Methode.

[b] s. Gl. (g).

γ beträgt also bezogen auf Crotonat 0.5, bezogen auf H[⊕] 1.0. Die zusammen mit dem Substratverbrauch und der Produktbildung ermittelte Zellausbeute (Tabelle 8) ergab übereinstimmende Y_{ATP}-Werte. Das gleiche Resultat lieferten entsprechende Versuche mit Äthanol + Acetat + Hydrogencarbonat als Wachstumssubstraten (Tabelle 7).

3. Der energieliefernde Stoffwechsel obligater Anaerobier

Abbildung 3 gibt eine Übersicht über die häufigsten Wachstumssubstrate anaerober Organismen. Einige Substanzklassen (z.B. gesättigte Fettsäuren, Alkane und isocyclische Aromaten, s. Abschnitt 2.1) können aus thermodynamischen und mechanistischen Gründen zur Energiegewinnung in Abwesenheit von Sauer-

stoff nicht verwertet werden. Unter den Nährstoffen der Anaerobier findet man vorwiegend Alkohole oder Säuren mit zusätzlichen funktionellen Gruppen, die selbst – oder deren Folgeprodukte – noch Dehydrierungs- und Hydrierungsreaktionen gestatten. Zur Konservierung der potentiellen Energie dieser Substrate sind in ihren Stoffwechsel Substratstufen- (und möglicherweise Elektronentransport-) Phosphorylierungen eingeschaltet. In diesem Abschnitt werden typische Prozesse der Energiekonservierung in strikten Anaerobiern angeführt (s. dazu Abb. 3 und die Tabellen 2 und 3).

3.1. Substratstufen-Phosphorylierungen

Die Zahl der enzymatischen Prozesse, die mit Substratstufen-Phosphorylierung verbunden sind, erweist sich als erstaunlich klein (Tabelle 5). Bei den verschiedensten Stoffwechseltypen [53, 54] gelangt man immer wieder zu den gleichen Zwischenprodukten (Acyl-CoA, Formyl-FH₄, Carbamylphosphat). In Anaerobiern bedingt die Notwendigkeit, das Wachstumssubstrat bei ausgeglichener H-Bilanz (Produktkoppelung) einem dieser „energiereichen“ Metabolite zuzuführen, für viele Substrate völlig andere Einschleusungswege in den Stoffwechsel als bei Aerobiern. Beispiele hierfür sind der anaerobe Abbau von Glutaminsäure [39, 55, 56], Glycin [57–59], Lysin [60–63] und von Purinen [64–67].

3.1.1. Acylat-Kinasen

Der durch die Acylat-Kinasen [39, 65, 68–70] katalysierte Prozeß [Gl. (i)] ist die wichtigste Reaktion der Energiegewinnung in Anaerobiern. Er ist realisiert in allen

[53] W. A. Wood in I. C. Gunsalus u. R. Y. Stanier: The Bacteria. Academic Press, New York 1961, Bd. 2, S. 59.

[54] H. A. Barker in [53], dort S. 151.

[55] M. Sprecher, R. L. Switzer u. D. B. Sprinson, J. biol. Chemistry 241, 864 (1966); R. L. Switzer u. H. A. Barker, ibid. 242, 2658 (1967).

[56] A. H. Blair u. H. A. Barker, J. biol. Chemistry 241, 400 (1966).

[57] B. P. Cardon u. H. A. Barker, Arch. Biochem. 12, 165 (1947).

[58] M. L. Baginsky u. F. M. Huennkens, Biochem. biophysic. Res. Commun. 23, 600 (1966); Arch. Biochem. Biophysics 120, 703 (1967).

[59] S. M. Klein u. R. D. Sagers, J. biol. Chemistry 241, 197, 206 (1966); 242, 297, 301 (1967); J. Bacteriol. 83, 121 (1962).

[60] L. Tsai u. T. C. Stadtman, Arch. Biochem. Biophysics 125, 210 (1968).

[61] T. C. Stadtman u. P. Renz, Arch. Biochem. Biophysics 125, 226 (1968).

[62] E. E. Dekker u. H. A. Barker, J. biol. Chemistry 243, 3232 (1968).

[63] R. C. Bray u. T. C. Stadtman, J. biol. Chemistry 243, 381 (1968).

[64] R. D. Sagers u. J. V. Beck, J. Bacteriol. 72, 199 (1956).

[65] R. D. Sagers, M. Benziman u. I. C. Gunsalus, J. Bacteriol. 82, 233 (1962).

[66] J. C. Rabinowitz u. H. A. Barker, J. biol. Chemistry 218, 161 (1956).

[67] J. C. Rabinowitz u. W. E. Pricer, J. biol. Chemistry 237, 2898 (1962).

[68] E. R. Stadtman u. H. A. Barker, J. biol. Chemistry 184, 769 (1950).

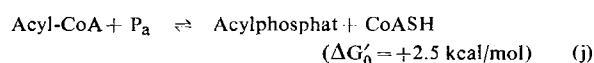
[69] I. A. Rose in P. D. Boyer, H. Lardy u. K. Myrbäck: The Enzymes. Academic Press, New York 1962, Bd. 6, S. 115.

[70] J. Pawelkiewicz u. A. B. Legocki, Bull. Acad. polon. Sci. 11, 569 (1963); Chem. Abstr. 60, 12291 (1963).

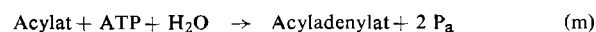
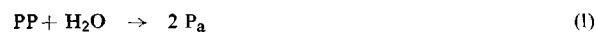
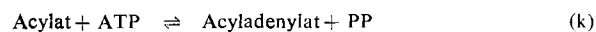
amino-säuren-, nucleinbasen-, kohlenhydrat- und alkoholverwertenden Clostridien und in sulfatreduzierenden Bakterien. Sein Vorkommen in Methanbakterien ist nicht gesichert. Die Acylat-Kinasen dürfen damit als typische Enzyme des anaeroben Lebens betrachtet werden; ihre zentrale Rolle und, damit verbunden, die der α -Ketosäuren (Pyruvat) geht aus Abbildung 3 hervor. Man findet Acylat-Kinasen auch in fakultativen Aerobiern^[71] (z.B. *E. coli*); ihr Vorkommen in strikt aeroben Zellen (Pflanzen, Tiere) ist nie mit Sicherheit nachgewiesen worden^[69, 72].



Acylphosphate entstehen vorwiegend aus Acyl-CoA durch Phosphotransacylierung [Gl. (j)]; P_a = anorganisches Phosphat]

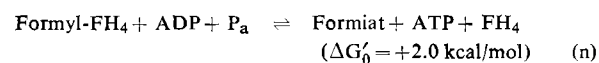


In Systemen, deren Ziel die Aktivierung einer Säure ist (Acylat-Thiokinasen, Aminoacyl-t-RNA-Synthetasen), wird die Richtung der Acyl~P-(z.B. Acyladenylat-)Synthese durch die Inanspruchnahme zweier Pyrophosphatbindungen [Gl. (m)] des ATP thermodynamisch bevorzugt.



3.1.2. Formyltetrahydrofolat-Synthetase

Durch die Formyltetrahydrofolat-Synthetase-Reaktion^[19, 67, 73-75] wird die Bindungsenergie der N^{10} -Formyl-FH₄ in eine Pyrophosphatbindung des ATP übersetzt [Gl. (n)].



Die ATP*-Bildung nach Gl. (n) ist ein äußerst spezialisierter Vorgang, der auf wenige Anaerobier beschränkt ist (z.B. *C. acidi-urici*, *C. cylindrosporum*)^[66, 67]. Die „energiereiche“ Formyl- bzw. Formiminogruppe entsteht beim Abbau von Purin, eventuell auch aus Methanol (über Methyl-FH₄) (s. Abschnitt 3.2.4) und aus Histidin^[54].

Formyltetrahydrofolat-Synthetase-Aktivität wird jedoch nicht nur in Anaerobiern, sondern auch in aeroben Zellen einschließlich der tierischen Leber^[76] gefunden. Dort erfüllt sie nur eine anabole Funktion.

[71] I. A. Rose, M. Grunberg-Manago, S. R. Korey u. S. Ochoa, J. biol. Chemistry 211, 737 (1954).

[72] K. Decker: Die aktivierte Essigsäure. Enke, Stuttgart 1959, S. 151.

[73] B. K. Joyce u. R. H. Himes, J. biol. Chemistry 241, 5716 (1966); 241, 5725 (1966).

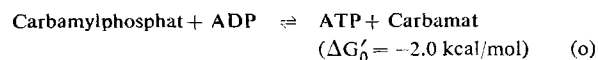
[74] L. Jaenicke, Angew. Chem. 73, 449 (1961).

[75] H. R. Whiteley u. F. M. Huennkens, J. biol. Chemistry 237, 1290 (1962).

[76] L. Jaenicke u. E. Brode, Biochem. Z. 334, 108 (1961).

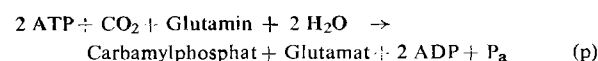
3.1.3. Carbamat-Kinase

ATP aus Carbamylphosphat^[18, 77, 78] [Gl. (o)] bildet sich beim Abbau von Arginin (*S. faecalis*)^[24, 29] und eventuell von Pyrimidinen (*Zymobacterium oroticum*)^[54]. Diese Reaktion wurde jedoch bisher in keinem Organismus als alleiniger ATP*-Syntheseweg nachgewiesen.



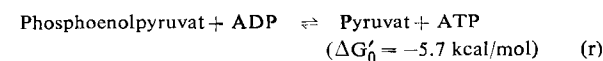
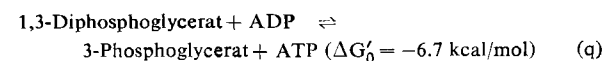
Ganz ähnlich wie im Falle der Acylat-Kinasen [Gl. (i)] und der Acyl-Thiokinasen wurde auch für die anabole Carbamylphosphatbildung [Gl. (p)] in der Natur ein unterschiedlicher Reaktionsweg geschaffen.

Das Enzym Carbamylphosphat-Synthetase benötigt *N*-Acetylglutamat und eventuell Biotin^[79, 79a] als Cofaktoren, arbeitet mit Glutamin statt NH₃, verbraucht 2 mol ATP* und führt damit zur praktisch irreversiblen Bildung von Carbamylphosphat^[79].



3.1.4. Phosphoglycerat-Kinase und Pyruvat-Kinase

Bei kohlenhydratverwertenden Gärungsformen^[53] sind die Enzyme Phosphoglycerat-Kinase (PGK) und Pyruvat-Kinase (PyrK) an der ATP*-Synthese durch Substratstufen-Phosphorylierungen beteiligt [Gl. (q) und (r)]. Die Pyruvat-Kinase führt jedoch zu keiner De-novo-Synthese von ATP*; vielmehr wird das zur Kohlenhydrat-Aktivierung (z.B. durch Hexokinase-Reaktion) eingesetzte Phosphat, das aus ATP* stammt, auf ADP zurückübertragen.



Nur diese beiden Enzyme des anaeroben Kohlenhydrat-Katabolismus spielen auch noch im aeroben Energiestoffwechsel eine wesentliche Rolle.

3.2 Gibt es Elektronentransport-Phosphorylierung in chemotrophen Anaerobiern?

Elektronentransport-Phosphorylierung in chemotrophen Anaerobiern ist zwar theoretisch denkbar, bislang jedoch noch nicht überzeugend nachgewiesen worden. Mögliche Kandidaten sind 1. *C. kluyveri*, *C. sticklandii*, 2. *Methanobacillus omelianskii* und

[77] M. E. Jones u. F. Lipmann, Proc. nat. Acad. Sci. USA 46, 1194 (1960).

[78] M. E. Jones, Methods in Enzymol. 5, 903 (1962).

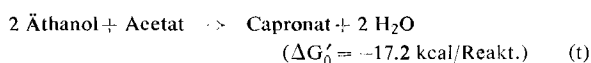
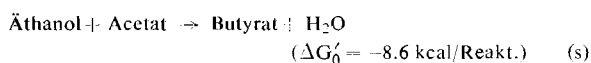
[79] V. P. Wellner, J. I. Santos u. A. Meister, Biochemistry 7, 2848 (1968).

[79a] R. B. Huston u. Ph. P. Cohen, Biochemistry 8, 2658 (1969).

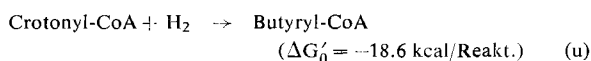
Methanosarcina barkeri; 3. Desulfovibrien. Mit dem vorliegenden experimentellen Material soll versucht werden, diese Frage zu beantworten.

3.2.1. Der Äthanol-Acetat-Stoffwechsel von *Clostridium kluyveri*. Reduktion von Crotonyl-CoA zu Butyryl-CoA

C. kluyveri wächst auf Äthanol, Acetat und CO₂ unter Bildung von Butyrat, Capronat und Wasserstoff^[80]. Die Kondensation von Äthanol und Essigsäure zu Buttersäure (und Capronsäure) [Gl. (45) + Gl. (69) = Gl. (s) und 2 × Gl. (45) + Gl. (69) + Gl. (71) = Gl. (t)] galt lange Zeit als ein Prozeß, an dem mangels einer erkennbaren Substratstufen-Phosphorylierungs-Reaktion Elektronentransport-Phosphorylierung beteiligt sein sollte^[10,81,82].



Als wahrscheinlicher Teilschritt wurde die reduktive Bildung von Butyryl-CoA [Gl. (u)]



angesehen; die Übertragung der Elektronen könnte über ein Pyridinnucleotid auf ein Flavoprotein erfolgen. Grundsätzlich ist eine Elektronentransport-Phosphorylierung in einer solchen Sequenz denkbar, da auch in der Atmungskette die Reduktion von Flavoproteinen durch Pyridinnucleotide mit Phosphorylierung verbunden ist. Dem Nachweis eines derartigen Prozesses käme also prinzipielle Bedeutung zu, zumal die Reduktion von Crotonyl-CoA in einem löslichen Enzymsystem gefunden wurde^[82].

Die Entdeckung, daß mit dem Energiestoffwechsel eine Bildung von H₂ verbunden und diese der Produktion von H₂-Gas und ATP* aus Acetyl-CoA über Acetylphosphat [Gl. (i) und (j)] proportional und für das Wachstum ausreichend ist (s. Abschnitt 2.2), schied jedoch *C. kluyveri* als Kandidaten für ETP aus^[42].

Die quantitativen Daten über die Äthanol-Acetat-Fermentation, zusammen mit übereinstimmenden Ergebnissen aus der Crotonatdisproportionierung [Gl. (g)], gestatten auch eine mechanistische Deutung der Kopplung des energieliefernden mit dem ATP*-synthetisierenden Teilprozeß sowie eine Erklärung für den Acetatbedarf von *C. kluyveri*^[42,82a] (Abb. 6).

Von den Einzelschritten des Gesamtstoffwechsels ist nur die Dehydrierung von Acetaldehyd zu Acetyl-CoA mit einer de-novo-Bildung einer „energiereichen“

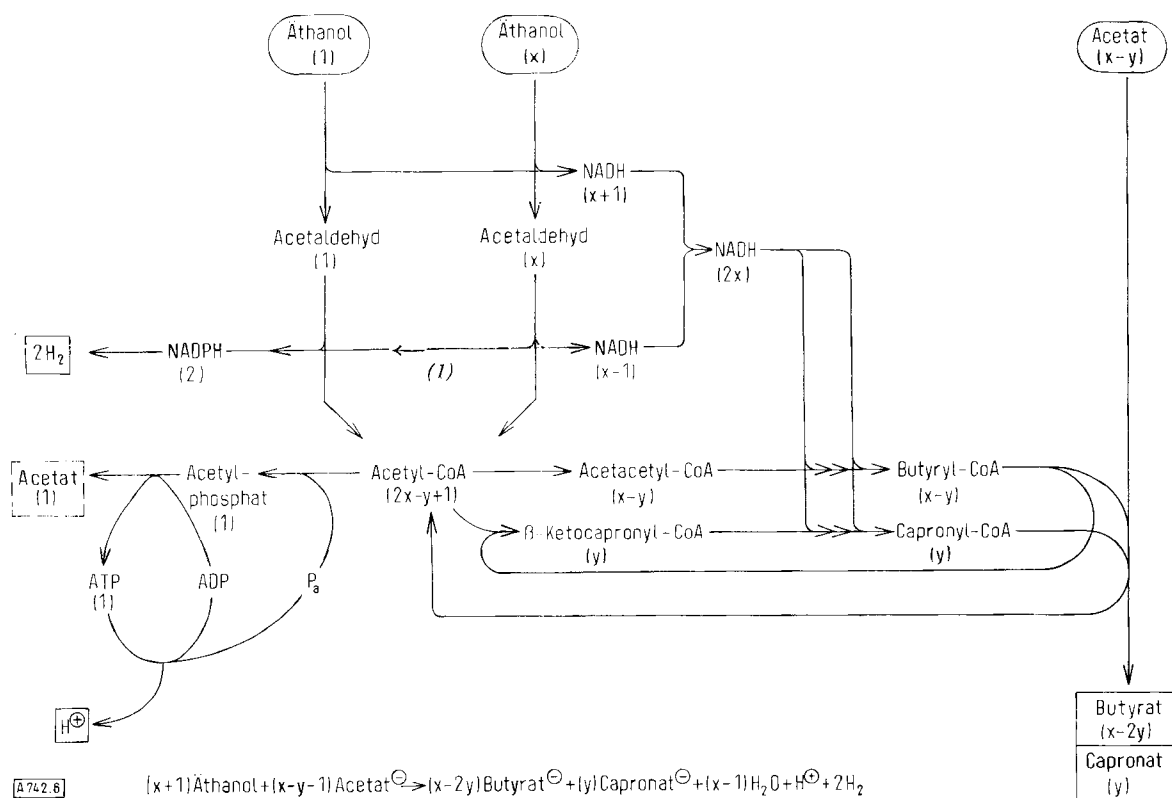


Abb. 6. Schema der Äthanol-Acetat-Gärung in *Clostridium kluyveri*. Die Faktoren x und y tragen der nicht-stöchiometrischen Kopplung der Fettsäure- mit der ATP-Synthese und der wachstumsphasenabhängigen Reaktion von Butyrat- und Capronatbildung Rechnung [42]. Am Anfang der Wachstumsphase beträgt x ≈ 5 und y ≈ 1.

[80] B. T. Bornstein u. H. A. Barker, J. biol. Chemistry 172, 659 (1948).

[81] H. A. Barker: Bacterial Fermentations. Wiley, New York 1956, S. 95.

[82] C. W. Shuster u. I. C. Gunsalus, Federation Proc. 17, 310 (1958).

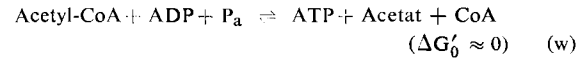
Bindung verknüpft. Der rechte Teil der Abbildung 6 zeigt, daß die überwiegende Menge der aktivierten Essigsäure jedoch zur Butyratsynthese verbraucht wird.

[82a] S. Schoberth u. G. Gottschalk, Arch. Mikrobiol. 65, 318 (1969).

Die ATP*-Synthese durch Substratstufen-Phosphorylierung kann nur mit dem im linken Teil der Abbildung 6 dargestellten Prozeß verbunden sein. In dieser Reaktionskette steht jedoch kein organischer Wasserstoffacceptor zur Verfügung. Die Freie Enthalpie der Acetaldehyd-Dehydrierung kann deshalb nur dann in ATP*-Energie übersetzt werden, wenn Elektronen mit Protonen unter Wasserstoffbildung reagieren. Eine H₂-Bildung aus NADPH wurde in einem löslichen System aus *C. kluyveri* nachgewiesen (Abb. 8) [83,84].

Aus Abbildung 6 wird nicht unmittelbar ersichtlich, weshalb *C. kluyveri* nicht mit den Reaktionen des linken Teilbildes allein sein Wachstum bestreiten und auf die umfangreiche Fettsäurebildung verzichten kann. Die Bildung von Essigsäure und Wasserstoff aus Äthanol [Gl. (45)] ist jedoch endergon und kann allein keinesfalls auch noch mit einer Netto-ATP*-Synthese

Durch diesen Prozeß wird das infolge der exergonen Bildung höhere Gruppenpotential des Butyryl-CoA auf den Acetyl-CoA-Pool übertragen und erlaubt damit eine thermodynamisch realisierbare ATP*-Synthese [Gl. (w); vgl. Gl. (i) und (j)].



Da sich die unterschiedlichen Gruppenpotentiale der CoA-Thioester in ihren stationären Konzentrationen manifestieren (Abb. 7), ist durch die Gleichung (v) auch das nichtstöchiometrische Verhältnis von Butyrat-, Capronat- und ATP*-Synthese deutbar. Unter Wachstumsbedingungen wird der „Pumpmechanismus“ pro mol ATP* ca. fünfmal durchlaufen; damit wird ein thermodynamischer Wirkungsgrad von etwa 20% erreicht.

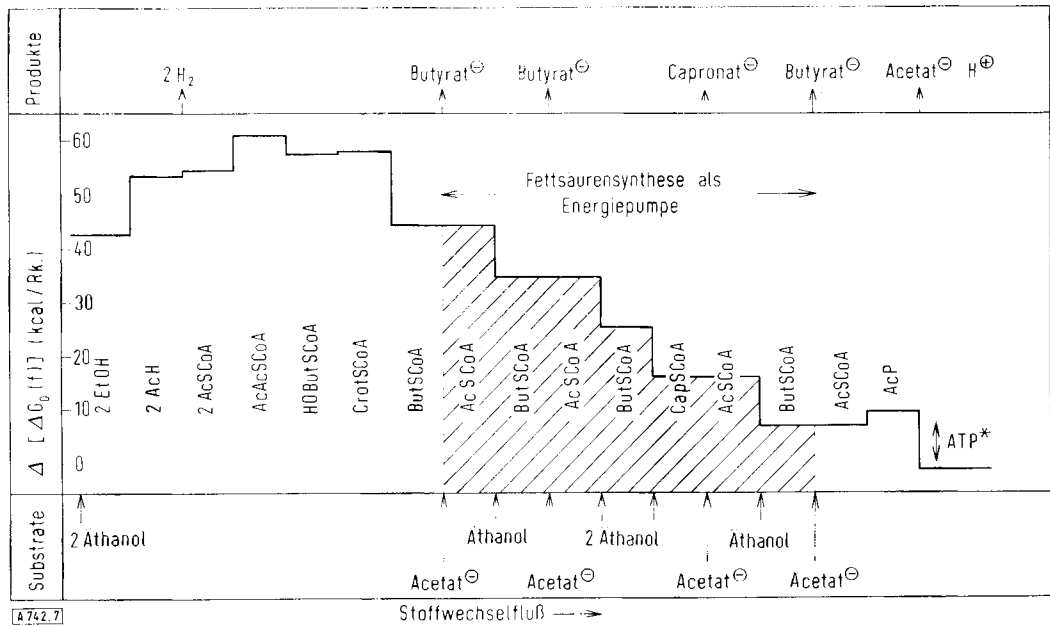
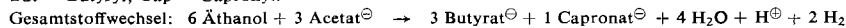
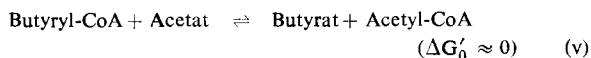


Abb. 7. Energieprofil der Metabolite der Äthanol-Acetat-Gärung von *Clostridium kluyveri*. Man beachte die Zunahme des Gruppenpotentials $\Delta G'_0$ von Acetyl-CoA mit jedem „Takt“ der Fettsäuresynthese als Folge der Vergrößerung der Potentialdifferenz $[\Delta G'_0(f)]$ gegenüber Äthanol. Die Freien Bildungsenthalpien $\Delta G'_0(f)$ von Coenzym A, P_a und H_2O sind bei der Berechnung der Differenzen berücksichtigt.

EtOH = Äthanol; AcH = Acetaldehyd; Ac = Acetyl; AcAc = Acetacetyl; HOBut = β -Hydroxybutyryl; Crot = Crotonyl; But = Butyryl; Cap = Capronyl.



verbunden werden. Die Butyrat- (bzw. Capronat-) Synthese aus Äthanol und Acetat [Gl. (s) bzw. (t)] dagegen ist exergon, wenn auch unter Berücksichtigung der η -Werte (s. Abschnitt 2.3) nicht genügend, um stöchiometrisch pro entstandenem Butyrat ein ATP* zu bilden. Die Fettsäuresynthese muß deshalb nach Art eines „Pumpmechanismus“ mehrmals durchlaufen werden, um genügend Freie Enthalpie für eine zellphysiologisch mögliche ATP*-Synthese zu gewährleisten. Für diese nichtstöchiometrische Energiekopplung ist das CoA-Transferase-System [Gl. (v)] verantwortlich.

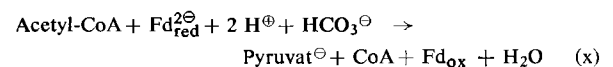


[83] K. Jungermann, R. K. Thauer, E. Rupprecht, C. Ohrloff, u. K. Decker, FEBS Letters 3, 144 (1969).

[84] R. K. Thauer, K. Jungermann, E. Rupprecht u. K. Decker, FEBS Letters 4, 108 (1969).

Die Notwendigkeit, C₄- und C₆-Fettsäuren zu synthetisieren, macht auch verständlich, daß *C. kluyveri* Acetat als Substrat benötigt und nicht allein auf Äthanol wachsen kann.

Der Baustoffwechsel von *C. kluyveri* [52,85] wird im wesentlichen durch die ferredoxin(Fd)-abhängige Pyruvat-Synthese [86,87] nach Gl. (x) (s. auch Abb. 8)



repräsentiert; in der Gesamtstoffwechselbilanz fällt er nicht ins Gewicht (Tabelle 7).

[85] K. Jungermann, R. K. Thauer u. K. Decker, Europ. J. Biochem. 3, 351 (1968).

[86] I. G. Andrew u. J. G. Morris, Biochim. biophysica Acta 97, 176 (1965).

[87] G. Gottschalk u. A. A. Chowdhury, FEBS Letters 2, 342 (1969).

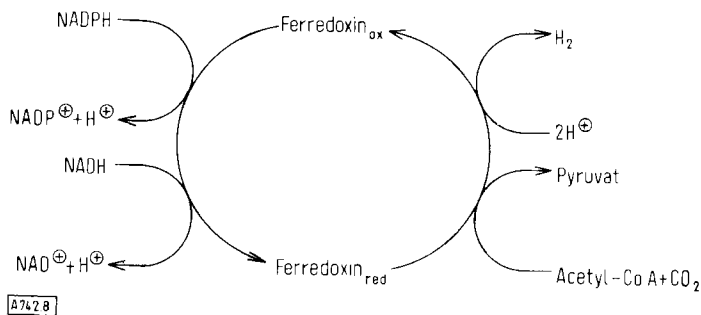


Abb. 8. Ferredoxin-abhängige Reaktionen in *C. kluyveri*. Die Fd-Reduktion durch NADPH wird durch NAD^+ aktiviert und durch NADH gehemmt, die Fd-Reduktion durch NADH wird durch Acetyl-CoA aktiviert.

Es ist bemerkenswert, daß in *C. kluyveri* die Reduktion des Ferredoxins ($E'_0 = -420 \text{ mV}$) nicht durch Elektronendonoren mit einem negativeren Redoxpotential, sondern durch Pyridinnucleotide ($E'_0 = -320 \text{ mV}$) erfolgt (Abb. 8).

3.2.2. Der Alanin-Glycin-Stoffwechsel in *C. sticklandii*. Reduktion von Glycin zu Acetat und NH_3

Einige Clostridien vermögen ihre Energie aus einem Redoxprozeß zu gewinnen, bei dem ein mol einer Aminosäure dehydriert und zwei mol einer anderen reduziert werden (Abb. 9) [54].

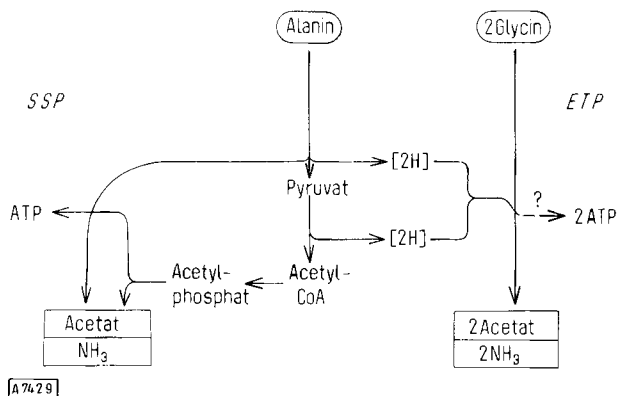
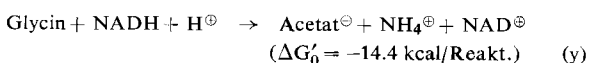


Abb. 9. Schema einer Stickland-Reaktion (Alanin-Glycin-Stoffwechsel von *Clostridium sticklandii*).

SSP = Substratstufen-Phosphorylierung; ETP = Elektronentransport-Phosphorylierung.

Mit dem dehydrierenden Prozeß ist eine Substratstufen-Phosphorylierung verbunden. In *Clostridium sticklandii* und *Clostridium lentoputrescens*



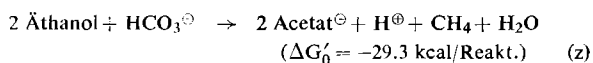
scheint auch das reduzierende System [Gl. (y)] mit einer ATP*-Bildung gekoppelt zu sein [88, 89].

Der Ablauf dieses Prozesses, an dem mehrere Proteinfaktionen und Cofaktoren beteiligt sind, ist noch unklar. Da diese Phosphorylierung empfindlich gegen entkoppelnde Agentien ist, wurde das Vorhandensein von Elektronentransport-Phosphorylierung postuliert. Sollte der hydrierende

Prozeß mit einer Elektronentransport-Phosphorylierung, die stöchiometrisch erfolgen müßte, gekoppelt sein, so würde sich ein thermodynamischer Wirkungsgrad des Gesamtstoffwechsels (γ) von ca. 65% ergeben. Derartig hohe Ausbeuten machen eine solche Reaktion unwahrscheinlich. Y-Werte sind wegen des komplizierten Nährstoffbedarfs dieser Organismen noch nicht bestimmt worden. Die endgültige Entscheidung, ob Elektronentransport-Phosphorylierung an der Glycinreduktion beteiligt ist, kann erst nach Kenntnis des Reaktionsverlaufs gefällt werden.

3.2.3. Der Äthanol- CO_2 -Stoffwechsel in *Methanobacillus omelianskii*. Reduktion von CO_2 zu CH_4

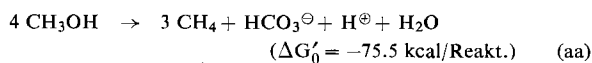
Der Stoffwechsel der Methanbildner birgt mechanistisch und thermodynamisch interessante Probleme. Insgesamt ist die Bildung von Methan aus CO_2 und Äthanol ein exergoner Prozeß [$2 \times \text{Gl. (45)} + \text{Gl. (117)} \rightarrow \text{Gl. (z)}$].



Da nach den vorliegenden Ergebnissen [90] Acetat in Gl. (45) nicht über Acetyl-CoA gebildet wird, ist der Ablauf der ATP*-Synthese in diesem Organismus nicht geklärt. Neuerdings wurde darüberhinaus berichtet, daß die als *M. omelianskii* beschriebenen Kulturen eine Symbiose zweier Bakterienspezies sei, deren eine einen Stoffwechsel nach Gl. (45), deren andere einen nach Gl. (117) haben soll [91]. Es ist aus thermodynamischen Gründen jedoch ausgeschlossen, daß ein Organismus mit der endergonen Reaktion Gl. (45) allein seinen Energiestoffwechsel unterhalten kann. Gewisse Beobachtungen sprechen dafür, daß der auf CO_2 und H_2 wachsende Organismus zu seinem Wachstum zusätzlich Acetat benötigt [91]. Eine Deutung der Stoffwechselsituation von *M. omelianskii* und damit der Frage einer Elektronentransport-Phosphorylierung ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht möglich.

3.2.4. Der Methanol-Stoffwechsel in *Methanosarcina barkeri*. Reduktion von CH_3OH zu CH_4

Methanosarcina barkeri bildet Methan und CO_2 durch Disproportionierung von Methanol [$3 \times \text{Gl. (104)} + \text{Gl. (44)} = \text{Gl. (aa)}$] [43].



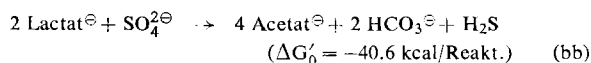
Aufgrund des gemessenen Y_S -Wertes von ca. 3.3, entsprechend $\gamma = 0.3$, würde ein mol ATP* pro 3–4 mol verbrauchtem Methanol gebildet werden; dies könnte am wahrscheinlichsten bei der Dehydrierung des Methanols, etwa über die Formyltetrahydrofolat-Synthetase-Reaktion [Gl. (n)], geschehen. Da eine zusätzliche Elektronentransport-Phosphorylierung bei der Reduktion des CH_3OH zu CH_4 einen γ -Wert von 1.0 ergeben müßte, besteht kein Anlaß, bei dieser Gärung eine Elektronentransport-Phosphorylierung zu postulieren.

[90] W. J. Brill u. R. S. Wolfe, Federat. Proc. 24, 233 (1964).

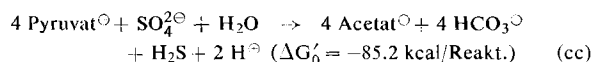
[91] M. P. Bryant, E. A. Wolin, M. J. Wolin u. R. S. Wolfe, Arch. Mikrobiol. 59, 20 (1967).

3.2.5. Der Lactat-Sulfat-Stoffwechsel in Desulfovibrien. Reduktion von Sulfat zu Sulfid

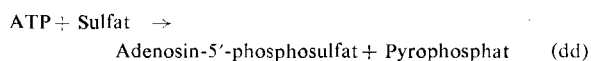
In diesen Organismen^[26,92] ist die Dehydrierung von Lactat (oder Pyruvat) zu Essigsäure mit der Reduktion von anorganischem Sulfat gekoppelt [$2 \times \text{Gl. (17)} + \text{Gl. (125)} = \text{Gl. (bb)}$ bzw. $4 \times \text{Gl. (10)} + \text{Gl. (125)} = \text{Gl. (cc)}$].



bzw.



Die acht Elektronen für die Reduktion des $\text{SO}_4^{2\ominus}$ zu $\text{S}^{2\ominus}$ werden durch die Dehydrierung von Lactat (2 mol) bzw. Pyruvat (4 mol) geliefert. Die Bildung von Acetat ist von einer Substratstufen-Phosphorylierung begleitet, so daß mit Lactat als Elektronendonator 2, mit Pyruvat 4 ATP*/mol reduziertem $\text{SO}_4^{2\ominus}$ gebildet werden. Der Reduktion des Sulfats geht seine Aktivierung nach Gl. (dd) voraus^[14].



Vermutlich wird Pyrophosphat auch in diesen Bakterien hydrolytisch gespalten [Gl. (l)], so daß die Aktivierung des $\text{SO}_4^{2\ominus}$ mit einem Nettoaufwand von 2 ATP* verbunden ist. Es stünde dem Organismus also nur in Gegenwart von Pyruvat, nicht aber von Lactat, durch Substratstufen-Phosphorylierung ATP* für die anabolen Bedürfnisse zur Verfügung. Die Bestimmung von Y_{ATP} mit Lactat und Pyruvat als Substrat ergab jedoch in gleicher Weise Werte zwischen 9 und 10^[26].

Da *Desulfovibrio* ein Cytochrom c_3 besitzt, das Elektronen aus der Pyruvatdehydrierung aufnimmt, und Berichte über ein autotrophes Wachstum vorliegen^[93], wurde die Mitwirkung von Elektronentransport-Phosphorylierung postuliert. Hinweise^[94,95] auf eine geringfügige Phosphorylierung bei der Sulfatreduktion in zellfreien Extrakten von *D. gigas* und deren Entkopplung durch Substanzen wie 2,4-Dinitrophenol, die auch die oxidative Phosphorylierung inhibieren, stützten die Hypothese einer Elektronentransport-Phosphorylierung.

Die Fähigkeit zur Autotrophie ist jedoch in Frage gestellt worden^[96–98]; auch sind nicht alle am Energie-

stoffwechsel beteiligten Substrate und Produkte gleichzeitig bestimmt worden. Die Stöchiometrie der Gl. (bb) und (cc) ist also experimentell nicht sichergestellt. Obwohl das vorliegende Material auf eine Elektronentransport-Phosphorylierung in *Desulfovibrien* hinweist, steht der endgültige Beweis noch aus.

4. Stellung der Anaerobier in der Phylogenese

Zum Abschluß sollen die molekulare Evolution der Mechanismen biologischer Energietransformationen und damit die Stellung der heutigen Anaerobier in der Phylogenese besprochen werden. Auf der Basis der Chemismen des Energie- und auch des Baustoffwechsels soll der bisher üblichen physiologischen Abgrenzung der Anaerobier gegenüber den Aerobiern sowie der Definition der Stoffwechsel-Grundtypen eine biochemische Grundlage gegeben werden.

4.1. Molekulare Evolution

Die ersten Lebewesen müssen zu einer Zeit entstanden sein, als die Erde noch von einer reduzierenden Atmosphäre umgeben war^[2,3]. Diesen Ur-Anaerobiern standen als Nährsubstrate vorwiegend einfache, abiotogene organische Verbindungen wie Aminosäuren, Alkohole, kurzkettige substituierte Fettsäuren, Nucleinbasen und Kohlenhydrate zur Verfügung^[99]. Diese chemoheterotrophen Organismen gewannen ihre Energie wahrscheinlich durch Substratstufen-Phosphorylierungen (Fermentationen, s.u.). Man nimmt an, daß sich erst später, aber noch in der anaeroben Phase, die Fähigkeit entwickelt hat, die Lichtenergie der Sonne über Elektronentransport-Phosphorylierungen zu verwerten (Photosynthese, s.u.). Aus diesen jüngeren photoheterotrophen sind dann die ersten photoautotrophen (immer noch anaeroben) Organismen hervorgegangen.

Der Übergang zur heutigen oxidierenden Atmosphäre wird allgemein mit der Bildung von Sauerstoff durch die biologische Photolyse des Wassers (Typ Pflanzen-Photosynthese^[*]) erklärt. Daher sind als jüngste Mechanismen biologischer Energieumwandlung die chemoheterotrophen und die chemoautotrophen Redoxprozesse mit Sauerstoff als terminalem Elektronenacceptor, als jüngste Organismen also die Aerobier anzusehen (Atmung, s.u.).

Die energieumformenden Systeme in Atmung und Photosynthese weisen große Ähnlichkeit auf; beide besitzen partikuläre, elektronentransportierende Cytochrom-Systeme, die mit der ATP*-Synthese gekoppelt sind. Es ist daher zu vermuten, daß sie nicht unabhängig voneinander entwickelt wurden, sondern eines aus

[92] J. R. Postgate u. L. L. Campbell, *Bacteriol. Rev.* 30, 732 (1966); P. A. Trudinger, *Advances microbial Physiol.* 3, 111 (1969).

[93] K. R. Butlin, M. E. Adams u. M. Thomas, *J. gen. Microbiol.* 3, 46 (1949).

[94] H. D. Peck, *J. biol. Chem.* 235, 2734 (1960).

[95] H. D. Peck, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* 22, 112 (1966).

[96] J. R. Postgate, *Z. allg. Mikrobiol., Morphol., Physiol., Genetik Ökol. Mikroorganismen* 1, 53 (1960).

[97] B. J. Mechals u. S. C. Rittenberg, *J. Bacteriol.* 80, 501 (1960).

[98] Yu. I. Sorokin, *Nature (London)* 210, 551 (1966).

[99] A. I. Oparin: *Genesis and Evolutionary Development of Life*. Academic Press, New York 1968; S. W. Fox: *The Origins of Prebiological Systems*. Academic Press, New York 1965.

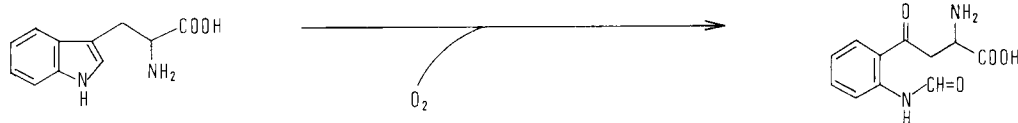
[*] Bei der Bakterien-Photosynthese kann Wasser nicht als Elektronendonator dienen; deshalb entsteht kein Sauerstoff.

dem anderen entstand. Die Entstehung des Atmungs- aus dem Photosyntheseapparat ist umso leichter vorstellbar, als der durch Cytochrom vermittelte Elektronentransport in der Photosynthese im Prinzip durch Erwerb nur eines einzigen autoxidablen Enzyms, der Cytochrom-Oxidase (Abb. 10), auf Sauerstoff umgeleitet werden kann. Cytochrom-Oxidase, Warburgs Atmungsferment, muß demnach als das spezifische Enzym des aeroben Energiestoffwechsels angesehen werden.

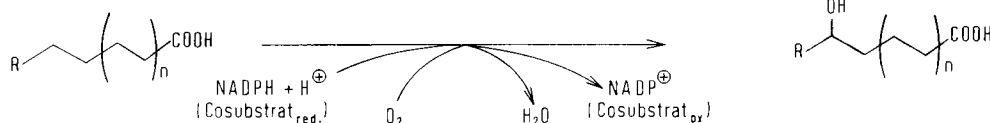
Als phylogenetisch noch jüngere Erwerbung ist die Enzymklasse der Oxygenasen zu betrachten (Abb. 10). Sie sind typische Enzyme des aeroben Baustoffwechsels, sind jedoch in wenigen Fällen auch in den Katabolismus (z. B. Aromaten) eingeschaltet [99a].

Oxygenasen

1. Isotrispezifische Oxygenasen (E.C.1.13.)

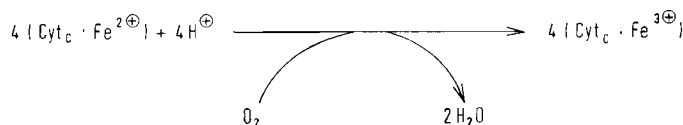


2. Hydroxylasen (mischfunktionelle Oxygenasen; E.C.1.14.)



Oxidasen

1. Cytochrom-Oxidasen (E.C.1.9.3.)



[A 742, 10]

Abb. 10. Wirkungsweise von Oxygenasen, Hydroxylasen und Oxidasen. Oxygenasen führen beide Atome, Hydroxylasen nur ein Atom des molekularen Sauerstoffs in ein Substrat ein; Oxidasen benötigen molekularen Sauerstoff als Elektronenacceptor; Sauerstoff wird nicht in das Substrat eingeführt.

4.2. Anaerobier — Aerobier

Die übliche physiologische Klassifizierung der Organismen in Anaerobier und fakultative sowie obligate Aerobier erfolgte aufgrund der Fähigkeit, in Abwesenheit und/oder in Gegenwart von Sauerstoff zu wachsen [100]. Die heutigen Kenntnisse über sauerstoffabhängige Enzymprozesse und ihre molekulare Evolution bieten nun auch Ansatzpunkte einer Klärung dieser Begriffe auf der Basis der Stoffwechselchemie.

Anaerobier lassen sich demnach definieren als Organismen, die keine Cytochrom-Oxidasen und keine Oxygenasen besitzen. **Fakultative Aerobier** haben einen oxygenasefreien Baustoffwechsel und können ihre

[99a] O. Hayaishi, M. Katagiri u. S. Rothberg, J. biol. Chemistry 229, 905 (1957); O. Hayaishi, Annu. Rev. Biochem. 38, 21 (1969).

[100] R. H. McBee, C. Lamanna u. O. B. Weeks, Bacteriol. Reviews 19, 45 (1955).

Energie sowohl durch sauerstoffabhängige (Cytochrom-Oxidase) als auch durch sauerstoffunabhängige (pyridinnucleotid-regenerierende Dehydrogenasen oder Reduktasen) Redoxprozesse gewinnen.

Obligate Aerobier sind Organismen, deren Energiestoffwechsel in jedem Falle Cytochrom-Oxidasen einschließt, die meist aber auch über Oxygenasen in ihrem Baustoffwechsel verfügen. In diese Gruppe gehören auch jene Organismen, die nur mittelbar einen sauerstoffabhängigen Baustoffwechsel haben; ihnen müssen Substanzen mit dem Nährmedium zugeführt werden, die nur in oxygenase-katalysierten Reaktionen biosynthetisiert werden können [100a]. Solche Substanzen sind z. B. Polyensäuren [101], Steroide [102, 103] und Phycobiline[*] [104] sowie für die meisten Organismen auch Monoensäuren und Pyridinnucleotide.

Nach dieser Definition sind die Bierhefen (z. B. *Saccharomyces cerevisiae*) obligate Aerobier, Enterobakterien (z. B. *Escherichia coli*) fakultative Aerobier

und die Milchsäurebakterien (z. B. *Lactobacillus plantarum*) Anaerobier. *Saccharomyces*-Stämme wachsen zwar auch in Abwesenheit von Sauerstoff, sind aber unter anaeroben Bedingungen auf Zusatz von Steroiden und ungesättigten Fettsäuren angewiesen [101, 105].

[100a] D. E. Hughes u. I. W. T. Wimpenny, Advances microbial Physiol. 3, 197 (1969).

[101] I. Erwin u. K. Bloch, Science 143, 1006 (1964).

[102] O. Hayaishi, Bacteriol. Reviews 30, 720 (1966).

[103] E. J. Corey, W. E. Russey u. P. R. Ortiz de Montellano, J. Amer. chem. Soc. 88, 4750 (1966).

[*] Die Biosynthese der Phycobiline ist zur Zeit noch nicht vollständig aufgeklärt. Sie dürfte analog der Gallenfarbstoffsynthese über einen Tetrapyrrolring verlaufen, der in einer oxygenase-katalysierten Reaktion mit O₂ geöffnet wird.

[104] R. Troxler u. L. Bogorad in T. W. Goodwin: Biochemistry of Chloroplasts. Academic Press, New York 1967, S. 421; R. Tenhunen, H. S. Marver u. R. Schmid, J. biol. Chem. 244, 6388 (1969).

[105] A. Uhl in F. Reif, R. Kautzmann, H. Lüers u. M. Lindemann: Die Hefen. Verlag Carl, Nürnberg 1960, S. 252.

Für sie gilt das Wort „Ohne Sauerstoff kein Leben“, obwohl gerade *Pasteurs* anaerobe Stoffwechselversuche mit Hefen dazu beigetragen hatten, diese These erstmals in Zweifel zu ziehen. *E. coli* hat keine Oxygenasen^[101] und kann völlig ohne Sauerstoff leben. In Gegenwart von Sauerstoff wird ein cytochrom-oxidase-abhängiger Energiestoffwechsel induziert^[106], der höhere Wachstumserträge bei geringerer Generationszeit ermöglicht; *E. coli* ist daher als ein fakultativer Aerobier zu betrachten. Milchsäurebakterien haben weder Cytochrom-Oxidasen noch Oxygenasen^[107] und müssen zu den Anaerobiern gezählt werden; das gilt auch für die wenigen Stämme, die mit ihren kon-

Alle Eucaryonten und die blaugrünen Algen der Klasse der Procaryonten sind also obligate Aerobier.

Bakterien benötigen weder Sterine^[112] (s. aber auch^[113]) noch Polyensäuren^[101] oder Phycobiline^[104] und bilden Pyridinnucleotide und Monoensäuren in oxygenase-unabhängigen Reaktionen. Nur unter den Bakterien kann es daher Anaerobier und fakultative Aerobier geben. Aber auch hier findet man bereits einige obligate Aerobier, die Pyridinnucleotide (*Xanthomonas pruni*)^[114] und Monoensäuren (*Bacillus megaterium*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Mycobacterium phlei* sowie *Corynebacteria*)^[115] nur mit Oxygenasen synthetisieren können (Tabelle 9).

Tabelle 9. Vorkommen von Cytochrom-Oxidasen und Oxygenasen in lebenden Organismen.

			Katabolismus	Anabolismus	
			Cytochrom-Oxidasen [a]	Oxygenasen [b]	
Procaryonten	Niedere Protisten	Bakterien	—	—	Anaerobier
			±	—	fakultative Aerobier
			+	+	
		Cyanophyten	+	+	obligate Aerobier
Eucaryonten	Höhere Protisten	Algen	+	±	
		Protozoen			
	Pflanzen	Pilze			
			+	+	
	Tiere		+	+	

[a] Cytochrom-Oxidasen (E.C. 1.9.3.). [b] Oxygenasen (E.C. 1.13. und 1.14.), z.B. Tryptophan-Pyrrolase zur NAD(P)-Synthese, Fettsäure-Hydroxylase zur Synthese ungesättigter Fettsäuren, Squalen-Epoxidase zur Steroidsynthese.

stitutiven oder in Gegenwart von Sauerstoff induzierbaren NADH-Oxidasen und NADH-Peroxidasen in gewissem Umfang zu einer cytochrom-unabhängigen „Flavoprotein-Atmung“ befähigt sind^[108].

Die anaeroben Milchsäure- und Propionsäure-Bakterien nehmen eine Sonderstellung ein. Die Milchsäure-Bakterien bilden zum Teil Nicht-Häm-Katalasen (Pseudo-Katalasen), oder — in Gegenwart von exogenen Porphyrinen — Häm-Katalasen^[107, 109]. In Propionsäure-Bakterien findet man neben Cytochromen und Katalasen^[110] auch alle Enzyme des Citratcyclus^[111], der in Aerobiern für die Endoxidation der Kohlenstoffsubstrate verantwortlich ist. Diese für Anaerobier außergewöhnlichen Eigenschaften lassen vermuten, daß die Milchsäure- und die Propionsäure-Bakterien aus fakultativen Aerobiern durch unterschiedlich umfangreiche Verluste im Cytochromsystem hervorgegangen, also wieder auf eine schon überwundene Entwicklungsstufe zurückgefallen sind^[107].

Tiere, höhere Pflanzen, Algen, Protozoen und Pilze benötigen zur Zellsynthese Steroide und Polyensäuren, die blaugrünen Algen Polyensäuren und Phycobiline.

Betrachtet man Milchsäure- und Propionsäure-Bakterien als Revertanten, dann sind die Clostridien, die methanbildenden und die sulfatreduzierenden Bakterien sowie die purpurnen und grünen Schwefelbakterien die eigentlichen Anaerobier. Da sich die Autotrophie bei der Evolution aus der Heterotrophie entwickelt hat, ist der Stoffwechsel der autotrophen Schwefelbakterien kaum mehr mit dem der Ur-Anaerobiern verwandt. Auch die sulfat-reduzierenden Bakterien sind wegen ihres Cytochromgehalts als eine höhere Entwicklungsstufe zu betrachten. Es bleiben also die Clostridien und die methanbildenden Bakterien, die den Ur-Anaerobiern in ihrem Stoffwechsel am ähnlichsten sind.

Diese Auffassung findet eine Stütze in der Beobachtung, daß nur in dieser Gruppe von Anaerobiern die Fähigkeit erhalten geblieben ist, alle Nährstofftypen zu metabolisieren, während bereits die fakultativen Aerobier in Abwesenheit von Sauerstoff nur noch Kohlenhydrate und diesen nahe verwandte Verbindungen verwerten können. Dies mag als Folge einer

[106] J. W. T. Wimpenny bzw. D. Lloyd in P. M. Meadow u. S. J. Pitt: Microbial Growth. Cambridge University Press, Cambridge 1969, S. 161 bzw. S. 299.

[107] R. Whittenbury, J. gen. Microbiol. 35, 13 (1964).

[108] M. I. Dolin in I. C. Gunsalus u. R. Y. Stanier: The Bacteria. Academic Press, New York 1962, Bd. 2, S. 319, 425.

[109] M. A. Johnston u. E. A. Delwiche, J. Bacteriol. 90, 347 (1965); 90, 352 (1965).

[110] C. W. Moss, V. R. Dowell jr., V. J. Lewis u. M. A. Schekter, J. Bacteriol. 94, 1300 (1967).

[111] E. A. Delwiche u. S. F. Carson, J. Bacteriol. 65, 318 (1953).

[112] K. Bloch, Angew. Chem. 77, 944 (1965).

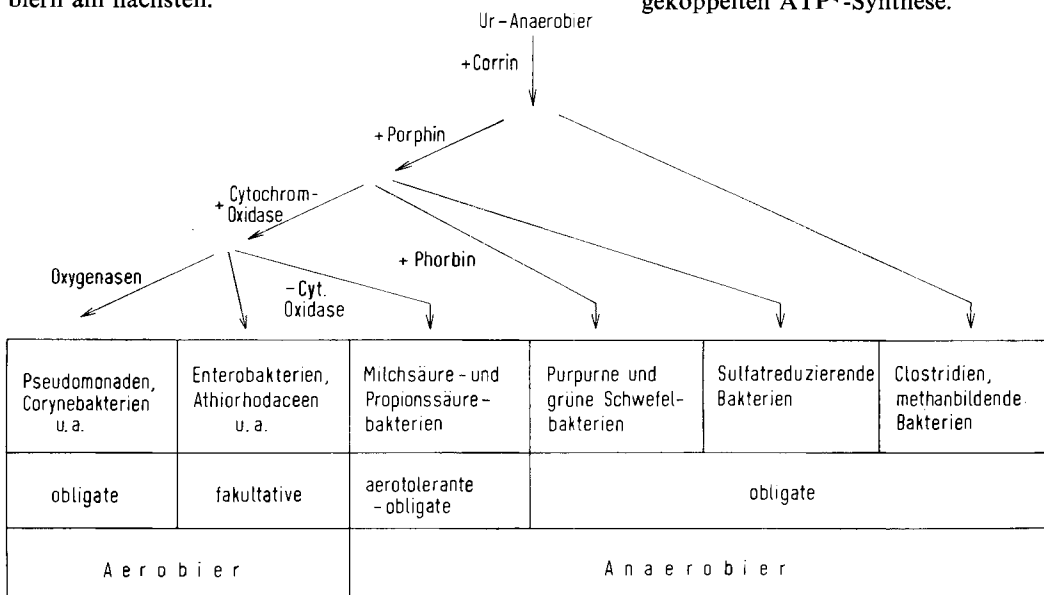
[113] K. Schubert, G. Rose, H. Wachtel, C. Hörhold u. N. Ikekawa, Europ. J. Biochem. 5, 246 (1968).

[114] R. E. Saxton, V. Rocha, R. J. Rosser, A. J. Andreoli, M. Shimoyama, A. Kosaka, J. L. R. Chandler u. R. K. Gholson, Biochim. biophysica Acta 156, 77 (1968).

[115] A. J. Fulco u. K. Bloch, Biochim. biophysica Acta 63, 545 (1962).

dem Wechsel von reduzierender zu oxidierender Atmosphäre parallel laufenden Änderung des Nährstoffangebots angesehen werden. Während dem Ur-Anaerobier noch eine große Zahl von Substanzklassen zur Verfügung stand, wurde später durch die Photosynthese zugleich mit dem Sauerstoff ein großer Vorrat an Kohlenhydraten geschaffen. Die entstehenden Aerobier sollten also in Richtung der Kohlenhydratverwertung selektioniert worden sein.

Zum gleichen Ergebnis führt die Betrachtung der molekularen Evolution der Tetrapyrrol-Verbindungen (Abb. 11). Corrin-, Porphin- und Phorbinring werden in den Zellen aus Porphobilinogen über gemeinsame Zwischenstufen synthetisiert [116]. Da die Biosynthese des Phorbinrings über das Porphin-System verläuft, dürfte der Porphinring dem Phorbinring in der Evolution vorangegangen sein. Der Corrin-, nicht aber der Porphin- und noch weniger der Phorbinring kann von allen Bakterien synthetisiert werden; auch sind die Seitenketten der Pyrrolringe im Corrin-System im Vergleich zu denen der anderen Tetrapyrrole noch am vollständigsten erhalten. Man mag daraus entnehmen, daß das Corrin-Ringsystem das phylogenetisch älteste ist (Abb. 11). Auch unter diesem Aspekt stehen die in dieser Arbeit besprochenen Clostridien und die methanbildenden Bakterien den Ur-Anaerobiern am nächsten.



[A 742.11]

Abb. 11. Biologische Evolution der Mikroorganismen.

4.3 Fermentation, Photosynthese und Atmung

Mit den Begriffen Aerobiose und Anaerobiose hängen die ebenfalls aus physiologischen Experimenten abgeleiteten Termini Fermentation (Gärung) und Atmung

[116] J. Lascelles: Tetrapyrrole Biosynthesis and its Regulation. Benjamin, New York 1964.

eng zusammen. Sie werden in der Literatur häufig uneinheitlich gebraucht. Meist werden als Fermentationen Redoxprozesse mit organischen, als anaerobe Atmung Redoxprozesse mit anorganischen Elektronenacceptoren (außer O₂) bezeichnet. Atmung liegt vor, wenn Sauerstoff als terminales Oxidans fungiert. Dazu im Widerspruch stehen Begriffe wie „Fumarat-Atmung“ und „anorganische Fermentation“.

Eine in sich konsistente Definition der Stoffwechsel-Grundtypen Fermentation, Atmung und Photosynthese bietet sich an aus dem Zusammenhang von Elektronendonator- und -acceptorsystemen einerseits und den ATP*-Synthesewegen andererseits (Tabelle 1). In *Fermentationen* kann ATP* nur durch Substratstufen-Phosphorylierung gebildet werden, während die *Zellatmung* ein Redoxprozeß ist, in dem ATP* überwiegend durch Elektronentransport-Phosphorylierung synthetisiert wird. Im Photosyntheseprozess stehen lichtgetriebene Elektronentransport-Phosphorylierungen im Vordergrund.

Dementsprechend ist unter *anorganischer Fermentation* ein Redoxprozeß mit anorganischem Elektronenacceptor zu verstehen, in dem ATP* ausschließlich durch Substratstufen-Phosphorylierung gebildet wird. *Anaerobe Atmung* bedeutet einen sauerstofflosen Energiestoffwechsel mit einer an Elektronentransport gekoppelten ATP*-Synthese.

Durch Zuordnung der Atmung zur Elektronentransport- und der Fermentation zur Substratstufen-Phosphorylierung wird eine einheitliche und funktionell sinnvolle Definition gewonnen. Damit wird auch die Verwendung der Begriffe organische und anorganische Fermentation sowie aerobe und anaerobe Atmung eindeutig.

Eingegangen am 14. Mai 1969 [A 742]