

SONDERDRUCK
aus

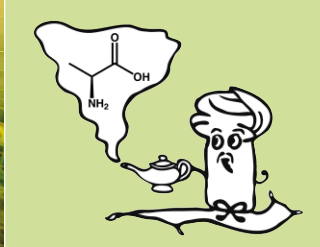
4 | 2021

VBio

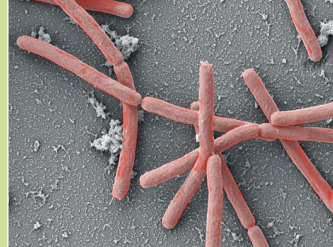
Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland



NACHHALTIGKEIT
Genomeditierte
Lebensmittel



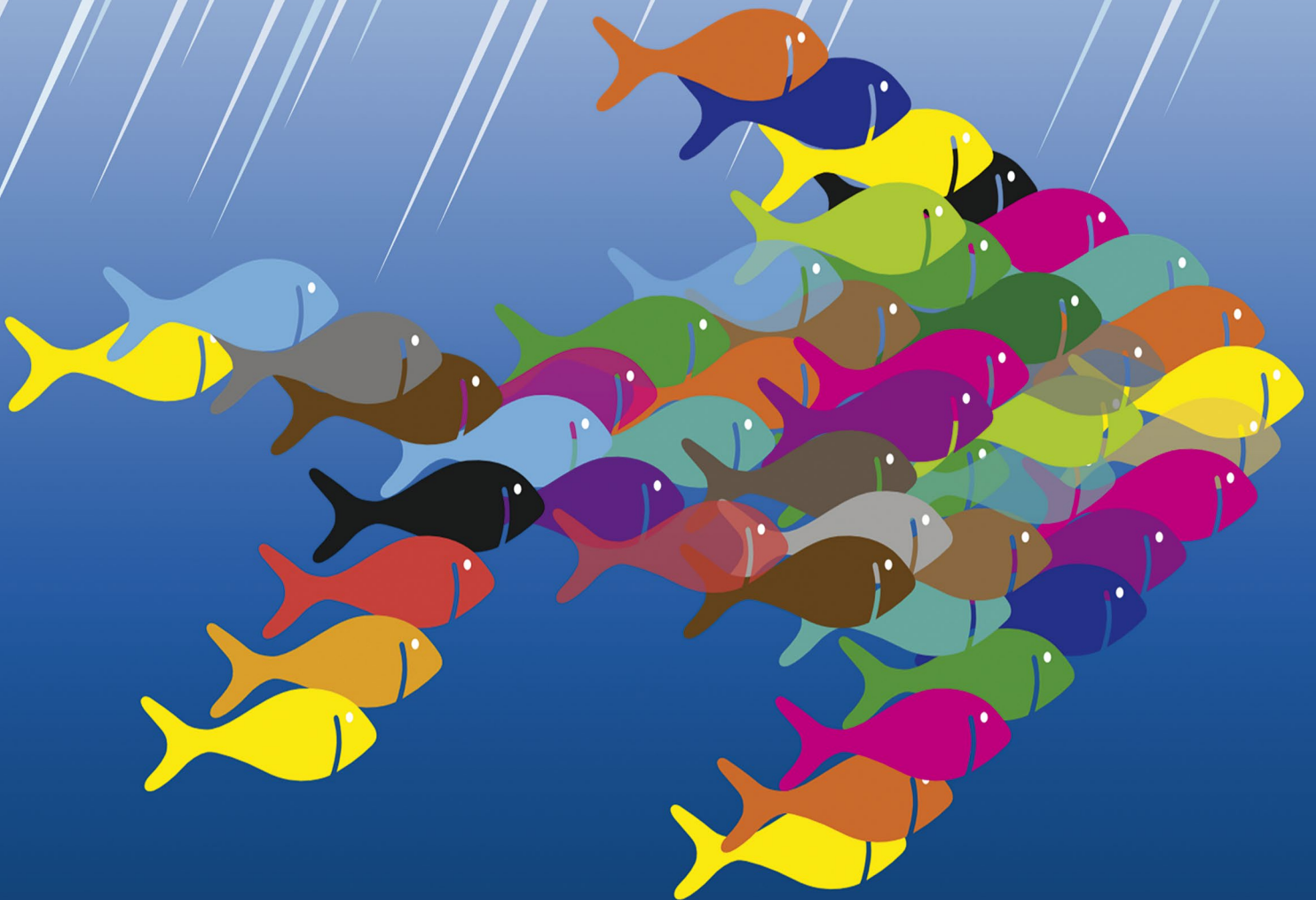
BIOTECHNOLOGIE
Nicht-kanonische
Aminosäuren



**MIKROBE DES
JAHRES**
Methanothermobacter

BIOLOGIE

IN UNSERER ZEIT



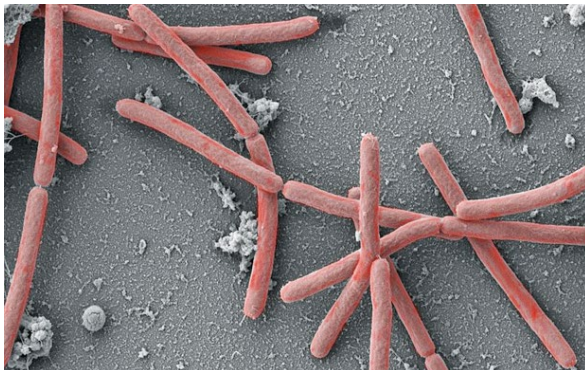
Schwarmintelligenz

Methanothermobacter ist Mikrobe des Jahres 2021

Die Methanbildung bescherte revolutionäre Entdeckungen

GEORG FUCHS

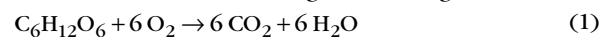
ABB. 1 Elektronenmikroskopische Aufnahme (30.000fach vergrößert) von *Methanothermobacter marburgensis*. Foto: Matthias Klingl (CC BY 4.0).



Methanothermobacter (Abbildung 1) wurde erst vor einem halben Jahrhundert entdeckt und ist den meisten Biologen unbekannt. Den Mikroorganismus nicht zu kennen, ist verständlich: Er bildet weder Gifte noch interessante neue Stoffe und seine Lebensweise ist uns völlig fremd; Sauerstoff ist für ihn Gift, er braucht zum Leben Wasserstoff und Kohlendioxid und bildet daraus Methan (Erdgas). Der Prokaryot ist „harmlos“ und trotz seines Namens kein eigentliches Bakterium. Was macht ihn dann so besonders? Methanbildende (methanogene) Mikroorganismen, zu denen Methanothermobacter zählt, spielen für die Natur und mittelbar für uns Menschen eine wichtige Rolle. Methanothermobacter hat Entscheidendes zur Aufklärung der Methanbildung und zum Fortschritt der Lebenswissenschaften beigetragen. Die Mikrobe stand Pate für bahnbrechende Entdeckungen und neue Konzepte in der Biologie. Und sie bietet Anschauungsmaterial dafür, wie wissenschaftliche Erkenntnis zustande kommt: durchdachtes Experiment, genaue Beobachtung, scharfsinnige Überlegung, vorsichtige Schlussfolgerung, weit-sichtige Betrachtung; Ausdauer, begeisterte Mitstreiter und ein bisschen Glück und Zufall gehören auch dazu.

Methanbildende Mikroben benötigen zum Leben vor allem Essigsäure, Wasserstoff und Kohlendioxid. Daraus bilden sie Methan und gewinnen dabei Energie. Diese Verbindungen fallen aber in der Natur nicht auf; sie kommen nur in geringen Konzentrationen vor. Woher bekommen Methanbildner dann ihr „Futter“? Überlässt man Biomasse den darin beheimateten Lebewesen, so sorgen zuerst aerobe (mit Sauerstoff lebende) Organismen für den vollständigen Abbau zu Kohlendioxid und Wasser [1–3]. Aus diesen Verbindungen haben autotrophe Lebewesen – hauptsächlich Pflanzen – die Biomasse zuvor aufgebaut; der Kohlenstoffkreislauf ist damit geschlossen (Abbildung 2).

Für den Abbau von Glucose gilt Gleichung 1:

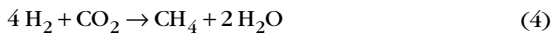
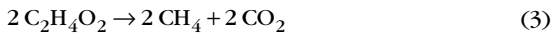


Die Umsetzung kommt zum Stillstand, wenn der Sauerstoff durch die Atmung aufgezehrt ist. Danach übernehmen anaerobe (ohne Sauerstoff lebende) Mikroorganismen die Verwertung (Abbildung 2). Sie zerlegen Biomoleküle wie Cellulose oder Proteine durch Spaltung mit Wasser in ihre monomeren Bausteine, also z. B. Zucker und Aminosäuren. Anschließend vergären sie die Bruchstücke zu den bekannten, meist sauren Produkten wie Milchsäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, aber auch zu Alkoholen. Andere Bakterien, sogenannte sekundäre Gärer, leben wiederum von diesen primären Gärprodukten und setzen sie im Wesentlichen zu Essigsäure ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), Kohlendioxid und Wasserstoff um. Die Bilanz dieser beiden Gärungen, bezogen auf Glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, also z. B. Cellulose, Hemicellulose, Stärke), ist Gleichung 2:

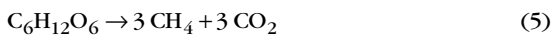


Die Produkte Wasserstoff, Kohlendioxid und Essigsäure häufen sich aber nicht an. Würden Methanbildner sie nicht umgehend verbrauchen, würde der Stoffwechsel der sekundären Gärer blockiert, die Umsetzung käme augenblicklich zum Stillstand. Methanogene Organismen sind also die letzten Glieder der anaeroben Nahrungskette; sie

setzen Essigsäure und Wasserstoff plus Kohlendioxid zu Methan um. Die Umsatzgleichungen für Essigsäure (Gleichung 3) bzw. für CO_2 und H_2 (Gleichung 4) sind:



Die Gesamtbilanz (Gleichung 5) ist die Summe der Gleichungen 2–4:



Der Kohlenstoff der Glucose wurde disproportioniert in seine höchstoxidierte, energiearme Stufe (+IV) im CO_2 und seine höchstreduzierte, energiereiche Stufe (-IV) im CH_4 . Der größte Teil der Energie der Glucose steckt noch im Methan.

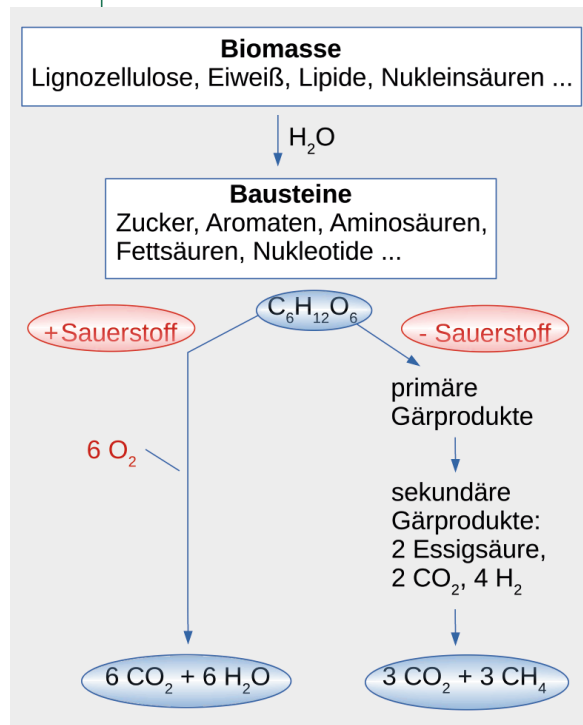
Methanbildende Mikroben in der Urzeit und heute

In der heutigen Welt mit 20 Prozent Sauerstoff in der Luft werden in sauerstofffreien Bereichen der Erde immer noch einige wenige Prozente der Biomasse natürlicherweise zu Biogas umgesetzt, schätzungsweise 1 Milliarde Tonnen pro Jahr. Methangas diffundiert anschließend in die Sauerstoffzone und wird von aeroben Bakterien mit Sauerstoff wieder zu CO_2 oxidiert; der Kohlenstoffkreislauf ist damit geschlossen. In der sauerstofffreien Urzeit dagegen wurde hauptsächlich über diesen Prozess die Biomasse umgesetzt, die autotrophe Bakterien aus CO_2 gebildet hatten. Der Kreislauf des Kohlenstoffs war also damals nicht geschlossen. Das erklärt die Anhäufung riesiger Mengen fossilen Methans unter Ausschluss von Sauerstoff. Die methanbildenden Mikroben haben die Hälfte der Erdzeit eine Hauptrolle im biologischen Geschehen gespielt, bis vor etwa zwei Milliarden Jahren genügend Sauerstoff durch die Photosynthese der Cyanobakterien entstanden war und dieser die strikt anaeroben Organismen in sauerstofffreie Nischen verdrängte. Heute spielen sie eine geringere, aber dennoch wichtige Rolle im Stoffkreislauf. Der Prozess der Methanbildung ist also uralt und war unverstanden. Hier kommt *Methanothermobacter* als Modellorganismus ins Spiel.

Von der „aria inflammabile“ zu *Methanothermobacter*

Alessandro Volta (1745–1827) hatte 1776 über eine *aria inflammabile* – also brennbare Luft – aus Sümpfen berichtet. Sein Experiment lässt sich an jedem Teich nachmachen (Abbildung 3). Robert Bunsen (1811–1899) identifizierte mit seiner Spektralanalyse das Gas als Methan. Felix Hoppe-Seyler (1825–1895) erstellte eine erste exakte Bilanz der Umsetzung des häufigsten Biomoleküls Cellulose in Biogas. Mikrobiologen der Delfter Schule – A. J. Kluyver (1888–1956) und C. G. Schnellen – brachten die ersten

ABB. 2 | KOHLENSTOFFKREISLAUF IN GEGENWART UND ABWESENHEIT VON SAUERSTOFF



FAKTENBOX: METHAN

Methan ist ein wichtiger Energieträger, der zusammen mit Erdöl- oder Kohlelagern vorliegt. Es handelt sich um den mengenmäßig wichtigsten fossilen Brennstoff; der größte Teil davon ist durch die Tätigkeit methanbildender Mikroben in der Urzeit der Erde gebildet worden. Das Gas liegt bei hohem Druck und niedriger Temperatur als brennbarer Feststoff („Methaneis“, Methanhydrat) vor. Riesige Lager davon befinden sich deshalb in dieser festen Form in Meeresböden ab einer Wassertiefe von 400 Metern und in Permafrostböden. Im Zusammenhang mit der Klimaerwärmung befürchtet man eine Freisetzung von Methan aus diesem Methaneis. Methan liegt in der Atmosphäre zwar nur in 2 ppm Konzentration vor, aber als Treibhausgas ist es 25-mal stärker wirksam als Kohlendioxid. Biogas, eine Mischung aus etwa jeweils der Hälfte Methan und Kohlendioxid, entsteht in Sümpfen (Sumpfgas), Meeressedimenten, Reisfeldern, Kläranlagen und im Verdauungstrakt der Tiere, besonders der Wiederkäuer; es ist ein nutzbares Produkt der Abfallverwertung.

IN KÜRZE

- *Methanothermobacter* ist der bekannteste der **methanbildenden Mikroorganismen**.
- Er diente als Modellobjekt für die Aufklärung der Biochemie der Methanbildung. Dabei wurden mehrere **neue Coenzyme und Nickel als essentielles Bioelement** entdeckt.
- Er stand Pate bei der **Drei-Domänen-Theorie zur Evolution der Organismen**. Danach bestehen die Prokaryonten aus zwei früh voneinander getrennten Entwicklungslinien, den Archaea und den Bacteria; die Eukaryonten stellen eine Schwestergruppe der Archaea dar.



ABB. 3 Das Volta-Experiment. Man taucht einen großen Trichter umgekehrt ins Wasser, verschließt ihn mit dem Daumen oder einem Stopfen, rührt mit einem Stock den Schlamm auf und sammelt im Trichter die aufsteigenden Blasen des Sumpfgases. Das lässt sich anzünden, wenn man den Daumen/Stopfen abzieht. Foto: Andreas Brune.

Kulturen methanbildender Mikroorganismen schon 1947 ins Labor. Albert H. Barker (1907–2000) begann mit biochemischen Studien und formulierte ein universelles Schema (Barker-Schema) der Umsetzung von Essigsäure und von $\text{CO}_2 + 4 \text{H}_2$ zu Methan (Gleichungen 3 und 4). Er fand, dass sämtliche Zwischenstufen in diesem Prozess an unbekannte Trägermoleküle gebunden sind [4]. Leider war die Kultivierung der methanbildenden Mikroben langwierig. Sauerstoff ist für sie Gift, und man erzielte nur geringe Zellmengen für Untersuchungen. Das änderte sich 1972 mit der Isolierung von *Methanothermobacter*



ABB. 4 Faultürme der Kläranlage Freiburger Bucht.

thermoautotrophicum (damals *Methanobacterium thermoautotrophicus*) durch Gregory Zeikus und Ralph Wolfe (1921–2019) [5], dem Pionier der Erforschung der Methanbildung [6]. Später isolierte das Labor von Rudolf (Rolf) Thauer in Marburg eine verwandte Art, *Methanothermobacter marburgensis* [7].

Isolierung und Eigenschaften von *Methanothermobacter*

Die Zellen sind stäbchenförmig, etwa 1 μm dick und sehen im Mikroskop aus wie Stücke verbogenen Drahts (Abbildung 1). Wegen eines fluoreszierenden neuen Coenzym (F420) lässt sich der Organismus im Fluoreszenzmikroskop gut erkennen. Er wächst optimal bei 65 °C („*thermo*“). Sein Lebensraum, z. B. das Innere eines Misthaufens oder Komposthaufens, wird recht heiß; so ist es nicht verwunderlich, dass die Mikrobe, nachdem sie in eine Kläranlage geraten war, aus dessen Faulturm isoliert werden konnte. Im sauerstofffreien Faulturm findet die langsame Umsetzung der schwer abbaubaren Feststoffe zu Biogas statt; diese Feststoffe bleiben beim vorgeschalteten, schnellen aeroben Klärprozess übrig (Abbildung 4). Zum Wachstum genügt *Methanothermobacter* ein reines Mineralsalzmedium ohne jegliche organische Verbindung. Neben H_2 und CO_2 sind NH_3 , Phosphat und H_2S die wichtigsten Nährstoffe. Der größte Teil des CO_2 wird nach Gleichung (4) mit H_2 zu CH_4 umgesetzt („*Methano*“), und dieser Prozess liefert die Lebensenergie. Aus dem restlichen CO_2 baut die Mikrobe alle Zellbausteine auf („*autotrophicus*“). Das Bakterium verdoppelt sich alle zwei Stunden und bildet ausreichend Zellmasse für biochemische Studien. Das war ein Meilenstein: Der ideale Modellorganismus für die Aufklärung der Methanbildung war gefunden.

Bedenkt man, dass Hühnereiweiß bei 61 °C anfängt zu gerinnen, war dieser Befund des Wachstumsoptimums bei 65 °C allein schon ungewöhnlich – aber nicht neu. Thomas Brock (1926–2021) hatte bereits ab 1966 thermophile (hitze liebende) Mikroorganismen aus heißen Quellen des Yellowstone Nationalparks isoliert und studiert [8]. Ein bekanntes Beispiel ist das Bakterium *Thermus aquaticus*, dessen hitzestabile DNA-Polymerase (Taq-Polymerase) erst die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) zur Amplifizierung von DNA ermöglichte. Karl Stetter hat das Spektrum der thermophilen (optimale Wachstumstemperatur bis 80 °C) und hyperthermophilen (Temperaturoptimum über 80 °C) Mikroben spektakulär erweitert [9]. Der heutige Hitzerekord für Leben liegt bei 121 °C – Leben im Dampfdrucktopf!

Von *Methanothermobacter* zu den Archaeobakterien (Archaea)

Unsere Mikrobe des Jahres sorgte schon bald für helle Aufregung. Der Institutsnachbar von Ralph Wolfe an der University of Illinois, Urbana, war Carl Woese (1928–2012). Dieser wollte durch Sequenzvergleich der hoch konser-

vierten ribosomalen RNA (16S rRNA) einen natürlichen Stammbaum von Mikroorganismen erstellen. Wolfe überließ ihm *Methanothermobacter* zur Untersuchung. Schon bald kehrte Woese aufgeregt zurück: „Wolfe! These things aren't even bacteria!“ Dies war völlig unerwartet, denn rein äußerlich unterschied *Methanothermobacter* sich nicht von anderen Bakterien. Woese und Kollegen stellten 1977 diese Gruppe gleichberechtigt neben die Phyla Eubakterien (Bacteria) und Eukaryoten (Eukarya) und nannten sie Archaeobakterien (von griech. *archaios*, ursprünglich) [10], später abgewandelt in Archaeen (Archaea, sing. Archaeon). Das Zusammenfassen von Bacteria und Archaea zu Prokaryoten ist durch ihre äußere Ähnlichkeit und das Fehlen eines Zellkerns begründet.

Otto Kandler (1920–2017) erfuhr schon 1976 von dieser bahnbrechenden Entdeckung und unterstützte begeistert das neue Konzept [11]. Er wusste nämlich und bestätigte, dass ganz verschiedene Bakterien der vorgeschlagenen Gruppe Archaeen neuartige Zellwände besaßen. Die Zellwandstruktur mit der Hauptkomponente Muraminsäure (von lat. *murus*, Wand) ist nämlich charakteristisch für Bakterien, und diese fehlte allen Archaeen. Auch die Membranlipide sowie die RNA-Polymerase waren grundsätzlich verschieden von dem, was man bisher von Bakterien kannte; letztere glich nach Wolfram Zillig (1925–2005) der RNA-Polymerase II der Eukaryoten. Diese auffallenden „Unstimmigkeiten“ wiederum waren den Amerikanern nicht bekannt, und plötzlich ergab sich ein geschlossenes Bild. Abbildung 5 zeigt Carl Woese, Ralph Wolfe und Otto Kandler bei einer Gebirgswanderung im Anschluss an die erste internationale Tagung über Archaeobakterien 1981 in München. Das revolutionäre Konzept der Archaeobakterien löste in Deutschland eine Welle der Methanbakterien- und Archaeobakterienforschung aus. Die Widersprüche lösten sich auf, neue Untersuchungen wurden begonnen, um das Konzept zu prüfen. Die neue Theorie wurde vielfach bestätigt und hat unser biologisches Weltbild verändert.

Von den Archaea zum Ursprung der Eukaryonten

Seit der Entdeckung von *Methanothermobacter* und der Einteilung der Lebewesen in Bacteria, Archaea und Eukarya wurden viele neue Archaeen vor allem aus vulkanischen Gebieten entdeckt und die Theorie von den drei Domänen durch zahlreiche Befunde untermauert (Abbildung 6). Man vermutet, dass die Eukarya aus der Endosymbiose eines Ur-Archaeons mit einem Ur-Bakterium entstanden sind. Die viel spätere Endosymbiose vor etwa 1,4 Mia. Jahren mit einem Sauerstoff verwertenden weiteren Bakterium ergab die Mitochondrien, und die letzte Endosymbiose mit einem Photosynthese betreibenden Cyanobakterium die Chloroplasten. Phylogenetisch gesehen wären demnach die Eukaryonten und damit der Mensch eine Schwestergruppe der Archaea [12]. Die neuen Einsichten in die eigenständigen Zellwände, Lipide und die Moleku-

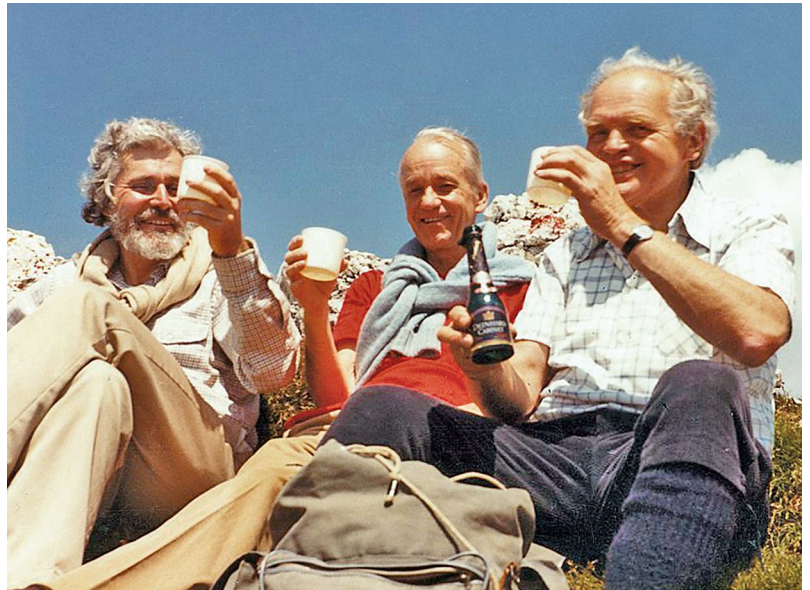
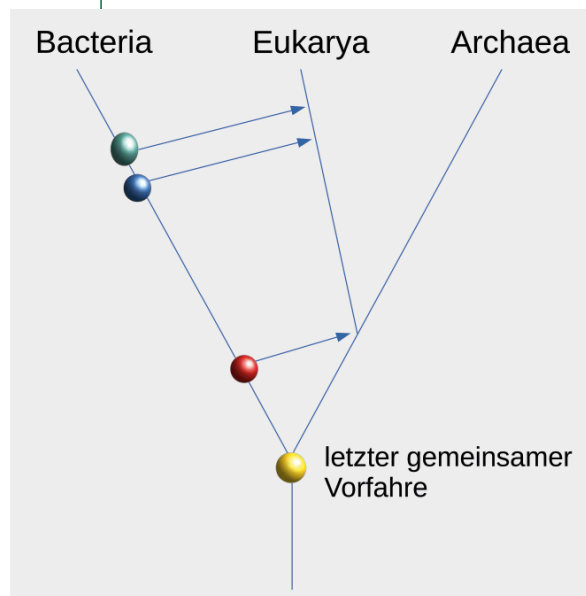


ABB. 5 Carl Woese, Ralph Wolfe, Otto Kandler (von links). Abbildung aus: <https://commons.wikimedia.org/>

larbiologie der Archaea seien am Rande erwähnt [3]; auch dafür war *Methanothermobacter* ein dankbares Untersuchungsobjekt.

ABB. 6 | ALLGEMEINER STAMMBAU DER LEBEWESSEN



Gelb: letzter gemeinsamer Vorfahre (last universal common ancestor, LUCA), **rot:** vermutete Endosymbiose eines Archaeons mit einem unbekanntem Bakterium → Ur-Eukaryont, **blau:** Endosymbiose eines Ur-Eukaryonten mit einem Bakterium, das zur Atmung mit Sauerstoff befähigt war (alpha-Proteobakterium) → Mitochondrium, **grün:** Endosymbiose eines Eukaryonten mit einem Bakterium, das zur Sauerstoff bildenden Photosynthese befähigt war (Cyanobakterium) → Chloroplast.

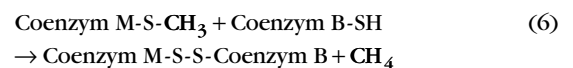
Sieben neue Coenzyme und Nickel als neues Bioelement

Mit *Methanothermobacter* hatte man endlich einen leicht handhabbaren Modellorganismus zur Hand, um die Biochemie der Methanbildung aufzuklären. Dieser Stoffwechsel ist auf die Gruppe der methanbildenden Archaea begrenzt! In rascher Folge wurden sieben neue Coenzyme entdeckt, die es fast ausschließlich nur bei den Methanbildnern gibt. Die Entdeckungen stammten hauptsächlich aus den Laboren von Ralph Wolfe [6], Rolf Thauer [7] und Gerhard Gottschalk; nicht alle beteiligten Personen können hier namentlich gewürdigt werden. Allerdings war das Wachstum von *Methanothermobacter* schlecht reproduzierbar. Schönheit und Kollegen fiel 1979 auf, dass die Kulturen immer dann gut wuchsen, wenn sie in Kontakt mit Edelstahl kamen. Das brachte sie auf den Gedanken, dass ein Metall im V2A-Stahl, der eine Fe-Cr-Ni-Legierung ist, in Lösung ging und in Spuren lebenswichtig war. Das

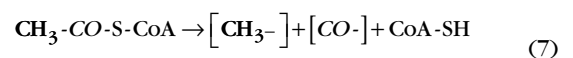
übliche Medium enthielt zwar Eisen, Molybdän und Cobalt, aber kein Nickel, denn dieses galt nicht als biologisch wichtiges Spurenelement. Gab man nun winzige Mengen von Nickel ins Medium, wuchsen die Kulturen wie nie zuvor [13]. Man fand Nickel später als Bestandteil eines der neuen Coenzyme – dem Faktor 430. Dieser Cofaktor ist ein Tetrapyrrol, verwandt mit dem Häm, enthält aber statt Eisen ein Nickelatom. Nach und nach stellten sich acht Enzyme als Nickelenzyme heraus. Nickel als essentielles Bioelement war entdeckt [7]. Genaue Beobachtung eines eigentlich nicht geplanten Experiments, scharfsinnige Überlegung, Glück? Alles zusammen! Rolf Thauer nennt es „Serendipity“ [6].

Methanbildung und ein neuer autotropher CO₂-Fixierungsweg aus CO₂ + 4 H₂

Die Bildung von Methan aus CO₂ ist ein Reduktionsprozess in vier Stufen, bei dem die Zwischenstufen Ameisensäure (HCOOH), Formaldehyd (HCHO) und Methanol (CH₃OH) an Coenzyme gebunden sind (Abbildung 7). Wasserstoff dient als Reduktionsmittel; er wird durch verschiedene Formen des Nickelenzyms Hydrogenase aktiviert. In einem letzten Schritt reduziert die Methyl-Coenzym-M-Reduktase die an das Coenzym M (M für Methan) gebundene Methylgruppe zu Methan. Die Methyl-Coenzym-M-Reduktase enthält den neuen Nickel-Cofaktor F430. Das Leitenzym der Methanbildung katalysiert eine chemisch schwierige Reaktion; es hat deshalb eine geringe Wechselzahl und kommt entsprechend in großen Mengen vor. Es katalysiert die Reduktion der an Coenzym M als Schwefelether gebundenen Methylgruppe mithilfe eines anderen Coenzym B mit freier Thiolgruppe zu Methan. Dabei entsteht das Heterodisulfid der beiden SH-Gruppen tragenden Coenzyme (Gleichung 6):



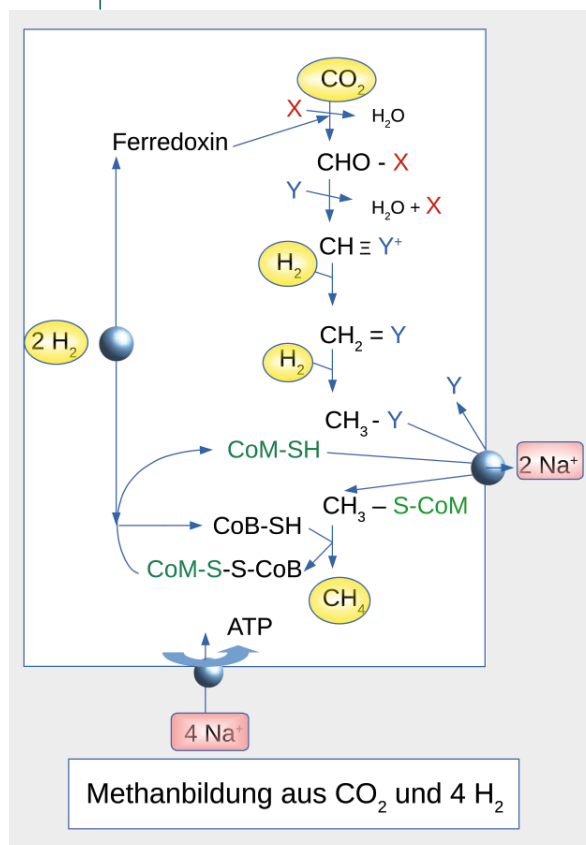
Die Bildung von Methan aus Essigsäure wurde an *Methanosarcina barkeri* aufgeklärt, einer Art, die schon 1947 in Delft isoliert worden war. Die Reaktion verläuft ebenfalls über die Reduktion der gebundenen Methyl-Stufe zu Methan. Essigsäure wird zuerst zum Coenzym A-(CoA)-Thioester aktiviert (Acetyl-Coenzym A) und dann in eine gebundene **Methyl**gruppe und ein gebundenes **Kohlenmonoxid** zerlegt, das aus der Carboxylgruppe stammt (Gleichung 7):



Die an Coenzym M gebundene Methylgruppe wird, wie oben beschrieben, zu Methan reduziert (Gleichungen 6 und 8):

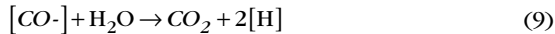


ABB. 7 | METHANBILDUNG AUS CO₂



Drei neue Coenzyme sind die Träger der C1-Einheiten: X ist Methanofuran. Y ist Tetrahydromethanopterin, das verwandt ist mit dem universellen Träger von C1-Bruchstücken, der Tetrahydrofolsäure. Der letzte Träger, Coenzym M, ist sehr klein, HO₃S-CH₂-CH₂-SH. Weitere drei neue Cofaktoren sind Elektronenüberträger, die mit H₂ reduziert werden: Faktor 420 (ein Deazaflavin), Polyferredoxin (ein Eisen-Schwefel-Protein) und Coenzym B mit Thiolgruppe. Die für die Energetik besonders wichtigen Schritte sind durch blaue Kugeln hervorgehoben.

Das gebundene Kohlenmonoxid wird zu CO₂ oxidiert (Gleichung 9):



Auch daran ist ein Nickelenzym beteiligt, die Kohlenmonoxid-Dehydrogenase. Die freiwerdenden Elektronen aus der CO-Oxidation zu CO₂ (Gleichung 9) werden bei der Reduktion von Methyl-Coenzym M zu CH₄ wieder verbraucht (Gleichung 8). Bei der Methanbildung aus CO₂ und H₂ stammen die Elektronen für den Reduktionsprozess also aus dem Wasserstoff; bei der Acetatspaltung zu CO₂ und CH₄ zirkulieren sie dagegen innerhalb des Prozesses (Disproportionierung).

Die Umkehrung der Acetatspaltung, d. h. die Synthese von Acetyl-CoA aus gebundenem Kohlenmonoxid und Methylgruppe, stellte sich als entscheidende Reaktion beim Einbau von CO₂ in Zellmaterial heraus. Diese Synthese von Acetyl-CoA ist Teil eines neuen autotrophen Weges der Fixierung von Kohlenstoff aus CO₂, den *Methanothermobacter* beschreitet. Er wird als Wood-Ljungdahl-Weg oder reduktiver Acetyl-CoA-Weg bezeichnet [3, 7, 14]. Das giftige Kohlenmonoxid stellte sich als ein Zwischenprodukt und Baustein des Lebens heraus!

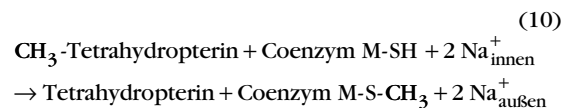
Der Weg des CO₂ zu Methan kann von anaeroben Methan oxidierenden Archaea in einer Lebensgemeinschaft mit Bakterien auch rückwärts beschritten werden, um Methan wieder zu CO₂ zu oxidieren. Das sieht nach „Perpetuum mobile“ aus, ist es aber nicht. Voraussetzung ist nämlich ein sehr hoher Methandruck, wie er in Meeressedimenten vorkommen kann, sowie eine hohe Konzentration eines geeigneten Elektronenakzeptors für das vergesellschaftete Bakterium. Mit einer Konzentration von 28 mM liegt Sulfat im Meerwasser als ein solcher geeigneter Elektronenakzeptor vor. Das Sulfat reduzierende Partnerbakterium nimmt auf noch unbekannte Weise die Elektronen aus der Methanoxidation auf und reduziert damit Sulfat zu Sulfid [3, 7]. Auch hier haben wir es mit Leben am thermodynamischen Limit zu tun wie wir gleich sehen werden.

Wie wird Energie konserviert? Natrium als essentielles Element

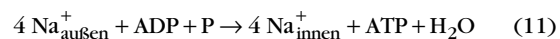
Damit hatte man das biochemische Gerüst der Methanbildung grundsätzlich verstanden. Aber wie konserviert *Methanothermobacter* Energie bei diesem Prozess? Die Bildung von Methan setzt unter natürlichen Bedingungen nur äußerst wenig Energie frei - nur etwa die Hälfte der Energiemenge, die nötig wäre, um ein ganzes ATP zu synthetisieren. Allein diese Tatsache, ein Leben nahe am thermodynamischen Gleichgewicht, gab Rätsel auf! Das energetische Problem hatte zwei Teilaspekte.

Erstens stellte es sich heraus, dass im Zuge der CO₂-Reduktion zu Methan ein chemiosmotischer Mechanismus der Energiekonservierung beteiligt ist, bei dem Natriumionen eine entscheidende Rolle spielen [15]. Allerdings kommen Chinone und Cytochrome, die Komponenten

der klassischen Elektronentransportketten, bei *Methanothermobacter* nicht vor. Überraschenderweise ist die entscheidende Energie freisetzende Reaktion auf dem Weg des CO₂ zum Methan auch keiner der Reduktionsschritte, sondern die Übertragung der Methylgruppe vom Trägercoenzym Tetrahydropterin zum letzten Trägermolekül Coenzym M. Diesen Schritt katalysiert eine Methyltransferase, das einzige membrangebundene Enzym des Stoffwechselweges. Dieses pumpt 2 Na⁺-Ionen pro Reaktion über die Membran (Gleichung 10):



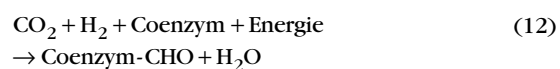
Der Natriumgradient treibt anschließend die ATP-Synthase an. Man nimmt an, dass die ATP-Synthase vier Kationen über die Membran zurück passieren lässt, um ein ATP zu synthetisieren; zwei Na⁺-Ionen entsprechen also einem halben ATP (Gleichung 11):



Diese Befunde erklären die früh gemachte Entdeckung, dass das Wachstum von *Methanothermobacter* von Na⁺-Ionen abhängig ist [7]. Mit dem chemiosmotischen Mechanismus lässt sich die Synthese von nur einem Bruchteil eines ATP pro Reaktionsumsatz mühelos erklären.

Neuer Mechanismus zur Kopplung einer energetisch ungünstigen mit einer energetisch günstigen Reaktion

Das *zweite* Hindernis beim Verständnis der Energetik der Methanbildung ist der Umstand, dass der erste Schritt, die Reduktion von CO₂ auf die Stufe einer Coenzym-gebundenen Ameisensäure, Energie erfordert (Gleichung 12):



Dieser Schritt muss deshalb irgendwie an einen späteren Reduktionsschritt gekoppelt sein, der Energie freisetzt, ohne dass Energie aufgewendet wird. Denn sonst bliebe am Ende keine Energie mehr für die ATP-Synthase übrig. Ein neuer Mechanismus der energetischen Kopplung kommt dabei ins Spiel: die Elektronen-Bifurkation [16]. Dabei spielt ein Flavinnukleotid eine entscheidende Rolle. Bei der Elektronen-Bifurkation (lat. *furca* = Gabel) werden die beiden Elektronen aufgespalten, die bei der Oxidation einer Verbindung, in diesem Fall von H₂, freigesetzt und über das Flavin auf zwei verschiedene Moleküle übertragen werden. Ein Elektron fließt energetisch gesehen „bergab“ zu einem ersten Akzeptormolekül mit einem energieärmeren, um etwa 0,2 V positiveren Redoxpotenzial; im Fall der Methanbildung ist es das Heterodisulfid CoM-S-S-CoB, das im letzten Schritt der Methanbildung entsteht (Gleichung 6). Dabei werden die Coenzyme regeneriert; das

Enzym Heterodisulfid-Reduktase in Verbindung mit Hydrogenase katalysiert die folgende Reaktion (Gleichung 13):



Gleichzeitig wird das andere Elektron auf das energiereichere, um etwa 0,2 V negativere Redoxpotenzial eines zweiten Akzeptormoleküls „bergauf“ angehoben, auf den Elektronenüberträger Polyferredoxin. Die Wiederholung dieses Vorgangs führt zur vollständigen Reduktion der beiden Akzeptormoleküle. Reduziertes Ferredoxin (aus H_2) ermöglicht nun den energetisch schwierigen ersten Schritt, die Reduktion von CO_2 , ohne dass zusätzlich Energie erforderlich ist (Gleichung 12). Diese ganze Reaktionsfolge findet an einem riesigen Enzymkomplex statt, an den das Polyferredoxin gebunden ist. Mit diesem „Trick“ lässt sich elegant eine Energie erfordernde Reaktion an eine Energie freisetzende Reaktion koppeln. Abschließend sei erwähnt, dass sich die Wege der Energiekonservierung in verschiedenen methanbildenden Bakterien in Einzelheiten beträchtlich unterscheiden [3].

Zusammenfassung

Methanothermobacter diente als Modellobjekt, an dem man die Biochemie der Methanbildung aufklären konnte. An ihm wurde gefunden, dass es neben den Bakterien eine gleichberechtigte zweite Gruppe von Prokaryonten gibt, die zunächst so benannten Archaeobakterien. Diese Erkenntnis führte zur Einteilung der Lebewesen in die drei Domänen Bacteria, Archaea und Eukarya. Die Domäne der Eukarya ist eine Schwestergruppe der Archaea. Nickel als Bioelement, Kohlenmonoxid als Zellbaustein, neue Coenzyme, ein neuer Weg der autotrophen CO_2 -Fixierung und neue Wege der energetischen Kopplung wurden entdeckt. Die Beschäftigung mit der Mikrobe des Jahres 2021 hat in den 50 Jahren seit ihrer Entdeckung also wesentliche Erkenntnisse erbracht [1, 2].

Summary

Methanothermobacter – Microbe of the Year 2021: Methanogenesis Leads to Revolutionary Discoveries

Methanothermobacter served as a model organism for the elucidation of the pathway of methanogenesis. It was the reason for developing the concept of Archaea as an independent phylum next to Bacteria. This concept finally resulted in the theory of the three domains of life, Bacteria, Archaea, Eukarya, the latter being a sister group of Archaea. The studies with Methanothermobacter led to important discoveries: nickel as bioelement, new coenzymes, carbon monoxide as natural cell building block, a new autotrophic carbon dioxide fixation pathway, and new mechanisms of energetic coupling. Studying the microbe of the year hence has resulted in many new essential findings in only 50 years since its discovery [1, 2].

Schlagworte:

Methanbildende Bakterien, *Methanothermobacter*, Archaea, thermophil, autotroph, CO, Nickel, Elektronen-Bifurkation.

Literatur

- [1] R. K. Thauer, S. Shima (2021). *Methanothermobacter* – Biokatalysator für die Energiewende. Biospektrum 27, 14–17.
- [2] H. Engelhardt (2021). *Methanothermobacter* - bedeutungsvoll für Wasser, Energie, Klima. Biospektrum 27, 18–21.
- [3] G. Fuchs (Hrsg.), Allgemeine Mikrobiologie (2021), 11. Auflage im Druck. Thieme-Verlag, Stuttgart.
- [4] H. A. Barker (1978). Explorations of bacterial metabolism. Annu. Rev. Biochem. 47, 1–33.
- [5] J. G. Zeikus, R. S. Wolfe (1972). *Methanobacterium thermoautotrophicus* sp. nov., an anaerobic, autotrophic, extreme thermophile. J. Bacteriol. 109, 707–713.
- [6] R. S. Wolfe (1991). My kind of biology. Annu. Rev. Microbiol. 45, 1–35.
- [7] R. K. Thauer (2015). My lifelong passion for biochemistry and anaerobic microorganisms. Annu. Rev. Microbiol. 69, 1–30.
- [8] T. D. Brock (1995). The road to Yellowstone - and beyond. Annu. Rev. Microbiol. 49, 1–28.
- [9] K. O. Stetter (2013). A brief history of the discovery of hyperthermophilic life. Biochem. Soc. Trans. 41, 416–20.
- [10] G. E. Fox et al. (1977). Classification of methanogenic bacteria by 16S ribosomal RNA characterization. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 1977, 74, 4537–4541.
- [11] O. Kandler (Hrsg.), Archaeobacteria. Proceedings of the 1st International Workshop on Archaeobacteria (June 27th–July 1st 1981). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1982.
- [12] M. C. Weiss et al. (2018). The last universal common ancestor between ancient Earth chemistry and the onset of genetics. PLoS Genet. 14, e1007518.
- [13] P. Schönheit et al. (1979). Nickel, cobalt, and molybdenum requirement for growth of *Methanobacterium thermoautotrophicum*. Arch. Microbiol. 123, 105–107.
- [14] H. G. Wood (1985). Then and now. Annu. Rev. Biochem. 54, 1–41.
- [15] A. Poehlein et al. (2012). An ancient pathway combining carbon dioxide fixation with the generation and utilization of a sodium ion gradient for ATP synthesis. PLoS One 7, e33439.
- [16] W. Buckel, R. K. Thauer (2018). Flavin-Based Electron Bifurcation, Ferredoxin, Flavodoxin, and Anaerobic Respiration With Protons (Ech) or NAD^+ (Rnf) as Electron Acceptors: A Historical Review. Front. Microbiol. 9, 1–24.

Verfasst von:



Georg Fuchs, Jahrgang 1945, 1967–1973 Biologiestudium an der Universität Freiburg, 1975 Promotion bei Rudolf Thauer an der Universität Bochum. 1976 Postdoc bei J. G. Zeikus an der University of Wisconsin, Madison, USA. 1976–1982 Assistent bei Rudolf Thauer an der Universität Marburg. 1982–1994 Professor an der Universität Ulm. 1994–2011 Professor an der Universität Freiburg.

Korrespondenz:

Georg Fuchs
Am Sulzbach 42a
79423 Heitersheim
georg.fuchs@biologie.uni-freiburg.de



Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland

**GEMEINSAM
FÜR DIE**

BIEWISSENSCHAFTEN

Gute Gründe, dem VBIO beizutreten:

- Werden Sie Teil des größten Netzwerks von Biowissenschaftlern in Deutschland
- Unterstützen Sie uns, die Interessen der Biowissenschaften zu vertreten
- Nutzen Sie Vorteile im Beruf
- Bleiben Sie auf dem Laufenden – mit dem VBIO-Newsletter und dem Verbandsjournal „Biologie in unserer Zeit“
- Treten Sie ein für die Zukunft der Biologie



www.vbio.de

Jetzt beitreten!

