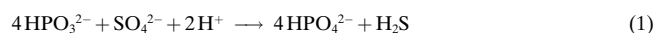


Anorganische Chemie in Meeressedimenten

Wolfgang Buckel*

Die Mikrobiologie kennt mehrere anaerobe lithotrophe Organismen, die, wie der Name sagt, über anorganische Energiequellen verfügen. Am besten untersucht ist die Reduktion von CO_2 mit molekularem Wasserstoff zu Acetat durch acetogene Bakterien oder zu Methan durch methanogene Archaeobakterien.^[1] Anstelle von CO_2 dient marinen Organismen häufig Sulfat (S^{VI}) als Elektronenacceptor, das durch acht Elektronen zu Sulfid (S^{II}) reduziert wird. Diese sulfatreduzierenden Organismen können bei noch geringeren Wasserstoffpartialdrücken als methanogene oder acetogene Organismen wachsen. Im Meerwasser mit 20 mM Sulfat sind sie deshalb den methanogenen Organismen überlegen, während letztere in den sulfatarmen Süßwassersümpfen und Sedimenten dominieren. Sulfatreduzierende Organismen sind auch metabolisch viel variationsreicher als methanogene. Sie können nicht nur Wasserstoff oxidieren, sondern auch die verschiedensten organischen Substrate wie Lactat, Fettsäuren, Dicarbonsäuren und Benzoat entweder zu Acetat oder vollständig zu CO_2 oxidieren.^[2]

Vor kurzem wurde nun ein neuer anorganischer Elektronendonator in der Mikrobiologie erkannt, das Phosphit. Bernhard Schink von der Universität Konstanz gelang es zusammen mit Michael Friedrich vom Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg, einen sulfatreduzierenden Organismus aus Sedimenten des Canale Grande in Venedig zu isolieren, der Phosphit (P^{III}) zu Phosphat (P^{V}) oxidiert [Gl. (1)].^[3] Die strikt anaeroben Organismen (Stamm

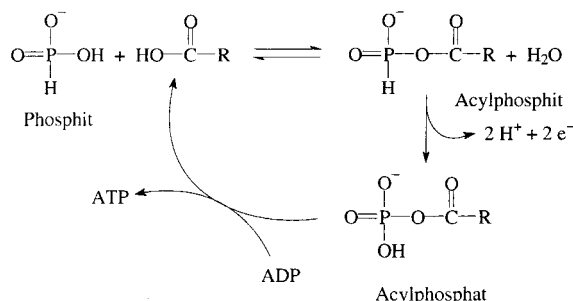


FiPS3 und FiPS5), die diese rein anorganische Gärung oder Sulfatatmung durchführen, wachsen mit einer Verdopplungszeit von drei Tagen und benötigen keinerlei organische Verbindungen für die Synthese ihres Zellmaterials. Sie können CO_2 assimilieren und werden deshalb als lithoautotroph bezeichnet. Nach der Sequenz ihrer 16S-ribosomalen RNA gehören diese Organismen zur δ -Gruppe der Gram-negativen Proteobakterien, in der die meisten sulfatreduzierenden Organismen gefunden werden. Nur wenige der übrigen

sulfatreduzierenden Organismen gehören zu den Gram-positiven Bakterien oder zu den Archaeobakterien.

Die glatte mikrobielle Oxidation von Phosphit mit dem in der Chemie nicht gerade üblichen Oxidationsmittel Sulfat ist erstaunlich, da die rein chemische Oxidation von Phosphit zu Phosphat mit den verschiedensten Agentien nur langsam und mit komplexen Kinetiken abläuft.^[4] Die beträchtliche Gibbs-Reaktionsenergie der Phosphitoxidation von $-364 \text{ kJ pro mol Sulfat}$ würde nach der Faustregel der Bioenergetik, dass zur Synthese von 1 mol ATP unter den irreversiblen Bedingungen der lebenden Zelle mindestens 70 kJ mol^{-1} metabolische Energie aufgewendet werden müssen,^[5] zur Bildung von 5 mol ATP aus ADP und anorganischem Phosphat ausreichen. Während die Reduktion eines Sulfatmoleküls maximal ein ATP-Molekül liefert, ist es zweifelhaft, ob das extrem niedrige Redoxpotential des $\text{HPO}_4^{2-}/\text{HPO}_3^{2-}$ -Paares ($E'_0 = -690 \text{ mV}$) von den etablierten Mechanismen der biologischen Energiekonservierung über einen elektrochemischen Protonengradienten ($\Delta\mu\text{H}^+$) zur Bildung von weiterem ATP genutzt werden kann.

Die oxidative Bildung von Phosphat verführt mich zur Hypothese einer neuartigen stufenweisen Substratphosphorylierung, bei der pro oxidiertem Phosphit ein zusätzliches ATP-Molekül entstehen könnte (Schema 1): Verknüpfung des Phosphits mit einem enzymgebundenen Carboxylat und nachfolgende Oxidation könnten ein Acylphosphat liefern, dessen energiereicher Phosphatrest ($\Delta G_{\text{Hydrolyse}}^{\text{e}'} \approx -50 \text{ kJ mol}^{-1}$)^[**] leicht auf ADP unter Bildung von ATP übertragen würde. Die thermodynamisch sicherlich ungün-



Schema 1. Neuartige stufenweise Substratphosphorylierung über die Oxidation eines Acylphosphits.

[*] Prof. Dr. W. Buckel

Laboratorium für Mikrobiologie, Fachbereich Biologie
Philipps-Universität
35032 Marburg (Deutschland)
Fax: (+49) 6421-2828979
E-mail: buckel@mail.uni-marburg.de

[**] In der Biochemie ist eine Verbindung als energiereich definiert, wenn gilt: $\Delta G_{\text{Hydrolyse}}^{\text{e}'} \leq -30 \text{ kJ mol}^{-1}$.

stige Bildung des Acylphosphits würde durch dessen stark exergone Oxidation mit Sulfat ($\Delta E'_0 = 470 \text{ mV}$ bzw. $-91 \text{ kJ pro mol Phosphit}$) „gezogen“. In analoger Weise wird in der Glycolyse (Embden-Meyerhof-Weg) das energiearme Thiohalbacetal, ein Additionsprodukt des Glycerinaldehyd-3-phosphats an einen spezifischen Cysteinrest der Glyceinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase, zum energiereichen Thioester oxidiert. Phosphorolyse liefert 3-Phosphoglyceryl-1-phosphat, dessen energiereicher 1-Phosphatrest unter der Katalyse des Enzyms 3-Phosphoglycerat-Kinase auf ADP übertragen wird. Ob an die Oxidation von Phosphit mit Sulfat [Gl. (1)] tatsächlich die Bildung von ATP gekoppelt ist, könnten Ertragsmessungen (Zellmasse pro mol reduziertes Sulfat) zeigen, da unter autotrophen Wachstumsbedingungen (d.h. bei CO_2 -Assimilation) ca. 2–3 g trockene Zellen pro mol ATP synthetisiert werden. Eine vorläufige Abschätzung des Zellertrags zeigt, dass die Phosphitoxidation tatsächlich mit der ATP-Synthese verknüpft sein könnte (M. Friedrich, B. Schink, persönliche Mitteilung).

Phosphor kommt in der Natur fast ausschließlich in der Oxidationsstufe +v vor. Dagegen kennt die Biologie alle Oxidationsstufen des Stickstoffs zwischen +v und –III. Die Entdeckung der biologischen Phosphitoxidation wirft die Frage auf, ob es in der Natur einen dem Stickstoffkreislauf analogen Phosphorkreislauf gibt. In der Literatur finden sich wenig konkrete Hinweise auf eine biologische Reduktion von Phosphat zu Phosphan PH_3 , das in Spuren in anoxischen (von Sauerstoff freien) Sedimenten und sogar in menschlichen Fäzes nachgewiesen worden ist.^[6] Das Elmsfeuer wird beispielsweise auf selbstentzündliches Diphosphan zurückgeführt. Die Herkunft des Phosphans ist allerdings noch ungeklärt. Die mittleren Oxidationsstufen des Phosphors kommen in der Natur formal in Molekülen mit C-P- und C-P-C-Bindungen vor, die aus Phosphoenolpyruvat gebildet werden. Phosphinotricin [2-Amino-4-(hydroxymethylphosphinoyl)buttersäure], ein von Streptomyceten synthetisierter Glutaminsynthetase-Inhibitor mit herbizider Wirkung, enthält ein Phosphoratom, das mit zwei Kohlenstoffatomen verknüpft ist. Seine Hydrolyse könnte zu Phosphinat (Hypophosphit, +I) führen, das im Säuren bei 140°C zu Phosphit (+III) und Phosphan (–III) disproportioniert.^[7] Ein Organismus mit Enzymen, die diese Disproportionierung bei niedrigeren Temperaturen und neutralem pH katalysieren, ist sicherlich in der Natur vorhanden. Damit ergibt sich doch ein biologischer Phosphatkreislauf: Phosphoenolpyruvat (+v) \rightarrow Phosphinotricin (+I) \rightarrow Phosphinat (+I) \rightarrow Phosphan (–III) + Phosphit (+III) \rightarrow Phosphat (+v). Das Phosphan wird durch Luftsauerstoff ebenfalls zu Phosphat oxidiert.

Vor 3.8 Milliarden Jahren, dem ungefähren Zeitpunkt der Entstehung des Lebens, könnten Phosphite als Vorläufer von Phosphaten von größerer Bedeutung als heute gewesen sein. Sie könnten aus Vulkanen gestammt haben oder durch Meteorite auf die Erde gebracht worden sein. Anaerobe anorganisch vergärende Organismen, wie der beschriebene sulfatreduzierende und phosphitoxidierende, könnten damals zu den vorherrschenden Organismen gehört haben. Vielleicht

sind in einer Eisen-Schwefel-Welt^[8] die ersten energiereichen Acylphosphate für die ATP-Synthese durch Oxidation von Acylphosphiten entstanden.

Nach der Beschreibung der Phosphitoxidation durch sulfatreduzierende Organismen im Juli 2000 fand im Oktober darauf die gleiche Bakteriengruppe schon wieder großes Interesse. Aus dem Max-Planck-Institut für marine Mikrobiologie in Bremen und dem GEOMAR Forschungszentrum für marine Geowissenschaften in Kiel berichteten Antje Boetius et al.^[9] über eine ausgeprägte Sulfatreduktion an Orten, an denen Methanhydrat in obere anoxische Schichten des Meeresbodens gelangt, z.B. im Pazifik in 600–800 m Tiefe vor der Küste von Oregon. Die Analyse der Mikroorganismenpopulation mit DNA-Sonden ergab methanogene Archaeobakterien (*Archaea*), die von sulfatreduzierenden Mitgliedern der δ -Gruppe der Proteobakterien umgeben waren. Obwohl noch keine biochemischen Untersuchungen vorliegen, weisen alle Daten darauf hin, dass die methanogenen Archaeobakterien in Umkehr ihres „normalen“ Stoffwechselwegs die Oxidation von Methan zu CO_2 oder Acetat unter Bildung von H_2 katalysieren. Die thermodynamisch sehr ungünstige Methanoxidation wird nur durch die gleichzeitig anwesenden sulfatreduzierenden Organismen möglich, die den H_2 -Partialdruck und gegebenenfalls die Acetatkonzentration extrem niedrig halten können (siehe oben erster Absatz). Die Gesamtreaktion [Gl. (2)] liefert unter Standardbedingungen



einen nur geringen Energiebeitrag ($\Delta G^\circ = -30 \text{ kJ mol}^{-1}$), der zum Wachstum von zwei Organismen ausreichen muss. Sicherlich ist die tatsächliche Gibbs-Energie ΔG größer, da die Auflösung des Methanhydrats zu hohen lokalen Methankonzentrationen führt und das gebildete H_2S durch die an der Meeresbodenoberfläche sitzenden aeroben schwefeloxidierenden Organismen rasch verbraucht wird. Die Arbeit von Boetius et al. gibt zum ersten Mal konkrete Hinweise auf die Organismen, die an der anaeroben Methanoxidation beteiligt sind.

- [1] R. K. Thauer, *Microbiology* **1998**, *144*, 2377–2406.
- [2] W. Buckel in *The Biology of Prokaryotes* (Hrsg.: J. W. Lengeler, G. Drews, H. G. Schlegel), Thieme, Stuttgart, **1999**, S. 278–326.
- [3] B. Schink, M. Friedrich, *Nature* **2000**, *406*, 37.
- [4] F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. A. Murillo, M. Bochmann, *Advanced Inorganic Chemistry*, Wiley, New York, **1999**, S. 412.
- [5] R. K. Thauer, K. Jungermann, K. Decker, *Bacteriol. Rev.* **1977**, *41*, 100–180.
- [6] M. L. Ehrlich, *Geomicrobiology*, Marcel Dekker, New York, **1994**, S. 241–261.
- [7] *Römpp Chemie Lexikon*, Band 4, Thieme, Stuttgart, **1995**, S. 3381.
- [8] G. Wächtershäuser, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **1992**, *58*, 85–201.
- [9] A. Boetius, K. Ravenschlag, C. J. Schubert, D. Rickert, F. Widdel, A. Gieseke, R. Amann, B. B. Jørgensen, U. Witte, O. Pfannkuche, *Nature* **2000**, *407*, 623–626.