

# Funktionalisierung von Methan in anaeroben Mikroorganismen

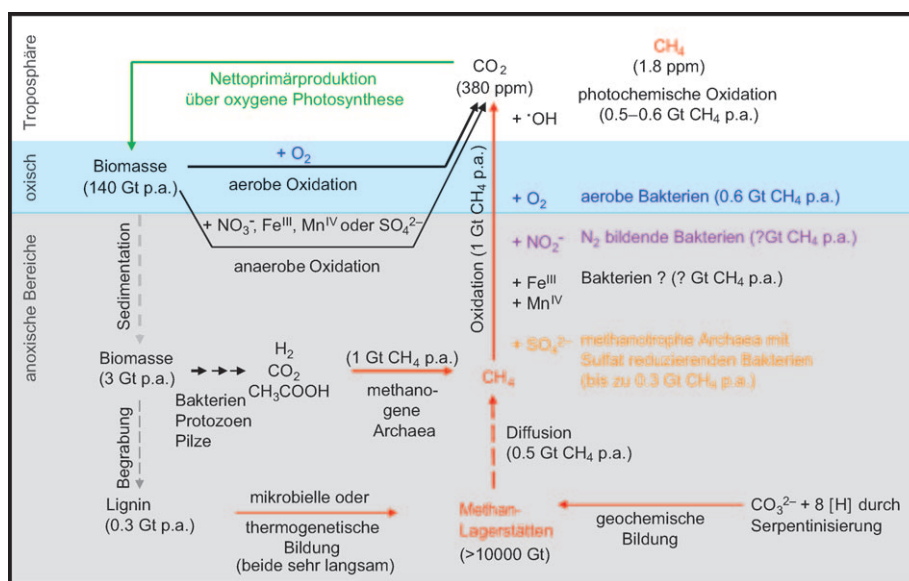
Rudolf K. Thauer\*

Methan-Monooxygenasen · Methyl-Coenzym-M-Reduktase · Nickel · NO-Dismutation · Stoffwechsel

Ungefähr 140 Gt ( $1 \text{ Gt} = 10^{15} \text{ g}$ ) Biomasse (70 Gt Kohlenstoff) werden jährlich aus Kohlendioxid durch oxygene Photosynthese gebildet (Nettoprimärproduktion). Davon gelangen 2–3 % in anaerobe Umgebungen, in denen es nicht nur keinen molekularen Sauerstoff gibt, sondern in denen auch Nitrat, Nitrit, Mangan(IV), Eisen(III) und Sulfat als Elektronenakzeptoren mit hohem Redoxpotential fehlen. Beispiele hierfür sind Süßwassersedimente, Sümpfe, Reisfeldböden, Mülldeponien, der Verdauungstrakt von Wiederkäuern und Termiten und tiefere Schichten in marinen Sedimenten. In diesen „methanogenen“ Biotopen wird die Biomasse unter Beteiligung von anaeroben Bakterien, Protozoen, Pilzen und methanogenen Archaea zu Methan und  $\text{CO}_2$  umgesetzt, wodurch global ca. 1 Gt Methan jährlich entsteht. Schwerabbaubare Bestandteile der Biomasse wie Lignin benötigen Tausende von Jahren bis zum kompletten Abbau. Methan wird aus Biomasse auch thermogenetisch und aus Carbonat geochemisch gebildet. Methan hat sich über Millionen von Jahren in großen Lagerstätten angehäuft; allein in Methanhydraten könnten bis zu 10000 Gt Methan gespeichert sein (Abbildung 1).

Man schätzt, dass jährlich ungefähr 1 Gt in areobe Zonen diffundiert und dort durch aerobe Bakterien oxidiert wird (0.6 Gt pro Jahr) oder in die Atmosphäre gelangt (0.5–0.6 Gt pro Jahr), wo es im Wesentlichen durch Photooxidation in  $\text{CO}_2$  umgewandelt wird. Nur etwa 0.03 Gt Methan pro Jahr werden aus der Atmosphäre durch aerobe Bakterien oxidiert, die in Böden oder Gewässern leben (Abbildung 1).<sup>[1]</sup>

Seit den 1960iger Jahren hatte es bereits Hinweise aus biogeochemischen Versuchen gegeben, dass Methan in anoxischen Bereichen zu  $\text{CO}_2$  durch Mikroorganismen oxidiert wird. Diese Hinweise stießen allerdings zunächst auf allgemeine Skepsis, da eine Funktionalisierung von Methan ohne aktive Sauerstoffspezies nicht vorstellbar war. Der Grund dafür war, dass die Dissoziationsenergie der C-H-Bindung in Methan von  $439 \text{ kJ mol}^{-1}$  größer ist als die von X-H-Bindungen in anderen Biomolekülen, mit Ausnahme der Dissoziationsenergie der O-H-Bindung in  $\text{H}_2\text{O}$  ( $497 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) und anderen Sauerstoffspezies. Erst in den letzten 10 Jahren ge-



**Abbildung 1.** Globaler Methanzzyklus<sup>[9,10]</sup> unter Hervorhebung der Mikroorganismen, die die anaerobe Oxidation von Methan (AOM) mit Nitrit (magenta) bzw. Sulfat (orange) katalysieren; p.a. = pro Jahr. Details siehe Text.

lang es, die anaerobe Oxidation von Methan (AOM) durch Mikroorganismen zweifelsfrei nachzuweisen. Inzwischen ist eindeutig belegt, dass Methan durch anaerobe Mikroorganismen mit entweder Sulfat,  $\text{Mn}^{\text{IV}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}$  oder Nitrit zu  $\text{CO}_2$  oxidiert werden kann (Abbildung 1). Schätzungen sind, dass jährlich 0.3 Gt Methan durch anaerobe Mikroorganismen zu  $\text{CO}_2$  oxidiert werden. AOM findet überall dort statt, wo Methan der einzig verfügbare Elektronendonator ist und ge-

[\*] Prof. Dr. R. K. Thauer  
Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie  
Karl-von-Frisch-Straße 10, 35043 Marburg (Deutschland)  
E-Mail: thauer@mpi-marburg.mpg.de

eignete Elektronenakzeptoren wie Nitrat, Nitrit,  $\text{Mn}^{\text{IV}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}$  oder Sulfat vorhanden sind. Am weitesten verbreitet scheint AOM mit Sulfat zu sein (bis zu 0.3 Gt pro Jahr). Wie dies die Mikroorganismen jedoch machen, liegt immer noch im Dunkeln.

Zwei kürzlich erschienene Beiträge in *Nature* zeigen, dass es mindestens zwei Mechanismen der anaeroben Oxidation von Methan gibt: Der eine Mechanismus findet sich bei methanotrophen,  $\text{N}_2$  bildenden Bakterien und verläuft unter Beteiligung eines mit der partikulären Methan-Monooxygenase verwandten Kupferenzym,<sup>[2]</sup> der andere wird bei methanotrophen Archaea gefunden und nutzt ein mit der Methyl-Coenzym-M-Reduktase verwandtes Nickelenzym.<sup>[3]</sup>

2006 wurde erstmals von einer gemischten Kultur aus Bakterien und Archaea berichtet, die langsam auf Methan und Nitrit unter Bildung von  $\text{CO}_2$  und  $\text{N}_2$  wuchs ( $3\text{CH}_4 + 8\text{NO}_2^- + 8\text{H}^+ \rightarrow 3\text{CO}_2 + 4\text{N}_2 + 10\text{H}_2\text{O}$ ;  $\Delta G^\circ = -928 \text{ kJ (mol CH}_4)^{-1}$ ).<sup>[4]</sup> In kontinuierlicher Kultur nahm die Menge der Archaea allerdings bis zum völligen Verschwinden ab; die verbleibenden Bakterien wurden einer neuen Ordnung innerhalb des Reiches der Bakterien zugeordnet.<sup>[5,6]</sup> Aus der Genomsequenz des anaeroben Bakteriums wurde abgeleitet, dass der Organismus über alle Gene für den aeroben Weg der Methanoxidation verfügt ( $\text{CH}_4 \rightarrow \text{CH}_3\text{OH} \rightarrow \text{CH}_2\text{O} \rightarrow \rightarrow \text{HCOOH} \rightarrow \text{CO}_2$ ), ihm aber wichtige Gene für die  $\text{N}_2$ -Bildung aus Nitrit fehlen, nämlich jene für  $\text{N}_2\text{O}$ -Reduktase, die die Reduktion von  $\text{N}_2\text{O}$  zu  $\text{N}_2$  katalysiert.<sup>[2]</sup> Es wurden Hinweise dafür gefunden, dass der aerobe Weg der Methanoxidation exprimiert ist und dass der Organismus über ein Enzym verfügen muss, das die Umsetzung von  $2\text{NO}$  zu  $\text{N}_2$  und  $\text{O}_2$  katalysiert ( $\Delta G^\circ = -173 \text{ kJ (mol N}_2)^{-1}$ ). Das aus der NO-Dismutation stammende  $\text{O}_2$  wird anschließend für die Oxidation von  $\text{CH}_4$  zu  $\text{CH}_3\text{OH}$  verwendet, eine Reaktion, die von einer partikulären Methan-Monooxygenase (pMMO) katalysiert wird, die ein Kupferenzym ist – so interpretieren die Autoren zumindest die Daten, die insgesamt überzeugend sind.

Allerdings bleiben ein paar offene Fragen: Das Enzym, das die Dismutation von  $2\text{NO}$  zu  $\text{N}_2$  und  $\text{O}_2$  katalysiert, ist noch nicht identifiziert worden, und es ist nicht ausgeschlossen worden, dass die pMMO in dem methanotrophen Denitrifizierer die Umsetzung von  $\text{CH}_4$  zu  $\text{CH}_3\text{OH}$  mit  $\text{NO}$  ohne  $\text{O}_2$  als freies Zwischenprodukt katalysiert. Aufgrund von Austauschaktivitäten zwischen  $\text{NO}_2^-$  und  $\text{H}_2\text{O}$  sowie zwischen  $\text{NO}$  und  $\text{NO}_2^-$  war es unmöglich nachzuweisen, dass der Sauerstoff in  $\text{CH}_3\text{OH}$  direkt aus dem  $\text{O}_2$  stammt. Außerdem war es bisher nicht möglich, das Bakterium auf Methan und  $\text{O}_2$  wachsen zu lassen, auch nicht bei sehr niedrigen  $\text{O}_2$ -Konzentrationen. Dennoch gehören diese neuen Befunde zu den zurzeit aufregendsten auf den Gebieten der Mikrobiologie und Biochemie. Sowohl ein Enzym, das die Dismutation von  $2\text{NO}$  zu  $\text{N}_2$  und  $\text{O}_2$  katalysiert, als auch eine pMMO, die  $\text{NO}$  anstelle von  $\text{O}_2$  in der Monooxygenierungsreaktion verwendet, wären etwas vollständig Neues und Unerwartetes.

Zweifler an einer anaeroben Oxidation von Methan durch Mikroorganismen mögen sich durch diese Befunde bestätigt fühlen: Ist doch  $\text{O}_2$  beteiligt? Dies mag für AOM mit Nitrit

richtig sein, nicht aber für die AOM mit Sulfat ( $\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}_2\text{O}$ ;  $\Delta G^\circ = -17 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). Schon aus thermodynamischen Gründen ist hier Methanol als Zwischenprodukt ausgeschlossen.<sup>[7]</sup> Alle Hinweise sprechen dafür, dass die AOM mit Sulfat über umgekehrte Schritte der Methanogenese erfolgt, mit Methyl-Coenzym-M-Reduktase zur Aktivierung von Methan.<sup>[7,8]</sup> Inzwischen konnte demonstriert werden,<sup>[3]</sup> dass das Nickelenzym aus methanogenen Archaea die Oxidation von Methan zu Methyl-Coenzym M katalysiert ( $\text{CH}_4 + \text{CoM-S-S-CoB} \rightarrow \text{CH}_3\text{-S-CoM} + \text{HS-CoB}$ ;  $\Delta G^\circ = 30 \pm 10 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), und zwar mit effektiven  $K_M$ - und  $V_{\text{max}}$ -Werten, die mit denjenigen für Kulturen übereinstimmen, die eine AOM mit Sulfat katalysieren. Aber auch hier gibt es noch einige Ungereimtheiten: Die AOM mit Sulfat wird durch eine gemischte Kultur aus mit Methanbildnern verwandten Archaea und Sulfat reduzierenden Bakterien katalysiert. Es war bisher jedoch nicht möglich zu zeigen, dass die methanotrophen Archaea, die die Methyl-Coenzym-M-Reduktase enthalten, die Oxidation von Methan in Abwesenheit der Sulfat reduzierenden Bakterien katalysieren können. Es bleibt also noch Raum für Überraschungen!

Eingegangen am 17. Mai 2010

Online veröffentlicht am 29. Juli 2010

- [1] Die Konzentration von Methan in der Troposphäre ist in den letzten 100 Jahren von 0.9 auf 1.8 ppm angestiegen, was insofern beunruhigend ist, als Methan ein sehr wirksames Treibhausgas ist. Gründe für den Anstieg liegen unter anderem in der Ausbreitung der Landwirtschaft (mehr Reisfelder, mehr Wiederkäuer) und der Energiewirtschaft (mehr Gaslecks, mehr Biomasseabbrand usw.). Von den 0.5–0.6 Gt Methan pro Jahr, die in die Atmosphäre gelangen, stammen bis zu 0.2 Gt aus der Energiewirtschaft (Abbildung 1).
- [2] K. F. Ettwig, M. K. Butler, D. Le Paslier, E. Pelletier, S. Mangenot, M. M. M. Kuypers, F. Schreiber, B. E. Dutilh, J. Zedelius, D. de Beer, J. Gloerich, H. J. C. T. Wessels, T. van Alen, F. Luessen, M. L. Wu, K. T. van de Pas-Schoonen, H. J. M. Op den Camp, E. M. Janssen-Megens, K. J. Francoijs, H. Stunnenberg, J. Weissenbach, M. S. M. Jetten, M. Strous, *Nature* **2010**, 464, 543–548.
- [3] S. Scheller, M. Goenrich, R. Boecher, R. K. Thauer, B. Jaun, *Nature* **2010**, 465, 606–609.
- [4] A. A. Raghoebarsing, A. Pol, K. T. van de Pas-Schoonen, A. J. P. Smolders, K. F. Ettwig, W. I. C. Rijpstra, S. Schouten, J. S. S. Damste, H. J. M. Op den Camp, M. S. M. Jetten, M. Strous, *Nature* **2006**, 440, 918–921.
- [5] K. F. Ettwig, S. Shima, K. T. van de Pas-Schoonen, J. Kahnt, M. H. Medema, H. J. M. Op den Camp, M. S. M. Jetten, M. Strous, *Environ. Microbiol.* **2008**, 10, 3164–3173.
- [6] K. F. Ettwig, T. van Alen, K. T. van de Pas-Schoonen, M. S. M. Jetten, M. Strous, *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, 75, 3656–3662.
- [7] R. K. Thauer, S. Shima, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2008**, 1125, 158–170.
- [8] K. Knittel, A. Boetius, *Annu. Rev. Microbiol.* **2009**, 63, 311–334.
- [9] R. K. Thauer, A. K. Kaster, H. Seedorf, W. Buckel, R. Hedderich, *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, 6, 579–591.
- [10] R. Conrad, *Environ. Microbiol.* **2009**, 1, 285–292.