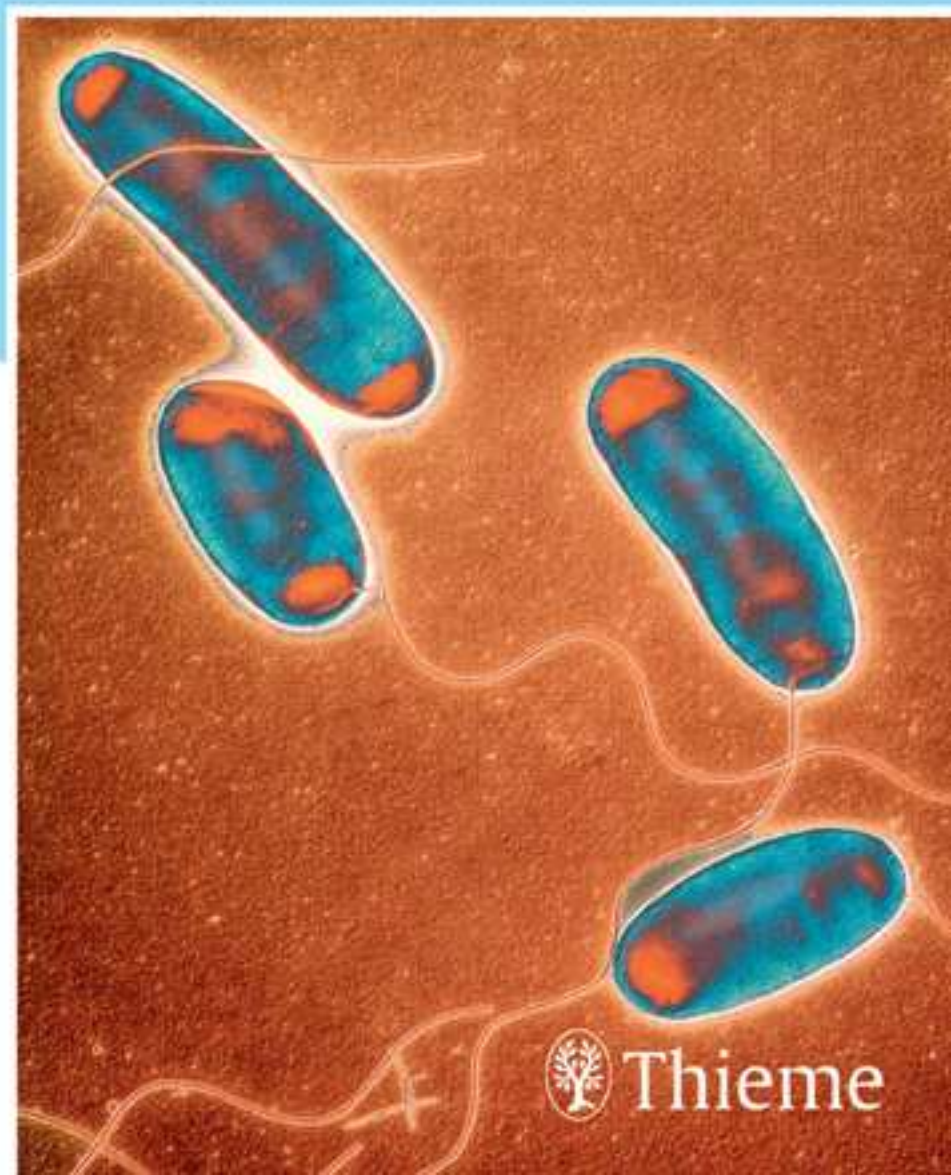


Allgemeine Mikrobiologie

Herausgegeben von
Georg Fuchs

Begründet von
Hans G. Schlegel

8. Auflage



Thieme

Allgemeine Mikrobiologie

Herausgegeben von
Georg Fuchs

Begründet von
Hans-Günter Schlegel

Mit Beiträgen von

Thomas Eitingen
Georg Fuchs
Johann Heider
Börries Kemper
Erika Kothe
Bernhard Schink
Erwin Schneider
Gottfried Uden

8., vollständig überarbeitete
und erweiterte Auflage

498 farbige Abbildungen
53 Tabellen

Georg Thieme Verlag
Stuttgart · New York

1. Auflage 1969
2. Auflage 1972
3. Auflage 1974
3. Auflage, 1. unveränderter Nachdruck 1975
4. Auflage 1976
5. Auflage 1981
6. Auflage 1985
7. Auflage 1992

1. bis 7. Auflage von Hans-G. Schlegel

1. russische Auflage 1972
2. russische Auflage 1987
1. spanische Auflage 1975
2. spanische Auflage 1997
1. polnische Auflage 1975
2. polnische Auflage 1996
1. englische Auflage 1986
2. englische Auflage 1993
1. indonesische Auflage 1994
1. italienische Auflage 1996

Titelbild:

Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme von *Legionella pneumophila*, dem Erreger der Legionärskrankheit. Die Flagellen, mit denen sich die Bakterien fortbewegen, sind deutlich zu sehen. Die Aufnahme wurde nachträglich koloriert, um die Strukturen innerhalb der Zellen besser hervorzuheben. Die Farben entsprechen dabei nicht den natürlichen Farben. Aufnahme von Oliver Meckes, copyright science foto library.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Geschützte Warennamen (Warenzeichen) werden **nicht** besonders kenntlich gemacht. Aus dem Fehlen eines solchen Hinweises kann also nicht geschlossen werden, dass es sich um einen freien Warennamen handele.

Das Werk, einschließlich aller seiner Teile, ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

© 1969, 2007 Georg Thieme Verlag
Rüdigerstraße 14
D-70469 Stuttgart
Homepage: www.thieme.de

Printed in Germany

Umschlaggestaltung: Thieme Verlagsgruppe
Zeichnungen: BITmap, Mannheim
Satz: Hagedorn Kommunikation, Viernheim
Druck: Druckhaus Götz, Ludwigsburg

ISBN 3-13-444608-1
ISBN 978-3-13-444608-1

1 2 3 4 5 6

Vorwort zur 8. Auflage

Seit der letzten, siebten Auflage des „Schlegel“, wie das Lehrbuch „Allgemeine Mikrobiologie“ respektvoll genannt wird, sind 14 Jahre verstrichen. In dieser Zeit hat sich die Mikrobiologie stürmisch weiterentwickelt, und methodische Fortschritte, von denen man zuvor nur träumen konnte, wurden Wirklichkeit. Hunderte bakterielle Genome und Metagenombanken wurden sequenziert und ausgewertet, und die massenspektrometrische Analyse erschloss den Zugang zur Funktion zahlloser Proteine, unsere Kenntnis von der Vielfalt der Mikroorganismen und ihrer Leistungen hat sich beträchtlich erweitert....

Die Neuauflage baut auf Bewährtem der letzten Auflage von Hans-Günter Schlegel auf. Ein Buch nach vielen Auflagen gleicht einem Schiff, dessen Planken allesamt morsch geworden waren und im Laufe der Zeit ausgetauscht wurden. Ist das Schiff nun neu, oder ist es das alte? Es ist alt und neu zugleich. Die Fortschritte der Drucktechnik und das Bemühen des Verlages haben es ermöglicht, das Buch in einer ansprechenden neuen Form herauszubringen. Das Konzept eines kurzen Lehrbuches der Allgemeinen Mikrobiologie ist das alte geblieben.

Wie jedes Lehrbuch versucht auch dieses eine Gratwanderung zwischen der wachsenden Stofffülle auf der einen Seite und der straffen Darstellung und konzeptuellen Aufarbeitung auf der anderen. Das Buch soll grundlegend und detailliert genug sein für Studierende der Mikrobiologie, aber einfach genug, um auch für Studierende im Grundstudium Biologie und für „Besucher“ aus anderen Disziplinen einladend und verständlich zu sein. Nach Albert Einstein sollte man versuchen, alles so einfach wie möglich darzustellen, ... aber nicht einfacher! Wir hoffen, dieser Versuch ist weitgehend gelungen.

Heute ist kaum mehr eine Person alleine in der Lage, das Gesamtgebiet der Mikrobiologie zu überschauen; ein Grund dafür, dass sich für die Neuauflage ein Team von Autoren zusammengefunden hat. Dieses Zusammenfinden hat lange gedauert, und wir Autoren sind Hans-Günter Schlegel, der dieses Lehrbuch begründet hat, außerordentlich dankbar für die unendliche Geduld mit uns, für sein großzügiges Verständnis und seinen ermutigenden Zuspruch. Seine Anregungen waren uns wichtig, und wir hoffen, dass „sein Buch“ in neuer Aufmachung seine Zustimmung findet.

Unser Dank geht an Frau Margrit Hauff-Tischendorf vom Georg Thieme Verlag; ihre Initiative, Zähigkeit und Liebenswürdigkeit haben den nötigen frischen Schwung gebracht, wenn die Fahrt wieder einmal ins Stocken geriet. Unter der neuen Regie von Frau Marianne Mauch war das Ziel schon näher vor Augen, und die Zusammenarbeit mit Frau Dr. Karin Hauser, die genauestens und kompetent unsere Manuskripte redigierte, war schließlich ein Vergnügen. Ihnen und auch allen nicht namentlich genannten Mitarbeitern und Zuarbeitern des Verlags und vielen ungenannten Kollegen, die uns mit Rat und Bildmaterial geholfen haben, sei herzlichst gedankt.

Nun wünschen wir uns wohlwollende, aufmerksame und kritische Leser, die sich nicht scheuen, uns ihre Kritik und Wünsche mitzuteilen.

Die Autoren
August 2006

Vorwort zur 1. Auflage

Die Mikrobiologie behandelt vorwiegend die großen Gruppen der Pilze, Bakterien und Viren, die an Mannigfaltigkeit und physiologischen Phänomenen den Objekten der traditionellen Fächer Botanik und Zoologie nicht nachstehen. Zur Lösung der Grundprobleme der allgemeinen Biologie hat das Studium der Mikroorganismen in den letzten Jahren hervorragende Beiträge geleistet. Die leichte Handlichkeit, das rasche Wachstum, das hohe Anpassungsvermögen und andere Eigenschaften haben die Mikroorganismen zu den bevorzugten Objekten der Biochemie und Genetik werden lassen.

Den Studierenden der Mikrobiologie stehen die hervorragenden, im Literaturverzeichnis genannten Lehrbücher „STANIER et al., General Microbiology“, „THIMANN, Das Leben der Bakterien“ und „DAVIS et al., Microbiology“ sowie zahlreiche andere Lehr- und Handbücher zur Verfügung. Es fehlte jedoch eine knapp gefasste Darstellung, die nicht nur dem Mikrobiologen eine Übersicht, sondern auch dem Studierenden der Botanik, Zoologie, Pharmazie, Landwirtschaft, Medizin, Chemie und Physik die nötigen Grundkenntnisse der Allgemeinen Mikrobiologie zu vermitteln vermag. Das vorliegende Buch soll den Anforderungen dieses weiten Leserkreises Rechnung tragen. Es soll einen allgemeinen Überblick und spezielle Kenntnisse vermitteln und Anregungen geben. Das Buch setzt gewisse Kenntnisse der Biologie voraus, die beispielsweise in den in der gleichen Reihe herausgegebenen kurzen Lehrbüchern der Botanik und der Zoologie vermittelt werden. Das Buch regt auch dazu an, Grenzgebiete, in erster Linie Allgemeine Biochemie, eingehend zu studieren. Neben einem Skelett der chemischen Grundreaktionen des Stoffwechsels werden hier nur die für Mikroorganismen typischen Stoffwechselreaktionen hinreichend ausführlich dargelegt.

Zugunsten einer möglichst eingehenden Darstellung grundlegender Zusammenhänge und Hintansetzung einer mehr beschreibenden Mitteilung konzentriert sich der vorliegende Text auf die Physiologie der Bakterien. Durch das Verständnis molekularer Zusammenhänge ist die Biologie einfacher und leichter überschaubar geworden. Die mannigfaltigen Lebensäußerungen und Stoffwechselleistungen lassen sich auf gemeinsame Ursachen und eine begrenzte Zahl von Elementarstrukturen und -prozessen sowie von Bau- und Stoffwechselplänen zurückführen, deren Kenntnis wiederum auch für den deskriptiven Bereich wertvolle heuristische Prinzipien abzuleiten gestattet. So trägt das Eindringen in die Tiefe für das Verständnis der Breite reiche Frucht.

Dank: Für die vielfältige Unterstützung, Kritik und Beratung, die ich von meinen Mitarbeitern D. Claus, U. Eberhardt, G. Gottschalk und N. Pfennig erfahren habe, sei an dieser Stelle besonders gedankt. Einen wesentlichen Anteil an der Arbeit hat Fräulein Dr. K. Schmidt. Ohne ihre Mithilfe bei dem Entwurf der Zeichnungen, bei der Durcharbeitung des Manuskripts und vielen redaktionellen Arbeiten wäre der rechtzeitige Abschluss des Manuskripts nicht möglich gewesen. Herrn L. Schnellbacher danke ich für die sorgfältige und verständnisvolle Ausführung der Zeichnungen. Frau M. Welskop sei für das Schreiben des Manuskripts und die Abfassung des Sachverzeichnisses gedankt.

Dank gebührt auch allen Kollegen, die mir unveröffentlichte fotografische Abbildungen überlassen oder Hochglanzabzüge bereits veröffentlichter Abbildungen zur Verfügung gestellt haben. Die großzügige Genehmigung der Wiedergabe dieser Abbildungen durch die Verlagshäuser wird dankbar gewürdigt.

Besondere Anerkennung verdient der Georg Thieme Verlag, der es unternommen hat, für die biologischen Wissenschaften eine Reihe außerordentlich preiswerter, gut ausgestatteter einführender Lehrbücher herauszubringen.

H.-G. Schlegel

Göttingen, im November 1968

Adressenverzeichnis

PD Dr. rer. nat. Thomas Eitinger
Institut für Biologie/Mikrobiologie
Humboldt-Universität Berlin
Chausseestraße. 117
10115 Berlin
thomas.eitinger@rz.hu-berlin.de

Prof. Dr. rer. nat. Georg Fuchs
Institut für Biologie II der Univ.
Schänzlestraße 1
79104 Freiburg
georg.fuchs@biologie.uni-freiburg.de

Prof. Dr. rer. nat. Johann Heider
TU Darmstadt
Institut für Mikrobiologie und Genetik
Schnittspahnstraße 10
64287 Darmstadt
heider@bio.tu-darmstadt.de

Prof. Dr. rer. nat. Böttjes Kemper
Institut für Genetik der Univ. zu Köln
Zülpicher Straße 47
50674 Köln
b.kemper@uni-koeln.de

Prof. Dr. rer. nat. Erika Kothe
Institut für Mikrobiologie
Friedrich Schiller Universität
Neugasse 24
07743 Jena
erika.kothe@rz.uni-jena.de

Prof. Dr. Hans-Günter Schlegel
Görlitzerstraße 35
37120 Bovenden
(Vormals Institut für Mikrobiologie
Universität Göttingen)

Prof. Dr. rer. nat. Bernhard Schink
Fakultät für Biologie
Universität Konstanz
Universitätsstraße 10
78464 Konstanz
Bernhard.Schink@uni-konstanz.de

Prof. Dr. rer. nat. Erwin Schneider
Institut für Biologie der Humboldt Universität/
Physiologie der Mikroorganismen
Chausseestraße 117
10115 Berlin
erwin.schneider@biologie.hu-berlin.de

Prof. Dr. rer. nat. Gottfried Unden
Institut für Mikrobiologie
und Weinforschung der Univ.
Becherweg 15
55099 Mainz
unden@uni-mainz.de

Inhalt

1	Die Mikroorganismen – eine kurze Einführung	1
	<i>G. Fuchs</i>	
1.1	Die Anfänge der Mikrobiologie	3
1.2	Die alten drei Reiche: Tiere, Pflanzen und Protisten	5
1.2.1	Tiere	5
1.2.2	Pflanzen	6
1.2.3	Protisten	7
1.3	Von den zwei Reichen der Prokaryonten und Eukaryonten zu den drei neuen Reichen	7
1.3.1	Die zwei Reiche	7
1.3.2	Die drei neuen Reiche	8
1.4	Evolution der Organismen und phylogenetischer Stammbaum	9
1.5	Allgemeine Eigenschaften der Mikroorganismen	11
1.5.1	Das erfolgreiche Prinzip Kleinheit	11
1.5.2	Größeneinheit Mikrometer, die Elle des Mikrobiologen	12
1.5.3	Großes Oberfläche/Volumen-Verhältnis und seine Folgen	12
1.5.4	Stoffwechselvielfalt und individuelle Anpassungsfähigkeit	13
1.5.5	Rasche genetische Anpassung	14
1.5.6	Verbreitung und Überdauerungsvermögen der Mikroorganismen	15
1.5.7	Mikroorganismen als Modellobjekte der Forschung	15
1.6	Rolle der Mikroorganismen im Kreislauf der Stoffe	17
1.6.1	Kreislauf des Kohlenstoffs	17
1.6.2	Kreislauf des Stickstoffs	19
1.6.3	Kreislauf des Phosphors	19
1.6.4	Kreislauf des Schwefels	20
1.6.5	Mikroorganismen und ihre Fressfeinde	21
1.7	Mikroorganismen als Symbionten	21
1.8	Mikroorganismen im Dienste des Menschen	23
1.8.1	Klassische mikrobielle Verfahren	23
1.8.2	Neue mikrobielle Verfahren	24
1.8.3	Mikroorganismen und Gentechnologie	24
1.8.4	Mikroorganismen in Umweltprozessen	25
1.8.5	Monopolstellung der Mikroorganismen	25
1.9	Mikroorganismen als Gesundmacher – der Mensch als besiedelter Raum	25
1.10	Mikroorganismen als Krankheitserreger	26
2	Die Prokaryonta und die prokaryontische Zelle	29
	<i>E. Schneider</i>	
2.1	Prokaryonten versus Eukaryonten	31
2.1.1	Struktur des Genoms	31
2.1.2	Struktur der Zelle	32
2.2	Archaeobakterien versus Eubakterien	34
2.3	Die Prokaryontenzelle – Zellformen und Größe, chemische Zusammensetzung	36
2.3.1	Morphologische Merkmale	36
2.3.2	Stoffliche Zusammensetzung	38
2.4	Taxonomie und Artbegriff	44
2.4.1	Taxonomie	44
2.4.2	Artbegriff	47
2.5	Die „natürliche“ oder phylogenetische Klassifikation	47

2.6	Ausgewählte Beispiele aus dem „natürlichen System“	48
2.6.1	Eubakterien	48
2.6.2	Archaeobakterien	53

3 Pilze 57

E. Kothe

3.1	Vorkommen der Pilze	59
3.2	Die pilzliche Zelle	59
3.2.1	Aufbau der pilzlichen Zelle	59
3.2.2	Pilzwachstum	60
3.3	Einteilung der Pilze	61
3.3.1	Vermehrungsformen der Pilze als Einteilungskriterien	62
3.3.2	Basidiomyceten	63
3.3.3	Ascomyceten	64
3.3.4	Zygomyceten und Glomeromyceten	64
3.3.5	Chytridiomyceten	65
3.3.6	Deuteromyceten und Hyphomyceten	65
3.4	Asexuelle Vermehrung	66
3.4.1	Mitose und Zellzyklus	66
3.4.2	Asexuelle Vermehrungsformen bei Ascomyceten	67
3.4.3	Asexuelle Vermehrungsformen bei Basidiomyceten, Zygomyceten, Glomeromyceten und Chytridiomyceten	68
3.5	Sexuelle Vermehrung	68
3.5.1	Homothallie und Heterothallie	68
3.5.2	Sexuelle Entwicklung bei Basidiomyceten	69
3.5.3	Sexuelle Entwicklung bei Ascomyceten	70
3.5.4	Sexuelle Entwicklung der Zygomyceten	72
3.6	Saprophytisches Wachstum	73
3.6.1	Schimmelpilze	74
3.6.2	Weißfäule und Braunfäule	74
3.7	Mykorrhiza – Symbiose zwischen Pilz und Pflanze	75
3.7.1	Arbuskuläre Endomykorrhiza	75
3.7.2	Ektomykorrhiza	76
3.8	Parasitismus	78
3.8.1	Phytopathogene Pilze	78
3.8.2	Tier- und humanpathogene Pilze	80
3.9	Pilzgenetik	82
3.9.1	Ascusanalyse	83
3.9.2	Molekulargenetik mit eukaryontischen Systemen	84
3.10	Pilze in der Biotechnologie und Produktion	85
3.10.1	Biotechnologie	86
3.10.2	Speisepilze und Pilzgifte	86
3.11	Vielfalt pilzlicher Lebensformen	88
3.11.1	Synchrone Meiose beim Tintling	88
3.11.2	Umwandlung von Pflanzenorganen durch den Antherenbrand	88
3.11.3	Komplizierte Lebenszyklen bei Rostpilzen	89
3.11.4	Humanpathogene Pilze: Virulenzfaktoren bei <i>Cryptococcus</i>	90
3.11.5	Die Innere Uhr: Zeitgeber bei <i>Neurospora crassa</i>	91
3.11.6	Septenbildung bei filamentösen Pilzen: <i>Ashbya gossypii</i>	92
3.11.7	Sex and crime – mykoparasitische Zygomyceten	92
3.11.8	Oomyceten: Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel	93
3.11.9	Mycetozoa: cAMP als Lockstoff	94

4	Viren	97
	<i>B. Kemper</i>	
4.1	Vorkommen und Entdeckung	99
4.2	Entwicklung	100
4.2.1	Der lytische Zyklus	100
4.2.2	Der lysogene Zyklus	101
4.3	Aufbau	101
4.4	Vermehrung	104
4.5	Mechanismen der Verbreitung	105
4.6	Klassifizierung der Viren	105
4.7	Beispiele	106
4.7.1	Doppelsträngige DNA-Viren (Klasse-I-Viren)	106
4.7.2	Partiell doppelsträngige DNA-Viren	110
4.7.3	Einzelsträngige DNA-Viren (Klasse-II-Viren)	112
4.7.4	Die plus-Strang-RNA-Viren (Klasse-IV- und Klasse-VI-Viren)	114
4.7.5	Die minus-Strang RNA-Viren der Eukaryonten (Klasse-V-Viren)	117
4.7.6	Doppelsträngige RNA-Viren (Klasse-III-Viren)	118
4.8	Viroide	120
5	Die Besonderheiten prokaryontischer Zellen	123
	<i>E. Schneider</i>	
5.1	Abbildung von Mikroorganismen	125
5.1.1	Lichtmikroskopie	125
5.1.2	Elektronenmikroskopie	127
5.2	Chromosom und Plasmide	128
5.3	Cytoskelett	129
5.4	Ribosomen	129
5.5	Zellmembranen	130
5.5.1	Cytoplasmamembran	130
5.5.2	Intracytoplasmatische Membranen	132
5.6	Zellwand	133
5.7	Kapseln und Schleime	136
5.8	Die äußere Membran gramnegativer Bakterien	137
5.9	Flagellen, Fimbrien, Pili	138
5.9.1	Flagellen	138
5.9.2	Fimbrien und Pili	142
5.10	Speicherstoffe	143
5.10.1	Polysaccharide	143
5.10.2	Fettartige Substanzen	143
5.10.3	Polyphosphate	144
5.10.4	Schwefel	144
5.10.5	Cyanophycin	145
5.11	Andere Zelleinschlüsse	145
5.12	Spezielle Zelldifferenzierung	146
5.12.1	Endosporen und andere Dauerformen	146
5.12.2	Heterocysten	147
5.13	Prokaryontische und eukaryontische Zellen im Vergleich	149
5.14	Angriffsorte und Wirkungsweise wichtiger Antibiotika	150

6	Wachstum und Ernährung der Mikroorganismen	155
	<i>B. Schink</i>	
6.1	Chemische Zusammensetzung der Zelle und Nahrungsbedarf	157
6.1.1	Elementare Nährstoffansprüche	157
6.1.2	Ergänzungstoffe	157
6.2	Ernährungstypen und Lebensstrategien	158
6.3	Substrate für Mikroorganismen	158
6.4	Anpassung an unterschiedliche Umweltbedingungen	160
6.5	Zusammensetzung von Nährmedien und Kultivierungstechniken	162
6.5.1	Nährböden	163
6.5.2	Kultivierungstechniken	163
6.6	Selektive Kulturmethoden	166
6.6.1	Anreicherungskultur	166
6.6.2	Reinkultur	168
6.6.3	Mischkultur	168
6.7	Wachstum und Zellteilung	169
6.7.1	Methoden zur Bestimmung der Zellzahl und der Bakterienmasse	169
6.7.2	Kinetik des Wachstums	171
6.8	Physiologie des Wachstums	173
6.8.1	Bakterienwachstum in statischer Kultur	173
6.8.2	Parameter der Wachstumskurve	175
6.8.3	Lineares Wachstum	176
6.8.4	Bakterienwachstum in kontinuierlicher Kultur	177
6.8.5	Unterschiede zwischen statischer und kontinuierlicher Kultur	180
6.9	Hemmung des Wachstums und Abtötung	180
6.10	Sterilisation und Desinfektion	182
6.11	Konservierungsverfahren	186
6.12	Kulturerhaltung	188
6.13	Mikrobiologische Diagnostik	189
6.13.1	Klassische Techniken	189
6.13.2	Molekularbiologische Techniken	190
7	Zentrale Stoffwechselwege	193
	<i>G. Fuchs</i>	
7.1	Grundmechanismen des Stoffwechsels und der Energieumwandlung	195
7.1.1	Abbau der Kohlenhydrate	196
7.1.2	Funktion der Enzyme	196
7.1.3	Umwandlung von Energie	200
7.2	Wege des Hexoseabbaus	202
7.2.1	Glykolyse	202
7.2.2	Pentosephosphatweg und oxidativer Pentosephosphatzyklus	203
7.2.3	KDPG-(2-Keto-3-desoxy-6-Phosphogluconat-)Weg	204
7.2.4	Energiebilanzen und Verbreitung der Zuckerabbauwege	206
7.2.5	Oxidation von Pyruvat	207
7.3	Citratzyklus und alternative Wege	208
7.4	Elektronentransportphosphorylierung der Atmungskette	210
7.4.1	Prinzip der Atmungskette	210
7.4.2	Komponenten der Atmungskette	213
7.4.3	Atmungskette bei Veratmung von Sauerstoff	215
7.4.4	Elektronentransportphosphorylierung	218
7.4.5	Rückläufiger Elektronentransport	220
7.4.6	Elektronentransportprozesse bei anaeroben Bakterien	220

7.5	Eigenschaften und Funktionen von Sauerstoff	220
7.5.1	Regulation durch Sauerstoff	221
7.5.2	Toxische Wirkung des Sauerstoffs und Entgiftungsreaktionen	221
7.5.3	Sauerstoff als Cosubstrat	222
7.5.4	Biolumineszenz	222
7.6	Verbindung zwischen Energiestoffwechsel und Biosynthese	223
7.6.1	Bereitstellung des Kohlenstoffs für die Biosynthese	223
7.6.2	Hilfszyklen und Sonderwege	223
7.6.3	Regulation von Genexpression und Enzymaktivität	226

8 **Biosynthesen** 229

G. Fuchs

8.1	Organisation der „Zellfabrik“	231
8.2	Syntheseleistung der Zelle	232
8.3	Makromoleküle und ihre Bausteine	233
8.4	Assimilation der Elemente N, P, S und der Spurenelemente	233
8.4.1	Stickstoff	234
8.4.2	Schwefel	238
8.4.3	Phosphor	240
8.4.4	Spurenelemente	240
8.5	Bereitstellung von C₁-Einheiten, Energie, Reduktions- und Oxidationsmitteln	242
8.5.1	C ₁ -Einheiten	242
8.5.2	Energie	243
8.5.3	Reduktions- und Oxidationsmittel	244
8.6	Synthese von Zellmaterial aus CO₂ und Formaldehyd	244
8.6.1	Synthese von Zellmaterial aus CO ₂ (autotrophe CO ₂ -Fixierung)	244
8.6.2	Synthese von Zellmaterial aus Formaldehyd	249
8.7	Biosynthesen der Bausteine	252
8.7.1	Aminosäuren	252
8.7.2	Zucker	252
8.7.3	Nukleotide und Desoxynukleotide	254
8.7.4	Lipide	256
8.7.5	Synthesen von Zellwandkomponenten an der Membran	259
8.7.6	Speicherstoffe	260

9 **Transport über die Cytoplasmamembran** 263

E. Schneider

9.1	Grundlagen des Transports	265
9.1.1	Passiver Transport durch Diffusion	265
9.1.2	Passiver Transport durch Kanalproteine	265
9.1.3	Aktiver Transport durch Carrier	266
9.2	Transportmechanismen und Transportsysteme	267
9.2.1	Primäre Transportsysteme	269
9.2.2	Sekundäre Transportsysteme	270
9.2.3	Gruppentranslokation	271
9.2.4	Zusammenwirken von Exoenzymen und Transport	272
9.3	Weitere Aspekte der Transportsysteme	272
9.3.1	Beteiligung von Transportsystemen an der Gen- und Proteinregulation	272
9.3.2	Transportsysteme als chemotaktische Rezeptoren	273
9.3.3	Transportsysteme als Mediatoren der Differenzierung	275
9.4	Resistenz durch proteinvermittelten Export	275

9.5	Translokationssysteme für den Proteinexport	276
9.5.1	Sec-Translokationssystem	276
9.5.2	Tat-Translokationssystem	277
9.5.3	Spezielle Sekretionssysteme	277
9.6	Aufnahme von DNA	279
10	Abbau organischer Verbindungen	283
	<i>G. Fuchs</i>	
10.1	Aerobe und anaerobe Mineralisierung	285
10.1.1	Aerobe Mineralisierung	285
10.1.2	Anaerobe Mineralisierung	285
10.2	Gemeinsame Aspekte des Polymerabbaus	286
10.3	Abbau von Polysacchariden	287
10.3.1	Cellulose	287
10.3.2	Hemicellulosen	288
10.3.3	Pectine	289
10.3.4	Andere Polysaccharide	290
10.3.5	Chitin und Murein	290
10.3.6	Stärke	291
10.3.7	Fructane	292
10.4	Abbau von Lignin	292
10.5	Abbau von Proteinen, Nukleinsäuren und Lipiden	295
10.5.1	Proteine	295
10.5.2	Nukleinsäuren	296
10.5.3	Lipide	296
10.6	Abbau niedermolekularer Substanzen	297
10.6.1	Zucker	298
10.6.2	Aminosäuren	300
10.6.3	Aromatische Verbindungen	302
10.6.4	Kohlenwasserstoffe	308
10.6.5	Fettsäuren	312
10.6.6	Purine, Pyrimidine und andere heterozyklische Verbindungen	314
10.7	Abbau und Cometabolismus von Xenobiotika	315
10.8	Unvollständige Oxidationen	317
11	Oxidation anorganischer Verbindungen: Chemolithotrophe Lebensweise	321
	<i>J. Heider</i>	
11.1	Habitate und Lebensweise von chemolithotrophen Bakterien	323
11.1.1	Art und Herkunft der Substrate	323
11.1.2	Habitate	324
11.1.3	Lebensweise	324
11.1.4	Stoffwechseltypen und ihre Nischen	326
11.1.5	Symbiosen	327
11.2	Prinzipien der Lithotrophie	328
11.2.1	Stoffwechselprinzip	328
11.2.2	Rückläufiger Elektronentransport	328
11.3	Reduzierte Stickstoffverbindungen als Elektronendonatoren	329
11.3.1	Ammonium- und nitritoxidierende Nitrifikanten	330
11.3.2	Biochemie der Ammoniumoxidation	330
11.3.3	Biochemie der Nitritoxidation	331
11.3.4	Ökologische und praktische Bedeutung der Nitrifikation	332

11.4	Reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren	333
11.4.1	Biochemie der Sulfid- und Schwefeloxidation	336
11.4.2	Schwefelwasserstoffoxidierende Symbionten	338
11.5	Reduzierte Metallionen als Elektronendonatoren	339
11.5.1	Biochemie der Oxidation von Metallionen	341
11.5.2	Erzlaugung	341
11.6	Wasserstoff als Elektronendonator	342
11.6.1	Biochemische Grundlagen	343
11.6.2	Aerobe wasserstoffoxidierende Mikroorganismen	343
11.7	Kohlenmonoxid als Elektronendonator	344
12	Mikrobielle Gärungen	347
	<i>J. Heider</i>	
12.1	Prinzipien der Gärung	349
12.1.1	Habitate von gärenden Mikroorganismen	349
12.1.2	Regeneration der Redox-Carrier	349
12.1.3	Gärungstypen	350
12.1.4	Substratkettenphosphorylierung	350
12.1.5	Wasserstoff als Gärprodukt	352
12.1.6	Biotechnologische Bedeutung von Gärungen	353
12.2	Milchsäuregärung	353
12.2.1	Homofermentative Milchsäuregärung	355
12.2.2	Heterofermentative Milchsäuregärung	355
12.2.3	<i>Bifidobacterium</i> -Gärung	356
12.2.4	Praktische Bedeutung der Milchsäurebakterien	357
12.2.5	Medizinische Bedeutung von Milchsäurebakterien	359
12.3	Ethanolgärung	359
12.3.1	Biochemie der Ethanolbildung	360
12.3.2	Praktische Bedeutung der alkoholischen Gärung	362
12.4	Gemischte Säuregärung	363
12.4.1	Biochemie der gemischten Säuregärung	364
12.4.2	Bedeutung der gemischten Säuregärung für Trinkwasser- und Labordiagnostik	368
12.5	Buttersäure- und Lösungsmittelgärung	369
12.5.1	Buttersäuregärende Clostridien	369
12.5.2	Biochemische Grundlagen der Buttersäuregärung	369
12.5.3	Lösungsmittelgärung (Butanolgärung)	371
12.6	Propionsäuregärung	371
12.6.1	Biochemische Grundlagen der Propionsäuregärung	372
12.7	Vergärung von Aminosäuren und Nukleotidbasen	374
12.7.1	Stickland-Gärung	374
12.7.2	Weitere Gärungswege für Aminosäuren und Purine	375
12.8	Sekundäre Gärungen und Homoacetatgärung	375
12.8.1	Sekundäre Gärungen	375
12.8.2	Homoacetatgärung	377

13	Anaerobe Atmung	379
	<i>J. Heider</i>	
13.1	Energetisches Prinzip	381
13.2	Nitrat, Nitrit, N₂O als Elektronenakzeptoren	382
13.2.1	Denitrifikation	383
13.2.2	Nitratammonifikation	385
13.2.3	Anammox-Reaktion	385
13.3	Fumarat als Elektronenakzeptor	387
13.4	Oxidierter Metallionen als Elektronenakzeptoren	388
13.5	Sulfat als Elektronenakzeptor	388
13.5.1	Unterschiede zwischen assimilatorischer und dissimilatorischer Sulfatreduktion	391
13.5.2	Rolle der sulfatreduzierenden Mikroorganismen im Naturhaushalt	392
13.6	Schwefel als Elektronenakzeptor	393
13.7	Methanogenese: CO₂ als Elektronenakzeptor	395
13.7.1	Methanbildung aus H ₂ und CO ₂	397
13.7.2	Methanbildung aus Acetat	398
13.8	Acetogenese: CO₂ als Elektronenakzeptor	400
13.9	Reduktion weiterer Elektronenakzeptoren	402
13.9.1	Sulfoxide und Aminoxide	402
13.9.2	Anorganische Oxyanionen	403
13.9.3	Chlororganische Verbindungen	403
14	Phototrophe Lebensweise	405
	<i>G. Fuchs</i>	
14.1	Bedeutung und Prinzipien der Photosynthese	407
14.1.1	Licht als Energiequelle und phototrophes Wachstum	407
14.1.2	Prinzipien der Photosynthese	407
14.2	Oxygene phototrophe Bakterien (Cyanobakterien)	409
14.2.1	Vorkommen und Rolle von Cyanobakterien	409
14.2.2	Stoffwechsel und Zellstruktur	410
14.2.3	Morphologische Gruppen	411
14.2.4	Zelldifferenzierungen	413
14.3	Anoxygene phototrophe Bakterien	413
14.3.1	Vorkommen und Rolle von anoxygenen phototrophen Bakterien	415
14.3.2	Purpurbakterien und Grüne Nicht-Schwefelbakterien (Photosysteme vom Typ II)	417
14.3.3	Grüne Schwefelbakterien und Heliobakterien (Photosysteme vom Typ I)	419
14.4	Photosynthetische Pigmente und Thylakoide	420
14.4.1	Chlorophylle und Bakteriochlorophylle	420
14.4.2	Akzessorische Pigmente	422
14.4.3	Thylakoide	424
14.5	Antennenkomplexe	424
14.5.1	LH I und II	425
14.5.2	Chlorosomen	425
14.5.3	Phycobilisomen	426
14.6	Oxygene Photosynthese	426
14.6.1	Die photosynthetische Redoxkette im Überblick	427
14.6.2	Photosystem II (Chinon-Typ) und Wasserspaltung	428
14.6.3	Elektronentransportkette	429
14.6.4	Photosystem I (FeS-Typ) und NADPH-Bildung	430
14.6.5	Zyklische Photophosphorylierung	430
14.6.6	Bilanz, Quantenbedarf und Wirkungsgrad der Lichtreaktion	431

14.7	Anoxygene Photosynthese	432
14.7.1	Gemeinsamkeiten und Unterschiede bei den anoxygenen Photosystemen	432
14.7.2	Photosysteme vom Typ II (Chinon-Typ) und vom Typ I (FeS-Typ)	434
14.8	Bakteriorhodopsin- und Proteorhodopsin-abhängige Photosynthese	435
15	Prokaryontische Genetik und Molekularbiologie	439
	<i>T. Eitinger</i>	
15.1	Organisation prokaryontischer DNA	441
15.1.1	Struktur der DNA	441
15.1.2	Chromosomen	441
15.1.3	Plasmide	443
15.2	Weitergabe genetischer Information: DNA-Replikation	444
15.2.1	DNA-Polymerasen	444
15.2.2	Reaktionen an der Replikationsgabel	444
15.3	Mutationen und DNA-Reparatur	446
15.3.1	Arten von Mutationen	446
15.3.2	Entstehung von Mutationen	447
15.3.3	Selektion von Mutanten	451
15.3.4	DNA-Reparatur	451
15.4	Genetische Rekombination	454
15.4.1	Homologe Rekombination	454
15.4.2	Nichthomologe Rekombination	455
15.5	Mobile genetische Elemente	457
15.6	Mechanismen der Genübertragung	459
15.6.1	Transformation	460
15.6.2	Konjugation	462
15.6.3	Transduktion	466
15.7	Restriktion und Modifikation	467
15.8	Expression genetischer Information: Transkription und Translation	468
15.8.1	Transkription	469
15.8.2	Translation	471
15.9	DNA-Klonierung	476
15.9.1	Plasmide als Vektoren	477
15.9.2	Phagen als Vektoren	478
15.9.3	Cosmide	480
15.9.4	YACs, BACs und PACs: Vektoren für sehr große DNA-Fragmente	480
15.9.5	cDNA-Banken und Ligationsverfahren	480
15.9.6	Identifizierung rekombinanter Klone	481
15.10	DNA-Sequenzierung und Genomsequenzen	482
15.10.1	Genomsequenzierung	482
15.10.2	Genomgrößen und Genomorganisation	485
15.10.3	Genomvergleiche	485
15.11	Postgenomik	486
16	Regulation des Stoffwechsels und des Zellaufbaus von Bakterien	491
	<i>G. Unden</i>	
16.1	Regulation der Genexpression in Bakterien	493
16.1.1	Veränderung der DNA-Struktur	493
16.1.2	Kontrolle der Transkription und Translation	494
16.1.3	Posttranslationale Regulation	494

16.2	Kontrolle der Enzymaktivität durch posttranslationale Regulation	495
16.2.1	Allosterische Regulation	495
16.2.2	Kovalente Modifikation von Proteinen	496
16.3	Reizaufnahme und Reizverarbeitung	497
16.3.1	Membranständige und cytoplasmatische Sensoren	497
16.3.2	Regulons, Stimulons und Netzwerke	497
16.3.3	Aufbau und Funktion von Zweikomponentensystemen	499
16.4	Regulation von Transkription und Translation	499
16.4.1	Regulation der Transkription durch DNA-bindende Proteine	500
16.4.2	Kontrolle durch regulatorische RNA und Attenuation	502
16.5	Regulation von Katabolismus und Energiestoffwechsel	504
16.5.1	Übergeordnete Regulation des Kohlenstoffkatabolismus	505
16.5.2	Regulation des Stoffwechsels durch Elektronenakzeptoren	507
16.6	Stringente Kontrolle und genereller Stress	509
16.6.1	Stringente Kontrolle und Kopplung von Anabolismus und Katabolismus	509
16.6.2	Generelle Stressantwort und Regulation der stationären Phase in <i>E. coli</i>	510
16.7	Spezifische Stressreaktionen	512
16.7.1	Oxidativer Stress	512
16.7.2	Hitzeschockreaktion	513
16.7.3	Osmoregulation	515
16.8	Regulation der Stickstoffassimilierung	516
16.9	Chemotaxis	518
16.10	Interzelluläre Kommunikation und Zelldichteregulation (Quorum Sensing)	520
16.11	Differenzierung bei Bakterien	521
17	Die Rolle von Mikroorganismen im Stoffkreislauf und in der Natur	525
	<i>B. Schink</i>	
17.1	Ökosystem, Standort und ökologische Nische	527
17.1.1	Ökosystem	527
17.1.2	Standort	527
17.1.3	Ökologische Nische	527
17.1.4	Bewohner eines Ökosystems	528
17.2	Limitierung von Substraten und Energiequellen	528
17.2.1	Logistisches Wachstum	528
17.2.2	Begrenzung der Abbaurate	529
17.3	Fließsysteme, Substrataffinität und Schwellenwerte	529
17.4	Hunger, Stress, Abweidung und Populationskontrolle durch Phagen	530
17.4.1	Hunger	531
17.4.2	Stress	531
17.4.3	Abweidung	532
17.4.4	Phagen	532
17.5	Transport von Substraten und Produkten	533
17.5.1	Diffusionskontrollierte Lebensräume und Gradientenorganismen	534
17.6	Methoden zur Analyse mikrobieller Populationen und ihrer Aktivitäten in der Natur	535
17.6.1	Färbetechniken und Mikroautoradiografie	535
17.6.2	Chemische Methoden	536
17.6.3	Kultivierungsmethoden	536
17.6.4	Molekularbiologische Methoden	537
17.6.5	Analyse von Organismengemeinschaften	539
17.7	Oberflächenanheftung, Biofilme und interzelluläre Kommunikation	539
17.7.1	Oberflächenanheftung	539
17.7.2	Funktionelle Differenzierung im Biofilm	540

17.8	Kooperation zwischen Mikroorganismen	541
17.8.1	Die anaerobe Fütterungskette	542
17.8.2	Andere Typen von Symbiosen	543
17.9	Seen und Ozeane	544
17.9.1	Süßgewässer	545
17.9.2	Ozean	550
17.10	Boden und tiefer Untergrund	553
17.10.1	Boden als Standort für Mikroorganismen	553
17.10.2	Bodenbestandteile	555
17.10.3	Mikroorganismen im Boden	556
17.10.4	Stickstoffhaushalt	556
17.10.5	Methankreislauf	556
17.10.6	Schichtung des Bodens	557
17.10.7	Tiefer Untergrund	557
17.11	Extreme Standorte und ihre Bewohner	557
17.11.1	Heiße Standorte und thermophile Organismen	558
17.11.2	Kalte Standorte, psychrophile Organismen und Kältekonserverung ...	561
17.11.3	Saure und basische Standorte und daran angepasste Organismen	561
17.11.4	Salzreiche Standorte und halophile Organismen	562
17.12	Mikrobielle Umsetzungen von Mineralien in der Erdkruste	563
17.12.1	Eisenablagerung	564
17.12.2	Ablagerung von Calciumcarbonat	564
17.12.3	Schwefelablagerung und andere Lagerstätten	564
17.13	Tierische Verdauungssysteme	565
17.13.1	Ernährungs- und Verdauungstypen	565
17.13.2	Verdauungsapparat der Wiederkäuer	566
17.13.3	Verdauungsapparat des Pferdes	568
17.13.4	Verdauungsapparat von holzfressenden Termiten	568
18	Mikroorganismen als Symbionten und Antagonisten	571
	<i>E. Schneider</i>	
18.1	Symbiosen	573
18.2	Symbiose von stickstofffixierenden Bakterien mit Pflanzen	574
18.2.1	Wurzel- oder Stammknöllchenbakterien	574
18.2.2	Andere Formen	577
18.3	Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen mit Tieren	577
18.4	Körperflora des Menschen	578
18.5	Mikroorganismen als Auslöser von Krankheiten	581
18.5.1	Tier- und humanpathogene Bakterien	581
18.5.2	Virale Krankheitserreger und Prionen	590
18.6	Pflanzenpathogene Bakterien und Pilze	592
18.6.1	Pflanzenpathogene Bakterien	593
18.6.2	Pflanzenpathogene Pilze	593
18.6.3	Pflanzenabwehr gegen Mikroorganismen	595
18.7	Biologische Waffen	596

19 Mikroorganismen im Dienste des Menschen: Biotechnologie 599

B. Schink

19.1	Die Bakterienzelle als Produzent	601
19.2	Technische Abläufe in der klassischen Biotechnologie	601
19.3	Essigsäure	604
19.3.1	Unvollständige Oxidationen	604
19.3.2	Stoffwechselleistungen von Essigsäurebakterien	604
19.3.3	Biochemie der Essigsäurebildung	605
19.4	Produktion organischer Säuren durch Pilze	606
19.4.1	Physiologie und Biotechnologie	606
19.4.2	Chemie der Säurebildung durch Pilze	608
19.5	Aminosäuren	610
19.6	Stoffumwandlungen	610
19.7	Antibiotika	611
19.7.1	Antibiotikabildende Mikroorganismen	612
19.7.2	Nachweis der Synthese von Antibiotika	613
19.7.3	Therapeutisch wichtige Antibiotika	614
19.7.4	Mycotoxine	618
19.8	Vitamine	618
19.9	Exopolysaccharide und Tenside	619
19.10	Enzyme	620
19.11	Polyhydroxyalkanoate	621
19.12	Gentechnische Verfahren	622
19.12.1	Klassische Verfahren versus Gentechnik	622
19.12.2	Produktionsstämme	622
19.12.3	Vektoren	622
19.12.4	Exoenzyme	623
19.12.5	Einschlusskörper	623
19.13	Produktion von Biomasse	623
19.14	Umwelttechnologie	624
19.14.1	Abwasserreinigung	625
19.14.2	Kompostierung	629
19.14.3	Trinkwasserbehandlung	630
19.14.4	Abluftreinigung	630
19.14.5	Bodensanierung	630
19.15	Metalllaugung und Renaturierung im Tagebau	631
19.16	Energieversorgung	632
19.17	Biosensoren	633
19.18	Mikrobiologische Prozesskontrolle	634
19.19	Mikrobielle Schädlingsbekämpfung	634

Anhang 637

Ausgewählte Literatur	637
Vocabularium	646
Bildnachweis	650

Register 653

1

Die Mikroorganismen – eine kurze Einführung

Die meisten Menschen haben keine rechte Vorstellung von Mikroorganismen; ja, sie verbinden mit ihnen zuerst Krankheitserreger und damit ausschließlich negative Gefühle. Anders der Leser dieses Buches: Er möchte sich über die Welt der unsichtbar kleinen Lebewesen informieren, sei es als Biologe, Chemiker, Landwirt, Mediziner, Biotechnologe, Ernährungswissenschaftler, Lebensmitteltechnologe, Geologe oder Lehrer. Diese Einführung stellt Mikroorganismen als Lebewesen *sui generis* vor, mit ihrer langen Entwicklungsgeschichte, der bisher nur teilweise bekannten Vielfalt, ihrer scheinbar einfachen Bauart und doch so wirkungsvollen Funktionsweise, der Lebens- und Ernährungsweise, ihren Feinden. Als Schattenreich neben den sichtbaren Tieren und Pflanzen werden Mikroorganismen leicht übersehen, sie spielen dennoch eine entscheidende Rolle in der Natur, besonders beim Kreislauf der Stoffe, aber auch als Symbionten von höheren Lebewesen. Der Mensch selbst ist ein von Mikroorganismen besiedelter Raum, besonders die Schleimhäute und der Darmtrakt. Für den Menschen haben Mikroorganismen große wirtschaftliche Bedeutung. Zum einen sind es Nützlinge, die im Lebensmittelbereich unseren Alltag bereichern und in der Biotechnologie eine immer größere Rolle spielen. Zum andern sind Mikroorganismen aber auch als Schädlinge verantwortlich für die Zerstörung von Materialien und als Krankheitserreger.

Überblick

- 1.1 Die Anfänge der Mikrobiologie... 3**
- 1.2 Die alten drei Reiche:
Tiere, Pflanzen und Protisten... 5**
 - 1.2.1 Tiere... 5
 - 1.2.2 Pflanzen... 6
 - 1.2.3 Protisten... 7
- 1.3 Von den zwei Reichen der Prokaryonten
und Eukaryonten zu den drei neuen Reichen... 7**
 - 1.3.1 Die zwei Reiche... 7
 - 1.3.2 Die drei neuen Reiche... 8
- 1.4 Evolution der Organismen
und phylogenetischer Stammbaum... 9**
- 1.5 Allgemeine Eigenschaften der
Mikroorganismen... 11**
 - 1.5.1 Das erfolgreiche Prinzip Kleinheit... 11
 - 1.5.2 Größeneinheit Mikrometer,
die Elle des Mikrobiologen... 11
 - 1.5.3 Großes Oberfläche/Volumen-Verhältnis
und seine Folgen... 12
 - 1.5.4 Stoffwechselvielfalt und
individuelle Anpassungsfähigkeit... 13
 - 1.5.5 Rasche genetische Anpassung... 14
 - 1.5.6 Verbreitung und Überdauerungsvermögen
der Mikroorganismen... 14
 - 1.5.7 Mikroorganismen als Modellobjekte der Forschung... 15
- 1.6 Rolle der Mikroorganismen im Kreislauf
der Stoffe... 15**
 - 1.6.1 Kreislauf des Kohlenstoffs... 17
 - 1.6.2 Kreislauf des Stickstoffs... 19
 - 1.6.3 Kreislauf des Phosphors... 20
 - 1.6.4 Kreislauf des Schwefels... 20
 - 1.6.5 Mikroorganismen und ihre Fressfeinde... 21
- 1.7 Mikroorganismen als Symbionten... 21**
- 1.8 Mikroorganismen im Dienste des Menschen... 23**
 - 1.8.1 Klassische mikrobielle Verfahren... 24
 - 1.8.2 Neue mikrobielle Verfahren... 24
 - 1.8.3 Mikroorganismen und Gentechnologie... 24
 - 1.8.4 Mikroorganismen in Umweltprozessen... 25
 - 1.8.5 Monopolstellung der Mikroorganismen... 25
- 1.9 Mikroorganismen als Gesundheitsmacher –
der Mensch als besiedelter Raum... 26**
- 1.10 Mikroorganismen als Krankheitserreger... 26**

1.1 Die Anfänge der Mikrobiologie

Die beiden großen biologischen Disziplinen, die sich mit Pflanzen (Botanik) und Tieren (Zoologie) beschäftigen, hatten sich schon zu Wissenschaften entwickelt, bevor das Mikroskop zur Verfügung stand und bevor das Experiment als Forschungsmethode eingeführt wurde. Was der Mensch mit bloßem Auge erkennen kann, kann er beschreiben, auseinandernehmen, benennen und ordnen. Im Gegensatz dazu bestanden über die Existenz von Mikroorganismen lange Zeit nur Mutmaßungen (Plus 1.1).

Von Mikroorganismen konnte man also erst etwas erfahren, nachdem es gelungen war, das unsichtbar Kleine sichtbar zu machen. Die Entdeckung der Bakterien ist **Antonie van Leeuwenhoek (1632–1723)** aus Delft zu verdanken. Er baute einfachste Mikroskope; es waren eigentlich nur Lupen mit einer einzigen, jedoch recht vollkommen geschliffenen Linse, die eine Vergrößerung bis 270fach zuließ (Abb. 1.1). Damit untersuchte er in harter Arbeit, was immer ihm interessant erschien. So beobachtete er um 1683 in seinem Zahnbelag winzige bewegliche „Tierchen“. Er schätzte korrekt ab, dass „die Anzahl dieser Tierchen in einem Teilchen davon, nicht dicker als ein Pferdehaar, die Anzahl der Menschen in einem Königreich übersteigt“. Diese und andere Entdeckungen teilte er brieflich der Royal Society in London mit. Die beigefügte Zeichnung lässt klar verschiedene Bakterienformen und sogar die Bewegungsweise erkennen (Abb. 1.1). Sein Werk war seiner Zeit so weit voraus, dass es nahezu 150 Jahre unwirksam blieb. Die Herstellung **einfacher Mikroskope** und das Mikrokopieren damit blieben Zeitvertreib, ohne wissenschaftlichen Anspruch. Ein bestimmender Biologe des 18. Jahrhunderts, Carl von Linné (1707–1778), hatte in seinem Werk „Systema naturae...“ (1735) noch keinen richtigen Platz für Mikroorganismen. Es bedurfte weiterer Erkenntnisse, der Verfügbarkeit von Farbstoffen und vor allem der Verbesserung des Mikroskops im 19. Jahrhundert, bis eine Wissenschaft von den Mikroorganismen, die Mikrobiologie, entstehen konnte. Brauchbare

Plus 1.1 Wie kam der Mensch auf die Existenz von Mikroorganismen?

Aus der Sicht der heutigen Zeit etwas unverständlich, sind drei zentrale Fragen der Stimulus gewesen, um den Mikroorganismen auf die Spur zu kommen.

1. Gibt es eine Urzeugung von Lebewesen aus unbelebter Materie, und seien es nur kleinste Würmer?
2. Welches Prinzip steckt hinter den Phänomenen Gärung und Fäulnis?
3. Welches Agens verbirgt sich hinter den Ansteckungskrankheiten, Krankheiten, die offensichtlich durch Körperkontakt übertragen werden?

Natürlich hatte der Mensch seit Urzeiten Mikroorganismen schon in seine Dienste genommen, ohne von ihnen zu wissen. Die Bereitung von Wein und Essig, das Brauen von Bier, die Verwendung von Bierhefe zum Backen, die Herstellung von Käse oder von Sauerkraut und viele andere Verfahren im Lebensmittelbereich sind nachweislich schon viele tausend Jahre alt.

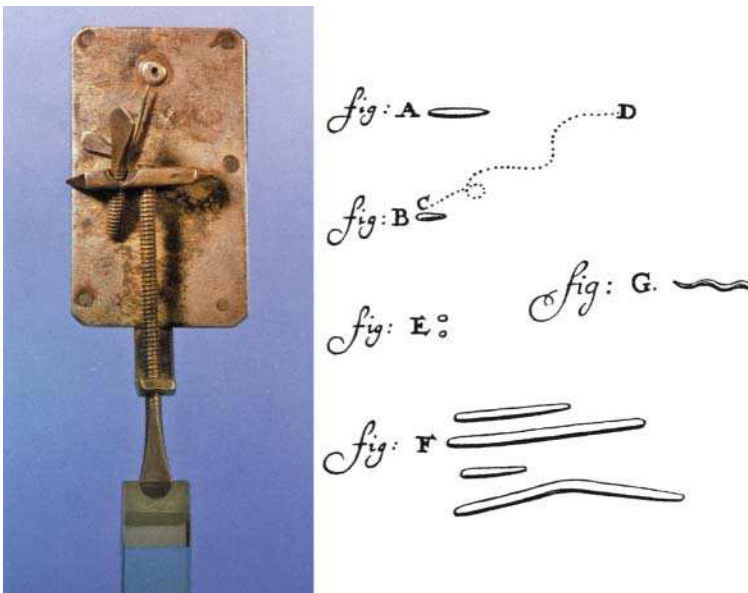


Abb. 1.1 Das Mikroskop des Antonie van Leeuwenhoek (1632–1723). Die kleine bikonvexe Linse ist oben in die Metallplatte eingefasst. Der Dorn dient als Objektträger und lässt sich mit den beiden Schrauben zum Fokussieren bewegen. Das Ganze ist nur etwa 10 cm groß. Seine Zeichnung gibt die „kleinen Tierchen“ wieder – Bakterien, die er damit entdeckte und beobachtete. Die Spur von C nach D gibt die Bewegungsart von B an (aus Bracegirdle, 1983).



Abb. 1.2 Louis Pasteur (1822–1895)
(aus Schlegel, 1999).



Abb. 1.3 Robert Koch (1843–1910)
(aus Schlegel, 1999).

Mikroskope standen erst ab 1821 und gute Mikroskope mit Ölimmersion erst ab 1878 zur Verfügung.

Die fünfzig Jahre von 1860 bis 1910 werden das **klassische Zeitalter der Mikrobiologie** genannt. Wichtige methodische Grundlagen und neue wissenschaftliche Konzepte wurden erarbeitet, es gelang die Identifizierung der **Erreger gefürchteter Ansteckungskrankheiten**, die **Gärungsprozesse** wurden grundsätzlich verstanden, ja man entwickelte sogar wirksame **Impfungen** gegen Infektionskrankheiten. Auch andere praktische Folgerungen und Anwendungen in großer Zahl ergaben sich. Diese Aufbruchzeit der Biologie ist durch viele hervorragende Persönlichkeiten geprägt, von denen **Louis Pasteur (1822–1895)** (Abb. 1.2) und **Robert Koch (1843–1910)** (Abb. 1.3) in der Mikrobiologie am nachhaltigsten gewirkt haben.

Pasteur hatte als Chemiker vor allem technische Prozesse im Auge und war maßgeblich an der Entwicklung der Methoden der Hitzesterilisation („**Pasteurisieren**“) und der Desinfektion beteiligt. Diese Verfahren hatten unmittelbare praktische und bleibende Bedeutung. Für die Mikrobiologie waren keimfreie Medien die wichtigste Voraussetzung für alles Weitere. Er konnte damit überzeugend widerlegen, dass es eine **Urzeugung** gibt: Eine Brühe bleibt nach Hitzebehandlung steril, während in Kontrollversuchen die gewohnte Gärung oder Fäulnis einsetzt. Seine Gegner hatten gefordert, dass Luft für die Urzeugung nötig sei; also verwendete er Gefäße mit langen, gebogenen, dünnen Hälsen, durch die Luft eindringen konnte („**Schwanenhalskolben**“), aber Keime aus der Luft abgehalten wurden. Er erkannte, dass die Milchsäuregärung und die alkoholische Gärung wie auch die Umwandlung von Wein zu Essig durch Mikroorganismen verursacht wird. **Gärung** deutete er als „Leben ohne Sauerstoff“. Er leistete auch wesentliche Beiträge zur **Impfung** gegen Ansteckungskrankheiten. Der Engländer **Edward Jenner (1749–1823)** hatte bereits 1797 die wenig gefährlichen Kuhpocken zum Impfen von Menschen gegen die gefürchteten echten Pocken verwendet. Er verwendete Lymphe aus den Pockenpusteln der Kuh, man spricht noch heute von Vakzination (von lat. vaccinia, Kuhpocken). Man wusste natürlich noch nicht um die Natur des Ansteckungsprinzips, in diesem Fall das Pockenvirus. In einem spektakulären Versuch impfte Pasteur Schafe mit Proben, die abgetötete Erreger des Milzbrandes enthielten. Infizierte er später die Schafe mit unbehandelten Proben, überlebten alle geimpften Schafe, während die ungeimpften Kontrolltiere an Milzbrand starben. Der Erreger, *Bacillus anthracis*, ist ein großes, mikroskopisch gut studierbares Bakterium, das im Zusammenhang mit Terroranschlägen in letzter Zeit wieder bekannt geworden ist.

Wenn man sich vor Augen hält, dass zwischen Fäulnis einerseits und abschreckenden **Ansteckungskrankheiten** wie Aussatz (Lepra) andererseits ein offensichtlicher Zusammenhang besteht, versteht man, dass die Zeit damit reif war für die Lösung des Rätsels Ansteckungskrankheiten. Koch hatte als Landarzt naturgemäß ein besonderes Auge für dieses Problem und hat erstmals klar gezeigt, dass Infektionskrankheiten wie Milzbrand, Tuberkulose und Cholera jeweils durch von einander unterscheidbare Bakterienarten verursacht wurden. Zuvor hatte man angenommen, Bakterien seien eine einzige Art, die verschiedene Formen annehmen kann; solche Formänderungen kannte man z. B. von Pilzen mit Wirts- und Generationswechsel. Zur Beweisführung benötigte Koch **feste Nährmedien**. Er führte durch Gelatine (später durch Agar) verfestigte Nährbrühen ein, auf denen einzelne Bakterien in kurzer Zeit zu sichtbaren Kolonien heranwuchsen. Diese Koch'sche Plattengusstechnik war die Vor-

aussetzung für das Studium reiner Kulturen und deren Unterscheidung. Zur Unterscheidung haben er und seine Schüler auch **Färbemethoden** eingeführt, um Bakterien im Gewebe sichtbar zu machen; die Mikrophotographie erlaubte die Dokumentation der Befunde. Im Fall des Tuberkuloseerregers *Mycobacterium tuberculosis* verwendete Koch in genialer Weise seine neue Plattengusstechnik, neue Färbemethoden und Meerschweinchen als Versuchstiere. Die Bedeutung seiner Arbeiten kann man daran ermesen, dass damals jeder siebte gemeldete Todesfall durch Tuberkulose verursacht war. Koch erhielt 1905 den Nobelpreis für Medizin (Box 1.1).

Botaniker waren die Pioniere auf dem Gebiet der allgemeinen Mikrobiologie. Ferdinand Cohn (1828–1898) stellte ein erstes System der Bakterien und Pilze auf. Er erkannte, dass stäbchenförmige Bazillen **hitze resistente Sporen** bilden, die selbst Kochen aushalten. Anton de Bary (1831–1888) sind viele Entdeckungen bei Pilzen zu verdanken; er verfasste ein erstes Lehrbuch der Mykologie. Sergei Winogradsky (1856–1953) entdeckte, dass verschiedene Bakterien zum Leben anorganische Verbindungen wie Schwefel oder Ammoniak mit Luftsauerstoff zu Schwefelsäure bzw. Salpetersäure oxidieren. Sie beziehen den Zellkohlenstoff aus dem CO₂ der Luft. Die Entdeckung dieses neuen „modus vivendi“, die **Chemolithoautotrophie**, war ein Meilenstein in der Mikrobiologie. Martinus Beijerinck (1851–1931) führte das Prinzip der **Anreicherungskultur** (Selektionskultur) ein. Mit dieser Methode isolierte er sulfatreduzierende anaerobe Bakterien, die eine anaerobe Atmung betreiben, in der Luftsauerstoff durch Sulfat als Oxidationsmittel ersetzt ist. Statt H₂O wird dabei H₂S gebildet. Er studierte die Stickstoffbindung durch symbiontische Knöllchenbakterien der Leguminosen und durch Bodenbakterien (*Azotobacter* sp.). Damit erkannte er grundlegende mikrobielle Stoffwechselleistungen. Beijerinck war auch der Entdecker des Tabakmosaikvirus.

Diese kurze Einführung in die Geschichte der Mikrobiologie endet hier mit den Anfängen des Faches. Die drei zu Beginn erwähnten Fragen waren beantwortet; neue kamen hinzu. In Kapitel 1.5 wird tabellarisch auf weitere wichtige Entdeckungen und methodische Entwicklungen eingegangen. Ansonsten verweisen wir auf die weitergehende Literatur.

Box 1.1 Die vier Koch'schen Postulate

Damit ein Bakterium zweifelsfrei als Erreger einer Infektionskrankheit angesehen werden kann, müssen folgende vier Koch'sche Postulate erfüllt sein.

1. Dieses Bakterium muss im kranken Tier oder Menschen nachweisbar sein.
2. Es muss in Reinkultur gebracht werden.
3. Durch Infektion von gesunden Tieren mit dieser Reinkultur muss dieselbe Krankheit hervorgerufen werden können.
4. Zur Kontrolle muss der gleiche Mikroorganismus aus diesem experimentell erkrankten Tier wieder isoliert werden können.

Die Postulate unterstreichen die Wichtigkeit von Tiermodellen für die medizinische Mikrobiologie.

1.2 Die alten drei Reiche: Tiere, Pflanzen und Protisten

Die Unterschiede in der Gestalt und im Aufbau von Tier und Pflanze, welche die Einteilung der Lebewesen bis ins 19. Jahrhundert begründeten, sind für jeden Menschen offenkundig. Diese Unterschiede lassen sich auf die grundsätzlichen Verschiedenheiten in der Ernährungsweise zurückführen.

1.2.1 Tiere

Die **Tiere** ernähren sich von fertigen organischen Substanzen (heterotrophe Ernährungsweise, „sich von Anderen ernähren“), die im Innern des Körpers, im Darmkanal, aufbereitet, verdaut und resorbiert werden. Der Embryonalentwicklung kann man entnehmen, dass diese Körperhöhlung durch Einstülpung der Blastula entsteht. Die tierische Entwicklung zielt auf die Schaffung resorbierender Innenflächen ab. Dieses Bauprinzip ist von den Hohltieren (Hydrozoa; Beispiel: Süßwasserpolypp) bis zu den höchsten Wirbeltieren verwirklicht.

1.2.2 Pflanzen

Die **Pflanzen** sind grundverschieden gestaltet, entsprechend ihrem völlig andersartigen Ernährungstypus. Sie nutzen das Sonnenlicht als Energiequelle und bilden selbst die zum Aufbau ihres Körpers nötigen Substanzen aus anorganischen Stoffen (autotrophe Lebensweise, „sich selbst ernähren“). Die photosynthetisch tätigen, mit den absorbierenden Pigmenten (Chlorophyllen und Carotinoiden) ausgestatteten Zellen und Gewebe sind nach außen hin orientiert und bilden weite Außenflächen. Weitere durchgängige Unterschiede zwischen Tieren und Pflanzen betreffen das Vorhandensein von Zellwänden bei Pflanzen, die Befähigung zur aktiven Bewegung und Ortsveränderung bei Tieren und das Synthesevermögen

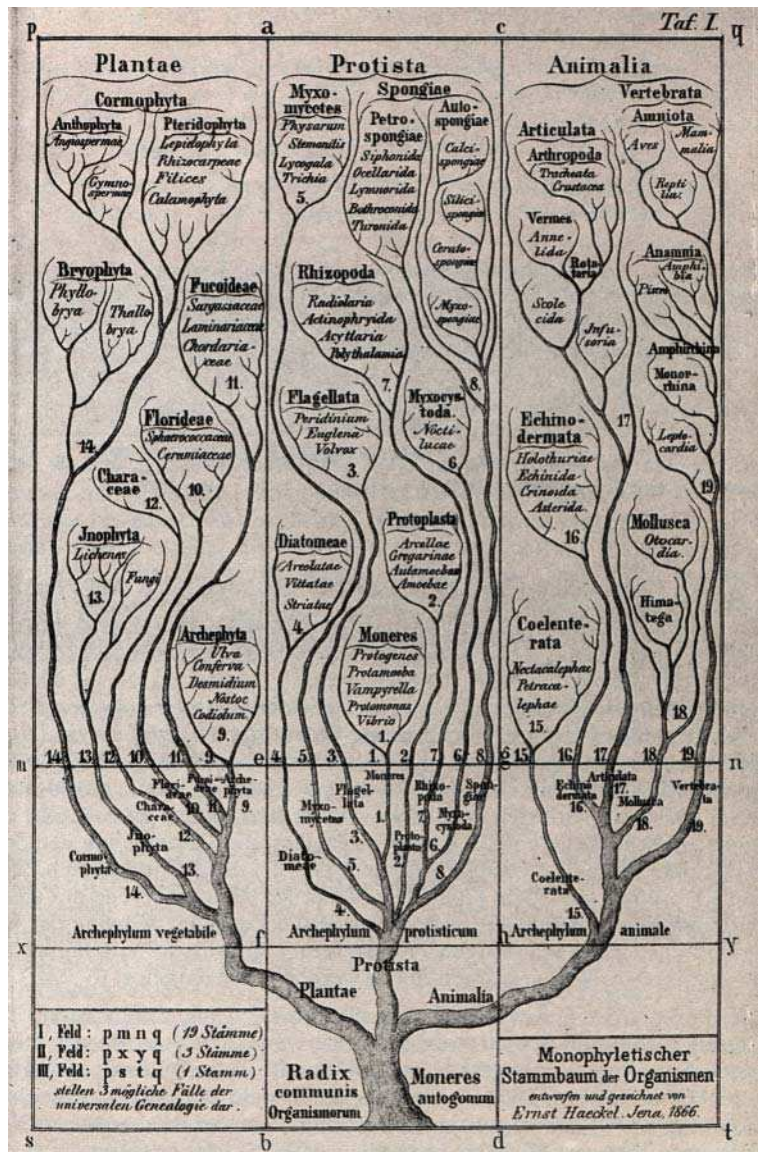


Abb. 1.4 Der erste phylogenetische Stammbaum der Organismen von Ernst Haeckel (1866).

für bestimmte Substanzen. Pflanzen- und Tierreich waren weitgehend scharf voneinander abzugrenzen, solange über Mikroorganismen wenig bekannt war. Sogar die **Pilze** haben so viele Merkmale mit den Pflanzen gemeinsam, dass man sie ungeachtet ihrer heterotrophen Ernährungsweise zu den Pflanzen zählen konnte.

1.2.3 Protisten

Schwieriger war zu entscheiden, welchem Organismenreich die **Bakterien**, **Schleimpilze** und andere **Einzeller** zuzuordnen waren. Für das dritte Reich der Lebewesen wurde der Kollektivname Protisten (Urlebewesen) geprägt. So hatte Ernst Haeckel (1866) die gesamte Organismenwelt in drei oberste Hauptgruppen oder Reiche eingeteilt: Tierreich, Pflanzenreich und Protistenreich. Auf der Selektions- und Deszendenztheorie Charles Darwins (1859) aufbauend, fasste Haeckel die damals bekannten Gattungen und Arten von Pflanzen und Tieren unter dem Gesichtspunkt ihrer möglichen Entwicklung zusammen und stellte in dem phylogenetischen Stammbaum (Abb. 1.4) dar, wie sich die heute lebenden Organismen aus einer gemeinsamen Wurzel entwickelt haben könnten. Vom Reich der Protisten hatte Haeckel freilich noch keine rechte Vorstellung. Zu den Protisten zählte man Organismen, die sich von Tieren und Pflanzen durch ihre geringe morphologische Differenzierung unterscheiden und von denen die meisten einzellig sind.

1.3 Von den zwei Reichen der Prokaryonten und Eukaryonten zu den drei neuen Reichen

Das 19. Jahrhundert hat wesentliche biologische Erkenntnisse gebracht: Die physikalische **Grundeinheit der Organismen ist die Zelle**; sie ist die kleinste lebensfähige Einheit. Alle Lebewesen sind in einem Prozess der **Evolution** aus anorganischer Materie entstanden und mit einander näher oder ferner verwandt. Die Fortschritte der Biologie im 20. Jahrhundert haben zu einer weiteren wesentlichen Erkenntnis geführt, dem Prinzip von der „**Einheit in der Biochemie**“: Die stoffliche Zusammensetzung ist allen Lebewesen gemeinsam, ein wichtiges Indiz für die gemeinsame Abstammung aller Lebewesen. Desoxyribonukleinsäure (DNA), Ribonukleinsäure (RNA), Proteine und Lipide sind die Grundbestandteile aller Zellen, ATP ist der universelle Energieträger, der genetische Code ist universell.

1.3.1 Die zwei Reiche

Das Studium der Feinheiten der stofflichen Zusammensetzung durch die Biochemie und der Feinstruktur verschiedener Zelltypen durch die Elektronenmikroskopie hat jedoch bemerkenswerte Unterschiede zwischen Bakterien auf der einen Seite und Tieren und Pflanzen einschließlich ihrer mikroskopisch kleinen Vertreter auf der anderen Seite erkennen lassen. Die Unterschiede in ihrer Zellorganisation sind so tiefgreifend, dass man beide Gruppen als die beiden Reiche **Prokaryonten** und **Eukaryonten** einander gegenüberstellt hat. Das unterscheidende Merkmal, das leicht zu bestimmen ist, ist das Vorhandensein eines membranumhüllten Zellkerns (griech. karyon oder lat. nucleus) bei den Eukaryonten. Die dargelegten Unterschiede zwischen Tieren und Pflanzen sind dagegen nur als die Folge einer unterschiedlichen Lebensweise zu verstehen; beide Grup-

Plus 1.2 Das Prinzip des miniaturisierten prokaryontischen Organismus

Eubakterien und Archaeobakterien haben offenbar ein ähnliches einfaches, aber erfolgreiches Organisationsprinzip beibehalten, das des **miniaturisierten prokaryontischen Organismus**. Die DNA liegt als ringförmig geschlossener Strang im Cytoplasma vor. Dieses Bakterienchromosom ist viel kleiner und die Gene (500–8000) sind viel kompakter angeordnet (mit wenig nichtcodierender DNA) als bei typischen Eukaryonten; es enthält – „stromlinienförmig“ auf hohe Effektivität angelegt – die gesamte zur Vermehrung der Zelle notwendige Information. Histonähnliche Proteine und niedermolekulare Verbindungen sorgen für eine kompakte Verpackung; diese muss dennoch garantieren, dass die in einer wachsenden Bakterienzelle gleichzeitig ablaufende Transkription der Gene und die Replikation der DNA reibungslos funktionieren. Daneben können kleine ringförmig geschlossene DNA-Moleküle, so genannte Plasmide, vorliegen. Diese enthalten zusätzliche genetische Information, sind aber unter Laborbedingungen entbehrlich.

Die Vermehrung erfolgt durch Zweiteilung der Zelle. Die prokaryontische Zelle enthält keine Organellen; die Unterteilung der Zelle in distinkte Räume fehlt in der Regel. Aber es gibt auch hier erste Hinweise auf ein Art von Cytoskelett, freilich aus abgewandelten Komponenten aufgebaut und weniger ausgeprägt als bei Eukaryonten. Die Ribosomen sind klein (70S). Die Ribosomen und der Proteinsyntheseapparat sowie die prokaryontische Zellwand sind die Angriffspunkte für mehrere Antibiotika. (Diese Antibiotika wirken – wegen der genannten Unterschiede zu den Eubakterien – in der Regel nicht auf Archaeobakterien, unter denen bisher auch keine pathogenen Arten bekannt geworden sind). Weitere Unterschiede zwischen den drei Reichen werden in Kapitel 2 dargelegt.

Die prokaryontische Form ist morphologisch relativ wenig differenziert. Der Gestalt nach lassen sich nur wenige Formen unterscheiden, die sich durchweg auf die Kugel sowie gerade und gekrümmte Zylinder als Grundformen zurückführen lassen. Dieser „Einförmigkeit“ steht aber eine stoffwechselphysiologische Vielseitigkeit und Flexibilität sondergleichen gegenüber.

pen haben jedoch eine nahe gemeinsame stammesgeschichtliche Wurzel. Die Protisten im Sinne von Haeckel lassen sich dagegen aufgrund ihrer Zellstruktur in zwei scharf voneinander abgrenzbare Gruppen unterteilen: Die höheren Protisten ähneln bezüglich ihres Zellaufbaus den Tieren und Pflanzen; sie sind Eukaryonten. Zu ihnen gehören die **Algen, Pilze und Protozoen**. Diese Mikroorganismen bilden einen Kosmos für sich, mit vielen verschiedenen Entwicklungslinien im Stammbaum der Eukaryonten. Auf diese faszinierend vielfältigen Gruppen wird teilweise in Kapitel 3 eingegangen. Die **Viren** sind als nichtzelluläre Teilchen allen Organismen gegenüberzustellen. Sie sind noch kleiner als Bakterien (20 nm – 400 nm) und können sich nicht selbst vermehren, sondern bedürfen lebender Zellen zu ihrer Vermehrung (Reproduktion).

Die **Eukaryonten** verfügen über einen echten Kern. Dieser enthält den größten Teil des Genoms der eukaryontischen Zelle. Das Genom ist auf einen Satz von Chromosomen verteilt, der nach Verdopplung durch einen als Mitose bezeichneten Vorgang getrennt wird. In den Chromosomen liegt die DNA in Assoziation mit Histonen vor. Die eukaryontische Zelle enthält Organellen, wie die Mitochondrien und (bei Pflanzen) die Chloroplasten; diese enthalten einen anderen, sehr kleinen Teil des Genoms, und zwar in Form ringförmig geschlossener DNA-Moleküle. Daneben gibt es weitere Organellen wie das Endoplasmatische Retikulum. Die Ribosomen sind groß (80S). Den **Prokaryonten** fehlen ein von einer Membran umgebener Kern sowie Organellen. Diese offenkundige Gemeinsamkeit und die einfache mikroskopische Zellstruktur der Prokaryonten täuscht aber eine nahe phylogenetische Verwandtschaft aller Bakterien vor, die nicht existiert, wie wir gleich sehen werden.

1.3.2 Die drei neuen Reiche

Der heutige Leser kann sich kaum in die Lage von Forschern bis vor wenigen Jahrzehnten versetzen, die sich für die Mannigfaltigkeit, die natürliche Verwandtschaft und die Evolution von Mikroorganismen interessierten. Diese Themen waren Gegenstand kontroverser Spekulationen. Zu einem **phylogenetischen Stammbaum der Prokaryonten** gelangte man erst, nachdem Carl Woese ab Mitte der 1970er Jahre die RNA der Ribosomen, die rRNA, einer großen Zahl von Bakterien isoliert und die Sequenz der Basen bestimmt hatte. Aus dem Grad der Ähnlichkeit der Basensequenzen verschiedener Prokaryonten ließ sich die Schlussfolgerung ziehen, dass alle Lebewesen eine gemeinsame Wurzel haben und dass sich die Prokaryonten (synonym mit Bakterien) früh in zwei große Gruppen aufgespalten haben, die **Eubakterien** (oder Bacteria; nicht Bakterien!) und die **Archaeobakterien** (oder Archaea). Diese beiden Reiche stehen gleichberechtigt neben dem Reich der **Eukaryonten** (oder Eukarya) (Abb. 1.5). Man hat inzwischen viele weitere molekulare und strukturelle Indizien, welche die neue Theorie stützen. Es ist sogar wahrscheinlich, dass die Archaeobakterien aus einer gemeinsamen Entwicklungslinie mit den Eukaryonten abzweigen.

Einerseits haben Archaeobakterien eine große Ähnlichkeit mit den Eukaryonten hinsichtlich der Molekularbiologie der Zelle, beispielsweise in der DNA-, RNA- und Proteinsynthese. Andererseits haben Eubakterien und Archaeobakterien große Ähnlichkeiten in der mikroskopischen Zellstruktur sowie im Energie- und Baustoffwechsel (Plus 1.2).

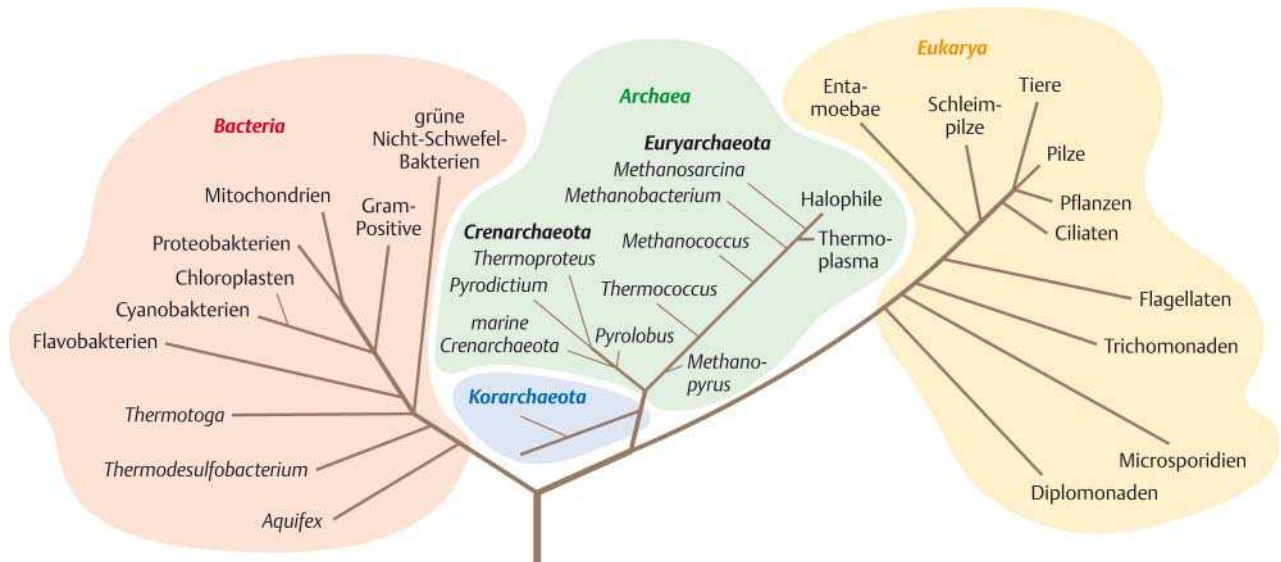


Abb. 1.5 Moderner phylogenetischer Stammbaum der Organismen. Die Länge der Äste ist ein Maß für die Veränderungen der ribosomalen DNA-Gene, deren Sequenzvergleich diesem Stammbaum zugrunde liegt. Natürlich berücksichtigt der Stammbaum auch alle anderen charakteristischen wesentlichen Eigenschaften der Organismen.

1.4 Evolution der Organismen und phylogenetischer Stammbaum

Der neue phylogenetische Stammbaum, wie er in Abbildung 1.5 gezeigt ist, ist wiederum eine Theorie, die der ständigen Überprüfung und Verbesserung bedarf. Der Stammbaum vermittelt den Eindruck eines starren Gebildes. In Wirklichkeit sind aus Gründen der Übersichtlichkeit viele Verflechtungen, wie sie heute als gesichert angesehen werden, nicht eingezeichnet. Die Abstammung von Organellen der Eukaryonten von prokaryontischen Vorläufern oder der laterale Gentransfer zwischen den einzelnen Entwicklungslinien fehlen.

Auch über den **Zeitraum** der frühen biologischen Evolution, in dem sich einzelne Bakteriengruppen entwickelt haben, lässt sich heute etwas aussagen (Abb. 1.6). Die Entwicklung der grundlegenden Stoffwechselwege der Bakterien muss zu einem sehr frühen Zeitpunkt erfolgt sein. Das lässt sich aus dem $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -**Isotopenverhältnis** des organischen Kohlenstoffs (C_{org}) schließen, der seit mehr als 3,8 Milliarden Jahren mit den Sedimenten abgelagert wird. Die Isotopenzusammensetzung dieses C_{org} (oder auch Kerogen) ist die gleiche wie die der rezenten autotrophen Bakterien und Pflanzen. Daraus ist zu schließen, dass der im frühen Archaikum in die Sedimente gelangte C_{org} von autotrophen Bakterien stammt. Aus dem Vorkommen charakteristischer Biomoleküle in diesen Sedimenten lässt sich sogar vorsichtig auf die Produzenten zurückschließen. Wahrscheinlich waren die ersten selbstständigen Lebewesen **thermophile Anaerobier**, die in der Lage waren, Energie aus der anaeroben Umsetzung von anorganischen Molekülen zu beziehen. Sie mussten in der Lage gewesen sein, ihre Synthesen von Bausteinen überwiegend aus anorganischem CO_2 zu bewerkstelligen. Unter den heutigen extremophilen Archaeobakterien gibt es viele Vertreter, die unter den Bedingungen eines frühen Lebensszenarios

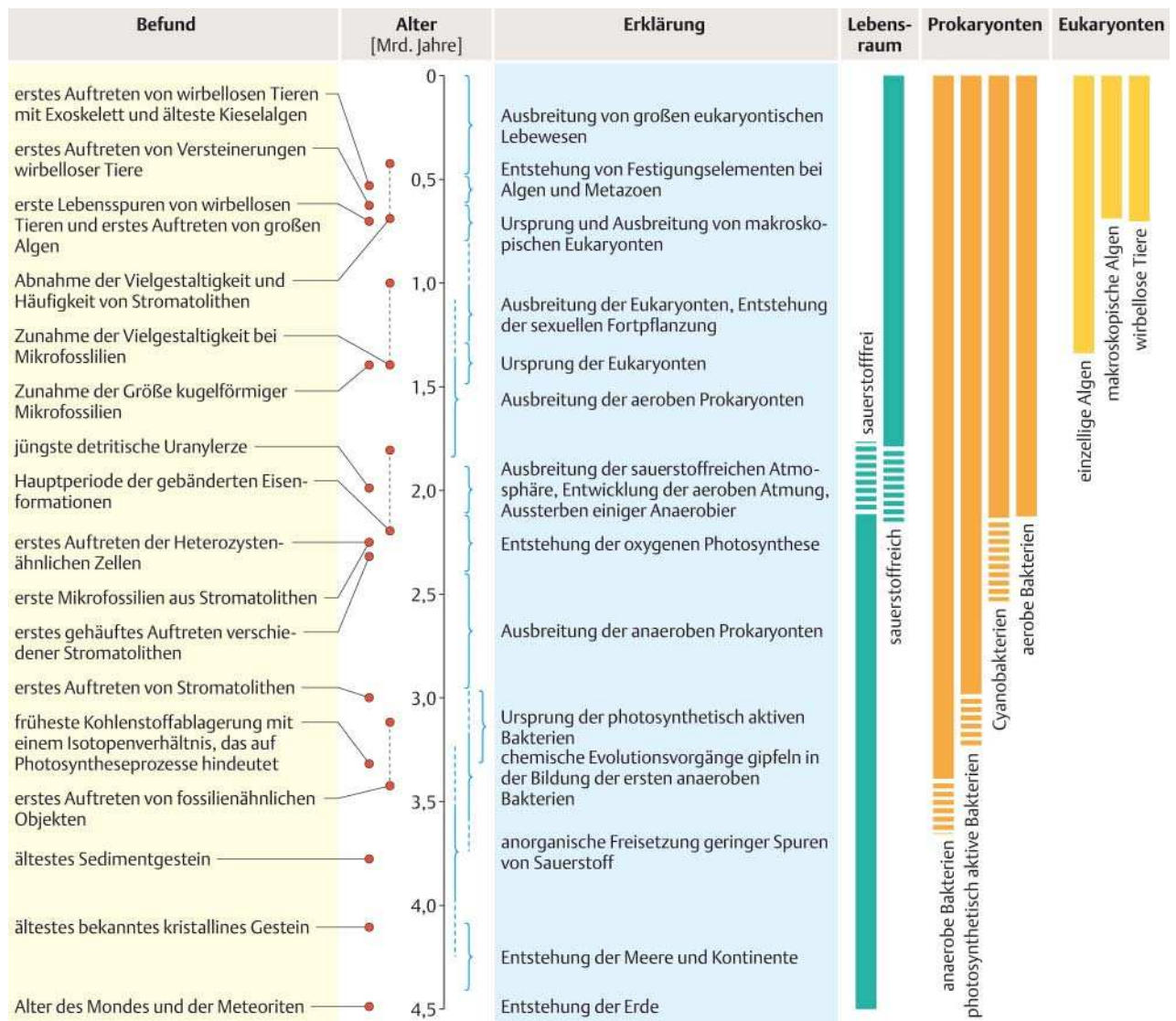


Abb. 1.6 Geologische Zeiträume und Etappen der biologischen Evolution.

existieren: Hohe Temperatur; Fehlen von Sauerstoff, organischen Kohlenstoffverbindungen und Licht; Vorhandensein von Wasser, vulkanischen Gasen (CO_2 , H_2S , N_2 , Spuren anderer Gase wie H_2), anorganischen Elementen (beispielsweise Schwefel) und Mineralien (beispielsweise Pyrit). **Stromatolithe** („Kissensteine“) (Abb. 1.7), biogene Sedimentgesteine mit versteinerten Mikrobenmatten, gehören ebenfalls zu den ältesten Anhaltspunkten für die Datierung biologischer Aktivitäten in der Erdgeschichte, und auch ihre Bildung muss auf die Beteiligung autotropher Organismen zurückgehen. (Heutzutage werden Mikrobenmatten von Tieren abgeweidet, so dass sie nicht diese Ausmaße erreichen).

Photosynthetische Cyanobakterien muss es schon vor über 2 Milliarden Jahren gegeben haben. Ihre Tätigkeit hat zur Entwicklung



Abb. 1.7 Stromatolithe an der Küste Australiens (links) und ein geschliffener Schnitt durch einen gebänderten Eisenstein (engl. banded iron formations = BIF's, rechts, Aufnahmen K. Hauser, Stuttgart und P. K. Strother, Boston).

Plus 1.3 Die Entstehung der heutigen Eukaryonten

Zur Ausbreitung und evolutionären Aufspaltung der Eukaryonten konnte es erst kommen, als durch die Tätigkeit der Cyanobakterien eine stabile sauerstoffhaltige Atmosphäre entstanden war. Die Endosymbiose eines Eukaryontenvorläufers mit fakultativ aeroben Bakterien aus der Gruppe der alpha-Proteobakterien hat vor vielleicht 1,4 Milliarden Jahren stattgefunden; damit entstand die erste Eukaryontenzelle. Man schätzt, dass danach die Endosymbiose mit einem photosynthetisierenden Cyanobakterium stattgefunden hat; es entstand die erste pflanzliche Zelle.

von Sauerstoff geführt. Der Sauerstoff wurde jedoch zunächst von reduzierten Eisenverbindungen abgefangen, die dabei zu unlöslichen Eisenoxiden oxidiert und in Randbecken der Weltmeere als **rot gebänderte Eisensteine** (engl. banded iron formations = BIF's) ausgefällt wurden (Abb. 1.7). Die vorliegenden Erkenntnisse führen zu der Annahme, dass die derzeit lebenden Prokaryonten Nachfahren der ältesten Organismen sind und sich der universale Zellstoffwechsel auf der Stufe der Prokaryonten entwickelt hat (Plus 1.3).

1.5 Allgemeine Eigenschaften der Mikroorganismen

1.5.1 Das erfolgreiche Prinzip Kleinheit

Das in ihrer Benennung ausgedrückte Kennzeichen der Mikroorganismen ist die geringe Größe des Individuums. Die geringen Abmessungen gaben nicht nur das ursprüngliche Motiv zur Abtrennung der Mikroorganismen von den Tieren und Pflanzen, sondern haben auch wesentliche Konsequenzen hinsichtlich der Morphologie, der Aktivität und Flexibilität des Stoffwechsels, der ökologischen Verbreitung und der Handhabbarkeit im Laboratorium (Plus 1.4).

Plus 1.4 Das Prinzip Kleinheit

Die Kleinheit des Individuums entspricht einem enorm erfolgreichen Organisationsprinzip der Bakterien, das gleichberechtigt neben demjenigen der vielzelligen Lebewesen steht. Alle Leistungen, für die ein Vielzeller verschiedene Gewebe oder Organe hat, werden von *einer* Zelle erbracht: Nahrungsaufnahme und -verdauung, Energiegewinnung, Biosynthesen, Anlage von Speicherstoffen, Aufnahme und Verarbeitung von Umweltreizen, Bewegung, Vermehrung, Entwicklung von Ruhestadien bei ungünstigen Umweltbedingungen.

Tab. 1.1 Einige Unterschiede zwischen pro- und eukaryontischen Zellen. Die Angaben sind Durchschnittszahlen, die Größenordnungen verdeutlichen sollen. Die Atmungsrate wird angegeben in $\mu\text{l O}_2$ verbraucht pro mg Trockensubstanz und Stunde (nach W. Fritsche, Mikrobiologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2001).

Eigenschaft	Bakterien	Hefen	Pflanzliche und tierische Zellen
Durchmesser (μm)	1	10	100
Volumen (μm^3)	1	1000	> 10 000
Atmungsrate	1000	100	10–20 (Niere, Leber) 0,5–4 (Wurzel, Blatt)
Generationszeit (h)	0,3–1	2–10	etwa 20

1.5.2 Größeneinheit Mikrometer, die Elle des Mikrobiologen

Der Durchmesser der meisten Bakterien ist nicht größer als ein tausendstel Millimeter (Tab. 1.1). Die Elle des Mikrobiologen ist daher die **Größeneinheit Mikrometer** ($1 \mu\text{m} = 10^{-3} \text{ mm}$ oder 10^{-6} m); Angaben über die Feinstruktur der Zelle erfolgen in Nanometer ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ oder $10^{-3} \mu\text{m}$). Die Abmessungen eukaryontischer Mikroorganismen wie Hefen und Protozoen liegen bei $10 \mu\text{m}$. Das kleinste Bakterium verhält sich zum größten Tier wie der Mensch zum Erdball. Es gibt aber auch wenige „Riesenbakterien“, die eine große Ausnahme darstellen. Manche sind den Wissenschaftlern wegen ihrer spektakulären Größe früh aufgefallen; sie speichern Schwefelkugeln im Cytoplasma. Die größten Bakterien sind bereits mit bloßem **Auge** zu sehen. Sie bestehen hauptsächlich aus einer Vakuole, in der sie aufgenommenes Nitrat speichern, welches als Elektronenakzeptor einer anaeroben Atmung dient.

Das menschliche Auge kann zwei Punkte nur dann voneinander unterscheiden, wenn sie mehr als $0,2 \text{ mm}$ ($=200 \mu\text{m}$) voneinander entfernt sind. Das erklärt, warum erst infolge der Entwicklung leistungsfähiger **Mikroskope** im neunzehnten Jahrhundert die Wissenschaft der Mikrobiologie aufblühen konnte; damit wurde das Auflösungsvermögen des menschlichen Auges um das 1000fache erweitert, sodass es mit Hilfe dieses Instruments zwei Punkte mit einem Abstand von etwa $0,2 \mu\text{m}$ noch unterscheiden kann. Das **Elektronenmikroskop** hat diese Grenze wiederum 1000fach erweitert und bis in den Bereich unter 1 Nanometer vorgeschoben.

1.5.3 Großes Oberfläche/Volumen-Verhältnis und seine Folgen

Bei diesen kleinen Organismen ist das Verhältnis von Oberfläche zu Volumen sehr groß. Zerteilt man einen Würfel von 1 cm Kantenlänge ($= 1 \text{ cm}^3$) in Würfel von $1 \mu\text{m}$ Kantenlänge, so erhält man 10^{12} Würfel von je $1 \mu\text{m}^3$; $1 \mu\text{m}^3$ ist etwa das Volumen einer mittleren Bakterienzelle. Bei einem spezifischen Gewicht der Zelle von ca. 1 g/cm^3 ergibt sich das Gewicht einer Bakterienzelle von ca. 10^{-12} g . Die Oberfläche dieser kleinen Würfel (Bakterien) ist 10 000fach größer als die des großen Würfels, nämlich 6 m^2 gegenüber 6 cm^2 . Das zeigt, dass Mikroorganismen eine riesige Kontaktfläche mit

Plus 1.5 Staunenswerte Leistungsfähigkeit des Stoffwechsels

Ein kleines Gedankenexperiment nötigt einem großen Respekt vor der potenziellen Stoffwechselleistung von Bakterien, Hefen und Pilzen ab. Nehmen wir an, ein einziges Bakterium der Masse 10^{-12} g könne sich unter optimaler Nährstoffversorgung einmal je Stunde teilen (eine realistische Annahme; die kürzeste bei Bakterien beobachtete Generationszeit ist sogar nur 11 Minuten!). Nach n Teilungen (Generationen) erhält man 2^n Bakterien. Nach nur 3 Tagen ($3 \cdot 24 = 72$ Teilungen) erhält man theoretisch 2^{72} Zellen mit einer Masse von 5000 t ! Nach weniger als 6 Tagen (132 Teilungen) ergibt sich eine Masse von $6 \cdot 10^{21} \text{ t}$, das Gewicht unseres Planeten. Der hohen Stoffwechselrate der Mikroorganismen steht auch ein hoher Wirkungsgrad gegenüber. Ihr Erhaltungsstoffwechsel erfordert wenig Energie; Bakterien können deshalb lange Zeit hungern, um sich dann bei günstigen Bedingungen rasch zu vermehren.

ihrer Umwelt haben, welche die Stoffaufnahme enorm begünstigt. Diese Eigenschaft ist von Bedeutung, da Mikroorganismen keine Makromoleküle aufnehmen können („sie haben keine Zähne“). Stattdessen scheiden sie Exoenzyme aus, welche die ungelösten makromolekularen Stoffe mit Wasser in Bruchstücke spalten; diese werden in die Zelle transportiert.

Im Boden leben Mikroorganismen häufig in Mikrokolonien. In diesen ist die Individuenzahl groß genug, um ausreichende Mengen von Exoenzymen zu bilden, um lokal die Makromoleküle wie Cellulose abbauen zu können. Dennoch machen die Individuen sich noch keine zu große Konkurrenz. In wässrigem Milieu bilden Bakterien oft strukturierte Biofilme auf Oberflächen, welche ihre Ablösung verhindern. Viele photosynthetisierende Bakterien bilden millimeterdicke Matten, in denen nach Licht- und Stoffgradienten geordnet verschiedene Arten – jede an der ihr zusagenden Stelle – ihr Auskommen haben.

Die Kleinheit garantiert auch, dass Stoffe innerhalb einer Sekunde alle Orte in der Zelle durch einfache Diffusion erreichen; die Zelle braucht kein Versorgungssystem. Das hohe Oberflächen/Volumen-Verhältnis hat große Wechselwirkungen mit der Umgebung zur Folge und begründet auch den hohen **Stoffumsatz** mancher Mikroorganismen (Tab. 1.1). Eine einfache Regel besagt, dass der Grundenergieumsatz der Tiere nicht der Masse, sondern ihrer Oberfläche proportional ist. Wenn man diese Regel sinngemäß auf die Verhältnisse bei Geweben und kleinen Zellen anwendet, so müsste man Stoffwechselaktivitäten erwarten, die sich um mehrere Zehnerpotenzen voneinander unterscheiden. Tabelle 1.1 lässt die erwartete Abhängigkeit der Stoffwechselaktivitäten, gemessen am Sauerstoffverbrauch, von der Größe der Gewebe und Zellen erkennen. Entsprechend hoch sind auch die Zuwachsraten der Mikroorganismen. Ein Rind von 500 kg bildet in 24 Stunden etwa 0,5 kg Protein, 500 kg Hefezellen können aber im selben Zeitraum mehr als 50 000 kg Protein produzieren (Plus 1.5).

1.5.4 Stoffwechselvielfalt und individuelle Anpassungsfähigkeit

Dem oberflächlichen Betrachter erscheinen Mikroorganismen wegen ihrer geringen Größe und einfachen Bauform als primitive und unterentwickelte Lebewesen. Nimmt man die Vielfalt, Leistungsfähigkeit und Anpassungsfähigkeit ihres Stoffwechsels, sozusagen die Voraussetzungen für ihr Lebensmetier, als Maßstab für Entwicklung, so ergibt sich ein ganz anderes Bild: es sind im kleinen Größenmaßstab hoch entwickelte Lebewesen.

Stoffwechselvielfalt

Bakterien haben dank ihrer **Stoffwechselvielfalt** und **Anpassungsfähigkeit an physikalische Umweltbedingungen** die verschiedensten Lebensformen gefunden (Tab. 1.2). Während Tiere und Pflanzen durchweg Sauerstoff benötigen, sind mehrere Gruppen der Prokaryonten in der Lage, unter Luftabschluss (unter anoxischen Bedingungen) zu leben und die zum Wachstum notwendige Energie durch Gärung oder anaerobe Atmung zu gewinnen. Andere Gruppen vermögen Lichtenergie zu nutzen und ihre Zellsubstanz entweder aus organischen Verbindungen oder aus Kohlendioxid aufzubauen. Wieder andere Bakterien sind zur Energiegewinnung durch Oxidation anorganischer Verbindungen oder Elemente befähigt. Vereinfacht gesagt kann in Bakterien jegliche chemische oder lichtgetriebene Reaktion zur Energiegewinnung ausgenutzt werden, vorausgesetzt,

Tab. 1.2 Einige mikrobielle Lebensbedingungen und Bezeichnungen für ihre Lebensweise. Aus der Kombination der einzelnen Lebensbedingungen in Verbindung mit den vielfältigen Stoffwechseltypen und genutzten Substraten ergibt sich die Vielfalt der Mikroorganismen und ihrer Leistungen. Die Bevorzugung bestimmter Bedingungen wird mit dem Suffix -phil ausgedrückt, das Tolerieren mit dem Suffix -tolerant (nach W. Fritzsche, Mikrobiologie, Spektrum Akademischer Verlag).

Lebensbedingung	Mikrobielle Lebensweise
Energiequelle	
chemische Reaktion	chemotroph
Lichtreaktion	phototroph
Herkunft von Reduktionsäquivalenten	
organische Verbindungen	organotroph
anorganische Verbindungen	lithotroph
C-Quelle	
organische Verbindungen	heterotroph
anorganische Verbindungen (CO ₂)	autotroph
Organismen als Substrat	
kooperative Interaktion	symbiontisch, mutualistisch
antagonistische Interaktion	parasitisch
abgestorbene Substanz	saprophytisch
Sauerstoff	
vorhanden, oxisch	aerob
nicht vorhanden, anoxisch	anaerob
geringer Partialdruck, mikrooxisch	mikroaerob
Temperaturbereich	
mittel (20–45 °C)	mesophil
hoch (45–70 °C)	thermophil
sehr hoch (70–110 °C)	extrem thermophil, hyperthermophil
tief (0–20 °C)	psychrophil (kryophil)
pH-Bereich	
neutral	neutrophil
tief	acidophil
hoch	alkalophil
Druck	
hoch	barophil
Osmotischer Druck und Wassergehalt	
hoher Salzgehalt	halophil
hoher Zuckergehalt	saccharophil
hoher Gehalt osmotisch wirksamer Verbindungen	osmophil

Plus 1.6 Vorkommen von Mikroorganismen und die Technik der Anreicherungskultur

Ein wesentliches Erfolgsgeheimnis von Mikroorganismen ist, dass sie eingetrocknet oder eingefroren oft lange Zeit lebensfähig bleiben und wegen ihrer Kleinheit leicht verbreitet werden. Unter natürlichen Bedingungen muss daher kein Standort und kein Substrat beimpft werden. Rohmilch enthält bereits ca. 10^5 Bakterien pro Gramm, Trinkwasser darf nicht mehr als 100 Bakterien pro Gramm enthalten (und muss deshalb manchmal speziell entkeimt werden). Man schätzt, dass 1 Gramm Gartenboden oder Kompost viele hundert Bakterien- und Pilzarten beherbergt. Die Pilze, die etwa die Hälfte der Lebendmasse eines Gartenbodens ausmachen, sind mit etwa 10^7 Zellen vertreten. Die Bakterienzahl liegt in der Größenordnung 10^8 bis 10^9 . Dazu kommen etwa 10^6 Protozoen und Algen. Dem stehen einige Hundert Nematoden, sowie Würmer, Mollusken und Insekten gegenüber, die vielleicht 10 % der Biomasse ausmachen. Man schätzt, dass im Meer und im Meeressediment 10^{29} oder mehr Bakterien leben. Die große Artenzahl auf kleinstem Raum macht man sich für die **Anreicherungskultur** zunutze. Im allgemeinen genügt ein Gramm eines Gartenbodens, um ein Bakterium zu finden, das einen beliebigen Naturstoff zu verwerten vermag. Mikroorganismen sind überall; nur das Milieu entscheidet, welcher Typ zur Vermehrung kommt. Durch Herstellung entsprechend selektiver Bedingungen in einem Reagenzglas lassen sich die meisten bekannten Mikroorganismen aus einem kleinen Quantum Erde oder Schlamm, in speziellen Fällen auch aus anderem Standortmaterial, in Anreicherungskultur und daraus in Reinkultur bringen. Dennoch kennt man bisher nur einen Bruchteil der existierenden Arten.

sie ist chemisch und energetisch plausibel und auf der Erde gibt es ein Biotop, in dem solche Bedingungen und Verbindungen vorkommen. Weit verbreitet ist auch das Vermögen, molekularen Stickstoff zu fixieren.

Dieser physiologischen Vielseitigkeit und Flexibilität, den hohen Syntheseraten und dem raschen Wachstum, dem einfachen Zellaufbau sowie der unkomplizierten Struktur des genetischen Materials ist es zuzuschreiben, dass die Prokaryonten seit mehreren Jahrzehnten zu den bevorzugten Forschungsobjekten der allgemeinen Biologie geworden sind. Dieser Umstand und der beschränkte Raum begründen hinreichend, dass sich die vorliegende Einführung in die Mikrobiologie vorwiegend mit der Biologie der Bakterien beschäftigt.

Individuelle Anpassungsfähigkeit

Bakterien können bis zu hundert verschiedene Verbindungen als Nahrungsquelle nutzen. Alle Arten zusammengekommen haben ein unvorstellbares Potenzial an enzymkatalysierten Prozessen, die von höheren Pflanzen und Tieren nie erreicht werden. Letztere sind bezüglich ihrer enzymatischen Ausrüstung verhältnismäßig starr; der Bestand an Enzymen verändert sich zwar im Zuge der individuellen Entwicklung, macht aber bei einem Milieuwechsel nur geringe Veränderungen durch. Bei Mikroorganismen ist die stoffwechselphysiologische Flexibilität viel größer. Für die Bakterien ist ein hohes Adaptationsvermögen (Anpassungsfähigkeit) eine Notwendigkeit, die sich auf ihre geringen Abmessungen zurückführen lässt. Eine kleine Bakterienzelle bietet nur für einige 100 000 Proteinnormaleküle Raum. Nicht benötigte Enzyme können daher nicht vorrätig gehalten werden. Viele der Nährstoffverwertung dienende Enzyme werden nur produziert, wenn der betreffende Nährstoff in der Umgebung der Zelle auftritt. Diese induzierten Enzyme können bis zu 10 % des Proteingehalts der Zelle ausmachen. Zelluläre Regulationsmechanismen spielen also bei Mikroorganismen eine erheblich größere Rolle und geben sich deutlicher zu erkennen als bei anderen Lebewesen.

1.5.5 Rasche genetische Anpassung

Die Welt der Mikroorganismen ist nicht nur mit kleinen Größenmaßstäben, sondern auch mit großen Individuenzahlen zu beschreiben. Die unvorstellbar hohe Individuenanzahl erlaubt, dass ansonsten seltene, vorteilhafte Mutationen relativ häufig vorkommen und sich unter Selektionsdruck rasch durchsetzen können. Ein berühmtes Beispiel ist der Erwerb von mehrfachen Antibiotikaresistenzen in Krankenhauskeimen. Der **„laterale“ Transfer von Genen** selbst über die Art- oder Gattungsgrenze hinweg ist eher die Regel als die Ausnahme; die Genomsequenzen vieler Bakterien zeugen eindeutig vom Erwerb vieler Gene von außen. Manchmal bilden diese ganze Genpakete, sogenannte **„Genominselfn“**. Ein Beispiel dafür sind die Pathogenitätsinseln; dies sind Gruppen von Genen, die für die notwendigen Eigenschaften codieren, erfolgreich einen Wirt zu besiedeln. Nahe verwandten nichtpathogenen Stämmen oder Arten fehlen diese Inseln. Der Genaustausch ohne sexuellen Prozess und die folgende Genrekombination ist besonders bei den Bakterien eine wesentliche Triebkraft der Evolution. Man geht sogar so weit, dass man von einem gemeinsamen **Genpool** einer Art spricht. Ein zentraler Teil davon ist allen Mitgliedern der Art gemeinsam; der andere, oft größere Teil ist auf verschiedene Teilpopulationen verteilt und kann bei Bedarf rasch ausgetauscht und erworben werden.

1.5.6 Verbreitung und Überdauerungsvermögen der Mikroorganismen

Die geringen Abmessungen der Mikroorganismen sind auch von ökologischer Bedeutung. Bakterien und Pilze sind allgegenwärtig (Plus 1.6). Man findet sie in arktischen Gebieten, im Wasser und in hohen Luftschichten. Die wichtigste Voraussetzung für ihr Leben ist flüssiges Wasser, aber selbst trockenes Brot bietet noch Lebensraum für manche Pilze. In den letzten dreißig Jahren sind selbst in extremsten Bereichen der Erde Bakterien entdeckt worden (Abb. 1.8). Bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt (-4°C) bis knapp über dem Siedepunkt des Wassers (Maximum 113°C); in pH-Bereichen von 1 (0,1 N Säure!) bis 11, in Trinkwasser wie in 30%iger Kochsalzlösung oder 20%iger Zuckerlösung, bei Normaldruck wie bei mehreren hundert bar Druck am Meeresboden.

1.5.7 Mikroorganismen als Modellobjekte der Forschung

Die Verfahren, nach denen sich Mikroorganismen im Laboratorium kultivieren lassen, sind um 1880 entwickelt worden. Mit Gelatine oder Agar verfestigte, klare Nährböden machten es möglich, einzelne Zellen zu isolieren, ihr Wachstum zu Kolonien zu verfolgen und Reinkulturen zu erhalten. Die Standardisierung der Steril- und Nährbodentechnik führte zur raschen Entwicklung der medizinischen Mikrobiologie. Die geringen Dimensionen der Mikroorganismen erlauben, Populationen von 10^8 bis 10^{10} Einzelzellen in einem Reagenzglas oder auf einer einzigen Petrischale zu untersuchen und damit so seltene Ereignisse wie Mutationen oder Merkmalsübertragungen mit geringen Hilfsmitteln und auf engem Raum nachzuweisen. Seit den fünfziger Jahren des zwanzigsten Jahrhun-



Abb. 1.8 Beispiele für extreme Biotope von Mikroorganismen. a Siedende vulkanische Quelle (Aufnahme G. Fuchs). b Saline mit Kochsalz nahe an der Sättigungsgrenze.

Tab. 1.3 Einige Meilensteine der Forschung an und mit Mikroorganismen.

Jahr	Forscher	Entdeckung, Konzept, Methode
1684	A. van Leeuwenhoek	Bakterien
1798	E. Jenner	Impfung gegen Windpocken
1837	T. Schwann, F. Kützing	Alkoholische Gärung durch Hefen
1847	I. Semmelweis	Desinfektion zur Vermeidung von Kindbettfieber
1857	L. Pasteur	Mikrobiologie der Milchsäuregärung
1860	L. Pasteur	Rolle der Hefe in der alkoholischen Gärung
1864	L. Pasteur	Kontroverse über die Urzeugung beigelegt
1866	A. de Bary E. Haeckel	Erstes Lehrbuch der Mykologie, Pilzreinkultur 1870 Begriff Protisten
1867	R. Lister S. Schwenderer	Prinzipien zur Keimfreiheit in der Chirurgie Flechtersymbiose
1872	F. Cohn	Hitzeresistente Bakteriensporen
1881	R. Koch	Methoden, um Bakterien in Reinkultur zu untersuchen
1882	R. Koch	Tuberkuloseerreger
1884	R. Koch	Koch'sche Regeln und Choleraerreger
1884	C. Gram	Gramfärbung

Tab. 1.3 Fortsetzung.

Jahr	Forscher	Entdeckung, Konzept, Methode
1886	H. Hellriegel, W. Wilfarth	Erkennung der N ₂ -Fixierung
1889	S. Winogradsky	Konzept der Chemolithotrophie
1889/1897	M. Beijerinck F. Löffler	Viruskonzept am Tabakmosaikvirus Maul- und Klauenseuche als Viruskrankheit
1890	S. Winogradsky	Autotrophes Wachstum chemolithotropher Bakterien
1897	E. Buchner	Alkoholische Gärung durch zellfreien Hefepresssaft
1901	M. Beijerinck	Anreicherungskultur
1908	P. Ehrlich	Chemotherapeutische Agenzien
1917	F. D'Herelle	Bakteriophagen
1926	A. J. Kluyver	Konzept der Einheit in der Biochemie
1928	F. Griffith	Pneumokokken-Transformation
1929	A. Fleming	Penicillin
1932	C. B. van Niel	Verständnis der Photosynthese
1934	L. Marton, E. Ruska	Elektronenmikroskop
1935	F. Zernicke	Phasenkontrastmikroskop
1944	O. Avery, C. Macleod, M. McCarty	DNA ist das genetische Material
1944	S. Waksman, A. Schatz	Streptomycin
1946	E. Tatum, J. Lederberg, G. W. Beadle	Konjugation von Bakterien Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese
1951/1952	Barbara McClintock J. Lederberg	Transposons DNA-Transduktion
1953	J. Watson, F. Crick, R. Franklin	DNA-Struktur
1957	R. Stanier	Lehrbuch „The microbial world“
1959	A. Pardee, F. Jacob, J. Monod	Genregulation durch einen Repressor
1960	F. Jacob, D. Perrin, C. Sanchez, J. Monod	Operonkonzept
1962	C. B. van Niel	Konzept eines Bakteriums
1966	M. Nirenberg, H. G. Khorana	Genetischer Code
1967	T. Brock	Bakterien in Quellen mit siedendheißem Wasser
1986	W. Arber	Restriktionsendonukleasen
1969	H. Temin, D. Baltimore, R. Dulbecco	Retroviren und Reverse Transkriptase
1975	G. Köhler, C. Milstein	Monoklonale Antikörper
1977	C. Woese, G. Fox	Archaea, natürlicher Stammbaum
1977	F. Sanger, S. Niklen, A. Coulson	Methoden der DNA-Sequenzierung
1982	K. Stetter	Extrem thermophile Bakterien
1983	L. Montagnier	HIV (der Erreger von AIDS)
1988	K. Mullis	Polymerasekettenreaktion (PCR)
1995	C. Venter, H. Smith	Vollständige Sequenz eines bakteriellen Genoms

derts sind Mikroorganismen bei der Aufklärung der elementaren Lebensprozesse unentbehrlich geworden; ohne sie gäbe es keine moderne Biochemie, Genetik oder Molekularbiologie. Tabelle 1.3 fasst einige Meilensteine der Forschung an und mit Mikroorganismen zusammen.

1.6 Rolle der Mikroorganismen im Kreislauf der Stoffe

Ihrer Rolle und Funktion im Naturhaushalt entsprechend teilt man die Organismen in drei Gruppen ein. Die Grünen Pflanzen, aber auch phototrophe Bakterien, produzieren unter Verwertung von Sonnenenergie und Kohlendioxid organische Substanz und werden als **Produzenten** bezeichnet. Die Tiere sind die **Konsumenten**; sie verbrauchen einen großen Teil der primären Biomasse zur Energiegewinnung, einen kleineren Teil zur Synthese ihrer Körpersubstanz. Tiere und Pflanzen fallen schließlich einem Abbau anheim, bei dem die organische Substanz in mineralische, anorganische Verbindungen überführt wird. An diesem als **Mineralisation** bezeichneten Vorgang sind in erster Linie Pilze und Bakterien beteiligt; sie fungieren im Naturhaushalt als **Destruenten**. Pilze spielen ausschließlich im Boden eine Rolle, während Bakterien in Böden und Gewässern vorkommen. Die Bioelemente machen also Kreisläufe durch (Plus 1.7). An dieser Stelle wird kurz auf die biogeochemischen Kreisläufe des Kohlenstoffs, Stickstoffs, Phosphors und Schwefels eingegangen.

1.6.1 Kreislauf des Kohlenstoffs

An erster Stelle steht der Kohlenstoff, von dem etwa $2 \cdot 10^{12}$ t in lebender Biomasse fixiert sind, etwa gleich viel, wie Kohlenstoff im CO_2 der Luft enthalten ist. Im Kreislauf des Kohlenstoffs erfüllen die Mikroorganismen ihre für die Erhaltung des Lebens auf der Erde bedeutendste Funktion (Abb. 1.9).

Mineralisierung des Kohlenstoffs

Mikroorganismen sorgen für die **Mineralisierung** des durch die Grünen Pflanzen in organische Bindung übergeführten Kohlenstoffs und damit für die Erhaltung eines sehr delikaten Gleichgewichts. Die atmosphärische Luft enthält nur 0,035% Kohlendioxid ($12 \mu\text{mol}$ gelöstes CO_2 /l Wasser bei pH 7 und 20°C). Die photosynthetische Leistung der Grünen Pflanzen (aber auch autotropher Bakterien) ist so groß (ca. $2 \cdot 10^{11}$ t C fixiert pro Jahr), dass sich der Kohlendioxidvorrat der Atmosphäre (ca. $2,6 \cdot 10^{12}$ t C) innerhalb von zehn bis zwanzig Jahren erschöpfen würde. Das ist eine für unsere Zeitmaße relativ kurze Spanne; im Gegensatz dazu schätzt man, dass die fossilen Kohlenstoffvorräte der Erde etwa 1000 bis 3000 Jahre ausreichen (Methanhydrate in den Sedimenten mit ca. $2,7 \cdot 10^{13}$ t, Kohle, Erdöl, Ölschiefer und Erdgas mit ca. $1 \cdot 10^{13}$ t). Selbst wenn man den CO_2 -Vorrat der Ozeane (ca. $1,3 \cdot 10^{14}$ t) in Rechnung stellt, so würde der Kohlendioxidvorrat nur etwa 2000 Jahre vorhalten. Die Grünen Pflanzen müssten ihre Kohlendioxidfixierung bald einstellen, wenn niedrigere Tiere und Mikroorganismen nicht durch fortwährende **Mineralisation** der **organischen Substanz** für eine Regeneration des Kohlendioxids sorgen würden.

Ein Beispiel für Mineralisierung im Kleinen ist der Komposthaufen. Den Bakterien und Pilzen des Bodens kommt im globalen Stoffhaushalt keine

Plus 1.7 Stoffkreislauf

Die Rolle der Mikroorganismen als Katalysatoren in einem Kreislaufprozess ist darauf zurückzuführen, dass manche **aerobe** Bakterien (solche, die eine Sauerstoffatmung haben) reduzierte anorganische Verbindungen wie H_2S , NH_3 oder CH_4 mit Sauerstoff oxidieren können und daraus ihre Lebensenergie beziehen. Andere, **anaerobe** Bakterien (solche, die ohne Sauerstoff leben) können wiederum unter Sauerstoffausschluss die oxidierten Produkte der ersteren, wie Sulfat, Nitrat oder CO_2 , anstelle von Sauerstoff in einer anaeroben Atmung verwenden. Die reduzierten Produkte diffundieren wieder in die Zone mit Sauerstoff, und der Kreislauf ist geschlossen. Dieser Kreislauf wird letztlich angetrieben durch die Energie, welche aus dem Sonnenlicht stammt und durch Photosynthese in den organischen Verbindungen gebunden wird.

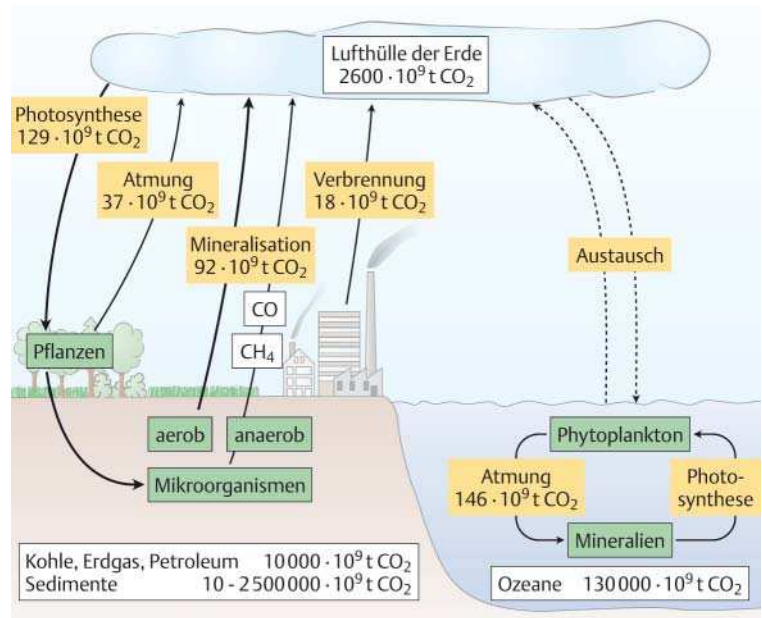


Abb. 1.9 Der Kreislauf des Kohlenstoffs.
Erklärung im Text.

mindere Bedeutung zu als den photosynthetisch tätigen Grünen Pflanzen. Die gegenseitige Abhängigkeit aller Lebewesen auf der Erde wird im Kohlenstoffkreislauf am deutlichsten.

Ein geringer Teil des mineralisierten Kohlenstoffs (1–1,5 %) erreicht die Atmosphäre nicht als CO_2 , sondern in Form von **Methan**. Dieses Gas und andere Spurengase (H_2 , CO , N_2O) werden durch die OH-Radikale der Luft, das „Persil der Atmosphäre“, oxidiert. Das Meer scheint auf den ersten Blick eine gewaltige Reserve an Kohlendioxid darzustellen. Jedoch ist die Austauschgeschwindigkeit des atmosphärischen Kohlendioxids mit dem Kohlendioxid des Meeres, das zu über 90 % in Form von HCO_3^- vorliegt, sehr gering; pro Jahr wird nur 1/10 des Luftkohlendioxids mit einer dünnen Oberflächenschicht des Meeres ausgetauscht.

Kohlendioxidfixierung

An dem biochemischen Mechanismus der photosynthetischen Kohlendioxidfixierung der Grünen Pflanzen sind in erster Linie Zucker und verwandte Verbindungen beteiligt. Die Masse des fixierten Kohlenstoffs wird in Form von polymeren Zuckern in den Hölzern und Gräsern vorübergehend festgelegt; nahezu 60 % des auf dem Land fixierten Kohlendioxids führt zur Produktion von Holz. Die Holzsubstanz besteht zu 75 % aus Polysacchariden (Cellulose, Hemicellulose, Stärke, Pectine und Arabinoxylane) und zu wenig mehr als 20 % aus Lignin und Lignan; der Proteingehalt ist gering (1 %). Bei Gräsern und krautigen Pflanzen ist der Anteil an Polysacchariden noch höher. Das Vorherrschen der Polysaccharide unter den Assimilationsprodukten der Grünen Pflanzen begründet die große Bedeutung der **Zucker als Nährstoffe** für alle auf organische Nahrung angewiesenen Lebewesen. Glucose und andere Zucker sind in Form ihrer Polymere nicht nur die mengenmäßig überwiegenden Substrate des Mineralisationsprozesses in der Natur, sondern als Monomere auch die bevorzugten Nährstoffe für die meisten Mikroorganismen.

1.6.2 Kreislauf des Stickstoffs

Im Mittelpunkt des Stickstoffkreislaufs (Abb. 1.10) steht Ammonium. Dieses ist das Produkt des Abbaus von Eiweißen und Aminosäuren, die mit der abgestorbenen Tier- und Pflanzensubstanz in den Boden gelangen. In gut durchlüfteten Böden unterliegt das Ammonium der **Nitrifikation**; durch Bakterien wie *Nitrosomonas* und *Nitrobacter* sp. wird Ammonium zu Nitrit und Nitrat oxidiert. Sowohl Ammonium als auch Nitrat können von den Pflanzen als Stickstoffquelle verwertet und assimiliert werden. Liegt Nitrat unter Sauerstoffabschluss vor, so kommt es zur Stickstoffentwicklung (**Denitrifikation**). Die beteiligten Bakterien benutzen dabei Nitrat als Sauerstoffquelle (Wasserstoffakzeptor), „atmen“ also mit NO_3^- anstelle von O_2 ; man spricht daher von „Nitratatmung“. Die Denitrifikation führt zu Stickstoffverlusten im Boden. Nur Prokaryonten sind zur Stickstofffixierung befähigt. Die **Stickstofffixierung** und die Humusbildung im Zuge des Abbaus von organischem Material sind die Grundlage für die **Bodenfruchtbarkeit**. Humus entsteht beim aeroben Abbau von Pflanzenmaterial und ist ein hochmolekulares komplexes Zufallsprodukt aus dem aromatischen Grundgerüst des Lignins.

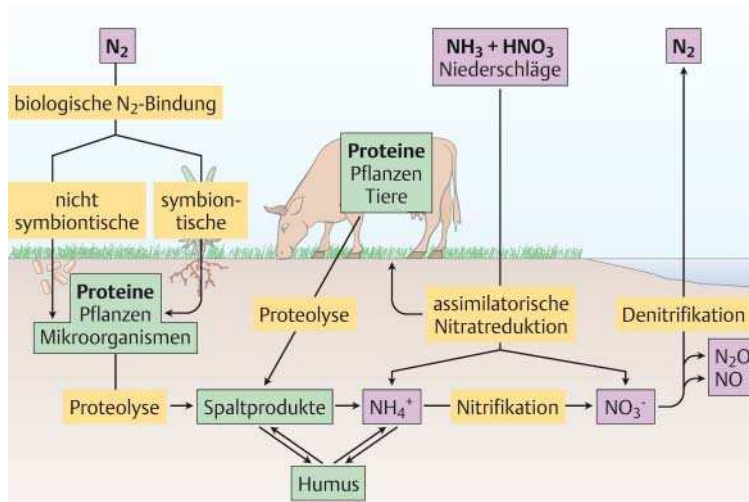


Abb. 1.10 Der Kreislauf des Stickstoffs.
Erklärung im Text.

1.6.3 Kreislauf des Phosphors

Phosphor liegt in der Biosphäre nahezu ausschließlich als Phosphat vor. In den Organismen ist Phosphorsäure meist als Ester gebunden. Die Ester werden nach Absterben der Zellen rasch gespalten, und Phosphat-Ionen werden frei. Die Phosphatkonzentration im Boden ist oft sehr gering; zudem werden Phosphate durch Bildung unlöslicher Salze (Apatit und Schwermetallkomplexe) meistens rasch festgelegt. Dagegen gelangen lösliche Düngerphosphate vielerorts in Fließgewässer und Seen. Da deren Konzentration an Eisen-, Calcium- und Aluminium-Ionen häufig nicht hoch ist, bleibt Phosphat löslich und führt zur **Eutrophierung** der Gewässer, insbesondere zur Begünstigung stickstofffixierender Cyanobakterien (sog. Wasserblüte) (Plus 1.8).

Plus 1.8 Begrenzung der Biomasseproduktion durch Phosphor und Stickstoff

Die das Wachstum der Pflanzen und damit die Biomasseproduktion begrenzenden Elemente sind Phosphor und Stickstoff. Sie sind die wachstumslimitierenden Faktoren auf dem Land und in den meisten Ozeanen. Für das Meerwasser liegen genaue Angaben vor. Aus der Tabelle lässt sich entnehmen, wie viel Biomasse (in g Trockenmasse) aus den in 1 m³ Meerwasser enthaltenen Elementen gebildet werden kann. Aus 28 g Kohlenstoff (C) lassen sich 60–100 g, aus

0,3 g Stickstoff (N) 6 g und aus 0,03 g Phosphor (P) nur 5 g Biomasse erzeugen. Die Biomasseproduktion wird also letztlich durch Phosphat begrenzt. Im Meerwasser haben folglich auch die stickstofffixierenden Organismen, z. B. Cyanobakterien, keinen Selektionsvorteil. In tropischen Meeren hat sich jedoch überraschend Eisen als das wachstumslimitierende Element herausgestellt.

Verteilung der Bioelemente in der Trockenmasse von Mikroorganismen und im Meerwasser

(1 entspricht 100 g Biomasse).

Element	g pro 100 g Trockenmasse der Organismen („A“)	g in 1 m ³ Meerwasser („N“)	Verhältnis A/N
Kalium	1	390	390
Kohlenstoff	30	28	ca. 1
Silicium	0,5	0,5	1
Stickstoff	5	0,3	0,06
Phosphor	0,6	0,03	0,05
Schwefel	1	900	900
Eisen	1	0,05	0,05
Vanadium	0,003	0,0003	0,1

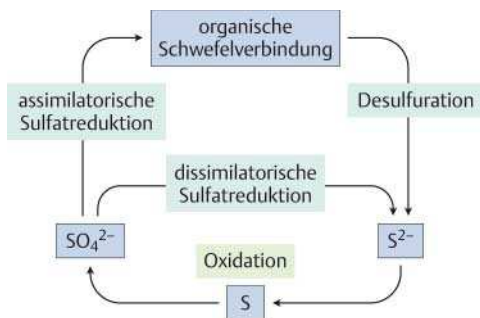


Abb. 1.11 Der Kreislauf des Schwefels.
Erklärung im Text.

1.6.4 Kreislauf des Schwefels

In den lebenden Zellen liegt Schwefel hauptsächlich als Mercaptogruppe in Form von schwefelhaltigen Aminosäuren vor (Abb. 1.11). Sein Anteil an der Trockenmasse der Organismen beträgt weniger als 1%. Bei der Zersetzung der organischen Substanzen werden die Mercaptogruppen als H₂S abgespalten. Schwefelwasserstoff oxidiert mit Sauerstoff spontan zu Schwefel und anderen Produkten; oder Schwefelwasserstoff und Schwefel werden von aeroben Bakterien zur Energiegewinnung zu Sulfat oxidiert (**Sulfurikanten**). Sulfat kommt im Meerwasser (ca. 28 mM) in etwa 100fach höherer Konzentration vor als gelöster Sauerstoff. In Sedimenten entsteht die überwiegende Menge des in der Natur auftretenden Schwefelwasserstoffs im Zuge der **dissimilatorischen Sulfatreduktion** durch **Desulfurikanten** (sulfatreduzierende Bakterien). Dieser in anoxischen Sedimenten von Gewässern entstehende Schwefelwasserstoff kann durch anaerobe phototrophe Bakterien wieder zu Schwefel und Sulfat oxidiert werden. Gelangt der Schwefelwasserstoff in sauerstoffhaltige Zonen, so wird er entweder abiotisch oder durch aerobe Schwefelbakterien zu Sulfat oxidiert. Den zur Synthese schwefelhaltiger Aminosäuren notwendigen Schwefelwasserstoff gewinnen die Pflanzen und Mikroorganismen durch **assimilatorische Sulfatreduktion**. Die Tiere sind auf die Aufnahme reduzierter Schwefelverbindungen mit der Nahrung angewiesen.

1.6.5 Mikroorganismen und ihre Fressfeinde

Wegen ihrer Kleinheit stehen Mikroorganismen am Anfang der Nahrungskette. Sie sind wie alle Lebewesen anfällig gegen den Befall von Viren, die bei Bakterien **Bakteriophagen** oder Phagen genannt werden. Die Bakterienräuber, die von Mikroorganismen leben, sind vor allem die **Protozoen**, die deutlich größer sind als sie (Abb. 1.12). Frei lebende Bakterien werden durch Phagocytose aufgenommen und verdaut. Die Aufnahme kann durch Umfließen der Zellen erfolgen (sog. **Schlinger** wie die Amöben); **Strudler** wie die Ciliaten (z. B. das Pantoffeltierchen) oder Flagellaten erzeugen mit ihren Cilien einen Strom in Richtung Mundöffnung, in der die Futterbakterien durch Reusen ausgesiebt werden. Die Aufnahme in Phagosomen der Protozoen ähnelt der Aufnahme durch Zellen des Immunsystems. Das Überleben in den Verdauungsvakuolen der Protozoen stellt ähnliche Anforderungen an pathogene Bakterien wie das Überleben in Makrophagen der Tiere und des Menschen. Man hat den Verdacht, dass manche Protozoen ein natürliches Reservoir für manche pathogene Bakterien bilden. Die Ausbildung von größeren Zellverbänden wie die Hyphenmassen der Pilze, Bakterienmatten oder **Biofilme** müssen auch unter dem Gesichtspunkt des potenziellen Gefressenwerdens gesehen werden. Diese Verbände können nur von Grasern (von Protozoen, Nematoden, aber auch größeren Tieren) abgeweidet werden, aber nicht von Schlingern und Strudlern gefressen werden. Dieser Vorteil ist eine der Triebfedern für die Ausbildung von Biofilmen; solche entgehen selbst den Immunzellen des Körpers (Schlinger).

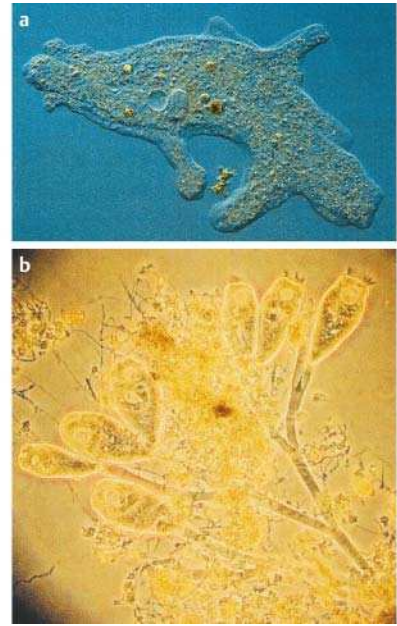


Abb. 1.12 Protozoen, die als Bakterienräuber leben. **a** Eine Amöbe, die Bakterien umschlingt („Schlinger“). **b** ein sesshaftes Glockentierchen, das Bakterien mit Hilfe von Cilien einstrudelt („Strudler“, Aufnahme H. Cypionka, Oldenburg).

1.7 Mikroorganismen als Symbionten

Eine große Zahl von Tieren, Pflanzen und Protozoen ist direkt abhängig von Mikroorganismen, mit denen sie in Symbiose leben (Abb. 1.13). Der Begriff Symbiose meint ein gesetzmäßiges Zusammenleben verschiedener Arten zu beiderseitigem Vorteil. Der größere Partner wird als Wirt, der kleinere als Symbiont bezeichnet (Plus 1.9). Die Symbionten sind so angepasst an die Wirtsumgebung, dass sie häufig nicht mehr frei existieren können; man kann sie meist auch nicht in Kultur nehmen.

Flechten sind Pioniere der Landbesiedlung. Der Pilz macht 90 % der Flechtenmasse aus, die Alge 10 %. Die Alge gibt also 90 % der Photosyntheseprodukte an den Pilz ab, sie erhält im Gegenzug mineralische Nährstoffe, Wasser und eine geschützte Umgebung.

Etwa 80 % der Landpflanzen leben im Wurzelbereich mit Bodenpilzen zusammen, die eine **Mykorrhiza** („Pilzwurzel“) ausbilden; darunter die meisten Waldbäume (Birke/Birkenpilz!). Die Landbesiedlung durch die Pflanzen vor 460 Millionen Jahren wäre ohne die Hilfe der Pilze nicht möglich gewesen. Der Pilz umgibt oder durchdringt sogar die Wurzelhaare und wirkt als „verlängerter Arm“ der Wurzel, deren Einzugsbereich und Oberfläche dadurch enorm vergrößert werden. Der Pilz versorgt die Wurzel mit Wasser und anorganischen Nährstoffen; man schätzt, dass 80 % des Phosphats vom Pilz geliefert wird. Der Pilz erhält dafür 20 % der Kohlenhydrate aus der Photosynthese als Kohlenstoff- und Energiequelle.

Orchideensamen sind winzigst und haben kein Nährgewebe. Die Sämlinge benötigen sog. **Ammenpilze** zu ihrer Entwicklung, bis sie selbst Photosynthese betreiben können.

Plus 1.9 Die Entdeckung der Symbiose

Bereits 1866, 9 Jahre nach Darwins epochemachendem Werk über die Entstehung der Arten, wurden die Flechten als Symbiose zwischen einem Schlauchpilz (Ascomyceten) und einer Grünalge oder – selten – einem Cyanobakterium erkannt. Damit wurde das erste Beispiel dafür gefunden, wie Kooperationen von Organismen im Kampf ums Dasein vorteilhaft sein können und ganz neue Lebensformen zustande bringen.

Abb. 1.13 Einige Beispiele für Symbiosen zwischen Mikroorganismen und höheren Lebewesen. **a** Eine Flechte als Symbiose zwischen einzelliger Grünalge und Schlauchpilz. **b** Eine Orchidee mit Mykorrhiza. **c** Eine Wurzelknolle der Erle mit Stickstoff fixierenden Symbionten. **d** Der Termitendarm mit Cellulose verdauenden Mikroorganismen. **e** Ein Pflanzensaft saugendes Insekt (Feuerwanze) mit Mycetom. **f** Ein Korallenriff als Symbiose zwischen Korallen und einzelligen Algen (Aufnahmen a, b, c, e aus Bakterienlicht und Wurzelpilz, 1998; d Helmut König und Alfred Breunig, Mainz).



Schmetterlingsblütler, mit über 20 000 Arten die größte Pflanzenfamilie, gehen mit stickstofffixierenden gramnegativen Proteobakterien eine **Wurzelknöllchensymbiose** ein. Darunter sind viele Kulturpflanzen wie Erbse, Bohne, Sojabohne, Klee oder Luzerne. Erle und Sanddorn gehen eine ähnliche Symbiose mit grampositiven Bakterien ein. Das Bakterium bindet Luftstickstoff in Ammoniak und gibt ihn an die Pflanze ab. Die Pflanze versorgt den Symbionten im Gegenzug mit organischen Verbindungen (Malat oder anderen Dicarbonsäuren).

Insekten, die sich auf das Saugen von Pflanzensäften oder Blut spezialisiert haben, aber auch holzfressende Käferlarven, sind erstaunlicherweise mangelernährt. Blattläusen, Wanzen, Zikaden, Tierläusen oder Stechmücken fehlen Vitamine, Steroide oder essenzielle Aminosäuren. In bestimmten Geweben, den sogenannten **Mycetomen**, beherbergen diese Insekten Bakterienkolonien (nicht Pilze, wie ursprünglich angenommen und wie der Name suggeriert); schon die Eier der Tiere werden infiziert. Die Symbionten produzieren die fehlenden Verbindungen im Übermaß und geben sie an den Wirt ab; wegen der konstanten und üppigen Umgebung haben die Symbionten bereits einen Großteil ihrer Gene abgegeben. Da diese Symbiose am Anfang der Entwicklung dieser Insektenlinien gestanden hat und man die Insektenentwicklung anhand fossiler Funde (Bernsteineinschlüsse!) nahezu lückenlos nachzeichnen kann, kann man aus dieser Symbiose eine Art biologischer Uhr rekonstruieren.

Holzfressende Insekten wie die Termiten sowie die Wiederkäuer ernähren sich hauptsächlich von Cellulose. Der **Aufschluss der Cellulose erfolgt in Gärkammern** ihres Magen-Darm-Traktes (wie der Pansen der Kuh oder der aufgeweitete Hinterdarm der Termiten) mit Hilfe von Protozoen und Bakterien. Ein Teil der Einzellermasse wird vom Wirt verdaut und die Gärprodukte (Acetat, Propionat, Butyrat) werden ebenfalls assimiliert. Ohne Nutzbarmachung von Wiederkäuern als Haustiere wäre die Besiedlung großer Bereiche unseres Planeten (so die Alpen) durch Hirtenvölker nicht möglich gewesen.

Eine ständig wachsende Zahl von **Meerestieren** geht eine Symbiose mit Bakterien ein, die aus der Oxidation von Schwefelwasserstoff oder Methan Energie gewinnen und die wie die Pflanzen Zellmaterial aus CO_2 aufbauen können. Der Wirt versorgt sie über die Blutbahn mit Mineralien, Sauerstoff und den gasförmigen Substraten; er lebt von den Bakterien.

Korallen der tropischen Flachmeere beherbergen einzellige Grünalgen, die sie mit Photosyntheseprodukten versorgen; sie sorgen auch für die Bildung des Kalkgerüsts, das in der Brandungszone lebenswichtig ist. Diese Lebensgemeinschaft hat eine 100fach höhere Produktivität als das umgebende freie Wasser!

Auch Prokaryonten bilden untereinander Symbiosen. Die wichtigste ist die **Syntrophie von strikt anaeroben Bakterien**. Syntrophie ist eine gemeinsame Stoffwechselleistung, die nur von mehreren Partnern erbracht werden kann. In diesem speziellen Fall geht es um die Umsetzung von Gärprodukten zu Biogas (Methan und Kohlendioxid), eine Reaktion mit sehr geringer Energiefreisetzung, die auch noch allen beteiligten Partnern zum Leben reichen muss. Man spricht vom Leben nahe dem thermodynamischen Gleichgewicht.

Endosymbiose. Schließlich sei daran erinnert, dass die **Endosymbiose** eines Eukaryontenvorläufers mit alpha-Proteobakterien zu den Mitochondrien und die mit Cyanobakterien zu den Chloroplasten der Eukaryonten geführt hat. Hier ist die Symbiose bis zur Aufgabe der Identität der beiden Partner fortgeschritten.

1.8 Mikroorganismen im Dienste des Menschen

Die Mikrobiologie ist heute eine wichtige praktische Disziplin geworden. Steriles Arbeiten und sicherer Umgang mit Mikroorganismen ist eine Voraussetzung für die Forschungsarbeit in vielen anderen Fachrichtungen. Dies allein ist Grund genug, sich mit den Grundlagen der Mikrobiologie und ihren Methoden zu befassen. Im folgenden Kapitel soll der Mensch und seine Beziehungen zu Mikroorganismen im Mittelpunkt stehen. Am Anfang steht die vielfältige Nutzung von Mikroorganismen. Aber auch Krankheiten von Mensch, Tier und Pflanze haben immense wirtschaftliche und gesellschaftliche Bedeutung. Damit ergeben sich wichtige Betätigungsfelder für Mikrobiologen: Die Biotechnologie, die Lebensmitteltechnologie, die Pharmazeutische Industrie, die mikrobiologische Qualitätskontrolle, die medizinische Mikrobiologie, die mikrobiologische Diagnostik und andere.

Der Unbefangene erkennt die praktische Bedeutung der Mikroorganismen zunächst an den Schäden, die sie als Pathogene bei Mensch, Tier und Pflanze verursachen. Obwohl Mikroorganismen noch in anderen Bereichen der Natur und in der Industrie als **Schädlinge** auftreten, überwiegt ihre Rolle als **Nützlinge** bei weitem. Mikroorganismen haben sich seit langem einen festen Platz im Haushalt und in der Industrie erobert; ihre Leistungen als "Nutzpflanzen" sind nicht zu entbehren. Ihre Verwendung erstreckt sich von der Veredlung landwirtschaftlicher Primärprodukte bis zur Katalyse diffiziler chemischer Reaktionsschritte.

1.8.1 Klassische mikrobielle Verfahren

Am Beispiel der Bier- und Weinbereitung mittels Hefen, der Brotbereitung und der Herstellung von Milchprodukten mit Hilfe von Milchsäurebakterien sowie der Herstellung von Speiseessig durch Essigsäurebakterien wird deutlich, dass Mikroorganismen zu den ältesten „Kulturpflanzen“ zählen. In Japan und Indonesien werden seit alters her Sojabohnen mit Hilfe von Schimmelpilzen, Hefen und Milchsäurebakterien aufbereitet. Abgesehen von der Ethanolproduktion sind Mikroorganismen in die industrielle Produktion reiner Verbindungen erst seit sieben Jahrzehnten

Plus 1.10 Antibiotikaproduktion

Die Entdeckung der Antibiotika hat eine neue Epoche der medizinischen Therapie und der Heilmittelindustrie eingeleitet. Dem Penicillin und anderen Ausscheidungsprodukten von Pilzen, Actinomyceten und anderen Bakterien verdankt die Menschheit nahezu unfehlbare Mittel zur Bekämpfung bakterieller Infektionskrankheiten. Die Suche nach neuen Antibiotika und anderen Wirkstoffen ist noch immer erfolgreich.

eingeschaltet worden. Bereits im ersten Weltkrieg wurde eine gesteuerte Hefegärung zur Herstellung von Glycerin als Vorstufe für Sprengstoff ausgenutzt. Die in der Nahrungsmittelindustrie in großen Mengen benötigte Milchsäure oder Citronensäure wird mit Hilfe von Milchsäurebakterien bzw. durch den Schimmelpilz *Aspergillus niger* hergestellt. Aus billigen kohlenhydratreichen Abfällen lassen sich durch Gärungen mit Clostridien und Bacilli Aceton, Butanol, 2-Propanol, Butandiol und andere Grundchemikalien herstellen. Heute sind **Antibiotika** wirtschaftlich wichtige Produkte (Plus 1.10).

1.8.2 Neue mikrobielle Verfahren

Die klassischen Gärungen werden durch neue mikrobielle Produktionen und Umsetzungen ergänzt. **Carotinoide** und **Steroide** werden aus Pilzen gewonnen. Seit der Entdeckung, dass *Corynebacterium glutamicum* aus Zucker und Ammoniumsalz mit hoher Ausbeute **Glutaminsäure** produziert, sind Mutanten isoliert und Verfahren entwickelt worden, nach denen sich viele Aminosäuren, Nukleotide und Biochemikalien im großen Maßstab herstellen lassen. Mikroorganismen werden vom Chemiker zur **enzymatischen Katalyse** von Teilprozessen in lange Syntheseketten eingeschaltet; mikrobielle Umsetzungen übertreffen chemische an Spezifität und Ausbeute. Die klassischen Beispiele für enzymunterstützte Synthesen sind die Produktion von halbsynthetischen Penicillinen, von Vitamin C und von Steroidhormonen. Mikroorganismen werden in großem Maßstab zur Produktion von **Vitaminen** und von **essenziellen Aminosäuren** verwendet. Die Zugabe der Aminosäuren verbessert den Nährwert von pflanzlichem Tierfutter, das häufig nicht genügend Lysin enthält. Mikrobiell hergestellte **Polysaccharide** werden als Dickungsmittel vor allem in der Lebensmittelindustrie eingesetzt. Ein großer Markt sind mikrobiell gewonnene **Enzyme**. Amylasen werden zur Stärkehydrolyse verwendet, Glucose-Isomerase zur Herstellung von Sirup, Proteinasen zur Lederbereitung, Pectinasen zur Fruchtsaftklärung, Proteinasen und Lipasen als Waschmittelbestandteile zur Entfernung von Eiweiß- und Fettflecken, Cellulasen zur Veränderung von Baumwollfasern in Textilien.

1.8.3 Mikroorganismen und Gentechnologie

Die Aufklärung der Mechanismen der Genübertragung bei Bakterien und der Beteiligung von extrachromosomalen Elementen haben Möglichkeiten zur Übertragung von Fremd-DNA in Bakterien eröffnet. Die Gentechnologie macht es möglich, Gene, beispielsweise das menschliche Gen für Insulin oder für Interferon, in Bakterien einzuführen und in ihnen die entsprechenden Proteine synthetisieren zu lassen. Hormone, Antigene, Antikörper und andere Proteine werden mit Hilfe von Mikroorganismen hergestellt. Diese Proteine mussten früher aus Schlachttieren oder Versuchstieren gewonnen werden. Resistenzeigenschaften, beispielsweise gegen Insektenfraß oder Pilzbefall, lassen sich durch Gentechnologie auf Nutzpflanzen übertragen. Auch versucht man, die Fähigkeit, molekularen Stickstoff zu fixieren, auf höhere Pflanzen zu übertragen. Schließlich macht die Gentechnologie die Herstellung von DNA-Sonden möglich, mit denen man defekte, veränderte DNA-Abschnitte in der DNA und RNA erkennen kann. Die Gentechnologie, zu der die Bakterien die Werkzeuge liefern, hat eine neue Ära der biologischen Evolution eingeleitet.

1.8.4 Mikroorganismen in Umweltprozessen

Die Fähigkeit von Bakterien, rasch und nahezu vollständig alle möglichen organischen Verbindungen zu CO_2 oxidieren zu können, macht man sich bei der **Abwasserreinigung** zu Nutze. Die biologische Stufe der Kläranlagen besteht aus einem belüfteten Becken, in dem Bakterien, die gelöste Stoffe oxidieren können, sich massenhaft vermehren (Abb. 1.14). Auch Ammoniumionen werden dabei zu Nitrat oxidiert. Unter Sauerstoffmangel entwickeln sich Bakterien, die ohne Sauerstoff von den noch verbliebenen geringen Mengen an organischen Stoffen leben; sie reduzieren dabei das Nitrat zu gasförmigem N_2 . Die Bakterienmasse und andere unlösliche organische Stoffe werden in einen Faulturm gepumpt und dort langsam durch anaerobe Bakteriengemeinschaften zu Biogas (CO_2 und CH_4) umgesetzt. Das Methan kann verbrannt werden und liefert die Energie für den Betrieb der Anlage. Auch Böden, die mit toxischen Verbindungen verunreinigt sind, lassen sich mikrobiologisch reinigen (**Bodensanierung**).

Natürlich befallen Bakterien auch Tiere. Diese Tatsache kann man sich bei der **Schädlingsbekämpfung** zu Nutze machen, um durch gezielten Einsatz dieser Bakterien zum Beispiel Schadinsekten zu bekämpfen. Das beste Beispiel ist das insektenpathogene Bakterium *Bacillus thuringiensis*, das heute erfolgreich im Weinbau gegen den Traubenwickler eingesetzt wird.



Abb. 1.14 Biologische Abwasserreinigung in einer Kläranlage (Aufnahme Lenntech, Wasser- und Luftbehandlung, Delft).

1.8.5 Monopolstellung der Mikroorganismen

Es ist hervorzuheben, dass einige in besonders großen Mengen verfügbare Rohstoffe wie Erdöl, Erdgas oder Cellulose nur von Mikroorganismen verwertet und entweder zu Zellmaterial (Biomasse) oder Zwischenprodukten, die von den Zellen ausgeschieden werden, umgesetzt werden können. Mikroorganismen haben daher bei der Veredelung solcher Rohstoffe eine Monopolstellung. Die Erschließung dieser Rohstoffe durch biologische Verfahren hat gerade erst begonnen.

Es würde zu weit führen, hier alle Verfahren und Produkte der angewandten Mikrobiologie aufzuzählen und über die Möglichkeiten weiterer Anwendungen zu spekulieren. Die Beziehungen zwischen Grundlagenforschung und Praxis sind in der Mikrobiologie wie in allen Naturwissenschaften sehr eng: „*Il n'y a pas des sciences appliquées... Mais il y a des applications de la science*“ (Pasteur).

1.9 Mikroorganismen als Gesundheitsmacher – der Mensch als besiedelter Raum

Der Mensch wird von Mikroorganismen besiedelt. Auf der **Hautfläche** eines Menschen (ca. 2 m^2) leben nur wenige Bakterien (10^9). Da Mikroorganismen Wasser zum Leben benötigen, gedeihen sie nur in den feuchten Körperzonen. Ihr Wachstum schadet dem Menschen nicht, es sind Kommensalen.

Die **Schleimhäute** haben eine Fläche von 400 m^2 und sind dicht mit Bakterien besiedelt. So ist der **Mund- und Rachenraum** ein enorm komplexes Biotop. Der Speichel enthält bereits bis zu 10^9 Bakterien pro ml. Die dünnen und verletzbaren Schleimhäute sind die Haupteinfallsstör für Krankheitserreger. Im gesunden Menschen wirkt die natürliche Mikrobengemeinschaft der Schleimhautoberflächen als Wächter gegen pathogene Mikroorganismen. Die Zusammenhänge sind noch wenig verstan-

Plus 1.11 Gnotobiotik

Die Rolle von Mikroorganismen für den gesunden Säuger kann man abschätzen, indem man Versuchstiere, die durch Kaiserschnitt auf die Welt gebracht werden, völlig steril aufzieht und studiert (Gnotobiotik). Folgende Funktionen der Darmflora hat man so festgestellt: Die Bakterien des Darms sind verantwortlich für die Vergärung von Stoffen (damit auch für die Bildung erwünschter Gärprodukte) sowie für die Produktion von Vitaminen. Die natürliche Darmflora wirkt als Fresskonkurrenz zu pathogenen Bakterien (Interferenz); sie konkurriert auch um die Bindestellen der Darmschleimhaut für Bakterien (Tropismus), und beide Effekte verhindern die Besiedlung durch Krankheitserreger. Die Darmflora ist wesentlich für die normale Entwicklungssteuerung des Darmtraktes; ein bakterienfreier Darm verkrüppelt.

den. In der **Scheide der Frau** sorgen Milchsäurebakterien durch Vergärung von Glykogen zu Milchsäure (pK 3,7) für ein saures schützendes Milieu (pH 3,5). Pathogene Bakterien und Pilze tolerieren die milchsäuren pH-Werte nicht und werden so ferngehalten. Der **Verdauungstrakt** beherbergt 10-mal mehr Bakterienzellen als der Mensch Körperzellen hat. Der Dickdarminhalt enthält etwa 10^{11} Bakterien pro Gramm. Man hat über hundert Bakterienarten im Darm festgestellt, von denen wenige die Hauptarten sind (Plus 1.11).

1.10 Mikroorganismen als Krankheitserreger

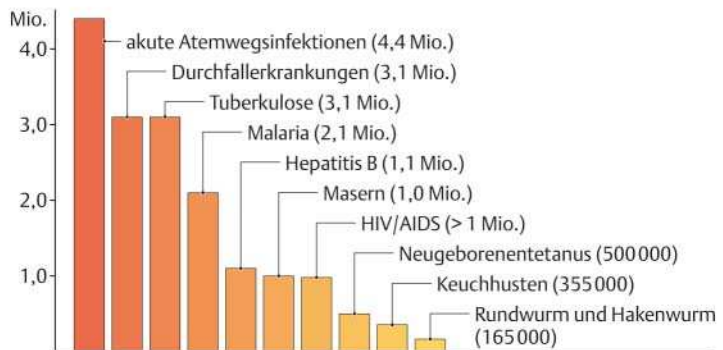
Ein wichtiger Grund, sich mit der Biologie von Mikroorganismen zu beschäftigen, ist die Tatsache, dass es einigen wenigen von ihnen gelungen ist, die natürlichen Abwehrmechanismen lebender Organismen zu umgehen und in ihnen zu parasitieren; die Folgen können tödliche Erkrankungen des Wirts sein (Plus 1.12). Durch **Impfungen** kann der Erkrankung vorgebeugt werden. Ist die Krankheit ausgebrochen, ist es entscheidend, rasch die richtige **Diagnose** zu stellen, und die beste Therapie zu wählen (in der Regel ein Antibiotikum oder eine Kombination mehrerer **Wirkstoffe**) und der Erkrankung vorzubeugen (durch **Impfungen**).

Die medizinische Mikrobiologie hat zwischen 1870 und 1910 ihre größten Triumphe gefeiert. Es war ihr in rascher Folge gelungen, hauptsächlich Bakterien, aber auch Protozoen (und noch später die Viren) als die Verursacher verschiedener Infektionskrankheiten zu entdecken. Diese neuen Einsichten hatten große Auswirkungen auf die **Hygiene**, eine entscheidende Voraussetzung für die Volksgesundheit. In Verbindung mit der Immunbiologie wurde das Prinzip entdeckt, wie Impfungen vielen dieser Schrecken der Menschheit vorbeugen können, wenn auch wirksame Heilmittel noch nicht zur Verfügung standen. Die erste dieser Zauberkugeln gegen Bakterien, die den Parasiten trafen, aber nicht den Wirt, war das Salvarsan gegen Syphilis, gefolgt von den Sulfonamiden und schließlich den Antibiotika, dem wohl größten Erfolg der Medizin.

Glücklicherweise spielen Pilze als Pathogene für Tiere kaum eine Rolle. Umgekehrt sind nur wenige Bakterien für Pflanzen gefährlich, besonders im Gefolge von Verletzungen oder Pilzbefall. Pilze sind, neben den Viren, die Hauptschädlinge von Pflanzen. Sie können mit Anheftungsstrukturen und durch die Wirkung von Enzymen die Cuticula oder die Zellwand

Plus 1.12 Infektionskrankheiten, die Todesursache Nummer 1

Die Zahl der Menschen auf der Erde ist über lange Zeiträume nur langsam angestiegen. Die Ursache dafür waren Hunger und **Infektionskrankheiten**, die vor allem Kinder weggerafft haben, deren Immunsystem noch nicht voll entwickelt ist. Kinder sind noch heute in den wenig entwickelten Ländern die ersten Opfer von Infektionskrankheiten. Man schätzt, dass ein Drittel der Menschen an Infektionskrankheiten stirbt (Abb.). Die meisten Erreger werden von Mensch zu Mensch übertragen, ein kleinerer Teil über die Nahrung, das Trinkwasser oder durch Insektenstiche.



der Pflanzen angreifen und aktiv mit ihren Hyphen in die Pflanze eindringen, häufig über die Stomata. Bakterien dringen in die Tiere meist über die Schleimhäute, vor allem des Darmtraktes und der Atmungsorgane, ein.

Bakterielle Infektionskrankheiten wie Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis*), Pest (*Yersinia pestis*), Cholera (*Vibrio cholerae*), Typhus (*Salmonella typhi*), oder Diphtherie (*Corynebacterium diphtheriae*) haben vor dem 20. Jahrhundert regelmäßig die Bevölkerung dezimiert, häufig in Seuchenzügen. Die krankheitsauslösenden Bakterien produzieren unterschiedliche Zellgifte. Besonders gefürchtete Toxine sind die Neurotoxine; 1 ng (ein Milliardstel Gramm) des potentesten Toxins (Botulin, das Gift des Fleischvergiftung verursachenden *Clostridium botulinum*) kann einen Menschen töten! Von den viralen Erkrankungen waren die Pocken, die Grippe und das Gelbfieber die gefürchtetsten. In den Tropen kommen von Protozoen verursachte Ansteckungskrankheiten wie Malaria und Schlafkrankheit noch dazu.

Brauchen wir noch Mikrobiologie? In der heutigen Zeit gibt es ein Comeback der Tuberkulose, die „neuen Feinde“ sind aber hauptsächlich Viren (HIV, Grippe, Hepatitis). Die Resistenzbildung vieler Bakterien gegen Antibiotika lässt befürchten, dass diese Waffe stumpf werden könnte. Auch neue Erreger entstehen. Die medizinische Mikrobiologie und die Wirkstoffforschung stehen vor neuen Herausforderungen. Es gibt nur vorübergehende Siege im Kampf gegen die Infektionskrankheiten und ihre Erreger.

Zusammenfassung

- Mikroorganismen wurden erst um 1680 entdeckt, ihre Natur und ihre Bedeutung für den Menschen wurden jedoch erst in den Jahren 1870 bis 1900 erkannt.
- Lange Zeit wurden Organismen in drei Reiche eingeteilt, **Tiere, Pflanzen und Protisten**.
- Erst um 1950 wurden **Prokaryonten** den **Eukaryonten** als eigenes Reich gegenüber gestellt. Um 1980 wurde erkannt, dass die Prokaryonten aus zwei Entwicklungslinien bestehen, den **Eubakterien** und den **Archaeobakterien**.
- Molekulare Methoden erlauben es, einen **universellen Stammbaum** der Lebewesen aufzustellen.
- Mikroorganismen sind gekennzeichnet durch die Tatsache, dass alle Lebensprozesse in einer einzigen Zelle ablaufen. Diese Zelle hat eine Größenordnung von 1 oder wenigen Mikrometern; ihre Kleinheit und das damit verbundene **große Oberflächen/Volumen-Verhältnis** hat wichtige Folgen für die Lebensweise.
- Mikroorganismen spielen als **Destruenten** im Stoffkreislauf eine entscheidende Rolle.
- Mikroorganismen sind Partner bei zahllosen **Symbiosen** mit Eukaryonten; das bedeutendste Beispiel ist die **Endosymbiose**, die zur Bildung von Mitochondrien und Chloroplasten geführt hat.
- Mikroorganismen spielen eine große wirtschaftliche Rolle auf traditionellen Gebieten wie der **Lebensmitteltechnologie**; zunehmend sind mikrobielle Prozesse in Verbindung mit der **Gentechnologie** die Grundlage bedeutender Wirtschaftszweige.
- Der Mensch selbst ist ein von Mikroorganismen besiedelter Raum, besonders die **Schleimhäute** und der **Darmtrakt**.

- Pathogene Mikroorganismen und die von ihnen verursachten **Infektionskrankheiten** sind verantwortlich für den frühen Tod von einem Drittel der Menschheit. Trotz wirksamer Impfungen und Antibiotikatherapien bleibt die Mikrobiologie eine Schlüsselwissenschaft für die Gesundheit des Menschen.

2 Die Prokaryonta und die prokaryontische Zelle

Im Verlauf der biologischen Evolution sind aus einer gemeinsamen Urzelle, auch Progenote genannt, drei Gruppen von Organismen hervorgegangen, die **Eubakterien** (Bacteria), die **Archaeobakterien** (Archaea) und die **Eukaryonten** (Eukarya). Eubakterien und Archaeobakterien werden zu den Prokaryonten zusammengefasst. Eukaryonten schließen Pflanzen, Tiere, Pilze, Protozoen und Algen ein. Die heutigen Eukaryonten haben sich dabei durch Aufnahme von Eubakterien mit besonderen Stoffwechselaktivitäten in einen Vorläufereukaryonten entwickelt. In beiden Gruppen ist die **Zelle** die kleinste lebensfähige Einheit. Ihre makromolekularen Grundbestandteile sind Desoxyribonukleinsäure (DNA), Ribonukleinsäure (RNA), Proteine, Lipide und Kohlenhydrate. Eine prokaryontische Zelle ist in der Regel bedeutend kleiner als eine eukaryontische Zelle. Dies bedeutet, dass sie gemessen an ihrem Volumen eine relativ große Oberfläche besitzt. Dies bietet den Vorteil, dass ein schneller und effizienter Transport von Nährstoffen in die Zelle und von Ausscheidungsprodukten in die Umgebung möglich ist. Die hohe metabolische Aktivität gewährleistet schnelles Wachstum. Prokaryontische und eukaryontische Zellen unterscheiden sich weiterhin in der Größe ihres **Genoms** und in der Art ihrer Vermehrung. Auch sind prokaryontische Zellen weniger strukturiert. So fehlen ihnen die für eukaryontische Zellen typischen **Organellen**, wie Mitochondrien, Chloroplasten oder ein Golgi-Apparat. Archaeobakterien unterscheiden sich von Eubakterien in der chemischen Zusammensetzung der Zellwände und der Zellmembran, aber auch in vielen grundlegenden molekularbiologischen Eigenschaften. Darüberhinaus besiedeln sie extreme Lebensräume oder haben einen außergewöhnlichen Stoffwechsel. Das Erscheinungsbild prokaryontischer Zellen ist auf relativ wenige Formen begrenzt, unter denen Stäbchen- und Kugelform (Kokken) vorherrschen. Diese morphologischen Unterschiede werden neben physiologischen, chemischen und molekularbiologischen Daten zur Klassifizierung der Prokaryonten in einem künstlichen System herangezogen. Aussagen über die evolutionäre Verwandtschaft liefert dagegen das „natürliche“ System, welches auf molekularbiologischen Analysen beruht.

Überblick

- 2.1 Prokaryonten versus Eukaryonten ... 31**
 - 2.1.1 Struktur des Genoms ... 31
 - 2.1.2 Struktur der Zelle ... 32
- 2.2 Archaeobakterien versus Eubakterien ... 34**
- 2.3 Die Prokaryontenzelle – Zellformen und Größe, chemische Zusammensetzung ... 36**
 - 2.3.1 Morphologische Merkmale ... 36
 - 2.3.2 Stoffliche Zusammensetzung ... 38
- 2.4 Taxonomie und Artbegriff ... 44**
 - 2.4.1 Taxonomie ... 44
 - 2.4.2 Artbegriff ... 47
- 2.5 Die „natürliche“ oder phylogenetische Klassifikation ... 47**
- 2.6 Ausgewählte Beispiele aus dem „natürlichen System“ ... 48**
 - 2.6.1 Eubakterien ... 48
 - 2.6.2 Archaeobakterien ... 53

2.1 Prokaryonten versus Eukaryonten

Ein Vergleich von prokaryontischen und eukaryontischen Zellen offenbart zunächst eine erhebliche Differenz in der Zellgröße. Während die prokaryontische Zelle nur wenige μm misst, ist die eukaryontische Zelle etwa 10fach größer (Abb. 2.1). Auch ein Vergleich der Feinstrukturen (Abb. 2.2) sowie der stofflichen Zusammensetzung lässt tiefgreifende Unterschiede zwischen prokaryontischen und eukaryontischen Zellen erkennen, deren wichtigste Merkmale im folgenden dargestellt sind (s. auch Tab. 2.1).

2.1.1 Struktur des Genoms

Das Genom der Eukaryonten. Die eukaryontische Zelle besitzt einen **Kern** (gr. **karyon** oder lat. **nucleus**), in dem der Hauptanteil der aus DNA bestehenden Erbinformation (Genom) lokalisiert ist. Darüber hinaus tragen die im Cytoplasma befindlichen Mitochondrien und die Chloroplasten der Pflanzen ein eigenes kleines Genom, das Ähnlichkeiten mit dem Genom von Prokaryonten aufweist. Im Kern ist das Genom auf mehrere Einzelstrukturen, die **Chromosomen**, verteilt. Der für einen bestimmten Organismus charakteristische Chromosomensatz wird in einem als **Mitose** bezeichneten Vorgang exakt dupliziert und auf die Tochterzellen vererbt (Kap. 3.4.1). Dazu müssen die Chromosomen zunächst kondensiert werden. Hierbei spielt die Assoziation der DNA mit basischen Proteinen, den Histonen, in Form von **Nukleosomen**, eine wichtige Rolle.

Höhere Pflanzen und Tiere vermehren sich sexuell, d.h. bei der Befruchtung verschmelzen die männliche Keimzelle und die weibliche Eizelle zu einer **Zygote**. Während die Keimzellen nur einen einzigen Chromosomensatz (haploid) tragen, enthalten die Zygote und die Körperzellen einen doppelten Chromosomensatz (diploid). Daraus folgt, dass für die sexuelle Phase eine Reduktion des diploiden in einen haploiden Chromosomensatz erfolgen muss. Diese Reduktionsteilung, **Meiose** genannt, wird durch Paarung der jeweils homologen, von beiden Eltern stammenden Chromosomen eingeleitet. Dabei können kreuzweise DNA-Bereiche ausgetauscht und neu kombiniert werden (Rekombination). Durch Duplikation der gepaarten Chromosomen und anschließende Verteilung eines jeweiligen Chromosomensatzes, entstehen vier haploide Tochterzellen. Bei zahlreichen niederen Eukaryonten, eingeschlossen Algen und Protozoen, vollzieht sich die Meiose unmittelbar im Anschluss an die Zygotenbildung. Diese Organismen sind vorwiegend haploid (siehe Lehrbücher der Genetik).

Das Genom der Prokaryonten. Die prokaryontische Zelle besitzt keinen Zellkern. Die DNA liegt als ringförmig geschlossenes Molekül im Cytoplasma vor, in seltenen Fällen auch als lineares Molekül. Das **Bakterienchromosom** erscheint in der elektronenmikroskopischen Aufnahme als ein feinfädiges komplexes Netz, das als **Nukleoid** bezeichnet wird und einer Kernregion entspricht (Abb. 2.3). Darüber hinaus verfügen viele Prokaryonten über **Plasmide**. Diese extrachromosomalen DNA-Moleküle tragen keine lebenswichtigen Erbinformationen, verleihen dem Wirt jedoch häufig Wachstumsvorteile gegenüber konkurrierenden Organismen. Plasmide variieren in ihrer Größe und Kopienzahl pro Zelle; sie treten gewöhnlich in einer ringförmig geschlossenen, seltener in einer linearen Form auf.

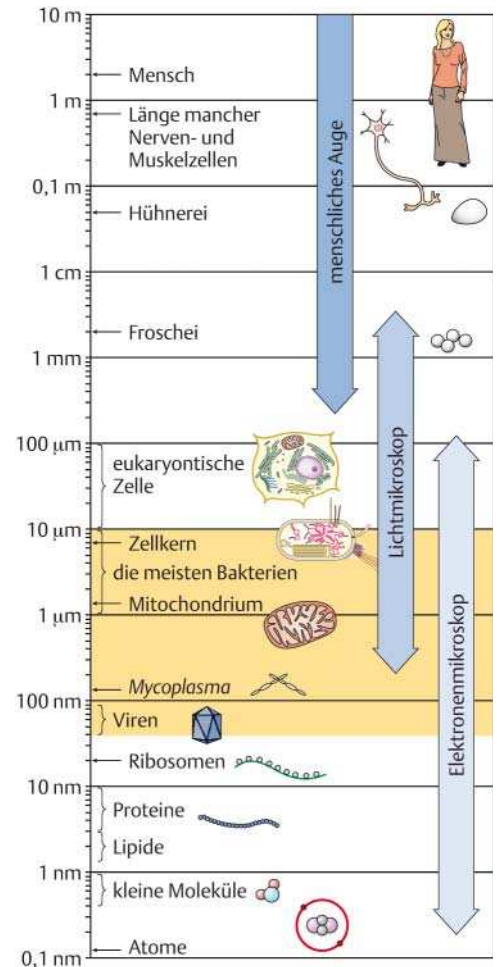


Abb. 2.1 Zusammenhang zwischen der Größe verschiedener Beobachtungsobjekte und dem Auflösungsvermögen von Auge, Licht- und Elektronenmikroskop.

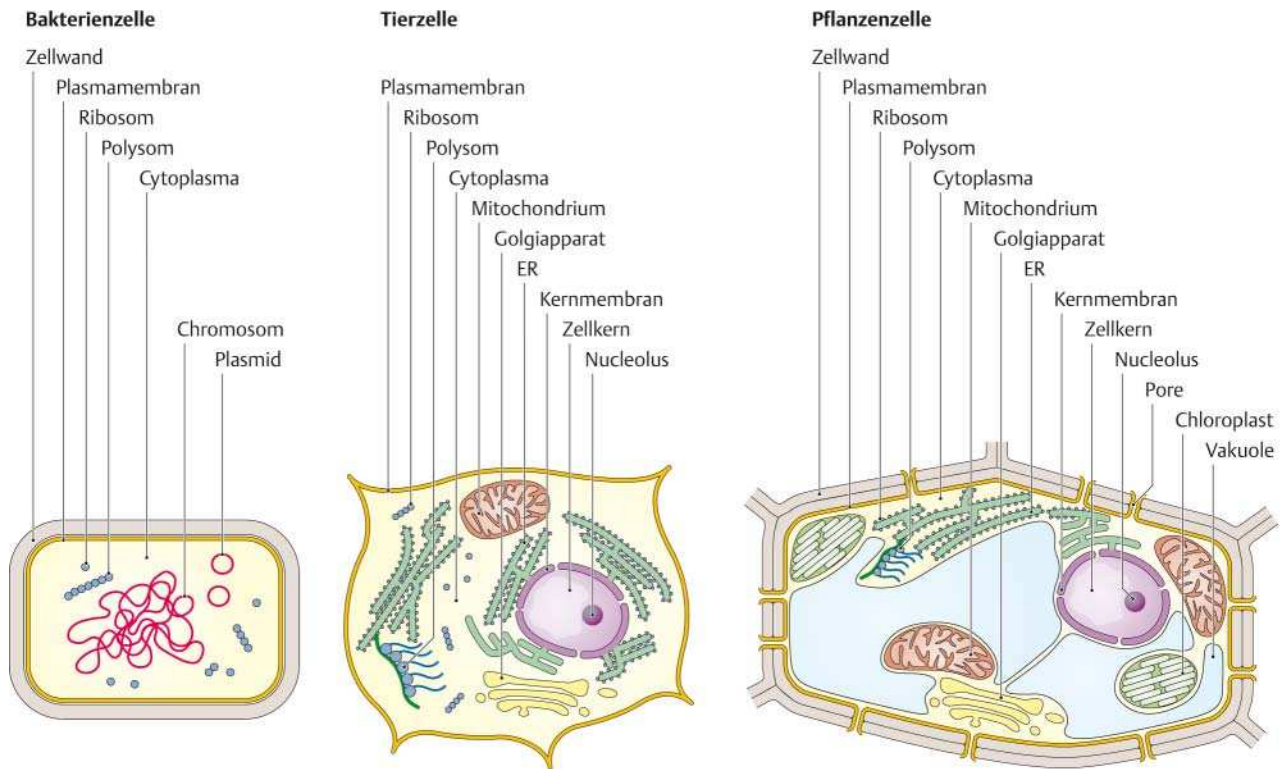


Abb. 2.2 Schematische Darstellung des Aufbaus einer Bakterienzelle im Vergleich zu Tier- und Pflanzenzellen.

2.1.2 Struktur der Zelle

Die prokaryontische Zelle ist weniger strukturiert. Schon ein erster Blick auf die prokaryontische und die eukaryontische Zelle (Abb. 2.2; 2.3) zeigt, dass in allen Organismengruppen das Zellinnere, das Cytoplasma, von einer **Membran** umschlossen ist, die eine Barriere für den Transport von Stoffen in die Zelle und aus der Zelle heraus darstellt. Die prokaryontische Zelle ist im Vergleich zu den eukaryontischen Zellen sehr viel einfacher strukturiert. Sie besitzt weniger subzelluläre Kompartimente und Einschlüsse, und ihr fehlen gänzlich Organellen wie Mitochondrien und Chloroplasten, die Reaktionsräume für bestimmte stoffwechselphysiologische Prozesse bilden. Die Mitochondrien sind in nahezu allen eukaryontischen Zellen anzutreffen, sie sind die Orte der Energiegewinnung. Pflanzen und Algen besitzen darüber hinaus Chloroplasten, in denen die Photosynthese abläuft.

Die eukaryontische Zelle enthält separate Funktionsräume. Die eukaryontische Zelle ist durchzogen von einem Netzwerk interner Membranen. Sie bilden das Endoplasmatische Retikulum (ER), den Golgi-Apparat, die Lysosomen und die Peroxisomen. Den Zellkern umgibt eine doppelte Membran. Sie enthält Poren, die aus Proteinen bestehen, die den Ein- und Austritt von Metaboliten in und aus dem Kern steuern. Ein Teil des ER, das glatte **Endoplasmatische Retikulum**, ist an der Synthese von Lipiden und am Kohlenhydratstoffwechsel beteiligt. Das rauhe Endoplas-

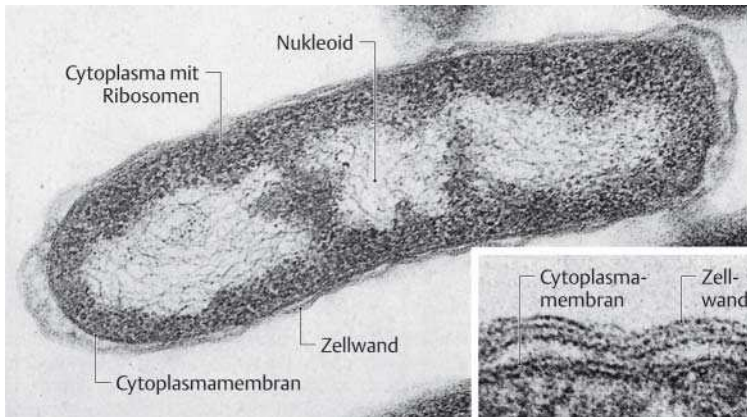


Abb. 2.3 Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Ultradünnschnitts von *Escherichia coli* B. Zellwand und Cytoplasmamembran sind aufgrund leichter Plasmolyse deutlich zu erkennen. Vergrößerung 56 200fach (ganze Zelle) bzw. 216 000fach (Ausschnitt) (Aufnahmen H. Frank, Tübingen).

matistische Retikulum ist Ort der Proteinsynthese. Es ist perlschnurartig mit 80S Ribosomen besetzt, die größer sind als die 70S Ribosomen der Prokaryonten (S, Svedberg-Einheit, gibt den Sedimentationskoeffizienten der ribosomalen Untereinheit oder des kompletten Ribosoms im Schwerfeld einer Ultrazentrifuge an). Die **Ribosomen** bestehen aus Proteinen und Ribonukleinsäure und werden in Eukaryonten im Kern gebildet. Hierzu wandern die im Cytoplasma synthetisierten ribosomalen Proteine durch die Kernmembran in eine RNA-reiche Region des Kerns, den Nukleolus. Dort werden die Proteine mit der rRNA (r, ribosomal) zu zwei Untereinheiten zusammengefügt, ins Cytoplasma exportiert und schließlich zum fertigen Ribosom zusammengesetzt. Im **Golgi-Apparat**, der von Membranstapeln durchzogen ist, werden die am ER gebildeten Produkte, wie Hormone und Verdauungsenzyme, modifiziert und von der Zelle sekretiert. In den **Lysosomen** und **Peroxisomen** laufen bestimmte enzymatische Reaktionen ab, z.B. der Abbau von Lipiden, Proteinen und Polysacchariden.

Zellorganellen in Eukaryonten und Endosymbiontentheorie. Die stäbchenförmigen **Mitochondrien** (singular: Mitochondrium) haben etwa die Größe eines Bakteriums und sind umgeben von einer äußeren und einer inneren Membran; letztere besteht aus Leisten (Cristae) oder Röhren (Tubuli). An diesen Membranen laufen die Atmung (Respiration) und die ATP-Synthese ab. In der Matrix des Mitochondriums werden die organischen Substrate oxidiert, vornehmlich durch die Enzyme des Citratzyklus. Die chlorophyllhaltigen **Chloroplasten** der photosynthetischen Eukaryonten sind größer als die Mitochondrien. Ähnlich wie die Mitochondrien besitzen sie eine sehr durchlässige äußere Membran und eine wenig permeable innere Membran. Anstelle der Cristae beherbergen die Chloroplasten ringförmige Membranstapel, sogenannte **Thylakoide**, an denen die ATP-Synthese abläuft. Im Stroma dominiert das Schlüsselenzym der autotrophen CO₂-Fixierung, die Ribulosebiphosphat-Carboxylase (Rubisco). Sie macht bis zu 50 % der gesamten Chloroplastenproteine aus und leitet die Synthese von organischen Zellbestandteilen aus Kohlendioxid ein (Kap. 8.6.1).

Sowohl Mitochondrien als auch Chloroplasten enthalten eigene DNA, die wie bei den Prokaryonten als ein geschlossenes, ringförmiges Molekül vorliegt. Beide Organellen besitzen darüberhinaus 70S Ribosomen, die nicht nur in der Größe, sondern auch in der Sequenz der rRNA den Pro-

Plus 2.1 Hydrogenosomen

Einige Protozoen (eukaryontische Mikroorganismen), die streng an einen sauerstofffreien, fermentativen Stoffwechsel angepasst sind, verfügen über ein besonderes Organell, das **Hydrogenosom**. In Hydrogenosomen wird Pyruvat zu dem energiereichen Acetyl-CoA, Kohlendioxid und Wasserstoff oxidiert. Aus Acetyl-CoA kann in Abwesenheit des normalen Atmungsakzeptors Sauerstoff, ATP gebildet werden (s. auch Kap. 13 und 17). Im Gegensatz zu den Mitochondrien besitzen Hydrogenosomen in der Regel keine DNA und Ribosomen. Da die Kern-DNA hydrogenosomentragender Eukaryonten Gene enthält, die vermutlich bakteriellen Ursprungs sind, wird postuliert, dass fakultativ anaerobe Bakterien nach Erreichen des endosymbiotischen Zustands ihre DNA in den Kern der Wirtszelle übertragen haben und die Hydrogenosomen als eine stoffwechselphysiologische Einheit erhalten blieben. Nach dieser Theorie sind Hydrogenosomen und Mitochondrien auf eine ähnliche Endosymbiose zurückzuführen.

karyonten gleichen. Dies erklärt auch, dass die Proteinsynthese in Mitochondrien und Chloroplasten durch ähnliche Antibiotika gehemmt wird wie die Proteinsynthese der Eubakterien (Kap. 5.13). Aufgrund dieser auffallenden Ähnlichkeiten von Mitochondrien und Chloroplasten mit prokaryontischen Zellen wird seit langem die **Endosymbiontentheorie** zur Entstehung eukaryontischer Zellen diskutiert. Die Endosymbiontentheorie geht davon aus, dass sich die heutigen Eukaryonten durch Aufnahme von respiratorischen bzw. phototrophen Bakterien in eine Vorläuferzelle entwickelt haben. Im Laufe der Evolution wurden dann Teile der (bakteriellen) Organell-DNA in den Kern der Wirtszelle integriert. Die Existenz spezieller Organellen bei einigen eukaryontischen Mikroorganismen wird als weiterer Hinweis für die Endosymbiontentheorie gewertet (Plus 2.1).

2.2 Archaeobakterien versus Eubakterien

Zur Gruppe der Prokaryonten gehören auch die **Archaeobakterien** (Archaea). Sie verfügen über denselben generellen Zellaufbau wie die Eubakterien. Zu ihnen zählen Vertreter, die sich an extremen, eigentlich „lebensfeindlichen“ Standorten finden, wie zum Beispiel in heißen Quellen (**hyperthermophile**) und Salzseen (**extrem halophile**), sowie die **Methanogenen**, die als einzige Organismengruppe einen Stoffwechsel betreiben, dessen Endprodukt Methan ist. Deshalb gelten sie auch als mögliche Nachkommen evolutionär sehr ursprünglicher Organismen.

Archaeobakterien weisen einige typische Merkmale auf, die sie von den Eubakterien unterscheiden. Diese betreffen u.a. den Aufbau der Zellwände, die chemische Zusammensetzung der Lipide der Cytoplasmamembran (Kap. 5.5.1), Aufbau und Anzahl der zur Transkription benötigten RNA-Polymerasen sowie Aspekte der Proteinsynthese. So fehlt den Archaeobakterien die für Eubakterien charakteristische Zellwandkomponente Muraminsäure. Weiterhin weisen ihre Membranlipide Isoprenalkohole auf, die in Etherbindungen mit Glycerin verknüpft sind, während Eubakterien und Eukaryonten Fettsäuren verestert mit Glycerin besitzen. Im Gegensatz zu Eubakterien, die nur über eine einzige RNA-Polymerase mit vier Untereinheiten verfügen, besitzen Archaeobakterien, wie auch die Eukaryonten, generell komplexer zusammengesetzte Enzyme dieses Typs. Obgleich sowohl Archaeobakterien als auch Eubakterien über 70S Ribosomen als Orte der Proteinsynthese (Translation) verfügen, ergibt sich bei Archaeobakterien eine größere Ähnlichkeit des Prozesses zum eukaryontischen System (mit 80S Ribosomen). So wird jedes Protein mit der Aminosäure Methionin gestartet, während Eubakterien hier ein modifiziertes Methionin (N-Formylmethionin) verwenden. Auch sind die Ribosomen bzw. die Translation unempfindlich gegenüber bekannten Hemmstoffen, wie z.B. dem Antibiotikum Chloramphenicol oder dem Diphtherietoxin. Diese und andere Eigenschaften unterstreichen die auf der Basis phylogenetischer Analysen erfolgte Einteilung von Bacteria und Archaeobacteria in separate Domänen innerhalb der Prokaryonten (s. Abb. 1.5, S. 9).

Tab. 2.1 Vergleich der wesentlichen Merkmale pro- und eukaryontischer Zellen.

	Prokaryonten Archaeobakterien (Archaea)	Eubakterien (Bacteria)	Eukaryonten einzellige Eukaryonten, Pflanzen, Tiere, Pilze
Größe	0,3–10 µm	0,3–10 µm, bis 750 µm	5 µm bis 1 mm, bis zu mehreren Metern
Organisationsform	einzellig	einzellig	ein- oder mehrzellig
Membranaufbau	Etherlipide	Esterlipide, Hopanoide	Esterlipide, Sterole
Zellwand	Pseudopeptidoglykan, Polysaccharide, Glykoproteine, Proteine	Peptidoglykan, Polysaccharide, Proteine	Pflanzen und Pilze: Polysaccharide, Cellulose bzw. Chitin
Bewegung	Flagellen, Flagellin	Flagellen, Flagellin	Geißeln und Cilien (Mikrotubuli), Pseudopodien
Struktur und Funktion des Cytoplasmas			
Intrazelluläre Membranen, Kompartimentierung	selten, Proteinmembranen	selten, Membraneinstülpungen oder Chlorosomen bei phototrophen Bacteria	vorhanden, ER, Golgi-Apparat, Lysosomen, Microbodies, Pflanzen, Pilze: Vakuole
Organellen	keine	keine	Mitochondrien, Pflanzen: Plastiden
Ribosomen	70S	70S	80S (70S: Mitochondrien, Plastiden)
Startamino-säure bei der Translation	Methionin	N-Formylmethionin	Methionin
Zellteilung	Septenbildung	Septenbildung	Mitose
Cytoskelett	FtsZ-Protein (ähnlich Tubulin) MreB-Protein (ähnlich Aktin)	FtsZ-Protein MreB-Protein	Tubulin, Aktin
Lokalisation und Struktur der Erbinformation			
Kernstruktur	kernähnliche Struktur (Nukleoid)	kernähnliche Struktur (Nukleoid)	Zellkern (Nukleus) umgeben von Membran (Kernhülle)
chromosomale DNA	meist ringförmig meist ein Chromosom histonverwandte Proteine nukleosomenähnlich haploid Transkription und Translation gleichzeitig	meist ringförmig meist ein Chromosom histonähnliche Proteine haploid Transkription und Translation gleichzeitig	linear mehrere Chromosomen Histone meist in Nukleosomen diploid oder haploid Transkription (Zellkern) und Translation (Cytoplasma) getrennt
extrachromosomale DNA	Plasmide, häufig linear	Plasmide, meist ringförmig	Plasmon der Mitochondrien und Plastiden (Pflanzen) Pilze: auch Plasmide
Introns	selten	selten	überwiegend vorhanden
Genetische Rekombination	konjugationsähnlicher Prozess	Konjugation	Meiose, Syngamie
RNA-Polymerasen	mehrere	eine	drei

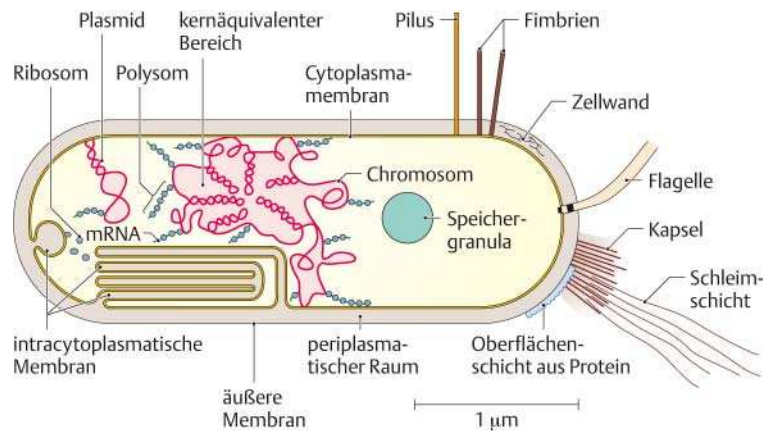


Abb. 2.4 Schematischer Aufbau einer Bakterienzelle. Es sind sowohl die allgemeinen strukturellen Merkmale als auch Besonderheiten berücksichtigt, die nicht bei allen Arten vorkommen. Die Zellhülle entspricht derjenigen eines gramnegativen Bakteriums.

2.3 Die Prokaryontenzelle – Zellformen und Größe, chemische Zusammensetzung

Im Folgenden werden der Aufbau, die Zusammensetzung und einige Funktionen der prokaryontischen Zelle erläutert. Hauptsächliches Bezugsobjekt ist eine gramnegative Bakterienzelle. Das zu den best untersuchten Organismen zählende Enterobakterium *Escherichia coli* (Abb. 2.3) steht hier stellvertretend als Modell. Ein schematisches Abbild einer prokaryontischen Standardzelle (Abb. 2.4) vereint in idealisierter Form die allgemeinen Merkmale eines Bakteriums. Nicht alle Merkmale dieser Idealzelle treffen im Einzelfall zu.

2.3.1 Morphologische Merkmale

Die prokaryontische Standardzelle leitet sich in ihrer Gestalt entweder von einem Zylinder oder einer Kugel ab (Abb. 2.5). Die **zylindrische Stäbchenform**, etwa 1 µm breit und 3 bis 5 µm lang, ist typisch für Angehörige der *Enterobacteriaceae* (Abb. 2.3) sowie der Gattungen *Pseudomonas* und *Bacillus*. Formvarianten sind die **einfach oder helixartig gekrümmten Stäbchen**, die als *Vibrio* bzw. *Spirillum* bezeichnet werden. Der Gestalt einer Kugel gleichen die **Kokken** (Cocci), von denen Mikroformen existieren (*Nanoarchaea*), die nur einen Durchmesser von < 0,5 µm besitzen. Sowohl bei stäbchenförmigen als auch bei coccoiden Prokaryonten ist häufig zu beobachten, dass die Zellen nach der Teilung zusammenbleiben. Sie bilden arttypische **Zellverbände in Form von Ketten** (Diplokokken, Streptokokken) oder **Zellpaketen** (Staphylokokken, Sarcinen, Abb. 2.6a). Abweichend von diesen Grundformen zeigen einige Prokaryonten ungewöhnliche morphologische Merkmale. **Dünne, spiralartige, fädige Zellen** (Durchmesser 0,25 µm) sind charakteristisch für die Spirochaeten (Abb. 2.6b). **Keulenförmige Zellen**, die eine Tendenz zur Verzweigung haben, finden sich in den Gattungen *Corynebacterium* (Abb. 2.6c) und *Mycobacterium*. Andere Prokaryonten entwickeln einen **Stiel**, um sich an Oberflächen anzuheften oder bilden **hyphenartige Auswüchse** (Abb. 2.7). Verzweigte filamentöse Zellen, die einem Pilzmyzel gleichen, sind typisch für Streptomyceten (Abb. 2.6d). Schließlich sind unter den Prokaryonten auch einige **Riesenbakterien** anzutreffen, z.B. *Chromatium okenii* (20 µm Länge), *Thiospirillum jenense* (50 µm Länge), *Achromatium* sp.

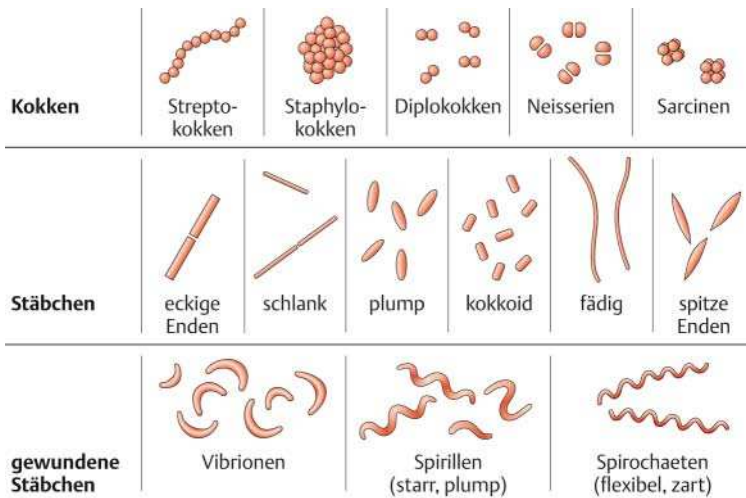


Abb. 2.5 Wachstumsformen von Bakterien.

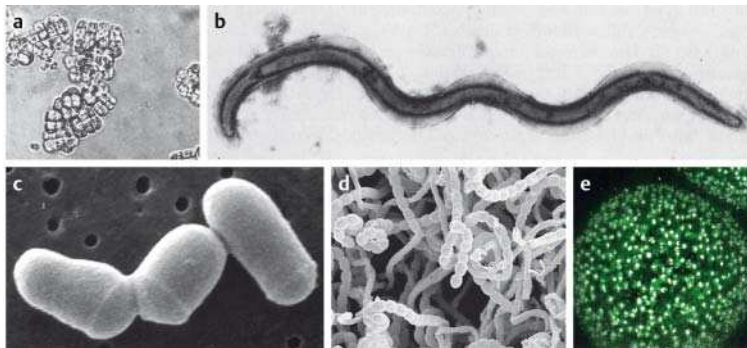
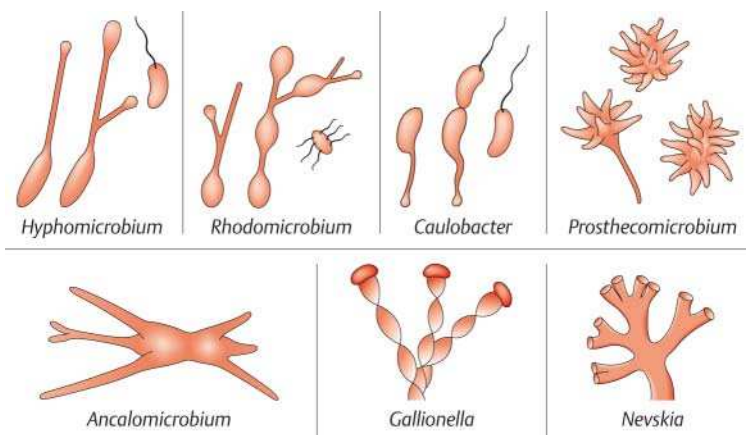
Abb. 2.6 Beispiele für Bakterienformen. **a** In Nährlösung gewachsene Zellpakete von *Sarcina ventriculi* (Hellfeldaufnahme, 750fach, Aufnahme D. Claus). **b** Elektronenmikroskopische Aufnahme vom gestreckten Zustand einer Mundspirochaete mit mehreren Achsialfibrillen (Vergrößerung 7000fach, aus Listgarten 1964). **c** Elektronenmikroskopische Aufnahme von *Corynebacterium glutamicum* (Aufnahme H. Sahm, Jülich). **d** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von *Streptomyces collinus* Stamm Tü 365 (Aufnahme T. Laiple, Tübingen). **e** *Thiomargarita namibiensis*; Zelldurchmesser ca. 200 µm mit Schwefeleinschlüssen (helle, kugelige Strukturen; Aufnahme H. Schulz, MPI für marine Mikrobiologie, Bremen).

Abb. 2.7 Prosthekate und gestielte Bakterien.

(35 × 95 µm) und *Epulopiscium fishelsoni* (80 × 600 µm), das als Darmsymbiont des Braunen Doktorfisches (*Acanthurus nigrofasciatus*) lebt. Spitzenreiter ist *Thiomargarita namibiensis* (Länge bis 750 µm, Abb. 2.6e), das die Größe von *Paramecium* (150 µm), einem Ciliat, um das Mehrfache übertrifft. Die Zellen dieser Riesenbakterien sind von einer Vakuole ausgefüllt, in der Stoffe (z.B. Nitrat) gespeichert werden.

2.3.2 Stoffliche Zusammensetzung

Die prokaryontische Zelle, z.B. die von *E. coli*, besteht überwiegend (70–85 %) aus Wasser. Die Trockenmasse enthält hauptsächlich polymere Substanzen (96 %). Die frei vorliegenden monomeren Bausteine (Aminosäuren, Zucker, Nukleotide und anorganische Elemente) machen nur 4 % der Trockenmasse aus (Kap. 8.2).

Proteine

Unter den polymeren Zellinhaltsstoffen dominieren Proteine. Eine *E. coli* Zelle enthält das Potenzial zur Bildung von 4288 verschiedenen Proteinen, von denen etwa 2700 bekannt sind. Die Proteine kommen sowohl im

Glycin (Gly) [G] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$	L-Alanin (Ala) [A] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	L-Valin (Val) [V] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	L-Leucin (Leu) [L] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	L-Isoleucin (Ile) [I] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$	L-Serin (Ser) [S] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	L-Threonin (Thr) [T] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
L-Cystein (Cys) [C] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{S}-\text{H} \end{array}$	L-Selenocystein (Sel) [U] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Se}-\text{H} \end{array}$	L-Methionin (Met) [M] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \end{array}$	L-Tryptophan (Trp) [W] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Indol-Ring} \end{array}$	L-Histidin (His) [H] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Imidazol-Ring} \end{array}$	L-Prolin (Pro) [P] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}_5\text{H}_9 \end{array}$	L-Phenylalanin (Phe) [F] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Phenyl-Ring} \end{array}$
L-Tyrosin (Tyr) [Y] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{Phenol-Ring} \end{array}$	L-Asparaginsäure (Asp) [D] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$	L-Asparagin (Asp-NH ₂ oder Asn) [N] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{NH}_2 \end{array}$	L-Glutaminsäure (Glu) [E] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$	L-Glutamin (Glu-NH ₂ oder Gln) [Q] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{NH}_2 \end{array}$	L-Lysin (Lys) [K] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{NH}_3^+ \end{array}$	L-Arginin (Arg) [R] $\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH}_2^+ \\ \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$

ionisierbar: sauer

ionisierbar: basisch

polar (nicht ionisierbar)

apolar (hydrophob)

Abb. 2.8 Strukturen von Aminosäureseitenketten.

Cytoplasma als auch in der Zellhülle vor. Sie erfüllen strukturelle, katalytische (enzymatische) und regulatorische Funktionen. Ihre Zusammensetzung und Konzentration variiert je nach Lebensbedingungen der Zelle. Ein komplexes Regulationsnetzwerk sorgt dafür, dass nicht alle Proteine gleichzeitig und auf einem hohen Niveau gebildet, sondern bedarfsgerecht produziert werden. Dadurch wird kostbare Energie gespart, die sonst in hohem Maße durch unnötige Proteinsynthese verlorengehen würde.

Proteine bestehen aus 21 universell verwendeten **L-Aminosäuren** (Abb. 2.8; eine weitere, Pyrrolysin, wurde kürzlich erst entdeckt). Die Aminosäuren enthalten zwei wichtige funktionelle Gruppen, die Carboxylgruppe ($-\text{COOH}$) und die Aminogruppe ($-\text{NH}_2$). Bei der Verknüpfung zweier Aminosäuren kommt es zur Bildung einer **Peptidbindung** (Abb. 2.9). Infolge einer Kettenverlängerung entsteht ein aus zahlreichen Aminosäuren zusammengesetztes Polypeptid, das eine große Vielfalt an Struktur- und Funktionsmöglichkeiten bietet. Die Aminosäuren unterscheiden sich hinsichtlich des Restes (R) am α -C-Atom, das beide funktionelle Gruppen trägt (Abb. 2.8). Die Aminogruppe am α -C-Atom kann in zwei stereoisomeren (enantiomeren) Formen vorkommen, der D- oder L-Form, wie dies am Beispiel des Alanins veranschaulicht ist (Abb. 2.10). Bei der Proteinbiosynthese werden ausschließlich die L-Aminosäuren als Vorstufen verwertet. **D-Aminosäuren** kommen nur in kurzen Peptiden, wie z.B. im Peptidoglykan (Kap. 5.8 und 8.7.5) oder in Peptidantibiotika (Kap. 19.7.3) vor. Das chemische Verhalten einer Aminosäure wird weitgehend durch die Eigenschaften des Seitenrestes R bestimmt (Abb. 2.8). So können saure und basische Aminosäuren, z.B. Aspartat bzw. Arginin, ionische Bindungen innerhalb eines Proteins eingehen. Über Schwefelatome benachbarter Cysteinmoleküle sind kovalente Verknüpfungen zwischen und innerhalb von Peptidketten möglich (Abb. 2.11).

Die Anzahl und die Sequenz der Aminosäuren sind verschlüsselt in der DNA, sie bestimmt die **Primärstruktur** eines Proteins. Bedingt durch die unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Aminosäuren, nimmt die Polypeptidkette durch Faltung eine bestimmte räumliche Konformation ein, die als **Sekundärstruktur** bezeichnet wird. Die Ausbildung der Sekundärstruktur wird vornehmlich durch nichtkovalente Bindungen, hauptsächlich durch Wasserstoffbrücken, stabilisiert (Abb. 2.11). In größeren Molekülen wechseln schraubenförmig gewundene Bereiche (α -Helix) und stapelförmige Schichten (β -Faltblatt, Abb. 2.12). Diese diskreten Segmente innerhalb des Polypeptids bilden Domänen, die mit bestimmten Funktionen des Proteins korrelieren.

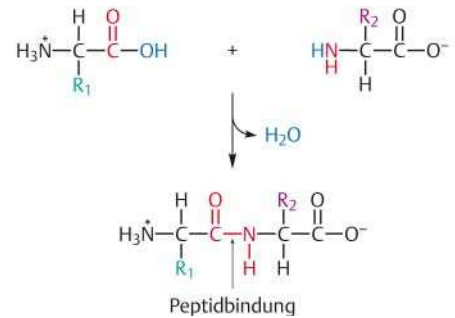


Abb. 2.9 Bildung einer Peptidbindung.

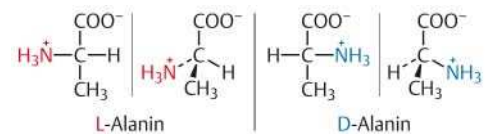


Abb. 2.10 Stereoisomere L- und D-Formen. Links ist jeweils die zweidimensionale, rechts die dreidimensionale Darstellung gezeigt.

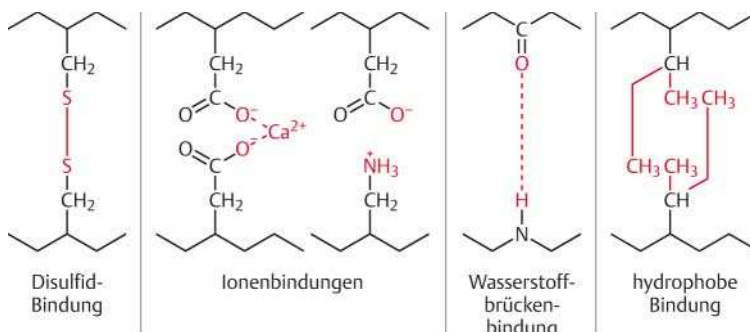


Abb. 2.11 Möglichkeiten der Ausbildung von Haupt- und Nebenvalezen bei Proteinmolekülen.

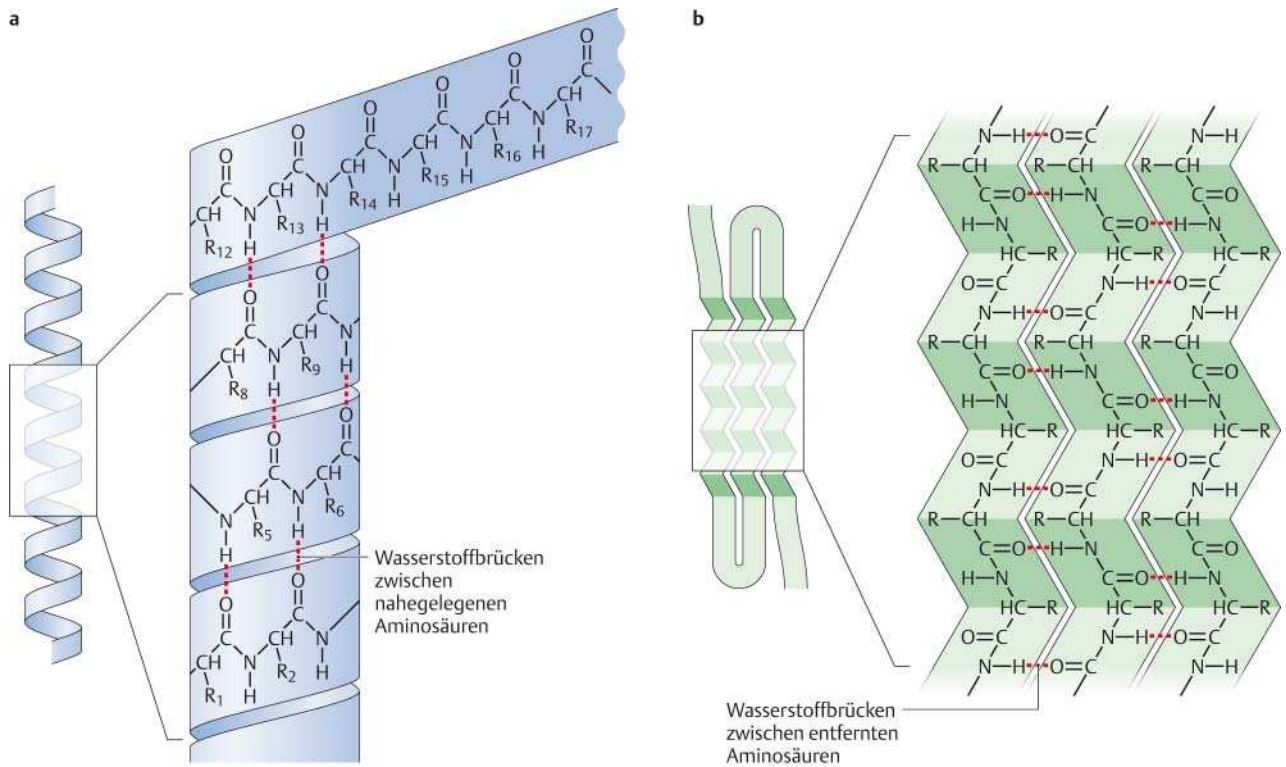


Abb. 2.12 Sekundärstrukturen von Proteinketten. **a** α -Helix. **b** β -Faltblatt.

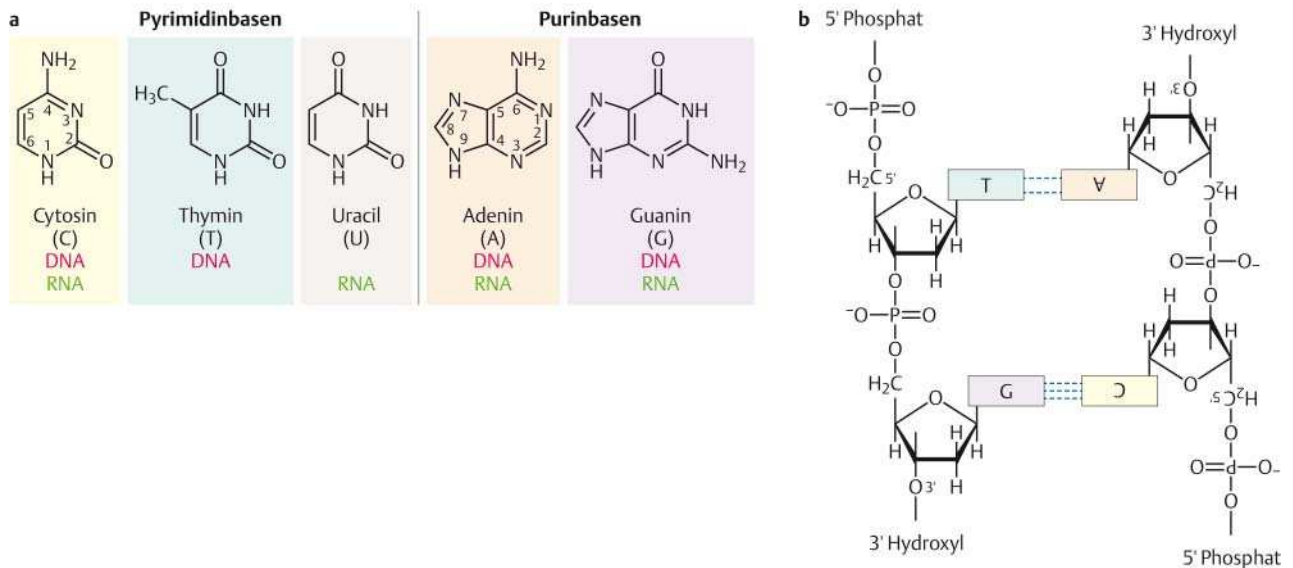


Abb. 2.13 Nukleinsäuren. **a** Strukturen der Basen in DNA und RNA. **b** Komplementäre und antiparallele Eigenschaften der DNA sowie spezifische Basenpaarung. A, Adenin, T, Thymin, C, Cytosin, G, Guanin.

Die dreidimensionale Struktur eines Proteins, auch als **Tertiärstruktur** bezeichnet, vereint die einzelnen Domänen eines Polypeptids zu einem Gesamt-molekül. Sie wird, ebenso wie die Sekundärstruktur, durch kovalente Disulfidbrücken, durch Wasserstoffbindungen sowie durch hydrophobe und ionische Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Aminosäuren stabilisiert (Abb. 2.11). Nicht selten ist ein Protein aus mehreren Polypeptidketten (Untereinheiten) zusammengesetzt, deren Anzahl und Konformation die **Quartärstruktur** eines Proteins ausmachen. Derartige oligomere Proteine enthalten entweder identische oder nichtidentische Untereinheiten. So besteht z.B. die bereits erwähnte RNA-Polymerase (Tab. 2.1) aus multiplen heterologen Untereinheiten, die zu einem Proteinkomplex assembliert werden.

Desoxyribonukleinsäure

Das bakterielle Genom besteht aus **Desoxyribonukleinsäure** (DNA), sie lässt sich in drei äquimolare Grundbausteine zerlegen: in die Desoxyribose, Phosphat und eine stickstoffhaltige Base. Desoxyribonukleotide entstehen durch enzymatische Katalyse mittels **Ribonukleotidreduktase** aus Ribonukleotiden, den Grundbausteinen der Ribonukleinsäure (RNA). Vier verschiedene heterozyklische Verbindungen, die Pyrimidine Cytosin und Thymin und die Purine Guanin und Adenin, repräsentieren die Basen der DNA (Abb. 2.13a). Über das N1- bzw. N9-Atom der Pyrimidin- bzw. Purinbasen sind sie N-glykosidisch mit dem C1-Atom der Desoxyribose zu einem Nukleosid verknüpft. Zusammen mit dem Phosphatrest, der mit dem C5-Atom der Desoxyribose eine Esterbindung eingeht, bilden die drei Bausteine ein Nukleotid.

Die DNA ist eine Kette aus kovalent verbundenen Nukleotiden. Das Rückgrat dieses Polymers besteht aus den über Phosphodiestergruppen verbundenen Desoxyribosemolekülen, mit einem freien Phosphatrest am C5'-Ende und einer freien Hydroxylgruppe am entgegengesetzten C3'-Ende (Abb. 2.13b). Die im Cytoplasma befindliche DNA liegt als doppelsträngiges, helikal gewundenes Molekül vor. Die beiden gegenläufigen Stränge (5'→3', 3'→5') weisen also eine Polarität auf, sie sind antiparallel und werden über rechtwinklig zur Achse, nach innen weisende Basen durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten. Um den Abständen und den Bindungsverhältnissen Rechnung zu tragen, muss jedem Adenin (A) ein Thymin (T) und jedem Guanin (G) ein Cytosin (C) gegenüberstehen. Bei der komplementären Paarung A/T kommt es zur Ausprägung zweier und im Fall von G/C zu drei Wasserstoffbrücken (Abb. 2.13b). Aus dieser von E. Chargaff entdeckten Gesetzmäßigkeit der Basenpaarung folgt, dass die Summe der Pyrimidin- gleich der Summe der Purinbasen ist. Diese Erkenntnis bildete eine wichtige Grundlage bei der Entwicklung des Modells einer DNA-**Doppelhelix** durch J. Watson und F. Crick (1953).

Eine einzige helicale Windung in der Doppelhelix (Abb. 2.14) umfasst 10 Basenpaare (bp). Die Struktur dieser DNA, die eine große und eine kleine Furche erkennen lässt, ist bedeutsam für die Interaktion von regulatorischen Proteinen mit der DNA. Das Genom von *E. coli*, dessen Nukleotidsequenz 1997 aufgeklärt wurde, besteht aus 4639 221 bp, vereinfacht formuliert aus 4600 Kilobasenpaaren (Kbp), bzw. 4,6 Megabasenpaaren (Mbp). Das Chromosom ist, wie bei den meisten Bakterien, ein kovalent geschlossenes, ringförmiges Molekül. Daneben kommen bei anderen Bakterien jedoch auch lineare Chromosomen vor. Es hat eine Länge von 1,5 mm und einen Durchmesser von 2 nm und muss in einer *E. coli* Zelle Platz finden, die $2 \times 0,5 \mu\text{m}$ misst. Dies ist nur vorstellbar, wenn

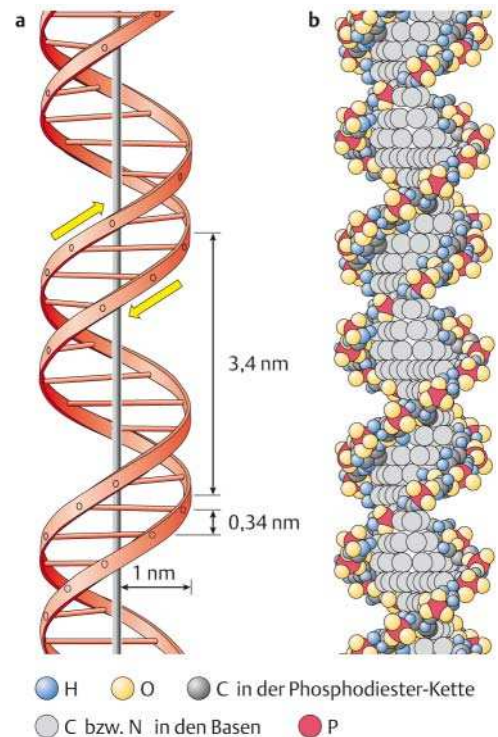


Abb. 2.14 Raumstruktur der DNA-Doppelhelix. **a** Dimensionen: eine vollständige Windung verläuft über 3,4 nm und enthält 10 Basenpaare. **b** Kalottenmodell der DNA-Doppelhelix: für jedes Atom wurde eine andersfarbige Kugel (Kalotte) eingesetzt. Die Größe der Kalotten entspricht den Dimensionen der verschiedenen Atome (aus Knippers, 2006).

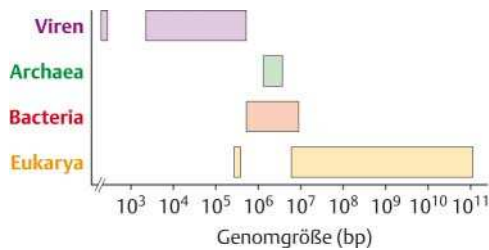


Abb. 2.15 Genomgrößen von Viren, prokaryontischen und eukaryontischen Organismen im Vergleich.

das fädige Molekül eine besondere Architektur – in Form des **Nukleoids** – einnimmt (s. Abb. 2.3 und Kap. 5.2).

Ein Vergleich einer Reihe von entschlüsselten Genomen aus Prokaryonten mit denen von Eukaryonten zeigt, dass Mikroorganismen zwar relativ kleine Genome besitzen, ihre Größe jedoch innerhalb der Organismen erheblich variiert (Abb. 2.15). Darüberhinaus sind einige Bakterien bekannt, die über mehrere Chromosomen verfügen (Kap. 5.2).

Ribonukleinsäure

Ribonukleinsäuren bestehen grundsätzlich aus den gleichen Bausteinen wie DNA, nämlich Pyrimidin- oder Purinbasen, C₅-Zucker und Phosphat. Allerdings kommt bei der RNA nur Uracil anstelle von Thymin vor (Abb. 2.13a), und die Desoxyribose ist durch Ribose ersetzt. Weiterhin bilden Ribonukleinsäuren, mit Ausnahme einiger Viren-RNAs, keine Doppelhelix aus, sondern liegen als Einzelstrang vor. Sie können jedoch durch komplementäre Basenpaarungen innerhalb des Moleküls eine Sekundärstruktur aufweisen (Abb. 2.16).

Die RNA-Moleküle der Zelle lassen sich in drei Gruppen unterteilen: **ribosomale RNA** (rRNA), **messenger(Boten)-RNA** (mRNA) und **transfer-RNA** (tRNA) (Abb. 2.16). Der RNA-Anteil an der Zelltrockenmasse kann bis zu 20% ausmachen (Kap. 8.2). Davon entfallen ca. 80% auf die **rRNA**, die in Prokaryonten in den Größen 23S, 16S und 5S vorkommt und durch ausgeprägte Sekundärstrukturen mit konstanten und variablen Sequenzbereichen gekennzeichnet ist (Abb. 2.17).

Bakterien enthalten etwa 60 verschiedene **tRNAs**, die meist nur zwischen 70 und 93 Nukleotide lang sind. Sie haben die Funktion, jeweils eine Aminosäure zu aktivieren und an den Ort der Proteinsynthese heranzuführen. Innerhalb dieser Moleküle gibt es sowohl konstante als auch variable Regionen. Außerdem kommen einige seltene Basen vor, die durch chemische Modifikation der Standardbasen entstehen. Die Moleküle besitzen ausgeprägte Sekundärstrukturen. Am 3'-Ende ist die jeweilige Aminosäure durch Esterbindung an ein Adeninnukleotid gebunden, während sich in der sogenannten Anticodon-Schleife die Erkennungsstelle für das der Aminosäure entsprechende Codon auf der mRNA befindet (Abb. 2.16). Ca. 15% der RNA einer Zelle sind tRNAs.

mRNAs entstehen bei der Transkription codierender DNA-Abschnitte und dienen als Matrice bei der Proteinsynthese an den Ribosomen. Da ihre Lebensdauer nur wenige Minuten beträgt, entspricht der konstant messbare Anteil in der Zelle ca. 4%.

Polysaccharide

Kohlenhydrate der allgemeinen Struktur C_n(H₂O)_m kommen in der Zelle hauptsächlich in Form einiger Zucker und ihrer Polymerverbindungen, den **Oligo- und Polysacchariden**, vor. Insbesondere von Bedeutung sind Zucker mit vier bis sieben Kohlenstoffatomen. **Pentosen** (C₅-Zucker), wie Ribose und Desoxyribose, sind Bestandteile von RNA und DNA, während Glucose, eine **Hexose** (C₆-Zucker) ein wichtiges Substrat zur Gewinnung von Zellenergie darstellt. Derivate der Glucose, wie die Aminosucker N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure, sind die Grundbausteine der bakteriellen Zellwand (Kap. 8.7.5 und 10.3.5).

Werden Zucker miteinander verknüpft, so kann dies durch **α- oder β-glykosidische Bindungen** erfolgen. Als **Speicherstoffe** genutzte Polysaccharide, wie z.B. Stärke oder Glykogen, enthalten α-glykosidische Bin-

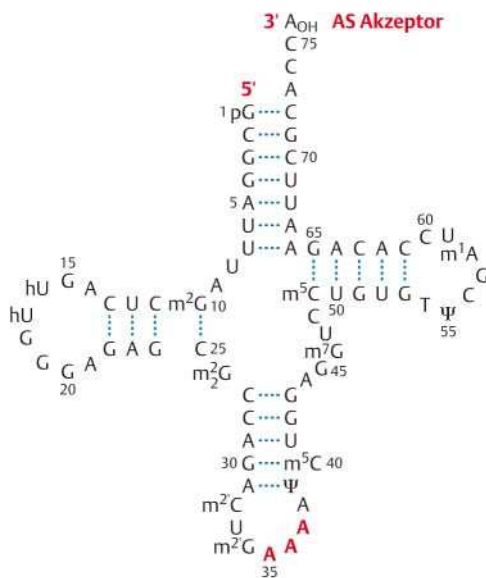


Abb. 2.16 Struktur einer transfer-RNA. Dargestellt ist das Kleeblatt-Modell der aus 76 Nukleotiden bestehenden phenylalaninübertragenden tRNA der Hefe. A, Adenosin, C, Cytidin, G, Guanosin, U, Uridin, P, Phosphat. Seltene Nukleotide sind hU (Dihydrouridin), Gm (Methyl- bzw. Dimethylguanidin), T (Ribothymidin) und Ψ (Pseudouridin). Die Nukleotide des Anticodons sind rot hervorgehoben.

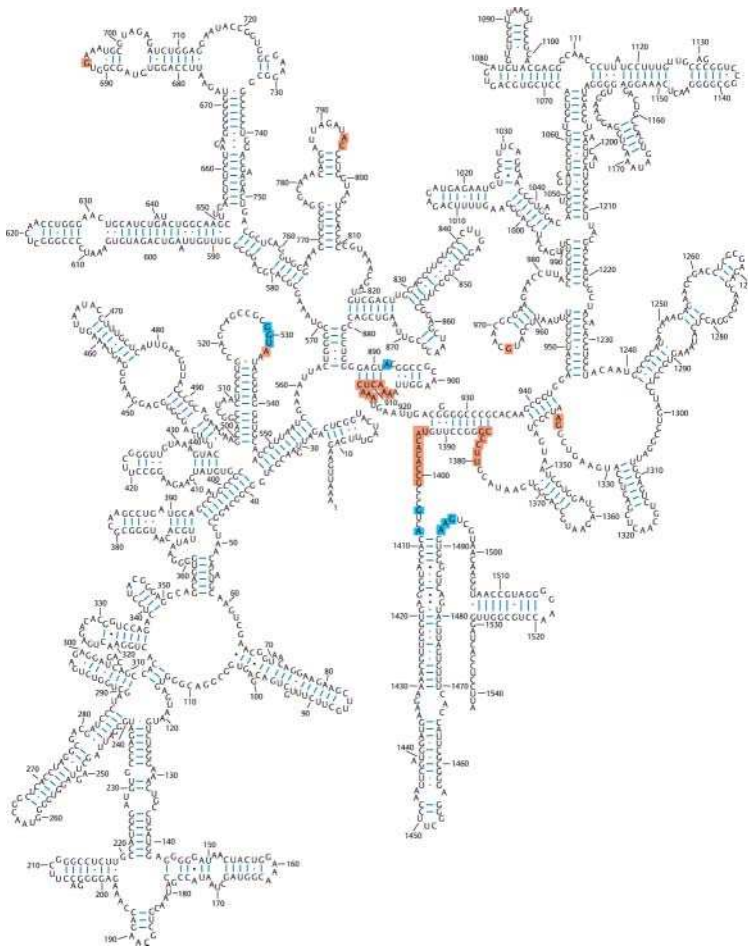


Abb. 2.17 Sekundärstruktur der 16S-rRNA von *E. coli*. Blau, Kontakte mit der tRNA im A-Ort des Ribosoms; Rot, Kontakte mit der tRNA im P-Ort des Ribosoms; Umrandet: Sequenzbereiche, die nur für Eubakterien charakteristisch sind und bei Archaeobakterien oder Eukarya nicht vorkommen („Signatursequenzen“, siehe Plus 2.2, S. 48) (nach Knippers, 2006).

dungen, da diese durch Enzyme leicht hydrolytisch spaltbar sind. Dagegen sind β -glykosidische Bindungen zugfest und wegen der vielen Wasserstoffbrücken in polymeren Polysacchariden schwerer angreifbar. Deshalb finden sie sich vorwiegend in **Zellwandkomponenten**, z.B. im Peptidoglykan (bei Bakterien), in Cellulose (bei Pflanzen) oder in Chitin (bei Pilzen und einigen Tieren, Kap. 10.3.5).

Lipide

Lipide bestehen im allgemeinen aus **Fettsäuren**, die über Esterbindungen mit dem dreifachen Alkohol **Glycerin** verknüpft sind. Am häufigsten kommen Fettsäuren mit 16 oder 18 Kohlenstoffatomen vor, die gesättigt (Palmitin- bzw. Stearinsäure) oder einfach ungesättigt (Palmitoinsäure bzw. Oleinsäure), sein können (Abb. 2.18). Werden drei Fettsäuren mit einem Molekül Glycerin über Esterbindungen verknüpft, entstehen sogenannte **Triglyceride**. Von komplexen Lipiden spricht man, wenn diese aus nur zwei unpolaren Fettsäuren und einer polaren, variablen chemischen Verbindung bestehen. Dabei kann es sich um ein modifiziertes Phosphat (**Phospholipide**) oder Zucker (**Glykolipide**) handeln. Auf Grund ihres Aufbaus haben Lipide einen amphipathischen Charakter, d.h. sie besitzen

CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O
 C_{16} gesättigt (Palmitinsäure)

CCCCCCCC=CCCCCCCC(=O)O
 C_{16} einfach ungesättigt (Palmitoleinsäure)

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O
 C_{18} gesättigt (Stearinsäure)

CCCCCCCC=CCCCCCCCCCCCC(=O)O
 C_{18} einfach ungesättigt (Ölsäure)

The diagram illustrates the chemical structure of a triglyceride. It consists of three fatty acid chains (Fettsäuren) on the left, each represented by a zigzag line and a methyl group (H₃C). These chains are connected to a glycerol backbone (Glycerin) on the right via ester bonds (Esterbindung). The ester bonds are highlighted in a blue box, showing the carbonyl group (C=O) and the oxygen atom (O) that links the fatty acid chain to the glycerol backbone. The glycerol backbone is shown as a vertical chain of three carbon atoms, each bonded to a hydrogen atom (H) and the fatty acid chain.

Phosphatidylethanolamin (ein Phospholipid)

The diagram illustrates the chemical structure of Phosphatidylethanolamin (PE), a phospholipid. It features two long hydrophobic fatty acid chains (Fettsäuren) in yellow, each with a methyl group (H₃C) at the end. These chains are connected to a central glycerol backbone (Glycerin) via ester bonds (C=O and O-C). The glycerol backbone is also linked to an ethanolamine group (Ethanolamin) in green, which consists of a CH₂CH₂NH₃⁺ chain. A phosphate group (Phosphat) in pink, represented as -O-P(=O)(OH)-, connects the two fatty acid chains to the ethanolamine group. The entire molecule is shown in a vertical orientation with labels in German: 'Fettsäuren' for the fatty acid chains, 'Phosphat' for the phosphate group, 'Ethanolamin' for the ethanolamine group, and 'Glycerin' for the glycerol backbone.

Chemical structure of Phosphatidylethanolamin (PE), a phospholipid. The structure shows two fatty acid chains (Fettsäuren) in yellow, a phosphate group (Phosphat) in pink, an ethanolamine group (Ethanolamin) in green, and a glycerol backbone (Glycerin) in black. The fatty acid chains are connected to the glycerol backbone via ester bonds. The ethanolamine group is connected to the glycerol backbone via a phosphate group.

The diagram illustrates the chemical structure of a phospholipid. It features a glycerol backbone (Glycerin) on the right, which is esterified to two fatty acid chains (Fettsäuren) on the left. The fatty acid chains are represented by long hydrocarbon tails. The glycerol backbone is also linked to a phosphate group, which is further connected to a galactose molecule (Galactose) via an ether linkage. The galactose molecule is shown in its cyclic form, with a hydroxyl group (OH) at the C2 position and a hydroxymethyl group (CH₂OH) at the C6 position.

sowohl hydrophile als auch hydrophobe Eigenschaften. Dies führt dazu, dass sich die hydrophoben Fettsäureketten in wässrigem Milieu gerichtet gegeneinander anordnen und somit eine für wasserlösliche Stoffe undurchlässige Barriere erzeugen. Lipide sind daher besonders geeignet, die Zelle durch Membranbildung von ihrer Umgebung abzutrennen bzw. Kompartimentierung innerhalb einer Zelle zu ermöglichen. Phospholipide stellen die wichtigsten Komponenten bakterieller Membranen dar (Kap. 5.5).

2.4 Taxonomie und Artbegriff

Die Wissenschaft der **Taxonomie** beschäftigt sich mit der Klassifizierung von Organismen. Basierend auf der für höhere Organismen entwickelten **Systematik** erfolgt auch für Mikroorganismen eine Gruppierung nach folgenden Kriterien: **Charakterisierung** durch Ermittlung morphologischer, physiologischer, chemischer und molekularbiologischer Daten; **Klassifizierung** unter Verwendung theoretischer Verfahren und **Nomenklatur** durch Zuteilung einer entsprechenden Namensbezeichnung (Abb. 2.19).

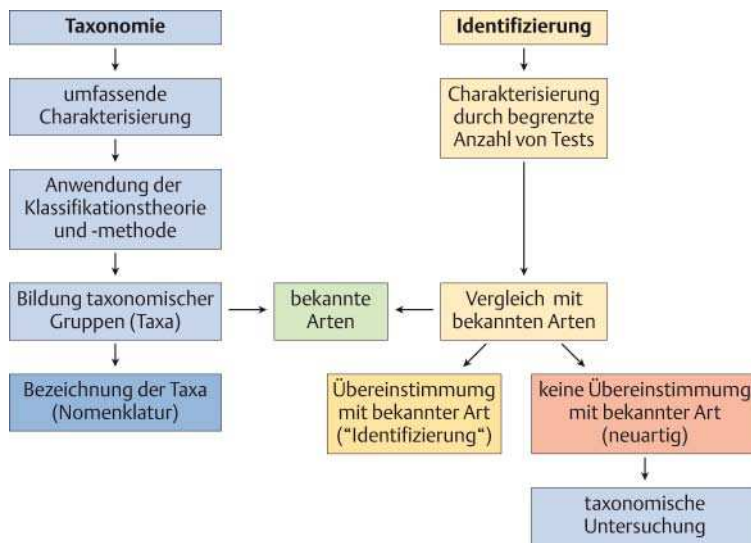


Abb. 2.19 Beziehungen zwischen Charakterisierung, Klassifizierung und Nomenklatur bei der Taxonomie von Prokaryonten.

Charakterisierung

Zur Charakterisierung eines Organismus werden phänotypische und genotypische Merkmale herangezogen. Dazu gehören neben der Bestimmung der Zellform und der Stoffwechseltypen besonders die chemische Analyse bestimmter konservierter Zellkomponenten sowie die Analyse von Nukleinsäure- und Proteinmustern.

Mikroskopische Verfahren. Mit der Lichtmikroskopie, insbesondere der Phasenkontrastmikroskopie (Kap. 5.1.1) lassen sich Zellformen (Kokken, Stäbchen etc.), charakteristische Aggregate (Diplo-, Strepto-, oder Staphylokokken, fädige Cyanobakterien etc.) sowie Zellanhängsel und Einschlüsse sichtbar machen. So kann das Vorhandensein einer oder mehrerer Flagellen und die Art ihrer Inserierung zur Unterscheidung genutzt werden, genauso wie das Auftreten von Dauerformen (Sporen). Die Gramfärbung erlaubt eine erste Unterscheidung nach Zellwandtyp (Kap. 5.1.1).

Stoffwechseltypen. Die bei Prokaryonten zu beobachtende Vielfalt von Stoffwechselwegen ist ebenfalls ein wichtiges Kriterium zur Charakterisierung von Organismen (Kap. 6.13.1). Dazu gehören die Untersuchung spezieller Eigenschaften, wie z.B. die Befähigung, das Licht oder chemische Reaktionen zur Energiegewinnung zu nutzen (phototroph, chemotroph), die Verwertung bestimmter Substrate als Kohlenstoff-, Stickstoff- oder Schwefelquelle, die Bildung von charakteristischen Stoffwechselprodukten und Schlüsselenzymen sowie erforderliche Umweltfaktoren, wie Temperatur, pH-Wert, Sauerstoff- (aerob, anaerob) oder Salzgehalt. Solche Kriterien können dann zur Unterscheidung auch nah verwandter Arten herangezogen werden. Da der Nachweis von charakteristischen Stoffwechselprodukten in solchen Testreihen meist über Farbreaktionen erfolgt, spricht man auch von „Bunten Reihen“ (Kap. 12.4.2).

Chemotaxonomie. Die Variabilität in der chemischen Zusammensetzung verschiedener Zellkomponenten sowie das Auftreten spezieller, für bestimmte Organismengruppen spezifischer Verbindungen kann ebenfalls zur Charakterisierung ausgenutzt werden. Zu den hierbei untersuchten

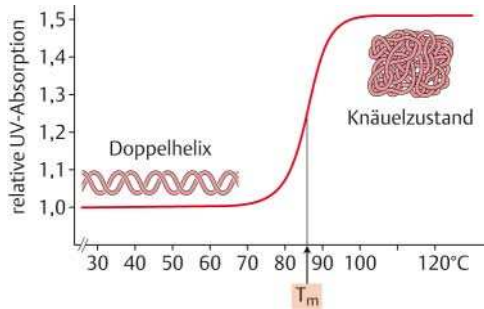


Abb. 2.20 Schmelzkurve zur Bestimmung des GC-Gehaltes von DNA. T_m gibt die Temperatur an, bei der die halbe maximale Extinktionszunahme erreicht ist.

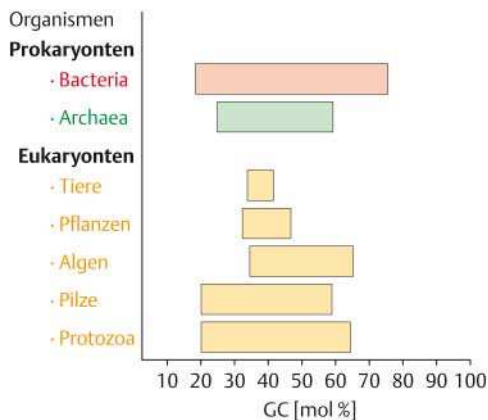


Abb. 2.21 GC-Gehalte der DNA verschiedener Organismen.

Molekülen zählen das Peptidoglykan und andere Zellwandkomponenten, das Lipopolysaccharid der äußeren Membran, das nur bei den gramnegativen Bakterien vorkommt, die Lipide der Zellmembran und speziell deren Fettsäuren. Weiterhin können Bestandteile von Elektronentransportketten, wie Cytochrome, Chinone oder Bakteriochlorophyll zur Identifizierung und Klassifizierung herangezogen werden.

GC-Gehalt. Zur Charakterisierung der prokaryontischen DNA wird der molare prozentuale Anteil der Basen Guanin (G) plus Cytosin (C) an den Gesamtbasen herangezogen:

$$\text{GC-Gehalt (mol\%)} = 100(G + C)/(A + T + G + C); (A, \text{Adenin}, T, \text{Thymin}).$$

Organismen mit ähnlichem GC-Gehalt haben oft, jedoch nicht zwangsläufig, sehr ähnliche Phänotypen. Der GC-Gehalt kann z.B. durch Bestimmung der **Schmelztemperatur** (T_m) der DNA ermittelt werden. Dabei macht man sich zunutze, dass die beiden Stränge der DNA-Doppelhelix bei Erwärmung durch Auflösung der Wasserstoffbrücken zwischen GC und AT getrennt („aufgeschmolzen“) werden. Die Höhe der Schmelztemperatur wird dabei wesentlich durch das Mengenverhältnis zwischen GC- und AT-Paaren bestimmt. Da zwischen Guanin und Cytosin drei, zwischen Adenin und Thymin jedoch nur zwei Wasserstoffbrücken vorliegen (Kap. 2.3.2), steigt die Stabilität und somit die Schmelztemperatur mit dem GC-Gehalt. Die Trennung der Polynukleotidstränge ist mit einer Absorptionszunahme bei 260 nm verbunden („Hyperchromizität“), wodurch der Vorgang photometrisch gemessen werden kann (Abb. 2.20). Aus der Schmelztemperatur lässt sich der GC-Gehalt berechnen. Bei Prokaryonten liegen die so ermittelten Werte im Bereich zwischen 20 und 78% (Abb. 2.21).

Bildung von DNA-DNA-Heteroduplex-Molekülen. Die durch Erwärmung getrennten DNA-Einzelstränge lagern sich beim langsamen Abkühlen wieder zu einem Doppelstrang zusammen. Dieser, als **DNA-DNA-Hybridisierung** bezeichnete Vorgang kann auch mit Einzelsträngen erfolgen, die aus unterschiedlichen Organismen isoliert wurden. Dabei ist die Zahl der gebildeten Heteroduplex-Moleküle umso größer, je ähnlicher die Nukleotidsequenzen der beiden DNA-Moleküle sind. Deutlich messbare DNA-DNA-Hybridisierungen sind nur bei sehr nahe verwandten Organismen zu beobachten, weshalb das Verfahren zur Unterscheidung auf Art- und Gattungsebene geeignet ist.

Ribotypisierung. Bei der Ribotypisierung wird die DNA eines Organismus mit einer Restriktionsendonuklease (Kap. 15.7) geschnitten, die Fragmente anschließend elektrophoretisch getrennt und mit einer ribosomalen RNA-Sonde hybridisiert. Da Unterschiede in den ribosomalen RNA-Sequenzen von Organismen zum Verlust oder zur Entstehung von Restriktionsstellen führen können, sind die resultierenden Fragmentmuster hochspezifisch. Man spricht daher auch von einem „**molekularen Fingerabdruck**“.

Künstliches System der Klassifizierung und Nomenklatur

Die „**künstliche**“ **Klassifizierung** gruppiert Organismen anhand ähnlicher Merkmale, wie morphologische Eigenschaften (Zellform, Flagellen, Sporen), Zellwandstruktur (äußere Membran, Dicke der Peptidoglykanschicht), Stoffwechseltypen (aerob, anaerob, phototroph) und dem Anteil an Guanin und Cytosin in der DNA (GC-Gehalt). Dadurch kann eine klas-

sische taxonomische Hierarchie von Art über Gattung und Familie aufgebaut werden (Box 2.1).

Ein solches System kann jedoch keine Aussage über evolutionäre Verwandtschaftsbeziehungen der Organismen treffen. Das vollständigste Kompendium, in dem Prokaryonten auf dieser Basis beschrieben sind, ist „Bergey's Manual of Systematic Bacteriology“. Ein weniger als „Bestimmungsbuch“ denn als Lexikon der Prokaryonten verwendbares Werk stellt „The Prokaryotes“ dar.

Numerische Taxonomie

Den nächsten Schritt zu einer mehr objektiven Anordnung hat die „numerische Taxonomie“ getan. Sie verwendet die **Adanson'schen Prinzipien**, nach denen bei der Klassifikation alle erfassbaren Merkmale das gleiche Gewicht haben sollen. Weiterhin soll die Einteilung auf der größtmöglichen Zahl von Merkmalen von sehr vielen untersuchten Stämmen beruhen. Die computergestützte Auswertung vergleicht dann jedes Merkmal von jedem Stamm mit jedem entsprechenden Merkmal aller anderen Stämme. Die Ähnlichkeit zweier Organismen ist dann umso größer, je größer das Verhältnis der übereinstimmenden Merkmale zur Gesamtzahl der erfassten Merkmale ist. Die gewonnenen Werte werden in eine Ähnlichkeitsmatrix eingetragen oder können als Dendrogramm (ähnlich einem phylogenetischen Stammbaum, jedoch ohne dessen evolutionäre Beziehung) dargestellt werden.

2.4.2 Artbegriff

Der klassische **Artbegriff**, wie er in der Botanik und Zoologie Verwendung findet, beruht auf der Fähigkeit von Organismen, untereinander, jedoch nicht mit Organismen anderer Arten, vermehrungsfähige Nachkommen zu zeugen. Auf Prokaryonten, die sich als haploide Organismen asexuell vermehren, ist diese Definition nicht anwendbar. Daher finden molekularbiologische Methoden zur Abgrenzung von Organismen auf der Grundlage genetischer Merkmale Verwendung. Ein wesentliches Kriterium ist hier die **Nukleotidsequenz der 16S-rRNA**. Weicht diese bei zwei Organismen mehr als 3 % voneinander ab, so werden sie als zu verschiedenen Arten gehörend angesehen. Ergänzend werden **DNA-DNA-Hybridisierung** und phänotypische Merkmale herangezogen (s. S. 46). So werden Organismen als zur selben Art gehörig angesehen, wenn ihre genomische DNA zu mehr als 70 % in der Lage ist, miteinander doppelsträngige DNA auszubilden. Jedoch werden aus praktischen (z.B. medizinisch-diagnostischen) Gründen Organismen manchmal auch dann als zwei Arten geführt, wenn DNA-Hybridisierungswerte von deutlich über 70 % vorliegen (z.B. bei den Enterobakterien *Escherichia coli* und *Shigella* ssp.).

2.5 Die „natürliche“ oder phylogenetische Klassifikation

Hierbei handelt es sich um den Versuch, die Organismen auf der Grundlage evolutionärer Verwandtschaft zu ordnen und einen phylogenetischen Stammbaum zu entwickeln. Carl Woese hat zu diesem Zweck die Verwendung der 16S ribosomalen RNA als „evolutionäre Uhr“ eingeführt. Ribosomen sind sehr alte Zellstrukturen, die als Orte der Proteinbiosynthese in allen Organismen enthalten sind. Insbesondere die in ihnen enthaltene

Box 2.1 Taxonomische Hierarchie

Die **Klassifizierung** kann nach mehreren theoretischen Konzepten erfolgen, die jedoch das gleiche Ordnungsprinzip nutzen, auch wenn die klassische Definition des Artbegriffes für Prokaryonten nicht verwendbar ist (s. Haupttext). Danach ist die Grundeinheit, die Reinkultur eines isolierten Organismus, der „Stamm“. Stämme werden zu Arten, letztere zu Gattungen und diese zu Familien zusammengefasst. Oft werden Vertreter einer Art noch aufgrund gemeinsamer Eigenschaften in Varen oder Typen unterteilt. Man unterscheidet Biovar, Pathovar, Phago-var, Morphovar oder Serovar, unterschieden durch Biotop (Lebensraum), Pathogenität (Verursachung von Erkrankungen), Phagenbefall (Reaktion mit bakterienspezifischen Viren), Form oder Serumreaktion (Reaktion mit Antikörpern).

Beispiel:

Familie: *Enterobacteriaceae*

Gattung: *Salmonella*

Art: *S. enterica*

Var oder Typ: Serovar Typhimurium

Typ- Stamm: LT2

Dabei folgt die Namensgebung von Prokaryonten derselben **binären Nomenklatur** wie bei Eukaryonten: die Organismen werden mit einem Gattungs- und Artnamen bezeichnet, bei denen es sich um lateinische oder griechische Ableitungen von Eigenschaften, Herkunft oder Forschernamen handelt (z.B. *Escherichia coli*, nach Theodor Escherich, der dieses Bakterium erstmals aus dem Stuhl eines Neugeborenen, also aus dem Dickdarm, griech. colon, isoliert hat). Die Schreibweise ist *kursiv*. Bei neu isolierten Organismen ist die Namensgebung nur dann international verbindlich, wenn dies im „International Journal of Systematic Bacteriology“ veröffentlicht wurde. Als Maßstab für eine Art dient ein Typstamm, der in öffentlichen Kultursammlungen hinterlegt ist.

Plus 2.2 Signatursequenzen

Die computergestützte Analyse ribosomaler Nukleotidsequenzen ergab für Archaeobakterien, Eubakterien und Eukaryonten charakteristische, kurze Oligonukleotidsequenzen, sogenannte „Signaturen“. Diese lassen sich als phylogenetische Marker zur Identifikation unbekannter Organismen einsetzen (vgl. Abb. 2.17). Gebunden an einen fluoreszierenden Farbstoff lässt sich mit Hilfe der Signatursequenz z.B. die Zugehörigkeit eines Organismus zu einer der drei Domänen unter dem Mikroskop nachweisen (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, FISH). Es ist sogar möglich, solche speziellen Erkennungssequenzen, die auch für Gruppen innerhalb der drei Domänen nachgewiesen wurden, zur Identifikation von Organismenpopulationen an einem natürlichen Standort ohne vorherige Kultivierung einzusetzen. Dazu extrahiert man aus einer Probe die Gesamt-DNA, und amplifiziert daraus die 16S-rRNA-Gene über Polymerasekettenreaktion (Kap. 15.11), wobei domänen- oder gruppenspezifische Oligonukleotidprimer eingesetzt werden.

RNA ist strukturell hoch konserviert. Bereits geringfügige Mutationen in der rRNA haben einen Funktionsverlust der Ribosomen zur Folge. Die Wahrscheinlichkeit, dass 16S-rRNA-Gene durch lateralen Gentransfer ausgetauscht werden, ist gering. Sequenzveränderungen können daher als Maß für die evolutionäre Distanz zweier Organismen angesehen werden. Aus den drei im prokaryontischen Ribosom vorkommenden Typen an rRNA (23S, 16S und 5S), wurde aus praktischen Erwägungen die 16S-rRNA (1540 Nukleotide) für phylogenetische Analysen ausgewählt. Aber auch die 5S-rRNA (120 Nukleotide) wird gelegentlich dazu herangezogen. Letztere liefert jedoch aufgrund der geringen Größe nur begrenzt aussagefähige Informationen. Für eukaryontische Stammbäume wurde auf die äquivalente 18S-rRNA (1874 Nukleotide) zurückgegriffen.

Zur Erstellung eines phylogenetischen Stammbaums werden Sequenzdaten der 16S-rRNA eines oder mehrerer Organismus mit Standardmethoden ermittelt (Kap. 15) und mit Hilfe spezieller Computerprogramme mit bereits vorhandenen Informationen, die in Datenbanken gespeichert sind, verglichen. Dabei werden zufällige Mutationsereignisse, deren Häufigkeit sich statistisch berechnen lässt, durch die Einführung von Korrekturfaktoren berücksichtigt. Diese Analysen haben zur Identifizierung von gruppenspezifischen Sequenzen geführt (Plus 2.2).

Ergänzend können auch Aminosäuresequenzen solcher Proteine herangezogen werden, die ebenfalls in allen Zellen vorkommen, wie z.B. die ATP-Synthase.

2.6 Ausgewählte Beispiele aus dem „natürlichen System“

Derzeit sind über 50 eigene natürliche Gruppen von Prokaryonten bekannt. Einige sind nur durch wenige Vertreter charakterisiert, während andere bisher nur hypothetisch sind, da ihre Existenz ausschließlich durch DNA-Sequenzdaten aus Umweltproben nachgewiesen wurde. Hier gibt es daher noch ein weites Betätigungsfeld für Mikrobiologen.

Bei den hier ausgewählten Beispielen handelt es sich um einige charakteristische Arten oder Gattungen aus den einzelnen Entwicklungslinien der Prokaryonten. Sie geben einen Einblick in die Vielfalt prokaryontischer Lebensformen. Die Beispiele umfassen Labormodellorganismen, ökologisch und medizinisch bedeutsame Vertreter, Organismen, die in der Lebensmittel- und Biotechnologie Verwendung finden sowie solche, die besondere Zellstrukturen aufweisen oder einmalige Stoffwechselleistungen vollbringen. Eine vertiefte Behandlung der physiologischen Diversität (Kap. 10 bis 14) und der ökologischen Bedeutung (Kap. 17) erfolgt an anderer Stelle.

2.6.1 Eubakterien

Proteobakterien (= Purpurbakterien)

Diese Gruppe enthält die größte Zahl aller bekannten Eubakterien, die sich durch extreme Stoffwechselvielfalt auszeichnen. Ihre Vielfalt entspricht der des Insektenreichs unter den Tieren. Ihre Lebensweise ist entweder phototroph, chemolithotroph oder chemoorganotroph. Sie sind gramnegativ. Die meisten anoxygenen phototrophen Bakterien gehören zu den Proteobakterien.

Sie werden in 5 Untergruppen unterteilt: alpha bis epsilon. Von der alpha-Gruppe stammt der Vorläufer der Mitochondrien, ein fakultativ aerobes Bakterium, ab.

Bradyrhizobium japonicum („in Wurzeln lebend, langsam wachsend, mit Bezug zu Japan“, alpha-Gruppe, Abb. 2.22a) ist ein bewegliches Stäbchen, das in Symbiose mit der Sojabohne molekularen Stickstoff (N_2) als Stickstoffquelle verwerten kann („Wurzelknöllchenbakterien“, s. auch Kap. 8.4.1, 18.2.1).

Thiobacillus denitrificans („kleines denitrifizierendes Schwefelstäbchen“, beta-Gruppe, Abb. 2.22b) ist der am besten untersuchte „Schwefeloxidierer“. Das Bakterium ist obligat chemolithotroph und fakultativ anaerob. Als Elektronendonator kann es auch Pyrit (FeS_2) und FeS verwenden. Nitrat kann als Elektronenakzeptor dienen. In seiner natürlichen Umgebung trägt der Organismus zur Entfernung von Nitrat aus dem Grundwasser bei.

Escherichia coli (nach Theodor Escherich, „aus dem Dickdarm stammend“, gamma-Gruppe, Abb. 2.22c) ist der prominenteste Vertreter der *Enterobacteriaceae* (nichtsporulierende, fakultativ aerobe Stäbchen, unbeweglich oder peritrich begeißelt, oxidasenegativ). Er ist ein universeller, kommensaler Bewohner des Darmtraktes warmblütiger Tiere (einschließlich des Menschen, ca. 10^8 – 10^9 /g Stuhl, s. auch Kap. 18.4.). Vom Stamm MG1655 (Derivat von Typstamm K-12) ist die vollständige Genomsequenz bekannt (4,6 kbp; 4288 Strukturgene). Im Hinblick auf biochemische, genetische und molekularbiologische Eigenschaften ist *E. coli* der von allen Prokaryonten am besten untersuchte Organismus. Von ihm sind zahlreiche pathogene Stämme bekannt (z. B. *E. coli* O157:H7, welches über verunreinigte Nahrung aufgenommen wird und ruhrähnliche Durchfallsymptome und Nierenversagen hervorruft, was zum Tod führen kann; seine Genomsequenz ist aufgeklärt).

Pseudomonas aeruginosa („falscher Monade, grünspanig“, gamma-Gruppe, Abb. 2.22d) ist ein gerade oder leicht gekrümmtes Stäbchen, das polar begeißelt ist; es ist oxidase- und katalasepositiv, obligat respiratorisch, die Glucoseverwertung erfolgt über den 2-Keto-3-desoxy-6-Phosphogluconatweg (Kap. 7.2.3). Es besiedelt aquatische oder terrestrische Lebensräume und gehört zur fluoreszierenden Untergruppe, da es die fluoreszierenden Farbstoffe Fluorescein und Pyocyanin bildet. Es ist opportunistisch pathogen und infiziert v.a. immungeschwächte Patienten (z. B. nach Behandlung mit Immunsuppressiva, Antibiotika oder Strahlen). Dabei verursacht es Harnwegs- und Atemwegsinfektionen. Es gehört zu den sog. „Krankenhauskeimen“, die Infektionen von Kathetern, Infusionsschläuchen etc. hervorrufen; es kann auch Operationswunden oder Verbrennungen kontaminieren. Stämme, die aus Mukoviszidosepatienten isoliert werden, besitzen eine extrazelluläre Schleimschicht. *P. aeruginosa* ist natürlicherweise resistent gegen viele Antibiotika (R-Plasmid), jedoch sensitiv gegenüber Polymyxin.

Stigmatella aurantiaca („kleines Zeichen, orangefarben“, delta-Gruppe, Abb. 2.22e) ist ein Vertreter der Myxobakterien, der sich durch Gleitbewegung auf einer Oberfläche fortbewegt. *S. aurantiaca* ist ein obligat aerobes, chemoheterotrophes Bodenbakterium, das auf den Abbau komplexer Strukturen wie Zellen oder Makromoleküle spezialisiert ist. Sein Genom ist sehr groß (10 Mbp). Die vegetativen Zellen fressen andere Bakterien. Bei Nährstoffmangel bildet es Schwärme, die sich zu Fruchtkörpern vereinen; die Zellen im Innern wandeln sich in Ruheformen, sog. Myxosporen, um.

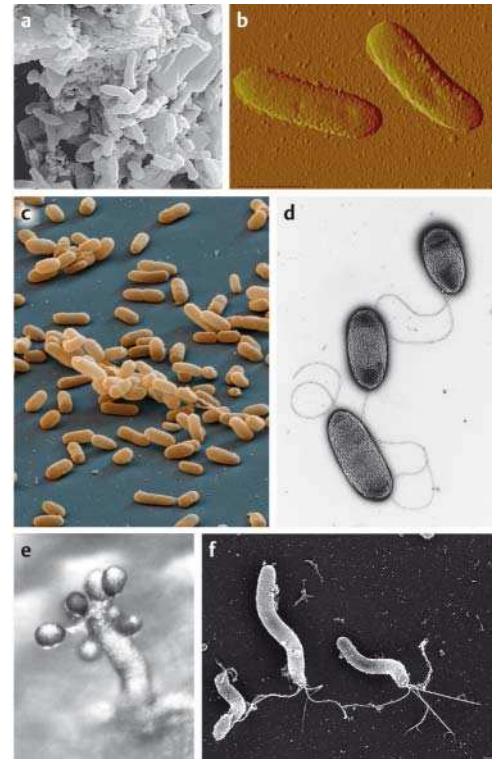


Abb. 2.22 Verschiedene Vertreter der Proteobakterien. a *Bradyrhizobium japonicum* (Aufnahme Daniel Studer, ETH Zürich); b *Thiobacillus denitrificans* (Aufnahme Joseph Tringe und Harry Beller, Lawrence Livermore National Laboratory, USA); c *Escherichia coli* (Aufnahme Oliver Meckes, eye of science); d *Pseudomonas aeruginosa* (Aufnahme Hans G. Gelderblom, RKI Berlin); e *Stigmatella aurantiaca* (Aufnahme Hans Reichenbach, GFS Braunschweig); f *Helicobacter pylori* (Aufnahme Volker Brinkmann, MPI Berlin).

Helicobacter pylori („spiralförmiges Bakterium vom unteren Ende des Magens“, epsilon-Gruppe Abb. 2.22f) ist ein mikroaerophiles, bewegliches Spirillum, das die Magenschleimhaut beim Menschen kolonisiert. Es besitzt das Enzym Urease, welches Harnstoff zu Ammoniak und Kohlendioxid hydrolysiert und so das Überleben im sauren Milieu gewährleistet. *H. pylori* verursacht Magengeschwüre, die zu peptischem Ulzer und Magenkrebs führen können. Entdeckt wurde es erstmals 1979 von dem Australier Robin Warren, der 2005 gemeinsam mit Barry Marshall dafür den Nobelpreis für Medizin erhalten hat.

Grampositive Bakterien

Nichtsporulierend mit niedrigem GC-Gehalt

Staphylococcus aureus („traubenförmiges Kugelbakterium, golden“, Abb. 2.23a). Die Zellen von *S. aureus* sind wie die Beeren einer Traube angeordnet. Es ist fakultativ aerob, unbeweglich, katalasepositiv, gelb pigmentiert und relativ resistent gegen Austrocknung und hohe Salzkonzentrationen (halotolerant). Als pathogenes Bakterium tritt es häufig in Verbindung mit Hautinfektionen (Pickeln, Geschwüren), Lungenentzündung, Knochenmarksentzündung, Meningitis und Arthritis auf. Es verursacht Lebensmittelvergiftungen durch Toxin und kann das toxische Schocksyndrom auslösen. Es ist ein häufiger Besiedler des Nasenraums, wird manchmal als „Eitererreger“ bezeichnet und gehört ebenfalls (wie *P. aeruginosa*, s. o.) zu den „Krankenhauseskeimen“.

Streptococcus pneumoniae („biegsames Kugelbakterium der Lungen“, Abb. 2.23b). Hierbei handelt es sich um obligat anaerobe, aerotolerante Zellen, die von einer Kapsel umgeben sind. *S. pneumoniae* gehört zur Gruppe der homofermentativen Milchsäurebakterien (Kap. 12.2.2). Es besitzt eine natürliche Kompetenz zur Aufnahme von DNA (Kap. 15.6.1). Sein Lebensraum ist die Schleimhaut des oberen Respirationstrakts. Dort kann es Lungenentzündung und Meningitis und bei Kindern auch Mittelohrentzündung verursachen.

Lactobacillus acidophilus („kleines säureliebendes Stäbchen aus der Milch“ Abb. 2.23c) ist ein homofermentatives Milchsäurebakterium, das Zucker zu Milchsäure vergärt, und in der Lebensmittelindustrie verwendet wird. Es besiedelt die Schleimhäute der Vagina zwischen Pubertät und Menopause (Kap. 18.4). *L. acidophilus* zählt zu den sogenannten probiotischen Bakterien, denen bei Besiedlung des Verdauungstrakts eine Stimulierung des Immunsystems zugesprochen wird. Sie werden deshalb auch als Nahrungsergänzungstoff bezeichnet. Außerdem sind sie auch Bestandteil des Zahnbelags und dadurch an der Entstehung von Karies beteiligt (Kap. 18.4).

Mykoplasmen („pilzförmig“, Abb. 2.23d) sind zellwandlose, parasitisch lebende Bakterien (sie haben die Zellwand sekundär verloren) und sind daher osmotisch labil. Sie enthalten häufig vom Wirt übernommene Steroide und manchmal Lipoglykane, mit denen sie ihre Cytoplasmamembran stabilisieren. Aufgrund ihrer parasitären Lebensweise haben sie nur ein kleines Genom (500–900 kb). Sie sind wahrscheinlich die kleinsten Organismen, die zu autonomem Wachstum befähigt sind. Die wichtigsten Genera sind: *Mycoplasma*, *Spiroplasma*, *Ureaplasma*. Sie sind Bestandteil der Normalflora bei Tieren und Pflanzen, sind aber auch als Krankheitserreger bekannt. *M. pneumoniae* verursacht beim Menschen Infekte der Respirationsorgane.

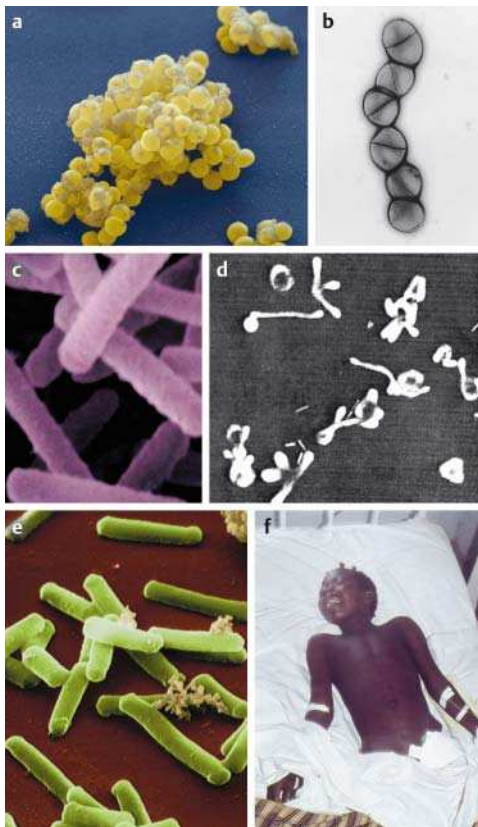


Abb. 2.23 Grampositive Bakterien. a *Staphylococcus aureus* (Aufnahme Oliver Meckes, eye of science); b *Streptococcus pneumoniae* (Aufnahme Hans G. Gelderblom, RKI Berlin); c *Lactobacillus acidophilus* (copyright: Scimat/NAS/Okapia); d Mykoplasmen (aus Klieneberger-Nobel, Cuchow, 1955); e *Clostridium tetani* (Aufnahme Oliver Meckes, eye of science); f Tetanus bei einem Jugendlichen (aus Hof, Dörries, 2005).

Endosporenbildner mit niedrigem GC-Gehalt

Bacillus subtilis („schlankes kleines Stäbchen“) ist der am besten charakterisierte grampositive Organismus. Von ihm ist ebenfalls das komplette Genom bekannt (4,2 Mbp, 4100 Proteine). Es ist ein fakultativ aerobes Bodenbakterium („Heubacillus“), mit einer natürlichen Kompetenz zur DNA-Aufnahme.

Clostridium tetani („kleine Spindel mit Bezug zu Spannung“, Abb. 2.23e) ist ein obligat anaerobes, begeißeltes Stäbchen, das im Boden lebt. Es besitzt keine Cytochrome und vermag Aminosäuren zu fermentieren. *C. tetani* verursacht nach Infektion tiefer Wunden Wundstarrkrampf durch die Wirkung eines Neurotoxins. Das Toxin verhindert die Relaxation von Muskeln, indem es die Freisetzung inhibitorischer Neurotransmitter blockiert. Dadurch werden Krämpfe verursacht (Abb. 2.23f).

Vertreter mit hohem GC-Gehalt

Corynebacterium glutamicum („keulenförmiges Stäbchen, von Glutaminsäure“, vgl. Abb. 2.6c, S. 37) ist aerob, unbeweglich, coryneform („keulenförmig“). Die Zellen „schnappen“ während der Teilung, wobei sie sich durch unterschiedlich schnelles Aufreißen der Zellwandverbindungen gegeneinander abwinkeln. *C. glutamicum* ist von wirtschaftlichem Interesse, da es Aminosäuren wie Glutaminsäure und Lysin produziert.

Mycobacterium tuberculosis („pilzartiges Stäbchen, von Tuberkeln“, Abb. 2.24) ist ein aerobes, stäbchenförmiges Bakterium mit einer Genomgröße von 4,4 Mbp. Es enthält stark hydrophobe Mykolsäuren in der Zellwand, wodurch die Zellen zum Nachweis speziell angefärbt werden können. In Kultur zeigt es ein langsames Wachstum, wobei die Zellen lange schnurartige Strukturen bilden, die auf ein Glykolipid zurückgeführt werden. *M. tuberculosis* verursacht Lungentuberkulose.

Streptomyces griseus („grauer, biegsamer Pilz“) gehört zur Gruppe der Actinomyceten (filamentös wachsende Organismen). Vertreter der Gattung *Streptomyces* sind wichtige Bodenbakterien. Sie leben aerob, sind Sporenbildner, und haben ein lineares Chromosom. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Biotechnologie, da sie das Antibiotikum Streptomycin bilden.

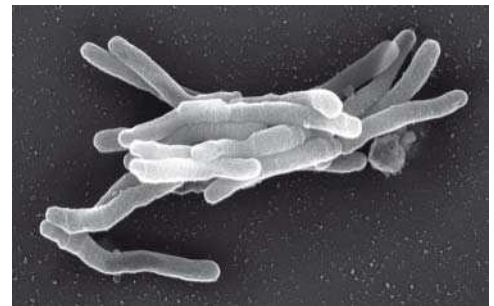


Abb. 2.24 *Mycobacterium tuberculosis*
(Aufnahme Volker Brinkmann, MPI Berlin).

Cyanobakterien

Die Cyanobakterien bilden eine große bedeutsame Gruppe mit oxygener Photosynthese. Aus ihr stammt der Vorläufer der Chloroplasten.

Synechococcus elongatus („einander berührende Kugelbakterien, verlängert“, Abb. 2.25a). Bei *S. elongatus* handelt es sich um ein einzelliges, coccoides bis stäbchenförmiges Cyanobakterium mit einem Durchmesser von $< 3 \mu\text{m}$. Es kommt im Süßwasser vor und lebt obligat photoautotroph. Seine Thylakoide sind peripher lokalisiert. Es ist durch freie DNA transformierbar (Kap. 15.6.1), und wird als Modellorganismus zur Untersuchung circadianer Rhythmen („biologische Uhr“) bei Prokaryonten eingesetzt.

Chlamydia

Chlamydia trachomatis („Umgang des Trachoms“, Abb. 2.25b) hat eine obligat parasitäre Lebensweise und dadurch einen sehr eingeschränkten Metabolismus und ein kleines Genom (1 Mbp). Es durchläuft einen Vermehrungszyklus mit zwei Formen, die ein Überleben außerhalb bzw. innerhalb von Wirtszellen ermöglichen. *C. trachomatis* ist der Erreger der Körnerkrankheit des Auges (Trachom), die zur Erblindung führen kann (häufigste Ursache der Erblindung beim Menschen). Außerdem kann es Bindehautentzündung und Infektionen des Urogenitaltraktes verursachen.

Planktomyces

Planktomyces maris („schwimmender Pilz aus dem Meer“, Abb. 2.25c) ist ein marines Bakterium mit obligat aerober Lebensweise. Seine Zellwand enthält kein Peptidoglykan sondern Protein. *P. maris* bildet einen Stiel und vermehrt sich durch Knospung.

Bacteroides

Bacteroides fragilis („stäbchenähnlich, brüchig“, Abb. 2.25d) ist obligat anaerob und chemoorganotroph. Es lebt als Kommensale im Verdauungstrakt von Mensch und Tieren. Es ist das zahlenmäßig überwiegende Bakterium im menschlichen Dickdarm ($> 10^{11}$ /g Stuhl).

Grüne Schwefelbakterien

Chlorobium tepidum („grünes Leben, lauwarm“, Abb. 2.25e). Die Zellen von *C. chlorobium* sind kurze bis lange unbewegliche Stäbchen. Das Schwefelbakterium lebt aquatisch, ist strikt anaerob und obligat photoautotroph. *C. chlorobium* verwendet H_2S als Elektronendonator; die Schwefelakkumulation erfolgt außerhalb der Zelle. Die CO_2 -Fixierung findet durch einen reduktiven Citratzyklus statt (Kap. 8.6.1). Die Zellen enthalten Chlorosomen (umgeben von einer einschichtigen Membran), die als Orte der Lichtsammlung dienen (Kap. 5.5.2, 14.5.2).

Spirochäten

Spirochaeta sp. („spiralisiertes Haar“, vgl. Abb. 2.6b, S. 37). Die Vertreter dieser Gattung sind fakultativ aerob oder anaerob, chemoheterotroph und leben im Wasser. Sie sind sehr lang (5–250 μm) mit nur geringem Durchmesser (0,2–0,75 μm) und haben eine spirillenartige Gestalt. Sie sind jedoch flexibel und beweglich. *Spirochaeta* rotieren um die Längsachse mit Hilfe einzelner oder mehrerer bipolar angeordneter Flagellen, die im Periplasmaraum verbleiben (Endoflagellen) und von einer äußeren Scheide umgeben sind (Kap. 5.9.1). Sie können hochviskose Medien durchdringen und sind schwer kultivierbar.

Treponema pallidum („sich drehender Faden, blass“, Abb. 2.25f) ist der Erreger der Syphilis. Die Zellen sind 5–15 $\mu m \times 0,1$ –0,4 μm groß, nicht helikal sondern abgeflacht und sehr dünn. Normalerweise beschränkt sich *T. pallidum* auf den Menschen. *T. pallidum* ist nicht kultivierbar, mikroaerophil und hat ein relativ kleines Genom (1,14 Mbp), dessen Sequenz bekannt ist.

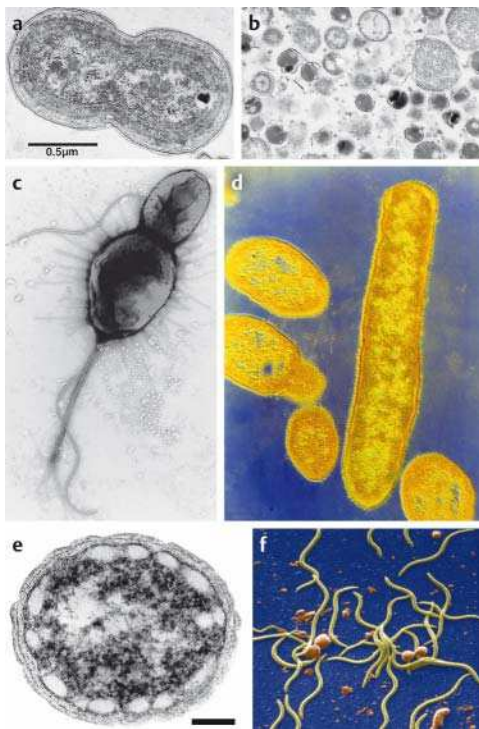


Abb. 2.25 a *Synechococcus* (Vergrößerung 60 000fach, Aufnahme Elfriede Pistorius, Bielefeld). b *Chlamydia* (Aufnahme Hans G. Gelderblom, RKI Berlin). c *Planctomyces maris* (Aufnahme Heinz Schlesner, Kiel). d *Bacteroides fragilis* (copyright CNRI/science photo library). e *Chlorobium tepidum* (Balken: 0,1 μm , Aufnahme Niel-Ulrik Frigaard, Pennsylvania State University, USA). f *Treponema pallidum* (Aufnahme Oliver Meckes, eye of science).

Deinococcus

Deinococcus radiodurans („ungewöhnliches Kugelbakterium, strahlungs-resistent“, Abb. 2.26a) ist ein grampositives, unbewegliches Stäbchen, das anaerob und chemoorganotroph lebt. Es hat eine ungewöhnliche Zellwand mit einer äußeren Membran, die jedoch kein Lipid A enthält. Die Zellen sind durch Carotinoide rot oder pink gefärbt. Sie sind resistent gegen UV-Strahlung, radioaktive Strahlung und Hitze. Ihr sehr effizientes DNA-Reparatursystem erlaubt ein Überleben nach Bestrahlung, die das Chromosom zerlegt; sie sind daher auch sehr resistent gegenüber mutagenen Agenzien. *D. radiodurans* enthält zwei Chromosomen (2,6 und 0,4 Mbp), deren Sequenzen bekannt sind. Das Bakterium kann z.B. aus Bodenproben, Hausstaub und Hackfleisch isoliert werden.

Grüne schwefelfreie Bakterien

Chloroflexus aurantiacus („grüne Krümmung, orangefarben“, Abb. 2.26b) lebt anoxygen phototroph, ist jedoch variabel in seinen Stoffwechselwegen. Es ist filamentös, thermophil und bildet orange gefärbte Matten in neutralen bis alkalischen heißen Quellen. *C. aurantiacus* verwendet bislang als einziger phototropher Organismus den 3-Hydroxypropionatweg zur CO₂-Fixierung (Kap. 14.3.2). Es bildet Chlorosomen und hat Ähnlichkeiten sowohl mit grünen Schwefelbakterien als auch mit Purpurbakterien.

Thermotoga

Thermotoga maritima („heißer Mantel des Meeres“, Abb. 2.26c) kommt in terrestrischen heißen Quellen und marinen Hydrothermalquellen vor. Es ist stäbchenförmig, hyperthermophil (maximal bis 90 °C), fermentativ chemoorganotroph, anaerob und von einer Hülle („Toga“) umgeben.

Aquifex

Aquifex aeolicus („Wassermacher, von den aeolischen Inseln“, Abb. 2.26d) ist obligat chemolithoautotroph. Es benutzt H₂ oder S als Elektronendonatoren und O₂ oder NO₃⁻ als Elektronenakzeptoren. *A. aeolicus* ist tolerant gegenüber niedrigen O₂-Konzentrationen und nutzt den reduktiven Citratzyklus für CO₂-Fixierung. Es ist hyperthermophil (maximal bis 95 °C) und hat ein kleines Genom (1,55 Mbp), dessen Sequenz bekannt ist.

2.6.2 Archaeobakterien

Euryarchaeota

Methanosarcina barkeri („Methanpakete“, nach H. A. Barker, Abb. 2.27a) sind große unregelmäßige, in Paketen angeordnete Stäbchen, die strikt anaerob sind. Man findet sie in Sumpfgebieten aber auch im Rinderpansen. *M. barkeri* bildet Methan aus CO₂/H₂, Methanol, Methylamin oder Acetat (Kap. 13.7). Seine Zellwand besteht aus Heteropolysaccharid.

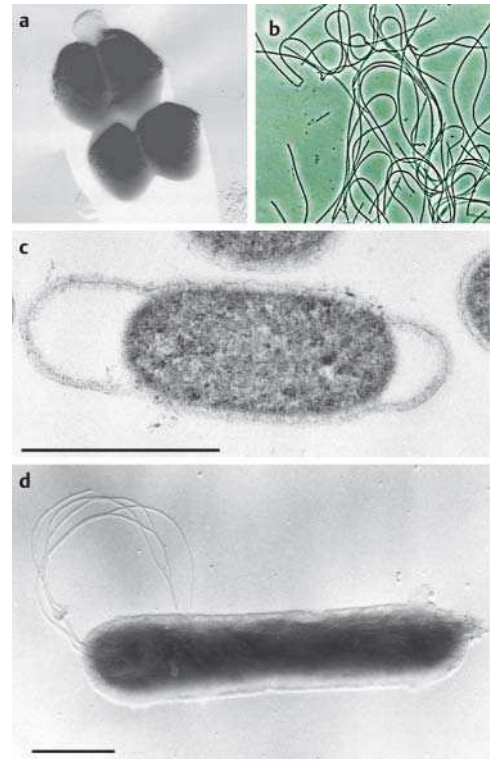


Abb. 2.26 a *Deinococcus radiodurans*. b *Chloroflexus aurantiacus* (Aufnahme G. Fuchs, Freiburg) c *Thermotoga maritima*. d *Aquifex aeolicus* (Aufnahmen a, c und d Reinhard Rachel, Regensburg), Balken: jeweils 1 µm.

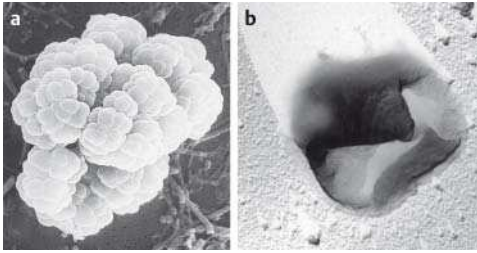


Abb. 2.27 Zwei Vertreter der Archaeobakterien.

a *Methanosarcina barkeri* (Aufnahme Herbert Fang, Hongkong). **b** *Sulfolobus* sp. (Aufnahme Reinhard Rachel, Regensburg).

Crenarchaeota

Sulfolobus acidocaldarius („schwefeloxidierender Lappen, heiß und sauer“, Abb. 2.27b) kommt in vulkanischen Biotopen (z.B. Yellowstone Nationalpark, Utah, USA) vor: Sein Lebensraum sind also schwefelreiche, saure heiße Quellen mit Temperaturen von 90 °C und einem pH-Wert von 1–5. *S. acidocaldarius* lebt aerob chemolithotroph. Es oxidiert H_2S oder S zu Schwefelsäure und Fe^{2+} zu Fe^{3+} und fixiert CO_2 . Es kann aber auch organotroph wachsen. Es wird zur sauren Minerallaugung von Eisen und Kupfer in Lagerstätten bei hohen Temperaturen eingesetzt.

Zusammenfassung

- Alle lebenden Organismen lassen sich in zwei Gruppen einteilen: **Prokaryonten** und **Eukaryonten**. Prokaryonten umfassen **Eubakterien** und **Archaeobakterien** und sind durch das Fehlen eines echten Zellkerns gekennzeichnet. Zu den Eukaryonten zählen **Protozoen, Algen, Pilze, Pflanzen** und **Tiere**. Die eukaryontische Zelle ist ca 10fach größer als eine durchschnittliche prokaryontische Zellen.
- Im **Kern** eukaryontischer Zellen ist der Hauptteil des **Genoms** lokalisiert. In der Mitose wird das Genom dupliziert und auf die Tochterzellen übertragen. Höhere Pflanzen und Tiere vermehren sich **sexuell** unter Ausbildung einer **Zygote** aus Keimzelle und Eizelle, deren Chromosomensätze zuvor durch Meiose reduziert werden.
- Das Bakterienchromosom ist als **Nukleoid** organisiert.
- Die eukaryontische Zelle ist durch separate Funktionsräume – **Organellen** – stärker strukturiert als die prokaryontische Zelle. Außer Ribosomen, die auch bei prokaryontischen Zellen vorkommen, enthält sie den Golgi-Apparat, das Endoplasmatische Retikulum, Lysosomen und Peroxisomen, Mitochondrien und (bei grünen Pflanzen) Chloroplasten.
- Die **Endosymbiontentheorie** zur Erklärung der Entstehung der eukaryontischen Zelle geht davon aus, dass diese sich durch Aufnahme von respiratorischen bzw. phototrophen Bakterien in eine Vorläuferzelle entwickelt hat.
- **Archaeobakterien** weisen typische Merkmale auf, die sie von den Eubakterien unterscheiden. Diese betreffen den Aufbau der Zellwände, die chemische Zusammensetzung der Lipide der Cytoplasmamembran, Aufbau und Anzahl der RNA-Polymerasen sowie die Molekularbiologie der Zelle wie Aspekte der Proteinsynthese. Dagegen gleicht der Stoffwechsel weitgehend dem der Eubakterien.
- **Prokaryontische Zellformen** umfassen zylinderförmige und gekrümmte Stäbchen, Kokken (Diplo-, Strepto-, Staphylo-), schraubenförmige, fädige, keulenförmige, stielbildende und mycelartig wachsende Zellen. Die durchschnittliche Größe eines Stäbchens beträgt $1 \times 3 \mu m$.
- Die **prokaryontische Zelle** besteht zu 70–85 % aus Wasser. Die Trockenmasse enthält vorwiegend Polymerverbindungen, wie Proteine, Nukleinsäuren, Lipide und Polysaccharide.
- **Proteine** bestehen aus L-Aminosäuren, die über Peptidbindungen miteinander verknüpft sind. In der Zelle liegen sie charakteristisch gefaltet (Sekundärstruktur) in dreidimensionaler (Tertiär-)Struktur als Einzelmoleküle oder in Komplexen aus mehreren Ketten (Quartärstruktur) vor.

- **Desoxyribonukleinsäure** (DNA) besteht aus Desoxyribose, Phosphat und den organischen Basen Adenin, Guanin (Purine), Thymin und Cytosin (Pyrimidine) und bildet das bakterielle Genom. Zwei Einzelketten liegen als Doppelhelix gepaart vor. Adenin und Thymin sowie Guanin und Cytosin stabilisieren die Doppelhelix durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken.
- **Ribonukleinsäuren** (RNA) enthalten Ribose statt Desoxyribose und die Base Uracil statt Thymin. Sie kommen als ribosomale RNA, Boten-RNA und transfer-RNA vor und sind einzelsträngig.
- **Polysaccharide** bestehen aus Zuckermolekülen, die je nach Verknüpfung als Speicherstoffe (α -glykosidisch) oder als Zellwandbestandteile (β -glykosidisch) verwendet werden.
- **Lipide** bestehen im allgemeinen aus Fettsäuren, die über Esterbindung mit Glycerin verknüpft sind. Phospholipide als typische Komponenten der Cytoplasmamembran enthalten darüberhinaus einen modifizierten Phosphatrest. Durch diesen Aufbau haben Lipide einen amphipatischen Charakter.
- Die **Taxonomie** beschäftigt sich mit der Klassifizierung von Organismen. Basierend auf der für höhere Organismen entwickelten Systematik erfolgt auch für Mikroorganismen eine Gruppierung nach folgenden Kriterien: Charakterisierung durch Ermittlung morphologischer, physiologischer, chemischer und molekularbiologischer Daten; Klassifizierung unter Verwendung theoretischer Verfahren und Zuteilung einer entsprechenden Namensbezeichnung durch binäre Nomenklatur.
- Bei der **phylogenetischen Klassifikation** handelt es sich um den Versuch, die Organismen auf der Grundlage evolutionärer Verwandtschaft zu ordnen und einen Stammbaum zu entwickeln. Hierzu werden vorwiegend Nukleotidsequenzdaten der 16S- und 18S-rRNA der Ribosomen herangezogen.

3 Pilze

Die **Pilze** gehören zu den **Eukaryonten** und sind eine Schwestergruppe der Tiere. Unter ihnen gibt es sowohl riesige als auch winzige Organismen. Als Beispiel kann einerseits der Weißfäulepilz *Armillaria ostreya* dienen, von dem ein Exemplar bekannt ist, das eine Fläche von 890 Hektar einnimmt, 150 Tonnen wiegt und ein Alter von ungefähr 2400 Jahren hat. Andererseits sind mit ca. 3 µm Durchmesser mikroskopisch kleine Vertreter wie die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* vorhanden, die vom Menschen schon seit Jahrtausenden zur Herstellung von alkoholischen Getränken und Backwaren eingesetzt wird, wie sich an Wandmalereien aus Gräbern im alten Ägypten nachweisen lässt.

Überblick

- 3.1 Vorkommen der Pilze ... 59**
- 3.2 Die pilzliche Zelle ... 59**
 - 3.2.1 Aufbau der pilzlichen Zelle ... 59
 - 3.2.2 Pilzwachstum ... 60
- 3.3 Einteilung der Pilze ... 61**
 - 3.3.1 Vermehrungsformen der Pilze als Einteilungskriterien ... 62
 - 3.3.2 Basidiomyceten ... 63
 - 3.3.3 Ascomyceten ... 64
 - 3.3.4 Zygomyceten und Glomeromyceten ... 64
 - 3.3.5 Chytridiomyceten ... 65
 - 3.3.6 Deuteromyceten und Hyphomyceten ... 65
- 3.4 Asexuelle Vermehrung ... 66**
 - 3.4.1 Mitose und Zellzyklus ... 66
 - 3.4.2 Asexuelle Vermehrungsformen bei Ascomyceten ... 67
 - 3.4.3 Asexuelle Vermehrungsformen bei Basidiomyceten, Zygomyceten, Glomeromyceten und Chytridiomyceten ... 68
- 3.5 Sexuelle Vermehrung ... 68**
 - 3.5.1 Homothallie und Heterothallie ... 68
 - 3.5.2 Sexuelle Entwicklung bei Basidiomyceten ... 69
 - 3.5.3 Sexuelle Entwicklung bei Ascomyceten ... 70
 - 3.5.4 Sexuelle Entwicklung der Zygomyceten ... 72
- 3.6 Saprophytisches Wachstum ... 73**
 - 3.6.1 Schimmelpilze ... 74
 - 3.6.2 Weißfäule und Braunfäule ... 74
- 3.7 Mykorrhiza – Symbiose zwischen Pilz und Pflanze ... 75**
 - 3.7.1 Arbuskuläre Endomykorrhiza ... 75
 - 3.7.2 Ektomykorrhiza ... 76
- 3.8 Parasitismus ... 78**
 - 3.8.1 Phytopathogene Pilze ... 78
 - 3.8.2 Tier- und humanpathogene Pilze ... 80
- 3.9 Pilzgenetik ... 82**
 - 3.9.1 Ascusanalyse ... 83
 - 3.9.2 Molekulargenetik mit eukaryontischen Systemen ... 84
- 3.10 Pilze in der Biotechnologie und Produktion ... 85**
 - 3.10.1 Biotechnologie ... 86
 - 3.10.2 Speisepilze und Pilzgifte ... 86
- 3.11 Vielfalt pilzlicher Lebensformen ... 88**

3.1 Vorkommen der Pilze

Pilze sind weltweit verbreitet und häufig. Sie kommen hauptsächlich in terrestrischen Ökosystemen vor. Die Stabilität dieser Ökosysteme hängt in hohem Maße von Pilzen ab, und die Landwirtschaft kann ohne die Beteiligung von Pilzen nicht die zur Ernährung der Menschen notwendigen Lebensmittel produzieren. Aber auch pathogene Pilze spielen eine große Rolle. Sie kommen sowohl als Pflanzenschädlinge in der Landwirtschaft als auch als tier- und humanpathogener Arten vor. Außerdem haben sich eine Reihe leicht zu kultivierender Pilze als Modellsysteme für die Funktionsweise einer eukaryontischen Zelle bewährt.

In der Artenzahl stehen Pilze hinter den Insekten an zweiter Stelle. In Großbritannien kommen auf jede Pflanzenart etwa 6 Pilzarten. Nimmt man diese Zahlen als repräsentativ an, müsste es weltweit ungefähr **1,5 Millionen Pilzarten** geben.

Von diesen ist bisher nur ein geringer Teil bekannt (ca. 70 000 Arten). Die einzelnen Gruppen der Pilze haben Nischen z.B. für saprophytische, parasitische und symbiontische Ernährung besetzt.

3.2 Die pilzliche Zelle

3.2.1 Aufbau der pilzlichen Zelle

Die pilzliche Zelle zeigt den typischen Aufbau einer eukaryontischen Zelle. Sie enthält, wie auch tierische und pflanzliche Zellen, Organellen und wird von einer Zellwand umgeben, die den Druck des Turgors der Zelle abfängt. Der **Zellkern** ist dabei als namensgebende Struktur der Eukaryonten bereits lichtmikroskopisch erkennbar. Er enthält die **Chromosomen**, die als einfacher Satz (**haploid**) oder nach einer Kernverschmelzung (Karyogamie), als **diploider** Satz vorliegen können. In der Regel folgt bei Pilzen – anders als bei anderen Eukaryonten – auf die Kernverschmelzung gleich wieder eine Meiose, sodass die diploide Phase nur sehr kurz ist. Außerdem kommen bei Pilzen häufig mehrkernige Stadien vor, wobei im Regelfall jeder einzelne Kern haploid ist. Damit besitzen Pilze eine ausgeprägte **Haplophase**, was für genetische Untersuchungen von Vorteil ist.

Der Kern wird zum Cytoplasma hin durch die Kernmembran abgeschlossen. Die Proteine, die beispielsweise zur Transkription im Kern benötigt werden, müssen deshalb mit Kernlokalisierungssequenzen versehen sein, die einen Transport der im Cytoplasma translatierten Genprodukte in den Kern ermöglichen. Die mRNA muss dagegen aus dem Kern heraus ins Cytoplasma transportiert werden. Dazu dienen die Kernporen, die den Transport zwischen Nukleoplasma und Cytoplasma kontrollieren. Die Kernmembran selbst ist doppelt angelegt und hat Verbindung mit dem **Endoplasmatischen Retikulum**. Dadurch entsteht eine Kontinuität innerhalb der intrazellulären Membranen. Neben dem Endoplasmatischen Retikulum sind Membranstapel und Vesikel vorhanden, darunter **Lysosomen** mit lytischen Enzymen, **Peroxisomen** mit Katalasen und Peroxidasen, **Paranthosomen** an den Septen und **Vakuolen**. Bei Pilzen sind die Vakuolen im Vergleich zu Pflanzen klein. Dafür werden mehrere Vakuolen gebildet und diese auch über die Zellgrenzen hinweg transportiert. So werden ganze Vakuolen mit ihren Inhaltsstoffen zum Transport in den Hyphen benutzt. Pilze besitzen keine Plastiden.

3.2.2 Pilzwachstum

Hefen

Hefen vermehren sich durch Knospung. Dabei wachsen die Zellen isotrop, d.h. in alle Richtungen gleichmäßig.

Filamentöse Pilze

Filamentöse Pilze wachsen in Form eines **Myceles**. Die einzelne **Hyphe** wächst apikal, also nur durch polares, **anisotropes** Spitzenwachstum. Es können jedoch auch Verzweigungen angelegt werden, die dann wieder apikal wachsen. Dadurch entsteht ein verzweigtes und untereinander durch **Anastomosen** verbundenes Hyphengeflecht. Für das apikale Spitzenwachstum wird Zellwandmaterial in Vesikeln zu einer Fusionsstelle an der Hyphenspitze transportiert, sodass dort durch Fusion des Vesikels mit der Zellmembran neues Material in die wachsende Zellmembran und der Inhalt in die Zellwand eingebaut werden kann. Die Zellwand besteht aus Chitin, einem Homopolymer aus N-Acetylglucosamin, ergänzt durch Chitosan und Glucan sowie in unterschiedlichem Umfang auch Cellulose. Die Vesikel, die zum gerichteten Hyphenwachstum beitragen, sind auch als Strukturen im lichtmikroskopischen Bild sichtbar: man kann den so genannten **Spitzenkörper** erkennen, ein Zentrum für die Verteilung und den Einbau der Vesikel, das direkt hinter der wachsenden Hyphenspitze liegt. Der Transport der Vesikel erfolgt in der Zelle mithilfe des **Cytoskeletts**, das durch Mikrotubuli und Actinfilamente gebildet wird. Die Organellen werden ATP-abhängig von Motorproteinen transportiert, wobei Myosin an Actinfilamenten und Kinesin sowie Dynein an den Mikrotubuli entlang wandern. Der Transport von Kernen, Mitochondrien, dem Endoplasmatischen Retikulum oder Vakuolen erfolgt in den Hyphen über weite Strecken und auch über Zellgrenzen hinweg.

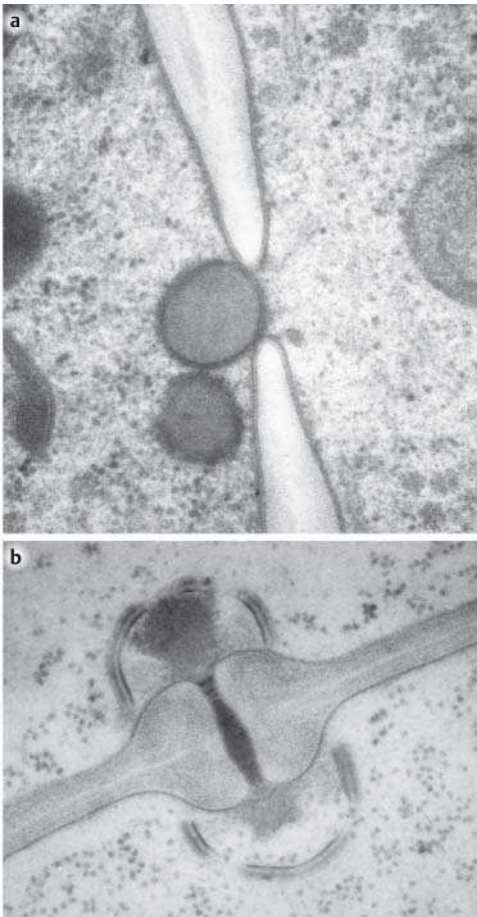


Abb. 3.1 Septen bei filamentösen Pilzen. **a** Woronin-Körperchen und einfache Septen bei *Cymodothea trifolii* (105 000fache Vergrößerung). **b** Doliporus mit Parenthosom bei *Schizophyllum commune* (81 000fache Vergrößerung; Aufnahmen R. Bauer, Tübingen).

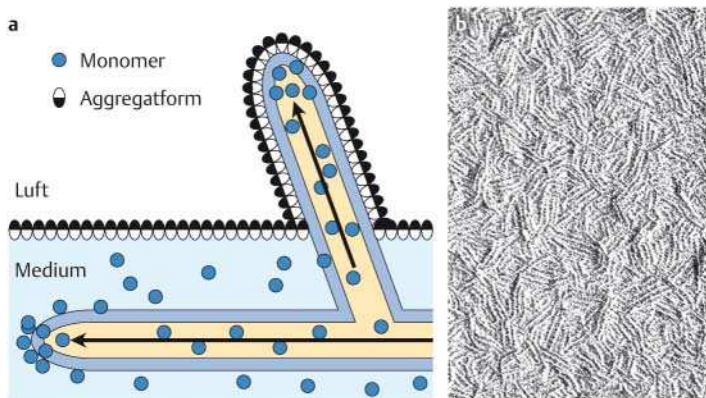
Echte Pilze

Echte Pilze. Die Hyphen der Echten Pilze sind durch **Septen** gegliedert und in einzelne Kompartimente geteilt. Die einzelnen Kompartimente sind oft mehrkernig, d.h. die Pilze bilden **Syncytien**, wobei die Kerne jeweils genetisch identisch (**Homokaryon**) oder genetisch verschieden (**Heterokaryon**) sein können. Die Septen, die die Kompartimente voneinander trennen, sind bei den verschiedenen Taxa unterschiedlich aufgebaut. Es existieren einfache Septen mit einem **Porus**, der bei den meisten Ascomyceten durch das **Woronin-Körperchen** verschlossen werden kann (Abb. 3.1). Besonders bei den Basidiomyceten kommen auch komplexere Poren, die **Doliporen** vor, die von einer membranösen Kappe, dem **Parenthosom** umgeben sind. Durch die Poren ist ein Transport möglich, der das Mycel versorgt, da nur die Hyphen an der Wachstumsfront neue Nährstoffressourcen erschließen und abbauen können. Die Hyphen können pseudoparenchymatische Strukturen bilden, die aus zusammengelagerten Hyphen bestehen. Dabei entsteht kein echter Gewebeverband sondern – beispielsweise in den makroskopischen Fruchtkörpern – ein aus einzelnen, getrennten Hyphen bestehendes **Pseudoparenchym** oder **Plektenchym**. Im Boden können mehrere Hyphen zu stärkeren, teilweise differenzierten Hyphensträngen, den **Rhizomorphen** zusammengelagert sein. Neben diesen **Substrathyphen** bilden die Pilze ein **Luftmycel**, das als watteartiger Überzug in den Luftraum reicht (Plus 3.1).

Plus 3.1 Die Eroberung des Luftraums

Das filamentöse Wachstum der Pilze erlaubt eine gute Ausnutzung des Substrats. Hierfür muss zunächst ein Substratmycel entstehen, das die Nährstoffe direkt aus dem Substrat aufnehmen kann. Zur Verbreitung ist allerdings Wachstum in den Luftraum sinnvoll, sodass die Sporen vom Wind verbreitet werden können. Dazu wird ein Luftmycel gebildet, welches das wässrige Milieu des Substrats verlässt. Die Luft-hyphen wachsen dabei aus dem wässrigen, hydrophilen Milieu in die hydrophobe Umgebung der Luft. Dabei müssen sie die Oberflächenspannung des wässrigen Milieus überwinden. Der Pilz bildet dazu an der Hyphenoberfläche eine Proteinschicht aus **aggregierten Hydrophobin-Monomeren**, die sich dann auch als schützende Hülle um die Lufthyphen zieht.

Einige Hydrophobine wurden inzwischen charakterisiert. Sie zeichnen sich durch 8 konservierte Cysteinreste aus, die für die Umfaltung von einer löslichen Monomerform in die Aggregatform notwendig sind. Das Monomer wird ausgeschieden und verteilt sich im Medium (Abb.). An einer hydrophob/hydrophilen Grenzphase falten sich die Proteine um und bilden in ihrer aggregierten Form Multimere. Dabei entsteht eine Auflagerung mit einer hydrophilen, zur Zelle hin weisenden Seite und einer hydrophoben Außenseite. Das Protein kann auch zur Anheftung von Hyphen an hydrophobe Oberflächen wie an die Cuticula von Pflanzenzellen dienen, womit phytopathogene Pilze eine Anheftung an den Wirt erreichen. Hydrophobine tragen auch dazu bei, Hyphen – beispielsweise in einem Fruchtkörper – miteinander zu verbinden, damit ein Plektenchym entstehen kann.



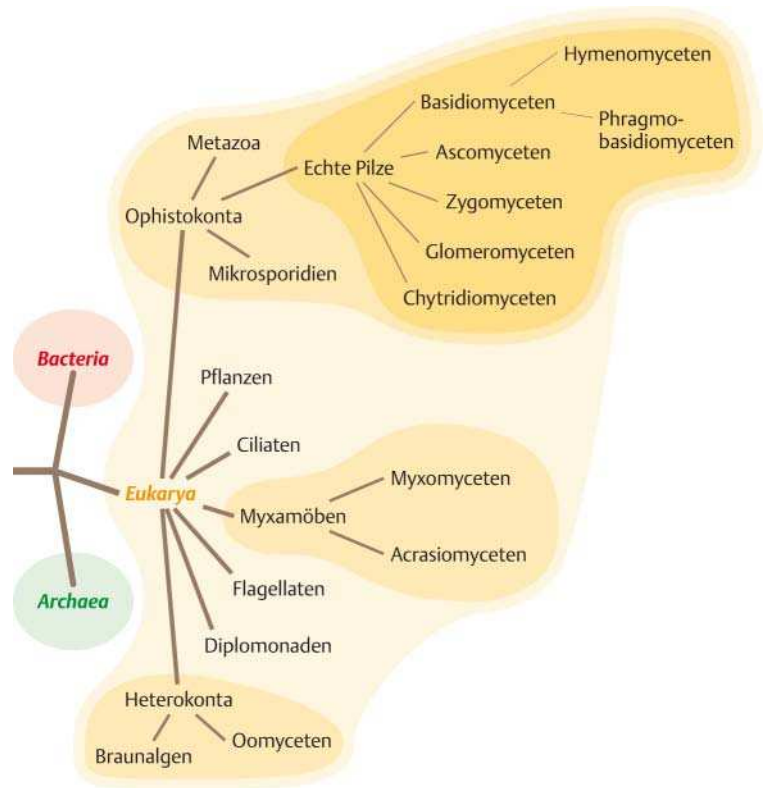
Das Protein Hydrophobin wird als Monomer ausgeschieden. **a** An einer hydrophil/hydrophoben Grenzschicht lagert es sich spontan um, was zur Aggregation führt. **b** Die stäbchenförmigen Auflagerungen auf der Zellwand der Lufthyphen des Pilzes können elektronenmikroskopisch sichtbar gemacht werden (Aufnahme Han Wösten, Utrecht, Niederlande).

3.3 Einteilung der Pilze

Die Pilze gehören neben den zwei großen Gruppen der **Pflanzen** und **Tiere** und einer Reihe kleinerer, einzelliger Lebensformen (Abb. 3.2) zu den **Eukarya**. Dass die Pilze tatsächlich einen eigenen, selbständigen Rang einnehmen, wurde durch phylogenetische Analysen mit molekularbiologischen Methoden bestätigt.

Innerhalb der so genannten **Echten Pilze** gibt es sowohl Organismen, die als Einzelzellen leben und sich durch hefeartige Sprossung vermehren, als auch filamentös wachsende Formen, die ein zusammenhängendes Mycel bilden, das Septen zur Abgrenzung zwischen den Zellen enthält. Bei einigen Pilzen kommen beide Wachstumsformen nebeneinander vor. Sie werden deshalb als **dimorph** bezeichnet. Zusätzlich können Pseudohyphen auftreten, bei denen eine vollständige Trennung der Tochterzellen, aber keine Abschnürung beobachtet wird. Die Echten Pilze zeichnen sich demnach durch septierte Hyphen aus. Sie enthalten in ihrer Zellwand neben Proteinen und anderen Polysacchariden als wichtigen Strukturbestandteil Chitin. Innerhalb dieser Gruppe der Echten Pilze werden die **Basidiomyceten**, **Ascomyceten**, **Zygomyceten**, **Glomeromyceten** und **Chytridiomyceten** unterschieden.

Abb. 3.2 Stammbaum zur Einordnung der Pilze. Mithilfe von Sequenzvergleichen der 16S bzw. 18S-rDNA sowie verschiedener Gene für konservierte Proteine wurde ein Stammbaum erstellt, der die Echten Pilze als Schwestergruppe der Tiere ausweist (zusammengefasst zu den Ophisthokonta). Weitere mycelbildende Formen zeigen mehr Ähnlichkeiten zu den Braunalgen (die Oomyceten in den Heterokonta) bzw. Protisten (z.B. die Myxomyceten und Acrasiomyceten). Innerhalb der Echten Pilze können die Basidiomyceten (mit den Hymenomyceten und den Phragmobasidiomyceten), die Ascomyceten, die Zygomyceten, die Glomeromyceten und die Chytridiomyceten unterschieden werden.



Neben den Echten Pilzen gibt es bei den niederen Eukarya einige Vertreter, die aufgrund ihrer fädigen Wachstumsformen oder der Morphologie der Fruchtkörper als Pilze angesprochen wurden. So gehören die mycelbildenden **Oomyceten** nicht zu den Echten Pilzen, sondern sind mit den Algen verwandt. Bei den verschiedenen Schleimpilzen (**Myxomyceten**) handelt es sich um Protisten, die näher mit den Amöben als mit Echten Pilzen verwandt sind (Abb. 3.2).

3.3.1 Vermehrungsformen der Pilze als Einteilungskriterien

Pilze können sich **sexuell** und **asexuell** vermehren. Im Gegensatz zu den Bacteria und Archaea treten bei Pilzen als Eukaryonten dabei mehrere Vermehrungsformen nebeneinander auf. Einige Pilze vermehren sich durch **Zweiteilung**, wie z.B. die Spalthefe *Schizosaccharomyces pombe*, die wie Bakterien durch Teilung zwei neue Einzelzellen hervorbringt. Andere vermehren sich durch **Knospung**. Dabei entsteht an einem Zellpol eine Knospe, die sich vergrößert und nach Erreichen der Größe der Mutterzelle von dieser abgetrennt wird. Ein Beispiel dafür ist die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*. Die typische fädige Wuchsform der Hyphen dagegen führt zur Bildung eines Mycels, eines verzweigten Hyphengeflechts, das dann häufig in der Lage ist, **Sporen** abzuschnüren, die asexuell entstehen und der Verbreitung dienen.

Die Einteilung der Pilze in ein **systematisches Konzept**, erfolgt wie bei den Pflanzen anhand ihrer sexuellen Vermehrungsstrukturen. Hier wer-

den nicht die Blütenformen, sondern die sexuell gebildeten Sporen und die Organe, in denen diese Sporen gebildet werden, für eine taxonomische Gliederung genutzt (Abb. 3.3). Damit sind solche Strukturen gemeint, in denen die **Meiose** oder Reduktionsteilung erfolgt, wobei haploide Kerne entstehen, die dann in haploiden Sporen verbreitet werden. Im Gegensatz zu den Keimzellen von Tieren und höheren Pflanzen können diese haploiden Sporen auskeimen und sich asexuell weiter vermehren. Durch eine Paarung (bei Pilzen Kreuzung genannt) kann schließlich wieder ein diploides Stadium entstehen, das für die sexuelle Vermehrung essenziell ist.

Wie bereits erwähnt, kann eine Ausbreitung auch direkt durch vegetative Vermehrung oder die Bildung von Dauersporen erfolgen, die ohne vorherige Kreuzung am haploiden Mycel entstehen. Diese asexuellen Sporen sind dann ebenfalls haploid und nicht aus einer Meiose hervorgegangen, sondern vielmehr mitotisch entstanden. Insbesondere bei Schimmelpilzen ist diese Form der Ausbreitung die vorherrschende, sodass einige Pilze entstanden sind, die keine sexuellen Stadien mehr bilden. Dies erschwert dann die systematische Zuordnung.

Die sexuellen und asexuellen Stadien sind in der Regel morphologisch unterschiedlich, manchmal so unterschiedlich, dass die beiden Formen einer Art systematisch als zwei verschiedene Arten eingeordnet wurden. Sind die sexuellen Strukturen bekannt, folgt die Nomenklatur diesem Stadium, dem so genannten **Teleomorph**. Die Namen der asexuellen Vermehrungsformen (**Anamorph**) werden höchstens als Synonyme geführt. Allerdings hat sich insbesondere unter Molekularbiologen häufig der Gebrauch des gewohnten Anamorphs so eingebürgert, dass sich die eigentlich richtige Form nicht durchsetzen konnte. Daher wird beispielsweise von *Aspergillus nidulans* gesprochen, obwohl das Teleomorph *Emericella nidulans* durchaus bekannt ist. In diesem Kapitel wurden daher auch die in der Praxis bewährten Bezeichnungen verwendet.

3.3.2 Basidiomyceten

Basidiomyceten bilden ihre Sporen an **Basidien** (Abb. 3.3a., vgl. S. 69). Typische Vertreter dieser Gruppe sind die Ständer- oder Hutpilze, zu denen auch die meisten unserer Speise- und Giftpilze gehören. Die Hutgröße kann zwischen 1 cm (bei einigen Helmlingen) und 35 cm beim Riesenschirmling (*Macrolepiota procera*) betragen. Sie bilden ihre sexuellen Sporen an unseptierten Basidien im **Hymenium**, sodass diese Pilze zu den **Hymenomyceten** zusammengefasst werden. Das Hymenium ist bei den Hutpilzen in Form von Röhren (wie beim Steinpilz, *Boletus edulis*) oder Lamellen (z.B. beim Champignon, *Agaricus bisporus*, oder dem Spaltblättling, *Schizophyllum commune*) angeordnet, kann aber auch die Form von Leisten wie beim Pfifferling (*Cantharellus cibarius*) oder Stacheln (bei *Hydnum*-Arten) besitzen. Für die Bestimmung der Speise- und Giftpilze sind die Merkmale der Hutform und -farbe sowie die Sporenfarbe und -struktur wegen ihrer einfachen Ansprechbarkeit besonders wichtig. Molekularbiologische Untersuchungen (Kap. 3.3.6) machen auch die sichere Zuordnung von Mycelien möglich, die keine Fruchtkörper tragen und somit einer morphologischen Bestimmung nur schwer zugänglich sind. Die meisten Hymenomyceten sind bodenbewohnend, häufig als Streu- oder Holzzersetzer, oft mit Waldbäumen in der Mykorrhizasymbiose (Kap. 3.7) lebend, wachsen aber auch auf lebendem oder totem Holz oder auf anderen organischen Substraten.

Eine weitere Untergruppe der Basidiomyceten sind die **Phragmobasidiomyceten**. Zu ihnen gehören u.a. die phytopathogenen Rostpilze (**Ure-**

diniomyceten) und Brandpilze (**Ustilaginomyceten**) wie z.B. der Maisbeulenbrand (*Ustilago maydis*). Sie bilden ihre meiotischen Sporen (Sporidien) an septierten **Phragmobasidien** (Abb. 3.3b). Häufig kommen weitere, asexuelle Sporen vor, die sich teilweise auch durch hefeartige Sprossung direkt vermehren können. Diese einzelligen Stadien werden als **Sporidien** bezeichnet. Verwandtschaftsuntersuchungen zeigen, dass auch weitere Vertreter, deren Basidien nicht in Hymenien entstehen, aber auch nicht fragmentiert sind, ebenfalls in die verwandtschaftliche Nähe der Phragmobasidiomyceten gehören, wie beispielsweise der humanpathogene Erreger *Cryptococcus neoformans*, der insbesondere bei immunkompromittierten Patienten tödliche Infektionen des Zentralnervensystems auslöst (Kap. 3.11.4).

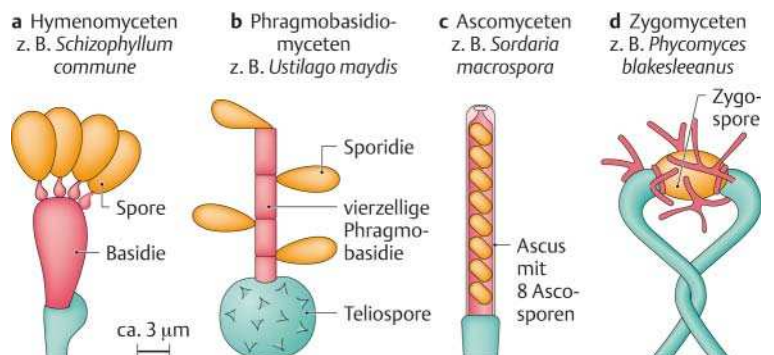
3.3.3 Ascomyceten

Die Ascomyceten produzieren ihre sexuellen Sporen im sack- oder schlauchförmigen **Ascus** (Abb. 3.3c). Die Asci können exponiert vorliegen oder in Fruchtkörpern gebildet werden. Die **Echten Hefen** vermehren sich durch Sprossung wie die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*. Aufgrund ihres einzelligen Wachstums und der einfachen Handhabbarkeit im Labor dient die Bäckerhefe als Modellorganismus für viele grundlegende Untersuchungen zur Funktion von Proteinen in der eukaryontischen Zelle. Die Spaltheefe *Schizosaccharomyces pombe* ist ebenfalls ein einzelliger Vertreter der Ascomyceten, der sich aber durch äquale Teilung vermehrt. Zu den Fruchtkörper bildenden Ascomyceten gehören eine Reihe von **Schimmelpilzen**, aber auch Ascomyceten mit makroskopischen **Fruchtkörpern** wie die Trüffel (*Tuber*). Die Asci der höheren Ascomyceten eignen sich sehr gut für genetische Untersuchungen zur Rekombination (z.B. bei *Sordaria macrospora* oder *Podospora anserina*, Kap. 3.9.1). Verschiedene Arten der Gattungen *Aspergillus* und *Neurospora* dienen in der Forschung als Modellorganismen für molekularbiologische Entwicklungsprozesse, während weitere Ascomyceten, beispielsweise *Penicillium* oder *Acremonium*, als Produzenten für Antibiotika wichtig sind.

3.3.4 Zygomyceten und Glomeromyceten

Die **Zygomyceten** haben ihren Namen nach ihren sexuell gebildeten **Zygosporen** erhalten (Abb. 3.3d). Diese entstehen durch Verschmelzung zweier haploider Gametangien (s. Abb. 3.7, S. 73). Neben diesen **Zygosporen** gibt es auch **asexuelle Sporangien**, die wie bei der Gattung *Pilobolus*

Abb. 3.3 Sporenbildung in der sexuellen Vermehrung der Pilze. **a** Hymenomyceten bilden unseptierte Basidien mit in der Regel vier haploiden Sporen. **b** Rost- und Brandpilze produzieren ihre sexuell gebildeten Sporen an Phragmobasidien. **c** Ascomyceten bilden meist schlauchförmige Asci mit vier oder – durch postmeiotische Mitose(n) – auch acht oder mehr Ascosporen. **d** Die Zygosporen der Zygomyceten sind zumeist vielkernig und häufig von geweihförmigen Hyphen umgeben.



zur Verbreitung sogar aktiv und zielgerichtet zum Licht hin abgeschossen werden können. Die Zygomyceten oder Jochpilze sind uns als Schimmel auf Brot, Tomaten oder Gurken vertraut. Ein Beispiel ist *Rhizopus stolonifer*. Die Hyphen sind nicht regelmäßig septiert, bei der Ausbildung von Vermehrungsorganen werden aber stets Septen eingezogen.

Die **Glomeromyceten** können mit Wurzeln der meisten Landpflanzengattungen (eine wesentliche Ausnahme sind die Brassicaceen) eine mutualistische Symbiose eingehen, die als Endomykorrhiza (Kap. 3.7) bezeichnet wird. Diese Symbiose ist sehr alt, sodass sich hier ein besonders guter Einblick in die Evolution der Pilze und gleichzeitig die Coevolution über ca. 460 Mio. Jahre zwischen Pilz und Pflanze gewinnen lässt. Zu den saprophytischen Zygomyceten zählen viele Schimmelerreger.

3.3.5 Chytridiomyceten

Die Chytridiomyceten vermehren sich asexuell durch bewegliche **Zoosporen** und sexuell durch ebenfalls bewegliche **Gameten**. Damit unterscheiden sie sich von den bisher behandelten Echten Pilzen. Sie sind häufig einzellige, selten mit querwandlosen Hyphen ausgestattete Organismen, die meist an feuchte Standorte gebunden sind und saprophytisch leben. Ein phytopathogener Vertreter ist *Synchytrium endobioticum*, ein wichtiger und mit Quarantäne belegter Parasit der Kartoffel.

3.3.6 Deuteromyceten und Hyphomyceten

Neben den Pilzen mit bekannten sexuellen Stadien gibt es eine ganze Reihe, für die bisher entweder kein sexuelles Stadium gefunden wurde, oder die sich tatsächlich nur vegetativ vermehren. Für solche Pilze wird von Formklassen Gebrauch gemacht, die ursprünglich eingerichtet wurden, um der Flut der isolierten und identifizierten Stämme ohne bekannte sexuelle Vermehrungsform Herr zu werden. Eines dieser künstlichen Konstrukte umfasst solche Pilze, für die asexuellen Vermehrungsstadien wie **Conidien** vorliegen. Diese **Imperfekten Pilze** oder **Deuteromyceten** sind häufig tatsächlich Ascomyceten, wie sich aufgrund der Ähnlichkeit der Conidien und ihrer Bildung zu bekannten Ascomyceten vermuten ließ. Durch Sequenzvergleiche der konservierten rDNA wird dies bestätigt. Für Pilze, von denen lediglich Hyphenstadien bekannt sind, wurde die Formenklasse der **Hyphomyceten** eingerichtet.

Die gezeigten asexuellen Strukturen erlauben eine Zuordnung. Zur Identifizierung von Pilzen ohne diese besonderen morphologischen Strukturen bieten sich molekulargenetische Methoden an, die dann auch eine **phylogenetische** Zuordnung erlauben (Box 3.1). Durch rDNA-Sequenzanalysen können selbst auf Artebene Unterschiede gefunden und für Stammbaumanalysen verwendet werden. Stammbäume auf der Basis dieser Analysen werden dann mit weiteren Sequenzdaten (z.B. für proteincodierende Gene wie solchen des Cytoskeletts) und auch mit morphologischen Merkmalen verglichen. Dabei zeigt sich, dass z.B. bei den Ritterlingen der Gattung *Tricholoma* die Hutfarbe tatsächlich ein geeignetes Kriterium ist, um die Arten innerhalb einer Gattung zu unterscheiden. In anderen Gattungen dagegen hat sich die Hutfarbe als schlecht konserviertes Merkmal herausgestellt, sodass die molekularen Analysen hier weiterhin eine wichtige Rolle spielen werden.

Box 3.1 rDNA-Analyse zur Aufstellung phylogenetischer Stammbäume

Pilze, die nicht aufgrund morphologischer Strukturen taxonomisch zugeordnet werden können, können durch molekulargenetische Methoden identifiziert werden. Eine Methode dazu ist die Analyse der rDNA. Hierbei werden nicht nur die Gene der 18S-rRNA analysiert, sondern die gesamten rRNA-codierenden Gene, von denen manche Teile einem geringeren Selektionsdruck unterliegen als andere. Die Gene, die für die großen rRNAs (18S-rRNA, 5,8S-rRNA sowie 28S-rRNA) codieren, werden alle gemeinsam in einem langen Transkript abgelesen, dessen Matrize mit über 200 Kopien im Genom vorkommen kann. Nach der Transkription werden diese Transkripte in die funktionellen rRNAs zerschnitten. Die Bereiche, die solche funktionellen Einheiten trennen, unterliegen dabei einem sehr viel geringeren Selektionsdruck als die funktionellen rRNAs dazwischen, denn sie müssen lediglich für die Prozessierungsmaschinerie erkennbar sein und sind im Gegensatz zu den rRNAs nicht weiter am Zellgeschehen beteiligt. Daher ist hier eine größere Sequenzdiversität zu finden, die sich für Analysen auf taxonomischer Ebene eignen. Die Bereiche zwischen den funktionellen Einheiten werden als ITS-Regionen bezeichnet (ITS: engl. internal transcribed spacer), während die Bereiche zwischen zwei solchen, aufeinander folgender Transkriptionseinheiten als IGS (engl. intergenic spacer) bezeichnet werden. Da die funktionellen rRNAs sehr stark konserviert sind, lassen sich leicht Primer für eine Amplifikation ableiten, die auf alle Taxa passen. Anhand der Unterschiede in den Sequenzen der verschiedenen ITS können dann mit geeigneten Algorithmen phylogenetische Verwandtschaften zwischen den untersuchten Arten berechnet werden.

3.4 Asexuelle Vermehrung

Einzellige Hefen vermehren sich durch Zellteilung. Daneben existieren bei den filamentösen Pilzen verschiedene Möglichkeiten der asexuellen Verbreitung. Besondere Bedeutung haben die Sporenträger, die **Conidiophoren**, an denen einzellige, asexuelle Sporen abgeschnürt werden, die für eine schnelle Ausbreitung sorgen. Dies betrifft insbesondere die Schimmelpilze oder Pflanzenschädlinge. Diese asexuell gebildeten Sporen keimen und etablieren ein neues Mycel, in dem sich die Zellen nicht vollständig teilen, sondern über die Septenporen miteinander in Verbindung bleiben. Dieses Mycel dient einer besonders schnellen Ausbreitung und kann zur Eroberung eines neuen Habitats führen.

3.4.1 Mitose und Zellzyklus

Mitose

Die Mitose beschreibt eine Kernteilung, bei der zwei mit der Ausgangszelle identische Tochterkerne entstehen. Bei höheren Eukaryonten wird dabei der Zellkern aufgelöst. Viele Pilze dagegen durchlaufen eine so genannte **geschlossene Mitose**, bei der die Kernmembran auch während der Kernteilung erhalten bleibt.

Zunächst erfolgt die Replikation. Erst, wenn diese abgeschlossen ist, kann die Kernteilung stattfinden. Parallel dazu teilt sich der Spindelpolkörper. Ausgehend von den Spindelpolkörpern bilden Mikrotubuli dann die **Kernspindel**. Gleichzeitig entstehen Mikrotubuli, die die Spindel in der Zelle positionieren (**astrale Mikrotubuli**). Die Mikrotubuli der Spindel greifen an den mit Protein besetzten Centromeren der Chromosomen an und trennen die Chromatiden. Da bei Pilzen eine Kernteilung nicht notwendigerweise an eine Zellteilung gebunden ist, gibt es häufig vielkernige Zellen (wie z.B. bei den filamentösen Ascomyceten). In diesen Zellen ist es durch eine geschlossene Mitose leicht möglich, mehrere Kerne gleichzeitig zu verdoppeln, ohne dass es zu Fehlverteilungen der Chromosomen kommt.

Bei filamentösen Pilzen ist die Septenbildung zwischen den Tochterzellen der Abschluss der Mitose. Allerdings erfolgt keine vollständige Cytokinese, sondern es bleibt eine Verbindung durch das **Septum** erhalten, das wie oben beschrieben durch Woronin-Körperchen (bzw. Parthenosomen) verschließbare Poren behält.

Zellzyklus

Der Zellzyklus beschreibt die Vorgänge von einer Zellteilung zur nächsten. Aufgeklärt wurde der Zellzyklus mithilfe der einzelligen Hefen *Saccharomyces cerevisiae* und *Schizosaccharomyces pombe*, sodass diese beiden Organismen heute als Modellorganismen für den eukaryontischen Zellzyklus (und viele andere eukaryontischen Mechanismen) herangezogen werden.

Der Zellzyklus wird in vier Phasen eingeteilt. Die Mitose mit der Kernteilung findet in der **M-Phase** statt. Auf die M-Phase folgt die sog. **G1-Phase**. G steht für Gap (Lücke), denn diese Phase trennt die M-Phase von der folgenden **S-Phase**. Beim Übergang von der M-Phase in die G1-Phase erfolgt bei einzelligen Stadien die Cytokinese (Zellteilung) bzw. bei Hyphenpilzen eine Septenbildung (die verzögert sein kann). In der S-Phase wird die DNA verdoppelt (Replikation). An die S-Phase

schließt sich die **G2-Phase** an. G1-, S- und G2-Phase werden auch als **Interphase** zusammengefasst.

Es gibt einen Punkt im Zellzyklus, an dem die Entscheidung für eine Zellteilung getroffen wird. Ist dieser, als **START** bezeichnete Kontrollpunkt einmal überwunden, wird der Zellzyklus durchlaufen. Durch Analyse von temperatursensitiven Mutanten bei *Saccharomyces cerevisiae*, die bei erhöhter (nicht permissiver) Temperatur den Zellzyklus abbrechen, konnten mehr als 50 Gene (meist CDC genannt für engl. cell division cycle) in ihrer Funktion für den Zellzyklus beschrieben werden. Eine wichtige Gruppe sind dabei die **Cycline**. Diese Proteine werden nur zu einem bestimmten Zeitpunkt im Zellzyklus synthetisiert und aktiviert, bevor sie nach Erfüllen ihrer Funktion wieder abgebaut werden. Sie haben damit regulatorische Funktion für die Einleitung der jeweils nächsten Schritte des Zellzyklus. Die einzelnen Cycline sind spezifisch für die verschiedenen Zellzyklusphasen (beispielsweise G1-Cycline, G2-Cycline, Cdc28p). Da sie aktiviert und sehr schnell wieder abgebaut werden können, erlauben diese Proteine einen schnellen Wechsel der Stadien des Zellzyklus.

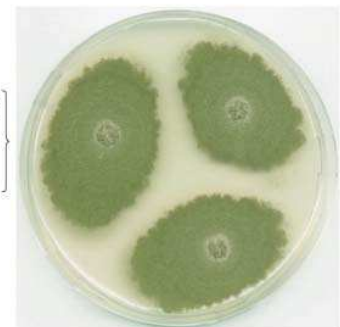
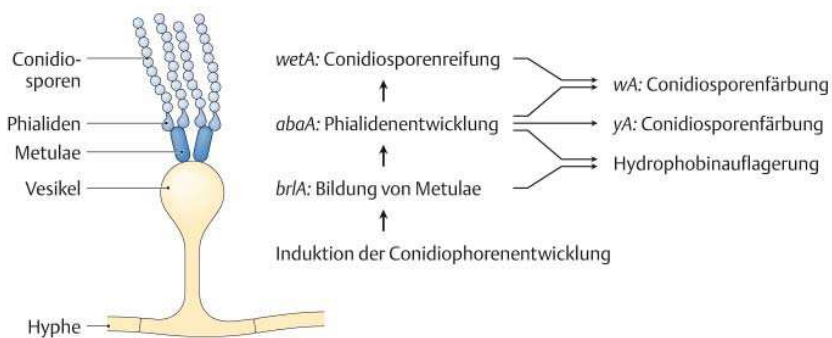
3.4.2 Asexuelle Vermehrungsformen bei Ascomyceten

Die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* vermehrt sich durch **Knospung**, auch **Sprossung** genannt. Dabei kommt es nach der Kernteilung zur Positionierung eines der Tochterkerne in der Knospe, die anschließend durch Bildung eines Septums von der Mutterzelle abgeschnürt wird. Die Trennung der beiden Zellen, die Cytokinese, ist bei Hefen das Ende des Zellzyklus. Es ist allerdings auch möglich, **Pseudohyphenwachstum** zu induzieren, bei dem die Zellen sich nicht vollständig voneinander lösen und

Plus 3.2 Molekularbiologie der Conidienentwicklung bei *Aspergillus nidulans* (perfekte Form: *Emericella nidulans*)

Durch die Analyse von Mutanten konnte gezeigt werden, dass eine regulatorische Kaskade zur Bildung von Conidiosporen benötigt wird, deren drei zentrale Regulatorgene *brlA*, *abaA* und *wetA* sind (Abb.). Die zentralen Transkriptionsfaktoren BrlA und AbaA werden benötigt, um im Entwicklungsprogramm von der Hyphenentwicklung auf die Bildung der Köpfchen und an den Köpfchen zur Bildung der verschiede-

nen Zellgenerationen umzuschalten, die schließlich die einkernigen, haploiden Sporen hervorbringen. Diese Sporen sind im Wildtyp grün gefärbt und damit der Grund für die grüne Farbe der bekannten Schimmelkolonien auf Lebensmitteln. Die Abbildung zeigt drei Kolonien mit grünen Conidiosporen.



grüne Conidiosporen

Molekularbiologie der Conidienentwicklung bei *Aspergillus nidulans* (perfekte Form: *Emericella nidulans*).

Erklärung siehe Text (Aufnahme R. Fischer, Karlsruhe).

ein zusammenhängendes Zellknäuel bilden. Bei der humanpathogenen Hefe *Candida*, die z.B. Vaginalinfektionen auslöst, wird auch ein echtes **Hyphenwachstum** beobachtet. Dies zeigt, dass manche Pilze zwischen verschiedenen Wachstumsformen umschalten können.

Filamentöse Ascomyceten schalten bei der asexuellen Vermehrung auf die einzellige Wachstumsform um – ähnlich wie Hefen auf Hyphenwachstum umstellen können – und bilden so genannte **Conidiosporen** (oder kurz **Conidien**). Conidiosporen sind einkernige, abgerundete und gegen Umwelteinflüsse relativ resistente Sporen, die in langen Ketten an Conidiophoren gebildet werden (Abb. Plus 3.2). Bekannte Beispiele sind die Köpfchen- und Gießkannenschimmel der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus*. Diese asexuellen Sporen entstehen an den Lufthyphen, wo sich zunächst dickere Conidiophoren entwickeln, die dann ein Köpfchen mit vielen Sporenketten bilden. Dabei erfolgt eine Form der Zellteilung, die stark an das knospende Wachstum der Hefen erinnert. Diese Vermehrungsform macht die asexuelle Verbreitung sehr erfolgreich, da innerhalb kürzester Zeit große Mengen an Sporen produziert werden. Diese Sporen sind häufig allergen, weshalb Schimmel in Gebäuden auch zu einer starken gesundheitlichen Belastung werden kann. Die Sporen sind über lange Zeiträume lebensfähig.

3.4.3 Asexuelle Vermehrungsformen bei Basidiomyceten, Zygomyceten, Glomeromyceten und Chytridiomyceten

Asexuelle Vermehrung bei Basidiomyceten ist insbesondere bei den Rost- und Brandpilzen, die zu den Phragmobasidiomyceten zählen, zu beobachten (Kap. 3.11). Bei den Hymenomyceten sind ebenfalls **Chlamydosporen** (Dauersporen) oder als **Oidien** bezeichnete einzellige Stadien bekannt, die ebenfalls für die schnelle Ausbreitung sorgen. Die Sporangien der Zygomyceten, die Sporen der Glomeromyceten und Dauersporen der Chytridiomyceten wurden bereits besprochen (Kap. 3.3).

3.5 Sexuelle Vermehrung

Neben den asexuellen Sporen sind für die Verbreitung der Pilze auch sexuell gebildete Sporen verantwortlich, die zumeist in Fruchtkörpern nach der Kreuzung zweier haploider Elternstämme gebildet werden. Bei den Hymenomyceten ist die sexuelle Vermehrung besonders wichtig, da asexuelle Vermehrungsorgane häufig fehlen. Gerade holzbewohnende Pilze sind auf die Ausbreitung durch sexuell gebildete Sporen angewiesen, da das Mycel sich in der Regel innerhalb eines Baumstammes befindet und ohne Fruchtkörperbildung und Sporenfreisetzung an der Luft keine Ausbreitung möglich wäre.

3.5.1 Homothallie und Heterothallie

Pilze, die durch Selbstbefruchtung in der Lage sind, also ohne vorherige Kreuzung zweier verschiedener Individuen einer Art Fruchtkörper und reife Sporen zu bilden, nennt man **homothallisch**. Bei heterothallischen Pilzen, die nicht zur Selbstbefruchtung fähig sind, muss der sexuellen Entwicklung eine Kreuzung von zwei Pilzen mit unterschiedlichen **Paarungs- oder Kreuzungstypen** (entsprechend den Geschlechtern bei Tieren) vorausgehen. Dabei stehen den Basidiomyceten nicht nur zwei, sondern

bis über 20 000 solcher verschiedener Kreuzungstypen zur Verfügung. Die Vielzahl möglicher Kreuzungstypen bedeutet, dass zwei Mycelien in der Natur fast immer unterschiedliche Kreuzungstypen besitzen und somit **kompatibel** sind. Dadurch wird auf genetischem Wege die Inzucht herabgesetzt und die sinnvolle Neukombination des Erbguts in der sexuellen Vermehrung gefördert. In den Fruchtkörpern entwickeln sich dann die haploiden Sporen, die auskeimen und ein Mycel bilden, das sich zwar ausbreiten kann, aber keine Fruchtkörper bildet. Erst durch eine erneute Kreuzung entsteht wieder ein fertiles Mycel, wobei die Kreuzungstypgene die Kontrolle über die gesamten Vorgänge der sexuellen Entwicklung haben. Daneben existieren auch **sekundär homothallische Pilze** wie der Champignon (*Agaricus bisporus*), bei dem zwar noch die Kreuzungstypgene existieren, aber durch die in der Regel zweikernigen Sporen bereits die Information zweier verschiedener Kreuzungstypen im neu auskeimenden Mycelium vorhanden ist, das dann ohne weitere Kreuzung zur Fruchtkörperbildung befähigt ist. Dies erlaubt dann die Fruchtkörper- und Sporenbildung zur Ausbreitung auch ohne dass ein Kreuzungspartner gefunden werden muss, allerdings zu Lasten der genetischen Neukombination von Merkmalen in der Kreuzung.

3.5.2 Sexuelle Entwicklung bei Basidiomyceten

Das primäre, haploide Mycel, das sich aus der gekeimten Basidiospore entwickelt, enthält in jeder Zelle einen einzelnen Kern, weshalb es auch als **Monokaryon** bezeichnet wird. Das sekundäre Mycel entsteht, wenn zwei solcher Monokaryen aufeinandertreffen: Dann bildet sich ein **Dikaryon**, das Kerne beider Elternstämme nebeneinander in jeder Zelle trägt. Ein solches Mycel zeichnet sich bei einigen Arten durch typische morphologische Strukturen, sog. **Schnallen**, aus, die wesentlich zur Aufrechterhaltung des dikaryotischen Zustands beitragen (Abb. 3.4). Schnallen entstehen während der Kern- und Zellteilung an der wachsenden Hyphenspitze zunächst als Ausstülpung der Zelle. Die Ausstülpung krümmt sich nach hinten und die beiden Kerne des Dikaryons teilen sich mit leicht versetzten Achsen der Spindeln, sodass ein Kern sich parallel zur Hyphe, der zweite Kern sich zwischen Schnalle und Hyphe teilt. Nach der Kern-

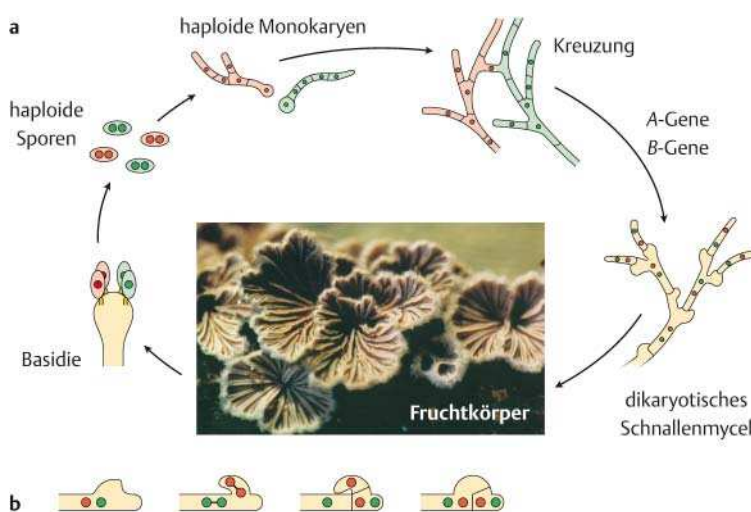


Abb. 3.4 Lebenszyklus von *Schizophyllum commune*. a Kreuzung zweier haploider Monokaryen mit unterschiedlichen Paarungstypen sowohl in den A-Genen, als auch den B-Genen führt zur Bildung des Dikaryons, das dann Fruchtkörper und an den Basidien wiederum haploide Sporen bilden kann. Dabei regeln die A-Gene die Schnallenbildung, während durch B-Gene der Kernaustausch zwischen den beiden Partnern gesteuert wird. Die ca. 2 cm großen, konsolförmigen Fruchtkörper werden an totem Holz gebildet und zeigen auf der Unterseite die typischen, gespaltenen Lamellen (Aufnahme Erika Kothe, Jena). b Mechanismus der Schnallenbildung.

Plus 3.3 Kreuzungstypgene bei Basidiomyceten

Für den Spaltblättling *Schizophyllum commune* ist die multiallelische Kreuzungsspezifität besonders gut untersucht (Abb. 3.4). Die Kreuzungstypgene steuern zwei unterschiedliche Entwicklungswege, und nur wenn beide Wege angeschaltet werden, ist die Kreuzung vollständig kompatibel. Einer der beiden Wege wird durch die A-Gene angeschaltet. Diese Gene codieren für Transkriptionsfaktoren, und als solche können sie weitere Gene anschalten, um so für die Einleitung einer neuen Entwicklung zu sorgen. Allerdings darf dies nicht im Monokaryon geschehen, sondern erst nach der Kreuzung, wenn verschiedene A-Gene in einer Zelle gemeinsam vorhanden sind. Das wird dadurch sichergestellt, dass aus zwei verschiedenen Proteinuntereinheiten zusammengesetzte Heterodimere die nachgeschalteten Gene aktivieren, wobei nur solche Heterodimere Regulatoren für diese Entwicklungsprozesse sind, die von zwei verschiedenen A-Genorten codiert werden.

Durch die B-Gene wird ein Pheromon-Rezeptor-System codiert, das in jedem Genort ein Rezeptorgen und normalerweise mehrere Gene für Pheromone umfasst. Wird ein Pheromon eines kompatiblen Kreuzungspartners erkannt, ist die B-regulierte Entwicklung angeschaltet. Erst in einer voll kompatiblen Kreuzung mit unterschiedlichen Genorten in A und B kann die Fusion der Schnalle erfolgen. Für *S. commune* liegen in der Natur in den zwei A-Genorten A α neun und A β 32 verschiedene Spezifitäten vor, während in den B-Genorten B α und B β ebenfalls je neun Spezifitäten gefunden wurden. Damit ergeben sich durch Multiplikation 23 328 natürliche Kreuzungstypspezifitäten. Dies stellt sicher, dass zwei nichtverwandte Mycelien in über 98 % der Fälle kompatibel sind, während „Geschwister“, also Sporen aus demselben Fruchtkörper, nur in 25 % der Fälle fertile Nachkommen haben. Damit ist die Inzucht gegenüber der Auskreuzung genetisch verhindert, was bei Säugern beispielsweise sozial durch Auswandern der jungen Männchen aus der Sippe geregelt ist.

Bei den Phragmobasidiomyceten ist vor allem *Ustilago maydis* gut untersucht. Hier liegt nur jeweils ein Genort für die heterodimeren Transkriptionsfaktoren und das Pheromonsystem vor. Während die Genorte für Transkriptionsfaktoren multiallelisch sind, ist die Pheromonerkennung bei *Ustilago* auf zwei Spezifitäten beschränkt.

teilung werden zwei Septen eingezogen, die jeweils in der Mitte der ehemaligen Spindel liegen. Dadurch erhält die Hyphenspitze automatisch zwei unterschiedliche Tochterkerne und kann bereits weiterwachsen, während der hintere Hyphenabschnitt sowie die Schnalle zunächst noch einkernig sind. Erst durch weiteres rückwärts gerichtetes Wachstum der Schnallenzelle und Fusion der Schnalle mit dem hinteren Hyphenabschnitt werden auch die beiden anderen Tochterkerne in der subapikalen Hyphenzelle vereint, die jetzt die typische Schnalle als Strukturmerkmal dikaryotischer Basidiomyceten aufweist.

Das Dikaryon ist in der Lage, hochorganisierte **Fruchtkörper** zu bilden. Dort entstehen die Basidien durch Vergrößerung einer endständigen Zelle im **Hymenium**, einer bestimmten Zellschicht. In der sich bildenden Basidie findet die Kernverschmelzung statt, bei der für kurze Zeit ein **diploider Kern** entsteht. Dieser tritt direkt in die **Meiose** ein und bildet vier haploide Basidiosporen, die dann wieder zu einem primären, monokaryotischen Mycel auskeimen können (Abb. 3.4).

Neben dem Spaltblättling *Schizophyllum commune* (Plus 3.3) ist die sexuelle Entwicklung auch für den Tintling *Coprinospinopsis cinerea* gut untersucht. Nicht alle Basidiomyceten bilden allerdings Schnallen, können ihren dikaryotischen Zustand aber dennoch aufrechterhalten. Hier sind die Mechanismen noch nicht verstanden.

3.5.3 Sexuelle Entwicklung bei Ascomyceten

Die Ascomyceten zeichnen sich durch die Bildung der Asci als sexueller Entwicklungsstruktur aus. Bei den **Protoascomyceten** liegen die Asci frei vor – bei der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* sind sie beispielsweise sackförmig ausgebildet – und enthalten meist vier Sporen. Die **Euascomyceten** haben in der Regel ausdifferenzierte, **schlauchförmige Asci**, die in Fruchtkörpern gebildet werden und die 4, 8, aber auch mehr Ascosporen enthalten. Höhere Anzahlen von Sporen als die 4 Meioseprodukte entstehen durch **postmeiotische Mitosen**, sodass sich hier besonders gut Einzelereignisse wie Rekombination (vgl. Kap. 3.9.1) während der Meiose analysieren lassen.

Bei Ascomyceten kann man Strukturen erkennen, denen eine männliche bzw. weibliche Rolle in der sexuellen Fortpflanzung zuerkannt wurde. Als Beispiel hierfür soll der Lebenszyklus von *Neurospora crassa* dienen (Abb. 3.5). Bei *Neurospora crassa* erfolgt eine Kreuzung normalerweise nicht zwischen zwei haploiden Mycelien, sondern es reicht vielmehr eine einzige Zelle eines anderen Kreuzungstyps für eine Befruchtung aus. Da Ascomyceten eine hohe Anzahl an asexuellen Sporen bilden, handelt es sich bei dieser befruchtenden Zelle wahrscheinlich um eine solche asexuelle Spore, hier auch Microconidium genannt. In ihrer Funktion als „männliche“ befruchtende Zelle erhielt sie zusätzlich in Analogie zu tierischen Paarungssystemen auch noch einen weiteren Namen: **Spermatium**. Auch größere Sporentypen wie Macroconidien (die sich aufgrund ihrer Größe von Microconidien unterscheiden und ebenfalls asexuell gebildete Sporen darstellen) oder Hyphenfragmente kommen für eine Befruchtung in Frage, sodass die Befruchtung hier leichter erfolgen kann als durch die Fusion zweier Mycelien, die am selben Ort wachsen müssten um fusionieren zu können. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit einer sexuellen Fortpflanzung erhöht. Die Befruchtung findet an der **Trichogyne** statt, einer langen spezialisierten Hyphe, die von einer vielkernigen weiblichen Struktur, dem **Protoperithecium** ausgeht. Der haploide Kern des Spermatiums wandert durch die Trichogyne bis in das Protoperi-

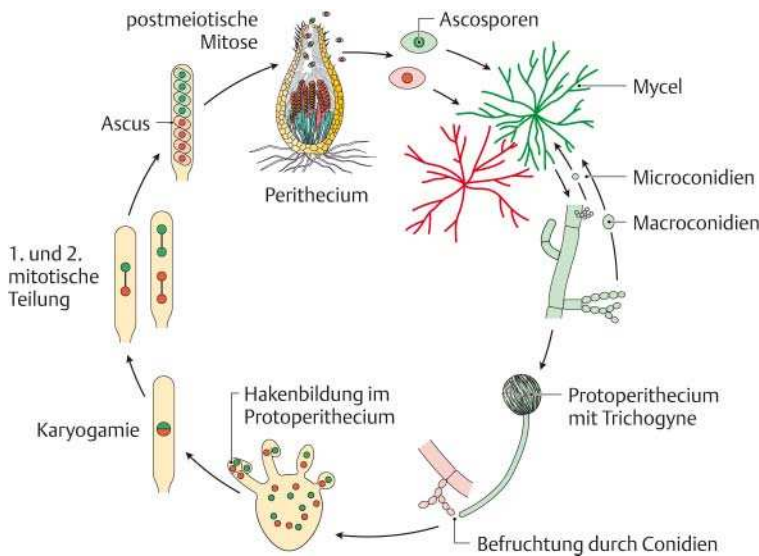


Abb. 3.5 Lebenszyklus von *Neurospora crassa*. Durch Befruchtung über die Trichogyne entsteht ein Heterokaryon, das nach Hakenbildung die Asci produzieren kann, in denen die Meiose erfolgt. Die Meioseprodukte werden im Ascus zusammengehalten und sind so einer genetischen Analyse besonders gut zugänglich. Eine Verbreitung im Lebensraum ist auch durch asexuell gebildete Micro- oder Macroconidien möglich, die gleichzeitig auch zur Befruchtung der Trichogyne dienen können.

thecium (Abb. 3.5). Durch mitotische Kernteilungen bilden sich mehrkernige Heterokaryen, an denen dikaryotische Scheitelzellen entstehen. An diesen erfolgt die **Hakenbildung**, die der Schnallenbildung der Basidiomyceten ähnelt. Nach der Kernverschmelzung erfolgt die Ascusbildung mit der Meiose und evtl. folgenden postmeiotischen Mitosen.

Die Kreuzungstypspezifität ist unabhängig von diesen Organen. Jeder Kreuzungstyp kann sowohl Spermatien wie Trichogynen ausbilden.

Die Fruchtkörperformen bei den Ascomyceten (Abb. 3.6) umfassen birnenförmige **Perithecien** wie bei *Neurospora crassa*, *Sordaria macrospora* oder *Podospora anserina*, während der Gießkannenschimmel *Aspergillus nidulans* geschlossene **Cleistothecien** bildet. Bei anderen Arten kommen **Apothecien** wie die becherförmigen, makroskopischen Fruchtkörper vor (z.B. *Aleuria aurantia* oder bei vielen Flechtenpilzen) oder geschlossene, unterirdische Fruchtkörper (wie bei der Trüffel, *Tuber macrosporum*), oder in Großpilzen zusammengefasste Fruchtkörper wie bei der Lorchel (z.B. *Helvella crispa*).

Die sexuelle Entwicklung wird bei den Ascomyceten ebenfalls von den Genen der **Kreuzungstyp-Genorte** gesteuert, deren Funktion zumindest teilweise der in den Basidiomyceten entspricht. Sie haben ein bipolares Kreuzungssystem, das mit nur zwei Kreuzungstypen auskommt. Die Genorte der Kreuzungsspezifität sind bei diesen heterothallischen, filamentösen Ascomyceten aber nicht homolog und dürfen deshalb nicht als **Allele** bezeichnet werden, die durch Mutation auseinander hervorgegangen sind. Sie enthalten unterschiedliche Information und werden als **Idiomorphe** bezeichnet.

Bei einigen weiteren Ascomyceten wie auch *Saccharomyces cerevisiae* existiert eine weitere Besonderheit: sie sind in der Lage, ihren Kreuzungstyp zwischen den beiden Paarungstypen zu wechseln. Dieses, als **Mating Type Switching** bezeichnete Phänomen beruht darauf, dass jede Zelle die genetischen Informationen für beide Kreuzungstypen trägt. Von diesen Informationen kann aber zu einer gegebenen Zeit immer nur eine aktiv abgelesen werden, die anderen Gene sind durch Silencing stillgelegt. Das wird dadurch erreicht, dass drei Genorte mit Informationen zur Kreu-

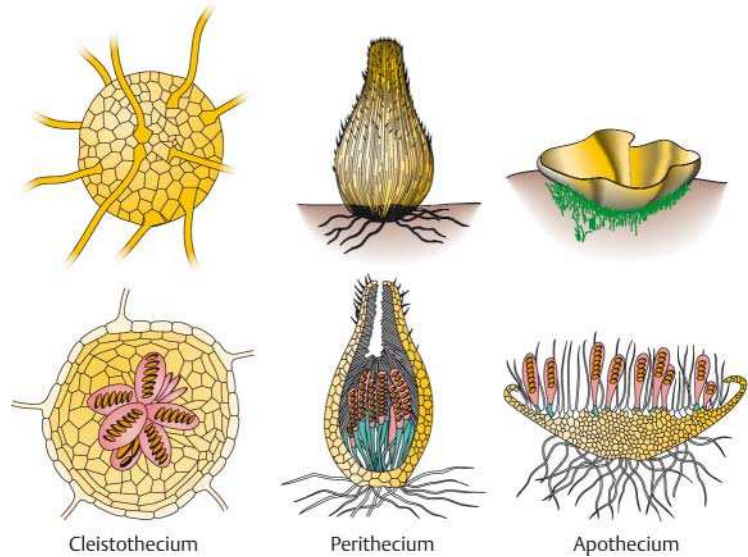


Abb. 3.6 Fruchtkörperformen bei Ascomyceten. Geschlossene Cleistothecien, Perithechien mit einer kleinen Öffnung und offene Apothecien können die Asci enthalten. Die Größen solcher Fruchtkörper sind mit unter 1 mm bis über 1 cm sehr variabel.

zungstypspezifität existieren. Zwei davon tragen die stillen Informationen für je einen Paarungstyp. Der dritte Genort ist derjenige, der abgelesen wird. Die Information, die zu einer bestimmten Zeit also in diesem aktiven Genort vorhanden ist, legt damit den Paarungstyp fest. Durch Austausch dieser Information in einem der rekombinativen Transposition ähnlichen Prozess kann die bisher stillgelegte Information an den aktiven Genort gelangen, sodass dann die neue Information abgelesen wird und sich damit der Paarungstyp ändert.

3.5.4 Sexuelle Entwicklung der Zygomyceten

Der sexuelle Vermehrungszyklus wird bei Zygomyceten mithilfe des Austauschs einer chemischen Substanz geregelt. Auch hier ist die sexuelle Vermehrung gut reguliert, um durch heterothallische Vermehrung möglichst viele sexuelle Reproduktionszyklen zu ermöglichen. Diese Substanz, die **Trisporsäure**, ist der Auslöser der Zygosporienbildung. Allerdings ist keiner der Paarungstypen des Pilzes in der Lage, diese Substanz allein herzustellen, weil der Syntheseweg in keinem Paarungstyp vollständig vorliegt. Durch Austausch der Intermediate wird es beiden Kreuzungspartnern aber möglich, die Synthese zu vollenden und damit Trisporsäure als Induktor der sexuellen Entwicklung zu produzieren. Dadurch kann in einer Kreuzung zweier Stämme unterschiedlichen Kreuzungstyps die Bildung der Zygosporien erfolgen, in denen Karyogamie und Meiose ablaufen (Abb. 3.7). Demgegenüber stellt die asexuelle Vermehrung durch Sporangiosporien sicher, dass sich der Pilz auch beim Fehlen eines Kreuzungspartners im Substrat ausbreiten und neue Habitate besiedeln kann. In diesem Fall ist allerdings keine Neukombination des genetischen Materials durch Meiose möglich. Dass diese Doppelstrategie erfolgreich ist, zeigen nicht nur die Ascomyceten-Schimmelpilze, sondern gerade auch die Schimmel unter den Zygomyceten, die beispielsweise auf Tomaten in jedem Haushalt bekannt sind.

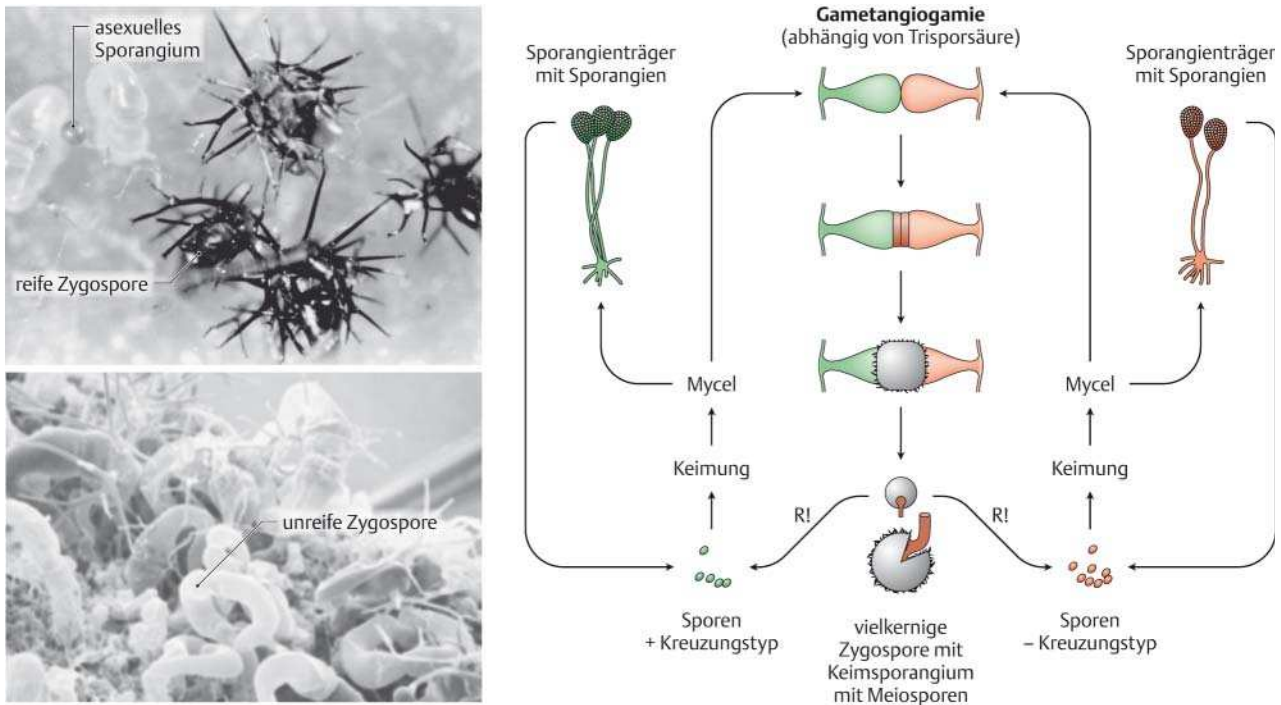


Abb. 3.7 Sexuelle Vermehrung bei Zygomyceten. Zygomyceten, hier *Phycomyces blakesleeanus*, bilden neben den asexuellen Sporangien sexuelle Vermehrungsstadien, die Zygosporen, die in unreifem und von Hyphengeflechten umgebenem, reifem Zustand gezeigt sind. Der Entwicklungszyklus von *Rhizopus stolonifer* ist rechts dargestellt (Aufnahmen H. Kothe, Jena).

3.6 Saprophytisches Wachstum

Die Ernährung der Pilze ist **chemoorganotroph** und meist **saprophytisch**; es gibt aber auch symbiontische und parasitäre Formen. Die Substrataufnahme erfolgt nicht über Pinocytose oder Phagocytose, sondern die Nährstoffe werden durch extrazelluläre Enzyme zu Monomeren oder kurzen Oligomeren abgebaut, die dann direkt in die Zelle aufgenommen werden. Terrestrische Saprophyten sind häufig eng mit **symbiontischen** oder **parasitischen** Pilzen vergesellschaftet. Die Zusammensetzung der Gemeinschaften lässt sich häufig für ein Biomonitoring nutzen. Dabei sind besonders solche Pilze wichtig, die im Rohhumus zur Mineralisierung beitragen, unter ihnen solche, die auf tierischen Exkrementen leben, oder Braun- und Weißfäulepilze, die Kompost und Holz umsetzen.

Viele saprophytische Pilze leben im Bereich der Pflanzenwurzeln und sind somit der Rhizosphäre zuzuordnen. Dabei können symbiontische oder parasitische Interaktionen entstehen, und eine Trennung in saprophytische und symbiontische oder parasitische Formen ist häufig schwer zu treffen. Saprophyten können sich im Boden ohne direkte Assoziationen ausbreiten. Daneben existieren seltenere aquatische und marine Pilze. Das filamentöse Wachstum ermöglicht ein Eindringen in die Nahrungsquelle, sodass diese von innen heraus aufgeschlossen werden kann. Bodenzpilze sind oft Bewohner von **Rohhumus** mit Holzanteilen, abgestorbenen Pflanzenmaterialien, Tierexkrementen und Kadavern zu nennen. Auf den unterschiedlichen Substraten sind häufig spezielle Mikrofloren zu finden.

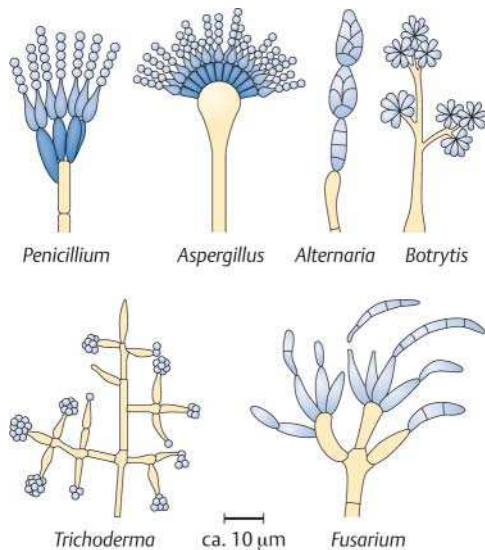


Abb. 3.8 Verschiedene Conidien bei Schimmelpilzen und phytopathogenen Arten.

3.6.1 Schimmelpilze

Schimmelpilze haben für die Ausbreitung spezielle Strategien entwickelt, wie die Bildung asexueller Sporen bei vielen Pilzen der Agrarböden (z.B. bei den Ascomyceten *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Cladosporium*, bei den Zygomyceten *Mucor*, *Mortierella*). Durch die saprotrophe Ernährungsweise können Pilze auch viele unserer Nahrungsmittel infizieren. Bei dem typischen grünen Brotschimmel oder den Schimmelbelägen auf Marmelade handelt es sich beispielsweise um *Penicillium* und *Aspergillus*-Arten. Durch asexuelle Vermehrung mittels **Conidiosporen** (Abb. 3.8) ist eine schnelle Ausbreitung möglich, sodass in kurzer Zeit beispielsweise ganze Getreidelager verderben können. Dabei fördert eine feuchte Umgebung den Befall. Daher werden Schimmelpilze auch in feuchten Wohnräumen beobachtet, deren Tapete ausreichend organische Substrate enthält. Die massive Produktion von asexuellen Conidiosporen in geschlossenen Räume kann zu einer Gesundheitsbelastung mit einem allergisch geprägten Krankheitsbild und sogar bis zum Pilzasthma führen. Auf Nahrungsmitteln ist das Wachstum von Schimmelpilzen dagegen häufig mit der Bildung von **Mykotoxinen** (Kap. 3.10.2) verbunden, die sich durch Diffusion, insbesondere in wässrigen Nahrungsmitteln wie Birnen oder Tomaten ausbreiten. Eine der wirtschaftlich bedeutendsten Gattungen von Mykotoxinbildnern ist *Fusarium*. Die auf Getreide gebildeten Mykotoxine können nicht nur für den Menschen schädlich sein, sondern auch in der Tierhaltung können sie durch verdorbenes Futtergetreide großen Schaden anrichten. Der Mykotoxingehalt des Getreides wird deshalb mit Schnelltests überprüft.

3.6.2 Weißfäule und Braunfäule

Der Abbau von Lignin erfolgt in der Natur in erster Linie durch **Weißfäulepilze**. Dieser, in der Natur häufige und nachwachsende Rohstoff fixiert einen Großteil des gebundenen Kohlenstoffs. Dieser wird im Stoffkreislauf durch Pilze wieder verfügbar gemacht, die das heterogene Ligningerüst mittels radikalischer Reaktionen abbauen. Erst durch den Abbau des Lignins wird auch der Celluloseanteil bioverfügbar. Während des Ligninabbaus durch Weißfäulepilze bleicht das Holz aus und es entsteht ein weißes, lockeres Gefüge, das im Wesentlichen aus der Cellulose der Pflanzenzellwände besteht. Bei der **Braunfäule** wird dagegen nicht das Lignin, sondern der Cellulose- und Hemicelluloseanteil des Holzes zersetzt, sodass das braune Lignin zurückbleibt (Kap. 1.6.1 und 10.4). Sowohl Weiß- wie auch Braunfäulepilze sind damit wesentlich am Kohlenstoffkreislauf der Natur beteiligt, denn ohne sie würde der gesamte Anteil des im Holz gebundenen Kohlenstoffs nicht mineralisiert und stünde somit nicht wieder als Nährstoff zur Verfügung.

Weißfäulepilze besiedeln in der Regel totes Holz; es gibt allerdings auch pathogene Arten, die lebende Bäume schädigen. Aber auch der Abbau von totem Holz durch Weiß- und Braunfäulepilze kann unerwünscht sein. Besonders gefürchtet ist der Befall von Bauholz, z. B. in Fachwerkhäusern, durch den **Hausschwamm** (*Serpula lacrymans*). Hat sich der Pilz erst einmal in einem Haus ausgebreitet, ist die Bekämpfung fast unmöglich. Besonders fatal ist, dass der Pilz zur Infektion des Holzes zwar Feuchtigkeit benötigt, dann aber nicht mehr auf Wasser angewiesen ist, da ihm das beim Ligninabbau entstehende, metabolische Wasser für sein Wachstum ausreicht.

3.7 Mykorrhiza – Symbiose zwischen Pilz und Pflanze

Pilze sind bereits vor ca. 1 Milliarde Jahren als eigenständige Gruppe entstanden. In dieser langen Zeit haben sie nicht nur verschiedene Lebensräume erobert, sondern auch die Möglichkeit gehabt, sich an andere Organismen anzupassen. Das kann in Form von Parasitismus oder in einer mutualistischen Symbiose geschehen. Beide Formen der Interaktion zwischen Pilzen und Pflanzen sind für die Landwirtschaft von großer Bedeutung. Flechten repräsentieren eine weitere Symbiose von Pilzen mit photosynthetisch aktiven Organismen.

Das Wort **Mykorrhiza** bedeutet „Pilzwurzel“, was die Interaktion sehr gut beschreibt. Je nachdem, ob der Pilz dabei in die Zellen der Wirtspflanze eindringt oder im Gewebe zwischen den Pflanzenzellen wächst, unterscheidet man **Endomykorrhiza** und **Ektomykorrhiza**. Zusätzlich kann man einige weitere, spezielle Mykorrhizaformen unterscheiden, wie die der Orchideen oder der Ericaceen. Die ältere Symbioseform ist die Endomykorrhiza, deren Alter auf ca. 450 bis 480 Millionen Jahre geschätzt wird (s. S. 76).

Alle Mykorrhizen verbessern das Wachstum der Pflanze, insbesondere wenn diese unter Stress steht, da die Symbiose eine bessere Versorgung der Pflanze mit Wasser und Mineralstoffen sichert (Abb. 3.9a). Über 90 % aller Landpflanzen sind in der Lage, Mykorrhiza mit geeigneten Pilzpartnern auszubilden.

3.7.1 Arbuskuläre Endomykorrhiza

Die meisten krautigen Pflanzen bilden Endomykorrhiza-Symbiosen mit Pilzen aus der Gruppe der **Glomeromycota** aus. In dieser Gruppe sind 130 Arten zusammengefasst, die mit etwa 80 % aller Landpflanzen ein Symbiose eingehen. Diese Pilze sind **obligate Symbionten** und damit für ihr Überleben auf einen Wirt angewiesen. Eine saprophytische Lebensweise ohne Wirt ist für sie nicht möglich. Für die Entwicklung der Symbiose muss zunächst eine Spore des Pilzes keimen. Anschließend bildet sich ein verzweigtes, aber relativ kleines Mycel, das zur weiteren Entwicklung eine geeignete Pflanzenwurzel benötigt. Findet der Pilz keinen in

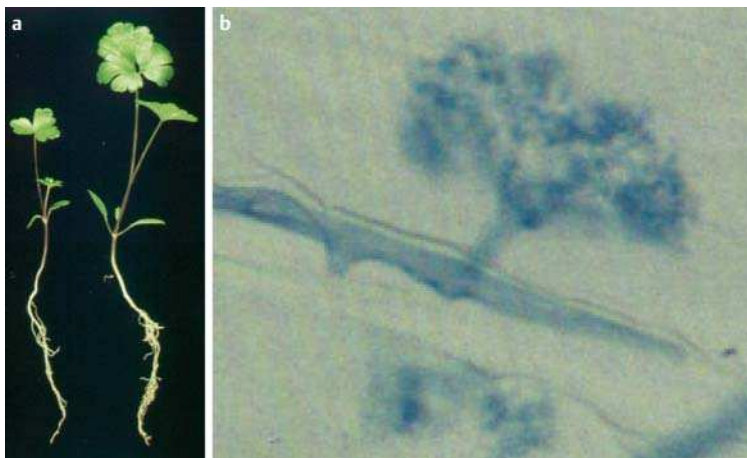


Abb. 3.9 Endomykorrhiza. **a** Durch die Symbiose erhalten die Pflanzen insbesondere unter Nährstoffmangel einen Wachstumsvorteil: Petersilie ohne (links) und mit Mykorrhiza (rechts). **b** Arbuskelbildung durch Endomykorrhizapilze (*Glomus mossae*) im Gewebe der Pflanzenwurzel (Aufnahmen Philipp Franken, Großenbeeren).

Frage kommenden Wirt, zieht sich das Protoplasma zum Großteil wieder in die ursprüngliche Spore zurück und legt eine Ruhephase ein, bevor sie erneut auskeimen kann. Trifft der Pilz auf eine geeignete Pflanzenwurzel, verstärkt sich sein Wachstum und er bildet mehr Verzweigungen. Er wächst auf die Pflanzenwurzel zu, auf deren Oberfläche sich dann eine Infektionsstruktur ausbildet. Von pathogenen Pilzen sind solche verdickten, angehefteten Zellen auf der Pflanzenoberfläche, die **Appressorien**, bekannt. Ausgehend vom Appressorium dringt eine **Infektionshyph**e in das Wirtsgewebe ein und wächst zunächst zwischen den Zellen, wobei sich **Vesikel** bilden können. Nach diesem anfänglichen **interzellularen Wachstum** beginnt der Pilz, auch **intrazellulär** zu wachsen und Strukturen zu bilden, die an kleine Bäumchen (**Arbuskel**) erinnern (Abb. 3.9b). An dieser, stark vergrößerten Oberfläche erfolgt der Stoffaustausch zwischen Pilz und Pflanze. Der heterotrophe Pilz erhält von der Pflanze insbesondere die Photosyntheseprodukte, während der Pilz über ein ausgedehntes Bodenmycel außerhalb der Pflanzenwurzel Mineralstoffe, Stickstoff, Phosphor und Wasser aufnimmt und an den Wirt übergibt.

Ähnliche Strukturen, die in der Pflanzenwurzel in Form der Vesikel und Arbuskel sichtbar sind, wurden bereits in Versteinerungen aus dem Ordovizium bzw. Devon gefunden. Dies belegt, dass es die Symbiose bereits vor 400–460 Millionen Jahren gegeben hat. Zu dieser Zeit erfolgte die Entwicklung der Landpflanzen. Möglicherweise hat die arbuskuläre Mykorrhiza für die Weiterentwicklung vasculärer Pflanzen eine wichtige Rolle gespielt, z.B. beim Ausgleich der Wasserversorgung und der Zuführung von Mineralstoffen in den zunächst schlecht ausgeprägten Wurzelsystemen.

3.7.2 Ektomykorrhiza

Die Pilze, die Ektomykorrhiza bilden, sind keine obligaten Symbionten. Sie sind **Saprophyten** und auch leicht ohne Wirt zu kultivieren. Es handelt sich vor allem um **Basidiomyceten**, aber auch einige andere Pilze wie **Ascomyceten**, beispielsweise die Trüffeln, bilden mit verholzenden Pflanzen ektotrophe Mykorrhiza. Besonders wichtig ist diese Mykorrhizaform für das Ökosystem des Waldes. Da ein Baum mit mehreren Pilzen gleichzeitig Mykorrhiza bilden und jeder Pilz durch das Mycel im Boden mehrere Baumpartner miteinander verbinden kann, bilden viele Bäume in einem Wald ein großes Netzwerk, das die relative Stabilität des Ökosystems Wald mit begründet. Wird die Mykorrhiza geschädigt, stirbt zu meist nicht nur ein einzelner Baum, sondern ganze Schläge zeigen Baum schäden, wie dies beim „Baumsterben“ in Folge von saurem Regen und hoher Schadstoffbelastung zu beobachten war.

Die Ektomykorrhizapilze bilden ein ausgedehntes Mycel im Waldboden. Während Pilze oft auf wenige Baumarten spezialisiert sind, zeigen Bäume keine Präferenz für bestimmte Pilze. Treffen die Hyphen auf einen möglichen Wirt bildet sich zunächst ein **Hyphenmantel** um die Kurzwurzeln des Baumes. Die Hyphen wachsen dann zwischen den Zellen der Rinde der Baumwurzel ein und verzweigen sich so stark, dass ein Netzwerk von Hyphen den Raum zwischen den Zellen ausfüllt. Diese Struktur wird als **Hartig'sches Netz** bezeichnet (Abb. 3.10). Dies ist auch die Stelle, an der aktiver Nährstoffaustausch stattfindet. Die Pilzhyphe n können die gesamte Rindenschicht bis zur Endodermis der Wirtszelle besiedeln, wachsen aber nicht in die Endodermis oder das Leitgewebe ein. Mit ihrem große Bodenmycel übernehmen sie dann die Aufgaben der Wurzelhaare, die in der Mykorrhiza nicht mehr gebildet werden. Während ein

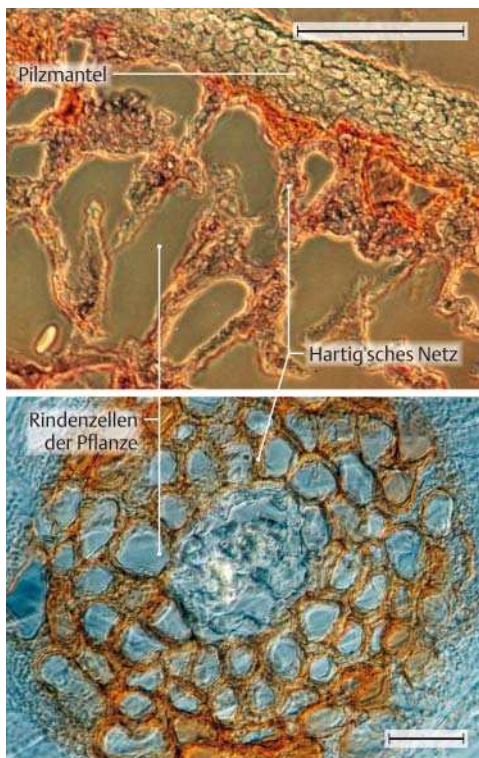


Abb. 3.10 Ektomykorrhiza. Ektomykorrhizapilze wie *Tricholoma terreum* bilden spezifisch mit der Kiefer (*Pinus sylvestris*), ihrem Wirtsbaum, einen Hyphenmantel um den Wurzelquerschnitt (links) und ein Hartig'sches Netz zwischen den Zellen der Rindenschicht der symbiontischen Kurzwurzel (rechts; Balken: ca. 50 µm, Aufnahme Erika Kothe, Jena).

Wurzelhaar in der Regel nur Tage lebt und dann von neu gebildeten Wurzelhaaren an der wachsenden Wurzelspitze ersetzt werden muss, behält das Bodenmycel seine Fähigkeit zur Stoffaufnahme über längere Zeiträume. Die Hyphen sind zudem feiner als die Feinwurzeln des Baumes, sodass der Boden vom Pilz auch besser aufgeschlossen werden kann.

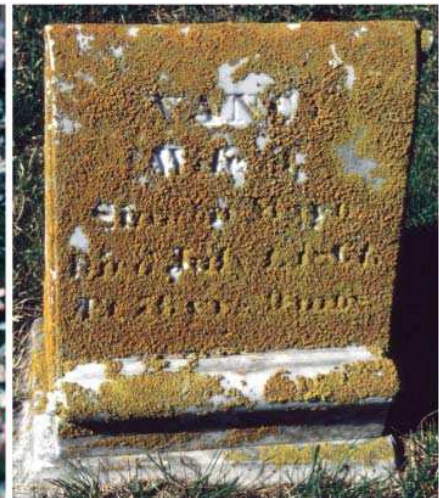
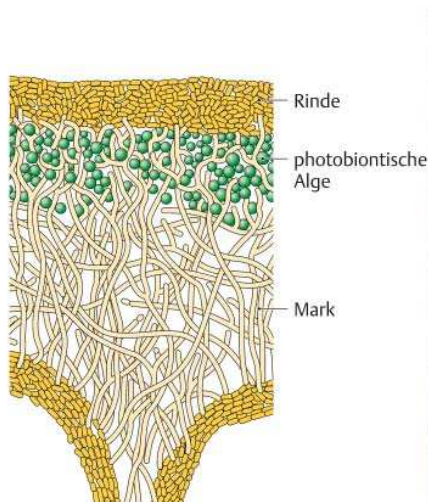
Für den Baum führt die Symbiose zu einer Verbesserung der Wachstumsbedingungen. Besonders unter Stress, beispielsweise durch Trockenheit oder durch Schadstoffbelastung, kann die Mykorrhizierung für den Baum lebenswichtig sein. Darüber hinaus wird durch Mykorrhiza auch die Anfälligkeit gegenüber parasitischen Mikroben herabgesetzt. Der Pilz benötigt die Symbiose besonders für seine Vermehrung, denn Ektomykorrhizapilze sind nicht in der Lage, Fruchtkörper oder Sporen ohne ihren Baumpartner zu bilden. Ein Beispiel stellt der Steinpilz (*Boletus edulis*) dar, der daher auch nicht in Kultur gezogen werden kann.

Die **Wirtsspezifität** einzelner Mykorrhizapilze kann man daran erkennen, dass ihre Fruchtkörper immer nur unter einer oder zwei bestimmten Baumarten zu finden sind. Dies ist auch im Namen einiger Pilze erkennbar, beispielsweise beim Birkenpilz (*Leccinum scabrum*) oder Lärchenröh-

Plus 3.4 Flechten: Leben mit Pilzen an Extremstandorten

Eine andere Form der Symbiose gehen Pilze mit photosynthetisch aktiven Mikroorganismen ein. Dabei entstehen Flechten. Ascomyceten, aber auch einige Basidiomyceten und wenige Zygomyceten bilden mit Algen (vor allem Grünalgen) oder Cyanobakterien einen gemeinsamen **Thallus**. Dieser kann von krustigen Überzügen auf Felsen oder Baumrinde über blattartige Formen bis zu stark ausdifferenzierten Strauch- und Bartflechten reichen (Abb.). Weil der photosynthetisch aktive Partner Zucker zur Verfügung stellt, erlaubt die Lebensgemeinschaft mit der Alge oder dem Cyanobakte-

rium (**Photobionten**) dem Pilz (**Mykobionten**) das Wachstum an Standorten, an denen ein saprophytisches Wachstum nicht möglich wäre. Die Photobionten erhalten als Gegenleistung eine gleichmäßige Wasserversorgung, Schutz vor Austrocknung und vor Pathogenen. Besonders deutlich wird der Vorteil an Extremstandorten wie besonnten Felsen in der Wüste oder in der Antarktis, wo Flechten noch vorkommen können, während Pflanzen nicht in der Lage sind, bei den starken Temperaturschwankungen und dem Trockenstress zu überleben.



Flechten bilden gemeinsame Thalli aus Pilzhyphen und photosynthetisch aktiven Algen oder Cyanobakterien. Eine Rindenschicht erlaubt das Wachstum an Extremstandorten, die von anderen Organismen nicht erobert werden können. Die Aufnahmen zeigen die roten Apothecien des Pilzes bei *Cladonia* (links) sowie das Wachstum auf Stein, der sich in der Sonne stark aufheizen kann (rechts) (Aufnahmen Erika Kothe, Jena).

ling (*Suillus viscidus*). Die molekularen Vorgänge, die bei der Ausbildung der Symbiose eine Rolle spielen, sind erst unvollständig untersucht. Die Bedeutung dieser Symbiose für die Physiologie der Pflanzen steht aber außer Frage. Die Pflanzenernährung – auch die der meisten Nutzpflanzen – kann praktisch nie ohne den Beitrag von Pilzpartnern betrachtet werden.

3.8 Parasitismus

Parasitische Interaktionen sind bei saprophytisch lebenden Organismen nicht ungewöhnlich. So ist es nicht verwunderlich, dass Pilze auf anderen Pilzen (mykoparasitisch), auf Tieren (tierpathogen), an oder im Menschen (humanpathogen) oder auf Pflanzen (phytopathogen) auftreten können. Die phytopathogenen Pilze können noch weiter unterteilt werden in solche, die biotroph auf lebende Wirtszellen angewiesen sind und solche, die necrotroph die Pflanzenzellen zunächst abtöten und dann auf dem abgestorbenen Pflanzengewebe wachsen.

Pilze sind durch ihr filamentöses Wachstum besonders gut in der Lage, in Pflanzenzellen einzudringen und als Phytopathogene auf Kosten der Wirtspflanze zu leben. Aber auch tier- und humanpathogene Arten machen vom gerichteten Hyphenwachstum Gebrauch, um ihren Wirt zu besiedeln. Nematoden fangende Pilze haben die Fähigkeit zur Bildung von Fallen entwickelt, mit denen sie bewegliche Fadenwürmer fangen. Dabei kann es sich um Klebefallen an spezialisierten Hyphen oder auch um Schlingen handeln. Solche Schlingen ziehen sich nach Berührung um den Wirt zusammen und ermöglichen dem Pilz damit, die gefangene Beute durch Einwachsen zu besiedeln.

3.8.1 Phytopathogene Pilze

Im Gegensatz zu phytopathogenen Bakterien sind viele Pilze in der Lage, aktiv in eine intakte Pflanzenzelle einzudringen. Um dies zu erreichen, werden oft Enzyme wie **Lipasen**, **Cutinasen**, **Cellulasen** und **Xylanasen** genutzt. Alternativ oder zusätzlich ist ein mechanisches Vorgehen bei Pilzen häufig: das Eindringen mithilfe von spezialisierten Strukturen, den so

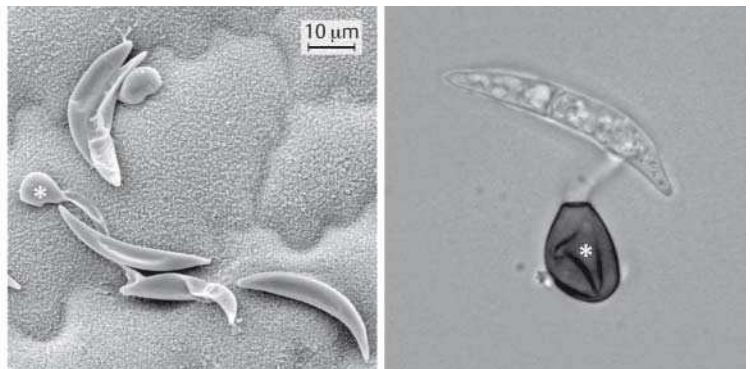
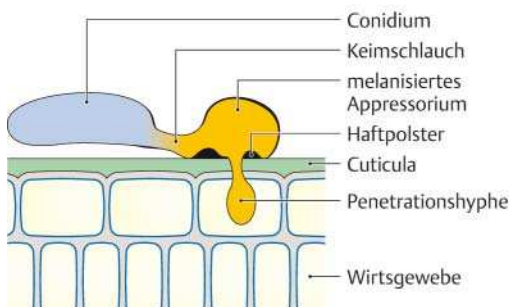


Abb. 3.11 Bildung von Appressorien. Nach der Keimung des Conidiums, hier bei *Colletotrichum graminicola*, wird am Keimschlauch ein Appressorium ausgebildet, das mit einer Penetrationshypha durch die Cuticula der Pflanze dringt. Im Pflanzengewebe kann sich dann der Pilz etablieren. (*, melanisierte Appressorien; elektronenmikroskopische Aufnahme Richard Guggenheim, Basel; lichtmikroskopische Aufnahme Holger Deising, Halle).

genannten **Appressorien**, die auf der Blattoberfläche gebildet werden, um dann am Boden des Appressoriums das Einwachsen einer **Infektionshyph**e zu ermöglichen. Hierzu wird im Appressorium ein Druck von bis zu 80 bar erzeugt (zum Vergleich: ein Autoreifen wird mit 2 bar aufgepumpt). Möglich wird dies dadurch, dass die Porendurchmesser in der Pilzzellwand durch Melanineinlagerung verkleinert werden, sodass sich im Appressorium osmotisch aktive Stoffe anhäufen können und Wasser in die Zelle strömt. Dadurch wird der Turgor so weit erhöht, dass die Cuticula und die Zellwand der Pflanze durchdrungen werden können (Abb. 3.11). Nach der Penetration kann sich der Pilz im Pflanzengewebe etablieren. Obligat biotrophe Pathogene bilden dann **Haustorien**, mit deren Hilfe sie Nährstoffe aus den lebenden Wirtszellen aufnehmen.

Die Pflanzen sind in der Lage, sich gegen pathogene Pilze zu schützen, indem sie eine **Hypersensitive Reaktion** einleiten. Dabei sterben die befallene Zelle sowie die umgebenden Zellen einen induzierten Zelltod, sodass der Pilz von seinen Nährstoffreserven abgeschnitten wird und bis auf eine örtlich eng begrenzte **Nekrose** der Pflanze insgesamt kein weiterer Schaden entsteht. Die Induktion der Hypersensitiven Reaktion wird durch die Erkennung von Signalmolekülen des Pathogens ausgelöst, wobei in einer Co-Evolution zwischen Wirt und Pathogen immer neue Erkennungssysteme der Pflanze entstehen, die vom Pilz durch mutative Veränderung des auslösenden Signalmoleküls unterlaufen werden. Da diese Prozesse immer auf der direkten Interaktion zweier Genprodukte der beiden Kontrahenten beruhen, wird diese Abwehr mit der **Gen-für-Gen-Hypothese** beschrieben (Plus 3.5).

Ascomyceten

Viele Ascomyceten sind phytopathogen, wobei **biotrophe** (von lebenden Pflanzenzellen abhängige) und **necrotrophe** (abgetötete Pflanzenzellen sichern die Ernährung des Pathogens) Organismen unterschieden werden. Als ein Beispiel wird hier das biotrophe Pathogen *Claviceps purpurea* genannt werden. Dieser Pilz löst die Bildung des Mutterkorns aus, das an Getreide und Wildgräsern leicht beobachtet werden kann. Die Infektion geschieht durch Ascosporen. Die Art ist spezifisch für Gräser und die Infektion auf die Narbe beschränkt, von der aus ein Keimschlauch bis zu den Ovarien wächst und an die Leitbündel der Pflanzen anschließt. Die Ascosporen bilden Hyphen mit Conidien, deren Sporen abgegeben werden und im Fruchtknoten **Sklerotien** bilden, die als schwarzes „Mutterkorn“ aus den Spelzen der Ähre herausragen. Die Sklerotien fallen zu Boden und dienen der Überdauerung. Im Frühjahr keimen sie aus und bilden Fruchtkörper mit Perithezien. In den Perithezien entstehen die Asci mit den Ascosporen, die dann wiederum die Narben von Gräsern befallen. Die im Sklerotium eingelagerten Mutterkornalkaloide können – wie andere Mykotoxine – Schädigungen des Nervensystems hervorrufen (Abb. 3.12).

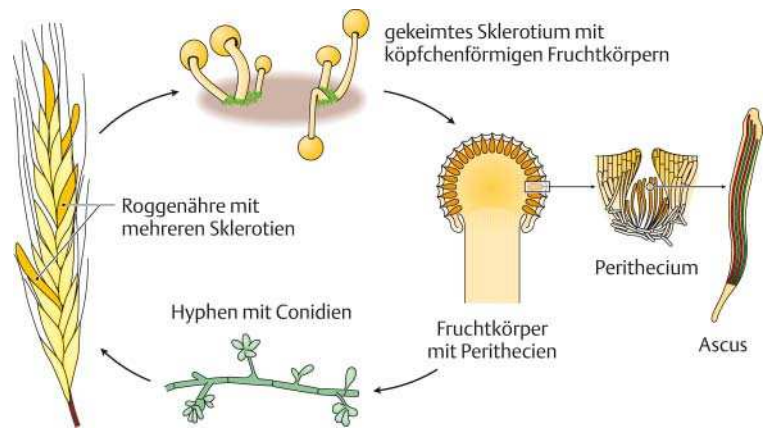
Basidiomyceten

Bei den Basidiomyceten sind insbesondere die Rost- und Brandpilze phytopathogen. Die Ausbildung spezieller Infektionsstrukturen ist – wie jede differenzielle Entwicklung – abhängig von speziellen Signaltransduktionswegen, die durch exogene Signale ausgelöst werden. Beim Maisbeulenbrand *Ustilago maydis* wurden solche Signaltransduktionswege untersucht. Hier ist die Pathogenität direkt an die Kreuzungstypgene gekoppelt,

Plus 3.5 Gen-für-Gen-Hypothese zur Beschreibung der Interaktion Pflanze/Pilz

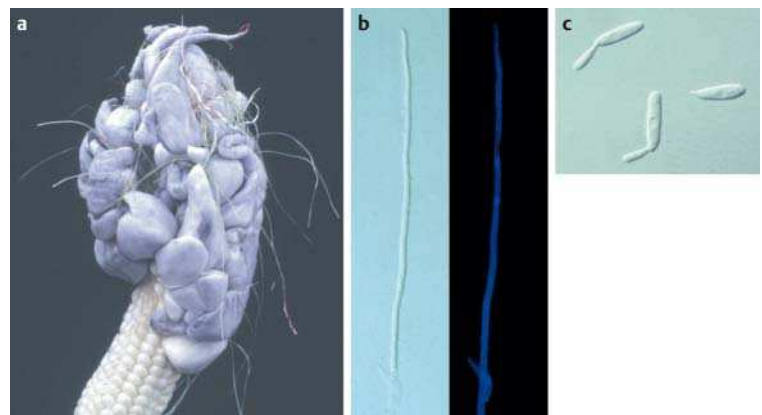
Besonders gut untersucht ist die Interaktion zwischen dem Pilz *Cladosporium fulvum* und der Tomate. Im Pilz finden sich **Avirulenzgene**, während die Pflanze **Resistenzgene** besitzt, bei deren Genprodukten es sich um Rezeptorsysteme handelt. Diese interagieren mit den Produkten der Avirulenzgene des Pilzes und lösen in der Pflanzenzelle die Hypersensitive Reaktion aus. Die Avirulenzgene codieren für verschiedene extrazelluläre Proteine, die der Pflanze direkt oder durch Produkte einer spezifischen, enzymatischen Reaktion zur Erkennung des Pilzes dienen können. Bei den Produkten der Avirulenzgene kann es sich um völlig verschiedene Proteinklassen handeln, darunter auch Enzyme, die der Pilz in den Interzellularraum abgibt. Bei der Konfrontation zwischen Tomate und Pilz folgt immer dann eine Hypersensitive Reaktion, wenn der entsprechende Rezeptor, also das Genprodukt des Resistenzgens der Pflanze, und der passende **Elicitor** des Pathogens, für den ein Avirulenzgen codiert, zusammentreffen. In diesem Fall, und nur in diesem Fall, erfolgt eine **inkompatible Interaktion**, die das Überleben der Pflanze sichert. In den Kombinationen, in denen entweder Avirulenzgene des Pilzes oder entsprechende Resistenzgene der Pflanze fehlen, entsteht eine kompatible Interaktion und die Tomate erkrankt. Daher wird eine Pflanze um so bessere Resistenz zeigen, je mehr verschiedene Resistenzgene sie enthält. Der Pilz ist virulent, wenn er keines der erkannten Avirulenzgene exprimiert.

Abb. 3.12 Lebenszyklus des Mutterkornpilzes *Claviceps purpurea*. Während die Sklerotien der Überdauerung dienen und mit den Fruchtkörpern keimen, in denen die Vorgänge der sexuellen Vermehrung stattfinden, dient ein zwischengeschaltetes, asexuelles Vermehrungsstadium mit Conidiosporen der Ausbreitung während der Vegetationsperiode.



denn die haploiden **Sporidien** sind nicht pathogen. Die Sporidien wachsen hefeartig durch Sprossung und können auch saprophytisch ohne einen pflanzlichen Wirt leben. Zur Infektion müssen zwei kompatible Sporidien unterschiedlichen Kreuzungstyps fusionieren und ein **Dikaryon** bilden (vgl. Abb. 3.3). Durch die Kreuzung wird auch ein Wachstumswechsel induziert und das Dikaryon wächst zum Mycel aus, das für die Pflanze pathogen ist. Für die weitere Entwicklung ist der Pilz auf die Pflanze angewiesen. Das Mycel wächst in der Pflanze heran, es findet die Kernverschmelzung statt und in den auffallenden Tumoren werden die diploiden **Brandsporen** gebildet (Abb. 3.13). Nach dem Aufplatzen der Tumoren werden die Brandsporen verbreitet. Sie können mit einer Phragmobasidie auskeimen und bilden nach einer Meiose wieder haploide Sporidien.

Abb. 3.13 Der Maisbeulenbrand *Ustilago maydis*. **a** Tumorbildung in Maiskolben, wobei die dikaryotische, filamentös wachsende Form in der Pflanze anzutreffen ist. **b** Das Dikaryon kann durch Kernfärbung sichtbar gemacht werden (lichtmikroskopische Aufnahme [oben] und Kernfärbung [unten]). **c** Paarung zweier haploider Sporidien mit unterschiedlichen Kreuzungstypen (Aufnahmen Michael Bölker, Marburg).



3.8.2 Tier- und humanpathogene Pilze

Nicht nur Pflanzen sondern auch Tiere und der Mensch können durch pathogene Pilze befallen werden. Allerdings ist festzuhalten, dass nur wenige Pilze in der Lage sind, sich auf oder in Warmblütern zu vermehren und krankhafte Veränderungen auszulösen. Eine **Mykose** ist dabei durch ein aktives Eindringen des Pilzes in das Wirtsgewebe gekennzeichnet. **Mykotoxikosen** werden dagegen von Mykotoxinen ausgelöst, der Pilz muss dabei nicht unbedingt in den Wirt gelangen. Daneben gibt es noch

mykogene Allergien, die insbesondere durch Conidien der Pilze ausgelöst werden.

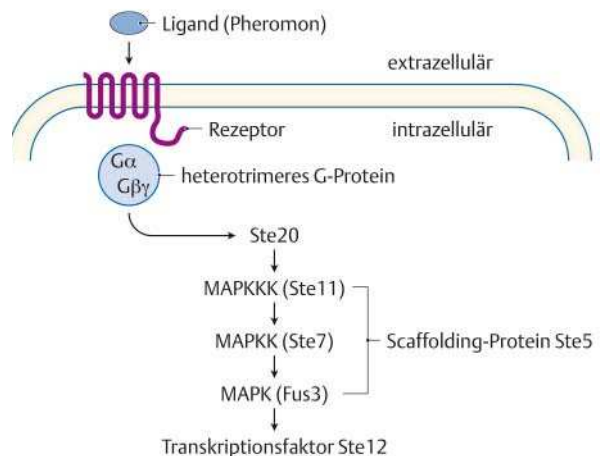
Entomopathogene Pilze sind in der Lage, Insekten anzugreifen und werden daher für die biologische Schädlingsbekämpfung eingesetzt. So kann die Weiße Fliege beispielsweise mithilfe von *Verticillium lecanii* bekämpft werden, während andere Pilze zur Bekämpfung des Maiszünslers oder des Dickmaulrüsslers eingesetzt werden. Auch Nematoden fangende Pilze können zum Schutz von Pflanzenkulturen ausgebracht werden.

Die relative Bedeutung von **Pilzerkrankungen des Menschen** im Vergleich zu bakteriellen Infektionskrankheiten nimmt derzeit weltweit drastisch zu. Dies ist nicht zuletzt eine Folge der guten Behandlungsmöglichkeiten mit Antibiotika gegen bakterielle Krankheiten. Man unterscheidet **Hautmykosen**, die oberflächlich auftreten, und **systemische Infektionen**, die sich im ganzen Körper ausbreiten. Zu den oberflächlichen Mykosen zählt z.B. die Windeldermatitis, da das Immunsystem bei Säuglingen noch nicht voll ausgereift ist und die feuchtwarmen Bedingungen in der Windel eines Säuglings gute Bedingungen für das Wachstum des Pilzes bilden.

Plus 3.6 Signaltransduktion

Nicht nur für den Wachstumsdimorphismus der Hefe *Candida* sind Signaltransduktionswege bekannt. Für viele Regulationsprozesse werden in der Signalweiterleitung innerhalb einer Zelle ähnliche Module in analoger Weise benutzt. In Signaltransduktionswegen, die in allen Eukaryonten zentrale Bedeutung für die Einleitung von Differenzierungsvorgängen haben, beruht ein wesentlicher Mechanismus auf der aufeinanderfolgenden Aktivierung von Kinasen durch Phosphorylierung. Der bestuntersuchte Weg dieser Signaltransduktion über MAP-Kinase-Kaskaden (s. u.) liegt für die Pheromonantwort in der sexuellen Entwicklung der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* vor (Abb.).

In diesem Signaltransduktionsweg wird ein Pheromon durch einen Rezeptor erkannt. Der Rezeptor gehört in der Regel zur Klasse der G-Protein-gekoppelten Sieben-Transmembran-domänen-Rezeptoren. Die Bindung eines Pheromons als spezifischem Liganden führt dazu, dass im gebundenen G-Protein GDP durch GTP ersetzt wird. Dadurch dissoziiert das G-Protein vom Rezeptor und die α -Untereinheit wird von der $\beta\gamma$ -Untereinheit freigesetzt. Damit sind beide Untereinheiten frei, Wechselwirkungen mit anderen Molekülen einzugehen und z.B. eine MAP-Kinase-Kaskade zu aktivieren. Durch aufeinanderfolgende Phosphorylierungsschritte erfolgt schließlich die Aktivierung eines Transkriptionsfaktors, der die pheromonspezifische Entwicklung einleitet. Ganz ähnliche MAP-Kinase-Module wirken in der Signaltransduktion des invasiven Wachstums, der Pseudohyphenbildung oder beispielsweise der Osmotoleranz. Bei Säugern sind analoge MAP-Kinase-Module vorhanden, deren Deregulation u.a. zur Krebsentstehung beitragen kann.



Die Pheromonantwort bei *S. cerevisiae*. Ein gut untersuchtes Beispiel für MAP-Kinase-Wege ist die Pheromonantwort bei *S. cerevisiae*. Hier wird nach Pheromonbindung an einen Rezeptor das Signal intrazellulär durch die $\beta\gamma$ -Untereinheit eines heterotrimeren G-Proteins weitergeleitet, die eine Kinasen-Kaskade aktiviert. Dabei wird zunächst das Protein Ste20p phosphoryliert, das seinerseits die MAP-Kinase-Kinase Ste11p phosphoryliert. Ste11p ist in der Lage, die MAP-Kinase-Kinase Ste7p zu aktivieren, die ihrerseits die MAP-Kinase Fus3p phosphoryliert. Die drei Proteine des MAP-Kinase-Moduls werden dabei vom Scaffoldprotein Ste5p zusammengehalten. Dadurch wird sichergestellt, dass das Signal nur innerhalb der Pheromonantwort-Kaskade weitergegeben wird, da die einzelnen Kinasen auch an anderen Signaltransduktionswegen beteiligt sind. Die MAP-Kinase aktiviert schließlich einen Transkriptionsfaktor Ste12p durch Phosphorylierung, der dann die Expression von Genen in der Pheromonantwort steuert.

Der wichtigste humanpathogene Pilz, der systemische Infektionen verursachen kann, ist die dimorphe Hefe *Candida albicans*. Sie lebt normalerweise als unschädlicher Kommensale im Darm, auf der Haut und auf Schleimhäuten, kann allerdings auch Vaginalmykosen verursachen. *Candida* kann unter gewissen Umständen invasiv in Gewebe eindringen und insbesondere bei immunkompromittierten Menschen eine systemische Infektion mit der Besiedlung innerer Organe wie der Niere erreichen, die häufig tödlich verläuft.

Mit der Pathogenese eng verknüpft ist bei *Candida* ein **Wachstumsdimorphismus**. Während die knospende Hefeform apathogen ist, dringen die Hyphen invasiv in das Gewebe ein und verursachen eine Mykose. Um möglicherweise Mycelbildung unterdrücken und so die Pathogenität von *Candida* beeinflussen zu können, sind die Signale und die intrazellulären Wege der Signaltransduktion bei *Candida* Gegenstand intensiver Forschung (vgl. Plus 3.6). Als Zielmoleküle zur Behandlung einer Infektion mit *Candida* bieten sich insbesondere die Genprodukte an, die an der Regulation der Morphogenese beteiligt sind. Signaltransduktionskaskaden, die den Dimorphismus regulieren, werden analog auch bei der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* untersucht. Hier kann unter geeigneten Bedingungen Pseudofilamentbildung beobachtet werden, die beispielsweise für Signalerkennungswege der pathogenen Form von *Candida* genutzt werden kann.

Ein weiterer humanpathogener Pilz ist *Cryptococcus neoformans* (Kap. 3.11.4). Er löst besonders bei immunkompromittierten Menschen eine Hirnhautentzündung aus und kann das Zentralnervensystem schädigen. Der Pilz wird meist mit Staub eingeatmet, der Partikelchen aus Vogelkot enthält, und besiedelt zunächst die Lunge, bevor er auf das Zentralnervensystem übergreift.

3.9 Pilzgenetik

Der einfache genetische Satz, das haploide Genom, ist bei Pilzen in der Regel $1-3 \cdot 10^7$ bp groß und auf unterschiedlich viele **Chromosomen** verteilt. Die Spaltheife *Schizosaccharomyces pombe* hat 3, der Brandpilz *Ustilago maydis* 20 Chromosomen. Darüber hinaus können **Plasmide** als extrachromosomale DNA-Elemente vorliegen, die sowohl linear wie circular sein können und beispielsweise bei der Bäckerhefe auch für gentechnische Manipulationen genutzt werden.

Neben der DNA im Kern gibt es in den Mitochondrien das **mitochondriale Genom**. Die Größe des mitochondrialen Genoms ist sehr unterschiedlich, wobei zwischen 19 kb (*Schizosaccharomyces pombe*) und über 100 kb (bei *Agaricus bitorquis*) gefunden wurden. Ein Plasmid der Mitochondrien wurde als Seneszenzplasmid des Ascomyceten *Podospira anserina* beschrieben. Es ist zunächst Teil der mitochondrialen DNA, aus der es dann während der Alterung der Stämme als 2539 bp großes, circulares Plasmid freigesetzt wird. Mit dem Ausschneiden des Plasmids geht dann eine Alterung der Stämme einher, die schließlich nicht mehr vermehrungsfähig sind.

Bei filamentösen Pilzen erfolgt eine Transformation mit fremden Genen, indem die eingebrachten Kopien in der Regel **ektopisch**, also an nicht homologen Stellen im Genom integriert werden. Die homologe Rekombination ist oft nur mit geringer Effizienz zu erreichen.

Allerdings ist eine Erkennung homologer Sequenzen auch in den Pilzen hoch entwickelt. So wurde bei Ascomyceten gezeigt, dass durch Einbrin-

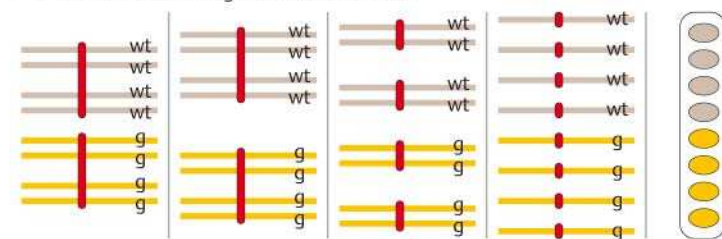
gen eines funktionellen Gens ein Mechanismus in Gang gesetzt wird, der zur Inaktivierung nicht nur der neu eingebrachten Kopie sondern, auch zur Inaktivierung der genomischen Kopie führt. Dieser Vorgang, der **RIP** (engl. repeat induced point mutation; die Abkürzung steht aber auch für „Rest In Peace“ als englische Grabsteininschrift bzw. für das lateinische „requiscat in pace“) genannt wird, kann genutzt werden, um gezielt Gene auszuschalten. Bei diesem Mechanismus kommt es prämeiotisch zur Einführung von Punktmutationen. Dadurch werden zufällig Stoppcodons erzeugt, durch die dann beide Gene inaktiviert werden.

3.9.1 Ascusanalyse

Da Pilze eine ausgeprägte Haplophase besitzen, sind sie besonders gut für genetische Analysen geeignet, da auch rezessive Mutationen direkt sichtbar werden. Besonders gut eignen sich dafür Ascomyceten. Die Pilzgenetik bedient sich der achtsporigen Asci, um Aussagen über **Rekombinationsereignisse** zu liefern, die auch in anderen Eukaryoten gültig sind. Aus den ursprünglich zwei Chromosomen mit jeweils 2 Chromatiden und damit insgesamt 8 DNA-Einzelsträngen eines diploiden Chromosomensatzes werden in der **ersten meiotischen Teilung** die Chromosomen verteilt, in der **zweiten meiotischen Teilung** trennen sich die Chromatiden, und in einer anschließenden **postmeiotischen Mitose** führt eine identische Replikation dazu, dass die ehemaligen Schwesterstränge in der DNA-Doppelhelix eines einzelnen Chromatids auf zwei unterschiedliche Sporen verteilt werden. Daher repräsentieren die acht einzelnen Sporen eines achtsporigen Ascus die acht DNA-Einzelstränge, die vor der ersten meiotischen Teilung im entstehenden Ascus vorlagen.

Als Marker lassen sich besonders gut Sporenfarben verwenden, denn diese werden direkt an den im Ascus liegenden Sporen sichtbar. Die Sporen sind haploid, sodass rezessive Mutationen direkt beobachtet werden können. Diploide Tiere oder Pflanzen dagegen müssen bei heterozygoten

a Normale 4:4-Verteilung ohne Rekombination



b Aberrante 4:4-Verteilung durch Rekombination

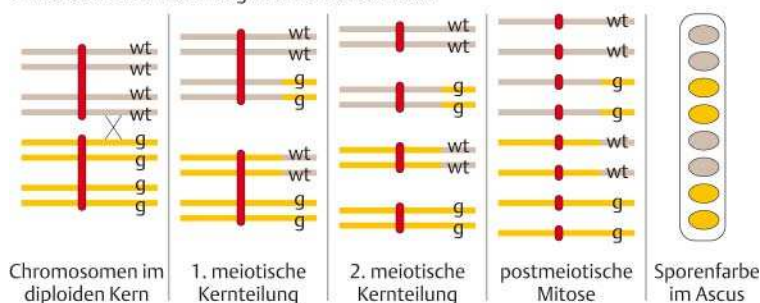


Abb. 3.14 Ascusanalyse zum Nachweis der Rekombination während der Meiose in achtsporigen Asci. a Eine Mutation (g), die die Sporenfarbe betrifft und für gelbe statt der schwarzen Wildtypsporen (wt) sorgt, wird bei einer Kreuzung nach den Mendel-Regeln verteilt. Die Hälfte der Sporen ist also gelb gefärbt (4:4-Verteilung, 4 schwarze, 4 gelbe Sporen hintereinander). Die Lage der gelben Sporen im Ascus ist durch die Lage der Centromeren (rot) der einzelnen Chromosomen bestimmt. b Bei einer Rekombination zwischen dem Farbmarker und dem Centromer entsteht eine aberrante 4:4-Verteilung (2:2:2:2). Weitere Erklärung siehe Text.

Box 3.2 Sporenfarbe als Marker bei der Ascusanalyse

Durch die schlauchförmige Morphologie des Ascus ist bei den Zellteilungen der Meiose (und der nachfolgenden postmeiotischen Mitose) kein „Platztausch“ der entstehenden 8 Zellen möglich. An der Stelle, an der sie entstanden sind, liegen die Sporen im Ascus. Da in den sich teilenden Kernen die Chromosomen durch die Spindel verteilt werden, und die Spindel an den Centromeren der Chromosomen ansetzen, ist die Lage der Sporen im Ascus durch die Lage der Centromeren bei der ersten meiotischen Teilung vorherbestimmt. Ist die Chromosomenverteilung also zufällig so, dass das Chromosom mit wildtypfarbenen, schwarzen Sporen oben liegt und das Chromosom mit der gelben Farbmutation unten, dann entstehen im Ascus unten 4 gelbe und oben 4 schwarze Sporen. Dies wäre eine reguläre 4:4-Verteilung, wie sie immer dann erwartet werden kann, wenn keine weiteren Prozesse wie z.B. Rekombination stattgefunden haben.

Durch Rekombination zwischen dem Farbmarker und dem Centromer entsteht dagegen eine abweichende Verteilung (Abb. 3.14b). Bei der Rekombination wurde ein Chromosomenarm vertauscht. Damit wird das Chromosom mit der ursprünglich auf beiden Chromatiden liegenden Wildtypsequenz so verändert, dass ein Chromatid jetzt die „gelbe“ Mutation trägt. Dementsprechend trägt das entsprechende Chromatid des Schwesterchromosoms jetzt das Wildtypallel. Die Anzahl der mutierten und nicht mutierten Chromatiden bleibt aber insgesamt gleich. Dadurch werden jetzt 2 schwarze und 2 gelbe Sporen unten und 2 schwarze und 2 gelbe Sporen oben gebildet, es kommt damit zu einer aberranten 4:4-Verteilung (2:2:2:2).

Durch Auszählen der Asci mit aberranter Sporenverteilung kann man bestimmen, wie oft eine Rekombination stattgefunden hat. Die Rekombinationshäufigkeit ist damit ein direktes Maß für den genetischen Abstand des Markers vom Centromer. Der Abstand zweier Gene, der so bestimmt wurde, wird in der Genetik in der Einheit Morgan angegeben (nach Thomas Hunt Morgan, der diese Einheit definiert hat). Bei den haploiden Ascomyceten entspricht die Rekombinationsfrequenz zwischen zwei Markern (hier Centromer und Farbmutation) direkt der Angabe in centiMorgan.

Merkmale erst mit einem rezessiven Elternteil rückgekreuzt werden, damit in der F₂-Generation die Auswirkungen rezessiver Mutationen sichtbar werden. Bei achtsporigen Ascomyceten jedoch wird eine 4:4-Verteilung der Sporenfarben direkt sichtbar (Abb. 3.14a). Rekombination mit anschließenden Reparaturereignissen führen zu abweichenden Verteilungen wie einer 5:3 oder 6:2-Verteilung der Sporenfarben im Ascus. Hier liegt eine **Genkonversion** vor, bei der zu Beginn der Meiose die Information eines Einzelstrangs (5:3) oder eines Doppelstrangs (6:2) entfernt wurde und die anschließende Reparatur anhand eines nicht homologen Bereichs des Schwesterchromosoms erfolgte (Abb. 3.14b, Box 3.2).

3.9.2 Molekulargenetik mit eukaryontischen Systemen

Bei der Bäckerhefe können **Plasmide** als frei replizierende **Vektoren** eingesetzt werden, wie das auch bei *Escherichia coli* möglich ist. Dazu müssen die Plasmide einen Replikationsursprung tragen, der z. B. aus einem natürlichen Plasmid stammen kann. Ein solches, frei replizierendes Plasmid ist das 2 µm große 2µ-Plasmid der Hefe. Es enthält das sog. 2µ-Element, das häufig als Replikationsursprung eingesetzt wird. Es können aber auch Sequenzen benutzt werden, die den Replikationsursprüngen auf den Chromosomen entsprechen. Diese Sequenzen ermöglichen die Replikation von extrachromosomalen Sequenzen und werden daher als autonom replizierende Sequenzen oder **ARS-Elemente** bezeichnet. Bei der Knospung kann die Verteilung von Plasmiden, insbesondere wenn sie in geringer Kopienzahl vorliegen, instabil sein, da sie zufällig auf die beiden Tochterzellen verteilt werden. Damit eine stabile Weitergabe erreicht wird, können solche Plasmide mit Centromersequenzen, **CEN-Regionen**, ausgestattet werden. Die CEN-Region garantiert, dass die Plasmide über die Teilungsspindel an beide Tochterzellen weitergegeben und so gleichmäßig verteilt werden. Als **Selektionsmarker** eignen sich neben Resistenzgenen auch Gene für die Biosynthese von Aminosäuren oder Uracil. So können Stämme, die Tryptophan nicht mehr selbst synthetisieren können, mit dem entsprechenden Synthesegen komplementiert werden und sind dann wieder in der Lage, auf einem Medium ohne Tryptophan zu wachsen.

Neben solch frei replizierenden Plasmiden sind aber auch **Integrationsvektoren** gebräuchlich (Abb. 3.15). Diese tragen lediglich den Selektionsmarker und werden durch Integration ins Wirtsgenom stabil weitergegeben. Solche Vektoren sind insbesondere für filamentöse Pilze gebräuchlich, für die in der Regel keine Plasmide als Vektoren zur Verfügung stehen. Die Integration erfolgt ektopisch, also an nicht homologen Stellen im Genom des Pilzes. Weitere Anforderungen an die transformierende DNA müssen kaum gestellt werden, weil sowohl circuläre als auch lineare Fragmente gute Transformationsergebnisse erzielen. In Abhängigkeit vom betrachteten Pilz ist der Erfolg von linearen Fragmenten in der Transformation sogar bis zu 100fach höher.

Für eine **Expression** der klonierten Sequenzen müssen pilzliche Promotoren vorhanden sein. Diese sind nicht immer leicht aus der Sequenz abzuleiten, da die für Eukaryonten typischen Elemente CAAT-Box und TATA-Sequenz oft fehlen. In Hymenomyceten konnte außerdem gezeigt werden, dass Introns für eine Expression essenziell sein können, wobei das Intron nicht notwendigerweise in der codierenden Sequenz liegen muss, sondern auch im nichttranslatierten Bereich der mRNA angeordnet sein kann.

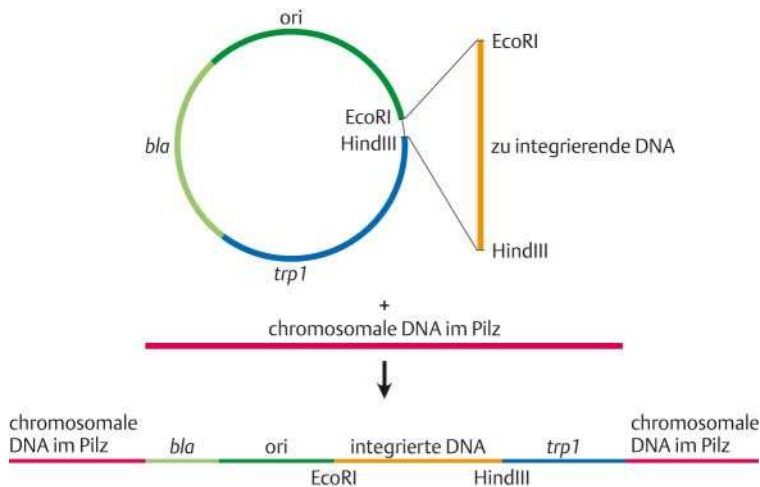


Abb. 3.15 Vektoren für die Transformation von Pilzen. Integrationsvektoren werden meist in *Escherichia coli* hergestellt. Sie enthalten alle notwendigen Anteile zur Verwendung in *E. coli* (*ori* für die Replikation des Plasmids und ein Resistenzgen, z. B. *bla*). Darüber hinaus sind der Selektionsmarker für die Selektion im Pilz (hier *trp1*) und die Klonierungsstellen zum Einbringen der gewünschten Sequenzen (z.B. *EcoRI* und *HindIII*) enthalten. Die Integration erfolgt unspezifisch, wobei der ganze Vektor integriert werden kann. Es sind aber auch Mehrfachintegrationen oder teilweise Integration möglich.

Die **Transformation** von Pilzzellen mit dem gewünschten DNA-Fragment setzt die Aufnahme der Fremd-DNA voraus. In der Regel werden zur Transformation Protoplasten (Zellen, denen die Zellwand entfernt wurde) verwendet, die in Gegenwart von Polyethylenglykol fusionieren und dabei leichter DNA aufnehmen. Damit der Transformationserfolg besser zu sehen ist, sollten die Empfängerzellen vorzugsweise haploid und einkernig sein, wie dies bei Hefestadien, Conidiosporen oder anderen asexuell oder sexuell gebildeten Sporen häufig der Fall ist.

Eine alternative Transformationsmethode nutzt das für Pflanzen häufig verwendete, natürliche System der **Agrobacterium-vermittelten Transformation**. Das Bakterium löst natürlicherweise Wurzelhalsgallen an Wirtspflanzen aus. Diese werden durch den Einbau eines Stücks bakterieller DNA, der T-DNA, in das Genom der Pflanze induziert. Diese T-DNA ist Teil des Tumor induzierenden **Ti-Plasmids** aus *Agrobacterium tumefaciens*. Die für den Transfer notwendigen Proteine werden ebenfalls auf dem Plasmid codiert und erlauben die Herstellung des zu übertragenden DNA-Einzelstrangs, seine Verpackung und Übertragung. In der Wirtszelle kann dann ein Einbau der T-DNA in die nukleäre DNA erfolgen. Auslöser für die Expression der entsprechenden Gene für den T-DNA Transfer ist ein chemisches Signal, wie das von verletzten Tabakzellen abgegebene **Acetosyringon**. Für die gentechnische Verwendung wird die T-DNA-Sequenz auf dem Ti-Plasmid gegen die zu integrierende DNA-Sequenz aus Pilzpromotor und gewünschtem Gen ausgetauscht. Wenn pilzliche Zellen mit Acetosyringon und dem genetisch veränderten *Agrobacterium* inkubiert werden, wird die veränderte T-DNA aus dem Bakterium in die pilzlichen Zellen übertragen und in das Pilzgenom integriert. Damit lässt sich die Ausbeute bei der Transformation von Pilzzellen in einigen Fällen verbessern, insbesondere bei den schwerer handhabbaren Basidiomyceten.

3.10 Pilze in der Biotechnologie und Produktion

Pilze werden seit Urzeiten benutzt, um Produkte des täglichen Bedarfs herzustellen. So sind in Grabmalereien der Ägypter bereits die Wein- und Bierherstellung sowie das Brotbacken dargestellt. Und Speisepilze werden ebenfalls schon immer verzehrt und zumindest in China seit Jahrtausenden

für den Verzehr angebaut. Daneben werden spezielle Stoffwechselleistungen des Sekundärmetabolismus, beispielsweise für die Gewinnung von Antibiotika oder die Herstellung und Veredelung von Speisen wie Camembert eingesetzt. Durch die Entwicklung in der Gentechnik ist die Bedeutung der Pilze erneut gewachsen, denn es ist möglich geworden, die Bäckerhefe oder auch filamentös wachsende Pilze für die Produktion von gentechnisch erzeugten Produkten gezielt zu modifizieren. Die Pilze sind wie alle Eukaryonten in der Lage, Genprodukte posttranslational zu modifizieren, beispielsweise durch Glykosylierung, sodass Anwendungen möglich sind, die mithilfe der bakteriellen Produktion nicht erfolgen können.

Die **Herstellung von Brot und Wein** erfolgt noch immer mit der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Für die Brotherstellung werden die aerobe Atmung und die anaerobe ethanolische Gärung des Pilzes genutzt. Dabei entsteht CO_2 , das den Teig auflockert. Für die Alkoholproduktion in Bier oder Wein wird die Hefe unter Luftabschluss zur ethanolischen Gärung veranlasst. Deshalb wird z.B. bei der Weinherstellung in Ballons ein Gärrohrchen eingesetzt, sodass das gebildete Gas entweichen, aber kein Sauerstoff eintreten kann.

Box 3.3 Mutagenese zur Stammverbesserung bei Produzentenstämmen

Weil **Conidiosporen** haploid und einkernig sind, eignen sie sich besonders gut zur Durchführung einer Mutagenese. Dieser Umstand kann genutzt werden, um für die Biotechnologie neue Stämme herzustellen. Besonders von der pharmazeutischen Industrie werden Conidiosporen durch Mutagenese verändert, um verbesserte Stämme für die Produktion zu erzeugen. So konnte die Antibiotikaproduktion durch *Penicillium chrysogenum* von 1 mg/l auf 50 g/l gesteigert werden.

Mutationen können durch physikalische (z.B. UV-Bestrahlung) oder chemische (z.B. alkylierende Agenzien) Behandlungen ausgelöst werden. Je nach angestrebtem Ziel werden die Überlebensraten der Conidien von 0,1–40% eingestellt und anschließend nach mutierten Stämmen mit verbesserten Eigenschaften gesucht.

Ein Beispiel aus der Lebensmittelherstellung für eine Optimierung durch Veränderung von Regulationssystemen ist die **Brauereihefe**. Sie wurde durch eine Derepression der Maltoseverwertung dazu gebracht, auch in Gegenwart von Glucose die angebotene Maltose zu nutzen. Da es sich hier um züchterische Veränderungen handelt und keine Gentechnik eingesetzt wurde, unterliegen diese verbesserten Stämme auch nicht dem Gentechnikgesetz und seinen Bestimmungen und können in der Produktion ohne weitere Auflagen verwendet werden.

3.10.1 Biotechnologie

Ein Stoffwechselprodukt von Pilzen, das biotechnologisch hergestellt wird, ist die **Citronensäure**, die für die Lebensmittelindustrie in großem Maßstab mithilfe von *Aspergillus niger* produziert wird. Aber auch Antibiotika werden von Pilzen erzeugt. Das erste Antibiotikum war **Penicillin**, das von *Penicillium notatum* gebildet wird und 1929 von Alexander Fleming als antibiotisch wirksam erkannt wurde. Seinerzeit wurden die Produzentenstämmen mit guter Ausbeute noch nicht durch Mutagenese erzeugt, sondern durch Testen und physiologische Optimierung vieler Isolate ausgewählt. Heute werden die Produktionsstämme durch Mutagenese und Selektion verbessert oder durch gentechnische Veränderungen im **Metabolic Engineering** gezielt konstruiert, um möglichst optimale Ausbeuten zu erreichen und dennoch eine leichte Reinigung der produzierten Pharmaka zu erlauben (Box 3.3).

Bei der Produktion von **Vitamin B₂** (Riboflavin) wird der Ascomycet *Ashbya gossypii* eingesetzt, der bereits als Wildtypstamm ein natürlicher Überproduzent des Vitamins ist. Um die Produktion noch weiter zu verbessern, können Gene aus dem Biosyntheseweg des Vitamins mit einem starken Promoter versehen in den Pilz eingebracht und so durch eine kontrollierte Expression zu einer Überproduktion dieses Genprodukts gebracht werden. Codiert das eingebrachte Gen ein Enzym, das die Biosynthese ursprünglich limitiert hat, können so mit dem gentechnisch veränderten Organismus größere Mengen des Produkts hergestellt werden.

3.10.2 Speisepilze und Pilzgifte

Auch Speisepilze werden bereits seit Jahrhunderten vom Menschen für den Verzehr nicht nur gesammelt, sondern auch gezielt produziert. Die Kultivierung von **Champignons** (*Agaricus bisporus*) beträgt weltweit jährlich mehrere Millionen Tonnen. Auch **Shiitake** (*Lentinus edodes*), **Austernseitling** (*Pleurotus ostreatus*) sowie einige weitere saprophytische Pilze werden ebenfalls ganzjährig produziert und geerntet. Die ersten Pilzzuchten sind aus Asien überliefert, wo bereits lange vor unserer Zeitrechnung Speisepilze produziert wurden. In Paris kultivierte man Champignons bereits um 1700 in Kellern; inzwischen sind die Niederlande aber der wich-

tigste Produzent dieser Speisepilze. Für die Produktion werden vorzugsweise Stämme genutzt, die eine gezielte und zeitlich definierte Fruchtkörperbildung garantieren.

Für die private Anzucht bekommt man in Gartencentern Pakete, die das Substrat – für Champignons beispielsweise einen reichen Kompost – bereits enthalten. Einige Wochen nach Beimpfen und Wässern dieses Substrats können die Pilze geerntet werden.

Für Pilze, die an Baumstämmen wachsen, etwa Austernseitlinge, werden Löcher oder Einschnitte in Baumstammabschnitten angebracht, die mit dem vorgezogenen Pilzmycel beimpft werden. Der Pilz breitet sich im Holz aus, und nach etwa einem halben Jahr können regelmäßig die Fruchtkörper geerntet werden. Das vom Pilz zersetzte Holz kann später als Zusatz zum Kompost verwertet werden, wobei die enthaltene pilzliche Biomasse den Nährstoffgehalt des Komposts verbessert.

Viele Pilzarten können allerdings nicht angebaut werden, weil sie beispielsweise als Ectomykorrhizapilze für die Fruchtkörperbildung auf eine Symbiose mit Bäumen angewiesen sind. Steinpilze oder Trüffel sind Beispiele dafür. Trüffel werden dennoch kommerziell in **Trüffelgärten** gezogen. Dazu taucht man die Wurzeln junger Eichen in eine Suspension, die das Pilzinokulum enthält. Die so beimpften Bäume werden ausgepflanzt, und unter den herangewachsenen Bäumen können nach ca. 10 Jahren die ersten Trüffeln geerntet werden.

Neben den Speisepilzen sind auch viele Pilze mit giftigen Inhaltsstoffen bekannt. Der tödlich giftige Grüne Knollenblätterpilz (*Amanita phalloides*) oder der Fliegenpilz (*Amanita muscaria*) sind Beispiele dafür. Die **Pilzgifte** gehören zu verschiedenen Wirkstoffklassen und sind Produkte des Sekundärstoffwechsels, der bei Pilzen besonders vielfältig sein kann. Ein Beispiel für ein Pilzgift ist **α -Amanitin**, das die Transkription zum Erliegen bringt, indem es die eukaryontische RNA-Polymerase II bereits in sehr geringer Konzentration effektiv hemmt (Abb. 3.16). Insbesondere auf die sehr stoffwechselaktiven Leberzellen wirkt das Gift damit so schädlich, dass ein Leberversagen schließlich zum Tode führt. Die Giftmenge kann je nach Stoffwechselaktivität und Nährstoffversorgung während des Fruchtkörperwachstums von Pilz zu Pilz variieren.

Auch andere Pilze bilden giftige Inhaltsstoffe. Schimmelpilze sind dafür bekannt, dass sie als Vorratsschädlinge auch unsere Nahrungsreserven angreifen und beispielsweise eingelagertes Getreide verderben. Sie bilden als Sekundärstoffwechselprodukte **Mykotoxine** und scheiden diese aus, sodass nicht nur der verschimmelte Anteil, sondern der gesamte Vorrat unbrauchbar wird. Daraus ergeben sich enorme wirtschaftliche Schäden. Ein solches Mykotoxin ist das Aflatoxin aus *Aspergillus flavus*, das Leberkrebs hervorrufen kann, da es in der Leber durch Oxigenasen zu beson-

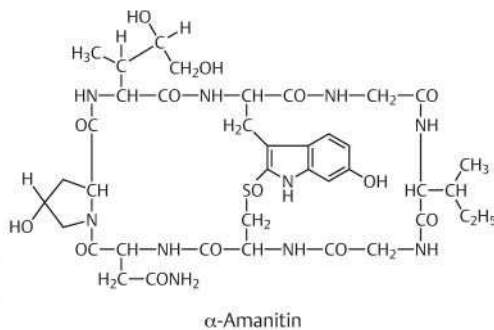


Abb. 3.16 Das Pilzgift α -Amanitin des Fliegenpilzes. Dieses Gift hemmt die Transkription, indem es die eukaryontische RNA-Polymerase II inhibiert (Aufnahme Erika Kothe, Jena).

ders karzinogenen Verbindungen umgebaut wird. Der Nachweis der Aflatoxine, die insbesondere in Nüssen aus tropischen und subtropischen Ländern gefunden werden, ist besonders eindrucksvoll möglich, da die Aflatoxine im UV-Licht fluoreszieren und Nüsse so einfach auf das Vorhandensein des Mykotoxins überprüft werden können.

3.11 Vielfalt pilzlicher Lebensformen

Hier sollen aus den Echten Pilzen Beispiele vorgestellt werden, die Einblick in die Biologie der Pilze erlauben. Zusätzlich ist ein Oomycet und ein Myxomycet aufgenommen, die nicht zu den Echten Pilzen gehören, aber ebenfalls mikrobielle Eukaryonten darstellen.

3.11.1 Synchroner Meiose beim Tintling

Bei Tintlingen werden die Sporen durch **Autolyse** der Fruchtkörperkappe freigesetzt. Die schwarz gefärbten Tropfen, die durch Autolyse der Zellen entstehen, enthalten die meiotisch gebildeten Basidiosporen, die alle zu derselben Zeit reif sein müssen, nämlich dann, wenn die Autolyse des Hymeniums einsetzt. Daher findet sich in diesem System eine natürliche **Synchronität** in der Meiose, die dazu führt, dass sich bis zu 85% aller $10^7 - 10^8$ Basidien in der Pilzkappe im gleichen Stadium der meiotischen Entwicklung befinden. Die Synchronität wird dabei durch **Licht** gesteuert. Die Fruchtkörper reifen immer in den frühen Morgenstunden, sodass bis zum Abend alle Sporen der Kappe freigesetzt sind (Abb. 3.17).

Zur Fruchtkörperbildung sind nur die nach einer Kreuzung gebildeten Dikaryen der sexuellen Entwicklung in der Lage.

3.11.2 Umwandlung von Pflanzenorganen durch den Antherenbrand

Der Maisbeulenbrand, *Ustilago maydis*, ist als Beispiel für ein gut untersuchtes Mitglied dieser Pflanzenpathogenen bereits genannt (Kap. 3.8.1). In unseren Breiten treten als Schädlinge allerdings eher der Weizenflugbrand (*Ustilago nuda*) oder der Steinbrand des Weizens (*Tilletia caries*)

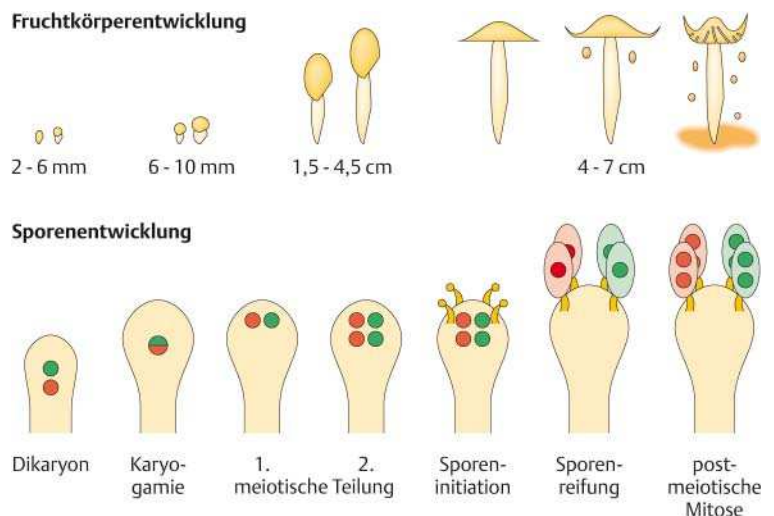


Abb. 3.17 Synchroner Meiose beim Tintling (hier *Coprinopsis cinerea*). Beim Tintling durchlaufen alle Basidiosporen gleichzeitig die Phasen der meiotischen Zellteilungen. Die reifen Fruchtkörper geben dann in ihrer „Tinte“ die haploiden, nach einer weiteren Mitose zweikernigen und schwarz gefärbten Basidiosporen ab.

auf, die ohne Bekämpfung zu hohen Ernteaussfällen führen. Ein weiteres Mitglied der Familie ist der **Antherenbrand** der Nelkengewächse (*Microbotryum violaceum*), der die Rote (*Silene dioica*) und Weiße Lichtnelke (*S. alba*) sowie das Gemeine Seifenkraut (*Saponaria officinalis*) befällt (Abb. 3.18). Dabei keimen die **Brandsporen** mit den Keimlingen und die **Sporidien** infizieren nach einer Kreuzung mit einem kompatiblen Partner als Dikaryon die gesamte Pflanze. Die Anlagen für die Staubgefäße werden schließlich zu Sporenlagern umgebildet, und erst in diesem Stadium ist eine Infektion äußerlich erkennbar. Lichtnelken sind zweihäusige Pflanzen, sodass weibliche Pflanzen wegen fehlender Staubgefäße eigentlich nicht befallen werden können. *Microbotryum* stimuliert jedoch die auch hier vorhandenen Anlagen für die Staubgefäße durch pilzliche Hormonproduktion und schafft so eine Grundlage für seine Ausbreitung.

3.11.3 Komplizierte Lebenszyklen bei Rostpilzen

Die Rostpilze besitzen noch weit kompliziertere Lebenszyklen, wie am Beispiel des Getreideschwarzrosts *Puccinia graminis* gut nachzuvollziehen ist (Abb. 3.19).

Dieser Pilz besitzt fünf verschiedene Sporenformen und ist in seinem Lebenszyklus auf einen Wirtswechsel angewiesen. Der Wirtswechsel und die fünf Sporengenerationen sind jeweils eine sinnvolle Anpassung auf die unterschiedlichen Anforderungen der Jahreszeiten.

Aus den diploiden **Teleutosporen**, die im Herbst als Überdauerungsform entstanden sind, bilden sich im Frühjahr auf sexuellem Weg die haploiden **Basidiosporen**, welche dann schnell einen Wirt finden müssen. Sie befallen deshalb die immergrüne Berberitze (*Berberis vulgaris*) oder die Mahonie und keimen auf deren Blattoberseiten aus. Dort bilden sie die flaschenförmige **Spermogonien**, in denen die erste Sporengeneration des Jahres entsteht, die **Spermastien**. Diese stellen die Kreuzung mit einem anderen Paarungstyp sicher, indem sie eine kompatible Empfängnishyphe befruchten, die ebenfalls von den auskeimenden Basidiosporen auf der Blattoberseite gebildet werden. Bei der Befruchtung entsteht ein dikaryotisches Mycel, das zur Blattunterseite wächst und dort die becherförmigen **Aecidien** ausbildet. In den Aecidien entwickelt sich die zweite Sporengeneration, die **Aecidiosporen**. Diese entstehen in großer Zahl und infizieren einen zweiten Wirt (Getreidepflanzen), damit sie nicht mit der haploiden Wuchsform auf der Berberitze konkurrieren müssen. Gleichzeitig bilden die Stadien auf der Berberitze aber auch während des gesamten Sommers ein Rückzugsgebiet für das Pathogen, das damit selbst ohne den Zwischenwirt Getreide – zumindest in milden Wintern – in das nächste Jahr kommen kann. Das Stadium auf dem Zwischenwirt dient zur schnellen und effektiven Verbreitung des Pilzes: Auf der Getreidepflanze entstehen zunächst Sommersporenlager, aus denen **Uredosporen** freigesetzt werden. Diese tragen erheblich zur Ausbreitung der Infektion in Monokulturen bei, da sich innerhalb von 7–12 Tagen mehr als 400 000 Sporen entwickeln können. Schließlich entstehen im Herbst Lager für die überwinterungsfähigen, schwarz gefärbten **Teleutosporen**. Die Teleutosporen sind dikaryotisch. Sie haben damit die größte genetische Kapazität. Aus ihren zwei Chromosomensätzen kann durch Neukombination und Rekombination die größte Vielfalt für das nächste Jahr mit vielleicht veränderten Lebensbedingungen entstehen. Im Frühjahr keimen die Teleutosporen mit einer Phragmobasidie aus, in der die sexuellen Basidiosporen entstehen. Diese wiederum infizieren die Berberitze, womit der Kreis geschlossen ist.

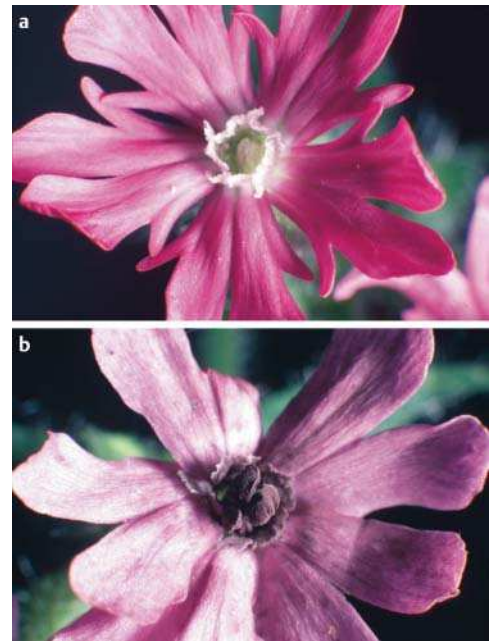


Abb. 3.18 Der Antherenbrand der Nelkengewächse (*Microbotryum violaceum*). Bei Befall mit *M. violaceum* wandeln sich die Staubgefäße der Roten Lichtnelke (a) in Brandsporenlager (b) um (Aufnahmen Erika Kothe, Jena).

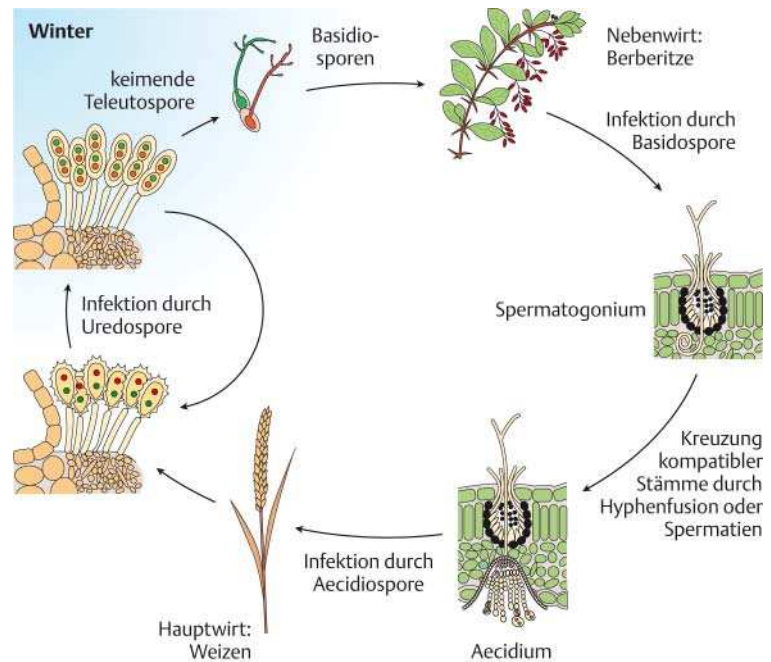


Abb. 3.19 Der Lebenszyklus des Getreideschwarzrosts *Puccinia graminis*. Erklärung siehe Text.

Viele Rostpilze zeigen reduzierte Lebenszyklen, in denen nicht mehr alle fünf Sporenarten gebildet werden. In diesen Fällen könnte man auf eine **Reduktion der Anforderungen** schließen, die beispielsweise durch Ausfall des Selektionsdrucks bei breiterem Wirtsspektrum vorliegen, sodass kein Ausweichen der sexuellen Stadien auf einen anderen Wirt mehr erforderlich ist. Allerdings kann sich der Pilz ein breites Wirtsspektrum nur dadurch erkaufen, dass er sich an die vielen unterschiedlichen Abwehrmechanismen der verschiedenen Pflanzen anpasst (wie beispielsweise an in die Zellen eingelagerte, fungizide chemische Substanzen).

Auch der Birnengitterrost (*Gymnosporangium sabinae*) gehört zu den Urediniomyceten. Die Birne ist dabei eigentlich der Zwischenwirt, während der Hauptwirt der Sadebaum oder der Wacholder ist. Eine Bekämpfung des Pilzes wäre durch Roden der Wacholder im Umkreis von 1,5 km um Birnbäume möglich.

3.11.4 Humanpathogene Pilze: Virulenzfaktoren bei *Cryptococcus*

Der Basidiomycet *Cryptococcus neoformans* (im perfekten Stadium *Filobasidiella neoformans*) kann beim Menschen tödliche Erkrankungen hervorrufen (Kap. 3.8.2). Er besitzt in seinem Lebenszyklus neben der dikaryotischen Hyphenform auch eine monokaryotische Hefeform, die sich besonders leicht genetisch und zellbiologisch handhaben lässt.

Die Hefezellen (das **imperfekte Stadium**) existieren in zwei verschiedenen Kreuzungstypen, die unter entsprechenden Bedingungen fusionieren können und dann das **perfekte Stadium** (*Filobasidiella neoformans*) bilden. *Filobasidiella* bildet dikaryotische Hyphen mit den für Basidiomyceten typischen Schnallen und Doliporen. An den Enden der Hyphen entstehen die Basidien, in denen Karyogamie und Meiose stattfindet. Dort

werden die sexuellen Basidiosporen gebildet, die in Ketten abgeschnürt werden und als Hefezellen im imperfekten Stadium wachsen. Die Hefen können zu einem monokaryotischen Mycel auskeimen, das eine asexuelle Sporulation an basidienähnlichen Strukturen zeigt, und nach mitotischen Teilungen **Sporenketten** abschnürt. Die Umschaltung vom Hefewachstum zum filamentösen Wachstum erfolgt durch Umweltsignale.

Die Wachstumsform der Dikaryen ist von der Temperatur abhängig. Bei *Candida* wird die virulente Hyphenform bei 37 °C induziert, bei *Cryptococcus* findet man die Hefeform bei 37 °C, während bei 24 °C das Wachstum in der Hyphenform erfolgt.

Für die Virulenz und das Wachstum im Wirt scheint die Hyphenform keine Rolle zu spielen. Wichtige Virulenzfaktoren sind dagegen die Bildung von Kapseln aus **Polysacchariden** und die **Melaninbildung** bei der Hefeform (Abb. 3.20). Das Melanin wird bei *C. neoformans* nicht wie bei den meisten Pilze aus L-Tryptophan gebildet, sondern es sind biphenolische Vorstufen dazu nötig, was als diagnostisches Merkmal genutzt werden kann.

3.11.5 Die Innere Uhr: Zeitgeber bei *Neurospora crassa*

Circadiane Rhythmen bestimmen den **Tag-Nacht-Rhythmus** beim Menschen ebenso wie die Sporenbildung bei Pilzen. Der Schimmelpilz *Neurospora crassa* bildet nach einem Inneren Zeitgeber asexuelle Conidiosporen. Dabei ist Licht immer ein wichtiges Signal für die Zeitmessung, sowohl beim Pilz als auch beim Menschen. Wird eine Pilzkultur im Dauerdunkel gehalten, zeigt sich der Innere Zeitgeber, der eine ungefähre Tageslänge beibehält, auch ohne dass ein Lichtsignal das Nachstellen der Inneren Uhr erlaubt. Lässt man *Neurospora* in länglichen Röhren wachsen führt das dazu, dass das Mycel mit konstanter Geschwindigkeit wächst, aber nur einmal in ca. 24 Stunden die Conidienbildung induziert wird. Dadurch entstehen Streifen orangeroter Conidiosporen, unterbrochen von undifferenzierten, unauffälligen Substrathyphen ohne Sporenbildung.

In *Neurospora* konnten Gene identifiziert werden, deren Mutation zur Veränderung der subjektiven Tageslänge führen (Abb. 3.21). Diese Gene wurden mit *frq* (für engl. frequency) bezeichnet. Die Genprodukte werden im Tagesverlauf spezifisch gebildet und die Expression lässt sich mit

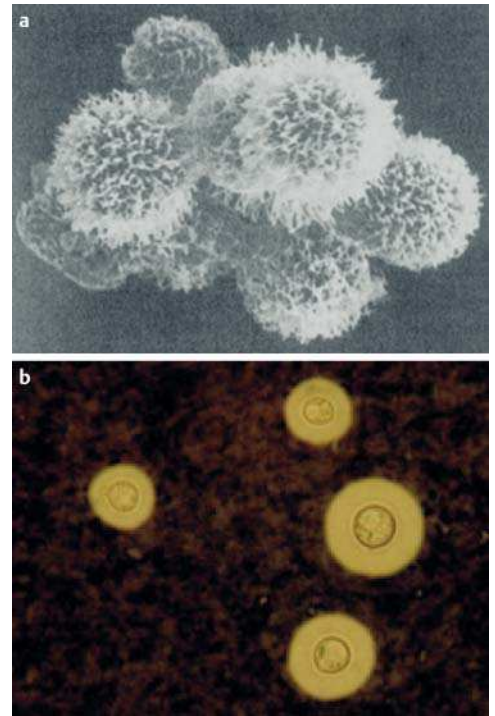
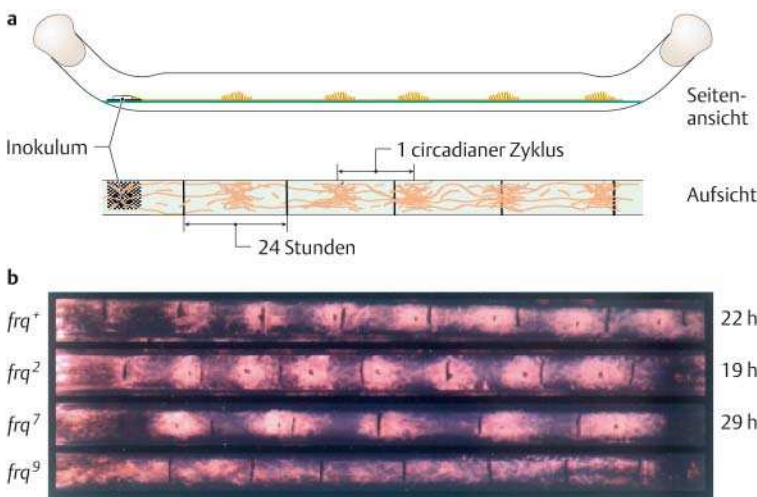


Abb. 3.20 Polysaccharidkapsel bei *Cryptococcus neoformans*. Die Polysaccharidkapsel, die für die Virulenz von *C. neoformans* essenziell ist, umgibt die Zellen (a) und kann mit Tusche sichtbar gemacht werden (b). Die Kapsel von bis zu 80 µm Dicke inhibiert die Phagozytose durch Immunzellen und sichert das Überleben der Hefezellen im Wirtsorganismus (Aufnahmen Klaus Lengeler, Düsseldorf).

Abb. 3.21 Conidienbildung bei *Neurospora crassa*: a Im Dauerdunkel wird die Conidienbildung durch die Innere Uhr reguliert, sodass Streifen von vegetativem Wachstum mit solchen abwechseln, die orangefarbene Conidiosporen tragen (schematisch). b Durch Mutationen kann dieser Innere Zeitgeber in der Tageslänge verstellt werden, sodass neben dem Wildtyp (wt) Kurztagsmutanten (Allel *frq-2*), Langtagsmutanten (Allel *frq-7*) oder unregulierte Coniosporenbildung (Allel *frq-9*) auftritt (Aufnahmen Jennifer Loros, Durham, New Hampshire, USA).

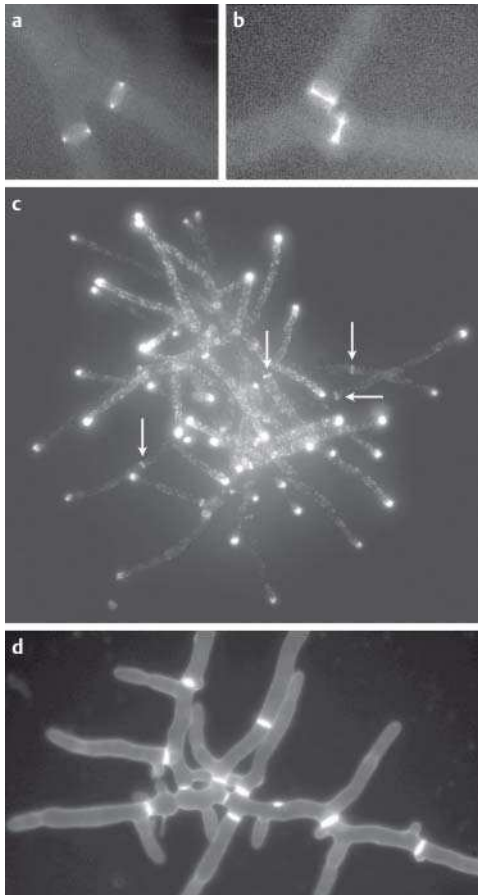


Abb. 3.22 Septenbildung bei *Ashbya gossypii*. Zunächst wird ein Ring des Proteins Cyk1p an der zukünftigen Septierungsstelle niedergelegt (**a**, **b**). An diesem Ring lagert sich dann Actin an, das als strukturelle Grundlage für die Zellwandneubildung dient (Pfeile in **c**). An den Actinringen lagert sich dann Chitin ein und die neuen Septen werden sichtbar (**d**; Aufnahmen: Jürgen Wendland, Jena).

Abb. 3.23 Parasitismus von *Parasitella* auf *Thamnidium*. Der mykoparasitische Zygomycet *Parasitella parasitica* bildet auf seinem Wirt *Thamnidium elegans* parasitische Sikyosporen. Anschließend ernährt sich der Parasit von Wirtssubstanzen, die durch die Sikyospore aufgenommen werden (Balken: 50 µm, Aufnahme Christine Schimek, Jena).

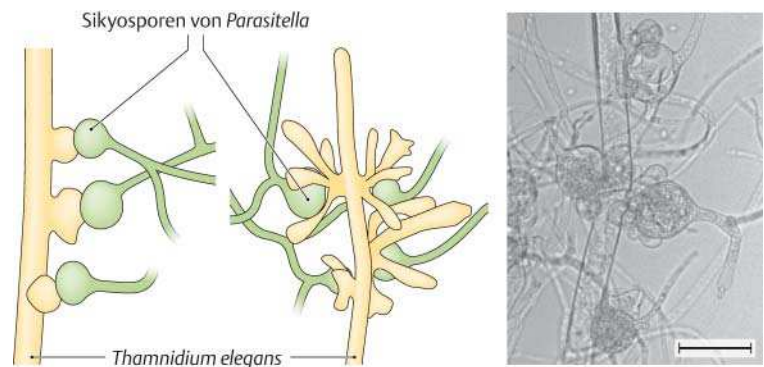
Lichtimpulsen steuern. Das zeigt auf molekularer Ebene den Einfluss des Lichts auf die Innere Uhr. Weitere Gene codieren für Kontrollfunktionen dieser spezifischen Genexpression und sind an der Lichtperzeption beteiligt. Dadurch ist es dem Pilz möglich, seine Innere Uhr durch Licht am **frühen Morgen** bzw. am **späten Abend** jeden Tag wieder genau zu stellen. Überträgt man dies auf den Menschen, so kann man nach einem Langstreckenflug durch einen Spaziergang am Morgen und einen am Abend (es ist mehr Licht erforderlich, als durch künstliche Beleuchtung erreicht werden kann) dem Jetlag entgegenwirken.

3.11.6 Septenbildung bei filamentösen Pilzen: *Ashbya gossypii*

Die Zellteilung ist bei den Ascomyceten von der Kernteilung zeitlich und räumlich abgesetzt, sodass **mehrkernige Hyphenkompartimente** entstehen. Dazu muss die Information für die Lokalisierung der Septen in molekularer Form niedergelegt werden. Dabei wird an der Stelle, an der das Septum gebildet werden soll, die Bildung eines **Actinrings** initiiert, über den Vesikel mit Zellwandmaterial zum Aufbau der Septenwand an die richtige Stelle gesteuert werden. Man kann diese Prozesse sichtbar machen, indem man die daran beteiligten Proteine *in vivo* mit einem grün fluoreszierenden Protein (GFP) markiert (Abb. 3.22). Dazu wird der Leserahmen des zu untersuchenden Proteins mit dem für GFP fusioniert. Durch Fluoreszenzmikroskopie kann so die Lokalisierung des Proteins in der lebenden Zelle gezeigt werden. An der fluoreszierenden Stelle wird das **Cytoskelett** in Form des Actinringes ausgebildet, an dem dann durch Chitineinlagerung das Septum gebildet wird.

3.11.7 Sex and crime – mykoparasitische Zygomyceten

Bei dem Zygomyceten *Parasitella parasitica* kann ein Parasitismus auf anderen Zygomycetenarten beobachtet werden, der eng an die sexuelle Entwicklung der Pilze gekoppelt ist. Bei den Zygomyceten kann weder der plus- noch der minus-Kreuzungstyp allein die für die Induktion der sexuellen Entwicklung nötigen Trisporsäure synthetisieren. In beiden Kreuzungstypen reichern sich (unterschiedliche) biosynthetische Vorstufen an, die dann durch Diffusion zum anderen Kreuzungspartner gelangen. Dieser kann dann aus der kompatiblen Vorstufe die Trisporsäure bilden. Der mykoparasitische Zygomycet *Parasitella* nutzt dieses System. So befällt ein plus-Kreuzungstyp von *P. parasitella* nur andere Zygomyceten



des minus-Kreuzungstyps, während der minus-Kreuzungstyp von *Parasitella* nur plus-Kreuzungstypen einer Wirtsart infiziert. Hier liegt also gewissermaßen ein Fall von „sexueller Nötigung bei Pilzen“ vor.

In Abb. 3.23 ist gezeigt, wie *Parasitella* den Zygomyceten *Thamnidium elegans* befällt. Der Parasit bildet eine Sikyospore aus, die in ihrer Struktur einer Zygospora ähnelt (in der älteren Literatur noch sehr plastisch als „Schröpfkopf“ bezeichnet). Damit ist auch verständlich, warum Trispor-säure für den Parasitismus hier eine so große Rolle spielt (vgl. Kap. 3.5.4). Der Parasit entlässt zunächst eigene Kerne aus einem abgetrennten Kompartiment in das Mycel des parasitierten Pilzes. Danach erfolgt die Ausbildung der reifen Sikyospore und die Ernährung des Parasiten durch den Wirtspilz.

3.11.8 Oomyceten: Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel

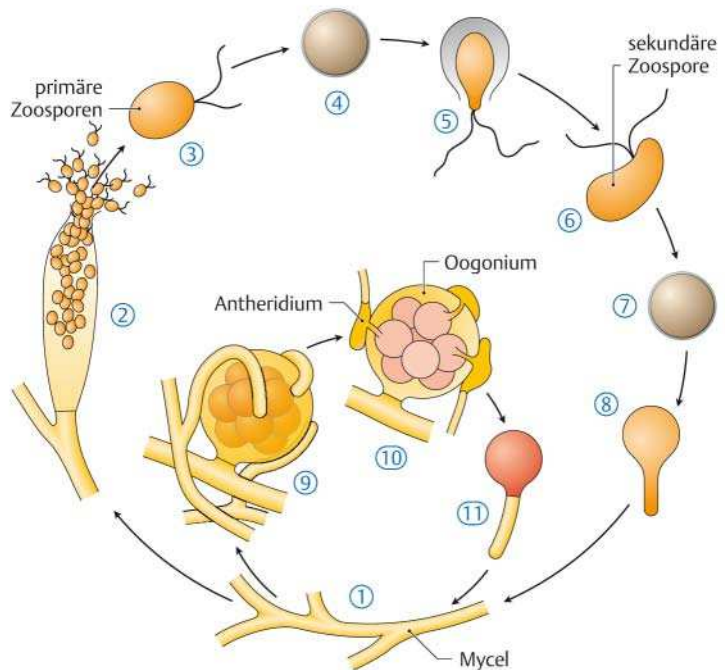
Die **Oomyceten** sind mit **Algen** verwandt und keine Echten Pilze. Sie besitzen Zellwände aus Cellulose und Glucan und bilden ein vielkerniges, unseptiertes Mycel, an dem asexuell biflagellate **Zoosporen** entstehen. Nach der Kreuzung entwickeln sich am diploiden Thallus sexuell gebildete **Oosporen**.

Plus 3.7 Der Wasserschimmel *Saprolegnia*

Weitere, bekannte Oomyceten sind auch die Wasserschimmel der Gattung *Saprolegnia*, die bei Aquarienfischen als weißer Belag auf (hoffentlich schon toten) Tieren anzutreffen sind (Abb.). Die Oogonien und Zoosporangien sind mikroskopisch sehr gut sichtbar. Die Organismen bilden zunächst zwei aufeinanderfolgende haploide Schwärmerstadien, bevor ein

Mycel ausgebildet wird. Dieses ist homothallisch und bildet weibliche (Oogonien) und männliche (Antheridien) Strukturen. Aus den Antheridien wachsen Befruchtungsschläuche, durch die ein Kern in die Oosphäre wandert und mit dem dortigen Kern verschmilzt. Es folgt die Meiose, sodass wieder haploide Kerne entstehen, die wiederum auskeimen können.

Lebenszyklus von *Saprolegnia*. Oomyceten wie *Saprolegnia* sp. bilden an vielkernigen vegetativen Hyphen (1) die Zoosporangien (2), aus denen mitotische Zoosporen (3) schlüpfen. Diese können sich einkapseln (4) und erneut als Zoospore keimen (5, 6). Erst nach einer zweiten Encystierung (7) keimen sie mit einem Keimschlauch (8), der wieder zum vegetativen Mycel auswächst. Im sexuellen Zyklus bilden sich auf den vielkernigen Mycelien Oogonien mit einkernigen Eizellen, die von jeweils einem Kern aus einem vielkernigen Antheridium eines Kreuzungspartners (9, 10 im Querschnitt) befruchtet werden. Es erfolgt eine Meiose, aus der haploide Oosporen hervorgehen, die wiederum zum haploiden, vegetativen Mycel auskeimen (11).



Die **Kraut- und Knollenfäule** der Kartoffel (*Phytophthora infestans*) trat in Europa ca. 50 Jahre nach Einführung der Kartoffel auf und führte insbesondere in den feuchten Jahren 1845/46 zu großen Hungersnöten in Irland. Nachdem zunächst nur ein Kreuzungstyp in Europa anzutreffen war und nur asexuelle Ausbreitung erfolgen konnte, ist seit einiger Zeit auch hier der zweite Kreuzungstyp vorhanden, sodass nun auch wieder sexuelle Vermehrung und damit auch eine schnellere Ausbreitung von Resistenzen gegen Pflanzenschutzmittel beobachtet wird. Ein anderer Oomycet, der Tiere befällt, ist in Plus 3.7 beschrieben.

3.11.9 Mycetozoa: cAMP als Lockstoff

Eine weitere Gruppe, die pilzförmige Fruchtkörper bildet, aber nicht zu den Echten Pilzen zu zählen ist, sind die **Myxomyceten**. Diese Gruppe gehört zu den Protisten und umfasst die zellulären Acrasiomyceten wie *Dictyostelium* und die syncytialen Schleimpilze. Die Myxomyceten werden mit den phytopathogen Plasmodiophorales auch als **Mycetozoa** zusammengefasst. Die vegetativen Vermehrungsformen der Mycetozoa können sich wie Amöben durch Ausstülpungen von **Pseudopodien** fortbewegen

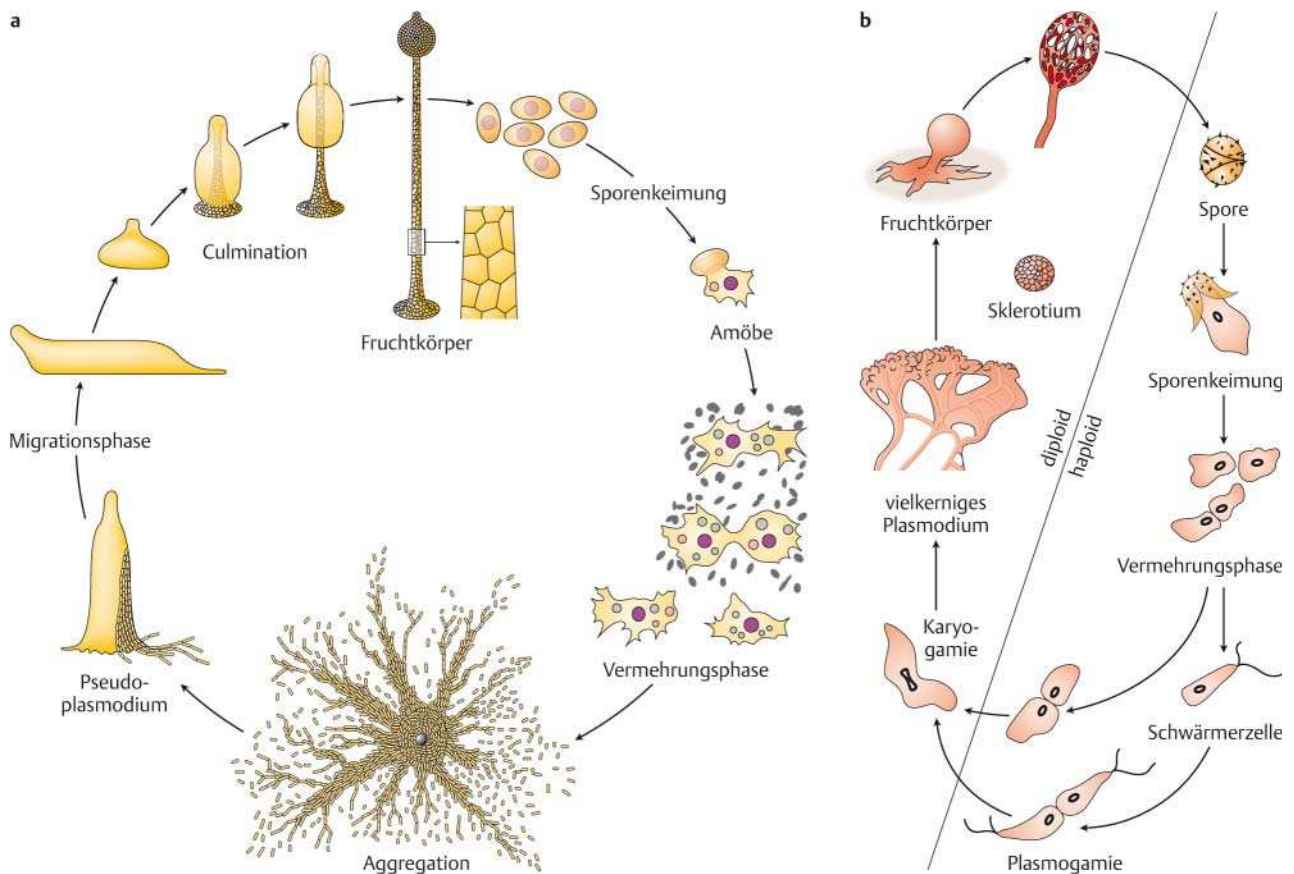


Abb. 3.24 Entwicklung der Mycetomyceten. a Die Fruchtkörper der zellulären Acrasiomyceten, hier *Dictyostelium discoideum*, werden aus vielen Einzelzellen gebildet, die auf ein Signal hin zusammenkriechen um sich schließlich gemeinsam an einem geeigneten Ort festzusetzen und einen Fruchtkörper auszudifferenzieren. **b** Entwicklungsgang der syncytialen Mycetozoa.

und Nahrung durch Umfließen und **Endocytose** aufnehmen. Diese Hinweise deuten auf eine Verwandtschaft zu Protisten hin.

Zelluläre Acrasiomyceten leben als einzelne **Amöben** und können so auch in Kultur genommen werden. Sind die Nahrungsressourcen verbraucht, wird ein Entwicklungsweg induziert, der zunächst zur Abgabe eines **Lockstoffes** durch eine hungernde Zelle führt. Bei *Dictyostelium discoideum* handelt es sich hierbei um **cAMP**. Dieser Lockstoff veranlasst umliegende Zellen dazu, sich aufeinander zu bewegen, um anschließend als **Aggregat** so lange umher zu wandern, bis eine exponierte Stelle zur Fruchtkörperbildung gefunden ist. Dort werden einige Zellen zum Stiel, andere sondern das Stützgewebe des Huts ab, in dem sich wieder andere Zellen als Sporen enzystieren und so eine Hungerperiode überleben können (Abb. 3.24).

Zusammenfassung

- Pilze gehören zu den **Eukarya**. Die pilzliche Zelle entspricht in ihrem Aufbau der typischen Eucyte mit Zellkern, intrazellulären Membranen, Vesikeln, Vakuolen und Mitochondrien. Die Zelle ist von einer Membran umgeben, an die sich die Zellwand anschließt, die bei den Echten Pilzen Chitin enthält. **Chitin** ist ein Homopolymer aus N-Acetylglucosamin in β -1,4-glykosidischer Verbindung.
- Zu den **Echten Pilzen** gehören die Basidiomyceten mit den Hymenomyceten und Phragmobasidiomyceten, die Ascomyceten inklusive der Echten Hefen, die Zygomyceten und die Glomeromycota sowie die Chytridiomyceten, die als einzige auch begeißelte Stadien aufweisen.
- Die Pilze wachsen entweder einzellig als **Hefen**, die sich durch Sprossung oder Zweiteilung vermehren, oder sie bilden filamentöse Formen durch apikales Spitzenwachstum. Durch Verzweigung der **Hyphen** entsteht ein **Mycelium**.
- Die Hyphen der Pilze können einkernig oder mehrkernig sein, wobei neben diploiden Stadien auch **Dikaryen** auftreten. Ein **Homokaryon** enthält nur identische Kerne, während in einem **Heterokaryon** verschiedene Kerne nebeneinander vorliegen.
- Der **Zellzyklus** bezeichnet die Phasen von einer mitotischen Zellteilung zur nächsten. Nach der G1-Phase folgt die Replikation der DNA in der S-Phase und nach einer G2-Phase die Mitose in der M-Phase.
- **Anamorphe** sind asexuelle Vermehrungsstadien, von denen insbesondere die Conidien der Schimmelpilze Bedeutung haben.
- Die sexuelle Vermehrungsform wird als **Teleomorph** bezeichnet. Die Basidiomyceten bilden ihre sexuellen Sporen an Basidien, die Sporen der Ascomyceten entstehen in den Asci und die Zygosporien der Zygomyceten sind meist vielkernige Produkte einer Fusion zweier Kreuzungspartner.
- Außer zur Herstellung von **Nahrungsmitteln** und **Antibiotika** oder Nahrungszusatzstoffen werden Pilze auch in der Gentechnik eingesetzt, zumal ihre Genprodukte eukaryontische Glykosylierungsmuster aufweisen.

4 Viren

Viren sind sehr kleine infektiöse Partikel mit Durchmessern von 20 bis 300 nm. Sie bestehen lediglich aus einem Genom, das durch Proteinhüllen, manchmal zusätzlich durch Lipidmembranen, gegen die Außenwelt abgegrenzt ist. Der Begriff **Virus** (das Virus) stammt aus dem Lateinischen und bedeutet **Gift**. Bis Ende des 19. Jahrhunderts bezeichnete man alle durch Flüssigkeit übertragbaren Krankheitserreger als Virus. Erst nach der Entdeckung durch den russischen Botaniker **Iwanowski**, dass die Mosaikerkrankung des Tabaks durch ein ultrafiltrierbares, selbst die kleinsten Poren bakteriendichter **Keramikfilter** passierendes Agens ausgelöst wird, begann man zwischen Bakterien und den eigentlichen Viren zu unterscheiden. Die **Ultrafiltrierbarkeit** gehört heute noch mit zur Definition eines jeden Virus. Die eigentliche Entdeckung von Viren geht auf die Wende zum 20. Jahrhundert zurück.

In freier Form sind Viren nicht lebendig. Sie sind jedoch biologisch aktiv und können sich in stoffwechselaktiven Wirtszellen vermehren. Viren wurden daher treffend als „*obligatorische Parasiten auf molekularem Niveau*“ (Luria) beschrieben. Während die Zellen sich durch Zunahme von Masse und anschließender Teilung vermehren, vermehren sich die Viren lediglich durch Kopieren ihrer Genome und deren Verpackung im Innern der Zellen. Jedes Virus steuert hierzu sein eigenes, auf die Verhältnisse der Wirtszelle zugeschnittenes Entwicklungsprogramm bei und vermehrt sich dort unter Einbeziehung der Zellressourcen mit ungewöhnlich hoher Geschwindigkeit.

Überblick

- 4.1 Vorkommen und Entdeckung ... 99**
- 4.2 Entwicklung ... 100**
 - 4.2.1 Der lytische Zyklus ... 100
 - 4.2.2 Der lysogene Zyklus ... 101
- 4.3 Aufbau ... 101**
- 4.4 Vermehrung ... 104**
- 4.5 Mechanismen der Verbreitung ... 105**
- 4.6 Klassifizierung der Viren ... 105**
- 4.7 Beispiele ... 106**
 - 4.7.1 Doppelsträngige DNA-Viren (Klasse-I-Viren) ... 106
 - 4.7.2 Partiiell doppelsträngige DNA-Viren ... 110
 - 4.7.3 Einzelsträngige DNA-Viren (Klasse-II-Viren) ... 112
 - 4.7.4 Die plus-Strang-RNA-Viren (Klasse-IV- und Klasse-VI-Viren) ... 114
 - 4.7.5 Die minus-Strang RNA-Viren der Eukaryonten (Klasse-V-Viren) ... 117
 - 4.7.6 Doppelsträngige RNA-Viren (Klasse-III-Viren) ... 118
- 4.8 Viroide ... 120**

4.1 Vorkommen und Entdeckung

Viren treten in allen Bereichen des Lebens auf, und sie befallen die Zellen von Prokaryonten und Eukaryonten gleichermaßen. Diese Entdeckung geht auf Dimitri Iwanowski (1864–1920) zurück (Abb. 4.1, Plus 4.1).

Den Viren der Prokaryonten, den Bakteriophagen („Bakterienfresser“, abgekürzt Phagen) kommt eine besondere Bedeutung zu. Sie wurden 1915 von **Frederick Twort** (1877–1950, Abb. 4.2) und 1917 von **Felix D'Herelle** (1873–1949, Abb. 4.3) unabhängig voneinander entdeckt und sorgfältig beschrieben. Ihre sehr einfache Handhabung und die vermeintliche Simplizität ihres Lebenszyklus machte sie später für **Max Delbrück** (1906–1981), **Salvador Luria** (1912–1991), **Alfred Hershey** (1908–1987) und die sich um diese Forscher scharende „Phagengruppe“ zu den wichtigsten Untersuchungsobjekten auf ihrer Suche nach dem „Atom der Biologen“, dem Gen. Für ihre grundlegenden Untersuchungen an den Bakteriophagen erhielten Delbrück, Luria und Hershey 1969 den Nobelpreis.

Aus den an die Phagen gestellten zunächst sehr speziellen Fragen entstanden in rascher Folge Ergebnisse, die das Denken in der Biologie und Medizin revolutionierten. Es begann ein bis heute anhaltender Siegeszug der molekularen Biologie, dessen Folgen immer noch nicht abzusehen sind. Zahlreiche aus dem Studium der Phagen gewonnene Erkenntnisse konnten anschließend auf die Viren der Eukaryonten übertragen werden. Als schließlich die Techniken der Zellkultur ausgearbeitet waren und einem breiteren Kreis von Forschern zur Verfügung standen, konnten auch bei den krankheitsserregenden Viren rasche Fortschritte beim Verständnis ihrer Angriffsstrategien erzielt werden. Da Bakteriophagen gezielt und relativ spezifisch Bakterien abtöten, wird seit ihrer Entdeckung immer wieder über Phagentherapie bakterieller Infektionskrankheiten nachgedacht (Plus 4.2).

Im Rahmen dieser Einführung können wir nicht auf die interessante Wechselwirkung zwischen Virus und der Wirtszelle eingehen. Wir betrachten die Entwicklung und Vermehrung der Viren deshalb stark vereinfacht.



Abb. 4.1 Dimitri Iwanowski, (1864–1920)
(copyright science photo library).



Abb. 4.2 Frederick Twort, (1877–1950)
(copyright science photo library).

Plus 4.1 Entdeckung der Viren

Die Entdeckung der Viren lässt sich bereits auf 1000 vor Christus zurückdatieren. Aus dem damaligen China wird von einer Praxis berichtet, die man heute als Impfung gegen Pocken beschreiben könnte. Dabei immunisierten chinesische Ärzte Patienten, indem sie getrockneten Pockenschorf von Überlebenden der Seuche inhalieren ließen oder mit Hilfe von Ritzungen an den Unterarmen in den Körper einbrachten.

Nach Iwanowskis erster Beschreibung der Ultrafiltrierbarkeit pflanzlicher Tabakmosaikviren griff **Martinus Beijerinck** 1898 die Beobachtungen wieder auf; er führte diese Studien fort und war der Erste, der die Idee der Viren konsequent anwandte. Er beschrieb die Viren als „contagium vivum fluidum“ („lebende lösliche Krankheitserreger“). **Friedrich Loeffler** und **Paul Frosch** entdeckten 1898 dann in Greifswald das erste animalische Virus der Maul-und-Klauenseuche und zwei Jahre später konnte **Walter Reed** zeigen, dass Gelbfieber von einem durch Mücken übertragbaren Virus ausgelöst wird.



Abb. 4.3 Felix d'Herelle, (1873–1949)
(copyright science photo library).

Plus 4.2 Phagentherapie

D'Herelle war fasziniert von dem Gedanken, pathogene Bakterien gezielt durch wirtsspezifische Bakteriophagen abzutöten. Die Entdeckung der Antibiotika durch Fleming (1940) ließ jedoch schlagartig jedes öffentliche Interesse an einer solchen Phagentherapie in den Hintergrund treten. Im Zeitalter multipler Resistenzen von Bakterien gegen Antibiotika werden die Phagen nun wieder hoffähig. Es müsste gelingen, Phagen mit hoher Virulenz gegen das abzutötende Bakterium zu selektieren, wobei das Auftreten von Resistenzen gegen Phagen mit in Betracht zu ziehen ist. Die Präparate müssen die saure Magenpassage überleben und die bei der Bakterienlyse freigesetzten Endotoxine dürfen nicht zum Schaden führen.

4.2 Entwicklung

Alle Viren durchlaufen während ihrer Entwicklung dieselben vier Stadien:

1. **Einschleusen** des genetischen Materials in die Wirtszelle, bzw. in deren Zellkern,
2. **Steuerung** der intrazellulären Entwicklung,
3. **Vermehrung** und Morphogenese,
4. **Freisetzung** der Nachkommen.

Im ersten Schritt dockt das Virus an die Oberfläche der Wirtszelle an (**Adsorption**). Danach dringt das Genom durch die Zellbegrenzungen hindurch in das Innere der Zelle ein. Dies geschieht entweder durch direkte **Injektion**, wie bei vielen **Bakteriophagen**, oder durch **Verschmelzen** lipidhaltiger Umhüllungen des Virus mit der Cytoplasmamembran. Im Zellinneren wird das Genom dann **entpackt (Uncoating)** und die DNA schließlich in den Zellkern transportiert. Die weitere Entwicklung ist sehr variantenreich und verläuft nach individuellen Programmen. Die verschiedenen Viren beeinflussen dabei den Zellstoffwechsel unterschiedlich stark. Das Ziel ist aber immer eine Vermehrung der viruseigenen Komponenten. Im Zentrum dieses Geschehens steht die Vermehrung der Nukleinsäuren (**Replikation**) und die Reifung der strukturellen viralen Komponenten. Anschließend werden diese zusammengebaut (**Morphogenese**) und durch Ausschleusen durch die Cytoplasmamembran oder durch Zerstörung der Zelle (**Lyse**) freigesetzt. Die Freisetzung der Nachkommen beendet den Zyklus.

Viren sind auf die Oberflächen bestimmter Zellen spezialisiert. So befallen Bakteriophagen ausschließlich Bakterien, während Viren von Säugern vor allem Zellen deren Schleimhäute des Verdauungstraktes, der Atmungsorgane und des Urogenitaltraktes befallen. Die Viren der Pflanzen sind auf Pflanzenzellen spezialisiert, die Viren der Archaeobakterien und Hefen auf diese Zellen. Die Spezifität der Virusbindung an die Wirtszelle wird durch ihre Adsorptionswerkzeuge und die dazu passenden, auf den Zelloberflächen lokalisierten Rezeptoren bewerkstelligt.

4.2.1 Der lytische Zyklus

Viele Viren können in zwei verschiedenen Zustandsformen vorkommen. Entweder infizieren sie ihre Wirtszellen und setzen die Nachkommen durch Lyse der Zelle frei (lytischer Zyklus), oder sie integrieren ihr Genom in das Genom des Wirtes und werden mit jeder Replikationsrunde passiv mit vermehrt (lysogener Zyklus). Der lytische Zyklus läuft bei allen Viren nach demselben Grundmuster ab. Nach der Infektion werden die **frühen Gene** des Virus aktiviert. Dieses geschieht bei Phagen im Cytoplasma der Prokaryonten, bei Viren der Eukaryonten im Zellkern. Die Produkte der frühen Gene übernehmen die Kontrolle der Wirtsaktivitäten und leiten in vielen Fällen auch die Zerstörung des Wirtsgenoms ein. Sie blockieren die Translation der wirtseigenen mRNA und schaffen die Voraussetzungen zur Replikation der viruseigenen DNA bzw. RNA. Später werden die frühen Funktionen nicht mehr benötigt, und das Virusprogramm aktiviert die **späten Gene**. Diese spielen im Wesentlichen bei der Morphogenese der Virushüllen und der Prozessierung und Verpackung von Nukleinsäuren in die neu synthetisierten Köpfe eine Rolle. Die späten Proteine werden ungebremst bis zur Lyse der Zellen synthetisiert. Manche Viren vermehren sich mit Hochgeschwindigkeit und lysieren ihre Wirte bereits nach weniger als einer halben Stunde (Phage T4).

Andere Viren schleusen ihre Nachkommen über sehr lange Zeit durch die Zellhüllen aus (Phage M13), wobei die Zelle nicht stirbt, sondern lediglich durch die anhaltende Syntheselast geschwächt wird.

4.2.2 Der lysogene Zyklus

Beim lysogenen Zyklus integriert das Virus sein Genom in das Genom der Wirtszelle (**Provirus**). Manche Viren können sich im Zellinnern auch in ein Plasmid verwandeln, das sich dann synchron mit dem Wirtsgenom und unter Kontrolle des Wirts vermehrt. In beiden Fällen wird kein aktives Virus gebildet, und die Zellen werden nicht lysiert. Durch die stille Präsenz des Virus werden im Falle z.B. des Phagen Lambda die Zellen **immun** gegen Überinfektion mit einem zweiten Virus desselben Typs. Lysogene Phagen werden auch **temperente Phagen** genannt. Die Entscheidung, ob eine lytische oder lysogene Entwicklung eingeschlagen wird, erfolgt durch eine durch Umweltfaktoren balancierte Genregulation.

Das in das Genom der Wirtszelle integrierte komplette Genom eines Virus oder das als Plasmid kontrollierte Virus können aus dem passiven Zustand wieder befreit und zur Vermehrung angeregt werden (**Induktion**). Dann entwickeln sie sich gemäß ihres lytischen Programms. Die Induktion z. B. von Phagen wird durch Stressfaktoren wie Hunger oder starke Schädigung der DNA ausgelöst. Die Vermehrung erfolgt in diesem Fall, bevor die Zelle abstirbt. Die Nachkommen verlassen die geschwächte Zelle „wie Ratten ein sinkendes Schiff“.

Eine tückische Variante dieses Versteckspiels beherrschen die **Tumoviren**. Sie hinterlassen häufig nur einen Teil ihres Genoms im Genom der Wirtszelle und **transformieren** diese dadurch in eine Tumorzelle. Bisher gibt es keinen Weg, die Tumorzelle wieder in eine normale Zelle zurückzuführen (z.B. durch Entfernen der eingebauten Virus-DNA).

4.3 Aufbau

Individuelle Viruspartikel, in freier Form auch **Virionen** genannt, zeigen im Elektronenmikroskop gut erkennbare Oberflächenstrukturen und Anhängsel (Abb. 4.4 bis 4.8). Das Genom, bestehend aus DNA oder RNA, wird von einem Kopf (bei Phagen) oder einem Nukleokapsid (bei Viren)

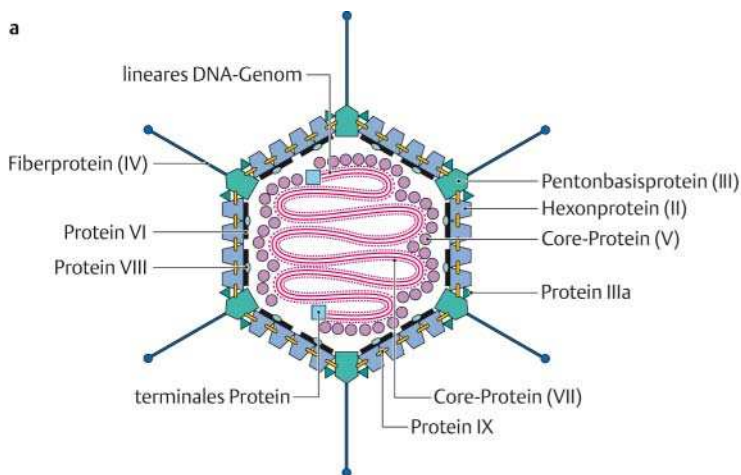


Abb. 4.4 Adenovirus. **a** Das Adenovirus bildet einen einfachen Icosaeder mit 12 von den 12 Ecken hervorragenden Fortsätzen (**Spikes**). Im Innern liegt die mit Proteinen assoziierte doppelsträngige DNA (ds-DNA). Die das Kapsid aufbauenden Proteine sind mit römischen Zahlen markiert. **b** Elektronenmikroskopische Aufnahme von Adenoviren (Aufnahme M. Wurtz, Biozentrum Basel, copyright science photo library).

der Eukaryonten) eingeschlossen. Sphärisch geformte Umhüllungen (**Kapside**) bestehen aus vielen, abgezählten Proteinmolekülen derselben oder verschiedener Art, den **Kapsomeren**. Sphärische Kapside zeigen einen ikosaedrischen Aufbau mit Rotationssymmetrie. Ein Ikosaeder hat 20 dreieckige Flächen, die in 12 Ecken zusammenstoßen. Die Flächen werden von Proteinen mit 6er-Symmetrie (**Hexons**), die Ecken von Proteinen mit 5er-Symmetrie (**Pentons**) gebildet (Abb. 4.4, 4.5). Die Verpackungseinrichtungen bestehen meist aus einer Mehrzahl von Proteinen, die in komplexer Weise miteinander in Wechselwirkung stehen und die langen Nukleinsäuremoleküle in das Innere der vorgeformten Köpfe einfädeln (engl. **headful-packaging**). Das Volumen des Hohlraums ist begrenzt und kann in der Regel nicht mehr als ein Genom aufnehmen. Die Kapside werden als Hohlformen vorgefertigt und dann erst mit dem Genom gefüllt (Beispiel Φ X174, Abb. 4.9). Beim Phagen Φ 29 fand man kürzlich als Bestandteil des Verpackungsapparates sechs komplex gefaltete kurze

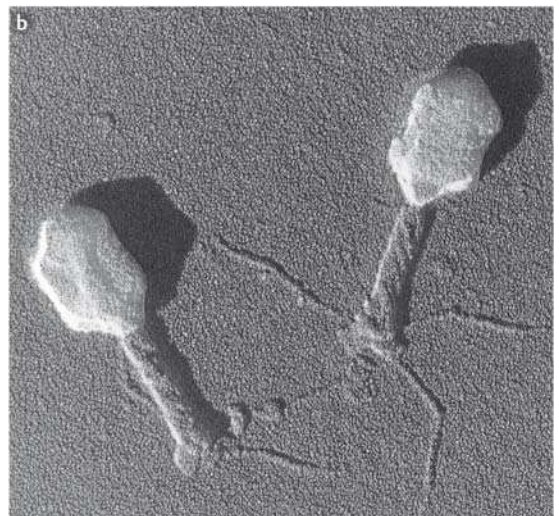
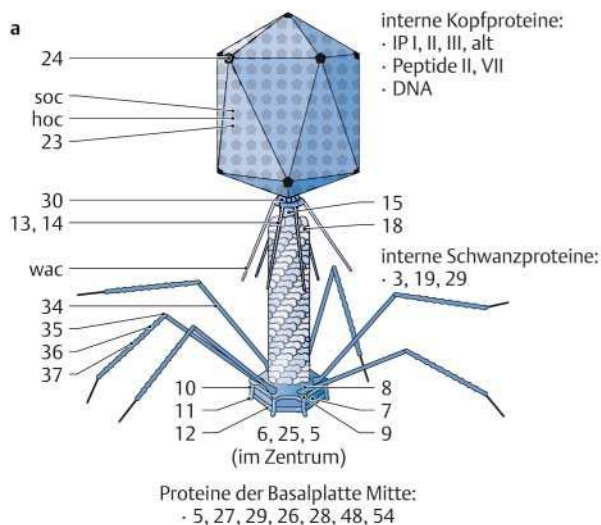


Abb. 4.5 T4-Phage. **a** Der Phage T4 hat einen gestreckt ikosaedrischen Kopf mit komplexen Schwanzanhängen. Die am Aufbau beteiligten Gene sind meist nummeriert, wenige tragen Bezeichnungen aus Buchstaben (z.B. hoc, soc, wac). **b** Elektronenmikroskopische Aufnahme zweier T4-Phagen (Aufnahme M. Wurtz, Biozentrum Basel, copyright science photp library).

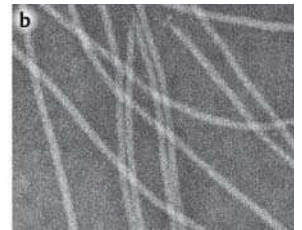
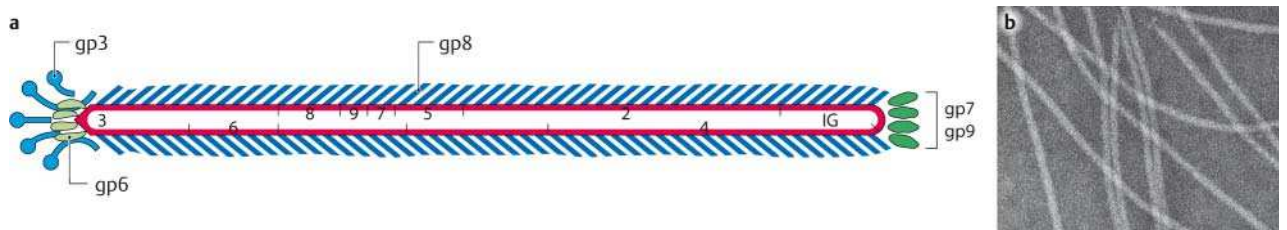


Abb. 4.6 M13-Phage. **a** Der Phage M13 ist filamentös mit dachziegelförmig angeordneten Hüllproteinen und die Enden dekorieren die speziellen Proteinen für Adsorption bzw. Ausschleusen des Phagen aus der Zelle. Der im Innern ausgestreckte einzelsträngige DNA-Ring ist exakt platziert und weist mit den Sequenzen des Gens 3 zur einen Seite des Phagen und mit der intergenen Region (IG) zum anderen Ende, das durch die Proteine 7 und 9 markiert ist. Protein 8 bildet Dachziegel gleich die äußere Hülle. **b** Elektronenmikroskopische Aufnahme von M13-Phagen (aus Kornberg und Baker, 1992).

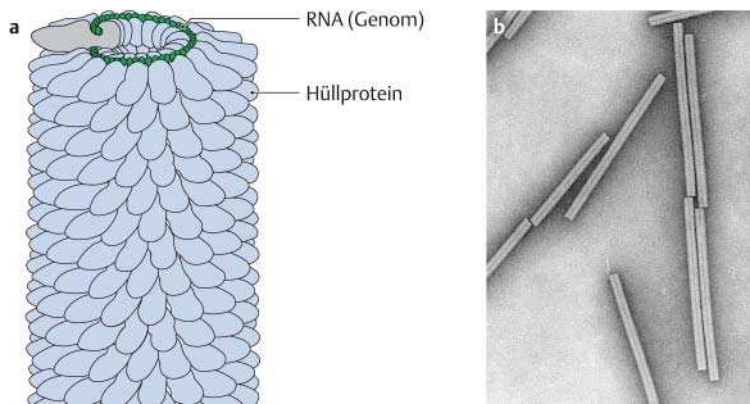


Abb. 4.7 Tabakmosaikvirus (TMV). a Das Tabakmosaikvirus (TMV) zeigt einen helikalen Aufbau seines Hüllproteins, dessen Windungen die helikale Anordnung der einzelsträngigen RNA (ssRNA) im Innern erzwingen. b Elektronenmikroskopische Aufnahme von TMV-Partikeln (Aufnahme John Finch, copyright science photo library).

RNA-Moleküle, deren genaue Funktion noch weitgehend unbekannt ist. Die Frage nach der eigentlichen Dynamik des Verpackens und der darauf folgenden Organisation der Nukleinsäuren im Innern der Köpfe ist ebenfalls noch weitgehend unverstanden.

Stäbchenförmige Umhüllungen, wie die des Phagen M13 (Abb. 4.6) oder des Tabakmosaikvirus (TMV, Abb. 4.7) zeigen einen dachziegel-förmigen oder helikalen Aufbau. Es werden so viele Proteineinheiten um die Nukleinsäure herum gelegt, bis diese ganz bedeckt ist. Auf diese Weise hat die Größe des Genoms auch direkt einen Einfluss auf die Größe des Partikels.

Die Kapside aus Proteinen sind vielfach von Membranen umgeben, die aus den Membransystemen der Wirtszelle stammen. Der Wiedereintritt in eine Wirtszelle desselben Typs erfolgt in diesen Fällen durch Verschmelzen der Virusmembran mit der Zellmembran. Bei den Viren ohne Membran findet man zur Adsorption an die Oberfläche der Zellen mehr oder weniger kompliziert gestaltete Vorrichtungen, die auf Moleküle (**Rezeptoren**) auf der Oberfläche des Wirtes „passen“. Bei den großen DNA-Phagen sitzen die Adsorptionsproteine an den Spitzen der Schwanzanhänge, bei den filamentösen Phagen liegen sie asymmetrisch nur an

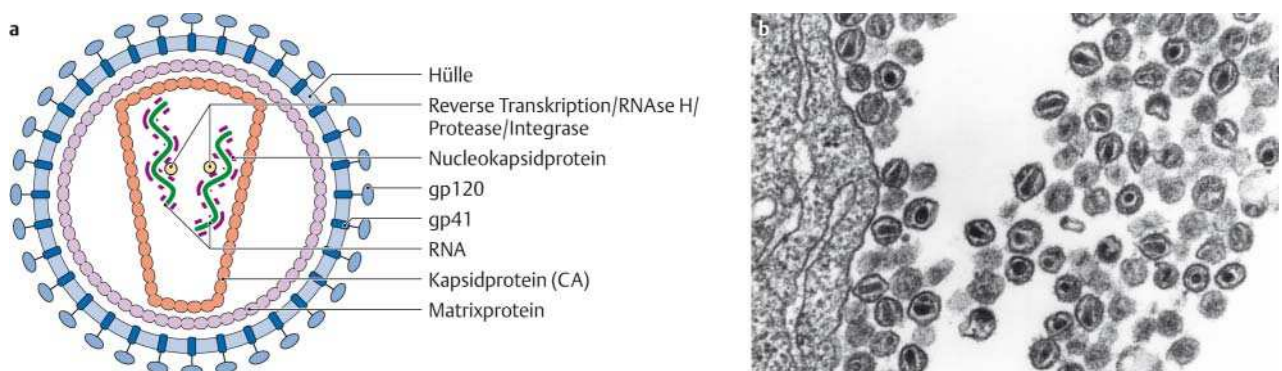


Abb. 4.8 Aufbau von HIV. a Das menschliche Immunschwäche-Virus (HIV) besteht aus einem Nukleokapsid, das zwei RNA-Chromosomen umschließt und einer, dieses Kapsid umschließenden äußeren Membranschicht. b Elektronenmikroskopische Aufnahme von HIV-Partikeln, die aus einem T-Lymphozyten knospen. Der dunkle Punkt innerhalb der Partikel ist das Nukleokapsid (copyright NIBSC/science photo library).

einem Ende des Virions, und bei den mit Membranen umgebenen Viren sind sie über die gesamte Oberfläche der äußeren Umhüllung verteilt.

Nach der Adsorption werden die Genome der Phagen und Viren weitgehend proteinfrei in das Zellinnere geschleust. In manchen Fällen werden aber auch für die frühe Entwicklung essenzielle Proteine mit ins Innere übertragen. So ist ein Protein des Phagen T4 unverzichtbar für den Schutz der offenen Enden der linearen DNA gegen Abbau durch wirtseigene Nukleasen (**Exonuklease V**). Die Retroviren nehmen mehrere Proteine, wie z. B. die **Reverse Transkriptase**, mit ins Zellinnere (Kap. 4.7.4).

4.4 Vermehrung

Das Zentralanliegen der Viren bei ihrer Vermehrung ist, das genetische Material, DNA oder RNA, so schnell und so oft wie möglich zu replizieren. Doppelsträngige Genome werden nach der Infektion häufig direkt repliziert, während einzelsträngige Genome zunächst in eine replikative doppelsträngige Form (**RF-Form**) umgewandelt werden. Hiervon werden dann die einzelsträngigen Genome der Nachkommen kopiert. Ringförmige Genome werden häufig nach dem Prinzip des „rollenden Rings“ (**Rolling Circle**, Abb. 4.9) im Endlosmodus synthetisiert und die entstandenen, vielfach hintereinander hängenden Kopien (**Konkatenate**) erst später in Genome von Einheitslänge aufgelöst (Kap. 15.6.2). Eine weitere besondere Form der Replikation haben die RNA-Retroviren entwickelt, die mit Hilfe des speziellen Enzyms Reverse Transkriptase ihr RNA-Genom zunächst in eine DNA umschreiben, diese dann in das Wirtsgenom integrieren und dann mit jeder zellgesteuerten Replikationsrunde zusammen kopieren lassen.

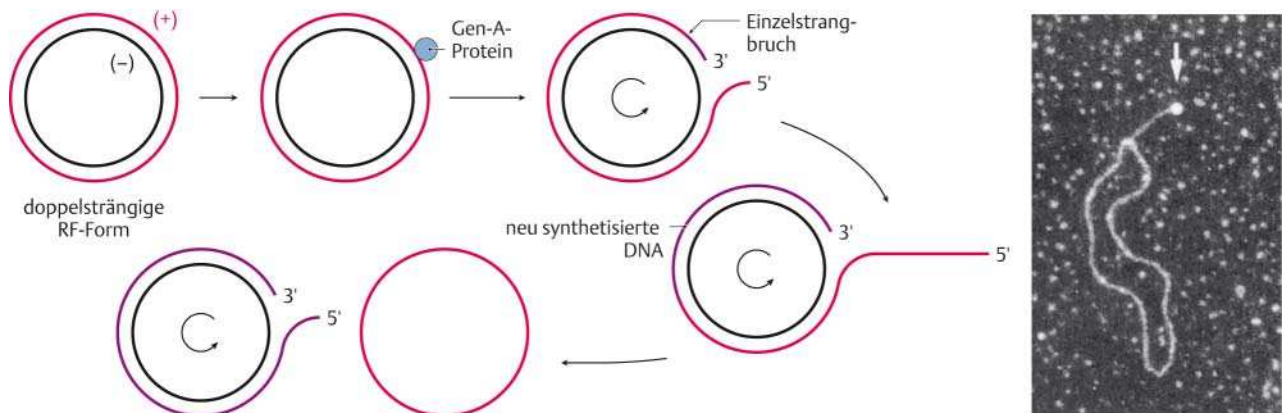


Abb. 4.9 Rolling-Circle-Mechanismus der Virusvermehrung. Nachdem das einzelsträngige minus-DNA-Genom des Phagen in der Zelle in eine doppelsträngige RF-Form transkribiert wurde, führt das Gen-A-Protein (bei ΦX174) in den plus-Strang einen Einzelstrangbruch ein. Am 3'-Ende des aufgebrochenen plus-Strangs beginnt dann die Neusynthese der DNA. Dabei wird das 5'-Ende verdrängt. Beim Phagen ΦX174 wird der neue plus-Strang direkt in die bereits assemblierten neuen Phagenköpfe hineinsynthetisiert. Sobald der neue Strang Genomlänge erreicht hat, wird er durch das Gen-A-Protein abgespalten und wieder zu einer ringförmigen Einzelstrang-DNA ligiert. Die elektronenoptische Aufnahme zeigt ein sich als Rolling Circle replizierendes Genom von ΦX174 mit einem angehefteten Phagenkopf (Pfeil) (aus Kornberg und Baker, 1992).

4.5 Mechanismen der Verbreitung

Die meisten Viren der Pflanzen, Tiere und Bakterien verbreiten sich durch horizontalen Transfer, d. h. sie gelangen von einer Zelle zur nächsten durch Diffusion. In seltenen Fällen wird auch vertikaler Transfer beobachtet, d.h. Weitergabe bei der Zellteilung der Wirtszelle. Einige animalische Viren werden über direkte Zellkontakte weitergegeben, wie z.B. das menschliche Immunschwäche-Virus HIV-1, ein Retrovirus (Kap. 4.7.4). Die Viren von Pilzen werden ausnahmslos durch direkten Zellkontakt im Verlauf der häufig erfolgenden Fusionen von Hyphen und bei Zellpaarungen weitergegeben. Ähnliches gilt für die den Retroviren in vieler Hinsicht sehr ähnlichen **Transposons** der Hefe (Kap. 15.5). Sie werden intrazellulär durch **Retrotransposition** während der Paarung zwischen Hefezellen weitergegeben. Hierzu nehmen sie zuvor eine virusähnliche Gestalt an, die außerhalb der Zellen jedoch nicht von Dauer ist.

4.6 Klassifizierung der Viren

Ursprünglich wurden Viren nach den von ihnen verursachten Krankheiten benannt. Das führte aber zu viel Konfusion, weil verschiedene Viren dieselben Krankheitssymptome verursachen können. Mangels eines genetischen Stammbaums wird die „Verwandschaft“ der Viren deshalb unter Berücksichtigung einer Vielzahl von Kriterien durch Ermittlung von Ähnlichkeiten bestimmt. Hierzu zählen die Organisation der Genome in lineare, ringförmige, doppelsträngige oder einzelsträngige Nukleinsäuren, morphologische Merkmale, Kreuzreaktionen mit Antikörpern, Sequenzvergleiche der Genome, die Zahl der Chromosomen pro Partikel, sowie der Verwandtschaftsgrad der Wirtszellen. Daraus ergeben sich sehr komplexe Verwandtschaftsbeziehungen. Deshalb schlug David Baltimore als Ergänzung eine sehr praktische Einteilung der Viren vor, das sog. **Baltimore-Schema** (Abb. 4.10). Dabei wird die Organisation der Genome und ihre Vermehrungsstrategien in den Mittelpunkt gestellt. Die beiden großen Klassen der DNA- und RNA-Viren werden in solche mit einzelsträngigen (ss) oder doppelsträngigen (ds) Genomen unterteilt. Dann wird die mRNA, die in Protein übersetzt werden kann, als **plus-Strang** und der komplementäre Strang (DNA- oder RNA-Matrize), der nicht als mRNA funktioniert, als **minus-Strang** bezeichnet. Dasselbe lässt sich auch auf

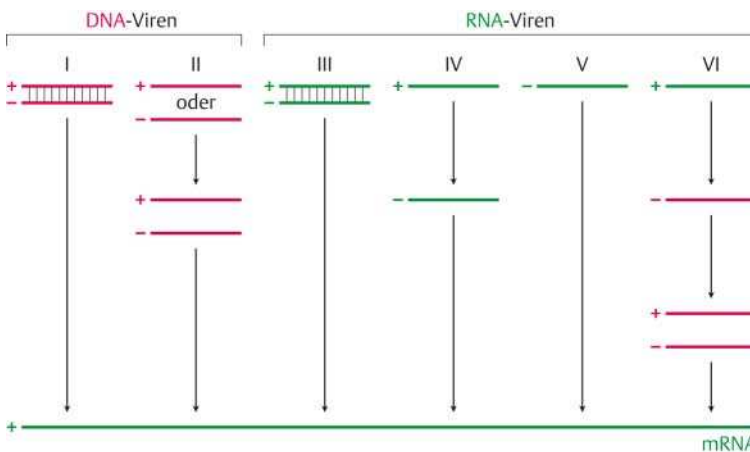


Abb. 4.10 Klassifizierung der Viren nach David Baltimore. Erklärung siehe Text (nach Lodish et al., 2001).

DNA anwenden und eine DNA, die komplementär zur mRNA ist, wird ebenfalls als minus-Strang bezeichnet. So erfordert also die Synthese von mRNA immer minus-Stränge von DNA oder RNA als Matrice. Auf diese Weise lassen sich sechs Klassen der Viren unterscheiden.

4.7 Beispiele

In Tabelle 4.1 sind einige Beispiele für Viren zusammengestellt. Vorstellung und Beschreibung der Viren in diesem Kapitel folgen dem Baltimore-Schema. Die klassischen Familienbezeichnungen der Viren sind zur Orientierung jedoch in Klammern mit angegeben, sobald diese zum ersten Mal genannt werden.

4.7.1 Doppelsträngige DNA-Viren (Klasse-I-Viren)

Doppelsträngige DNA-Viren der Bakterien

Bakteriophagen kommen überall dort vor, wo man auch ihre Wirte, die Bakterien, findet: Im Boden, im Wasser, selbst in der Tiefsee und in heißen Quellen. Heute kennt man weit über 4000 unabhängige Isolate von Phagen aus über 100 verschiedenen Bakterien. Nur wenige wurden jedoch

Tab. 4.1 Beispiele von DNA- und RNA-Viren nach Genomstruktur geordnet.

Virus	Genom Nukleinsäure	Struktur	Polarität	Nukleotide (kb)
T4	DNA	ds linear	–	168
SIRV	DNA	ds linear*	–	32–35
Adenovirus	DNA	ds linear	–	30–40
Herpes Virus	DNA	ds linear	–	80–140
Papillomavirus	DNA	ds ringförmig	–	4,5–7,5
SV40	DNA	ds ringförmig	–	5,2
AAV	DNA	ss linear	–	
ΦX174	DNA	ss ringförmig	plus	5,4
Parvovirus	DNA	ss linear*	minus	1,8–2,7
M13 (fd, f1)	DNA	ss ringförmig	plus	6,4
Hepatitis B	DNA	ds/ss ringförmig	–	3,4
Φ6	RNA	ds linear	–	15
Rotavirus	RNA	ds linear fragmentiert	–	18, 55
TMV	RNA	ss linear	plus	6,2
PSTV	RNA	ss linear	plus	0,2–0,4
Influenza	RNA	ss linear	minus	0,9–2,3 (8 Chr)
HIV	RNA	ss linear	plus	
Retrovirus	RNA	ss linear	plus	8,5

* Die Enden der DNA sind zurückgefaltet

bisher gut untersucht. Beispiele sind der Phage T4 und der Phage Lambda. Die Phagen Lambda und M13 (ein ssDNA-Phage) werden als Vektoren für DNA verwendet (Box 4.1).

Das Einschleusen der Phagen in die jeweiligen Wirtszellen erfolgt durch Adsorption an Empfängerproteine (**Rezeptoren**) in der äußeren Zelloberfläche. Mutationen in diesen Rezeptoren machen die Zelle resistent gegen Phagenbefall. Die Phagen können allerdings mit Gegenmutationen reagieren und so die Resistenz umgehen (engl. **host-range Mutationen**). Der eigentliche Schritt des Eintritts (**Penetration**) des Genoms in die Zelle erfordert eine lokale Öffnung der Zellbegrenzung.

Der Phage T4 (Myoviridae). Der Phage T4 gehört zu den best untersuchten, sich lytisch vermehrenden bakteriellen Viren. Er besteht aus zwei deutlich voneinander abgesetzten morphologischen Einheiten, dem **Kopf** und dem **Schwanz**. Hinzu kommen spezielle Anhänge (Abb. 4.5). Die Köpfe bestehen aus nur vier Proteinen, von denen drei hexagonale Flächen bilden. Die Ecken werden von einem Pentamer gebildet. Mutationen in den Genen dieser Proteine können zu Kopfvarianten führen, die besonders lang (Giants) oder besonders kurz (Petits) sind. Sensoren an den Enden der Schwanzfasern docken an die Porinproteine auf der äußeren Membran von *Escherichia coli* an. Die Zellwand wird dann lokal mit Hilfe eines Schwanzstachels und des mitgebrachten Lysozyms mechanisch und enzymatisch durchbrochen und die DNA durch das Schwanzrohr ins Zellinnere injiziert.

Das Genom des Phagen T4 besteht aus 168 904 Basenpaaren und ist **doppelsträngig linear**. Es wird zunächst ausgehend von einem Hauptreplikationsursprung bidirektional repliziert. Danach werden weitere Replikationsstartstellen durch homologe Rekombination geschaffen, wodurch die Nettosynthese der DNA drastisch erhöht wird. Von den 120 Genen sind rund die Hälfte frühe Gene, die mit der Inaktivierung des Wirtsgenoms und der Neusynthese von Nukleinsäure zu tun haben. Die späten Gene spielen vornehmlich beim Zusammenbau der Strukturen des reifen Phagen eine Rolle. Diese Strukturen sind der Kopf, der aus einer Kopfvorform (engl. prohead) entsteht, der Schwanz, die Schwanzfasern, die Basalplatte mit Anhängseln und der Kragen (Abb. 4.5, S. 102). Alle Komponenten werden für sich getrennt über unabhängige Synthesewege zusammengebaut und dann erst nach einer festgelegten Reihenfolge zusammengefügt. In der Cytoplasmamembran entstehen Löcher, die mit angereichertem Porin ausgekleidet werden. Durch diese Löcher dringt das in der Zelle gebildete Lysozym zur Zellwand vor und zerstört diese, wodurch die fertigen Phagen freigesetzt werden.

Doppelsträngige DNA-Viren der Eukaryonten

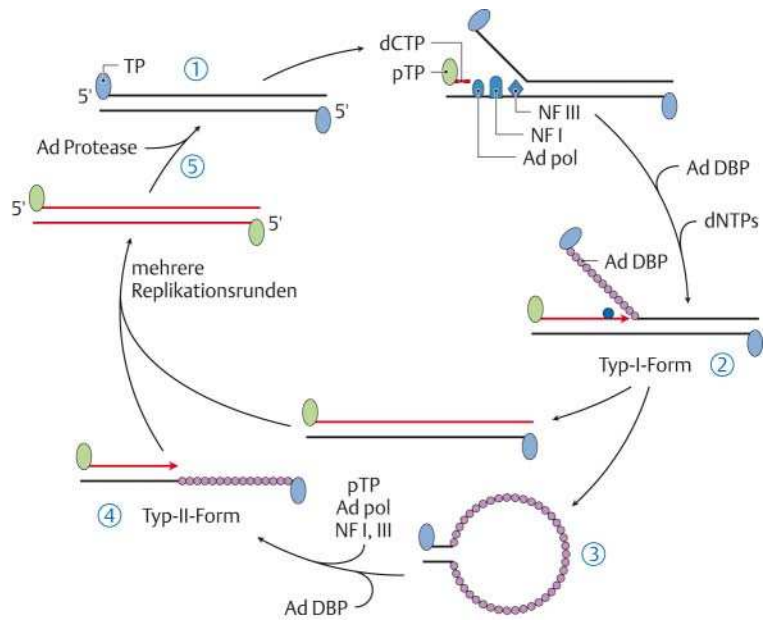
Die komplexeren DNA-Viren, wie Adenovirus und Herpesvirus zeigen – wie die Phagen – eine frühe und späte Phase der Genexpression. Der minus-Strang des Genoms wird nach dem Transfer in den Zellkern mithilfe zellulärer Enzyme in plus-mRNA transkribiert und diese in Struktur- und Nichtstrukturproteine translatiert. Dazu benutzen auch diese Viren die zellulären Transkriptions- und Translationseinrichtungen.

Die **linearen Genome** der Adenoviren werden semikonservativ repliziert (Abb. 4.11). Die Replikationsursprünge (engl. **origins**) befinden sich an den Enden der linearen Moleküle. Die Initiation der Replikation erfolgt über 5' terminal gebundene Proteine mit kovalent gebundenen desoxy-Cytosinen (dC), die ihre 3-OH Gruppen als Primer für die Virus

Box 4.1 Phagenvektoren

Die Tatsache, dass Phagen ihre DNA in kurzer Zeit nach der Infektion in Proteinhüllen verpacken, hat man sich zur Konstruktion von **Phagenvektoren** zunutze gemacht. Die großen ikosaedrischen Phagen, wie z.B. der **Phage Lambda**, verpacken ihre neu synthetisierte DNA in vorgeformte Kopfhüllen und verschließen diese dann durch Anheftung von Schwanzkomponenten, wodurch die Köpfe zu neuen infektiösen Partikeln komplettiert werden. Bei diesem Vorgang kann man den Phagen dazu bewegen, auch fremde DNA in den Kopf mit einzupacken (Kap. 15.9.2). Die Menge der DNA, die in einen Kopf verpackt werden kann, ist jedoch nur unbedeutend größer als das Genom des Phagen Lambda. Deshalb entfernt man zuvor ein Stück DNA aus dem Phagengenom, das für die normale Infektion des Bakteriums *E. coli* nicht benötigt wird (b2-Region) und ersetzt es durch fremde DNA. Diese wird dann von dem Phagensystem ganz unspektakulär mit verpackt. Jeder auf diese Weise zusammengebaute Phage enthält nun ein Stück fremder DNA und bildet einen **Klon**. Der gesamte Verpackungsvorgang lässt sich heute unter Einsatz gereinigter Komponenten im Reagenzglas (*in vitro*) durchführen. Nach Infektion von Bakterien wird das geklonte Stück DNA beliebig oft durch den Vektorphagen mit vermehrt und kann schließlich in reiner Form wiedergewonnen werden. Wegen der Begrenzung des nicht-essenziellen Genomabschnitts lassen sich auf diese Weise DNA-Stücke bis zu einer Länge von 20 kb klonieren. Um auch noch größere DNA-Fragmente wirkungsvoll zu klonieren, bedient man sich eines auf der Grundlage des **Phagen M13** entwickelten Vektors, der wegen seiner filamentösen Konstruktion kaum Platzprobleme hat und nahezu jedes Molekül in Hüllprotein verpackt.

Abb. 4.11 Semikonservative Replikation der linearen Genome der Adenoviren. Die Replikation verläuft unidirektional. Sie startet von den beiden 3'-Enden der Template-DNA und endet an deren 5'-Enden. Um eine verlustfreie DNA-Synthese der linearen DNA zu gewährleisten, wird jeweils ein Molekül eines 55 kD Proteins (TP) kovalent an die 5'-Enden der DNA gebunden (①), während sich die Replikationsproteine am Gegenstrang unter Abfaltung des 5'-Stranges zum Synthesestart anlagern (Typ-I-Form, [②]). Hierzu gehören das Terminale Vorläuferprotein (pTP), die DNA-Polymerase (Ad pol), das Einzelstrang bindende Protein (Ad DBP), der nukleare Faktor I (NFI) und III (NFIII) und ein Molekül desoxy-Cytidintriphosphat (dCTP), das über einen Serinrest kovalent an pTP gebunden ist. Die erste Replikationsrunde endet mit der vollständigen Abtrennung (Displacement) des 5'→3'-Einzelstrangs, dessen Enden sich über terminale palindromische Sequenzen zur Paarung finden (③). Dadurch bildet sich eine große Schleifenstruktur, an dessen 5'-Ende immer noch das terminale Protein (TP) gebunden ist. Letzteres startet in einem neuen Replikationsmodus (Typ-II-Form) die Replikation dieser Schleifenstruktur (④). Nach Vervollständigung der Replikation wird das pTP durch eine Protease (Ad Protease) in TP gespalten (⑤). Dieses leitet die nächste Runde der Replikation ein.



induzierte DNA-Polymerase zur Verfügung stellen. Dadurch wird eine verlustfreie Vermehrung der beiden Stränge der linearen DNA gewährleistet; ganz anders als dies bei der Verdopplung der linearen DNA aus Chromosomen in den Zellen der Eukaryonten geschieht: dort müssen die am lagging-Strang auftretenden Verluste von Zeit zu Zeit durch Telomerasen ersetzt werden.

Die linearen DNA-Genome der Herpesviren, die beim Menschen Bläschenausschläge hervorrufen, werden in der Zelle zirkularisiert. Die Viren lysieren dann entweder die Zellen oder etablieren einen latenten Zustand, in dem die virale DNA plasmidähnlich als **Episom** vorliegt und von der zellulären DNA-Polymerase repliziert wird. Ein bekanntes Beispiel dafür ist das Epstein-Barr-Virus (EBV), das mit hoher Rate menschliche B-Lymphozyten zum Burkitt's Lymphom transformiert.

Zu den doppelsträngigen DNA-Viren zählen viele Tumoviren, die kultivierte Zellen in Tumorzellen mit unbegrenztem Teilungswachstum transformieren können. In den Zellen der Tumoren sind keine Viren mehr nachweisbar, stattdessen haben alle Zellen ein Stück des Virusgenoms oft an exakt derselben Stelle im Genom integriert. Das ist ein Hinweis darauf, dass alle Zellen eines Tumors auf eine einzige Ursprungszelle mit nur einem Integrationsereignis zurückzuführen sind. Die Integrationsorte können jedoch von Tumor zu Tumor verschieden sein. Die integrierten Gene (**Onkogene**) werden von der Wirtszelle abgelesen und produzieren eine viruseigene mRNA und die **Onkoproteine**.

SV40 (Simian Virus, Polyomaviridae, Abb. 4.12a). Das SV40-Virus hat eine ringförmige, doppelsträngige DNA mit mehreren Genen (Abb. 4.12b). Sein 5243 Bp umfassendes Genom ist zusammen mit Nukleosomen der Wirtszelle in eine Proteinhülle (**Core**) eingeschlossen. Mithilfe eines Hüllproteins nimmt das Virus Kontakt zur Wirtszelle auf und wird dann durch Endocytose in die Zelle aufgenommen. Es wird in den Kern transportiert, wo das Genom mithilfe von Wirtspoteinen repliziert wird. Die Regulatorregion des Virusgenoms hat Ähnlichkeit mit den Transkriptions-

startstellen des Wirts und wird deshalb von zellulären Transkriptionsfaktoren erkannt und abgelesen. Das Virus bringt zur Replikation keine eigene DNA-Polymerase mit, sondern steuert nur Polypeptide bei, die mit den zellulären DNA-Polymerasen in Wechselwirkung treten und ihre Funktionen so modifizieren, dass die viralen DNA-Sequenzen bevorzugt repliziert werden. Dieser Prozess beginnt am Replikationsursprung und verläuft bidirektional und semikonservativ. Ungefähr die Hälfte des viralen Genoms codiert für zwei frühe Proteine, die Tumor-Antigene (T-Antigene, Plus 4.3), die kurz nach der Infektion entgegen dem Uhrzeigersinn vom minus-Strang des Ringchromosoms in eine Vorläufer-mRNA übersetzt werden. Diese mRNA wird in Fragmente zerlegt und im Cytoplasma in die beiden T-Antigene translatiert. Die späten Proteine werden in die Gegenrichtung transkribiert. Das größere der beiden T-Antigene kehrt zurück in den Zellkern und bindet an zwei vorgegebene Stellen in der Regulatorregion des SV40-Genoms. Die Bindung an die eine Stelle unterbricht die Transkription des SV40-Genoms, die Bindung an die zweite Stelle leitet die Replikation des Wirtsgenoms ein. Die neu synthetisierten Chromosomen werden mithilfe von Nukleosomen kondensiert und in Proteinkapseln verpackt. Nach Expression der späten Gene erfolgt die weitere Verpackung in Kapsomere. Die Nachkommen bleiben im Zellkern, bis die Zelle abstirbt, auseinander fällt und ihre Virusfracht frei gibt.

Nicht immer verläuft eine SV40-Infektion nach diesem Muster. Es kommt vor, dass in manchen Zellen keine Nachkommen produziert werden, sondern das Genom des Virus in das Genom der Wirtszelle integriert wird, vergleichbar der Lysogenie bei Bakteriophagen. Dadurch entwickelt sich die Zelle in eine Tumorzelle.

Papillomviren (Papillomaviridae). Diese Viren gleichen dem SV40-Virus. Eine Untergruppe dieser Viren löst Hauttumore aus, oft nach Sonnenlichteinstrahlung. Letzteres wird als Hinweis auf die Beteiligung von Wirtsfaktoren bei der Tumorentstehung angesehen. In den meisten der isolierten Tumorzellen werden von den acht frühen und zwei späten Proteinen die beiden späten Virusproteine in nachweisbaren Mengen produziert. Die zugehörigen Gene gehören deshalb zu den Onkogenen, und Mutationen in diesen Genen können ihre transformierende Wirkung aufheben. Umgekehrt kann man durch Injektion dieser beiden Proteine in eine empfängliche Zelle erreichen, dass sie zur Tumorzelle transformiert wird. Die heute in der experimentellen Biologie und Medizin weit verbreitete Zelllinie Hela stammt von einem durch Papillomviren ausgelösten Gebärmutterhals(Cervix)-Tumor ab.

Adenoviren (Adenoviridae). Adenoviren wurden zum ersten Mal aus Rachenmandeln isoliert. Darunter sind Vertreter, die Zellen zu Tumorzellen transformieren können.

Das Adenovirus hat ein ca. 36 kbp doppelsträngiges lineares DNA-Genom, das in einem ikosaedrischen Kapsid kondensiert ist (Abb. 4.4). Von jeder der 12 Ecken des Ikosaeders ragt ein Fortsatz (engl. **spike**) nach außen, der für die Anheftung an die Wirtszelle erforderlich ist. Das Virus wird durch Endocytose ins Innere der Zelle aufgenommen und weiter zum Zellkern transportiert. Auf diesem Weg wird das Genom des Virus ausgepackt. Im Kern werden zunächst die frühen Gene abgelesen, danach die verzögert-frühen Gene. Die Proteine der frühen Gene regulieren die Transkription der verzögert-frühen Gene in der Wirtszelle sowie die Replikation des Virusgenoms. Dann beginnen die späten Gene ihre Arbeit und produzieren überlange, mit Introns und Exons versehene mRNAs, die

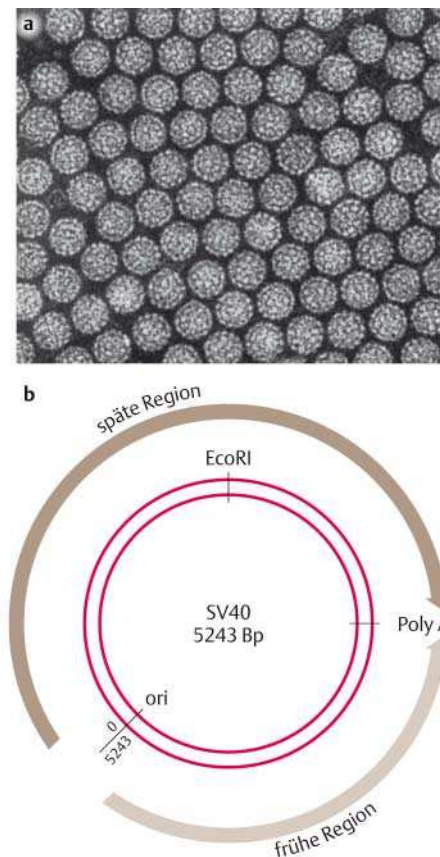


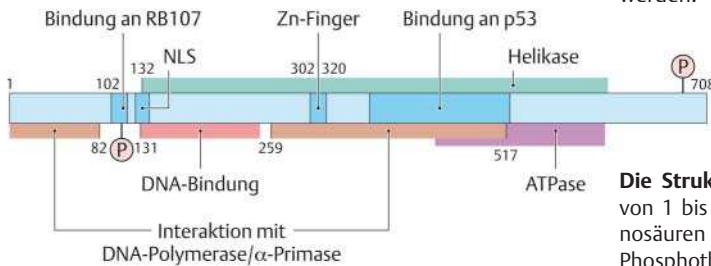
Abb. 4.12 SV40. **a** Elektronenmikroskopische Ansicht eines SV40-Virus. Das Kapsid besteht aus 72 Pentameren des Proteins VP1, von denen je 5 die 12 Ecken des Ikosaeders bilden. Im Innern des Partikels befindet sich das ringförmige dsDNA-Genom (Aufnahme H. Frank, Tübingen; aus Köhler et al., 2001). **b** EcoRI-Restriktions-Genkarte des SV40-Virus. Der Replikationsursprung ori teilt das Genom in die in entgegengesetzte Richtungen codierten frühen und späten Funktionen. Die Pfeile repräsentieren die Proteine. Das große T-Antigen wird nach Entfernen einer intervenierenden Sequenz von einer mRNA translatiert. Eine Verschiebung des Leserasters ergibt die Sequenz für das kleine T-Antigen, das ebenfalls von dieser mRNA translatiert wird. Die viralen Kapselproteine VP1, VP2 und VP3 werden von einer späten mRNA translatiert.

Plus 4.3 Funktionelle Domänen des großen T-Antigens von SV40

Das große T-Antigen ist ein frühes Genprodukt von SV40. Es ist ein multifunktionales Protein mit 708 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 90 kD, das vorwiegend im Kern aktiv ist (Abb.). Es wird im Cytoplasma synthetisiert und dann mithilfe einer Kernlokalisationssequenz in den Kern transportiert. Dort bindet es mit seiner DNA-Bindungsdomäne, einem Zn-Finger-Motiv, an den Replikationsursprung von SV40 und ermöglicht dadurch dessen Replikation. Mithilfe seiner Helikase- und ATPase-Aktivitäten schmilzt es den DNA-Strang am Replikationsursprung auf und tritt über zwei gesonderte Domänen mit der DNA-Polymerase und der α -Primase des Wirts direkt in Kontakt.

Weiterhin ist das große T-Antigen an der Regulation der Transkription der frühen Gene beteiligt, indem es an die Promotoren der frühen Gene bindet, diese stilllegt und die Transkription der späten Gene aktiviert. Dadurch reguliert es auch als frühes Protein seine eigene Synthese. Das große T-Antigen besitzt außerdem eine Bindungsstelle für das Tumorsuppressorprotein p53 und spielt damit eine Rolle bei der Tumorentstehung.

Ebenso kann es das Protein RB107 binden, ein Regulatorprotein für verschiedene zelluläre Gene. RB107 wird dadurch inaktiviert und die Zellteilung nachhaltig gestört. Fraktionen des großen T-Antigens können in unterschiedlichem Ausmaß an verschiedenen Serin- und Threoninresten phosphoryliert und durch diese Modifikationen in ihrer Wirkung modifiziert werden.



Die Struktur des großen T-Antigens von SV40. Die Zahlen von 1 bis 708 geben die Positionen der entsprechenden Aminosäuren an. NLS, Kernlokalisierungssequenz; P, Phosphoserin/Phosphothreonin.

anschließend in passende Fragmente umstrukturiert (gespleißt) werden. Zur Transformation von empfänglichen Zellen werden eines der frühen und zwei der verzögert-frühen Proteine gebraucht.

Das Adenovirus kann auf Grund langsamer Vermehrung in den menschlichen Tonsillen persistieren, ohne erkennbare Schäden anzurichten. Es löst in Hamsterzellen, nicht aber in menschlichen Zellen, Tumoren aus, indem es an vielen Stellen im Genom integriert.

Doppelsträngige DNA-Viren der Archaeobakterien. Seit der Entdeckung der Archaeobakterien als dritter Domäne des Lebens wurden zahlreiche Erkenntnisse über ihre Biologie zusammengetragen. Mittlerweile sind mehrere Archaeobakteriengenome sequenziert worden. Auch wurden extrachromosomale Elemente für die **Euryarchaeota** und die **Crenarchaeota** beschrieben. Während die meisten euryarchaealen Viren an den Kopf-Schwanz-Typ der Bakteriophagen erinnern, gibt es noch eine Reihe spin-del- und stäbchenförmiger Viren, die meist Vertreter der extrem thermophilen Gattung *Sulfolobus* befallen. Zur Evolution dieser Viren haben Mechanismen wie Rekombination, Genduplikation, horizontaler Gentransfer und Gensubstitution von viralen Genen durch homologe Wirtsgene beigetragen.

4.7.2 Partiiell doppelsträngige DNA-Viren

Viren mit einem gleichzeitig aus partiell doppel- und einzelsträngiger DNA bestehenden Genom wurden bisher nur für Eukaryonten beschrieben. Ihre Eigenschaften werden exemplarisch am Beispiel des Hepatitis-B-Virus beschrieben (Abb. 4.13).

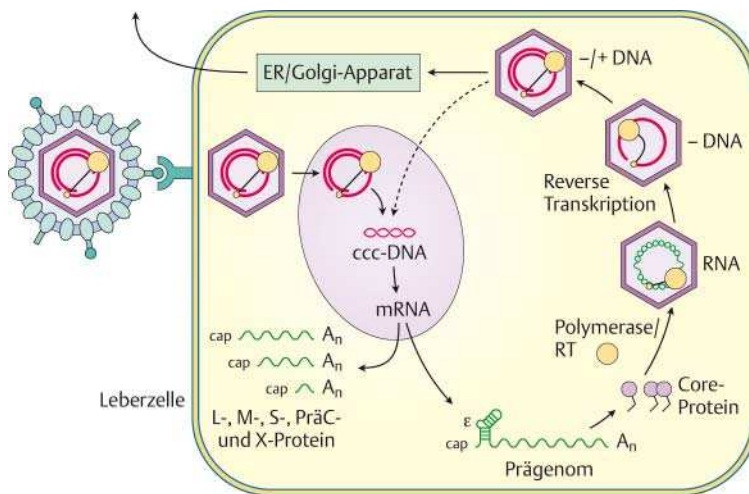


Abb. 4.13 Entwicklung des Hepatitis-B-Virus (HBV). Nach Eindringen in die Zelle und Entpacken wird das teilweise einzelsträngige virale Genom in den Zellkern transportiert, wo es durch zelluläre Reparaturfunktionen in ein kovalent geschlossenes, ringförmiges supercoiled Molekül umgewandelt wird (ccc-DNA). Dieses Molekül wird dann in ungespleißte, gekappte und polyadenylierte mRNA-Moleküle transkribiert, die im weiteren Verlauf in virale Proteine translatiert werden. Weiterhin dient die redundante 3,5 kb RNA als ein RNA-Progenom, das in virale Cores verpackt, zurücktranskribiert und dann durch Knospung durch das Endoplasmatische Retikulum (ER) ausgeschleust wird.

Hepatitis B (Hepadnaviridae). Hepatitis ist eine Leberentzündung, die durch die Viren Hepatitis A (**Picornaviridae**), Hepatitis B (**Hepadnaviridae**) oder Hepatitis C (**Flaviviridae**) ausgelöst werden kann. Hepatitis A und C werden am häufigsten durch verschmutzte Nahrung und Wasser übertragen. Hepatitis B wird durch kontaminiertes Blut und Blutprodukte übertragen. Viele Hepatitis-A-Infektionen verlaufen ohne Symptome, und ihre Träger entwickeln Antikörper gegen das Virus, die lebenslang gegen weitere Infektionen schützen. Andere Patienten entwickeln eine durch Gelbsucht erkennbare Leberentzündung. Seit Blutkonserven auf Hepatitis B getestet werden, verringerte sich die Rate der nach Bluttransfusionen an Hepatitis B Erkrankten um 90%. Manche Patienten tragen das Virus ein Leben lang in sich, wobei dieses fortwährend Nachkommen produziert. Dadurch erwerben diese Menschen ein hohes Risiko, Leberkrebs zu entwickeln. Tatsächlich ist Hepatitis B die häufigste Ursache für Leberkrebs in der Welt, vor allem in den Ländern Asiens und Afrikas. Hepatitis C verursacht chronische Lebererkrankungen, möglicherweise auch Leberkrebs.

Das Hepatitis-B-Virusgenom besteht aus nur vier Genen und ist eng mit einer DNA-Polymerase assoziiert, die als erstes nach Infektion den einzelsträngigen Anteil der viralen DNA zum Doppelstrang vervollständigt. Das Genom ist von einer Proteinhülle (**Core-Antigen**) und diese von einer Membran umgeben, aus deren Oberfläche die zur Adsorption erforderlichen Lipoproteine herausragen. Die Entwicklung gleicht in vieler Hinsicht der eines Retrovirus (Kap. 4.7.4), wobei das Genom jedoch aus DNA und nicht aus RNA besteht.

Das Virus benutzt Abschnitte des Polymerasegens (P) zur Synthese der anderen drei Proteine (ein Antigen S, ein Core-Protein C und ein Protein X unbekannter Funktion), indem es einen Teil der Sequenzen in einem der beiden anderen Leseraster abliest und translatiert. Das P-Gen macht eine große RNA für die Polymerase und ein kleines Protein, das zum Start der DNA-Synthese erforderlich ist.

Das X-Protein stimuliert die mRNA-Synthese in noch unbekannter Weise.

Nach Herstellung des kompletten Doppelstrangs wird der minus-Strang der DNA im Zellkern in eine lange und mehrere kürzere RNA-

Moleküle transkribiert. Die lange RNA codiert für eine Reverse Transkriptase, die gleichzeitig als DNA-Polymerase fungiert. Die kürzeren RNAs dienen als Matrize für das S-, C- und X-Protein. Die DNA-Polymerase kopiert nun die mRNA in eine komplementäre minus-Strang-DNA, die nach Abbau der RNA-Matrize als einzelsträngiges DNA-Genom zurück bleibt und zu einer doppelsträngigen plus-Strang-DNA komplettiert wird. Der letzte Syntheseschritt läuft merkwürdigerweise nicht im Kern, sondern im Cytoplasma ab. Hier wird die fertige DNA dann auch in die neuen Viruspartikel kondensiert, wobei diese beim Ausschleusen aus der Zelle mit zwei in den Membranen des Endoplasmatischen Retikulums eingelagerten Proteinen umhüllt wird.

4.7.3 Einzelsträngige DNA-Viren (Klasse-II-Viren)

Bei den einzelsträngigen DNA-Viren wird zwischen plus-Strang-DNA- und minus-Strang-DNA-Viren unterschieden.

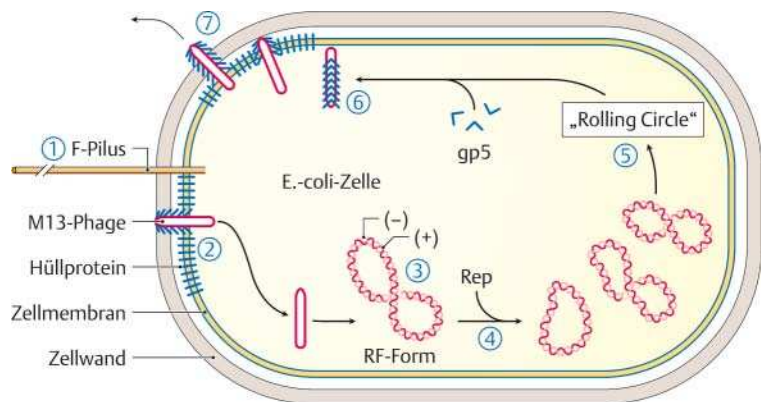
Einzelsträngige DNA-Viren der Prokaryonten

Alle bisher bekannten, mit einzelsträngigem DNA-Genom ausgestatteten Phagen sind vom plus-Strang-Typ.

Ff-Phagen (Inoviridae). Die Ff-Phagen sind 895 nm lang, haben einen Durchmesser von 6 nm und bestehen aus einem ringförmigen einzelsträngigen plus-Strang-DNA-Genom, das von einer Proteinhülle umschlossen wird. Beispiele sind die eng verwandten Phagen f1, fd und M13 (Abb. 4.6, S. 102). Sie haben nur 11 Gene, die aufgrund des Platzmangels auf dem Genom zum Teil überlappend angeordnet sind. Damit gehören sie zu den kleinsten bekannten Phagen. Innerhalb der Proteinhülle ist die DNA exakt orientiert, und ein haarnadelförmig gefaltetes Verpackungssignal liegt an dem einen Ende des Partikels, das als erstes ausgeschleust wird. Das andere Ende wird von 5 Molekülen zwei verschiedener Proteine markiert und dient der Adsorption bei Neuinfektion von Wirtszellen (vgl. auch Abb. 4.6). Die Virionen heften sich zur Adsorption an die Spitze von F-Pili, die von F⁺-Bakterien gebildet werden und gelangen dann durch die Zellwand ins Innere der *E.-coli*-Zelle.

Die Replikation verläuft in drei Abschnitten (Abb. 4.14). Zuerst wird das virale einzelsträngige plus-Strang-Genom durch minus-Strangsynthese in eine doppelsträngige replikative Form (**RF-Form**) umgewandelt. Dann

Abb. 4.14 Entwicklung des Bakteriophagen M13. Der Phage M13 bindet mit seinem endständigen Adsorptionsprotein an die Spitze eines F-Pilus von *Escherichia coli* (①). Die Aufnahme der ssDNA erfolgt jedoch durch die Zellwand. Dabei wird das Hüllprotein abgestreift und zur Wiederverwendung in der Cytoplasmamembran gelagert (②). Die ssDNA wird im Innern durch Wirtsproteine zum ds-DNA-Ring aufsynthetisiert (Replikative DNA, RF-Form (③)). Nach Vermehrung der RF-DNA unter Zuhilfenahme zweier Replikationsproteine (Rep, [④]) werden einzelsträngige plus-Strang-Ringmoleküle nach dem Rolling-Circle-Modus synthetisiert (⑤) und diese mit dem DNA-bindenden Protein (gp5) abgedeckt (⑥). Beim Austritt aus der Zelle wird letzteres wieder abgestreift und gegen das in der Membran eingelagerte Hüllprotein ausgetauscht (⑦). Die Verpackung der DNA erfolgt von dem in der intergenen Region (IG) liegenden Verpackungssignal aus (vgl. Abb. 4.6, S. 102).



wird die RF-Form der DNA durch weitere RF-Synthese vermehrt. Dadurch entstehen ausreichend Matrizen für eine wirkungsvolle Transkription und Translation. Erst danach wird die Replikation auf die Produktion ringförmiger ssDNA umgestellt. Die Replikation verläuft kontinuierlich über viele Runden entlang des ringförmigen Matrizenstranges nach dem Modus des Rollenden Rings (engl. **Rolling Circle**).

Ff Phagen werden erst an der Membran der Wirtszelle zusammengebaut, wobei die Verpackung der ssDNA von einem Ende her erfolgt, bis der gesamte DNA-Ring bedeckt ist. Die DNA wird dann beim Durchtritt durch die Cytoplasmamembran mit dem dort eingelagerten Hüllprotein umgeben (**Recycling**). Diese Eigenschaft erlaubt es, die Ff-Phagen zu wirkungsvollen Klonierungsvehikeln umzubauen, die große Stücke fremder DNA mit umhüllen und durch Infektion dann an neue Wirtszellen weitergeben (vgl. Box 4.1, S. 107).

Die Ff-Phagen töten ihre Wirtszellen nicht ab, sondern schleusen ihre Nachkommen kontinuierlich aus den sich verlangsamt weiter vermehrenden Wirtszellen aus.

Der Phage Φ X174 (Microviridae). Der Phage Φ X174 besitzt wie die Ff Phagen ein einzelsträngiges, ringförmiges plus-Strang-Genom (vgl. Abb. 4.9, S. 104). Im Gegensatz zu den Ff Phagen hat Φ X174 jedoch einen ikosaedrischen Kopf und keinen Raum für zusätzliche DNA.

Das Genom wurde als erstes vollständig sequenziert. Die 11 Gene sind wegen des geringen Platzes auf der DNA ineinander geschoben und überlappen sich teilweise (vgl. Hepatitis-B-Virus, S. 111). Der Phage Φ X174 adsorbiert irreversibel über die Knopfstrukturen an Lipopolysaccharide in der äußeren Membran von *E. coli* oder *Salmonella typhimurium*, vorzugsweise an Stellen, an denen die äußere Membran mit der Cytoplasmamembran in Kontakt steht. Die DNA wird durch den angehefteten Fortsatz in das Innere der Zelle transferiert, bleibt aber mit der äußeren Membran assoziiert. Im Cytoplasma erfolgt die Synthese des viralen plus-Stranges zur replikativen RF-Form. Nach ungefähr 20–30 Minuten wird die DNA-Synthese der Wirtszelle eingestellt. Ungefähr 20 Minuten nach der Infektion liegen rund 30 Rolling Circle des Phagen Φ X174 vor, die den gesamten Vorrat der DNA-Polymerase III der Wirtszelle absorbieren. Die Wirtszellen hören auf sich zu teilen und wachsen filamentös aus, bis sie langsam absterben.

Einzelsträngige DNA-Viren der Eukaryonten

Die Genome einzelsträngiger DNA-Viren können bei ein- und derselben Art vom plus-Strang- oder vom minus-Strang-Typ sein.

Parvoviren (Parvoviridae). Die Parvoviren gehören zu den kleinsten bekannten Viren (lat. parvus, klein). Sie sind unter den human- und tierpathogenen Viren die einzigen mit einem einzelsträngigen DNA-Genom. Zu ihnen gehören die Erreger der Katzenseuche bei Katzen und der Ringelröteln beim Menschen. Die Parvoviren haben keine Information für eine eigene virale DNA-Polymerase. Ähnlich den Polyomaviren verwenden sie zur Genomreplikation zelluläre Enzyme, die in ihrer Funktion modifiziert werden. Auf diese Weise entstehen komplementäre zirkuläre doppelsträngige DNA-Intermediate, die anschließend wieder in Einzelstranggenome umgeschrieben werden. An den 5'- und 3'-Enden des Genoms befinden sich terminale invertierte Sequenzwiederholungen (engl. Inverted Terminal Repeats, ITR), die zu terminalen doppelsträn-

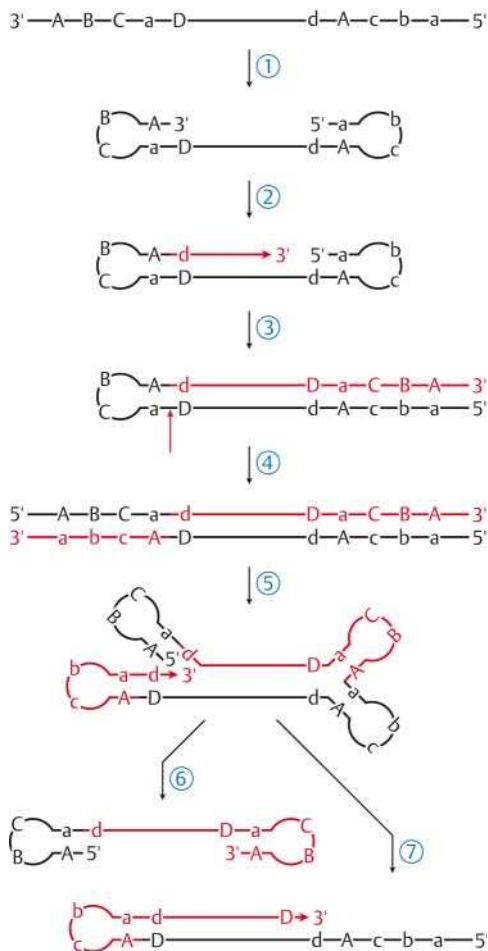


Abb. 4.15 Replikation von Parvoviren. Vorge-schlagenes Modell der Replikation eines Parvovirus (z.B. Adeno-assoziierte Viren, AAV). Die DNA der Parvoviren faltet sich an den Enden zu Haarnadelschleifen (①), von denen die linke als Primer für DNA-Synthese nach rechts benutzt wird (②). Dadurch wird die rechte Haarnadel „ausgestreckt“ (③). Durch Einführung eines Einzelstrangbruchs an der linken Haarnadel im unteren Strang (Pfeil) wird ein Primer für die nach links gerichtete DNA-Synthese geschaffen (④). Durch Rückfaltung der neu synthetisierten Haarnadelsequenz entsteht auf der linken Seite ein neuer Primer zur weiteren Synthese nach rechts (⑤). Dadurch wird der obere Strang als neues fertiges Nachkommen-genom verdrängt (⑥), während der untere Strang für die nächste Kopierrunde bereitsteht (⑦).

gigen Rückfaltungen des Genoms führen. Zum Starten der DNA-Synthese werden keine Primer-RNAs benötigt, es sind vielmehr die rückgefalteten 3'OH-Enden, die zum Replikationsstart benutzt werden (Abb. 4.15). Als Zwischenprodukt entsteht so ein dimeres doppelsträngiges DNA-Molekül, das auf Grund seiner Inverted Terminal Repeats Sekundärstrukturen (Haarnadelschleifen) ausbildet, die von spezifischen Endonukleasen erkannt und in Moleküle von Genomlänge geschnitten werden.

Adeno-assoziierte Viren (Parvoviridae). In dieselbe Gruppe wie die Parvoviren gehören auch die Adeno-assoziierten Viren (AAV), die beim Menschen verschiedene Epithelzellen infizieren können. Trotz einer hohen Durchseuchungsrate von mehr als 90% der Population konnten bisher keine Krankheitsbilder mit den Infektionen in Verbindung gebracht werden. Die Replikation dieser Viren erfordert eine gleichzeitige Infektion der Zellen mit Adenoviren oder Herpesviren. Nur wenn die sehr frühen Genprodukte der Helferviren vorhanden sind, können sich die Adeno-assoziierten Viren vermehren. Helferviren machen es den Adeno-assoziierten Viren möglich, in ihrem Wirt eine lebenslange latente Infektion zu etablieren. Aus Versuchen *in vitro* weiß man, dass das Adeno-assoziierte Virusgenom spezifisch über eine nichthomologe Rekombination in das Chromosom 19 des Menschen integriert wird. Dort verbleiben zwei Genomeinheiten in Tandemanordnung. Das integrierte Genom kann aus dieser Latenzphase jedoch durch Überinfektion der Zellen mit einem geeigneten Helfervirus wieder reaktiviert werden.

4.7.4 Die plus-Strang-RNA-Viren (Klasse-IV- und Klasse-VI-Viren)

Die plus-Strang-RNA-Viren der Prokaryonten

Zu den plus-Strang-RNA-Phagen gehören z.B. die *E. coli* Phagen Q β , MS2, R17 und f2 (**Leviviridae**). Das Genom codiert nur für wenige Proteine, eine Replikase, zwei Hüllproteine und ein Lysozym zur Lyse der Zellwand. Sobald das Genom in die Zelle gelangt, wird die RNA als mRNA von der wirtseigenen RNA-Polymerase abgelesen. Als erstes wird die Replikase synthetisiert, welche die plus-Strang-RNA zur Synthese komplementärer minus-Stränge benutzt. Diese wiederum werden zur Synthese weiterer plus-Stränge eingesetzt, die verpackt in Hüllprotein die Nachkommen der Phagen bilden. Die Replikase besteht aus nur einer phagencodierten Einheit und benötigt mehreren Transkriptionsfaktoren und ein ribosomales Protein der Wirtszelle.

Die plus-Strang-RNA-Viren der Eukaryonten

Zu diesen zählen Poliovirus, Coxsackievirus B3, Hepatitis-A-Virus, Rhinovirus Typ 14 und das Virus der Maul- und Klauenseuche (**Picornaviridae**), weiterhin das Flavivirus, Pestivirus, Hepatitis-C-Virus (**Flaviridae**) oder das Alphavirus, die Rubiviren (**Togaviridae**), das Coronavirus, Arterivirus, Torovirus (**Coronaviridae**) und schließlich das Calcivirus und Hepatitis-E-Virus (**Calciviridae**).

Zu den plus-Strang-Viren gehören auch die Retroviren (Klasse VI), deren Replikationsmechanismus sich grundsätzlich von allen anderen Viren unterscheidet (s.u.).

Retroviren bestehen aus einem ikosaedrischen **Nukleokapsid**, das aus mehreren Proteinen aufgebaut und von einer **Lipidmembran** umhüllt ist

(vgl. Abb. 4.8). Die Lipidmembran stammt von der Wirtszelle und enthält zwei virale Glykoproteine, die vom viralen Gen *env* codiert werden (Abb. 4.16). Die Proteine des Nukleokapsids werden vom *gag*-Gen codiert. Innerhalb des Nukleokapsids liegt das Genom des Virus, zusammen mit einer RNaseH, der Reversen Transkriptase, einer Integrase (die alle vom *pol*-Gen codiert werden) und dem Gag-Protein.

Das virale Genom besteht aus zwei linearen plus-Strang-RNAs, die am 5'-Ende ein Cap tragen und am 3'-Ende polyadenyliert sind (Abb. 4.16a). Im zentralen Teil des Genoms befinden sich die codierenden Sequenzen *gag*, *pol* und *env*. Diese sind von Sequenzen flankiert, die für die Integration in das Wirtsgenom wichtig sind. Dabei handelt es sich um die Sequenzen U3 und U5, die jeweils einmalig sind und um die redundante Sequenz R. Außerdem befindet sich am 5'-Ende eine Primer-Bindungsstelle, an der eine tRNA fest gebunden ist.

Die Replikation des Virus beginnt mit der Anheftung über Glykoproteine der Wirtszelle als Rezeptoren (Abb. 4.17). Das Virus kann dann

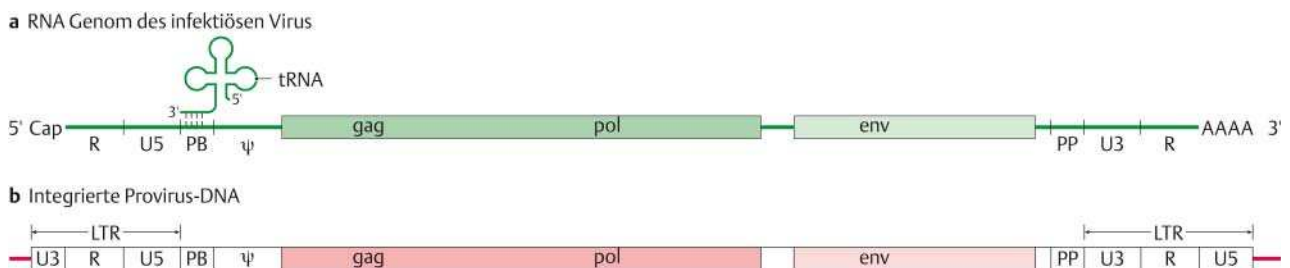


Abb. 4.16 Anordnung der Sequenzelemente und der offenen Leserahmen im Retroviralen Genom. **a** RNA-Genom des infektiösen Retrovirus. Am 5'-Ende befindet sich ein Cap, am 3'-Ende eine polyadenylierte Sequenz. R ist eine redundante Region, während U3 und U5 einmalige Sequenzen an beiden Enden sind. Die Sequenz Ψ tritt bei der Verpackung mit den Nukleokapsidproteinen in Wechselwirkung. An der Primerbindungsstelle (PB) befindet sich eine gebundene tRNA. Die codierenden Sequenzen für die Proteine Gag, Pol und Env befinden sich im zentralen Teil des Genoms. **b** Provirus nach der Integration des RNA-Genoms in das Wirtsgenom. Die viralen Sequenzen werden von Long terminal Repeats (LTRs) begrenzt.

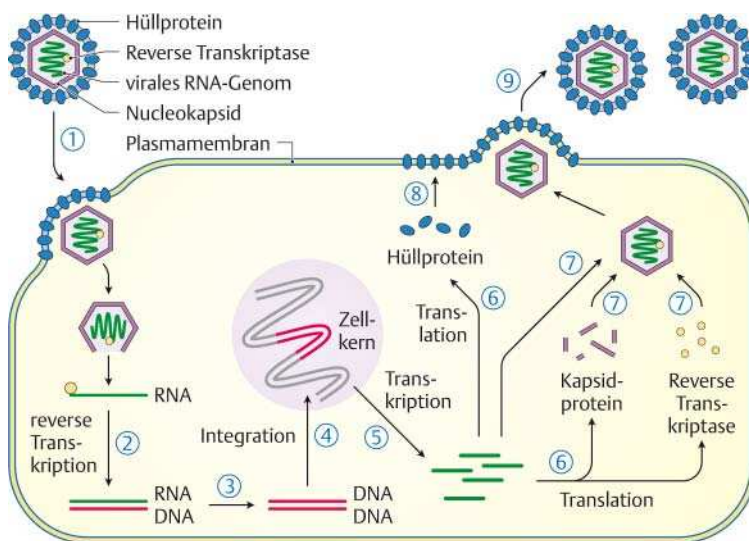


Abb. 4.17 Entwicklung und Infektionszyklus von Retroviren. Entweder verschmilzt die Membran der Retroviren beim Eindringen in die Zelle mit der Cytoplasmamembran (1) oder das Viruspartikel wird über Endozytose in die Zelle aufgenommen (2). Die im Innern des Nukleinsäure-Cores gelegene RNA wird durch die mittransportierte Reverse Transkriptase in dsDNA umgewandelt (3). Diese wird nach Transport in den Kern freigegeben und mit Hilfe der ebenfalls mittransportierten Integrase über die langen invertierten Wiederholungen (Long Terminal Repeats, LTRs) an ihren Enden in das Genom des Wirtes integriert (Provirus [4]). In diesem Zustand wird die virale DNA transkribiert und die RNA entweder als mRNA in Proteine translatiert (5) oder durch Verpacken in Kapside (6) und Ausschleusen durch die Zellmembran (7) als Genom für neue Viruspartikel verwendet (grün, RNA; rot, DNA; blau, Protein).

Box 4.2 Virale Vektoren

Als virale Vektoren verwendet man gerne Varianten der **Leukämieviren** der Maus (MLV). Sie haben die für die Integration ins Genom der Wirtszelle erforderlichen Long-terminal-Repeat-Sequenzen und die für die Verpackung verantwortliche Ψ -Sequenz (Abb. 4.16). Die für Virusgene codierenden Sequenzen sind durch die Fremdgene und deren Kontrollsequenzen ersetzt, die man in die Zellen übertragen möchte. Die Vektorsequenzen werden in normale Virushüllen verpackt und finden damit ungehindert über Absorption an Oberflächenproteine ihren Weg in die Zielzellen. Dort werden sie entpackt, das RNA-Genom wird in DNA umgeschrieben und diese dann stabil in eine der zur Verfügung stehenden Stellen im Genom integriert. Dieser Vorgang garantiert eine **permanente Präsenz** des übertragenen Genmaterials. Da der Vektor keinerlei Information zur Bildung von viralen Komponenten mehr enthält, scheint dieses ein recht sicherer Weg für die gewünschte Therapie zu sein. Nachteilig ist es jedoch, dass der Integrationsort der umgeschriebenen DNA nicht vorausbestimmt werden kann und es folglich auch zur Zerstörung wichtiger Genabschnitte kommen kann. Weiterhin kann es durch Rekombination mit den im menschlichen Genom bereits vorhandenen Überbleibseln retroviraler Elemente zur Mobilisierung der Fremdgene kommen.

Eine zweite Variante gentherapeutischer Vektoren leitet sich von den **Adeno-assoziierten Viren** ab (Kap. 4.7.3). Hierbei handelt es sich um ssDNA-Viren, die sich ortsspezifisch in das Wirtsgenom integrieren. Dadurch wird die Gefahr der Zerstörung wichtiger Wirtsgene reduziert.

über zwei verschiedene Mechanismen in die Zelle gelangen. Entweder verschmilzt die Lipidmembran mit der Zellmembran des Wirts und das Nukleokapsid gelangt direkt ins Cytoplasma (wie z.B. beim humanen Immundefizienzvirus HIV) oder das an den Rezeptor gebundene Virus wird über Endocytose in die Zelle aufgenommen, wo es anschließend mit einem Endosom fusioniert, in dessen saurem Milieu das Virus entpackt wird. Die viralen Komponenten einschließlich des Genoms werden dann ans Cytoplasma abgegeben (z.B. beim murinen Leukämievirus MLV).

Rund vier bis acht Stunden nach der Infektion beginnt die Replikation der RNA mit dem Umschreiben in ein RNA-DNA-Hybrid durch die vom Virus mitgebrachte **Reverse Transkriptase**. Dabei dient die an virale RNA gebundene tRNA als Primer. Danach integriert die ebenfalls vom Virus mitgebrachte **Integrase** das virale ds-DNA-Genom über die flankierenden Sequenzen in das Wirtsgenom. Dabei entstehen die sog. Long Terminal Repeats (**LTRs**), die das virale Genom im Wirtsgenom begrenzen (Abb. 4.16b). Das integrierte Genom des Virus wird auch als Provirus bezeichnet. Die Integration ist nach allgemeinen Vorstellungen ein stochastisches Ereignis, das jedoch durch lokale Aktivitäts- und Packungszustände des Chromatins beeinflusst wird.

Nach der Integration wird die Transkription durch die wirtseigene RNA-Polymerase vom LTR aus gestartet und ein langes plus-Strang-RNA-Transkript gebildet, das dann in kürzere funktionale Abschnitte gespleißt wird. Die Produkte des *env*-Gens werden in die Zellmembran eingelagert. Das *pol*-Gen wird in ein langes Vorläuferprotein translatiert, aus dem sich die Protease selbst herausschneidet. Diese zerlegt anschließend das *gag*-Vorläuferprotein in die Nukleokapsidproteine. Aus dem *pol*-Vorläuferprotein werden außerdem die Integrase und die Reverse Transkriptase freigesetzt. Die Reverse Transkriptase wandert zusammen mit anderen Virusenzymen und zwei ungespleißten Kopien der Retrovirus-RNA in das Cytoplasma und von hier aus zur Membran, wo das Viruspartikel zusammengebaut wird. Das fertige Virus verlässt die Zelle durch Knospung. Dadurch erhält das endgültige Partikel eine Lipidmembranhülle aus Wirtszell-Lipiden (Abb. 4.17). In manchen Fällen kann ein Retrovirus auch zelluläre Gene (**Onkogene**) in seinem Genom mitnehmen und sich dadurch unter Umständen in ein tumorinduzierendes Virus verwandeln. So z.B. beim Rous-Sarkom-Virus.

Der Wirtsbereich eines Retrovirus wird durch die Eigenschaften der Rezeptoren auf der Oberfläche der Wirtszelle und den Glykoproteinen in der viralen Lipidhülle bestimmt. Einige Retroviren vermehren sich ausschließlich in einem Wirt, andere in mehreren Wirten sogar auch verschiedener Arten. So kann sich das Leukämievirus der Katze auch sehr gut in menschlichen Zellen vermehren.

Zur Übertragung von Genen im Menschen oder im Tiermodell verwendet man gerne virale Vektoren, weil diese auf Grund ihrer Natur den schnellsten Weg zum Ziel im Zellinneren selber finden (Box 4.2). Oft verwendet man dazu Abkömmlinge von Retroviren, Adenoviren (s. S. 109) oder Adeno-assoziierten Viren, die mit zusätzlichen Plasmidbausteinen zu Vektoren kombiniert werden. Diese Vektoren können zur Gentherapie verwendet werden (Plus 4.4). Da die Retroviren leicht zur Tumorbildung führen, müssen sie zuvor so manipuliert werden, dass diese Gefahr ausgeschlossen werden kann.

4.7.5 Die minus-Strang RNA-Viren der Eukaryonten (Klasse-V-Viren)

Zu den minus-Strang-Viren zählen sehr viele verschiedene Viren, von denen etwa die Hälfte pflanzenpathogen ist. Charakteristische Vertreter dieser Familie sind das Vesiculovirus, Lyssavirus, Ephemerovirus, Nucleorhabdovirus und Cytorhabdovirus. Sie verursachen sehr verschiedene Erkrankungen wie Entzündungen im Maulbereich von Vieh und Pferden, Tollwut beim Menschen, Dreitagekrankheit beim Rind, Fleckenkrankheit bei Auberginen bzw. Blattflecken bei der Kohl-Gänsedistel. Die tierischen Rhabdoviren (**Rhabdoviridae**) besitzen ein sehr weites Wirtsspektrum. Sie werden durch Insektenstiche oder Bisse infizierter Tiere übertragen. Die Infektion mit Tollwutviren (**Lyssavirus**) kann beim Menschen tödlich verlaufen.

Rhabdoviren. Die Virionen der tierischen Rhabdoviren haben eine kegelförmige Gestalt von ca. 180 nm × 65 nm. Partikel der Pflanzenrhabdoviren können bis zu doppelt so lang sein. Die infektiösen Partikel bestehen aus einem Nukleokapsid und einer Membranhülle. Das Nukleokapsid ist in enge helikale Windungen gefaltet und besteht aus mehreren viralen Proteinen, von denen eines die RNA-abhängige RNA-Polymerase ist. Die Größe des Genoms bestimmt die Länge der Virionen.

Rhabdoviren adsorbieren über die Proteine auf der Partikeloberfläche an Rezeptoren der Zelle. Die Aufnahme erfolgt vermutlich durch Exocytose.

Die minus-RNA-Viren können ihre RNA nicht direkt als mRNA einsetzen. Sie müssen zunächst eine plus-Strang-RNA-Kopie erstellen. Dies geschieht durch eine RNA-abhängige RNA-Polymerase. Dieselbe Polymerase kopiert auch die minus-Strang-RNA-Nachkommen von der plus-Strang-RNA. Das einzelsträngige RNA-Genom der meisten Rhabdoviren enthält fünf offene Leserahmen. An beiden Enden sind nichtcodierende Sequenzen vor- bzw. nachgeschaltet. Zwischen den Genen befinden sich kurze, nichtcodierende intergenische Abschnitte variabler Länge.

Ein spezielles Protein schaltet vom Transkriptionsmodus zum Replikationsmodus um. Im Replikationsmodus wird ein durchgehendes RNA-Molekül gebildet, das als Zwischenprodukt für die Bildung neuer Virusgenome in negativer Orientierung dient.

Influenzaviren. Typische minus-Strang RNA-Viren sind die Influenza-Viren (**Orthomyxoviridae**), von denen man die drei Typen Influenza A, B und C unterscheidet, die alle die Atemwege befallen. Auf das Influenza-A-Virus soll hier näher eingegangen werden (Abb. 4.18).

Das Influenza-A-Virus gehört zu den klinisch wichtigsten Viren, da es besonders häufig Epidemien verursacht und seinen Wirt mehr als einmal heimsuchen kann. Wenn Influenza A seinen Weg um die Welt nimmt, ersetzt es auf der Wanderung manche seiner Gene durch andere Gene. Dadurch wird ein einmal immunisierter Organismus mit einem neuen Protein konfrontiert, sodass dieselbe Krankheit wieder ausbricht. Man vermutet, dass die Influenza-A-Viren vor allem in China ein hohes Potenzial an neuen, noch nicht über die Welt verbreiteten Genvarianten vorfindet.

Das Influenza-A-Virus ist ein minus-RNA-Virus. Jedes Virion enthält 8 RNA-Moleküle variabler Länge, wovon jedes 1–6 Gene beherbergt (Abb. 4.19). Die RNA-Moleküle liegen im Zentrum des Virus als kompakte helikale Strukturen fest mit Nukleoproteinen (NP) assoziiert vor. Um das

Plus 4.4 Gentherapie

Unter Gentherapie versteht man die Korrektur eines defekten Gens in Zellen. Prinzipiell kann dieses auf zweierlei Weise unter Zuhilfenahme von Viren geschehen:

1. Physikalischer Austausch eines defekten Gens bzw. des defekten Teils dieses Gens oder
2. Ersatz des defekten Genprodukts durch Expression eines intakten Genprodukts.

Der erste Ansatz setzt voraus, dass es gelingt, eine Kopie eines intakten Gens in die zu therapierenden Zellen einzubringen und durch die zelleigenen Funktionen der genetischen Rekombination gegen das defekte Gen auszutauschen. Die Übertragung der intakten Kopie eines Gens von außen in die geschädigte Zelle ist mit Hilfe von Vektoren vergleichsweise leicht möglich. Der dann erforderliche Austausch des hereingebrachten intakten Gens gegen das ganze Gen oder Teile davon ist dann jedoch der Zelle selbst überlassen, und seine Wirksamkeit hängt maßgeblich von den für die genetische Rekombination zuständigen zelleigenen Faktoren ab.

Der zweite Ansatz klingt zunächst attraktiv, ist in sofern aber problematisch, als das defekte Genprodukt nicht entfernt wird und folglich mit dem hereingebrachten funktionierenden Genprodukt konkurriert. Inwieweit dieses zu unerwünschten Störungen führt, ist nicht voraussagbar. Um diese Unwägbarkeit auszuschalten, kann man versuchen, das defekte Gen zuvor zum Schweigen zu bringen (**Antisense-Therapie**).

Eine Gentherapie kann somatisch oder in der Keimbahn erfolgen. Eingriffe in die Keimbahn sind beim Menschen zurzeit jedoch in vielen Ländern verboten. Die somatische Gentherapie beschränkt sich auf die Korrektur einzelner Gewebe oder Organe des behandelten Patienten. Ihr Erfolg wird demnach nicht an die Nachkommen weitergegeben.

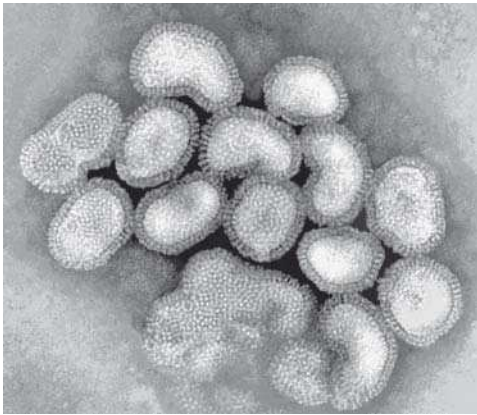


Abb. 4.18 Transmissionselektronenoptische Aufnahme von Influenza-A-Viren (Aufnahme Linda Stannard UCT, copyright science photo library).

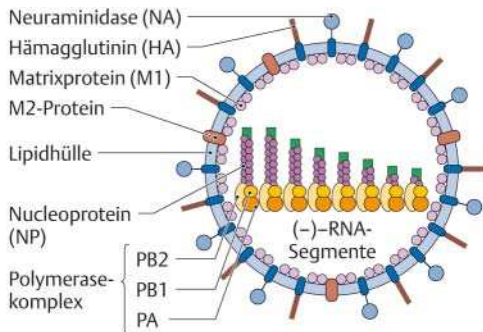


Abb. 4.19 Schematischer Aufbau des Influenza-A-Virus. Das einzelsträngige RNA-Genom besteht aus 8 Molekülen, die mit NP-Proteinen komplexiert sind. Die Proteine des Polymerasekomplexes PB1, PB2 und PA sind mit den 3'-Enden verbunden. Die Nukleokapsidsegmente sind von einer Hüllmembran umgeben, in welche die Oberflächenproteine HA, NA und N2 eingelagert sind. Das M1-Protein befindet sich an der Innenseite der Membran, wo es eine Proteinschicht ausbildet.

Ribonukleoprotein-Core herum liegt eine Hülle aus Matrixprotein. Auf der Matrix wiederum liegt eine Lipidschicht auf, die von der Membran der ursprünglich infizierten Zelle herrührt und während der Knospung, ähnlich den Retroviren, erworben wird. In diese Membran sind Virusproteine eingelagert, so z.B. das Hämagglutinin-A-Protein (**HA**) und das Enzym Neuraminidase (**NA**) (Abb. 4.19). Die wiederholte Infektion desselben Patienten wird im Wesentlichen auf die **Veränderlichkeit zweier Epitope (H und N) desselben HA** zurückgeführt. Durch Neukombination dieser zwei Epitope können so immer neue Varianten gebildet werden. Jede neue weltweite Epidemie (**Pandemie**) geht auf eine erneute Veränderung des HA-Proteins auf der Oberfläche des Influenza-A-Partikels zurück. Die Kombinationen entstehen im Verlauf von Mehrfachinfektionen empfänglicher Wirtszellen mit verschiedenen Subtypen desselben Virus. Die Durchmischung erfolgt durch zufällige Neusortierung und Verteilung der 8 Chromosomen in die neu gereiften Partikel.

Das Influenza-A-Virus wird von einer Wirtszelle durch Endocytose aufgenommen und in das saure Milieu der Endosomen transportiert (Abb. 4.20). Bei niedrigem pH verändert sich die Struktur des HA und macht dieses empfänglich für eine Fusion der viralen Membranhülle mit der Membran des Lysosoms. Die virale RNA gelangt in den Kern. Dort wird sie zunächst in eine plus-RNA umgeschrieben. Eine viruscodierte Endonuklease spaltet von neu entstehenden, wirtseigenen mRNAs die 5'-Enden ab, die dann vom Virus als Primer für die eigenen mRNAs benutzt werden, wobei die 8 chromosomalen RNAs als Matrize dienen. Mit Hilfe dieses Tricks erhalten die RNA-Moleküle des Virus immer neue Transkriptionsstartstellen, die von dem zelleigenen System erkannt werden.

Eine Transkriptase produziert so riesige Mengen viraler mRNA. Nach der Synthese wird der Anteil der Wirts-RNA noch im Kern abgespalten, sodass nur die viralen Anteile ihren Weg zur Translation an die Ribosomen finden. Dann beginnt die Virusproduktion. Die plus-RNA-Moleküle werden in minus-RNA-Moleküle als zukünftige Chromosomen neuer Viren umgeschrieben. Diese werden dann in Nukleoproteinpartikel verpackt und von einem Matrixprotein umhüllt. Dieses Partikel wandert schließlich vom Kern zur Plasmamembran, wo es die bereits eingelagerten Proteine NA und HA vorfindet. Bei der Knospung wird das Partikel dann mit der letzten Hülle, der Plasmamembran der Wirtszelle, versehen. Dieser Prozess kann sich über Stunden hinziehen, bis die infizierte Zelle schließlich abstirbt.

4.7.6 Doppelsträngige RNA-Viren (Klasse-III-Viren)

Doppelsträngige RNA-Viren der Prokaryonten

Phage $\Phi 6$ (Cystoviridae). Der *Pseudomonas*-Phage $\Phi 6$ gehört zu einer kleinen Gruppe von eng verwandten Phagen mit einem ca. 15 kbp umfassenden segmentierten, linearen doppelsträngigen RNA-Genom. Die Umhüllung besteht aus einer um ein Proteinkapsid gelegten Membran, die vom Wirt stammt und die meisten der insgesamt 17 Phagen-Strukturproteine eingelagert hat.

Jedes der drei Chromosomen trägt ein terminales Protein und weist eine spezifische Verpackungssequenz (**Pac-Site**) am 5'-Ende des jeweiligen plus-Stranges auf. Die Pac-Sites sind für eine wirkungsvolle Verpackung eines kompletten Satzes einzelsträngiger plus-Strang-Kopien in die vorgefertigten leeren Kopfvorstufen verantwortlich. Erst nach Ver-

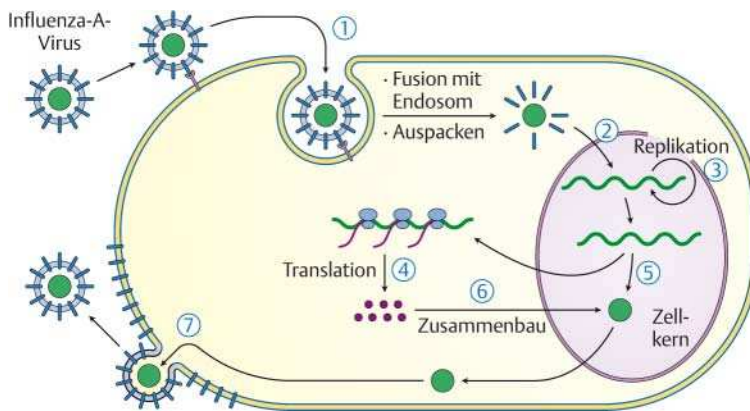


Abb. 4.20 Infektions- und Entwicklungsweg des Influenza A-Virus. Das Influenza-A-Virus gelangt durch Endocytose in die Wirtszelle (①). Nach Fusion mit einem Endosom wird das Virus entpackt und die RNA gelangt in den Zellkern (②). Dort werden große Mengen an Virus-RNA repliziert (③), die dann entweder zur Translation der viralen Proteine (④) oder zur Herstellung neuer Viruspartikel (⑤) verwendet wird. Die neuen Viruspartikel werden noch im Kern zusammengebaut (⑥), gelangen dann ins Cytosol und werden durch Knospung aus der Zelle freigesetzt (⑦).

packen eines kompletten Satzes von plus-Strängen werden die fehlenden minus-Stränge von einer RNA-Polymerase synthetisiert (Replikation). Die RNA-Polymerase bildet zusammen mit vier Proteinen und den drei RNA-Molekülen einen Kernkomplex im Innern des $\Phi 6$ -Virions.

Doppelsträngige RNA-Viren der Eukaryoten

Rotavirus A (Reoviridae). Die Reoviren besitzen ein doppelsträngiges fragmentiertes RNA-Genom von 11 Chromosomen in einem dreischichtigen ikosaedrischen Proteinkapsid. Sie transportieren, wie die Retroviren, bei der Infektion eine RNA-abhängige RNA-Polymerase mit in die infizierte Zelle. Diese kopiert den minus-Strang der RNA einerseits in eine als mRNA genutzte translatierbare plus-Strang-RNA und andererseits in eine Matrize für die minus-Strang-Synthese und Gewinnung neuer Doppelstränge. Das bedeutet, dass in die neuen Doppelstränge keiner der ursprünglichen Elternstränge mit einbezogen wird.

Von den 11 Chromosomen werden 13 Proteine gemacht. Davon treten 6 als Strukturproteine im gereiften Virion auf, z.B. als Core-Partikel mit den RNA-Chromosomen, als RNA-abhängige RNA-Polymerase und als Capping-Protein für das Anheften einer 5'-Cap-Struktur an die RNAs. Andere bilden die mittlere Hülle, die äußere Hülle und darin die Spikes. Beim Austritt aus der Zelle werden die Partikel von einer Membran des Endoplasmatischen Retikulums umgeben.

Doppelsträngige RNA-Viren der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*

Die meisten Stämme von *Saccharomyces cerevisiae* enthalten ein oder mehrere doppelsträngige RNA-Viren, die drei Familien zugeordnet werden. Sie wurden in toxinproduzierenden Killerstämmen nachgewiesen, die Nichtkillerstämmen in ihrer Umgebung abtöten. Die Hefeviren werden ausschließlich durch direkten Zell-Zell Kontakt übertragen und gleichen damit den dsRNA-Viren höherer Eukaryonten (Tab. 4.1, S. 106).

Die lineare dsRNA der Hefeviren ist nur 1,9–4,7 kbp lang, die intrazellulären virusähnlichen Partikeln sind sehr klein (ca. 40 nm Durchmesser, Abb. 4.21). Das Partikel wird von einem Hauptprotein von ca. 75 kDa und wahrscheinlich von noch zwei kleineren Proteinen gebildet. Weiter fand man in den Partikeln RNA-Polymerase-Aktivität, die den minus-Strang der dsRNA in plus-Strang-RNA kopiert, die einerseits als mRNA in Protein

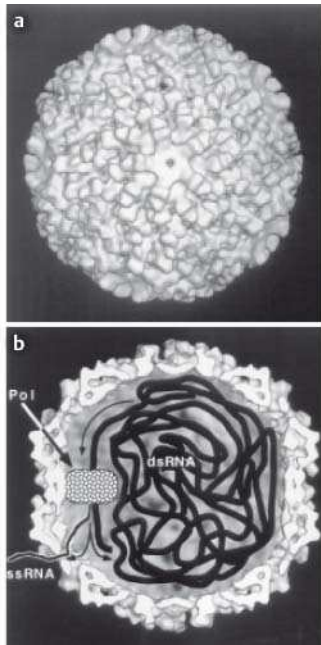


Abb. 4.21 Hefevirus L-A. **a** Computer prozessierte Ansichten der Außenseite des Kapsids. **b** Hypothetische Ansicht des Innenraums eines L-A-Virus mit dsRNA als Genom, ssRNA als Transkript und einer mit dem Gag-Protein verbundenen RNA-Polymerase (Pol). Die Pfeile deuten die Transportrichtung der genomischen RNA bzw. des Transkripts an. Es wird angenommen, dass die Transkripte durch die Poren der Kapsidwand ausgeschleust werden (aus Caston et al., 1997).

übersetzt wird und zum anderen als Matrize für die minus-Stränge der Nachkommen herangezogen wird.

Der Replikationsmodus ist nicht völlig geklärt, er scheint jedoch, obwohl semikonservativ, für beide Stränge der RNA unabhängig voneinander abzulaufen. Man spricht von **Headful-Replikation**, da teilweise gefüllte Partikel mit nur einem ssRNA-Molekül auftreten können, das in einer zweiten Replikationsrunde zur dsRNA aufsynthetisiert wird. Diese Headful-Replikation ist vom Headful-Verpacken zu unterscheiden, da sie *im* Kapsid stattfindet.

4.8 Viroide

Bei Viroiden handelt es sich um „nackte“ **RNA-Viren**, die lediglich aus Nukleinsäure ohne jegliche Umhüllung bestehen. Das ringförmige Genom eines Viroids besteht aus etwa 200–400 Ribonukleotiden. Viroide infizieren Pflanzen, gelangen in deren Zellen und werden dort vermehrt. Die Nachkommen verlassen die Zellen wieder, häufig ohne jeglichen Schaden zu hinterlassen. Viroide können trotzdem auf noch unbekannte Weise komplexe Krankheiten bei verschiedenen Pflanzen auslösen. Bekannt ist das Kartoffelspindelknollen-Viroid (engl. Potatoe-Spindle-Tuber Viroid (PSTV) (**Pospiviroidae**). Sie können aber auch Kokosnusspalmen, Hopfen, Pfirsiche, Gurken und Avocados befallen. Es ist nicht klar, wie es zur Auslösung der Krankheiten kommt, zumal sie in manchen Pflanzen sehr pathogen wirken, während andere Pflanzen, selbst wenn sie verwundet sind, keine Schäden zeigen.

Man unterscheidet zwei Viroidgruppen: Gruppe A, die sich in den Plastiden der Pflanzen vermehren und Gruppe B, die sich im Kern der Pflanzen replizieren. Bei Gruppe B läuft die Replikation über Rolling-Circle-Mechanismen mit Hilfe einer RNA-abhängigen RNA-Polymerase ab. Dabei entsteht von der infizierenden RNA ein überlanges, multimeres minus-Strang-Molekül. Dieser Strang wird dann in ringförmige Einheiten aufgelöst. Diese wiederum werden als Matrize für die Synthese der plus-Stränge benutzt. Man nennt dieses den symmetrischen Replikationsmodus. Die Viroide der A-Gruppe replizieren sich dagegen in einem asymmetrischen Modus. Hierbei wird der minus-Strang direkt als Template für konkatenate, multimerer plus-Stränge eingesetzt, die dann durch Autokatalyse mit Hilfe von Hammerhead-Ribozymen (enzymatisch wirksame RNAs) in geschlossene Ringe überführt werden.

Bei den Viroiden handelt es sich um die kleinsten, sich selbst vermehrenden Moleküle, die in der Biologie bekannt sind. Man diskutiert, dass es sich um lebende Fossile handelt, die eine vorzelluläre Evolution durchgemacht und einer hypothetischen RNA-Welt entstammen. Die RNA-Sequenzen der Viroide codieren für kein Protein, und man spekuliert, dass die Sequenzen an irgendwelche Stellen in der Wirtszelle binden und dadurch regulatorische Abläufe durcheinanderbringen. So findet man kurze Sequenzen in der Viroid-RNA, die mit RNA-Introns übereinstimmen. Weiterhin enthalten sie Sequenzen, die man bei Transposons und Retroviren wiederfindet. Wahrscheinlich wird die pathologische Wirkung der Viroide durch interferierende RNAs (RNAi) ausgelöst.

Zusammenfassung

- Die **Virologie** (von lat. virus, Schleim, Saft, Gift und griechisch logos, Lehre) beschäftigt sich mit den Viren (Singular: das Virus, außerhalb der Fachsprache laut Duden auch: der Virus; Plural: Viren). Als **Virus** bezeichnet man in der Biologie genetische Elemente in Form von Nukleinsäuren, die als Fremdbestandteile in Zellen von Lebewesen („Wirtszellen“) unabhängig von deren eigenen Nukleinsäuren mit Hilfe der Replikationseinrichtungen dieser Zellen repliziert werden. Virus-Nukleinsäuren sind entweder Desoxyribonukleinsäuren (DNA) oder Ribonukleinsäuren (RNA) und kommen entweder als Nukleinsäure in den Wirtszellen oder als freie Partikel außerhalb von Zellen vor.
- Ein Viruspartikel außerhalb von Zellen bezeichnet man als **Virion** (Plural Viria, Virionen oder Virions). Virionen bestehen aus einem Nukleinsäuremolekül, das von einer Proteinhülle (Kapsid) umgeben ist. Bei einigen Viren besitzen die Virionen außer einer Proteinhülle noch weitere äußere Bestandteile, zum Beispiel eine Lipoproteinhülle. Es gibt aber auch hüllenlose Viren.
- Viren haben keinen eigenen Stoffwechsel und können sich nicht selbst replizieren. Im Wesentlichen ist ein Virus eine **Nukleinsäure**, die die Informationen zur Steuerung des Stoffwechsels einer Wirtszelle und zur Replikation der Virusnukleinsäure bzw. zur Ausstattung der Viruspartikel (Virionen) trägt.
- Viren sind somit **Parasiten**, die den Stoffwechsel der infizierten Zellen für ihre eigene Vermehrung nutzen. Im Laufe der Evolution haben sie sich ihren Wirten so angepasst, dass sie ihn nicht durch die Krankheitsfolgen vorzeitig und zum eigenen Nachteil zerstören.
- Viren sind deutlich kleiner als Bakterien, jedoch etwas größer als Viroide.
- Viren sind vermutlich später als andere Lebewesen (falls man Viren zu den Lebewesen zählen will) entstanden, da sie auf letztere angewiesen sind. Entstehungsmechanismen lassen sich im Zusammenhang mit **Plasmiden** oder **Transposons** verstehen. Für eine späte Entstehung spricht auch, dass die Viren der Eukaryonten das alternative Spleißen bei der Eiweißsynthese nutzen und ihr Erbgut Introns und Exons aufweist.

5 Die Besonderheiten prokaryontischer Zellen

Da es sich bei Prokaryonten mehrheitlich um einzellige Organismen handelt, die zu klein sind, als dass sie mit dem bloßen Auge sichtbar wären, sind für die Betrachtung ihrer Zellstrukturen experimentelle Werkzeuge in Form von Mikroskopen erforderlich. Angefangen beim einfachen **Lichtmikroskop** bis zu hochauflösenden **Elektronenmikroskopen**, mit denen man in den Nanometerbereich (10^{-9} m) vordringen kann, lassen sich so Einblicke in die Strukturierung des Zellinneren sowie der Zelloberfläche gewinnen. Wie bei jeder lebenden Zelle ist auch bei Prokaryonten das Cytoplasma von einer **Lipiddoppelschicht** (Einheitsmembran) umgeben, die eine Permeabilitätschranke für gelöste Stoffe darstellt. Erst kürzlich entdeckte Cytoskelettproteine sind an Prozessen wie Zellteilung und Chromosomensegregation beteiligt. Mit wenigen Ausnahmen sind alle prokaryontischen Zellen von einer **Zellwand** umgeben, die jedoch bei Eubakterien und Archaeobakterien unterschiedlich aufgebaut ist. Die eubakterielle Zellwand, das **Peptidoglykan**, kann ein- oder vielschichtig sein, was sich durch die Gram-Färbung nachweisen lässt. Die Zellwand verleiht mechanische Stabilität gegenüber dem Turgordruck der Zelle, der durch die im Cytoplasma gelösten Stoffe entsteht. Bakterien mit einschichtiger Zellwand (gramnegativ) sind zusätzlich von einer äußeren Membran umgeben. Obwohl Prokaryonten keine den Eukaryonten vergleichbare Differenzierung in Form von membranumhüllten Organellen aufweisen, sind doch funktionelle Räume innerhalb der Zelle sowie extrazelluläre Zellanhängsel zu beobachten. So verleihen **Flagellen** und **Pili** der Zelle die Fähigkeit zu einer Schwimmbewegung in flüssigem Milieu oder zur Fortbewegung auf einer festen Oberfläche. Damit verbunden sind oftmals auch Richtungsänderungen als Reaktion auf Umweltreize wie Nährstoffe oder Licht. In einigen Fällen kommt es zur Ausbildung von **Dauerformen** (Sporen) und spezialisierten Zellen, was als Form der Zelldifferenzierung anzusehen ist. Neben der bei Pro- und Eukaryonten strukturell verschiedenen Organisation der genetischen Information lassen sich Organismen der drei Reiche (Eubakterien, Archaeobakterien, Eukaryonten) aufgrund unterschiedlicher Sensitivität gegenüber Antibiotika voneinander unterscheiden. Dafür bilden sowohl die einzigartige Chemie der Zellwand als auch die Verschiedenartigkeit der Ribosomen die Grundlage.

Überblick

- 5.1 Abbildung von Mikroorganismen... 125**
 - 5.1.1 Lichtmikroskopie... 125
 - 5.1.2 Elektronenmikroskopie... 127
- 5.2 Chromosom und Plasmide... 128**
- 5.3 Cytoskelett... 129**
- 5.4 Ribosomen... 129**
- 5.5 Zellmembranen... 130**
 - 5.5.1 Cytoplasmamembran... 130
 - 5.5.2 Intracytoplasmatische Membranen... 132
- 5.6 Zellwand... 133**
- 5.7 Kapseln und Schleime... 136**
- 5.8 Die äußere Membran gramnegativer Bakterien... 137**
- 5.9 Flagellen, Fimbrien, Pili... 138**
 - 5.9.1 Flagellen... 138
 - 5.9.2 Fimbrien und Pili... 142
- 5.10 Speicherstoffe... 143**
 - 5.10.1 Polysaccharide... 143
 - 5.10.2 Fettartige Substanzen... 143
 - 5.10.3 Polyphosphate... 144
 - 5.10.4 Schwefel... 144
 - 5.10.5 Cyanophycin... 145
- 5.11 Andere Zelleinschlüsse... 145**
- 5.12 Spezielle Zelldifferenzierung... 146**
 - 5.12.1 Endosporen und andere Dauerformen... 146
 - 5.12.2 Heterocysten... 147
- 5.13 Prokaryontische und eukaryontische Zellen im Vergleich... 149**
- 5.14 Angriffsorte und Wirkungsweise wichtiger Antibiotika... 150**

5.1 Abbildung von Mikroorganismen

Die Beobachtung einzelner Zellen von Mikroorganismen ist mit dem bloßen Auge nur in wenigen Ausnahmefällen möglich. Das menschliche Auge kann Objekte, die kleiner als 0,1 mm sind, nicht mehr erkennen. Daher müssen diese mit Hilfe von Mikroskopen vergrößert werden. Für Routineuntersuchungen verwendet man **Lichtmikroskope**, für die Unterscheidung zellulärer Strukturen das **Elektronenmikroskop**.

5.1.1 Lichtmikroskopie

Ein Lichtmikroskop besteht aus einer Kombination zweier optischer Linsensysteme, den Objektiv- und den Okularlinsen (Abb. 5.1). Das Produkt aus dem Vergrößerungsvermögen beider Linsen ergibt die mit dem Mikroskop erreichbare Vergrößerung. Da herkömmlich verwendete Okulare 10–15fach und Objektive 10–100fach vergrößern, kann die maximale Vergrößerung bis zu 1500fach betragen. Die durch die Linsen erreichbare Vergrößerung wird durch ihr Auflösungsvermögen bestimmt. Lichtmikroskope erlauben eine Auflösung von 0,2 μm , was bedeutet, dass zwei Objekte, deren Abstand zueinander geringer als 0,2 μm ist, nicht mehr als getrennt wahrgenommen werden können. Mit speziellen Linsen, bei denen ein Tropfen Öl zwischen Objektivlinse und Objekt gebracht wird, kann die Auflösung verbessert werden (Ölimmersion).

Man unterscheidet zwischen Hellfeld-, Dunkelfeld-, Phasenkontrast- und Fluoreszenzmikroskopen.

Im **Hellfeld** können Objekte aufgrund ihres Farbenkontrasts zum umgebenden Medium beobachtet werden. Da dieser Kontrast jedoch bei den meisten (farblosen) mikrobiologischen Objekten nur gering ist, bedient man sich häufig spezieller Mikroskope zur Kontrastverbesserung. Das **Phasenkontrastmikroskop** (Abb. 5.2a) nutzt den Unterschied im

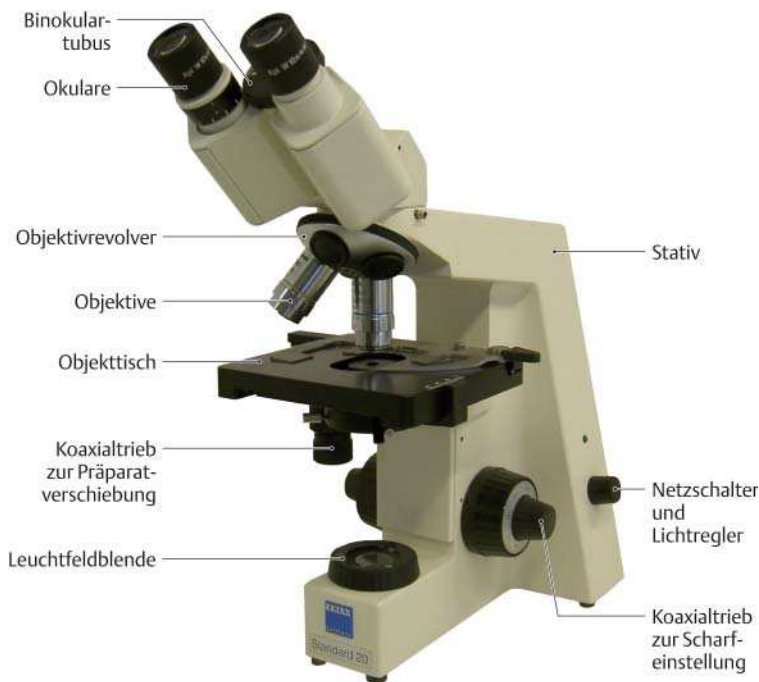


Abb. 5.1 Aufbau eines Lichtmikroskops mit Phasenkontrasteinrichtung (Zeiss).

Brechungsindex des Objektes zum Medium, den es mit besonderen Zusatzeinrichtungen in Kondensor und Objektiv sichtbar macht. Dies führt zu einem dunklen Abbild auf hellem Hintergrund. Phasenkontrastmikroskopie ist besonders zur Untersuchung lebender Zellen gut geeignet.

Im **Dunkelfeldmikroskop** trifft Licht lediglich von den Seiten auf das Objekt. Nur von diesem gestreutes Licht erreicht das Objektiv, wodurch ein helles Abbild auf dunklem Grund entsteht.

Die **Fluoreszenzmikroskopie** nutzt zur Kontrastierung die Eigenschaften des Untersuchungsmaterials zu fluoreszieren, also bei Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge Licht einer anderen Wellenlänge zu emittieren. Dies kann durch zelleigene Verbindungen (z.B. Chlorophyll) oder nach Anfärben mit fluoreszierenden Farbstoffen hervorgerufen werden (Abb. 5.2b).

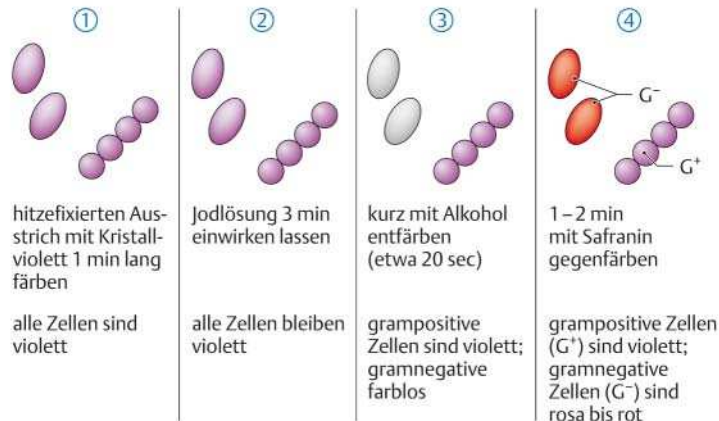
Kontrastverbesserung in der Lichtmikroskopie lässt sich auch durch das **Anfärben** von Zellen oder Zellkomponenten erreichen. Häufig verwendete Farbstoffe sind positiv geladene organische Verbindungen, die sich mit den negativ geladenen Zelloberflächen verbinden. Dabei ist allerdings eine vorangehende Fixierung und somit Abtötung der Zellen notwendig. Die am häufigsten verwendete Färbemethode ist die Gram-Färbung (Box 5.1).

Eine Erweiterung der Möglichkeiten der Lichtmikroskopie stellt das **Konfokale Laser-Scanning-Mikroskop** dar. Hier wird anstelle herkömmlicher Lichtquellen ein extrem genau fokussierter Laserstrahl verwendet. Dieser tastet die Oberfläche des Objektes ab und die so erhaltenen Daten ergeben nach computergestützter Auswertung ein dreidimensionales Abbild.

Box 5.1 Gram-Färbung

Bei der so genannten **Gram-Färbung** (benannt nach dem dänischen Pharmakologen H.C. Gram) werden die unterschiedlichen Zellwandstrukturen von Bakterien zur Differenzierung genutzt. Die Prozedur der Gram-Färbung beginnt mit einer Anfärbung der fixierten Bakterienzellen mit dem basischen Farbstoff Kristallviolett, einem Vertreter der wichtigen Klasse der Triphenylmethanfarbstoffe. Anschließend wird mit einer Jodlösung behandelt. Jod bildet mit Kristallviolett Lacke, die in Wasser unlöslich und in Alkohol oder Aceton nur mäßig löslich sind. Die Zellen werden dann mit Alkohol

behandelt oder „differenziert“: grampositive Zellen (dicke Zellwand) halten den Farbstoff-Jod-Komplex zurück und bleiben violett. Gramnegative Zellen (dünne Zellwand) werden durch Alkohol entfärbt und müssen dann durch eine Gegenfärbung mit einem rötlichen Kontrastfarbstoff (z. B. Safranin) sichtbar gemacht werden; sie erscheinen dann rötlich (Abb.). Diese Unterschiede lassen sich besonders gut mit Ölimmersion beobachten. Das Verhalten bei der Gram-Färbung ist ein wichtiges taxonomisches Merkmal, mit dem auch andere Eigenschaften der Bakterien korreliert sind.



5.1.2 Elektronenmikroskopie

Zur Sichtbarmachung subzellulärer Strukturen dient das **Transmissions-elektronenmikroskop**. Hierbei wird anstelle von Licht ein Elektronenstrahl verwendet, der mit Hilfe von Elektromagneten als Elektronenlinse gebündelt wird. Dazu muß die Probe im Hochvakuum gehalten werden. Dies ermöglicht eine bis zu 1000fach höhere Auflösung im Vergleich zum Lichtmikroskop. Allerdings bedarf es einer speziellen Aufbereitung der Probe. Da Elektronen das Zellmaterial nur schlecht durchdringen, werden Ultradünnschnitte von Zellen, eingebettet in harzartige Polymere, angefertigt. Zur besseren Kontrastierung ist danach eine Behandlung mit elektronendichten Schwermetallsalzen (z.B. Uranylacetat, Osmiumtetroxid) erforderlich, die unterschiedlich an Zellstrukturen binden (Abb. 2.3, S. 33).

Vergleichbar den Färbetechniken in der Lichtmikroskopie können im Elektronenmikroskop Strukturen gezielt durch spezifische Antikörper sichtbar gemacht werden, die an diese Strukturen binden und zum Nachweis an Schwermetalle, z.B. kolloides Gold, gekoppelt sind (**Immunogold-markierung**).

In Gegensatz zur Transmissionselektronenmikroskopie können mit einem **Rasterelektronenmikroskop** ganze Zellen, allerdings nur deren Oberflächen, im Detail sichtbar gemacht werden. Dazu wird das Objekt mit einem dünnen Schwermetallfilm (z.B. Gold) bedampft, der sich der Oberflächenkontur anpasst, und dann mit dem Elektronenstrahl abgetastet. Durch Streuung der Elektronen an den Metallatomen entsteht ein Abbild der Oberfläche des Objektes (Abb. 5.2c).

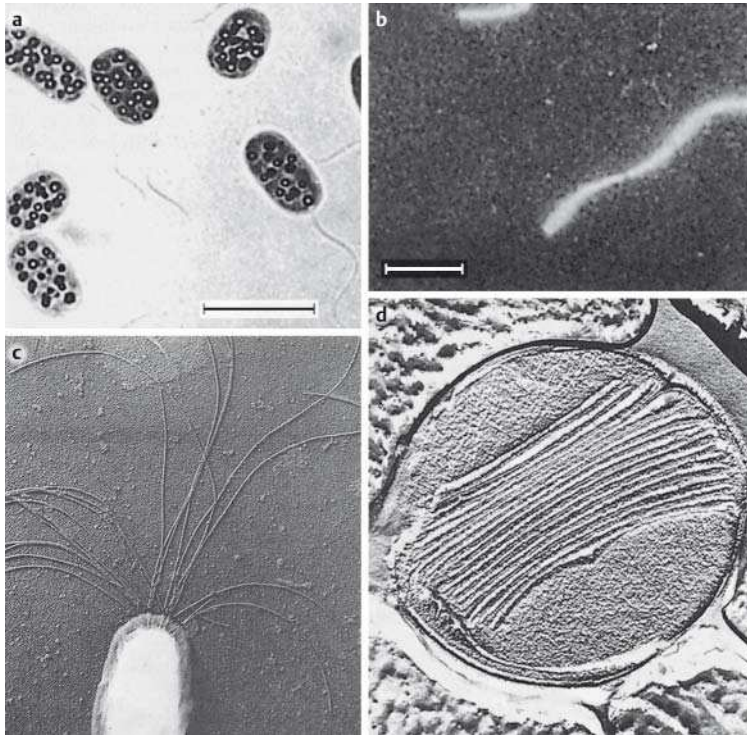


Abb. 5.2 Darstellung von Mikroorganismen mit Hilfe verschiedener mikroskopischer Techniken. **a** Lichtmikroskop (Phasenkontrast): *Chromatium okenii*, Zelle enthält Schwefelkörnchen, Balken: 10 µm (aus Trüper und Pfennig, 1981). **b** Fluoreszenzmikroskop (Anregung bei 420 nm): *Methanospirillum hungatei*, Balken: 10 µm (aus Doddema und Vogels, 1978). **c** Elektronenmikroskop: *Aquaspirillum serpens* (polar polytrich begeißelt), 11 000fach nach Metallbedampfung (Aufnahme W. van Iterson). **d** Elektronenmikroskopische Aufnahme eines nach Gefrierätztechnik hergestellten Präparates: *Nitrosococcus oceanus*, 22 000fach (aus Remsen et al. 1967).

Plus 5.1 Rasterkraftmikroskopie (engl. atomic force microscopy)

Das Prinzip der Rasterkraftmikroskopie beruht darauf, dass sich Kräfte, die zwischen einzelnen Atomen oder Molekülen wirken, mit einer Miniaturfederwaage messen lassen. Die Federwaage besteht aus einem Federbalken, an dessen Ende sich eine aus wenigen Atomen bestehende Pyramide befindet, die über das Objekt geführt wird. Wirken auf die Spitze der Pyramide atomare Kräfte, so verbiegt sich der Federbalken, was mittels Laserstrahltechnik gemessen werden kann.

Eine weitere Möglichkeit, intakte Zellen für elektronenmikroskopische Untersuchungen zu präparieren, ist die **Gefrierätzung** oder der **Gefrierbruch**. Dazu werden die Zellen eingefroren, im Vakuum mit einem Messer geschnitten oder mit einem speziellen Präparathalter gebrochen und die Oberflächen anschließend durch Sublimation des Eises freigelegt. Nach Bedampfung mit einem dünnen Metallfilm, gefolgt von Kohle, können die daran anhaftenden Zellbestandteile entfernt und der verbleibende Abdruck betrachtet werden (Abb. 5.2d).

Ein neuartiges Verfahren erlaubt die Ermittlung der Oberflächenstruktur von Biomolekülen unter physiologischen Bedingungen mit einer Auflösung im Subnanometerbereich ($< 10^{-9}$ m, Plus 5.1).

5.2 Chromosom und Plasmide

Das prokaryontische **Chromosom** enthält den überwiegenden Teil der DNA der Zelle. Es ist typischerweise ein kovalent geschlossenes, ringförmiges Molekül, dessen Größe sehr verschieden sein kann (z.B. 580 kbp bei *Mycoplasma genitalium*, einem Bakterium, das Harnwegs-entzündungen beim Menschen verursacht, 4700 kbp bei dem Darmbakterium *Escherichia coli* und 9200 kbp bei dem Fruchtkörper bildenden Bodenbakterium *Myxococcus xanthus*). Kleine Chromosomen sind offensichtlich typisch für hoch angepasste Spezialisten, wie z.B. für pathogene Vertreter und für Prokaryonten mit hoch spezialisiertem Stoffwechsel. Komplexe Genome sind in einigen Bakterien gefunden worden, die besonders vielfältige Stoffwechselleistungen vollbringen oder komplizierte Entwicklungszyklen durchlaufen. Darunter befinden sich Bakterien mit mehreren, verschieden großen Chromosomen und mit großen Plasmiden, sogenannten Megaplasmiden. Abgesehen von der Größenvariabilität sind in Bakterien auch lineare Formen von Chromosomen, z.B. bei den Gattungen *Borrelia*, *Streptomyces* und *Rhodococcus*, gefunden worden. Das Chromosom ist mit Proteinen (HU, H-NS, IHF und FIS, Kap. 15.1.2) und RNA-Molekülen assoziiert, die für die Stabilität erforderlich sind. Darüberhinaus ist das Molekül in zahlreichen Schleifen organisiert, die um die Längsachse verdreht sind. Durch diese **Supercoil** (Überdrehungs)-Bereiche wird eine extrem dichte Verpackung der DNA in der Zelle erreicht (Abb. 5.3). Das Chromosom ist zwar im Gegensatz zu eukaryontischen Chromosomen nicht von einer Kernmembran umgeben, jedoch lässt sich im Elektronenmikroskop aggregierte DNA in der Zelle als eine distinkte Struktur erken-

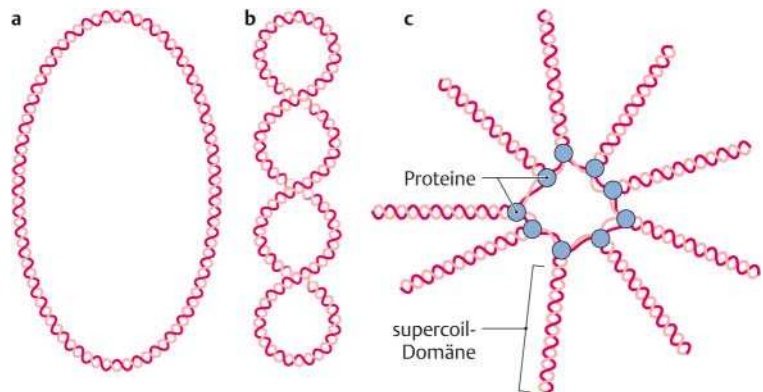


Abb. 5.3 Das bakterielle Chromosom und Supercoiling. **a** Offenes, ringförmiges Chromosom. **b** Überdrehte DNA (Supercoils). **c** Das Chromosom besteht tatsächlich aus zahlreichen Supercoils, die durch spezifische Proteine stabilisiert werden.

nen, die als **Nukleoid** bezeichnet wird (Kap. 2, Abb. 2.3). Dieses füllt etwa 50 % des Lumens der Zelle aus.

Außer Chromosomen enthalten prokaryontische Zellen häufig kleinere extrachromosomale DNA-Moleküle, die als **Plasmide** bezeichnet werden. Es handelt sich in der Regel um ringförmige, kovalent geschlossene Moleküle; jedoch sind, wiederum bei den Gattungen *Streptomyces* und *Borrelia*, auch lineare Plasmide bekannt. Auch bei *E. coli* wurde kürzlich ein lineares Plasmid (N15) identifiziert. Die Größe von Plasmiden kann zwischen ca. 1 kbp bis mehrere hundert kbp (Megaplasimide) variieren. Große Plasmide liegen meist nur in 1–2 Kopien, kleine in bis zu 100 Kopien pro Zelle vor. Plasmide werden autonom, d.h. unabhängig vom Chromosom, repliziert. Sie sind für das Überleben der Zelle normalerweise nicht erforderlich. Da sie jedoch häufig Gene tragen, die für spezielle Stoffwechselwege, für Resistenzen gegenüber Antibiotika und Schwermetallen oder für Virulenzfaktoren codieren, können sie dem Wirt unter bestimmten Umweltbedingungen einen Selektionsvorteil verschaffen (Kap. 15.1.3).

5.3 Cytoskelett

Jede eukaryontische Zelle besitzt eine interne Stützstruktur, aufgebaut aus Aktin-, Tubulin- und Intermediärfilamenten, die insgesamt als **Cytoskelett** bezeichnet wird. Außerdem verursachen bzw. steuern Mikrotubuli intrazelluläre Bewegungsvorgänge und bilden den Spindelapparat bei der Mitose. Bis vor kurzem wurde angenommen, dass Prokaryonten über kein Cytoskelett verfügen. Neuere Daten zeigen jedoch, dass Bakterien Proteine besitzen, die Ähnlichkeiten zu Komponenten des eukaryontischen Cytosketts aufweisen. Dazu gehören das tubulinähnliche Protein **FtsZ** und multiple, dem Aktin vergleichbare Proteine, darunter **MreB**. Das FtsZ-Protein ist an der **Zellteilung** beteiligt, indem es zu Beginn des Teilungsprozesses eine polymere Struktur, den Z-Ring, in der Mitte der Zelle bildet. Dieser ist mit der Cytoplasmamembran verbunden und dient als Anheftungsstelle für weitere Proteine, die sich gemeinsam zum **Septumring** zusammenlagern. Kontraktion dieser Proteine führt zur Halbierung der Zelle, bei gleichzeitiger Synthese neuer Zellwandkomponenten, wodurch letztlich zwei Tochterzellen entstehen.

Die Aufrechterhaltung der Zellform scheint entscheidend von der Aktivität des MreB-Proteins, das helikale Filamente bildet, abzuhängen (Abb. 5.4). Dafür spricht auch, dass MreB bislang nur bei stäbchenförmigen, filamentös wachsenden und spirillenartigen Prokaryonten, nicht jedoch bei Kokken, gefunden wurde. Darüber hinaus gibt es Hinweise, dass MreB an der **Chromosomensegregation** und auch an einer besonderen Form der Zellbewegung beteiligt ist (Plus 5.2).

Auch ein Pendant für Intermediärfilamente wurde gefunden.

5.4 Ribosomen

Die Ribosomen sind die Orte der Proteinbiosynthese. Hier wird die genetische Information der Boten-RNA (mRNA) in eine Polypeptidkette umgesetzt (Translation) (Kap. 15.8.2). Ribosomen sind daher essenziell für jede Zelle und kommen folgerichtig bei allen Organismen vor. Sie bestehen aus zwei Untereinheiten, die gemeinsam das aktive Ribosom bilden. Bei den Prokaryonten werden die kleine Untereinheit als **30S** und die große



Abb. 5.4 Helikale Cytoskelett-„Kabel“ lebender Zellen von *Bacillus subtilis*. Die Strukturen aus MreB-Protein, das mit einem fluoreszierenden Protein fusioniert ist, wurden mittels Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht (Aufnahme J. Errington, Oxford).

Plus 5.2 Das Cytoskelett als Bewegungsapparat

Spiroplasma melliferum gehört zur Gruppe der Mollicutes, zu der auch noch die Gattungen *Mycoplasma* und *Acholeplasma* zählen. Diese Organismen stellen die kleinsten freilebenden und selbständig vermehrungsfähigen Zellen dar. Sie besitzen keine Zellwand und sind nur von einer cholesterinhaltigen Membran umgeben. Bei *S. melliferum* wurde ein Cytoskelett aus zwei verschiedenen Filamenten entdeckt, die in drei bänderartig unterhalb der Zellmembran verlaufenden Strukturen angeordnet sind. Die Filamente bestehen aus dem sogenannten Fibrillenprotein und wahrscheinlich auch aus dem MreB-Protein. Die Zellen sind chemotaktisch, besitzen jedoch keine Flagellen. Es wird daher vermutet, dass die Bewegung durch koordinierte Längenveränderung der Filamente zustande kommt. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von einem linearen Motor.

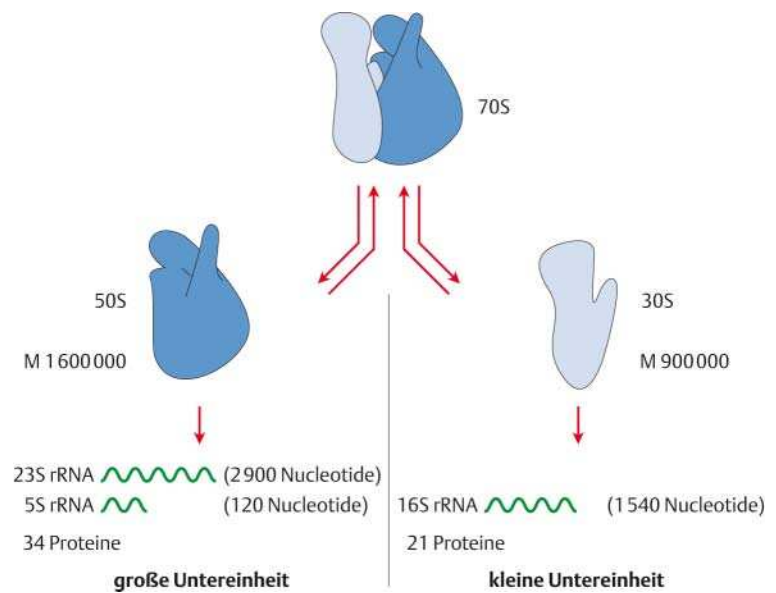


Abb. 5.5 Modell des bakteriellen Ribosoms.

Das bakterielle Ribosom ist aus 2 Untereinheiten zusammengesetzt. Die große 50S-Untereinheit besteht aus 5S-rRNA, 23S-rRNA und 34 Proteinen, die kleine 30S-Untereinheit enthält die 16S-rRNA und 21 Proteine.

Untereinheit als **50S** bezeichnet. Die beiden Untereinheiten lagern sich zum **70S**-Ribosom zusammen (Abb. 5.5). Jede Untereinheit besteht ihrerseits aus charakteristischen Proteinen und Ribonukleinsäuren (rRNA), die gemeinsam einen **Ribonukleoproteinkomplex** bilden. Die 30S-Untereinheit enthält die 16S-rRNA und 21 verschiedene Proteine, die 50S-Untereinheit besteht aus 5S-rRNA, 23S-rRNA und 34 verschiedenen Proteinen. Jede Zelle enthält $2-10 \times 10^4$ Ribosomen, die als einzelne Partikel oder als **Polysomen** vorliegen können. Polysomen bestehen aus einzelnen Ribosomen, die zur Kette aufgereiht an mRNA gebunden sind.

5.5 Zellmembranen

5.5.1 Cytoplasmamembran

Das Cytoplasma der Zelle ist von einer dünnen Membran umgeben, die nicht nur die Konstanz der Zellinhaltsstoffe gegenüber dem umgebenden Milieu gewährleistet; sie ermöglicht als Permeabilitätsbarriere auch die gezielte Aufnahme und Abgabe von Verbindungen und dient zur Speicherung von Zellenergie (Kap. 9). Sie besteht aus einer ca. 8 nm dicken Doppelschicht aus Phospholipiden (seltener Glykolipiden), in die Proteine eingelagert sind. Phospholipide sind Ester aus dem dreiwertigen Alkohol Glycerin und zwei Fettsäuren, die sowohl gesättigt als auch ungesättigt sein und Kettenlängen zwischen 14–18 Kohlenstoffatomen besitzen können. Die verbleibende OH-Gruppe des Glycerins ist mit Phosphorsäurederivaten verestert. Bei Glykolipiden ist diese Position dagegen glykosidisch mit Zuckerresten verbunden. Diese chemische Zusammensetzung verleiht dem Molekül sowohl hydrophile als auch lipophile Eigenschaften, was in wässriger Umgebung zur spontanen Ausbildung einer Doppelschicht führt, in der die Fettsäurereste nach innen, die polaren Glycerophosphat- bzw. Zuckergruppen nach außen gerichtet sind (Abb. 5.6a). Diese Struktur wird auch als **Einheitsmembran** bezeichnet, da sie für

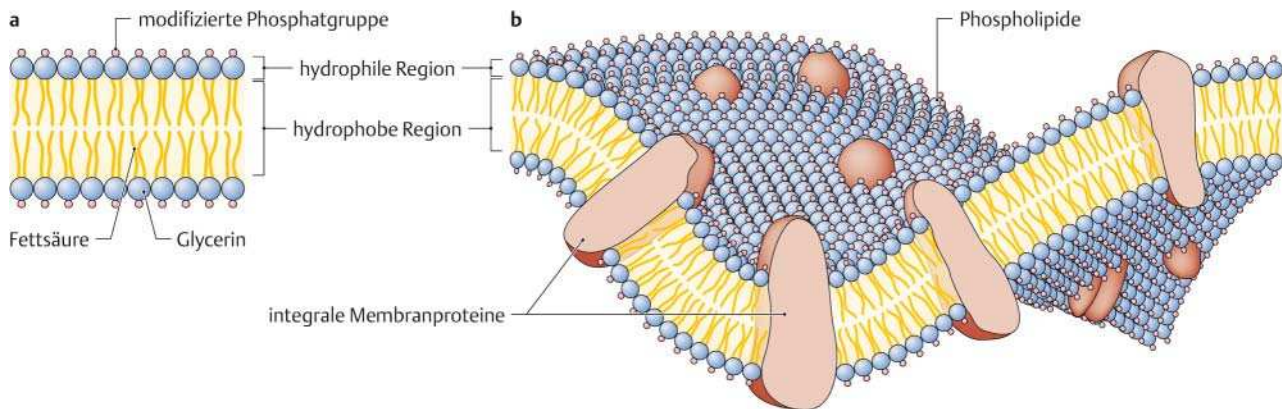


Abb. 5.6 Cytoplasmamembran der Eubakterien und Eukaryonten. **a** Grundstruktur einer Phospholipiddoppelschicht. **b** Modell der Struktur der Cytoplasmamembran (Einheitsmembran). Die Matrix besteht aus Phospholipiden, deren hydrophobe Gruppen nach innen und deren hydrophile Gruppen nach außen gerichtet sind, wo sie mit Wassermolekülen assoziieren. In die Phospholipidschicht eingebettet sind integrale Membranproteine. Gemäß dem Fluid mosaic Model ähnelt die Konsistenz der Einheitsmembran einer leicht viskösen Flüssigkeit.

fast alle Zellmembranen und auch für viele Membranen eukaryontischer Zellorganellen prinzipiell gleich ist. Die Cytoplasmamembran stellt eine Permeabilitätsbarriere für wasserlösliche Substanzen dar. Lediglich Wasser selbst, einige Gase (z.B. CO_2 , H_2 , O_2) und wenige kleine organische Moleküle wie Glycerin oder lipophile Substanzen, wie undissoziierte Fettsäuren und aromatische Verbindungen, können die Membran durch Diffusion frei passieren.

In die Membran eingelagert sind spezielle Proteine, die u.a. der Kommunikation und dem Stoffaustausch mit der Umgebung sowie dem Aufbau von Zellenergie dienen (Kap. 9). Im Gegensatz zu den wasserlöslichen Proteinen des Cytoplasmas exponieren **Membranproteine** die Seitenketten hydrophober Aminosäuren auf ihrer Oberfläche, wodurch sie in Kontakt mit den Fettsäuren der Lipide treten können. Um die Membran einmal überspannen zu können, sind zwischen 18 und 22 hydrophobe Aminosäuren hintereinander erforderlich, die in Form einer α -Helix gefaltet sind. Solchen **integralen Membranproteinen** stellt man **periphere Membranproteine** gegenüber, die über Kontakte mit integralen Membranproteinen mit der Membran assoziiert sind (Abb. 5.6b). Integrale Membranproteine lassen sich nur mit Detergenzien (auch Tenside genannt) in Lösung bringen, periphere Membranproteine können bereits durch hohe Salzkonzentrationen abgelöst werden. Die Cytoplasmamembran ist keine starre Struktur, sondern flüssig, wobei man sich die Proteine als in den Phospholipiden „schwimmend“ vorstellt (engl. fluid mosaic model, Abb. 5.6b).

Zur Stabilisierung dieser Struktur können zusätzliche hydrophobe Verbindungen in die Membran eingelagert sein. So enthalten eukaryontische Membranen Cholesterin, ein Steroid, im Gegensatz zu fast allen bakteriellen Membranen (Ausnahmen: Methanotrophe Bakterien und Mykoplasmen). Bei zahlreichen Eubakterien wurden jedoch ähnliche Verbindungen, sogenannte Hopanoide, gefunden (Abb. 5.7).

Eine chemisch grundsätzlich andere Membranzusammensetzung findet man bei den Archaeobakterien, aber auch bei einigen Eubakterien. Anstelle von Esterbindungen ist hier ein Glycerinmolekül über Etherbin-

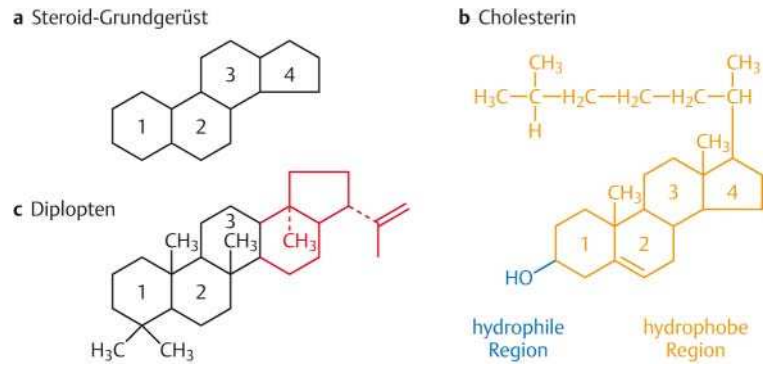


Abb. 5.7 Steroide und Hopanoide. **a** Steroidgrundgerüst. **b** Struktur von Cholesterin. **c** Struktur des Hopanoids Diplopten.

dungen mit den hydrophoben Komponenten verbunden. Dabei handelt es sich nicht um Fettsäuren, sondern um reduzierte Isoprenoidalkohole. Sowohl Di- als auch Tetraetherverbindungen mit Glycerin kommen vor. Letztere führen zur Bildung einer Monoschicht in einer Membran (Abb. 5.8). Diese Strukturen, sowie die größere Stabilität von Etherbindungen im Vergleich zu Esterbindungen, gewährleistet die Integrität der Membran auch unter den häufig extremen Lebensbedingungen der Archaeobakterien.

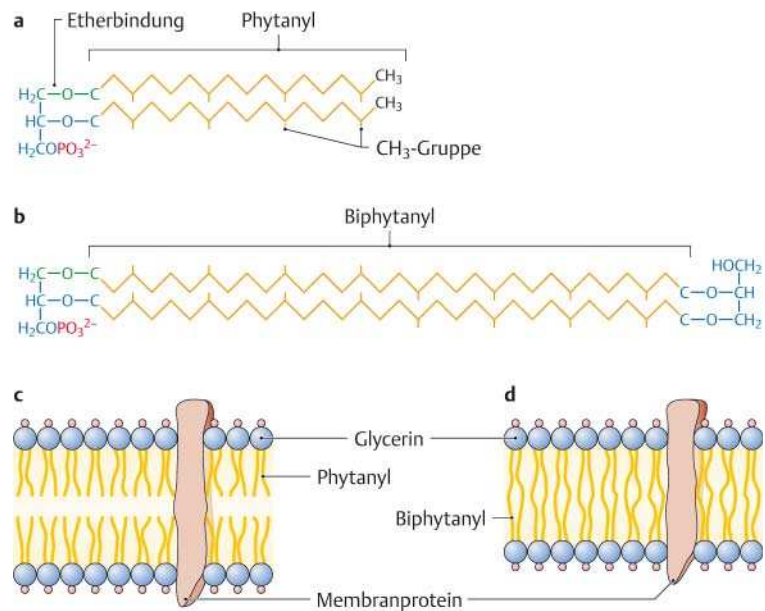
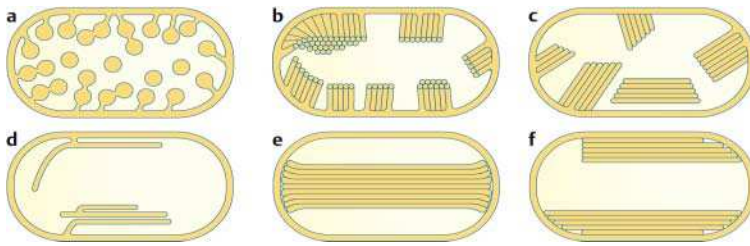


Abb. 5.8 Grundgerüst der Lipide der Archaeobakterien und Membranaufbau. **a** Glyceridether. **b** Diglycerintetraether. **c** Lipiddoppelschicht. **d** Lipideinzelschicht.

5.5.2 Intracytoplasmatische Membranen

Einige Gruppen von Bakterien besitzen zusätzliche, intrazelluläre Membransysteme, bei denen es sich jedoch um Einstülpungen der Cytoplasmamembran handelt. Sie dienen der Vergrößerung der Membranoberfläche und enthalten spezielle Enzymsysteme, die für besondere Energiestoffwechselwege benötigt werden und die zwingend in geschlossenen Membransystemen eingelagert sein müssen.



Bei phototrophen Bakterien, die zur Gruppe der **Purpurbakterien** gehören, findet man lamellenartige, schlauchförmige und vesikuläre Strukturen, welche die Lichtsammelkomplexe, Reaktionszentren und Elektronentransportketten des Photosyntheseapparates tragen (Abb. 5.9 und 5.10).

Ähnliche interne Membransysteme besitzen Organismen, die zur Gruppe der **methanotrophen Bakterien** gehören. Ihr Energie- und Baustoffwechsel basiert auf der Oxidation von Methan (CH_4). Von ihrer Struktur her können TypI- und TypII-Membranen unterschieden werden. Beide enthalten die zur Methanoxidation notwendigen Enzymsysteme und sind darüber hinaus durch den Gehalt an Steroiden gekennzeichnet, was eine Besonderheit für Bakterien darstellt (Abb. 5.9).

Ebenfalls über zusätzliche intracytoplasmatische Membranen verfügen viele **nitrifizierende Bakterien**, die ihre Zellenergie durch Oxidation von Ammoniak (NH_3) zu Nitrit (NO_2^-) bzw. von NO_2^- zu Nitrat (NO_3^-) mit Sauerstoff gewinnen (Abb. 5.9). Die Ammoniakmonooxygenase ist wie die Methanmonooxygenase ein Membranenzym (Kap. 11.3.1).

Manche intrazellulären Einschlusskörper sind von einer einfachen Membran umgeben. Dabei handelt es sich meist um eine Proteinschicht, gelegentlich auch um eine einfache Lipidschicht (s. unten).

5.6 Zellwand

Durch die im Cytoplasma gelösten Stoffe entsteht ein Zellturgordruck, der, je nach Bakterium, zwischen 0,2–0,5 MPa (bei gramnegativen) und 2,5 MPa (bei grampositiven) betragen kann (1 MPa = 9,869 atm). Um diesem Druck standhalten zu können, sind Bakterien, mit Ausnahme der Gruppe der Mykoplasmen, von einer Zellwand umgeben. Bei den meisten Bakterien handelt es sich um **Peptidoglykan** oder **Murein** (Abb. 5.11). Es ist ein Heteropolymer, aufgebaut aus einer Polysaccharidkomponente und einem Peptidanteil. Die Anzahl der Mureinschichten, aus denen sich die Zellwand zusammensetzt, ist ein wichtiges Charakteristikum zur Unterscheidung von Bakterien mit Hilfe der **Gram-Färbung** (vgl. Box 5.1). Grampositive Bakterien haben bis zu 25 Schichten, während gramnegative Bakterien nur ein 1–2 schichtiges Peptidoglykan besitzen. Je tiefer Bakteriengruppen im Stammbaum der Bakterien abzweigen, desto verschiedener sind die Zellwandstrukturen von der hier beschriebenen.

Das typische Zellwandpolysaccharid der Bakterien setzt sich aus zwei Zuckern, **N-Acetylglucosamin** (GlcNAc) und **N-Acetylmuraminsäure** (MurNAc), zusammen, die alternierend über 1,4- β -glykosidische Bindungen miteinander verknüpft sind (Abb. 5.12). Die so entstandenen Zuckerketten werden über Tetrapeptide, die mit einem Lactylrest der N-Acetylmuraminsäure verbunden sind, vernetzt. Die Peptide der Zellwand zeichnen sich durch zum Teil ungewöhnliche Aminosäuren aus,

Abb. 5.9 Intracytoplasmatische Membranen, schematische Übersicht. **a** Vesikeltyp bei *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodobacter capsulatus*, *Chromatium vinosum*, *Thiocapsa roseopersicina* u.a. **b** Tubuläre Strukturen bei *Thiocapsa pfennigii* u.a. **c** Flache, thylakoidartige Strukturen bei *Rhodospirillum molischianum*, *Ectothiorhodospira mobilis* u.a. **d** Große, teilweise gestapelte Thylakoide bei *Rhodopseudomonas palustris* und *Rps. viridi*. **e** Intracytoplasmatische Membranen bei *Nitrosococcus oceanus*. **f** Intracytoplasmatische Membranen vom Typ II aus *Methylosinus*.

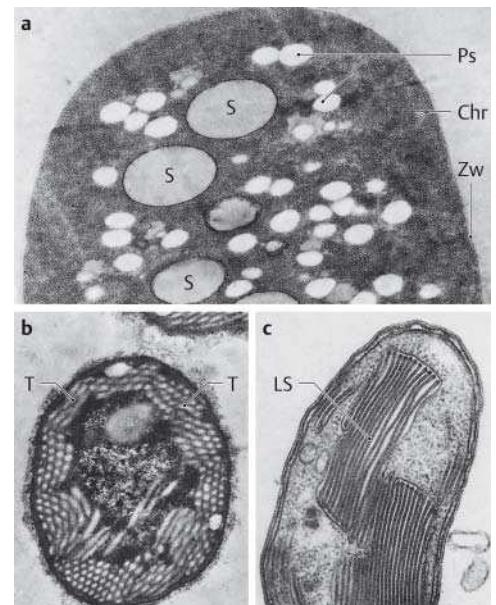


Abb. 5.10 Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Einzelbeispielen phototropher Bakterien mit intracytoplasmatischen Membransystemen. **a** *Chromatium okenii* enthält bläschenförmige Strukturen, die Vesikel oder Chromatophoren genannt werden (Aufnahme G. Kran). **b** *Thiocapsa pfennigii* hat tubuläre photosynthetische Membranen (Aufnahme K. Eimhjellen). **c** Bei *Ectothiorhodospira mobilis* sind die Membranen mehrfach gefaltet und liegen als Lamellenstapel vor (aus Remsen et al., 1968). Chr = Chromatophoren; LS = Lamellenstapel; Ps = Polysaccharid-Grana; S = Schwefeltropfen; T = tubuläre photosynthetische Membranen; Zw = Zellwand.

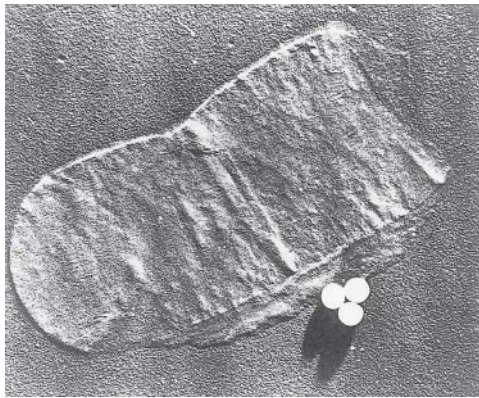


Abb. 5.11 Mureinsacculus aus *Bacillus megaterium* (luftgetrocknete Präparation). Indikatorpartikel haben Durchmesser von 0,25 mm (aus Hakenbeck, 1994).

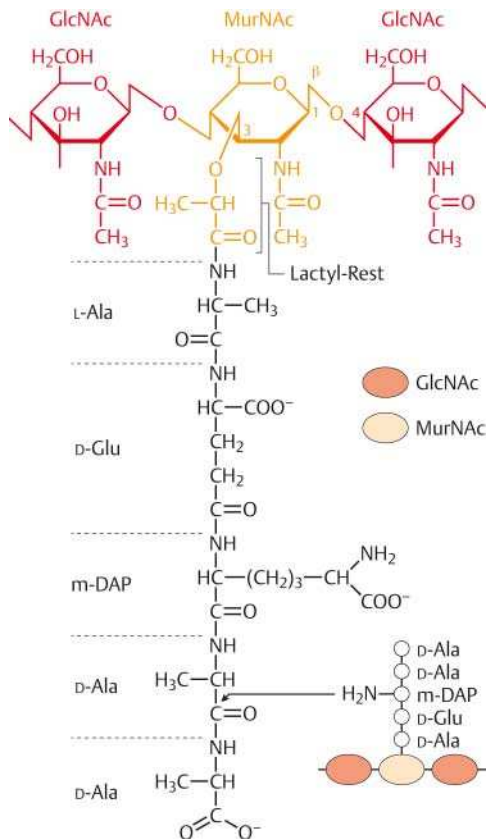


Abb. 5.12 Struktur von Murein. Das endständige D-Ala wird bei der Quervernetzung abgespalten (siehe Text).

die in Proteinen sonst nicht vorkommen. So findet man neben *L*-Alanin die *D*-Formen der Aminosäuren Alanin und Glutaminsäure, sowie Diaminopimelinsäure. Diese besitzt zwei Aminogruppen und kann daher die Vernetzung mit dem *D*-Alanin der Nachbarkette über eine Peptidbindung bewerkstelligen. Bei grampositiven Bakterien, wie z.B. *Staphylococcus aureus*, ist Diaminopimelinsäure meist durch *L*-Lysin ersetzt, und die Verbrückung erfolgt über ein zusätzliches Pentapeptid aus Glycinresten. Die Zahl der Quervernetzungen variiert charakteristisch zwischen verschiedenen Bakterien. Bei der Biosynthese des Peptidoglykans (s. auch Kap. 8.7.5) werden im Cytoplasma zunächst Vorstufenmoleküle gebildet. Diese bestehen aus einem GlcNAc-MurNAc-Disaccharid, welches an MurNAc ein Pentapeptid trägt. Gegenüber der Struktur in der fertigen Kette befindet sich am freien Ende des Peptids ein zusätzliches *D*-Alanin-Molekül. Dieser Vorläufer wird mit Hilfe eines Trägermoleküls (C_{55} -Lipid) durch die Membran transportiert und in die vorhandene Kette eingebaut. Dabei erfolgt die Quervernetzung von Peptidketten durch Reaktion mit *D*-Alanin an Position vier (Transpeptidierung), bei gleichzeitiger Abspaltung des endständigen *D*-Alanins. Somit wird die energieverbrauchende Bildung der Peptidbindung zwischen den Peptidketten mit der energieliefernden Spaltung des *D*-Alanyl-*D*-Alanin-Dipeptides gekoppelt. Dieser Schritt wird spezifisch durch das Antibiotikum **Penicillin** gehemmt (Kap. 5.14).

Neben dem Schutz gegen Zerstörung aufgrund des Zellurgors spielt das Murein eine entscheidende Rolle bei der Formgebung der Bakterienzellen. Spaltet man die 1,4- β -glykosidische Bindung zwischen N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure mit dem Enzym **Lysozym**, so wird die Stabilität der Zellwand geschwächt. Wasser tritt ein, die Zelle schwillt und platzt schließlich, ein Vorgang den man als **Lyse** der Zelle bezeichnet. Da Lysozym in Körpersekreten des Menschen (Tränenflüssigkeit, Speichel) vorkommt, wird dem Enzym eine Bedeutung bei der primären Abwehr gegen unerwünschte Bakterienbesiedlung zugesprochen.

Wird die Lysozymbehandlung dagegen in einer isotonischen Saccharoselösung durchgeführt, deren osmotischer Druck dem des Cytoplasmas entspricht, so unterbleibt die Lyse. Stattdessen entsteht ein **Protoplast** von kugelförmiger Gestalt. Dabei ist die ursprüngliche Gestalt der Zelle, ob Stäbchen-, Spirillen- oder Kokkenform, ohne Bedeutung (Abb. 5.13). Durch einen osmotischen Schock (Verdünnen der Protoplastensuspension in destilliertem Wasser) platzen die Protoplasten und werden zu Ghosts, die aus Membranfetzen und Vesikeln bestehen.

Dies macht deutlich, dass die Zellwand eine für die meisten Bakterien lebensnotwendige Struktur darstellt. Lediglich die Vertreter der Gruppe der **Mykoplasmen** (z.B. Gattungen *Mycoplasma*, *Spiroplasma*, *Acholeplasma*) leben als zellwandfreie Organismen. Ihr bevorzugter Lebensraum innerhalb eines tierischen Wirts stellt eine isotone Umgebung dar; auch das Vorhandensein von Cholesterin in deren Zellmembran wird für die Entbehrlichkeit der Zellwand verantwortlich gemacht.

Über die erwähnten Grundstrukturen hinaus enthalten die Zellwände grampositiver Bakterien weitere Komponenten (Abb. 5.14). Einige enthalten **Teichonsäuren**, saure Polysaccharide, die als charakteristische Bestandteile Glycero- oder Ribitolphosphate enthalten (Abb. 5.15). Einige, die **Lipoteichonsäuren**, sind dabei direkt mit Lipiden der Zellmembran oder mit der Zellwand verbunden. Charakteristische Zellwandbestandteile der Gattung *Mycobacteria* stellen die **Mykolsäuren** dar, die über Arabinalgalaktan kovalent mit dem Peptidoglykan verbunden sind und der Zelloberfläche eine hydrophobe Konsistenz verleihen (Abb. 5.16).

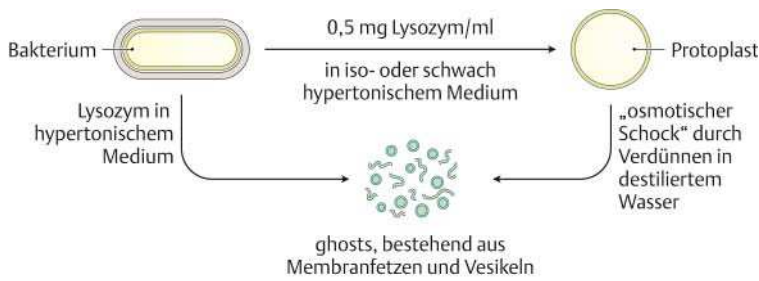
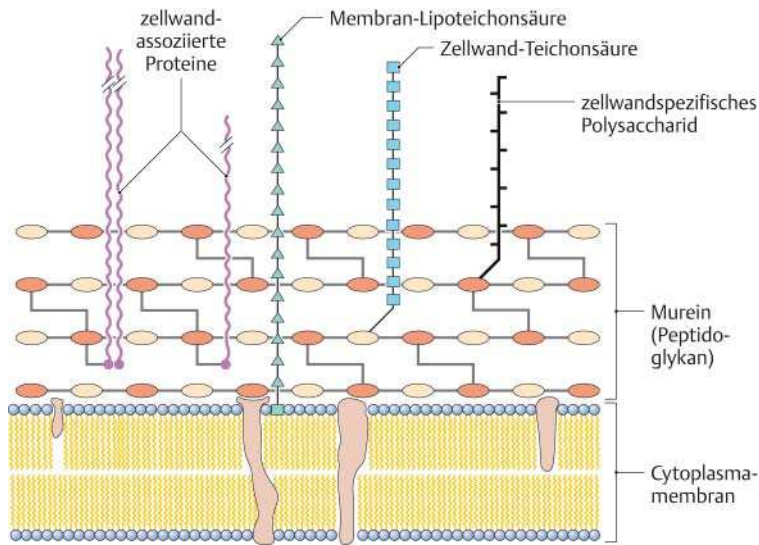


Abb. 5.13 Herstellung von Protoplasten und Membranvesikeln durch Behandlung mit Lysozym.



Archaeobakterien besitzen kein Peptidoglykan. Allerdings kommt bei einigen Vertretern, die zu den methanbildenden Organismen gehören, eine sehr ähnliche Zellwandstruktur vor, das **Pseudomurein**. Im Unterschied zum Murein der Bakterien ist hier N-Acetylglucosaminuronsäure anstelle von N-Acetylmuraminsäure in einer 1,3-β-glykosidischen Bindung mit N-Acetylglucosamin verknüpft. Dadurch sind diese Archaeobakterien resistent gegenüber Lysozym. Die zur Quervernetzung vorhandenen Peptide enthalten darüber hinaus auch keine D-Aminosäuren. Die Zellwände anderer Archaeobakterien bestehen aus Polysacchariden, Glykoproteinen oder gänzlich aus Proteinen. Besonders häufig anzutreffen sind parakristalline Schichten aus Glykoproteinen oder Proteinen, so genannte **S(urface)-Layer** (Abb. 5.17). Solche Proteinschichten sind jedoch auch bei manchen Eubakterien als dem Murein zusätzlich aufgelagerte Strukturen zu finden. Auch bei Archaeobakterien sind zellwandlose, formvariable Vertreter bekannt (Gattung *Thermoplasma*), die von einer dreischichtigen Membran aus Etherlipiden umhüllt sind.

Abb. 5.14 Schematische Darstellung der Zellwand grampositiver Bakterien (Gruppe mit niedrigem GC-Gehalt). GlcNAc, N-Acetylglucosamin, MurNAc, N-Acetylmuraminsäure.

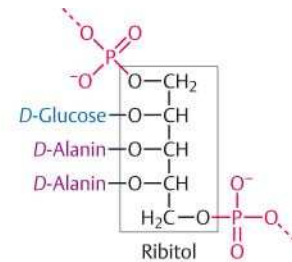


Abb. 5.15 Struktur der sich wiederholenden Einheit der Ribitol-Teichonsäure aus *Bacillus subtilis*.

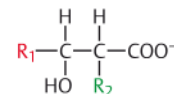


Abb. 5.16 Mykolsäure ist der charakteristische Zellwandbestandteil der Gattung *Mycobacteria*. R₁ und R₂ sind langkettige aliphatische Kohlenwasserstoffe.

Abb. 5.17 Verschiedene Strukturen von S-Layern. **a** Trichome aus *Methanospirillum hungatei*. Anordnung in Reihen. Balken: 0,1 µm. **b** Hexagonale Gitter bei *Methanogenium marisnigri* (aus Kandler 1979).

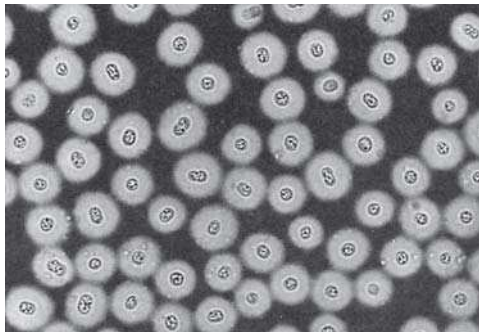
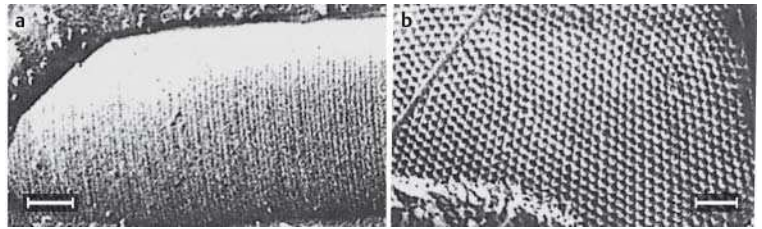


Abb. 5.18 Bakterienkapseln. Dargestellt an dem Schwefelpurpurbakterium *Amoebobacter roseus*. Tuschepräparat. 1200fach (Aufnahme N. Pfennig).

5.7 Kapseln und Schleime

Viele Bakterien sezernieren bestimmte Polysaccharide (manchmal auch Proteine), die sich als weitere Schutzschicht um die Zellen herumlagern. Diese werden als **Kapseln** und **Schleime** bezeichnet. Unter Kapseln versteht man dabei feste, geordnete Strukturen, die eine Diffusion gelöster Verbindungen zur Zellmembran erschweren und Stofftransport durch Konvektion verhindern. Rußpartikel von Tusche können in Kapseln nicht eindringen (Tuschepräparat, Abb. 5.18). Schleimschichten dagegen sind weniger geordnet, stellen keine Diffusionsbarriere dar und sind im Mikroskop deutlich schlechter zu erkennen. Beide Strukturen spielen eine Rolle bei der Anheftung pathogener Bakterien an ihre Zielzelle, sowie bei der Resistenz solcher Bakterien gegenüber Abwehrmechanismen des Wirtes (Kap. 18.5.1). Auch die Anheftung an Oberflächen und die Bildung von Biofilmen erfordern extrazelluläre Substanzen, meist Polysaccharide. Kapsel-Polysaccharide (K-Antigen) werden in der Serologie zur Typisierung von Enterobakterien der Gattungen *Escherichia*, *Klebsiella* und *Shigella* mit Hilfe spezifischer Antikörper herangezogen.

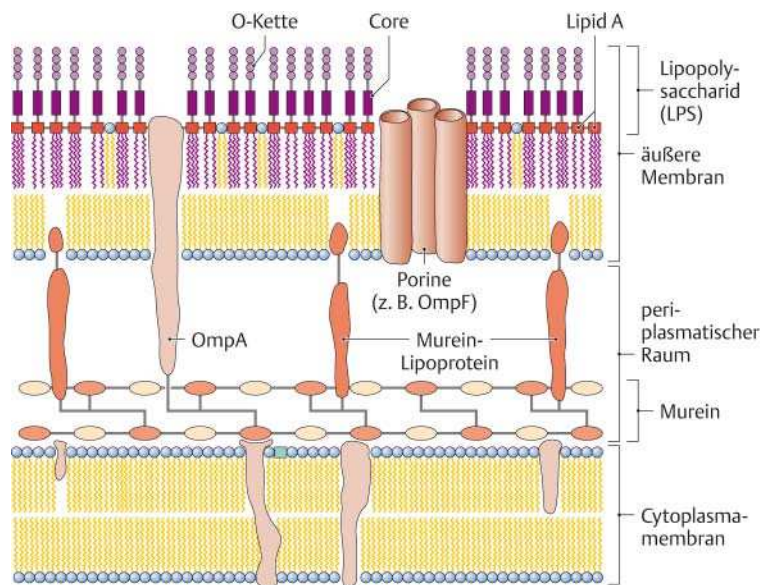


Abb. 5.19 Schematische Darstellung der Zellwand gramnegativer Bakterien.

5.8 Die äußere Membran gramnegativer Bakterien

Gramnegative Bakterien haben als Besonderheit eine der Zellwand aufgelagerte zweite (äußere) Membran (Abb. 5.19). Hierbei handelt es sich um eine asymmetrische Lipiddoppelschicht, bestehend aus einer äußeren Lage aus **Lipopolysaccharid (LPS)** und einer inneren Lage aus Phospholipiden. Beim Lipopolysaccharid unterscheidet man drei strukturelle Komponenten: das **Lipid A**, die **Kern-Polysaccharidregion** und die **O-spezifische Seitenkette** (Abb. 5.20). Lipid A besteht aus einem Disaccharid aus Glucosaminphosphat, an dessen Zucker-OH-Gruppen über Esterbindungen Fettsäuren gebunden sind. Eine spezielle Zuckersäure, 2-Keto-3-desoxyoctonsäure (KDO), verbindet das Lipid A mit der Kernregion, die aus definierten Zuckern, darunter Heptosen, Galactose, Glucose und N-Acetylglucosamin besteht. An diese schließt sich die O-spezifische Polysaccharidkette an. 4–5 Zucker bilden hier, teilweise verzweigte, Grundstrukturen, die mehrfach wiederholt werden können und somit eine Variabilität in der Kettenlänge ermöglichen. Außerdem findet man auch ungewöhnliche Didesoxyzucker, wie Abequose oder Colitose. Diese Struktur stellt ein sehr wirksames Antigen (O-Antigen) für die Produktion von Antikörpern durch das Immunsystem von Säugern dar. Wird LPS, insbesondere die Lipid-A-Komponente, von pathogenen Bakterien der Gattungen *Salmonella*, *Shigella* oder *Escherichia* im menschlichen Organismus freigesetzt, so kann dies zu einem septischen Schock führen. Das Lipid A des LPS wird daher auch als **Endotoxin** bezeichnet.

Die äußere Membran ist über spezielle **Lipoproteine**, die in der inneren (Phospholipid-)Schicht verankert sind, kovalent an das Peptidoglykan gebunden (Abb. 5.19).

O-spezifische Polysaccharidketten, KDO und Phosphorsäurereste des Lipid A verleihen der Zelloberfläche einen stark hydrophilen Charakter. Dabei werden die negativen Ladungen der Säuren durch eingelagerte zweiwertige Kationen wie Ca^{2+} und Mg^{2+} teilweise kompensiert, was zur Stabilisierung erheblich beiträgt. Gramnegative Bakterien besitzen deshalb eine natürliche Resistenz gegenüber lipophilen Verbindungen, zu denen neben den Gallensäuren von Säugern auch viele Antibiotika gehören.

Im Gegensatz zur Cytoplasmamembran ist die äußere Membran gramnegativer Bakterien für kleinere Substratmoleküle relativ durchlässig. Dies ist auf spezielle Kanalproteine (**Porine**) zurückzuführen, die in großer Zahl in die äußere Membran eingelagert sind. Porine bilden als

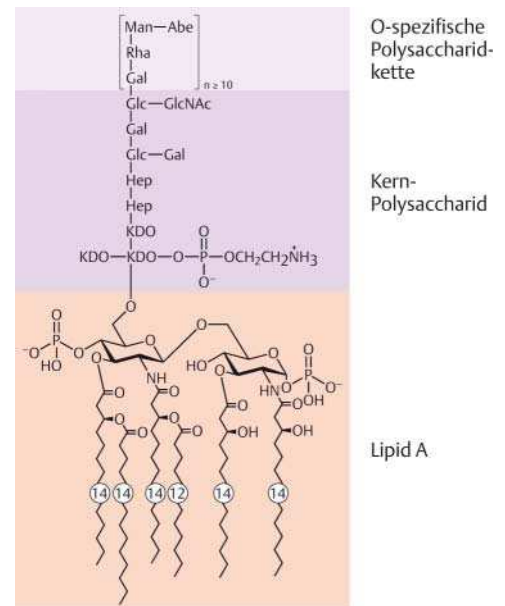


Abb. 5.20 Struktur des Lipopolysaccharids (LPS). Das O-spezifische Polysaccharid besteht aus vielfach sich wiederholenden Einheiten, die folgende Zucker enthalten: Abequose (Abe), Mannose (Man), Rhamnose (Rha) und Galactose (Gal); das Kern-Polysaccharid enthält typischerweise N-Acetylglucosamin (GlcNAc), Glucose (Glc), Galactose (Gal), L-Glycero-D-Mannoheptose (Hep) und 2-Keto-3-Desoxyoctonsäure (KDO); Lipid A besteht aus sich wiederholenden Einheiten von phosphoryliertem Glucosamin, welche mit Fettsäuren (C_{12} , C_{14} ; einige β -Hydroxyfettsäuren) verestert sind.

Plus 5.3 OmpF und OmpC

Vorherrschend bei *E. coli* sind die konstitutiv gebildeten Porine OmpF und OmpC, deren Anteil am gesamten Zellprotein bis zu 2 % betragen kann. Die Proteine weisen keine Substratspezifität auf, obgleich kationische oder neutrale Substanzen bevorzugt werden. Hydrophobe Verbindungen werden nicht akzeptiert. Der Porendurchmesser jedes Monomers beträgt 1,16 nm im Fall von OmpF bzw. 1,08 nm bei OmpC. Obwohl diese Unterschiede gering erscheinen, reguliert die *E. coli*-Zelle die Kopienzahl des jeweiligen Proteins in Abhängigkeit von der Osmolarität des umgebenden Milieus. So wird bei hyperosmotischen Bedingungen und höherer Temperatur die

Transkription des *ompF*-Gens reprimiert mit der Konsequenz, dass die äußere Membran dann überwiegend OmpC-Kanäle enthält. Solche Bedingungen herrschen z.B. im Dickdarm von Säugetieren, einem bevorzugten Lebensraum von *E. coli*. Entsprechend wird bei niedriger Osmolarität und niedriger Temperatur, also z.B. in einem See nach Verlassen des Wirtes, die Bildung von OmpF gefördert. An der Regulation der OmpF/OmpC-Synthese ist ein Sensor-Regulator-System (Kap. 9 und 16.3.3), bestehend aus den Proteinen EnvZ (Histidinkinase) und OmpR (Transkriptionsregulator), beteiligt.



Abb. 5.21 Grundstruktur der Porine in der äußeren Membran. Die Proteine enthalten ausschließlich β -Faltblatt-Elemente, die fassartig angeordnet und durch ungeordnete Peptidschleifen verbunden sind. Drei Monomere vereinigen sich zu einem funktionellen Porin (aus Lengeler et al., 1999).

wassergefüllte Homotrimere definierte Poren und ermöglichen den Transport hydrophiler Substanzen bis zu einer molaren Masse von etwa 600–700 Dalton entlang eines Konzentrationsgefälles. Porine besitzen eine charakteristische Fass-Struktur, aufgebaut aus Aminosäureketten, die sich in Form eines β -Faltblatts anordnen (engl. β -barrel, Abb. 5.21, Plus 5.3). Solche unspezifischen Kanalproteine sind in zahlreichen Bakteriengattungen nachgewiesen worden. Sogar einige grampositive Bakterien mit stark hydrophober Zelloberfläche aufgrund von Mykolsäuren, wie Mykobakterien und verwandte Organismen (Kap. 5.6), besitzen Porine, um die Aufnahme wasserlöslicher Nährstoffe zu gewährleisten.

Einige **Porine mit Substratspezifität** werden nur unter bestimmten Bedingungen gebildet. So synthetisiert *E. coli* bei Phosphatmangel das PhoE-Protein, die Anwesenheit von Maltodextrinen im Medium führt zur Bildung von Maltoporin (bei *E. coli* dient das Protein auch als Rezeptor für den Bakteriophagen Lambda und wird daher auch als LamB-Protein bezeichnet) und bei einigen *E.-coli*-Stämmen, die Saccharose als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen können, ist die Aufnahme des Zuckers mit der Synthese des spezifischen Kanalproteins ScrY verbunden. Weiterhin wird für den Transport langkettiger Fettsäuren bei *E. coli* das FadL-Protein benötigt. All diesen Substraten gemeinsam ist, dass sie durch die unspezifischen Porine entweder gar nicht oder nur unzureichend transportiert werden können.

Einen Sonderfall stellen porinähnliche **Rezeptorproteine** für Eisen-Siderophor-Komplexe und andere große organische Moleküle wie Vitamin B₁₂ dar, die ihr Substrat energieabhängig (gekoppelt an den elektrochemischen Protonengradienten über der Cytoplasmamembran) in das Periplasma transportieren. Hierfür ist ein Proteinkomplex, bestehend aus TonB, ExbB und ExbD, der in der Cytoplasmamembran verankert ist, erforderlich. Die Öffnung dieser Rezeptoren und damit der Transport großer organischer Moleküle über die äußere Membran erfordert die Energetisierung der Cytoplasmamembran.

Durch die Auflagerung einer nur für relativ kleine Moleküle durchlässigen zweiten Membran entsteht ein weiteres, außerhalb der eigentlichen Zelle befindliches Kompartiment, das **Periplasma** (Abb. 5.19). Hier sind Proteine und Enzyme eingeschlossen, die für den Abbau von Substanzen vor Aufnahme in das Cytoplasma sorgen (z. B. Phosphatasen, Amylasen) oder direkt am Transport beteiligt sind (diverse Substratbindepoteine, Kap. 9). Da diese Proteine in hohen Konzentrationen vorliegen, verleihen sie dem Periplasma eine gelartige Konsistenz.

5.9 Flagellen, Fimbrien, Pili

5.9.1 Flagellen

Mit Hilfe von Flagellen (auch Bakteriengeißeln genannt) können sich Bakterien frei bewegen. Flagellen sind dünne filamentöse Zellanhänge, deren Länge (5–20 μm) meist ein Vielfaches der Zelllänge beträgt. Aufgrund der geringen Dicke (Durchmesser ca. 20 nm) sind Flagellen ohne spezielle Färbemethoden im Lichtmikroskop nicht sichtbar. Bakterien können vielfältig begeißelt sein (Abb. 5.22). Sind eine oder mehrere Flagellen vorhanden, spricht man von monotricher bzw. polytricher Begeißelung (Abb. 5.2c, S. 127). Flagellen können sich dabei an einem (monopolar) (Abb. 5.2c) oder an beiden Polen (bipolar) einer stäbchenförmigen Zelle befinden. Dagegen tragen peritrich begeißelte Bakterien mehrere Fla-

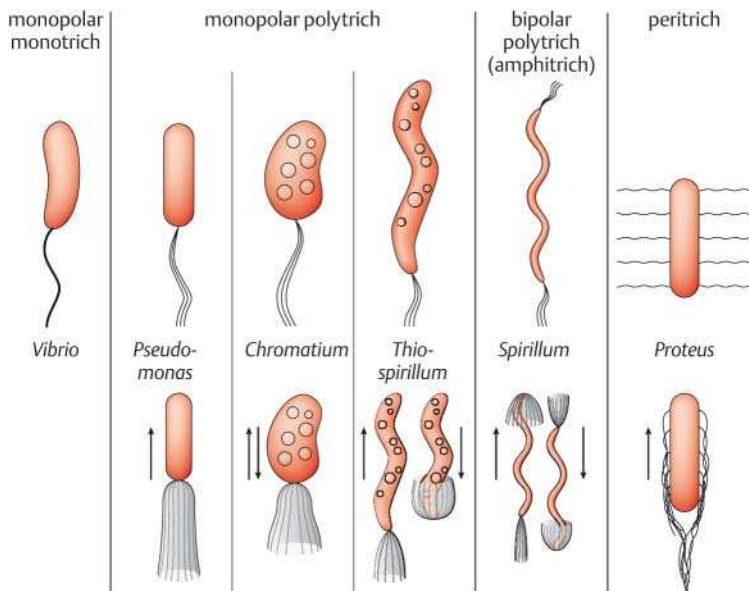


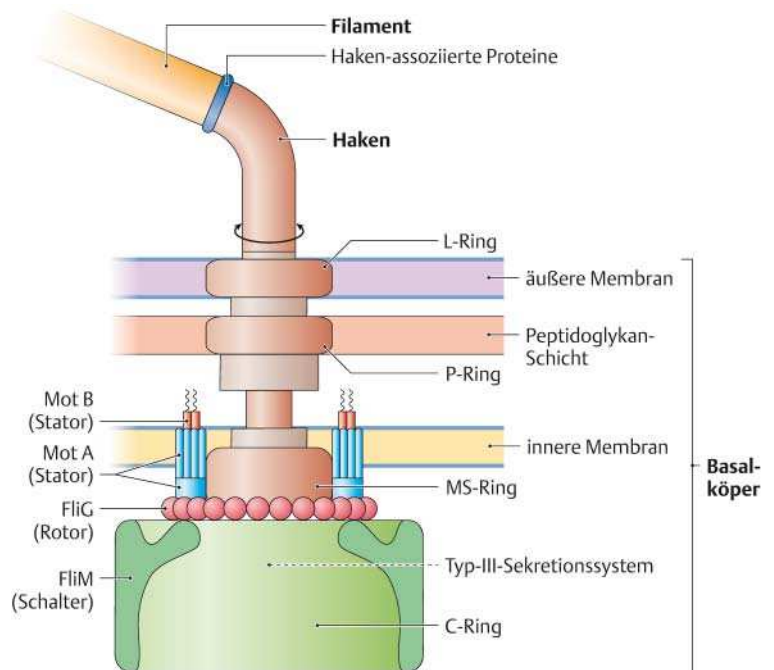
Abb. 5.22 Die wichtigsten Begeißelungs- und Bewegungstypen von Bakterien.

gellen, die über die Zelle verteilt sind. Antiseren gegen Flagellenproteine (H-Antigen) werden bei pathogenen Bakterien wie z.B. der Gattungen *Proteus* und *Salmonella* auch zur Identifizierung verwendet.

Eine typische Flagelle (oder das Flagellum) besteht aus dem **Filament**, dem **Haken** und dem **Basalkörper**. Das Filament ist aus einem einzigen Protein, dem **Flagellin**, aufgebaut, von dem sich viele Kopien zu einer helikalen Struktur zusammenlagern. Der ebenfalls aus einem speziellen Protein aufgebaute Haken verbindet das Filament mit dem Basalkörper. Dieser besteht aus einem zentralen Stift, der über mehrere, im Elektronenmikroskop sichtbare Ringstrukturen in die Zellohülle eingebettet ist (Abb. 5.23): der MS-Ring verankert den Stift (und somit die Flagelle) in der Cytoplasmamembran, während die P- und L-Ringe in der Peptidoglykanschicht bzw. der äußeren Membran gramnegativer Bakterien als Führung dienen. Bei grampositiven Bakterien, die über keine äußere Membran verfügen, fehlen diese. Der MS-Ring ist umgeben von den sogenannten Mot(or)-Proteinen (MotA, MotB), die als Stator fungieren und zusammen mit einem Ring aus FliG-Proteinen (Rotor) das Filament in eine Rotationsbewegung versetzen. Dabei dient die protonenmotorische Kraft der Zelle als Energiequelle. Zum Antrieb einer Umdrehung der Flagelle werden etwa 1000 Protonen benötigt. Ein weiterer, an der cytoplasmatischen Seite der Membran assoziierter Ring (C-Ring) enthält die Fli-Proteine, von welchen FliM die Umdrehungsrichtung der Flagelle kontrolliert. Darüber hinaus befindet sich im MS-Ring noch ein spezielles Sekretionssystem (Typ III, Kap. 9.5.3), das zunächst neu an den Ribosomen synthetisierte Stift- und Hakenproteine transportiert und anschließend Flagellinmoleküle in den hohlen Stift leitet, von wo sie bis zur Spitze des Filaments weitergereicht und dort in die Struktur eingebaut werden.

Bewegung mit Flagellen und Chemotaxis. Die Rotationsgeschwindigkeit der Flagellen kann bis zu 100 Umdrehungen pro Sekunde betragen. Dadurch können sich Bakterien mit einer Geschwindigkeit von bis zu 60 Zelllängen pro Sekunde fortbewegen.

Abb. 5.23 Modell der Bakterienflagelle. Die Flagelle besteht aus dem helikal gewundenen Filament, dem Haken und dem Basalkörper. Über die L-, P- und MS-Ringe ist sie in der Zellohülle eingelagert. Der MotAB-Komplex koppelt als Stator die Flagellenbewegung mit dem elektrochemischen Protonengradienten. Die FliG-Proteine bilden den Rotor, dessen Umdrehungsrichtung durch die am C-Ring assoziierten FliM-Proteine verändert werden kann. Unter dem C-Ring verborgen befinden sich die Komponenten eines Typ III-Sekretionssystems (siehe Text).

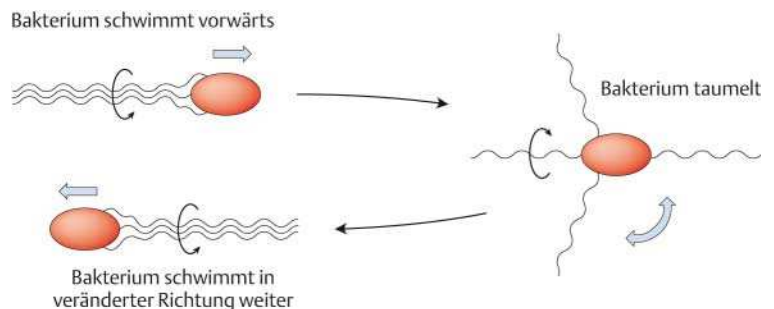


Die Flagellen können ihren Drehsinn spontan oder beeinflusst durch äußere Reize (s. u.) umkehren. Peritrich angeordnete Flagellen funktionieren bei gegen den Uhrzeigersinn gerichteter Drehung als geordnetes helikales Bündel und drücken die Zelle wie eine Schiffschraube durch das Medium. In diesem Fall stimmen Drehrichtung der Flagelle und Windungsrichtung des helikalen Flagellenfilaments überein. Eine Umkehrung des Drehsinns nach etwa 1 Sekunde hat ein Auseinanderfliegen der Flagellen zur Folge, wodurch die Zelle für etwa 1/10 Sekunde auf der Stelle taumelt. Danach führt die erneute Veränderung der Drehrichtung wieder zu einer Vorwärtsbewegung in eine neue, zufällige Richtung (Abb. 5.24).

Bei polar begeißelten Bakterien dagegen hat die Veränderung des Drehsinns eine Umkehr der Bewegungsrichtung zur Folge. Dabei kann, wie z.B. bei *Thiospirillum jenense*, das Flagellenbüschel beim Rückwärtsschwimmen, ähnlich einem Regenschirm, über die Zelle gestülpt sein (Abb. 5.22).

Bakterien können auf äußere Reize, wie chemische Verbindungen (Lock- oder Schreckstoffe) oder Licht (bei phototrophen Bakterien),

Abb. 5.24 Bewegung durch Flagellenrotation bei peritrich begeißelten Prokaryonten. Mit gebündelten Flagellen, die gegen den Uhrzeigersinn rotieren, schwimmt das Bakterium vorwärts. Durch eine Umkehr der Drehrichtung der Flagellen fliegen diese auseinander und das Bakterium beginnt zu taumeln. Nach ca. 1/10 Sekunde bündeln sich die Flagellen wieder, rotieren jetzt im Uhrzeigersinn und die Zelle schwimmt in einer anderen Richtung geradeaus weiter.



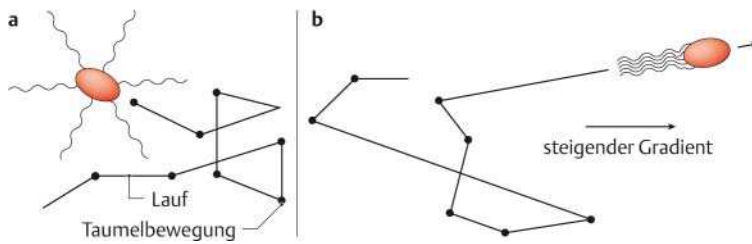


Abb. 5.25 Schematische Darstellung der Bewegung einer *Escherichia coli*-Zelle. **a** ohne Lockstoffgradient. **b** Mit Lockstoffgradient.

durch Veränderung ihres Schwimmverhaltens reagieren (Chemotaxis, Phototaxis, Aerotaxis; Kap. 16.9). So bewegen sich *E. coli*-Zellen auf eine Nährstoffquelle wie Glucose hin, in dem die Zeitdauer einer zufälligen Bewegung in Richtung auf den Reiz verlängert wird. Dies wird durch seltener auftretende Taumelbewegungen erreicht. Kommt es danach jedoch zu einer Bewegung vom Reiz weg, so wird die Taumelfrequenz erhöht, wodurch die Wahrscheinlichkeit, zufällig wieder in die bevorzugte Richtung zu schwimmen, zunimmt (Abb. 5.25). Im Fall von Schreckstoffen werden entsprechend entgegengesetzte Reaktionen beobachtet. Dieses Verhalten wird durch Erkennung eines zeitlichen Konzentrationsgradienten der Substanz an Chemorezeptoren in der Cytoplasmamembran (Kap. 9) und Weiterleitung des Reizes durch Phosphorylierungsreaktionen in einer Signaltransduktionskette (Che-Proteine) an die Fli-Proteine (Kap. 16.9) erreicht.

Zahlreiche begeißelte Bakterien, wie *Proteus mirabilis*, aber auch andere Vertreter der *Enterobacteriaceae*, nutzen Flagellen auch zu einer gemeinsamen Schwärmbewegung auf einer Oberfläche mit dem Ziel der breitflächigen Besiedlung ihrer Umgebung.

Manche Archaeobakterien besitzen ebenfalls Flagellen und sind zu einer gerichteten Bewegung befähigt. Aufbau der Flagellen und der Steuerungsmechanismus sind jedoch grundverschieden; es handelt sich um eine analoge Entwicklung.

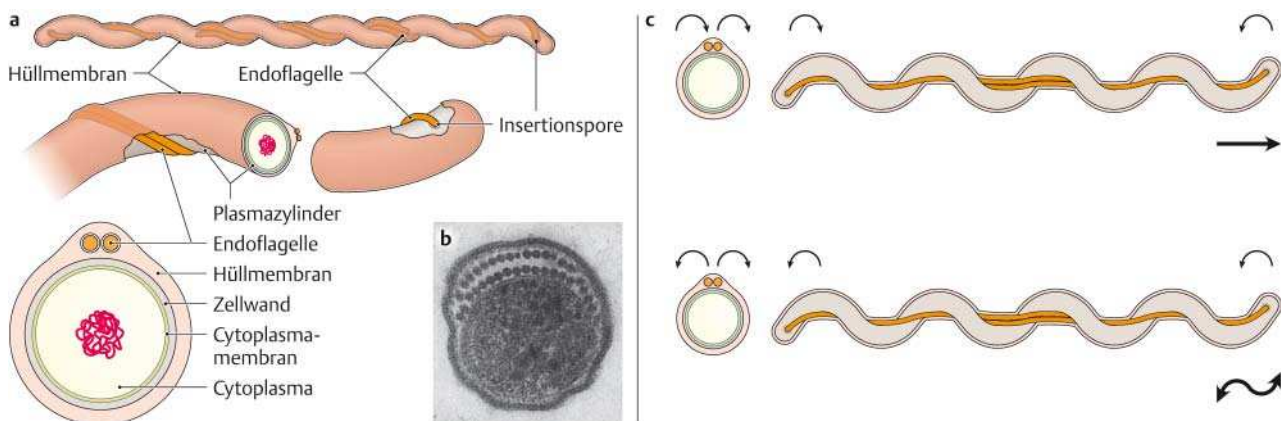


Abb. 5.26 Aufbau einer Spirochaetenzelle. **a** Der Protoplasmazyylinder ist von Endoflagellen umwunden (hier: 2), von denen jede an einem Ende im Protoplasmazyylinder inseriert ist (Insertionspore). Endoflagellen und Protoplasmazyylinder sind von einer Hüllmembran umgeben. **b** Elektronenmikroskopisches Bild vom Querschnitt einer Mundspirochaete (aus Listgarten, 1964). **c** Modell der Bewegung durch Endoflagellen: drehen sich die beiden Flagellen, von einem Ende der Zelle aus betrachtet, in derselben Richtung, dreht sich die flexible Hüllmembran, an der die Flagellen befestigt sind, mit und die Zelle rotiert. Sie schwimmt geradeaus. Drehen sich die Flagellen in entgegengesetzter Richtung, krümmt sich die Zelle.

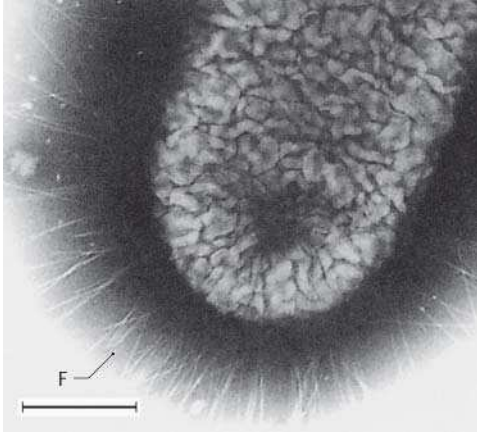


Abb. 5.27 *E. coli* Zelle mit Fimbrien (F; auch als Typ-I-Pili bezeichnet). Elektronenmikroskopische Aufnahme nach Negativkontrastierung (Balken = 0,2 μm, Aufnahme B. Vogt).

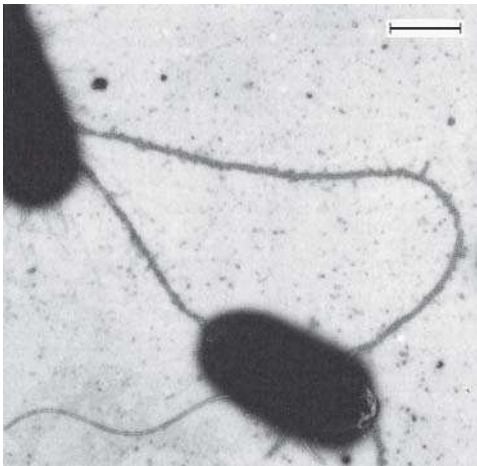


Abb. 5.28 Durch F-Pili verbundene Zellen von *Escherichia coli*. Die beiden F-Pili sind mit den donorspezifischen RNA-Phagen MS-2 markiert. Elektronenmikroskopische Aufnahme nach Negativkontrastierung mit Phosphorwolframsäure (Balken = 1 μm) (aus Curtiss, 1969).

Bewegung mit Endoflagellen. Die spiralförmigen Zellen der Spirochaeten bestehen aus einem Protoplasmazyylinder, der nach außen durch Cytoplasmamembran und Zellwand abgeschlossen wird. Die korkenzieherartige Bewegung, die bei diesen Zellen auch in sehr viskösen Flüssigkeiten beobachtet wird, geht auf die Aktivität weniger bis zahlreicher Flagellen zurück, die jeweils an einem Pol inseriert sind, jedoch über den Protoplasmazyylinder zurückfalten. Da sie sich innerhalb einer flexiblen äußeren Hüllmembran befinden, die die Zelle begrenzt, werden sie als **Endoflagellen** bezeichnet (Abb. 5.26). Sie bestehen aus zwei Typen von Proteinen (FlaA, FlaB), wobei FlaB Ähnlichkeit zu Flagellin aufweist. Die Zelle schwimmt vorwärts, wenn sich beide Flagellen, von einem Ende der Zelle aus betrachtet, in der gleichen Drehrichtung bewegen. Rotieren die Flagellen dagegen in entgegengesetzte Richtungen, so heben sich die Kräfte auf und die Zelle krümmt sich. Auf diese Weise lässt sich die Schwimmrichtung verändern. Auch bei Endoflagellen ist die Rotationsbewegung von der protonenmotorischen Kraft über der Cytoplasmamembran abhängig.

5.9.2 Fimbrien und Pili

Andere, häufig zu findende Zellanhängsel unterscheiden sich in Länge, Durchmesser und Zahl von Flagellen und dienen nur in Ausnahmefällen der Fortbewegung.

Fimbrien (Typ-I-Pili) sind generell dünner und kürzer als Flagellen (2–5 μm), jedoch in wesentlich größerer Anzahl (bis zu mehreren Tausend) vorhanden. Sie bestehen aus Protein und dienen der Anheftung von Bakterienzellen an feste Oberflächen oder andere Zellen (Abb. 5.27).

Pili sind meist länger als Fimbrien (bis 10 μm), allerdings nur in einer oder zwei Kopien pro Zelle vorhanden. Der sogenannte F- (Fertilitäts-) oder Sexpilus ist eine notwendige Struktur zur Herstellung von Zell-Zell-Kontakten bei der Konjugation, einem Prozess zum Austausch genetischer Information (Kap. 15.6.2). Da der F-Pilus bestimmten Bakteriophagen als Rezeptor dient, kann er mit diesen markiert und so im Elektronenmikroskop sichtbar gemacht werden (Abb. 5.28).

Zuck- und Gleitbewegungen. Pili vom **Typ IV** ermöglichen einigen Bakterien, sich auf einer festen Oberfläche zu bewegen. Die Pilusfaser besteht aus multiplen Kopien des PilA-Proteins, hat einen Durchmesser von 6 nm und ist, im Gegensatz zur Flagelle, innen nicht hohl. Die Länge kann bis 4 μm betragen. Typischerweise finden sich die Pili an beiden Polen der Zelle. Sogenannte Zuckbewegungen, ruckartige Vorwärts- und Rückwärtsbewegungen einzelner Zellen, lassen sich bei der Ausdehnung von Kolonien von *Pseudomonas aeruginosa* oder *Neisseria gonorrhoeae* auf Agarplatten beobachten. Diese Bewegung kommt durch Zusammenziehen und Expandieren der Typ-IV-Pili zustande. Dabei werden Ausdehnungsraten der Kolonien von 0,3 μm/s erreicht. Typ-IV-Pili sind auch an der Gleitbewegung von Myxobakterien beteiligt, die sich bei Nährstoffmangel auf einer Oberfläche zu Fruchtkörpern zusammenschließen (Social Gliding, Abb. 5.29).

Andere Formen der Gleitbewegung, die nicht auf die Aktivität von Pili zurückzuführen sind, werden darüber hinaus bei Myxobakterien, Cyanobakterien und Vertretern der *Cytophaga*-Flavobakterien-Gruppe beobachtet. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind unterschiedlich und noch wenig verstanden; es handelt sich vermutlich um analoge Systeme.

5.10 Speicherstoffe

Bei vielen Mikroorganismen werden unter bestimmten Milieubedingungen intrazellulär Polysaccharide, Fette, Polyphosphate oder Schwefel abgelagert. Diese Substanzen können als Speicher- oder Reservestoffe angesehen werden (Kap. 8.7.6). Sie werden angehäuft, wenn die entsprechenden Ausgangssubstanzen in der Nährlösung vorhanden sind und Energieüberschuss herrscht, das Wachstum aber mangels einzelner Nährstoffkomponenten oder in Gegenwart von Wachstumshemmstoffen eingeschränkt oder unterbunden wird. Die genannten Reservestoffe liegen in der Zelle in osmotisch inerte Form vor, sie sind wasserunlöslich. Bei Bedarf, unter günstigen Wachstumsbedingungen, werden sie wieder in den Stoffwechsel einbezogen. Die Reservopolysaccharide, Neutralfette und Poly- β -Hydroxybuttersäure können als Kohlenstoff- und Energiequelle dienen. Sie verlängern dadurch bei Abwesenheit äußerer Energiequellen die Lebensdauer der Zellen oder ermöglichen bei Sporenbildnern die Bildung von Sporen auch in Abwesenheit äußerer Substrate. Polyphosphate können als Phosphatspeicherstoff und als kurzzeitiger Energiespeicher, abgelagerter Schwefel als potenzieller Wasserstoffdonator und Cyanophycin als Stickstoff- und Energiespeicher angesehen werden.

5.10.1 Polysaccharide

Die Speicherkohlenhydrate der Mikroorganismen bestehen aus Stärke oder Glykogen und leiten sich im Gegensatz zu den Zellwandpolysacchariden von der α -D-Glucose ab. Die Glucosemoleküle sind α -glykosidisch in 1,4-Stellung miteinander verknüpft und vielfach vernetzt. Infolge der α -glykosidischen Bindung sind die Glucoseketten nicht langgestreckt, sondern schraubig gewunden angeordnet. Die bei Pflanzen in Form von Körnern abgelagerte Stärke besteht aus Amylose und Amylopectin. Das als tierische Stärke bekannte Glykogen ist dem Amylopectin ähnlich, ist noch stärker verzweigt (in 1,6-Stellung) und scheint auch bei Bakterien häufiger vorzukommen als Stärke (Plus 5.4).

5.10.2 Fettartige Substanzen

Fettgranula und -tröpfchen sind als Zelleinschlüsse bei Mikroorganismen weit verbreitet. Sie geben sich lichtmikroskopisch durch ihre starke Lichtbrechung zu erkennen und lassen sich mit lipophilen Farbstoffen (Sudan 111 oder Sudanschwarz B) anfärben. Die „sudanophilen“ Granula vieler Bakterien bestehen aus **Poly- β -Hydroxybuttersäure** (PHB), einem chloroformlöslichen, etherunlöslichen Polyester, der aus Ketten von etwa 60 β -Hydroxybuttersäure-Resten besteht (Kap. 8.7.6). Es wird bis zu über 90% der Zelltrockenmasse angehäuft. Poly- β -Hydroxybuttersäure wird von vielen aeroben Bakterien, von Cyanobakterien und von anaeroben phototrophen Bakterien gebildet. In fakultativ und strikt aeroben Bakterien wird PHB angehäuft, wenn die Zellen unter O_2 -Mangel leiden und einen Gärungsstoffwechsel betreiben. PHB kann also auch als ein polymeres, intrazelluläres Gärungsprodukt angesehen werden. Unter aeroben Bedingungen kann es als Energie- und Kohlenstoffquelle wieder in den Stoffwechsel einbezogen und veratmet werden. Von einigen Bakterien werden neben PHB auch Copolymere gebildet (Plus 5.5).

Während der Gehalt an Speichervetten von den Ernährungsbedingungen abhängt (hohes C/N-Verhältnis) und sich Speichervette aus den Zellen direkt isolieren lassen, ist der Gehalt an anderen Lipidfraktionen von den

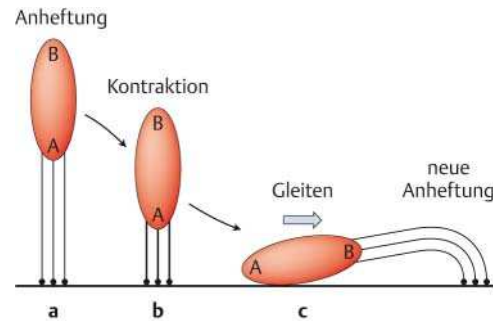


Abb. 5.29 Modell der Gleitbewegung mittels Typ-IV-Pili bei *Myxococcus xanthus*. **a** Zellen haften auf der Oberfläche über die Spitzen der Pili am A-Ende. **b** Die Zellen nähern sich der Oberfläche durch Kontraktion der Pili. **c** Zellen liegen auf der Oberfläche und strecken Pili vom B-Ende aus. Diese heften an anderer Stelle der Oberfläche an, ziehen sich zusammen und lassen dadurch die Zellen bis zur Anheftungsstelle gleiten.

Plus 5.4 Stärkeähnliche Verbindungen in Mikroorganismen

Eine stärkeähnliche Substanz ist bei Clostridien als „Granulose“ oder „Jogen“ beschrieben worden. Die Zellen von *Clostridium butyricum* sind mit kleinen Granula angefüllt; nur der sporenbildende Pol bleibt von der „Granulose“ frei. Ferner enthalten *Acetobacter pasteurianus* und viele *Neisseria*-Arten Stärke. Glykogen ist in Hefe und anderen Pilzen, in Bacilli (*Bacillus polymyxa*), in *Salmonella*, *Escherichia coli* und anderen *Enterobacteriaceae*, in *Micrococcus luteus* und *Arthrobacter* nachgewiesen worden.

Plus 5.5 Weitere fettartige Substanzen

Wenn Propionsäure oder β -Hydroxyvaleriansäure als Substrat angeboten wird, so wird ein Polymer gebildet, das aus β -Hydroxybuttersäure und β -Hydroxyvaleriansäure besteht. Da auch γ -Hydroxyfettsäuren und langkettige Hydroxysäuren (C_8 , C_{10} , C_{12}) auftreten können, spricht man von den Speicherpolymeren als Polyhydroxyfettsäuren oder Polyhydroxyalkanoaten (PHA). Diese PHA sind thermoplastisch verformbar und können als neuartige Plastikmaterialien eingesetzt werden, die gegenüber Polypropylen und Polyethylen den Vorteil biologischer Abbaubarkeit haben.

Von Mykobakterien, Nocardien und Actinomyceten werden andere fettähnliche Substanzen in Vakuolen angehäuft oder sogar ins Medium ausgeschieden. Mykobakterien können bis zu 40 % Wachse (Ester langkettiger Fettsäuren und Alkohole) enthalten.

Die von eukaryontischen Mikroorganismen, insbesondere von Hefen und anderen Pilzen in Vakuolen gespeicherten Neutralfette (Triglyceride) sind ähnlich aufgebaut wie die Fette höherer Organismen. Hefen (*Candida*, *Rhodotorula*) können bis zu 80 % der Trockenmasse an Fetten anhäufen. Auch Vertreter einiger zu den Actinomyceten zählenden Bakteriengattungen wie *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus* und *Streptomyces* akkumulieren große Mengen an Triglyceriden in kugelförmigen „Lipidkörpern“, die von einer Schicht aus Proteinen und Phospholipiden umgeben sind. Bei *R. opacus* PD630 können die darin gespeicherten Lipide mehr als 70 % der Trockenmasse erreichen.

Milieubedingungen nahezu unabhängig. Diese Lipide werden erst nach Hydrolyse von Proteinen und Polysacchariden frei und sind Bestandteile der Lipoproteine (der Cytoplasmamembran und anderer innerer Membranen) und der Lipopolysaccharide.

5.10.3 Polyphosphate

Viele Bakterien und Grünalgen vermögen Phosphorsäure in Form von Polyphosphatgranula zu speichern. Wegen der Erstbeschreibung bei *Spirillum volutans* und der charakteristischen Farbänderung (Metachromasie), die die Granula an einigen Farbstoffen (Methylenblau, Toluidinblau) herbeiführen, werden sie auch Volutin-Granula oder metachromatische Granula genannt (Plus 5.6).

5.10.4 Schwefel

Von vielen Bakterien, die Sulfid zu Sulfat oxidieren, wird Schwefel in Form stark lichtbrechender Kugeln vorübergehend gespeichert. Sowohl der intrazellulär gespeicherte als auch der aus der Zelle ausgeschiedene Schwefel liegt in der flüssigen Form vor und geht allmählich in die orthorhombische Modifikation über. Das Ausmaß der Schwefelspeicherung ist vom Schwefelwasserstoffgehalt des Milieus abhängig. Bei Abwesenheit von Schwefelwasserstoff wird der Schwefel zu Sulfat oxidiert. Der Schwefel dient den aeroben schwefelwasserstoffoxidierenden Bakterien (*Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Achromatium*, *Thiovulum*; Abb. 5.30) als Energiequelle und den anaeroben phototrophen Schwefelpurpurbakterien (*Chromatium*) als Wasserstoffdonator für die CO_2 -Fixierung. Die in Cyanobakterien und *Sphaerotilus natans* mitunter enthaltenen Schwefeleinschlüsse können als Entgiftungsprodukte des am Standort dieser Organismen häufig vorhandenen Schwefelwasserstoffs angesehen werden.

Plus 5.6 Metachromatische Granula

Diese Granula bestehen zum überwiegenden Teil aus langkettigen Polyphosphaten vom Typ des Graham-Salzes. Die Volutingranula haben die Funktion eines Phosphatspeichers, auf dessen Kosten die Zelle auch bei Phosphatmangel noch einige Teilungen durchzumachen vermag. Der „Energie-reichtum“ des Polyphosphats ist von untergeordneter Bedeutung.

Neuere Befunde, u.a. dass Volutingranula bei einigen Bakterien von einer Membran umgeben sind und ein saures Milieu besitzen, lassen eine Ähnlichkeit zu **Acidocalcisomen** vermuten, calcium- und polyphosphatreichen Organellen, die erstmalig bei eukaryontischen Mikroorganismen, wie Trypanosomen, nachgewiesen wurden.

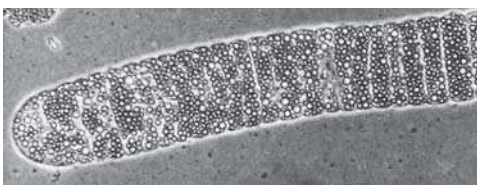


Abb. 5.30 *Beggiatoa gigantea* (Schwefelwasserstoffoxidierer) mit Schwefeleinschlüssen (Aufnahme K. Schmidt).

5.10.5 Cyanophycin

Viele Cyanobakterien bilden **Cyanophycin**, ein einfaches Polymer aus Asparaginsäure, welches an jeder Asparaginsäure noch ein Molekül Arginin trägt. Diese Verbindung dient als Reservestoff für Stickstoff. Darüber hinaus kann Cyanophycin durch Abbau des Argininanteils auch zur Produktion von Zellenergie in Form von ATP genutzt werden (Kap. 10.6.2).

5.11 Andere Zelleinschlüsse

Viele Bakterien, die in aquatischen Habitaten, wie Seen und Meer, leben, enthalten **Gasvakuolen**, welche sie in die Lage versetzen, ihre Position innerhalb der Wassersäule nach oben oder unten zu verändern. Gasvakuolen findet man bei vielen phototrophen Bakterien, insbesondere den Cyanobakterien, aber auch farblose Bakterien (*Pelonema*, *Peloploca*), Haloarchaea (*Halobacterium salinarum*) und einige Clostridien enthalten Gasvakuolen. Das Auftreten von Blaualgen-Blüten ist auf den durch Gasvesikel ermöglichten Auftrieb von Cyanobakterien an die Wasseroberfläche zurückzuführen, wo sie dann von Wind und Wellen zu Matten zusammengeschoben werden. Jede Gasvakuole besteht aus mehreren oder vielen Gasvesikeln. Gasvesikel sind spindelförmige, hohle Strukturen, die in ihrer Größe und Anzahl variieren können (Plus 5.7).

Gasvesikel sind nicht nur äußerst stabil, sondern auch selektiv durchlässig für Gase, jedoch nicht für Wasser. Dadurch wird ermöglicht, dass gasgefüllte Vesikel die Dichte der Zellen erniedrigen, was im wässrigen Milieu zu einem Auftrieb führt. Phototrophe Bakterien können durch Auf- und Abbau dieser Vesikel ihre Position an eine optimale Lichtintensität anpassen und zwar auch ohne aktive Bewegung mittels Flagellen. (Abb. 5.31).

Bei **Magnetosomen** handelt es sich um kristalline Ablagerungen von Magnetit (Fe_3O_4) oder Greigit (Fe_3S_4). Diese verleihen den Bakterien ein magnetisches Dipolmoment, welches gerade groß genug ist, um die Zellen passiv nach dem Erdmagnetfeld auszurichten. Dadurch werden sie in die Lage versetzt, sich entsprechend dem Magnetfeld der Erde zu bewegen. Diesen Vorgang bezeichnet man auch als **Magnetotaxis**, wobei es sich allerdings, im Gegensatz zu Chemo- und Phototaxis, um einen passiven Vorgang handelt. Die Bewegung entlang der Erdmagnetfeldlinien führt diese Bakterien in ihre bevorzugten mikroaeroben Lebensbereiche in Sedimenten. Magnetosomen sind von einer Membran umgeben, die aus Phospholipiden und ca. 20 verschiedenen spezifischen Proteinen auf-

Plus 5.7 Aufbau von Gasvesikeln

Die Membran der Gasvesikel hat eine Dicke von ca. 2 nm und ist keine Einheitsmembran, sondern besteht ausschließlich aus Protein. In der Membran lassen sich Rippen erkennen, die an den zylinderförmigen Vesikeln wie die Reifen am Fass orientiert sind. Die Rippen bestehen aus vielen Kopien eines hydrophoben Proteins (GvpA) mit Faltblattstruktur, die durch wenige Kopien des GvpC-Proteins stabilisiert werden. In den Zellen liegen viele Gasvesikel parallel nebeneinander. Lichtmikroskopisch erscheinen diese Ansammlungen von Gasvesikeln, also die Gasvakuolen, als stark lichtbrechende, optisch leere Räume. Sie sind angefüllt mit den sie umgebenden Gasen, im Falle von luftgesättigtem Wasser also mit 80 % N_2 und 20 % O_2 .

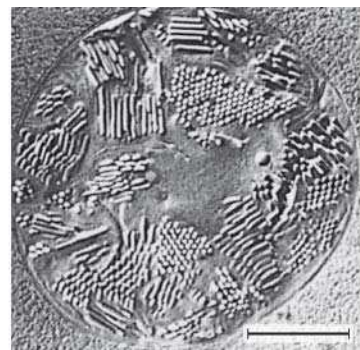


Abb. 5.31 Gasvesikel. Gruppe von Gasvesikeln bei *Microcystis aeruginosa* (Gefrierbruch-Präparat) Balken: 1 μm (aus Lehmann, 1979).

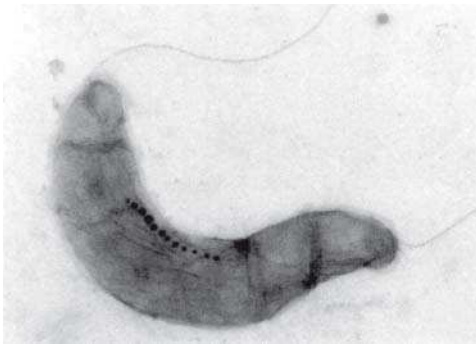


Abb. 5.32 Magnetosomen bei *Magnetospirillum gryphiswaldense* (Aufnahme D. Schüler, MPI Bremen).

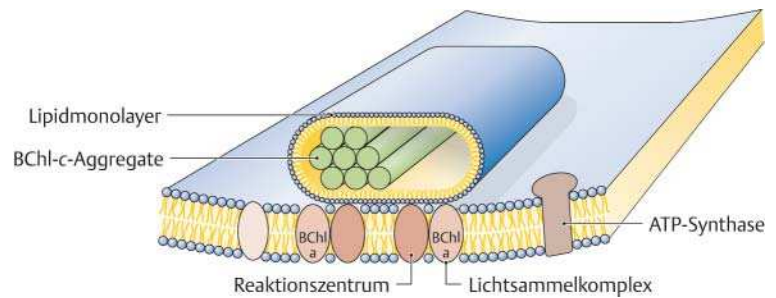


Abb. 5.33 Modell eines Chlorosoms mit assoziierter Cytoplasmamembran. BChl, Bakteriochlorophyll.

gebaut ist, und können in ihrer äußeren Form stark variieren. Sie kommen bei zahlreichen aquatisch lebenden, in der Regel aeroben Bakterien vor (Abb. 5.32).

Phototrophe Bakterien, die zur Gruppe der „Grünen Bakterien“ gehören, haben einen Teil ihres Photosyntheseapparates in spezielle Zellstrukturen, sog. **Chlorosomen**, verlagert (Abb. 5.33). Dabei handelt es sich um zylindrische Strukturen mit Lichtsammelpigmenten, die mit der Cytoplasmamembran assoziiert und von einem Lipidmonolayer umgeben sind (Kap. 14.5.2 und Abb. 5.17).

Cyanobakterien enthalten Phycobiliproteine; dabei handelt es sich um wesentliche Lichtsammelpigmente, die an Proteine gebunden sind. Diese Proteine liegen in der Zelle als Aggregate, so genannte **Phycobilisomen**, vor, die an das photosynthetische Reaktionszentrum in der Cytoplasmamembran angelagert sind (Kap. 14.5.3).

Chemolithotrophe Bakterien, die ihre Zellenergie durch Oxidation anorganischer Substrate gewinnen (Kap. 11), sowie Cyanobakterien, sind autotroph und fixieren CO_2 . Mit wenigen Ausnahmen erfolgt die CO_2 -Fixierung über den Calvinzyklus, wie er auch in grünen Pflanzen verwirklicht ist. Das Schlüsselenzym hierfür ist die Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase („Rubisco“). Dieses Enzym liegt häufig in großen Mengen kristallin und von einer Proteinhülle umgeben als **Carboxysomen** im Cytoplasma der Bakterien vor. Die einschichtige Proteinhülle verleiht den Carboxysomen eine polyedrische Struktur. Carboxysomen sind in *Nitrosomonas*, *Thiobacillus* und vielen Cyanobakterien gefunden worden.

Einige *Bacillus*-Arten bilden kristallförmige Einschlüsse, die toxisch für Insekten sind (Plus 5.8).

Plus 5.8 Bt-Toxin

Bei *Bacillus thuringiensis* und verwandten Arten (*B. laterosporus*, *B. medusa*) finden sich neben den Sporen kristallförmige Einschlusskörper (Abb. 5.34b). Diese parasporalen Kristalle bestehen aus einem Protoxin. Dieses Protein wird im Darmsaft empfindlicher Insekten (Raupenstadien von Schmetterlingen) aufgelöst. Das freigesetzte Toxin zerstört das Darmepithel und führt zum Tod der Raupen. Die für nur wenige Gruppen von Insekten toxischen Präparate aus *Bacilli* werden zur biologischen Schädlingsbekämpfung bereits mit Erfolg eingesetzt, besonders im Weinbau. Es gibt auch gentechnisch veränderte Kulturpflanzen wie Mais, die das Gen für dieses Toxin exprimieren und dadurch resistent gegen gefürchtete Insektenschädlinge sind.

5.12 Spezielle Zelldifferenzierung

5.12.1 Endosporen und andere Dauerformen

Einige grampositive Bakterien, beispielsweise der Gattungen *Bacillus* und *Clostridium* sowie das gramnegative Bakterium *Sporomusa* bilden Strukturen aus, die sich aufgrund einer auffälligen Lichtbrechung deutlich von der eigentlichen Zelle abheben und als **Endosporen** bezeichnet werden. Diese können in den Zellen zentral, terminal oder subterminal angeordnet sein (Abb. 5.34). Endosporen sind hitzeresistente Dauerformen, die am Ende der exponentiellen Wachstumsphase bei Nährstoffmangel gebildet werden (Abb. 5.35). Sie enthalten eine Kopie des Genoms umgeben von

der Cytoplasmamembran und einer Zellwand, der weitere Schichten aus Peptidoglykan und Protein aufgelagert sind. Sie sind durch den Gehalt an Dipicolinsäure, welche Ca^{2+} -Ionen bindet, den Gehalt an kleinen säurelöslichen Proteinen sowie einen geringen Wasseranteil (nur 10–30% der Mutterzelle) gekennzeichnet (Abb. 5.36). Dies zusammen verleiht der Spore ihre hohe Resistenz gegenüber Hitze, UV-Strahlung und Chemikalien. Manche Sporen können Jahrzehnte oder sogar Jahrhunderte überdauern.

Wie Untersuchungen bei *Bacillus subtilis* gezeigt haben, sind an der Endosporenbildung die Produkte von ca. 200 Genen beteiligt (Box 5.2). Da jede Phase die Synthese spezieller Enzyme erfordert, muss die Transkription der entsprechenden Gene streng reguliert werden, was u. a. durch spezifische Sigmafaktoren gewährleistet wird (Kap. 16).

Andere Dauerformen, die jedoch nicht die Resistenz der Endosporen aufweisen, sind ebenfalls bekannt (Plus 5.9).

5.12.2 Heterocysten

Einige filamentös wachsende Cyanobakterien, wie z. B. *Anabaena*, formen bei Stickstoffmangel ca. jede zehnte vegetative Zelle entlang des Filaments oder eine endständige Zelle in eine **Heterocyste** um. Diese zeichnet sich durch eine verdickte Zellwand mit hohem Gehalt an Glykolipiden aus, wodurch sie im Lichtmikroskop auf Grund stärkerer Lichtbrechung von vegetativen Zellen leicht zu unterscheiden ist. Heterocysten enthalten das zur Stickstofffixierung notwendige Enzym Nitrogenase und besitzen, im Gegensatz zu den vegetativen Zellen, kein Photosystem II. In diesen Zellen entsteht bei der Photosynthese also kein Sauerstoff, der die Nitrogenase inaktivieren würde. Die verdickte Zellwand vermindert darüber hinaus die Diffusion von O_2 in die Heterocyste. Durch interzelluläre Verbindungen wird der notwendige Stoffaustausch zwischen Heterocysten und vegetativen Zellen gewährleistet. Bei den im Mikroskop sichtbaren polaren Granula handelt es sich um Cyanophycin.

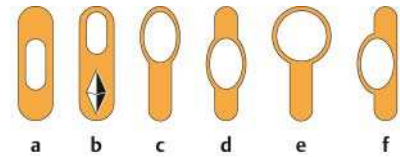


Abb. 5.34 Schematische Darstellung typischer Formen Sporen bildender Zellen. **a** Spore zentral ohne Auftreibung der Mutterzelle (*Bacillus megaterium*). **b** Spore terminal ohne Auftreibung der Mutterzelle (*Bacillus thuringiensis* mit Proteineinschlusskörper). **c** Spore terminal, Mutterzelle aufgetrieben (*Bacillus macerans*). **d** Spore zentral, Mutterzelle spindelförmig aufgetrieben = Clostridiumform (*Bacillus polymyxa*). **e** Spore terminal, rund, Mutterzelle trommelschlegelförmig aufgetrieben = Plectridiumform (*Bacillus sphaericus*). **f** Spore lateral, Mutterzelle spindelförmig aufgetrieben (*Bacillus laterosporus*).

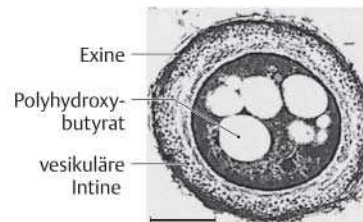
Plus 5.9 Weitere Dauerformen

Bei den **Myxosporen** Fruchtkörper bildender Myxobakterien handelt es sich um intakte Zellen, die sich in einem Ruhestadium befinden. Sie besitzen zwar eine verdickte Zellwand und dadurch eine gewisse Resistenz gegen Austrocknung und Hitze. Diese ist jedoch wesentlich geringer als im Falle der Endosporen.

Sporen, die von Aktinomyzeten, darunter Organismen der Gattung *Streptomyces*, gebildet werden, sind ebenfalls nicht

mit Endosporen vergleichbar. Sie entstehen lediglich durch Einfügung von Trennwänden in Lufthyphen (Sporophyten) und anschließende Abtrennung der einzelnen Zellen als Sporen. Sie sind nicht hitzeresistent, halten aber Austrocknung aus.

Weitere Dauerformen sind die sogenannten **Cysten**, die z.B. bei freilebenden stickstofffixierenden Bakterien der Gattung *Azotobacter* vorkommen (Abb.).



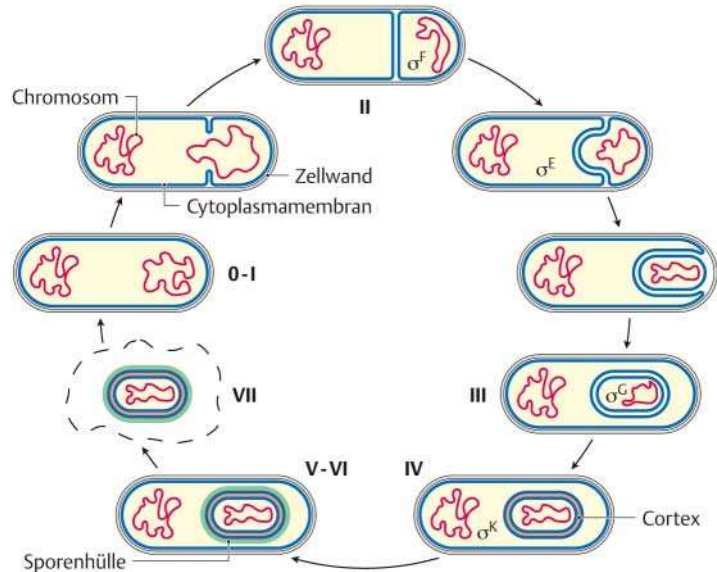
Struktur einer Cyste bei *Azotobacter vinelandii* (Ultradünnschnitt). Balken: 0,2 μm (aus Lin et al., 1978).

Box 5.2 Endosporenbildung

Die **Endosporenbildung** kann in 8 Phasen (0 – VII) unterteilt werden (Abb.) Zunächst erfolgt eine Replikation des Chromosoms mit sich anschließender asymmetrischer Einschnürung der Cytoplasmamembran (inäquale Zellteilung) (**0 – I**). Jeder der beiden so entstandenen Protoplasten erhält eine Kopie der DNA (**II**). Im Gegensatz zur äqualen Zellteilung erfolgt keine Zellwandbildung, sondern das kleinere Kompartiment wird von der Cytoplasmamembran der Mutterzelle umwachsen (**Vorspore**) (**III**). Anschließend synthetisiert die innere, vom Sporenprotoplasten herrührende Membran nach außen die Keimzellwand; die Sporenrinde (**Cortex**) wird von der äußeren, von der Mutterzelle stammenden Membran, nach innen synthetisiert (**IV**). Der Cortex besteht ebenfalls aus einem vielschichtigen Peptidoglykangerüst, das sich jedoch von der Keimzellwand und der Zellwand vegetativer Zellen durch Vernetzungsgrad und chemische Zusammensetzung unterscheidet. Phase IV geht mit beginnender Dehydrierung einher. Weiterhin wird von der Mutterzelle eine äußere, weitgehend aus Polypeptiden bestehende

Sporenhülle gebildet. In diese Phase fällt auch die Aufnahme von Ca^{2+} -Ionen und die Synthese von Dipicolinsäure sowie kleiner, säurelöslicher Proteine. Einige Bakterien bilden darüber hinaus noch eine weitere Peptidhülle, das Exosporangium, aus, das ebenfalls von der Mutterzelle synthetisiert wird (**V – VI**). Die reifen Sporen werden schließlich durch Autolyse der Mutterzellen freigesetzt (**VII**). Der gesamte Vorgang kann in ca. 7–8 Stunden erfolgen.

Die **Auskeimung** der Sporen und Umwandlung in vegetative Zellen wird durch Hitze aktiviert und kann in Gegenwart von Nährstoffen in wenigen Minuten vollzogen werden. Dabei werden in der ersten Phase Ca^{2+} -Dipicolinat und Kationen ausgeschieden und durch Wasser ersetzt. Dadurch wird die Hydrolyse des Cortex eingeleitet. Dessen vollständiger Abbau und die einhergehende Ausdehnung der Zellwand führen zum Wiedereinsetzen des Metabolismus, zum Abbau der kleinen säurelöslichen Proteine und schließlich zur Neusynthese von RNA, Proteinen und DNA. Die Zelle befreit sich aus der Sporenhülle und beginnt sich zu teilen.



Die morphologischen Veränderungen der verschiedenen Stadien der Sporulation von 0 – VII (Erklärung siehe Text). Für die Regulation einzelner Phasen wichtige σ -Faktoren (F, E, G, K) sind eingezeichnet (nach Stragier und Losick, 1996).

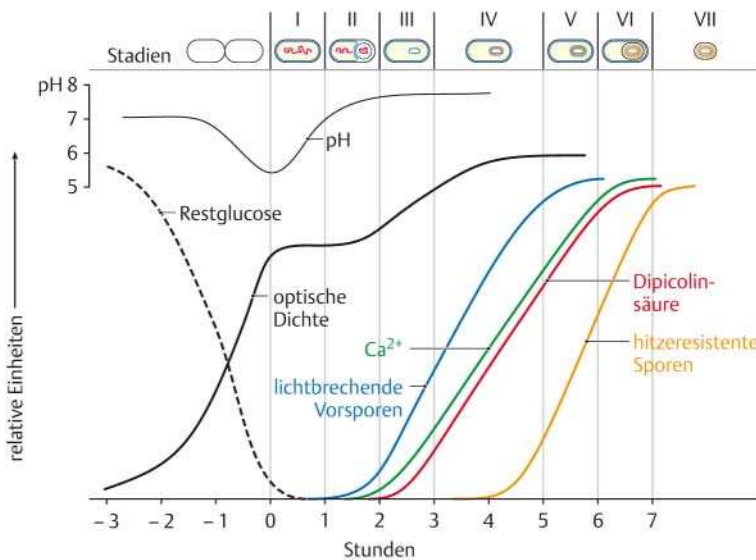


Abb. 5.35 Morphologische und physiologische Veränderungen während der Sporenbildung in aeroben sporenbildenden Bakterien. Die Vorgänge werden durch den Verbrauch der Glucose ausgelöst (Zeit Null). Die Bildung der Sporen lässt sich an der Zunahme des Calcium- und Dipicolinsäuregehalts sowie am Ansteigen der Zahl hitzeresistenter Sporen und der Lichtbrechung verfolgen. Den biochemischen lassen sich morphologische Veränderungen zuordnen; die Stadien I – VII sind oben schematisch dargestellt (s. auch Abb. in Box 5.2).

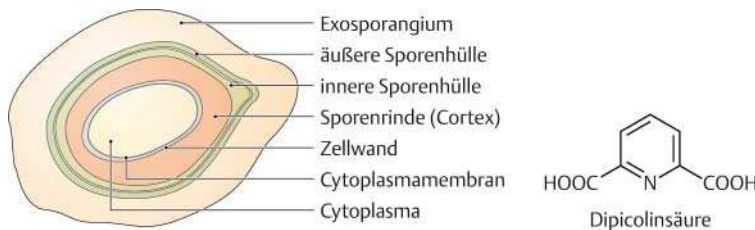


Abb. 5.36 Schema des Aufbaus einer reifen Spore.

5.13 Prokaryontische und eukaryontische Zellen im Vergleich

Als wesentliches Merkmal zur Unterscheidung von Organismen dient die strukturelle Organisation der genetischen Information der Zelle, des Chromosoms. In der eukaryontischen Zelle sind die Chromosomen von einer Membran umgeben; die Zelle enthält also einen Zellkern. Dagegen liegt bei prokaryontischen Organismen das Chromosom frei im Cytoplasma vor. Darüber hinaus gibt es jedoch eine Vielzahl weiterer Merkmale, die zur Differenzierung der Organismengruppen herangezogen werden können wie z. B. subzelluläre Organellen, Zellteilung, Bewegungsformen und Größe (Kap. 2, Tab. 2.1).

Herausgehobene Kriterien stellen dabei die einzigartige chemische Struktur der Zellwände, sowie der Aufbau der Ribosomen dar, da hier die Angriffsorte vieler auch in der Medizin zur Bekämpfung pathogener Bakterien eingesetzter **Antibiotika** liegen. Dabei handelt es sich um chemische Verbindungen, die von einigen mycelbildenden Pilzen und manchen Bakterien gebildet werden und die andere Mikroorganismen, hauptsächlich Bakterien, in ihrem Wachstum hemmen (bakteriostatische Wirkung) oder abtöten (bakteriozide Wirkung) (Kap. 19.7).

5.14 Angriffsorte und Wirkungsweise wichtiger Antibiotika

Abbildung 5.37 fasst die Angriffsorte gebräuchlicher Antibiotika zusammen.

Zellwände. Die weitaus meisten Eubakterien und Archaeobakterien besitzen Zellwände, wie auch Pflanzen, Algen und Pilze; Tieren und den meisten Protozoen fehlen Zellwände. Der chemische Aufbau pro- und eukaryontischer Zellwände ist jedoch grundverschieden. Murein kommt ausschließlich bei Eubakterien vor; Pseudomurein, Glykoprotein- und Proteinhüllen als alleinige Zellwandkomponenten kommen nur bei Archaeobakterien vor. Dagegen bestehen eukaryontische Zellwände gewöhnlich aus Polysacchariden, wie Heteropolysacchariden (Hefen), Chitin (Pilze), Hemicellulose und Cellulose (Pflanzen); letztere ist bei Landpflanzen mit Lignin inkrustiert. Enzyme, die bei der Biosynthese des Mureins mitwirken, stellen Angriffsorte für zahlreiche Antibiotika dar. Dazu gehören **Penicillin** und dessen Derivate, **Cephalosporine**, **Vancomycin**, **Cycloserin** und **Bacitracin** (Plus 5.10). Allgemein sind diese Verbindungen wegen ihrer nur bei Bakterien vorkommenden Angriffsziele hoch spezifisch und für eukaryontische Organismen (z. B. Tier und Mensch) nicht toxisch. Ihre Wirksamkeit ist jedoch meist nur gegenüber grampositiven Bakterien ausgeprägt, da die äußere Membran der gramnegativen Organismen einen natürlichen Schutz gegen diese Antibiotika darstellt. Man spricht daher auch von Antibiotika mit schmalen Wirkungsspektrum.

Ribosomen. Die Ribosomen sind universelle Zellstrukturen; sie kommen sowohl bei pro- als auch bei eukaryontischen Organismen vor. Sie unterscheiden sich jedoch hinsichtlich ihrer Größe und der Struktur der beteiligten RNAs und Proteinmoleküle (Kap. 5.4). Diese strukturellen Unterschiede als auch Abweichungen in Details der Proteinbiosynthese sind hinreichend dafür, dass Antibiotika, die in die bakterielle Proteinbiosynthese durch Bindung an die Ribosomen eingreifen, für eukaryontische Zellen unwirksam sind (Kap. 15.8.1). Diese Antibiotika haben in der Regel ein breites Wirkungsspektrum. Beispiele sind **Erythromycin**, **Tetracycline** und **Streptomycin**.

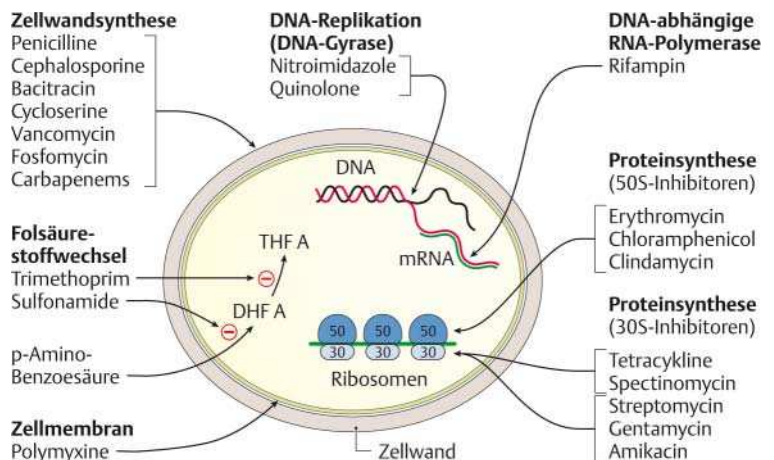


Abb. 5.37 Angriffsorte gebräuchlicher Antibiotika in der Bakterienzelle.

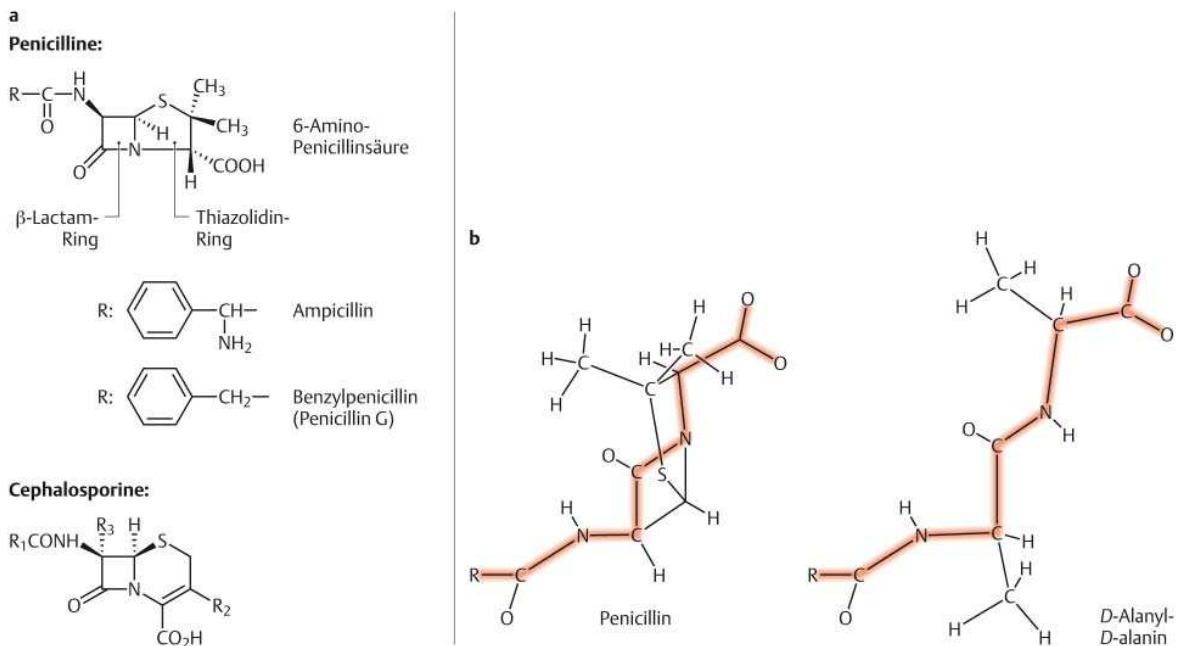
Andere Wirkorte. Weitere bakterielle Strukturen und auch Stoffwechselreaktionen, an denen Antibiotika angreifen, sind die Cytoplasmamembran (Polymyxine), spezielle Enzyme wie DNA-Gyrase (4-Chinolone) und RNA-Polymerase (Rifamycin), sowie die Folsäuresynthese (Trimethoprim, Sulfonamide; diese Verbindungen werden nicht von Mikroorganismen, sondern chemisch hergestellt und zählen somit zur Gruppe der antibakteriellen Chemotherapeutika).

Plus 5.10 Wirkungsweise wichtiger zellwandaktiver Antibiotika

Penicilline, die chemisch zur Gruppe der β -Lactame gehören (Abb. a), hemmen die Quervernetzung zweier Polysaccharidketten des Mureins über Peptidbrücken durch Bindung an das Enzym (eine Transpeptidase), welches die Reaktion katalysiert (Kap. 8.7.5). Diese Wirkung ist auf die strukturelle Ähnlichkeit von Penicillin zu dem D-Alanyl-D-Alaninpeptid-Teil des zu verknüpfenden Vorstufenmoleküls zurückzuführen (Abb. b). Dagegen lagert sich **Vancomycin**, ein Glykopeptid, direkt an das endständige D-Alanyl-D-Alaninpeptid an und verhindert so die Transpeptidase-Reaktion. Dadurch wird in beiden Fällen bei wachsenden Zellen die Stabilität der Zellwand entscheidend geschwächt, der osmotischen Druckdifferenz zwischen Cytoplasma und Medium kann nicht mehr widerstanden werden und die Zelle platzt. Dieser Prozess wird

dadurch verstärkt, dass eine verminderte Quervernetzung die Aktivität autolytischer Enzyme (Autolysine) induziert. Vancomycin hat in den letzten Jahren besondere Bedeutung erlangt, da es bei einigen multiresistenten pathogenen Bakterien, wie *Staphylococcus aureus*, Enterokokken und *Streptococcus pneumoniae* das derzeit einzig noch wirksame Antibiotikum darstellt.

Cephalosporine enthalten wie Penicilline einen β -Lactam-Ring und binden daher ebenfalls an die Transpeptidase (Abb. a). **Cycloserin**, ein Aminosäurederivat, verhindert die Isomerisierung von L-Alanin zu D-Alanin und die Synthese des D-Ala-D-Ala-Dipeptids. **Bacitracin**, ein Peptidantibiotikum, das nicht an Ribosomen synthetisiert wird, unterbindet die Recyclisierung des C_{55} -Lipids (Kap. 5.6).



a Strukturen von β -Lactam-Antibiotika. Grundgerüst, Penicilline und Cephalosporine. **b** Strukturähnlichkeit zwischen Penicillin und dem D-Alanyl-D-Alanin-Dipeptid des Mureingrundbausteins.

Zusammenfassung

- Zur Beobachtung der weitaus meisten Mikroorganismen muss ein **Lichtmikroskop** (Auflösung von ca. 0,2 μm) verwendet werden. Zelluläre Strukturen können dagegen nur mit einem **Elektronenmikroskop** (Auflösung von ca. 0,2 nm) sichtbar gemacht werden.
- Die **Gram-Färbung** ist eine wichtige Methode zur Unterscheidung von Bakterien aufgrund des unterschiedlichen Aufbaus der Zellwand.
- Das **Bakterienchromosom** ist meist ringförmig geschlossen, kommt überwiegend in nur einer Kopie pro Zelle vor und ist durch Verdrillung (Supercoiling) in der Zelle hochkondensiert verpackt. Die Größe des Chromosoms kann zwischen mehreren hundert und zehntausend Kilobasenpaaren variieren. Voll entfaltet beträgt seine Länge typischerweise wenige Millimeter.
- Die **Ribosomen** sind die Orte der Proteinbiosynthese und bestehen aus rRNA und Proteinen. Bakterielle Ribosomen (70S) setzen sich aus 30S- und 50S-Untereinheiten zusammen. Die 30S-Untereinheiten enthalten 16S-rRNA, die 50S-Untereinheit dagegen 5S- und 23S-rRNA.
- Die **Cytoplasmamembran** ist eine Phospholipiddoppelschicht, die auch als Einheitsmembran bezeichnet wird. Sie besitzt eine flüssigkeitsähnliche Konsistenz und enthält Membranproteine. Aufgrund dieser Eigenschaften stellt die Cytoplasmamembran eine Permeabilitätsbarriere für wasserlösliche Verbindungen dar.
- Einige Gruppen von Bakterien, darunter die phototrophen Purpurbakterien, enthalten **intracytoplasmatische Membranen**, bei denen es sich um Einstülpungen der Cytoplasmamembran handelt. Dadurch wird die Membranoberfläche vergrößert, was die Einlagerung zusätzlicher Proteine, z.B. des Photosyntheseapparates, erlaubt.
- Bakterien besitzen nach neuesten Erkenntnissen eine dem eukaryontischen **Cytoskelett** ähnliche innere Stützstruktur. Komponenten dieses Systems sind an der Zellteilung und der Chromosomensegregation beteiligt und tragen zur Aufrechterhaltung der Zellform bei.
- Die bakterielle Zellwand, das **Murein** oder **Peptidoglykan**, besteht aus N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure, die 1,4- β -glykosidisch miteinander verknüpft sind. So entstandene lange Ketten werden über Peptidbrücken quervernetzt, wodurch eine sackähnliche Struktur entsteht, die die Zelle umgibt. Das Murein verleiht der Zelle Stabilität gegenüber dem Turgordruck. Grampositive Bakterien besitzen eine bis zu 25 Schichten dicke Zellwand, während gramnegative Bakterien nur ein 1–2-schichtiges Peptidoglykan aufweisen.
- Gramnegative Bakterien verfügen über eine äußere Membran. Sie setzt sich aus **Lipopolysacchariden** (LPS), die nach außen orientiert sind, und aus Phospholipiden, die zum Peptidoglykan gerichtet sind, zusammen. Das LPS besteht aus Lipid A, einer Kern-Polysaccharidregion und der langen O-spezifischen Seitenkette aus sich wiederholenden Zuckereinheiten. Die äußere Membran ist über eingelagerte Lipoproteine mit dem Peptidoglykan kovalent verbunden. Ebenfalls integrierte Kanalproteine (Porine) erlauben die Diffusion gelöster Substanzen bis zur Größe von ca. 600–700 Dalton.
- Die äußere Membran und die Cytoplasmamembran begrenzen den **periplasmatischen Raum**, der zahlreiche Proteine enthält.

- Einige Gruppen von Prokaryonten können sich durch eine oder mehrere Flagellen frei bewegen. Die **Flagellen** führen dabei Rotationsbewegungen aus. Werden zielgerichtete Bewegungen aufgrund äußerer Reize (z. B. chemische Verbindungen, Licht) durchgeführt, spricht man von Chemotaxis oder Phototaxis.
- **Fimbrien** und **Pili** sind Zellanhängsel, die der Anheftung an andere Zellen oder Oberflächen dienen, aber auch Gleitbewegungen ermöglichen können.
- Zahlreiche Bakterien akkumulieren **Speicherstoffe** wie Stärke, Glykogen, Polyphosphate, Neutralfette, Polyhydroxyalkanoate oder Schwefel in ihrem Cytoplasma.
- **Zelleinschlüsse**, die speziellen Funktionen der jeweiligen Organismen dienen, sind Gasvesikel, Magnetosomen, Chlorosomen, Phycobilisomen und Carboxysomen.
- Endosporen sind **Dauerformen**, die sich durch extreme Beständigkeit gegenüber Hitze, Strahlung und Chemikalien auszeichnen. Sie werden von Bakterien der Gattungen *Bacillus*, *Clostridium* und *Sporomusa* unter Bedingungen des Nährstoffmangels aus der vegetativen Zelle gebildet. Sie sind durch geringen Wassergehalt, hohe Konzentration an Ca^{2+} -Dipicolinat und mehrere Peptidoglykan- und Proteinschichten gekennzeichnet, wodurch die im Mikroskop zu beobachtende starke Lichtbrechung verursacht wird. Die erneute Umwandlung der Spore in eine vegetative Zelle (Auskeimung) wird u. a. durch Hitze eingeleitet.
- **Heterocysten** findet man bei filamentös wachsenden Cyanobakterien als Orte der Stickstofffixierung. Sie besitzen kein Sauerstoff entwickelndes Photosystem II und haben eine für Gase schwer durchlässige Zellwandverdickung. Dadurch wird die sauerstoffempfindliche Nitrogenase vor Inaktivierung geschützt.
- Die Besonderheiten der prokaryontischen Zelle, insbesondere der Aufbau der Zellwände und der Ribosomen, spiegeln sich in der Empfindlichkeit gegenüber **Antibiotika** wider.

6 Wachstum und Ernährung der Mikroorganismen

Die Befähigung zu schnellem Wachstum auf zumeist recht einfach zu komponierenden Nährmedien hat die Mikroorganismen, insbesondere die Bakterien, zu bevorzugten Untersuchungsobjekten der allgemeinen Biologie, der Genetik, der Molekularbiologie und der Biochemie gemacht. Da das Wachstum zudem in den meisten Fällen einfachen **mathematischen Gesetzmäßigkeiten** folgt, sind **quantitative Aussagen** über das mikrobielle Wachstum und die damit verbundenen Stoffumsetzungen leicht möglich und bilden z. B. die Grundlage der technischen Anwendung mikrobieller Stoffwechselleistungen in der Biotechnologie. Voraussetzung des kontrollierten Umgangs mit Mikroorganismen ist die Abtötung unerwünschter Fremdorganismen. Auch bei der **Konservierung** von Lebensmitteln und anderen Naturstoffen, vor allem aber im Umgang mit mikrobiellen Krankheitserregern, ist man an einer Begrenzung des Wachstums bzw. an einer Abtötung der Mikroben interessiert. Hierfür bieten sich zahlreiche physikalische und chemische Behandlungsverfahren an. Schließlich müssen Kulturen von Mikroorganismen für vergleichende Untersuchungen konserviert und über lange Zeit lebensfähig gehalten werden.

Überblick

- 6.1 Chemische Zusammensetzung der Zelle und Nahrungsbedarf... 157**
 - 6.1.1 Elementare Nährstoffansprüche... 157
 - 6.1.2 Ergänzungstoffe... 157
- 6.2 Ernährungstypen und Lebensstrategien... 158**
- 6.3 Substrate für Mikroorganismen... 158**
- 6.4 Anpassung an unterschiedliche Umweltbedingungen... 160**
- 6.5 Zusammensetzung von Nährmedien und Kultivierungstechniken... 162**
 - 6.5.1 Nährböden... 163
 - 6.5.2 Kultivierungstechniken... 163
- 6.6 Selektive Kulturmethoden... 166**
 - 6.6.1 Anreicherungskultur... 166
 - 6.6.2 Reinkultur... 168
 - 6.6.3 Mischkultur... 168
- 6.7 Wachstum und Zellteilung... 169**
 - 6.7.1 Methoden zur Bestimmung der Zellzahl und der Bakterienmasse... 169
 - 6.7.2 Kinetik des Wachstums... 171
- 6.8 Physiologie des Wachstums... 173**
 - 6.8.1 Bakterienwachstum in statischer Kultur... 173
 - 6.8.2 Parameter der Wachstumskurve... 175
 - 6.8.3 Lineares Wachstum... 176
 - 6.8.4 Bakterienwachstum in kontinuierlicher Kultur... 177
 - 6.8.5 Unterschiede zwischen statischer und kontinuierlicher Kultur... 180
- 6.9 Hemmung des Wachstums und Abtötung... 180**
- 6.10 Sterilisation und Desinfektion... 182**
- 6.11 Konservierungsverfahren... 186**
- 6.12 Kulturerhaltung... 188**
- 6.13 Mikrobiologische Diagnostik... 189**
 - 6.13.1 Klassische Techniken... 189
 - 6.13.2 Molekularbiologische Techniken... 190

6.1 Chemische Zusammensetzung der Zelle und Nahrungsbedarf

Das Wachstum von Mikroorganismen ist an das Vorhandensein von **Wasser** gebunden. Die im Wasser gelösten Substanzen, aus denen die Mikroorganismen ihr Zellmaterial aufbauen und Energie gewinnen, sind die **Nährstoffe**. Die Ansprüche verschiedener Mikroorganismen an die Zusammensetzung der Nährlösung und an sonstige Milieubedingungen hängen von der Art des Energiestoffwechsels des jeweils betrachteten Organismus und seinen biosynthetischen Leistungen ab.

6.1.1 Elementare Nährstoffansprüche

Alle Organismen enthalten die elf **Makroelemente**, Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Schwefel, Phosphor, Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen (C, O, H, N, S, P, K, Na, Ca, Mg, Fe; Tab. 6.1). In einfacher Näherung kann man die Zusammensetzung der Zelle auch durch die Summenformel $\langle \text{C}_4\text{H}_7\text{O}_{1,5}\text{N} \rangle$ wiedergeben; diese Formel bewährt sich bei der Bilanzierung des in einem Umsatzprozess assimilierten Substrats. Neben diesen Makroelementen finden sich die Mikro- oder **Spurenelemente**, darunter die Übergangsmetalle Mangan, Kobalt, Nickel, Kupfer, Zink, Molybdän, Vanadium und Wolfram, sowie die Hauptgruppenelemente Selen, Silicium, Bor und Chlor. Diese werden nicht von allen Organismen benötigt. Die Schwermetalle sind häufig Bestandteile von Enzymen, die an der Umsetzung anorganischer Verbindungen (O_2 , N_2 , H_2 , S^0 , SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+) beteiligt sind. Häufig sind diese nur in Spuren benötigten Elemente im Wasser und in den Salzen der Makroelemente als Verunreinigungen enthalten oder an Glasoberflächen etc. adsorbiert und gelangen auf diese Weise in die Nährlösungen. Der Nachweis eines spezifischen Bedürfnisses für bestimmte Spurenelemente ist daher oft nur mit besonderem Aufwand möglich. Fast alle Schwermetalle sind in erhöhter Konzentration toxisch (Hg, Cu, Zn, Ni, Co, Cd, Ag, Cr, Se, auch Fe!). Die meisten Elemente werden den Nährlösungen in Form ihrer Salze zugesetzt. Die Zusammensetzung einer einfachen synthetischen **Nährlösung** und einer Spurenelement-Stammlösung ist in Tabelle 6.2 bzw. Tabelle 6.3 angegeben.

6.1.2 Ergänzungsstoffe

Viele Organismen benötigen zum Aufbau ihrer Zellsubstanz zusätzlich zu den Mineralien, den Kohlenstoff- und Energiequellen noch einige Ergänzungsstoffe, die auch **Suppline** oder Wachstumsfaktoren genannt werden. Zu diesen gehören Aminosäuren, Purine und Pyrimidine, sowie Vitamine, soweit diese nicht von dem jeweiligen Organismus selbst synthetisiert werden können. Die Suppline sind Bestandteile der Proteine und Nukleinsäuren und werden daher in relativ großen Mengen von der Zelle benötigt. **Vitamine** hingegen sind Bestandteile von Coenzymen oder prosthetischen Gruppen. Sie werden deshalb nur in sehr kleinen Mengen gebraucht (Tab. 6.4). Supplinbedürftige Organismen werden auch als auxotroph bezeichnet, während nicht auf Suppline angewiesene Organismen prototroph genannt werden.

Tab. 6.1 Chemische Zusammensetzung der prokaryontischen Zelle.

Element	Prozentualer Anteil an der Trockenmasse
Kohlenstoff	50
Sauerstoff	20
Stickstoff	14
Wasserstoff	8
Phosphor	3
Schwefel	1
Kalium	1
Calcium	0,5
Magnesium	0,5
Chlor	0,5
Eisen	0,2
alle anderen	0,3

Tab. 6.2 Beispiel einer einfachen synthetischen Nährlösung.

Substanz	Menge
KH_2PO_4	0,5 g
NH_4Cl	1,0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,2 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,01 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,01 g
Glucose	5,0 g
Wasser	1000 ml
Spurenelemente-Stammlösung (Tab. 6.3)	1 ml

Tab. 6.3 Spurenelemente-Stammlösung.

Substanz	Menge
HCl (25 %)	1 ml
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	100 mg
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	200 mg
NiCl ₂ · 6 H ₂ O	25 mg
CuCl ₂ · 2 H ₂ O	2 mg
ZnCl ₂	70 mg
NaMoO ₄ · 2 H ₂ O	50 mg
Na ₂ SeO ₃ · 5 H ₂ O	3 mg
[NaVO ₃ · H ₂ O	10 mg]
[Na ₂ WO ₄ · 2 H ₂ O	3 mg]
[H ₃ BO ₃	6 mg]
dest. Wasser	1000 ml

[], nur für wenige Organismen erforderlich. 1 ml Spurenelementlösung wird zu 1000 ml Nährlösung zugesetzt (Tab. 6.2).

Tab. 6.4 Bewährte Vitaminlösung für Boden- und Wasserbakterien.

Vitamin	Menge
Biotin	0,2 mg
Nicotinsäure	2,0 mg
Thiamin	1,0 mg
4-Aminobenzoat	1,0 mg
Pantothenat	0,5 mg
Pyridoxamin	5,0 mg
Cyanocobalamin	2,0 mg
dest. Wasser	100 ml

2–3 ml Vitaminlösung wird zu 1000 ml Nährlösung zugesetzt.

6.2 Ernährungstypen und Lebensstrategien

Die zur Kennzeichnung der Ernährungsweise von Tier und Pflanze geprägten Begriffe heterotroph und autotroph reichen nicht aus, um die Fülle der Ernährungstypen unter den Mikroorganismen zu charakterisieren. Zur schlagwortartigen Beschreibung der Ernährungsweisen haben sich Begriffe eingebürgert, die auf die Kennzeichnung der Energiequelle, des Wasserstoffdonors und der Kohlenstoffquelle gerichtet sind.

Energiequellen

Die Energie, die für die Synthese der zellulären Energiewährung ATP erforderlich ist, können Bakterien entweder aus elektromagnetischer Strahlung (Licht) oder aus der freien Energieänderung chemischer Reaktionen beziehen. Entsprechend spricht man von einem **phototrophen** bzw. einem **chemotrophen** Stoffwechsel. Zu den phototrophen Organismen gehören die grünen Pflanzen, die Algen und Cyanobakterien, sowie die anoxygenen phototrophen Bakterien, die keinen Sauerstoff produzieren. Der chemotrophe Stoffwechsel liefert Energie im Dunkeln, unabhängig davon, ob es sich um sauerstoffabhängige (aerobe) Oxidationen, sauerstoffunabhängige (anaerobe) Oxidationen mit Hilfe anderer Elektronenakzeptoren oder um Gärungen handelt.

Elektronendonatoren und Kohlenstoffquellen

Organismen, die organische Verbindungen als Elektronendonatoren (Reduktionsmittel) im Energiestoffwechsel verwenden, werden als **organotroph** bezeichnet. Im Gegensatz hierzu bezeichnet der Begriff **lithotroph** einen Stoffwechsel, der anorganische Verbindungen (H₂, NH₃, NO₂⁻, H₂S, S⁰, CO, Fe(II) etc.) als Elektronendonator verwertet. Hinsichtlich der Herkunft des Zellkohlenstoffs unterscheidet man zwischen **autotrophen** Organismen, die ihren Zellkohlenstoff ausschließlich aus der Fixierung von Kohlendioxid gewinnen, und **heterotrophen** Organismen, die ihre Zellsubstanz überwiegend aus organischen Verbindungen aufbauen.

Im Prinzip sind alle drei Kategorien hinsichtlich der Kennzeichnung des Stoffwechsels voneinander unabhängig, und tatsächlich lassen sich für alle denkbaren Kombinationen Vertreter unter den Prokaryonten benennen. Grüne Pflanzen sind photolithoautotroph, aerobe Ammoniumoxidierer chemolithoautotroph, und unter den methanogenen Wasserstoffverwertern gibt es viele, die zwar ihren Energiestoffwechsel mit Hilfe von Wasserstoff und CO₂ decken, für die Zellsubstanzsynthese jedoch auf Acetat angewiesen sind, d.h. einen chemolithoheterotrophen Stoffwechsel betreiben.

6.3 Substrate für Mikroorganismen

Die Vielfalt der genutzten Substrate lässt sich überschaubar gliedern, wenn man zwischen organischen und anorganischen Substraten unterscheidet. Manche anorganische Nährstoffe müssen nach der Aufnahme in die Zelle zunächst noch reduziert werden, bevor sie in Biomoleküle eingebaut werden können.

Kohlenstoffquellen

Für die meisten Mikroorganismen sind **organische Verbindungen** die wichtigste Quelle des Zellkohlenstoffs. In der Natur wird organische Substanz zumeist in Form von pflanzlichen und tierischen Polymeren angeboten, die für die Verwertung durch Mikroorganismen zunächst außerhalb der Zelle durch extrazelluläre Enzyme zerlegt werden müssen (Kap. 10.2). Deren Bausteine, z. B. Zucker, Aminosäuren, Fettsäuren, Glycerin, auch Gärprodukte von anderen Bakterien, können in die Zelle aufgenommen und dort vollständig zu CO_2 oxidiert werden. Bei gärenden Bakterien und einigen anderen Anaerobiern, aber auch bei den aeroben sog. unvollständigen Oxidierern (z. B. *Acetobacter* sp.) kommt es nicht zu einer vollständigen Oxidation. Organische Kohlenstoffquellen sind zugleich fast immer auch Elektronenquellen für die Konservierung chemischer Energie in Redoxreaktionen.

Autotrophe Organismen nutzen **CO_2** als ausschließliche Quelle des Zellkohlenstoffs. Einige Spezialisten können aerob oder anaerob auch Kohlenmonoxid (CO) als Quelle für Kohlenstoff und Elektronen verwerten. Nur wenige spezialisierte Prokaryonten nutzen andere **C_1 -Verbindungen** (Formiat, Formaldehyd, Methanol und Methan).

Schwefel und Stickstoff

Diese beiden Elemente liegen in der Zelle fast ausschließlich in reduzierter Form als Sulfhydryl- bzw. als Aminogruppen vor. Die meisten Mikroorganismen vermögen diese Elemente in oxidiertester Form als Sulfat oder Nitrat aufzunehmen und anschließend zu reduzieren (assimilatorische Sulfat- bzw. Nitratreduktasesysteme, Kapitel 8). Die verbreitetste Stickstoffquelle für Mikroorganismen im Labor ist Ammoniumsalz. Einige Prokaryonten vermögen molekularen Stickstoff (N_2) zu Ammonium zu reduzieren. Andere Mikroorganismen ebenso wie Tiere benötigen Aminosäuren, also reduzierte organische N-Quellen. Auch zur Reduktion von Sulfat sind nicht alle Mikroorganismen befähigt; einige strikt anaerobe Prokaryonten benötigen Schwefelwasserstoff oder Cystein als S-Quelle.

Phosphor

Der Phosphorbedarf der Zellen ist gering, da dieses Element nur ca. 2–3 % der Zelltrockenmasse ausmacht. In der Zelle liegt der Phosphor fast ausschließlich in der Oxidationsstufe +V als Phosphat vor. Nur in wenigen Sekundärmetaboliten gibt es Phosphor in stärker reduzierter Form in direkter Bindung an Kohlenstoff (in C-P-Bindungen). Nährlösungen enthalten häufig Phosphat in hohen Konzentrationen, da man das Phosphatsystem ($\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$, pK 6,8) gerne zur Pufferung der Nährlösung nutzt. Da Phosphat in der Natur aber zumeist nur in winzigen (mikromolaren) Konzentrationen verfügbar ist, kann Phosphat in hoher Konzentration toxisch wirken. Für viele Bakterien ist bekannt, dass sie durch Phosphat in höherer Konzentration gehemmt werden.

Sauerstoff

Sauerstoff steht den Zellen in Form von Wasser zur Verfügung. Ferner ist er im Kohlendioxid und in vielen organischen Verbindungen enthalten. Viele Organismen sind darüber hinaus auf molekularen Sauerstoff (O_2) angewiesen, der als terminaler Elektronenakzeptor der aeroben Atmung

dient (**Oxidase**-Reaktionen); O_2 wird dabei zu Wasser reduziert. In die Zellsubstanz werden aus O_2 stammende Sauerstoffmoleküle nur dann eingebaut, wenn Methan oder langkettige und aromatische Kohlenwasserstoffe als Kohlenstoffquellen dienen; diese Verbindungen werden durch **Oxygenase**-Reaktionen angegriffen (Kap. 10.6.3).

Bezüglich des Verhältnisses zum Sauerstoff lassen sich mindestens drei Gruppen von Organismen unterscheiden: **Obligat aerobe** Organismen vermögen Energie nur durch aerobe Atmung zu gewinnen und sind auf O_2 angewiesen. **Obligat anaerobe** Organismen können nur in einem sauerstofffreien Milieu wachsen; für sie ist O_2 toxisch (Kap. 12, 13). **Fakultativ anaerobe** Mikroorganismen wachsen sowohl in Gegenwart als auch in Abwesenheit von O_2 . Unter ihnen muss man zwei Typen unterscheiden: Milchsäurebakterien vermögen zwar in Gegenwart von Luftsauerstoff zu wachsen, sie sind **aerotolerant**; sie können ihn aber zumeist nicht nutzen, sondern gewinnen Energie lediglich durch Gärung. Andere fakultativ anaerobe Bakterien (Enterobacteriaceae) und viele Hefen können zur Energiekonservierung von Atmung (in O_2 -Gegenwart) auf Gärung (bei O_2 -Abwesenheit) umschalten.

Viele – wenn nicht die meisten – aeroben Bakterien sind **mikroaerob** (mikroaerophil), d. h. sie benötigen zwar O_2 zur Energiekonservierung, können aber den Sauerstoffpartialdruck der Luft (0,21 atm) nicht tolerieren, sondern sind auf deutlich geringere Partialdrücke angewiesen.

6.4 Anpassung an unterschiedliche Umweltbedingungen

Während höhere Organismen nur unter vergleichsweise milden Bedingungen leben und sich vermehren können, nutzen die Mikroorganismen, vor allem die Prokaryonten, ein sehr breites Spektrum von Umweltbedingungen für ihre Entwicklung. An Standorten großer Hitze oder Kälte, hoher Salzkonzentration, hoher Säure- oder Basenkonzentration, d. h. an so genannten Extremstandorten, findet man ausschließlich prokaryontische Lebensformen. Diese Bakterien tolerieren nicht nur extreme Verhältnisse; sie haben sich im Laufe der Evolution an sie sogar optimal angepasst. Innerhalb dieser breitgefächerten Möglichkeiten kann der einzelne Organismus aber jeweils nur eng abgesteckte Rahmenbedingungen akzeptieren, z. B. eine Temperaturspanne von 20–30 °C, einen pH-Bereich von 2–3 Einheiten etc.

Temperatur

Hinsichtlich ihrer Ansprüche an die Bebrütungstemperatur verhalten sich die Mikroorganismen sehr verschieden (Abb. 6.1). Die meisten bekannten Boden- und Wasserbakterien sind **mesophil**; sie erreichen ihre maximale Wachstumsrate zwischen 20 °C und 42 °C. **Thermotolerant** sind Organismen, die bis zu 50 °C noch zu wachsen vermögen (*Methylococcus capsulatus*). **Thermophile** Organismen wachsen bei Temperaturen oberhalb 40 °C mit maximaler Rate und erreichen ihre Grenze bei 70 °C (*Alicyclobacillus stearotheophilus*, *Thermoactinomyces vulgaris*). Als **extrem thermophile** Organismen bezeichnet man diejenigen, deren Wachstumsoptimum oberhalb von 65 °C liegt (*Thermus aquaticus*, *Sulfolobus*); einige von ihnen vermögen noch bei Temperaturen oberhalb von 70 °C (mehrere Arten der Gattungen *Bacillus* und *Clostridium*), von 80 °C (*Sulfolobus acidocaldarius*) oder gar bei 105 °C (*Pyrodictium occultum*) zu wachsen. Die

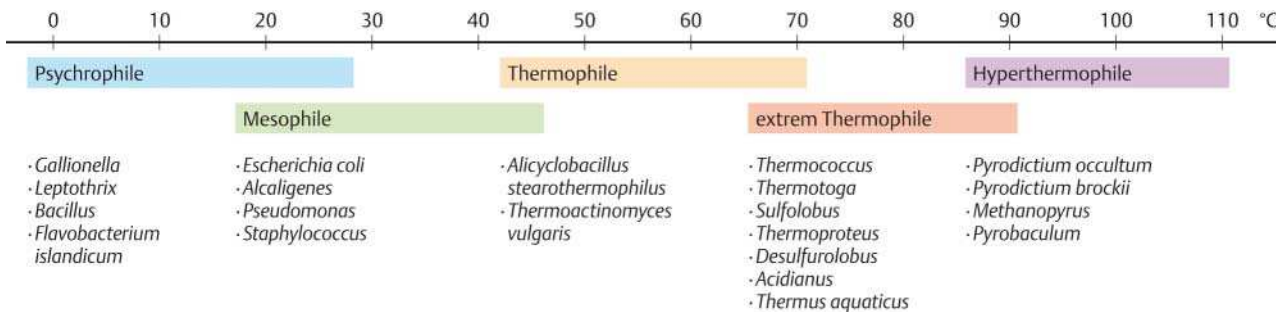


Abb. 6.1 Temperaturbereiche des Wachstums verschiedener Bakterien.

oberhalb 80 °C wachsenden Organismen nennt man **hyperthermophil**. Am anderen Ende der Temperaturskala des Wachstums stehen die **psychrophilen** (oder kryophilen) Organismen, darunter einige marine Bakterien (Leuchtbakterien) und die Eisenbakterien (*Gallionella*); sie erreichen ihre höchsten Wachstumsraten unterhalb von 20 °C. Wenige Bakterien können sogar bei Temperaturen unterhalb von 0 °C noch wachsen, solange das Medium z. B. infolge erhöhten Salzgehaltes noch flüssig bleibt.

Wasserstoff-Ionenkonzentration

Die H^+ - und OH^- -Ionen entfalten im Neutralbereich schon durch kleine Änderungen in ihrer Konzentration große Wirkungen. Deshalb ist es von großer Bedeutung, den Anfangs-pH-Wert optimal einzustellen und den pH während des Wachstums zu erhalten (Box 6.1).

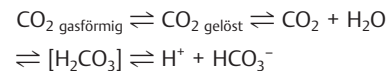
Die meisten Organismen gedeihen am besten, wenn H^+ - und OH^- -Ionen in der gleichen Konzentration vorliegen (pH 7,0). Viele Bakterien bevorzugen höhere pH-Werte, also ein leicht alkalisches Milieu, z. B. die Nitrifizierer, Rhizobien, Actinomyceten, oder harnstoffzersetzende Bakterien (Abb. 6.2). Von deutlich alkalischen Standorten (pH >10) werden bevorzugt **alkaliphile** *Bacillus*-Stämme isoliert. Zahlreiche Bakterien sind säuretolerant (*Lactobacilli*, *Acetobacter*, *Sarcina ventriculi*) oder **acidophil** (*Thiobacillus*, *Sulfolobus acidocaldarius*). Pilze bevorzugen niedrige pH-Werte. Beimpft man komplexe Nährböden verschiedener pH-Werte mit Boden, so entwickeln sich bei pH 5,0 vorwiegend Pilze, bei pH 8,0 vorwiegend Bakterien. Trotz gelegentlich stark alkalischer oder saurer Verhältnisse im Medium ist der pH-Wert im Inneren prokaryontischer Zellen zumeist nahe dem Neutralpunkt.

Die bei ungünstigen pH-Werten auftretenden Schäden gehen nicht unbedingt primär auf die H^+ - und OH^- -Ionen zurück. Diese erhöhen jedoch den nichtdissoziierten Anteil von schwachen Säuren oder Basen, die im ungeladenen Zustand leichter in die Zellen eindringen als ihre Dissoziations- bzw. Protonierungsprodukte. Eine erhöhte Anreicherung schwacher Säuren oder Basen (z. B. Essigsäure, Ammoniak) in der Zelle kann dann zu einer partiellen Depolarisierung der Cytoplasmamembran führen (Kap. 9).

Im übrigen sind viele Bakterien gegen kleine pH-Schwankungen im Bereich von pH 6 bis 9 ziemlich unempfindlich. Bei raschen Veränderungen kommt es zwar kurzzeitig zu einer geringen Veränderung des intrazellulären pH-Wertes, jedoch wird innerhalb von ca. 30 min der ursprüngliche interne pH-Wert wiederhergestellt.

Box 6.1 Pufferung von Nährlösungen

Die Erhaltung eines bestimmten pH-Wertes während des Wachstums ist vor allem bei denjenigen Mikroorganismen wichtig, die Säuren produzieren oder verbrauchen. Damit sich die Mikroorganismen nicht selbst durch gebildete Säuren hemmen oder abtöten, verwendet man entweder (für Dauerkulturen) nicht vergärbare Substrate oder man puffert den Nährboden. Die meisten Mineralmedien werden durch Phosphate gepuffert, doch können diese auch toxisch werden (vgl. Text). Alternativ kann man im Labor organische Puffer einsetzen (MOPS, HEPES). Bei stärkerer Säureausscheidung gibt man Calciumcarbonat oder, wenn unlösliche Nährbodenbestandteile unerwünscht sind, Natriumbicarbonat hinzu. Dabei muss man beachten, dass die Bicarbonationen mit dem gelösten CO_2 und folglich mit dem Kohlendioxidgehalt der Gasatmosphäre (z. B. Luft) im Gleichgewicht stehen:



Eine gute Pufferung durch das Bicarbonat/ CO_2 -System setzt daher einen erhöhten CO_2 -Partialdruck in der Gasphase voraus, wie er z. B. bei der Kultivierung von Anaerobiern leicht zu realisieren ist. Bei der Kultivierung von Aerobiern hat sich dieses Puffersystem bisher nicht durchgesetzt.

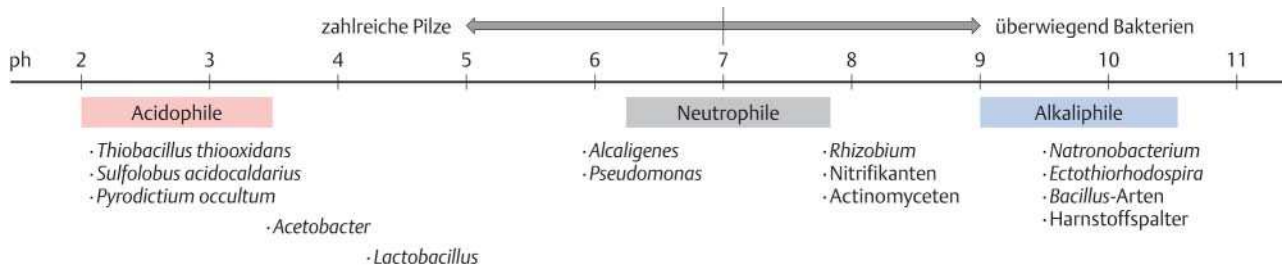


Abb. 6.2 Von Pilzen und verschiedenen Bakterien bevorzugte oder tolerierte pH-Bereiche.

Wassergehalt und osmotischer Wert

Das verfügbare Wasser in einer Nährlösung oder in festem Material wird durch die **Wasseraktivität (a_w)** oder relative Feuchtigkeit angegeben. Diese Parameter beziehen sich auf die Dampfphase, die sich mit der Nährlösung oder dem festem Material im Gleichgewicht befindet. Sie geben den Quotienten aus der Konzentration an Wasser in der Dampfphase im Luftraum über dem Material (oder der Nährlösung) und der Wasserkonzentration im Luftraum über reinem Wasser bei einer bestimmten Temperatur an. Reines Wasser hat also einen a_w -Wert von 1,0. Für menschliches Blut beträgt er 0,995, für Meerwasser 0,980, für gesalzenen Fisch 0,750 und für Trockenfutter wie Getreide oder Haferflocken 0,70.

Mikroorganismen unterscheiden sich stark hinsichtlich ihrer Ansprüche an den Wassergehalt ihrer Nährböden. Sie vermögen bei Wasseraktivitäten von 0,998 bis 0,6 zu wachsen. Am bescheidensten ist die osmotolerante Hefe *Saccharomyces rouxii*, die noch bei $a_w = 0,6$ wächst. *Aspergillus glaucus* und andere Schimmelpilze wachsen ab $a_w = 0,8$. Die meisten Bakterien benötigen Wasseraktivitäten von mehr als 0,98. Davon machen nur die extrem **halophilen** Archaeobakterien mit $a_w = 0,75$ eine Ausnahme.

6.5 Zusammensetzung von Nährmedien und Kultivierungstechniken

Die Zusammensetzung eines Nährmediums bestimmt, welcher Organismus darin kultiviert werden kann. **Jedes Medium ist selektiv**, auch wenn es scheinbar alles anbietet, was Mikroorganismen brauchen. Darüberhinaus bestimmen die Inkubationsbedingungen, welcher Organismus sich jeweils vermehren kann.

Eine Fülle von anspruchslosen Mikroorganismen, beispielsweise viele Pseudomonaden des Bodens und Wassers, aber auch *Escherichia coli*, wachsen in einer Nährlösung von der in Tabelle 6.2 angegebenen Zusammensetzung. Viele Mikroorganismen benötigen darüber hinaus verschiedene Spurenelemente, Vitamine oder andere Zusätze. Lässt sich eine Nährlösung aus definierten chemischen Verbindungen zusammensetzen, so spricht man von synthetischen oder **definierten** Nährlösungen. Wenn man den Stoffwechsel eines Mikroorganismus verstehen will, ist man bestrebt, seine minimalen Nährstoffansprüche zu ermitteln und ein Minimalmedium zu entwickeln, das nicht mehr Bestandteile enthält, als zum Wachstum notwendig sind. Anspruchsvolle Arten benötigen eine

Vielzahl von Ergänzungsstoffen. Für das Milchsäurebakterium *Leuconostoc mesenteroides* ist ein synthetisches Medium entwickelt worden, das mehr als 40 Bestandteile enthält.

6.5.1 Nährböden

Komplexe oder undefinierte Nährböden

Für viele anspruchsvolle Mikroorganismen sind die Nährstoffbedürfnisse noch nicht genügend bekannt. Man kultiviert sie deshalb in so genannten komplexen oder undefinierten Nährlösungen, die Hefeextrakt, Hefeautolysat, Pepton oder Fleischextrakt enthalten (Plus 6.1). Für einige Organismengruppen sind auch Würze (Brauerieimalzextrakt), Heudekokt, Pflaumensaft, Möhrensaft oder Kokosnussmilch gebräuchlich, für manche strikten Anaerobier Pansenflüssigkeit oder Schweinejauche und für koprophile Pilze Pferdeäpfelpresssaft. Auch aus Kostengründen setzt man den Nährlösungen anstelle reiner Verbindungen gern komplexe Stoffe zu, wie Molke, Melasse, Maisquellwasser oder Sojabohnenextrakt, die als billige Abfallprodukte zur Verfügung stehen.

Feste Nährböden

Feste Nährböden sind vor allem für die Reinigung von Kulturen von großer Bedeutung, jedoch ist nicht jeder Mikroorganismus bereit, auf festen Medien zu wachsen. Zur Herstellung setzt man den flüssigen Nährlösungen Verfestigungsmittel zu, die der wässrigen Lösung eine geleeartige Konsistenz verleihen. Gelatine verwendet man dabei nur noch in Einzelfällen, da sie bereits bei 26–30 °C schmilzt und von vielen Mikroorganismen gespalten wird. Ein nahezu ideales Verfestigungsmittel ist der 1883 im Laboratorium von R. Kochs Mitarbeiter Hesse in die bakteriologische Technik eingeführte **Agar**, ein stark vernetztes, komplex zusammengesetztes Polysaccharid aus Meeresalgen. Er wird den wässrigen Lösungen in einer Konzentration von 15–20 g/l zugesetzt. Agar schmilzt erst bei 100 °C, bleibt jedoch beim Abkühlen bis zu einer Temperatur von ca. 45 °C flüssig. Er wird nur von wenigen Bakterien angegriffen. Agar ist jedoch für einige Bakterien toxisch. **Agarose**, ein gereinigtes Produkt aus Agar, wird von einigen Bakterien besser vertragen. Eine weitere Alternative zur Nährbodenverfestigung ist **Gelrit**, ein Heteropolysaccharid, das von bestimmten Pseudomonaden produziert wird. Wenn organische Komponenten stören, verwendet man **Silicagel** als Verfestigungsmittel.

6.5.2 Kultivierungstechniken

Kohlendioxidversorgung

Einer für das Wachstum von autotrophen CO₂-fixierenden Mikroorganismen bestimmten Nährlösung setzt man gewöhnlich Natriumbicarbonat zu und inkubiert unter einer Kohlendioxid enthaltenden Atmosphäre in geschlossenen Gefäßen. Man kann die Nährlösung auch mit CO₂-angereicherter Luft durchströmen. Dabei muss aber stets die oben erwähnte Beziehung zwischen pH, Bicarbonatkonzentration und CO₂-Partialdruck der Gasatmosphäre berücksichtigt werden.

Aber auch heterotrophe, also organische Kohlenstoffquellen assimilierende Mikroorganismen, benötigen Kohlendioxid, z. B. in der Gluconeogenese (**Pyruvatcarboxylase**, **Pyruvatsynthase**). Viele parasitisch im Blut,

Plus 6.1 Komplexe Nährlösungszusätze

Pepton und **Trypton** werden aus Fleischabfällen durch peptische oder tryptische enzymatische Hydrolyse hergestellt; sie enthalten im Wesentlichen Oligopeptide und Aminosäuren. Besser definiert sind **Casein-Pepton** und **Casein-Trypton**, die immerhin von einer definierten Proteinfraction, nämlich dem ausgefallenen Milcheiweiß ausgehen. **Casaminosäuren** werden durch saure Hydrolyse von Casein gewonnen; so entsteht ein vollständiges Angebot an freien Aminosäuren. **Hefeextrakt** ist der wasserlösliche Anteil eines Autolysats von Brauereihefe; er enthält Oligopeptide, Aminosäuren, Zucker, einige Fettsäuren, Cholin und alle Vitamine außer Vitamin B₁₂, da letzteres bei der Präparation an der Luft zerstört wird.

in Geweben, im Darmkanal oder in Gewässern und Gewässersedimenten lebende Bakterien sind an einen höheren Kohlendioxidgehalt als den der Luft angepasst. Man inkubiert diese Bakterien daher in einem Gas- oder Luftgemisch mit einem Volumengehalt von mindestens 10% Kohlendioxid. Die Entziehung von Kohlendioxid, beispielsweise durch Absorption mit Kaliumhydroxid, hemmt das Wachstum vieler Bakterien.

Belüftung

Für alle obligat aeroben Mikroorganismen ist Sauerstoff der notwendige Elektronenakzeptor. Für die auf Agarplatten und in dünnen Flüssigkeitsschichten an der Luft wachsenden Bakterien ist meist genügend Sauerstoff vorhanden. Aber auch innerhalb und unterhalb einer Bakterienkolonie kann der Sauerstoffpartialdruck auf Null sinken. Abb. 6.3 zeigt, wie sich so als Folge der Stoffwechselaktivität der Bakterien innerhalb einer Kolonie völlig verschiedene Lebensräume entwickeln können.

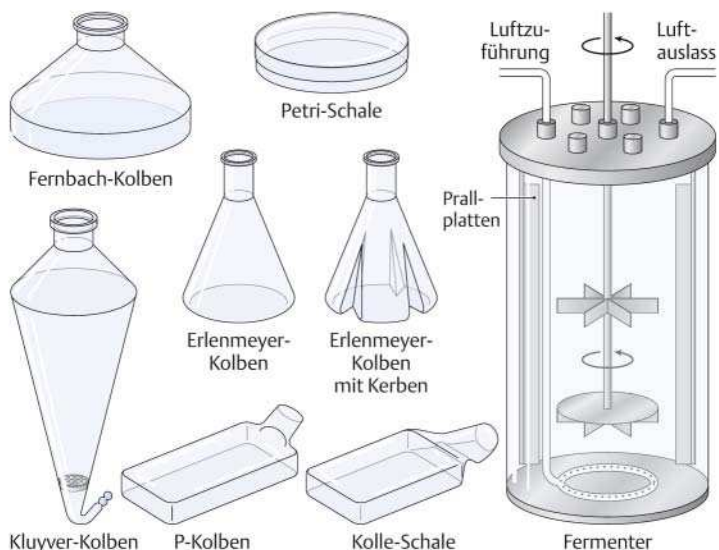
In flüssigen Nährböden von hoher Schichtdicke wachsen aerobe Bakterien nur an der Oberfläche. Darunter werden die Bedingungen sehr schnell **anoxisch**. Um auch in tieferen Schichten einer Flüssigkeitskultur Wachstum aerober Mikroorganismen zu ermöglichen, bedarf es einer **Belüftung** (Plus 6.2). Mikroorganismen vermögen nur gelösten Sauerstoff zu verwerten. Mineralsalze und organische Nährstoffe können den Nährlösungen in solchen Konzentrationen zugesetzt werden, dass sie ein stunden- oder tagelang anhaltendes Bakterienwachstum ermöglichen. Sauerstoff muss der Nährlösung kontinuierlich zugeführt werden, da

Plus 6.2 Gefäße zur aeroben Kultivierung

Für eine Optimierung der Sauerstoffversorgung haben sich verschiedene Methoden bewährt:

1. Kultur in flacher Schicht,
2. Bewegen der Flüssigkeit durch Schütteln,
3. Rotation von liegenden Flaschen um ihre Längsachse,
4. Durchströmen der Flüssigkeitssäule mit Luft unter Druck durch Gasverteiler (Fritten, Kluver-Kolben),
5. Perkolation,
6. mechanisches Rühren.

Aerobe Mikroorganismen werden häufig submers mit einer Kombination von forcierter Belüftung mit Gasverteilern (Fritten, Düsen) und mechanischer Rührung kultiviert. Im verteilerlosen Fermenter und im Waldhofs-System werden durch starke Rührung Strudel gebildet. Die Abbildung zeigt einige Kulturgefäße, für deren Formgebung eine maximale Flüssigkeitsoberfläche maßgebend war, und einige Submerskulturgefäße. Allerdings ist selbst in einem gut belüfteten Fermenter oder in einem natürlichen Gewässer die Verteilung des Sauerstoffs selten homogen. Schon innerhalb kleiner Aggregate von Bakterien entstehen schnell vollkommen anoxische Mikrostandorte (s. auch Abb. 6.3).



Gefäße zur Oberflächen- und Submerskultur von aeroben Mikroorganismen.

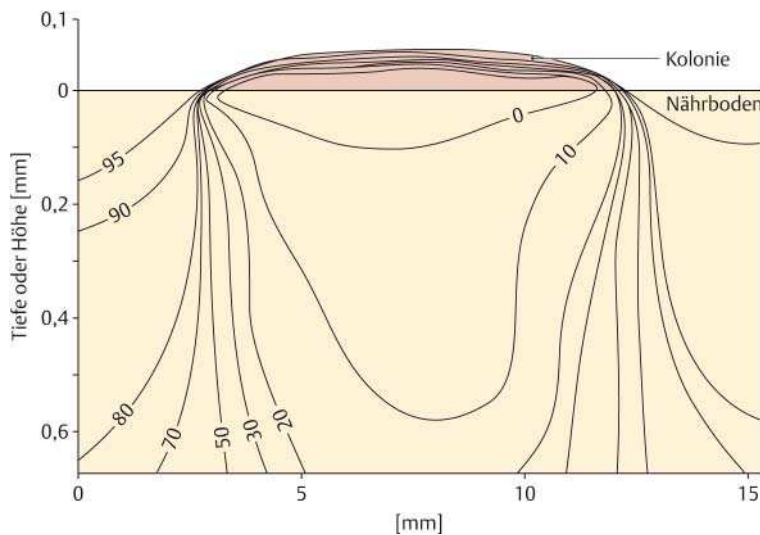


Abb. 6.3 Verteilung des Sauerstoffs in und unter einer Kolonie von *Bacillus cereus*, die auf Komplexagar wächst. Die Sauerstoffpartialdrücke wurden nach dreitägiger Inkubation bei 30 °C mit einer O₂-Mikroelektrode gemessen. Die Werte sind in Prozenten der in luftgesättigtem Agar gemessenen Partialdrücke angegeben.

seine Löslichkeit sehr gering ist: Unter Luftsättigung bei 20 °C beträgt die Sauerstoffkonzentration nur 280 µmol pro Liter. Diese Konzentration reicht gerade aus, um 46 µmol oder 8,3 mg Glucose pro Liter (etwa den tausendsten Teil der in vielen Nährlösungen enthaltenen Glucose) zu oxidieren.

Anaerobenkultur

Für das Wachstum von streng anaeroben Prokaryonten ist Voraussetzung, dass Luftsauerstoff absolut ausgeschlossen wird. Die Anaerobentechnik arbeitet mit entlüfteten, ausgekochten Nährlösungen, luftblasenfrei verschlossenen Flaschen, sauerstofffreien Gasatmosphären in Anaerobentöpfen, Sauerstoffabsorptionsmitteln (alkalisches Pyrogallol, Dithionit, Kupfer-I-chlorid) und anderen Hilfsmitteln. Die toxischen Effekte von verbliebenen Spuren von Luftsauerstoff lassen sich durch Reduktionsmittel (Ascorbinsäure, Thioglykolat, Cystein, Sulfid oder Titan(III)-NTA) in den Nährlösungen erfolgreich ausschalten. Auch Wasserstoff in Gegenwart eines Palladiumkatalysators hat sich zur schonenden Reduktion von Nährlösungen bewährt.

Äußerst sauerstoffempfindliche Mikroorganismen kann man ebenfalls an der Luft überimpfen, wenn durch einen kontinuierlichen Strom von sauerstofffreiem Stickstoff in die Kulturgefäße dafür gesorgt wird, dass der Nährboden nicht mit der Luft in Berührung kommt (Hungate-Technik). Alternativ kann man in einer **Anaerobenkultur** (Glove-Box) arbeiten, die mit einem sauerstofffreien Stickstoff/Wasserstoff-Gemisch oder Argon gefüllt ist.

Als Farbindikator für anoxische Bedingungen setzt man dem Nährboden selbstoxidierende Farbstoffe wie Resazurin zu (in Gegenwart von Sauerstoff: blau, reduziert: farblos, nach Reoxidation: rot) oder gibt den Anaeroben-Inkubationstöpfen ein Gefäß mit einer alkalischen Glucose-Methylenblau-Lösung bei (reduziert: farblos).

Mikroaerobe Bakterien entwickeln sich bevorzugt in einem gewissen Abstand vom luftgesättigten Medium (Abb. 6.4).

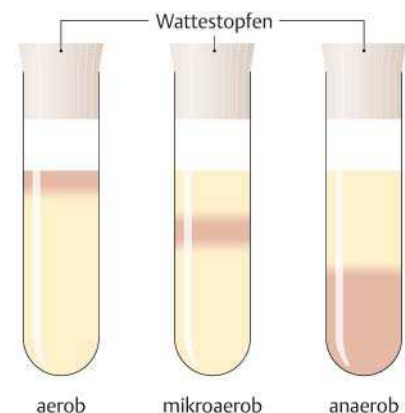


Abb. 6.4 Wachstum aerober, mikroaerober und anaerober Bakterien in einem homogen beimpften Agarmedium.

Plus 6.3 Strategien der Anreicherung von Mikroorganismen

Die Anreicherungskultur erlaubt, Mikroorganismen mit jedweder Kombination von Nährstoffbedürfnissen anzureichern, vorausgesetzt natürlich, dass der gewünschte Typ überhaupt in der Natur vorkommt. Für extrem spezialisierte Mikroorganismen lassen sich besonders selektive Anreicherungsbedingungen herstellen. Ein von gebundenem Stickstoff freies Mineralmedium, dem Licht ausgesetzt, selektiert für stickstofffixierende Cyanobakterien. Wird dieselbe Nährlösung durch eine organische Energie- und Kohlenstoffquelle ergänzt, so setzen sich im Dunkeln unter Luft das N_2 -fixierende aerobe Bodenbakterium *Azotobacter*, unter Luftausschluss anaerobe N_2 -fixierende Bodenbakterien, z. B. Clostridien, durch. Damit die Anreicherung erfolgreich ist, dürfen nicht mehr als die minimalen Bedürfnisse des anzureichernden Stoffwechseltyps erfüllt werden. Werden beispielsweise Organismen gesucht, die Wasserstoff mit Nitrat oder Sulfat als Elektronenakzeptor oxidieren, muss Sauerstoff ausgeschlossen werden; andernfalls würden aerobe Wasserstoffoxidierer dominieren. Auch Resistenz oder Toleranz gegenüber Säure oder Alkali, Hitze- oder Strahlenwirkung können zur Selektion herangezogen werden.

Eine Selektion kann auch eine Gegenselektion unter Verwendung von selektiven Hemmstoffen einschließen. Auf einem azidhaltigen Nährboden wachsen unter Luft beispielsweise Milchsäurebakterien, während andere aerob wachsende Mikroorganismen unterdrückt werden; **Azid** und **Cyanid** selektieren gegen aerobe Organismen, da sie die Cytochromoxidase blockieren. Zur Unterdrückung grampositiver Bakterien setzt man dem Nährboden **Penicillin** zu. Das Wachstum von Pilzen, Hefen, Protozoen und anderen Eukaryonten unterdrückt man durch Zusatz von **Cycloheximid**, einem spezifischen Hemmstoff der eukaryontischen Proteinbiosynthese.

6.6

Selektive Kulturmethoden

Für die Anreicherung von Prokaryonten mit spezifischen metabolischen Fähigkeiten macht man sich die selektierenden Eigenschaften ausgewählter Nährlösungen zunutze. Durch ein spezifisch zugeschnittenes Angebot von Elektronen-, Kohlenstoff-, Stickstoff-, Schwefel- und anderen Quellen, sowie durch die Inkubationsbedingungen werden einzelne Organismen gegenüber anderen bevorzugt zur Vermehrung gebracht, sodass sie schließlich in der flüssigen Nährlösung dominieren und leicht isoliert werden können.

Einige Mikroorganismen haben durch Koloniebildung, auffallende Ansammlungen oder Veränderungen im Milieu unsere Aufmerksamkeit erregt. Viele dieser augenfällig in Erscheinung tretenden Mikroorganismen können **direkt isoliert** werden. Viele verschiedene physiologische Typen von Mikroorganismen konnten aber erst untersucht werden, nachdem Winogradsky und Beijerinck die Technik der **Anreicherungskultur** entwickelt hatten.

6.6.1

Anreicherungskultur

Die Methode der Anreicherungskultur ist sehr einfach. Als Anreicherungsbedingungen wählt man die Bedingungen, unter denen sich ein Organismus gegen alle anderen im eingesetzten Impfmateriell durchsetzt (Plus 6.3). Man stellt in einer Nährlösung die entsprechenden Umweltbedingungen her, indem man eine Anzahl von Faktoren (Energie-, Kohlenstoff- und Stickstoffquelle, Elektronenakzeptor, Gasatmosphäre, Licht, Temperatur, pH- Wert usw.) festlegt und diese Nährlösung mit einem Organismengemisch, wie es z. B. in einer Bodenprobe vorliegt, beimpft. In einer solchen Anreicherungskultur setzt sich derjenige Organismus durch, der am schnellsten wachsen kann und alle Begleitorganismen überwächst. Nach mehrfacher Übertragung auf die gleiche Nährlösung und Verteilen auf einem festen Nährboden derselben Zusammensetzung lässt sich der angereicherte Stamm leicht isolieren. Eine häufige, nach kurzen Intervallen erfolgende flüssig-flüssig-Überimpfung beugt dem Wachstum von Begleitorganismen vor, die die Ausscheidungs- oder gar Autolyseprodukte der primär begünstigten Zellen nutzen würden. Vorteilhafte Impfmateriell bieten Proben von Standorten, an denen bereits eine natürliche Anreicherung eingetreten ist: Kohlenmonoxid verwertende Mikroorganismen in Gaswerksabwässern, Hämoglobin verwertende in Schlachthofabwässern, Kohlenwasserstoff oxidierende in Erdölfeldern und an Ölwannen, Cellulose verwertende Gärer im Kuhpannen.

In dem eingesetzten Impfmateriell können verschiedene Stämme und Varianten desselben Stoffwechseltyps enthalten sein, die sich dennoch geringfügig unterscheiden. Wird ein Anreicherungsmedium mit diesem Material beimpft, so setzt sich der am schnellsten wachsende Stamm durch, und die übrigen Stämme werden überwachsen und entgehen der Isolierung. Soll eine **möglichst große Zahl** von Stämmen unter selektiven Wachstumsbedingungen isoliert werden, bietet sich eine **direkte Ausplattierung** ohne vorherige Anreicherung in Flüssigkultur an. Wird das Impfmateriell auf oder in einem verfestigten Selektivnährmedium verteilt, so wachsen die begünstigten Stoffwechseltypen zu Kolonien heran. Bei hinreichend weitem Kolonieabstand entgehen sie der Konkurrenz um Nährstoffe; die langsamer wachsenden Stämme werden von schneller wachsenden nicht verdrängt und lassen sich somit getrennt isolieren.

In Tabelle 6.5 sind wesentliche selektive Wachstumsbedingungen für eine Auswahl repräsentativer Stoffwechseltypen angegeben.

Tab. 6.5 Anreicherungsbedingungen für ausgewählte Bakterien.Phototrophe Mikroorganismen (Haupt-C-Quelle: CO₂)

Im Licht	anaerob	H ₂ organ. Säuren	photoassimiliert als H-Donator als H-Donator	λ > 800 nm λ > 715 nm	Nicht-Schwefel- Purpurbakterien
		H ₂ S H ₂ S			Chromatiaceae Chlorobiaceae
	aerob	NH ₄ Cl N ₂	oder KNO ₃	als N-Quelle als N-Quelle	Grünalgen Cyanobakterien

Chemolithotrophe (autotrophe) Bakterien (Haupt-C-Quelle: CO₂)

ohne organische Verbindungen im Dunkeln	aerob	H-Donator NH ₄ ⁺ NO ₂ ⁻ H ₂ H ₂ S, S, S ₂ O ₃ ²⁻ Fe ²⁺	H-Akzeptor O ₂ O ₂ O ₂ O ₂ O ₂	<i>Nitrosomonas</i> <i>Nitrobacter</i> H ₂ - („Knallgas“) Bakterien <i>Thiobacillus</i> <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>
	anaerob	S, S ₂ O ₃ ²⁻ H ₂ H ₂	NO ₃ ⁻ NO ₃ ⁻ CO ₂	<i>Thiobacillus denitrificans</i> <i>Paracoccus denitrificans</i> Methanbildner, Homoacetatgärer

Chemoorganotrophe (heterotrophe) Bakterien

anaerob, mit externem Elektronenakzeptor	KNO ₃ 2 % + organ. Säuren KNO ₃ 10 % + HE* Sulfat + organ. Säuren	Pseudomonaden Sporenbildner Desulfovibrio	} Denitrifizierer
anaerob, ohne externen Elektronenakzeptor	Glutamat, Histidin Lactat + HE Stärke + NH ₄ ⁺ Stärke + N ₂ [*] Glucose + NH ₄ ⁺ Glucose + 1 % HE; pH 5 Lactat + 1 % HE	<i>C. tetanomorphum</i> <i>Veillonella</i> <i>Clostridium</i> <i>C. pasteurianum</i> <i>Enterobacter</i> und andere Gärer Milchsäurebakterien Propionsäurebakterien	
aerob	Lactat + NH ₄ ⁺ Benzoat + NH ₄ ⁺ Mannit, Benzoat + N ₂ Stärke + NH ₄ ⁺ 4 % Ethanol + 1 % HE; pH 6.0 5 % Harnstoff + 1 % HE Petroleum + NH ₄ ⁺ Cellulose + NH ₄ ⁺	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Azotobacter</i> <i>Bacillus polymyxa</i> u.a. <i>Acetobacter</i> , <i>Gluconobacter</i> <i>Sporosarcina ureae</i> <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> <i>Sporocytophaga</i>	

* Impfmateriail pasteurisiert HE = Hefeextrakt



Abb. 6.5 Verdünnungsausstrich zur Isolierung einer Reinkultur eines aeroben Bakteriums. Auf dem Agarnährboden wurde mit einer Platinoöse eine Bakteriensuspension ausgestrichen. Nacheinanderfolgende Ausstriche führten zu abnehmender Zelldichte. Die letzten einzeln liegenden Kolonien sind mit hoher Wahrscheinlichkeit aus Einzelzellen hervorgegangen (Aufnahme B. Schink, Konstanz).

6.6.2 Reinkultur

Unter einer Reinkultur versteht man die Nachkommenschaft einer einzelnen Zelle (**Klon**). Eine Reinkultur herzustellen, die Reinheit zweifelsfrei zu beweisen und die Reinkultur von Kontaminanten freizuhalten, ist eine der wichtigsten Aufgaben des Mikrobiologen. Die Isolierung einer Reinkultur von Mikroorganismen erfolgt immer durch Vereinzeln, fast immer auf oder in festen Nährböden. Sie beginnt mit der Abtrennung einer einzelnen Zelle aus einer heterogenen Gemeinschaft und erfordert, dass die aus der Zelle hervorgehende Kolonie von anderen Zellen oder Kolonien getrennt bleibt. Aerobe Bakterien werden nach dem Koch'schen Plattengussverfahren (s.u.) oder – unter geringerem Arbeitsaufwand – durch Ausstreichen mit einer Platindrahtöse auf einem Agarnährboden vereinzelt (Abb. 6.5). Anaerobe Bakterien werden in geschmolzenem, 40 °C warmem 1%igem Agar suspendiert und unter Luftabschluss inkubiert (Abb. 6.6). Durch sorgfältiges Abtrennen einer Kolonie, erneutes Suspendieren in Flüssigkeit und wiederholtes Ausstreichen bzw. Verdünnen in Agar lassen sich die meisten bekannten Mikroorganismen in Reinkultur bringen.

Die Isolierung einer Reinkultur kann auch in flüssigen Nährmedien erfolgen, allerdings nur, wenn der gewünschte Organismus im Ausgangsmaterial zahlenmäßig weit überwiegt. Durch serielle Verdünnung einer mehrfach übertragenen flüssigen Anreicherungskultur in der Nährlösung lässt es sich schließlich erreichen, dass sich in der letzten Verdünnungsstufe statistisch nur noch eine Zelle befindet, aus der dann eine Reinkultur hervorgeht.

Zur Überprüfung der Reinheit einer Kultur setzt man – im Gegensatz zur Anreicherung – ein möglichst wenig selektives, komplexes Nährmedium ein, um eventuellen Kontaminanten das Wachstum zu erleichtern und sie so leicht sichtbar zu machen.

6.6.3 Mischkultur

Natürliche Mikrobengemeinschaften bestehen in der Regel aus vielen verschiedenen Mikroorganismen. Unter ihnen bestehen Wechselbeziehungen verschiedener Art, z. B. **Konkurrenz** um das gemeinsame Substrat, **Kommensalismus** oder **Mutualismus** (Kap. 18). Zum Studium solcher und anderer Wechselbeziehungen nutzt man häufig Mischkulturen. Sowohl in statischen als auch in kontinuierlichen Kulturen (Kap. 6.8) lassen sich definierte Bedingungen herstellen, und es lassen sich Sukzessionen von einzelnen Organismen und angehäuften Stoffwechselprodukten feststellen. Daraus lassen sich Schlüsse auf synergistische oder antagonistische Wechselbeziehungen zwischen den Organismen ziehen. Mischkulturen lassen sich auch durch Vereinigung von Reinkulturen herstellen. Untersuchungen an solchen **definierten Mischkulturen** führen zum Verständnis der komplexen Wechselbeziehungen am natürlichen Standort der Mikroorganismen. Einige Bakterien, vor allem einige strikte Anaerobier, sind obligat auf eine Kooperation mit Partnerorganismen angewiesen und können daher nicht ohne weiteres in Reinkulturen gezüchtet werden.

In Haushalt und Industrie verwendet man durchaus nicht nur Reinkulturen, sondern weit überwiegend stabile Mischkulturen, von denen einige auch als natürliche Reinzuchten bezeichnet worden sind. Beispiele dafür sind Sauerteig, Kefir, der Teepilz oder die Reinzuchtheefe. Insbesondere bei der Wasseraufbereitung und beim Abbau von Abfällen werden vielfältig zusammengesetzte, undefinierte Mischzönosen genutzt.



Abb. 6.6 Verdünnungsreihe von Schwefelpurpurbakterien in Weichagar (0.8%) nach einwöchiger Bebrütung im Licht. Die Abbildung demonstriert die Isolierung einer Reinkultur von anaeroben Bakterien nach der Verdünnungsschüttelkultur-Methode (Aufnahme B. Schink, Konstanz).

6.7 Wachstum und Zellteilung

Unter Wachstum versteht man die Zunahme der lebenden Substanz, in der Regel der Zahl und der Masse der Zellen. Bei einzelligen Organismen besteht das Wachstum in einer Zunahme der Zellzahl. Die prokaryontische Zelle vermehrt sich zumeist durch Zweiteilung. Im Zuge der Massen Zunahme verlängert sich die Zelle annähernd zweifach, während die Zellbreite (Dicke) weitgehend unverändert bleibt. Sie teilt sich anschließend in zwei Tochterzellen, die die gleiche Größe wie die ursprüngliche Mutterzelle haben. Die einzelnen Phasen der Zellmassezunahme und der Veränderung der Zellform während des Wachstums vollziehen sich in einem festgelegten Zyklus, der durch ein komplexes, auf mehreren Schaltebenen organisiertes Regelsystem kontrolliert wird (Kap. 16).

6.7.1 Methoden zur Bestimmung der Zellzahl und der Bakterienmasse

Während des Wachstums einer Population von Bakterien in einer statischen Kultur, also beispielsweise einer Bakteriensuspension in einem Erlenmeyerkolben, besteht zwischen der Zunahme der Zellzahl und der Masse nicht unbedingt eine feste Beziehung. Nach Einimpfung in die Nährlösung teilen sich manche Bakterien rascher als die Masse zunimmt; die Zellen werden zunächst kleiner. In einer späteren Phase des Wachstums kann dann die Rate der Zunahme der Masse die der Zellzahl übersteigen. Aus diesem Grunde ist es notwendig, zunächst zwischen Zellzahl und Zellmasse zu unterscheiden. Bei der Betrachtung von Wachstumsphasen, in denen die Zunahme der Zahl und der Masse nachgewiesenermaßen gleich ist, braucht zwischen beiden Größen nicht unterschieden zu werden. Man spricht dann von **Standardzellen** und ausgeglichenem Wachstum. In diesem Fall kann man also statt der Zellzahl auch die Zellmasse oder eine ihr proportionale Größe wie die Trübung (Optische Dichte) bestimmen. Die auf das Einheitsvolumen (Liter oder Milliliter) bezogene Zellmasse bezeichnet man auch als Zelldichte oder Bakteriendichte (g/l; mg/ml).

Bestimmung der Zellzahl

Die **Gesamtzellzahl** gibt an, wieviele Zellen insgesamt in einer Bakterienpopulation vorhanden sind. Dabei werden alle sichtbaren oder andersartig nachweisbaren Zellen, also auch tote oder geschädigte Zellen, mitgezählt. Lebende Zellen werden dadurch erkennbar, dass sie auf oder im Nähragar Kolonien bilden oder in Nährlösungen zu wachsen vermögen. Diese lebensfähigen Zellen werden anhand der **Lebendzellzahl** angegeben.

Gesamtzellzahl. Zur Bestimmung der Gesamtzellzahl gibt es verschiedene Methoden:

1. Das am weitesten verbreitete Verfahren bedient sich der mikroskopischen Auszählung der in einer Zählkammer (z. B. nach Neubauer, Thoma oder Petroff-Hauser) in einer exakt bemessenen dünnen Schicht ausgebreiteten Zellen.
2. Ein elektronisches Zählgerät (Coulter-Counter) bietet eine bedeutende Erleichterung; es macht sich den Leitfähigkeitsverlust einer Elektrolytlösung zunutze, der beim Durchtritt einer Bakterienzelle durch eine enge Kapillare auftritt. Solche Geräte können heute auch mit optischen Detektoren zur Erkennung spezifisch markierter Zellen ausgerüstet werden.

3. Bei Zellzahlen unter 10^6 Zellen/ml lässt sich eine Membranfiltermethode anwenden. Meer-, Teich- oder Trinkwasser wird durch einen Membranfilter filtriert, letzterer wird getrocknet, mit z. B. fluoreszierenden Farbstoffen angefärbt, transparent gemacht und die fluoreszierenden Zellen mikroskopisch ausgezählt.

Lebendzellzahl. Üblicherweise werden für die Lebendzellzahl die aus lebensfähigen Zellen unter günstigen Wachstumsbedingungen hervorgehenden Kolonien ausgezählt. Nach dem Koch'schen Plattengussverfahren wird ein aliquoter Teil einer in geeigneter Weise verdünnten homogenen Zellsuspension mit flüssigem Nähragar bei 40–45 °C vermischt und in Petrischalen ausgegossen. Die Suspension kann auch auf der Agaroberfläche einer Petrischale mit einem Drigalski-(Dreieck-)Spatel ausgespatelt werden, oder die Zellen können durch Filtration auf einem Filter (Göttinger Membranfilter, Nuclepore-Filter) niedergeschlagen werden, welcher anschließend auf Nähragar oder Nährkartonscheiben aufgelegt wird. In allen Fällen werden nach Bebrüten die Kolonien gezählt. Die Anwendung des Koch'schen Plattengussverfahrens und abgeleiteter Methoden ist auf die Zählung artgleicher Zellen aus homogenen Suspensionen ausgerichtet und lässt sich nicht ohne Weiteres auf die Zählung artverschiedener Individuen aus heterogenen Gemeinschaften übertragen. Auch ist nicht jede lebende Zelle unmittelbar vermehrungsfähig: an ihrem natürlichen Standort leben viele Mikroorganismen in einem Schlafzustand (engl. dormant state), aus dem sie nicht ohne Weiteres wieder zum Wachsen angeregt werden können (Kap. 17).

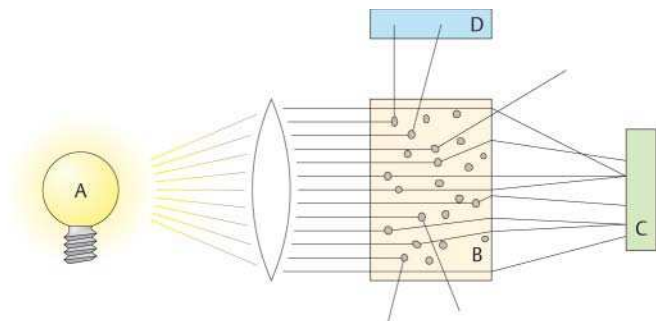
Bestimmung der Zellmasse

Die Wahl des anzuwendenden Verfahrens hängt davon ab, in welchem Zusammenhang auf die Zellmasse Bezug genommen werden soll. Bei der Bestimmung von Zellerträgen (Ausbeuten) wird häufig die Frisch- oder die Trockenmasse ermittelt. Als Bezugsgrößen für Stoffwechsel- und Enzymaktivitäten dienen der Protein- oder der Stickstoffgehalt.

Direkte Methoden:

1. Die **Frischmasse** wird nach Abzentrifugieren der Zellen bestimmt. Nachdem die Zellen gewaschen und getrocknet wurden, lässt sich die **Trockenmasse** ermitteln. Beide Methoden sind mit beträchtlichen systematischen Fehlern behaftet.
2. Erheblich genauer lässt sich der **Gesamtstickstoffgehalt** (Mikro-Kjeldahl-Verfahren und Mikro-Diffusion des Ammoniums) und der Gesamtkohlenstoffgehalt (nach Van Slyke-Folch) ermitteln.

Abb. 6.7 Messung der Zelldichte durch optische Verfahren. Bei der Extinktionsmessung wird die Intensitätsminderung des von der Lichtquelle A ausgestrahlten Lichts durch streuende Bakterienzellen in der Küvette B im durchfallenden Licht gemessen (Detektor C; Turbidimetrie). Alternativ kann man die Intensität des gestreuten Lichtes messen (Detektor D; Nephelometrie).



3. Routinemäßig wird häufig das **Zellprotein** nach alkalischer Hydrolyse der Zellen bestimmt. Modifikationen der Biuretmethode und andere colorimetrisch erfassbare Farbreaktionen leisten dabei gute Dienste. Mit Mikroverfahren werden repräsentative Proteinbausteine (Tyrosin, Tryptophan, nach Lowry oder Folin-Ciocalteu), oder die spezifische Bindung von Protein an einen Farbstoff und eine damit einhergehende Farbveränderung (nach Bradford) gemessen.

Indirekte Methoden:

1. Eine gute Methode der Bestimmung der Zellmasse ist die Ermittlung der **Trübung** einer Zellsuspension. Im Routinebetrieb wird die optische Dichte einer Suspension als Extinktion gemessen (Extinktionsmessung, **Turbidimetrie**). Diese Methode ist sehr genau und bequem. Für manche Zwecke ist die Messung des gestreuten Lichtes (**Nephelometrie**) genauer (Abb. 6.7). Eine lineare Abhängigkeit zwischen den Messwerten und der Zellmasse besteht bei beiden Verfahren nur im Bereich geringer Zelldichten ($OD < 0,3$). Da die Lichtstreuung von der Größe, der Gestalt und dem Brechungsindex der streuenden Teilchen, von Inhaltsstoffen der Zellen und auch von der Geometrie der Anordnung von Lichtquelle, Messküvette und Photozelle im Photometer abhängt, müssen die Beziehungen der gewonnenen Messwerte zu direkt erhaltenen Größen (Trockenmasse, Stickstoff- oder Kohlenstoffgehalt) jeweils neu ermittelt werden.
2. **Stoffwechselgrößen**, die direkt mit dem Wachstum zusammenhängen (O_2 -Aufnahme, Produktion von CO_2 oder Säure) können nur bedingt als adäquates Maß für die Mikroorganismenmasse herangezogen werden. Ihre bequeme Messung ist in Fällen angezeigt, in denen andere Methoden versagen, z. B. bei sehr geringen Zelldichten oder in trüben Nährmedien. Zur Messung werden titrimetrische, manometrische, elektrochemische u. a. Verfahren angewandt.

6.7.2 Kinetik des Wachstums

Bakterien vermehren sich typischerweise durch Zweiteilung. Ihre Vermehrung entspricht einer geometrischen Progression $2^0 \rightarrow 2^1 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \dots \rightarrow 2^n$. Die Zellzahl nimmt also während jedes Zeitabschnittes um einen konstanten Faktor zu; man spricht von exponentiellem Wachstum (oft fälschlich logarithmisches Wachstum genannt). Enthält das Einheitsvolumen einer wachsenden statischen Kultur N_0 Zellen, so beträgt die Zellzahl N nach n Teilungen also $N_0 \cdot 2^n$. Durch Logarithmierung erhält man $\lg N = \lg N_0 + n \cdot \lg 2$ und für die Anzahl der Zellteilungen

$$n = \frac{\lg N - \lg N_0}{\lg 2}. \quad (6.1)$$

Für die Anzahl der Zellteilungen pro Zeit, die auch **Teilungsrate** v genannt wird, ergibt sich also

$$v = \frac{n}{t} = \frac{\lg N - \lg N_0}{\lg 2(t - t_0)}. \quad (6.2)$$

Das Zeitintervall für die Verdopplung der Zellzahl bezeichnet man als **Generationszeit**, die der Verdopplung der Zellmasse als **Verdopplungszeit**. Wenn Zellzahl und Zellmasse in gleichem Maß zunehmen, sind Generationszeit (g) und Verdopplungszeit (t_d) einander gleich.

Vermehrt sich eine Zellsuspension in zehn Stunden von 10^3 auf 10^9 Zellen, so beträgt die Teilungsrate

$$v = \frac{\log 10^9 - \log 10^3}{0,303 \cdot 10} \approx \frac{6}{3} = 2 \text{ h}^{-1} \quad (6.3)$$

und die Generationszeit eine halbe Stunde.

Trägt man die Zellzahl einer exponentiell wachsenden Population auf der Ordinate und die Zeit auf der Abszisse auf, beide Größen in arithmetischem Maßstab, so erhält man eine Exponentialkurve (Abb. 6.8). Alternativ kann eine halblogarithmische Darstellung gewählt werden, in der auf der Ordinate die Logarithmen der Zellzahlen aufgetragen werden. Dabei wird exponentielles Wachstum durch eine Gerade dargestellt (Abb. 6.8). Die Steilheit dieser Geraden entspricht der Teilungsrate.

Man kann eine wachsende Bakterienpopulation auch als ein sich autokatalytisch vermehrendes System betrachten. Die Geschwindigkeit der Veränderung der Zellmasse x ist dann zu jedem Zeitpunkt der Größe x proportional und folgt somit der **Kinetik einer Reaktion erster Ordnung**. Während des exponentiellen Wachstums ist dann

$$\frac{dx}{dt} = \mu x, \quad (6.4)$$

wobei μ die **Wachstumsrate**(nkonstante) ist. Durch Integration ergibt sich daraus

$$x = x_0 \cdot e^{\mu \cdot t} \quad (6.5)$$

und für eine Verdopplung von x_0 zu $2 x_0$

$$2 x_0 = x_0 \cdot e^{\mu \cdot t_d}. \quad (6.6)$$

Daraus folgt

$$2 = e^{\mu \cdot t_d} \quad (6.7)$$

oder

$$\ln 2 = \mu \cdot t_d \quad (6.8)$$

oder

$$\mu = \frac{\ln 2}{t_d} = \frac{0,693}{t_d}. \quad (6.9)$$

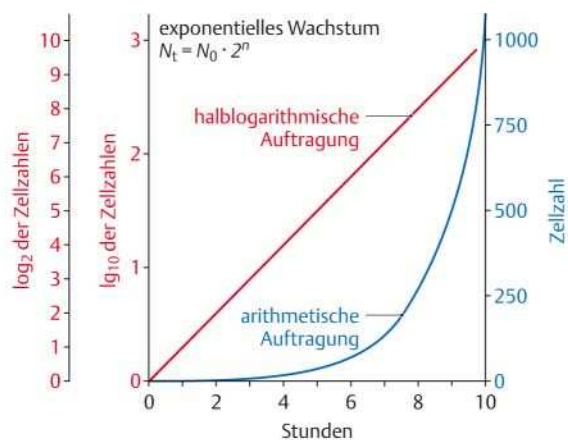


Abb. 6.8 Exponentielles Wachstum von Einzelzellen. Arithmetische (blau) und halblogarithmische (rot) Auftragung der Zellzahl gegen die Zeit.

Die Wachstumsrate μ ist also mit dem reziproken Wert der Verdopplungs- oder Generationszeit, der Teilungsrate v , verknüpft durch

$$v = \frac{1}{t_d} = \frac{\mu}{0,693}. \quad (6.10)$$

Die beiden Parameter μ und v beziehen sich dabei auf den gleichen Prozess einer sich exponentiell vermehrenden Bakterienpopulation. Wenn die Masse der Einzelzellen konstant ist (so genannte Standardzellen), wird $t_d = g$ und $\mu = \ln 2 \cdot v$. In Wirklichkeit enthält jede reale Kultur einen gewissen Anteil defekter, nicht teilungsfähiger Zellen, weshalb die Generationszeit der sich aktiv teilenden Zellen immer geringfügig kürzer sein muss als die Verdopplungszeit der gesamten Kultur.

6.8 Physiologie des Wachstums

Das Wachstum von Zellen in einer statischen Kultur hängt von vielen Faktoren ab. Die Zellen durchlaufen eine Folge von Veränderungen, die durch die Verfügbarkeit des Wachstumssubstrats, der Anpassung an ein evtl. neu angebotenes Substrat, sowie die Limitierung des Wachstums durch eine oder mehrere Nährlösungskomponente(n) oder andere Wachstumsfaktoren bestimmt werden. Solange alle Wachstumsfaktoren reichlich zur Verfügung stehen, wachsen die Zellen mit maximaler Rate. Wenn das energieliefernde Substrat das Wachstum begrenzt, lässt der erreichte Wachstumsertrag Schlüsse auf die Effizienz der Energiekonservierung (ATP-Bildung) zu (Kap. 6.8.2). In einer kontinuierlichen Kultur wird über beliebige Dauer ein Wachstumsfaktor limitierend gehalten und die Zellen wachsen ständig bei submaximaler Rate, jedoch unter langfristig stabilen und leicht kontrollierbaren Bedingungen.

6.8.1 Bakterienwachstum in statischer Kultur

Werden Bakterien in eine Nährlösung eingepflegt, so wachsen sie im Allgemeinen so lange, bis ein Faktor der Nährlösung ins Minimum gerät und das Wachstum begrenzt. Werden während dieses Vorgangs keine Nährstoffe zu- oder Stoffwechselprodukte abgeführt, so bezeichnet man das Wachstum in diesem vorgegebenen Lebensraum als **statische Kultur**. Das Wachstum in einem derartigen geschlossenen System gehorcht Gesetzmäßigkeiten, denen nicht nur Einzeller, sondern auch vielzellige

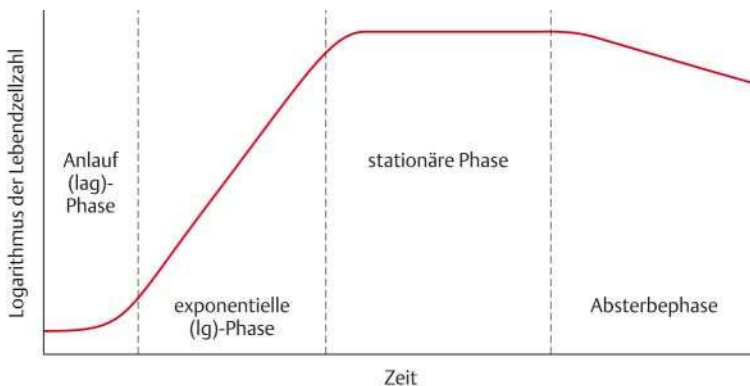


Abb. 6.9 Idealisierte Wachstumskurve einer Bakterienkultur.

Organismen unterliegen. Eine statische Kultur verhält sich wie ein vielzelliger Organismus mit genetisch begrenztem Wachstum.

Das Wachstum einer Bakterienkultur wird in graphischer Darstellung anschaulich, wenn man die Logarithmen der Lebendzellzahl gegen die Zeit aufträgt. Eine typische Wachstumskurve (Abb. 6.9) lässt mehrere Wachstumsphasen unterscheiden: Anlauf- (oder lag-)Phase, exponentielle Phase, stationäre Phase und Absterbephase.

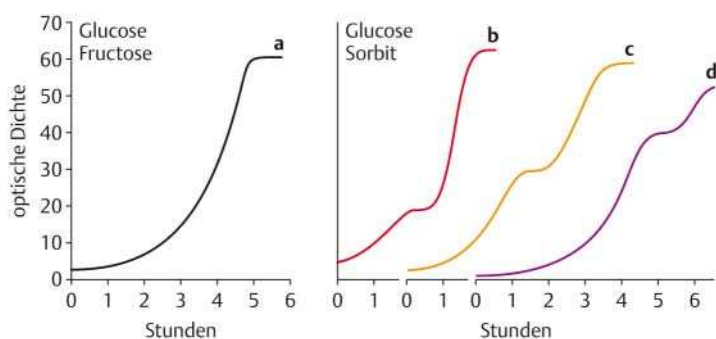
Anlaufphase. Die Anlaufphase umfasst das Zeitintervall zwischen der Beimpfung und dem Erreichen der maximalen Teilungsrate. Die Dauer der Anlaufphase ist insbesondere von der Vorkultur und vom Alter des Impfmateri als sowie von der Eignung der Nährlösung abhängig. Stammt das Impfmateri aus einer alten Vorkultur (stationäre Wachstumsphase), so hat sich die Zelle durch RNA-, Ribosomen- und Enzymsynthese erst auf die neuen Wachstumsbedingungen einzustellen. Unterscheidet sich die Energie- und Kohlenstoffquelle in der neuen Nährlösung von derjenigen der Vorkultur, so ist die Anpassung (Adaptation) an die neuen Bedingungen häufig mit einer Neusynthese von Enzymen verbunden, die in der Vorkultur nicht benötigt und auch nicht gebildet worden waren. Die Bildung der neuen Enzyme wird zumeist durch das neue Substrat induziert (Plus 6.4).

Die Veränderungen in der quantitativen Zusammensetzung der Bakterienzelle während der Anlaufphase spiegeln sich im Gehalt an Ribonukleinsäure am stärksten wider: Der **RNA-Gehalt** steigt auf das 8–12fache. Dabei handelt es sich um überwiegend ribosomale RNA, die mit der Zahl der Ribosomen stark ansteigt.

Exponentielle Phase. Die exponentielle Wachstumsphase ist durch eine konstante minimale Generationszeit charakterisiert. Die minimale Generationszeit während dieser Phase ist eine für jede Bakterienart spezifische, milieuhängige Größe. Viele Enterobacteriaceen teilen sich alle 15–30 min, *Escherichia coli* bei 37 °C in Komplexmedium etwa alle 20 min. Bei anderen Bakterien ist die Generationszeit erheblich länger

Plus 6.4 Diauxie

Ein Beispiel für die Wirkung der Substrate auf die Enzymbildung bietet das Phänomen der so genannten **Diauxie** (Abb.). Diese Erscheinung des zweiphasigen Wachstums findet man in Nährlösungen, in denen Gemische von Nährstoffen vorliegen. Von einem Gemisch aus z. B. Glucose und Sorbit (ein Zuckeralkohol) wird durch *Escherichia coli* zuerst Glucose genutzt. Glucose induziert zunächst die zu seiner Verwertung notwendigen Enzyme und unterdrückt (reprimiert) gleichzeitig die Synthese der zur Sorbitverwertung notwendigen Enzyme. Diese werden erst nach Verbrauch der Glucose produziert.



Zweiphasiges Wachstum von *Escherichia coli* in Minimalmedium mit Zuckern als Substraten (Diauxie). a Mit einem Gemisch von Glucose und Fructose erhält man eine typische Wachstumskurve. Mit Gemischen aus Glucose und Sorbit im Verhältnis 1 : 3 (b), 1 : 1 (c) und 3 : 1 (d) ergeben sich zweiphasige (diauxische) Wachstumskurven (nach Dissertation von J. Monod, 1942).

und beträgt bei vielen Bodenbakterien 60–150 min, bei *Nitrosomonas* und *Nitrobacter* 5–10 Stunden, bei *Mycobacterium* sp. 12–20 Stunden und bei alkanverwertenden Sulfatreduzierern mehrere Tage bis Wochen.

Bei vielen Bakterien sind Zellgröße und Zellproteingehalt während der exponentiellen Wachstumsphase konstant; die Kultur besteht im Wesentlichen aus **Standardzellen**. Wenn dies eindeutig nachgewiesen ist und Zellzahl, Protein und Trockenmasse mit gleicher Rate zunehmen, so kann man das Wachstum durch Messung einer dieser Größen verfolgen. In vielen Fällen verändern sich in einer statischen Kultur die Zellen jedoch auch während des exponentiellen Wachstums, da sich auch das Milieu fortwährend ändert: Die Substratkonzentration nimmt ab, die Zelldichte steigt und Stoffwechselprodukte, z. B. saure Gärprodukte, häufen sich an.

Stationäre Phase. Wenn die Zellen nicht mehr wachsen, hat die Kultur die stationäre Phase erreicht. Die Wachstumsrate ist von der Substratkonzentration abhängig; infolgedessen nimmt bei abnehmender Substratkonzentration bereits vor dem völligen Verbrauch des Substrats die Wachstumsrate ab. Der Übergang von der exponentiellen zur stationären Phase erfolgt daher allmählich. Außer der Substratbegrenzung können auch die hohe Populationsdichte, niedriger O_2 -Partialdruck und die Ansammlung hemmender oder toxischer Stoffwechselprodukte die Wachstumsrate herabsetzen und die stationäre Phase einleiten. In der stationären Phase können noch Speicherstoffe genutzt, ein Teil der Ribosomen abgebaut und Enzyme gebildet werden (Plus 6.5). Die einzelnen Vorgänge sind von dem Faktor abhängig, der das Wachstum begrenzt. Nur sehr empfindliche Zellen sterben rasch ab. Sofern die zur Zellerhaltung notwendige Energie durch Veratmung von Speicherstoffen oder Proteinen gewonnen werden kann, bleiben Bakterien lange Zeit lebensfähig.

Absterbephase. Die Absterbephase und die Ursachen des Absterbens von Bakterienzellen in normalen Nährlösungen sind noch wenig untersucht. Die Lebendzellzahl kann exponentiell abnehmen. Unter Umständen lösen sich die Zellen durch Wirkung von zelleigenen Enzymen auf (**Autolyse**).

6.8.2 Parameter der Wachstumskurve

Verfolgt man das Wachstum einer statischen Kultur an der Vermehrung der Masse (Trockenmasse), so interessieren in erster Linie drei Größen, die das Wachstum kennzeichnen: die Wachstumsparameter Ertrag, Wachstumsrate und Anlaufzeit.

Ertrag. Der Ertrag (Abb. 6.10a) ist die Differenz zwischen der anfänglichen und der maximal erreichten Bakterienmasse: $x = x_{\max} - x_0$. Er wird in Gramm Trockenmasse angegeben. Von besonderer Bedeutung ist das Verhältnis des Ertrags zum Substratverbrauch (x/S). Werden beide Größen in Gewichtseinheiten angegeben, so bezeichnet man den Quotienten als **Ertragskoeffizienten** oder Wachstumsertrag (engl. growth yield) Y . Häufig bezieht man den Ertrag auf die Stoffmenge des Substrats und berechnet den **molaren Ertragskoeffizienten** Y_m (g Zellen/mol Substrat). Der molare Ertragskoeffizient macht es möglich, den Ertrag mit der aus einer Energiequelle (Substrat) gewinnbaren Menge an ATP in Verbindung zu setzen. Man gelangt zum **Energie-Ertragskoeffizienten** (g Zellen/mol ATP). Er lässt sich berechnen, wenn für die Verwertung eines Substrats der Abbauweg und die dabei zu erzielende ATP-Ausbeute bekannt sind (Plus 6.6).

Plus 6.5 Die Idiophase

Bei vielen mikrobiellen Produktionsprozessen, die auf die Bildung von sekundären Metaboliten (z. B. Penicillin, Kap. 19.7) abzielen, ist die stationäre Phase die eigentliche Produktionsphase. In der Biotechnologie unterscheidet man daher eine **Trophophase** (Ernährungs- oder Wachstumsphase) von der **Idiophase** (Produktionsphase). Obwohl die Zellen in der Idiophase nicht mehr wachsen, werden oft noch zugesetzte Substrate genutzt und z. B. Produktvorstufen in Produkte eingebaut.

Plus 6.6 Der Energie-Ertragskoeffizient

Für anaerobe Kulturen von *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*, deren Wachstumsrate durch die Zufütterung von Glucose begrenzt war, wurden Y_{ATP} -Werte von 12,4 g bzw. 14 g Zellmasse/mol ATP ermittelt. Natürlich hängt dieser Wert von der Art des Substrats ab, d. h. von dem biochemischen Aufwand, der für die Bildung von Zellsubstanz aus diesem Substrat erforderlich ist. Die Bildung von Zellsubstanz aus Zuckern ist vergleichsweise einfach. Sehr viel mehr Aufwand muss für die Zellsubstanzsynthese aus Acetat oder gar aus CO_2 betrieben werden; entsprechend fallen Y_{ATP} -Werte mit solchen Substraten deutlich geringer aus (> 2 g/mol ATP). Auch die Art der Stickstoffquelle kann sich im Energie-Ertragskoeffizienten niederschlagen.

Wenn man diese Aspekte berücksichtigt und den Energie-Ertragskoeffizienten konsequent nur auf die Menge des dissimilierten (nicht des assimilierten!) Substrats bezieht, lassen sich die erhaltenen Y_{ATP} -Werte sehr gut vergleichen, unabhängig davon, ob man mit atmenden oder gärenden Organismen umgeht. Bestimmt man für ein neues Bakterium einen erheblich größeren Wert als erwartet, so kann man auf „Nebeneinnahmen“, z. B. Assimilation aus zugesetztem Hefeextrakt oder Energie aus einem zusätzlichen energieliefernden Stoffwechselweg schließen.

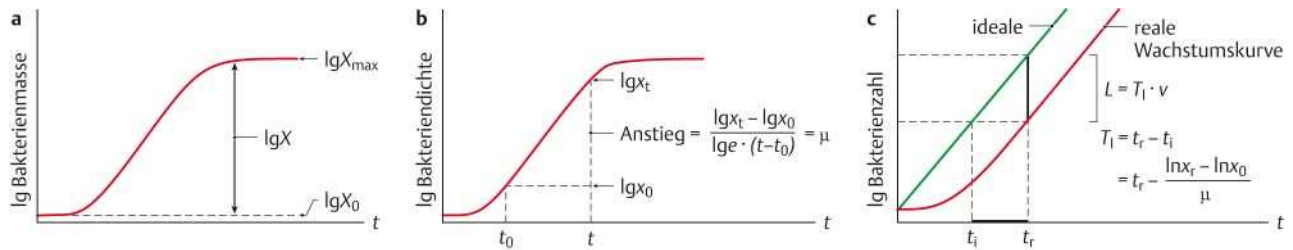


Abb. 6.10 Wachstumsparemeter. **a** Ertrag, **b** Wachstumsrate und **c** Anlaufzeit. X , Ertrag; x , Bakteriendichte; T_l , Anlaufzeit; μ , Wachstumsrate; weitere Erklärung siehe Text.

Exponentielle Wachstumsrate. Die exponentielle Wachstumsrate μ ist ein Maß für die Geschwindigkeit des Zellwachstums in der exponentiellen Wachstumsphase (Abb. 6.10b). Sie errechnet sich nach Gleichung 6.5 aus den zu den Zeiten t_0 und t gemessenen Bakteriendichten x_0 und x_t nach

$$\mu = \frac{\ln x_t - \ln x_0}{t - t_0} = \frac{\lg x_t - \lg x_0}{\lg e \cdot (t - t_0)} \quad (6.11)$$

wobei $\lg e = 0,43429$ ist. Die Verdopplungszeit ist $t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$.

Anlaufzeit. Die Anlaufzeit (Abb. 6.10c) ist ein für die Beurteilung der Eigenschaften eines Bakteriums oder der Eignung eines Nährbodens sehr wichtiger Parameter. Die Anlaufzeit T_l ist das Zeitintervall zwischen dem Zeitpunkt t_r , zu dem die Kultur eine bestimmte Dichte x_r erreicht hat, und dem Zeitpunkt t_i , zu dem sie dieselbe Dichte erreicht haben würde, wenn sie vom Zeitpunkt der Impfung an exponentiell gewachsen wäre (als Index stehen l für lag-Phase, r für reales Wachstum und i für ideales Wachstum).

$$T_l = t_r - t_i = t_r - \frac{\ln x_r - \ln x_0}{\mu} \quad (6.12)$$

Da der Parameter T_l nur brauchbar ist, wenn zwei Kulturen mit gleichen exponentiellen Wachstumsraten verglichen werden, empfiehlt sich die Angabe der Anlaufzeit nicht in absoluter, sondern in physiologischer Zeit (Generationszeit g). Die Differenz zwischen beobachtetem realem und idealem Wachstum, ausgedrückt durch das Vielfache der Generationszeit, ist $L = T_l \cdot v$. Der L -Wert gibt also an, um wie viele Verdopplungen eine reale gegenüber einer idealen Kultur im Rückstand ist, die von Anfang an exponentiell gewachsen wäre.

6.8.3 Lineares Wachstum

Das oben beschriebene exponentielle Wachstum wird immer dann beobachtet, wenn der Zellzuwachs pro Zeiteinheit ausschließlich von der Wachstumsrate und der vorhandenen Zelldichte bestimmt wird. In der Realität kann dies immer nur für begrenzte Zeit sichergestellt werden, da insbesondere in dichten Zellsuspensionen bald andere Faktoren begrenzend werden. In dichten Suspensionen phototropher Bakterien wird als Folge der zunehmenden gegenseitigen Verschattung die Lichtausbeute pro Zelle immer geringer. Ähnliches gilt für die Sauerstoffversorgung in dichten aerob wachsenden Suspensionen. In beiden Fällen wird der Zellzuwachs dann durch eine Konstante, nämlich den Lichteintrag oder den Sauerstoffeintrag, bestimmt, und es resultiert ein lineares Wachstum.

Lineares Wachstum beobachtet man auch in Bakterienkulturen, in denen z. B. die Verfügbarkeit von Vitaminen das Wachstum begrenzt. Der vorhandene Bestand an Coenzymen in der Zelle reicht zur Sicherung einer linearen Zellmassenzunahme aus; die Zellen werden häufig ungewöhnlich lang und teilen sich nicht mehr. Auch manche filamentös wachsende Pilze vermehren ihre Zellmasse nur durch apikales Wachstum, was ebenfalls eine weitgehend lineare Zellmassezunahme zur Folge hat.

6.8.4 Bakterienwachstum in kontinuierlicher Kultur

In einer statischen Kultur ändern sich die Kulturbedingungen fortwährend; die Bakteriendichte nimmt zu, und die Substratkonzentration sinkt ab. Für viele physiologische Untersuchungen erscheint es jedoch wünschenswert, die Zellen über lange Zeit bei gleichbleibender Substratkonzentration und bei auch sonst gleichen Milieubedingungen zu halten und exponentiell wachsen zu lassen. Durch kurzfristig wiederholte Übertragung der Zellen in neue Nährlösung lassen sich solche Bedingungen angenähert herstellen. Das Ziel wird auf einfacherem Wege erreicht, wenn einer wachsenden Bakterienpopulation laufend neue Nährlösung zugeführt und in gleichem Maß Bakteriensuspension abgeführt wird. Dieses Verfahren liegt der kontinuierlichen Kultur zugrunde, wie sie im Chemostaten und im Turbidostaten betrieben wird.

Wachstum im Chemostaten

Der Chemostat (Abb. 6.11) besteht aus einem Kulturgefäß mit Ablauf, in das aus einem Vorratsgefäß Nährlösung mit konstanter Rate einfließt. Durch intensive Rührung und gegebenenfalls Belüftung wird im Kulturgefäß für eine möglichst sofortige gleichmäßige Verteilung der zufließenden Nährlösung gesorgt. Mit gleicher Rate, mit der dem Kulturgefäß Nährlösung zugeführt wird, wird Bakteriensuspension abgeführt.

Beträgt das Volumen des Kulturgefäßes V (Liter) und fließt die Nährlösung mit der **Zuflußrate** f (l/h) zu, so ist die **Verdünnungsrate** $D = f/V$. D gibt also den Volumenwechsel pro Stunde an. Würden die bei Inbetrieb-

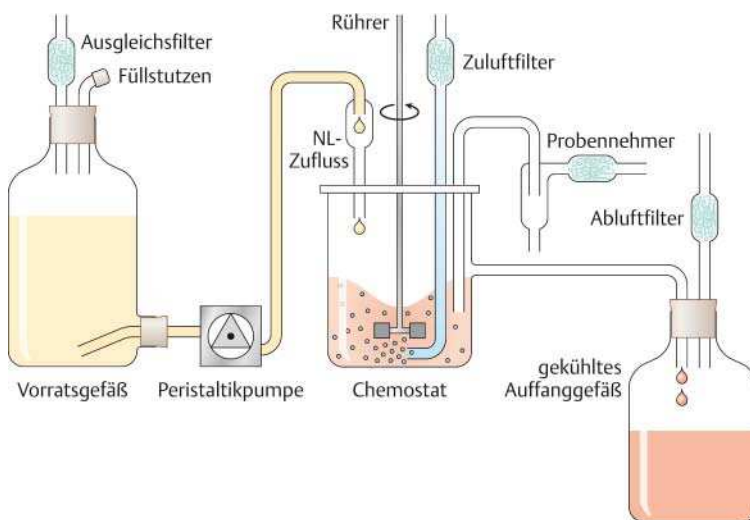


Abb. 6.11 Prinzip der kontinuierlichen Kultur im Chemostaten. NL, Nährlösung.

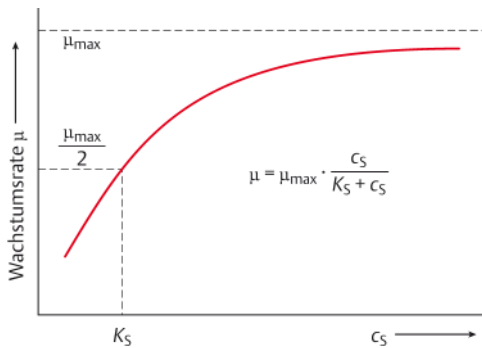


Abb. 6.12 Abhängigkeit der Wachstumsrate μ von der Substratkonzentration c_S .

Plus 6.7 Das Konzept der Substrataffinität

Das Konzept der Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Substratkonzentration wurde durch Jacques Monod in Analogie zum Konzept von Michaelis und Menten zur Enzymkinetik entwickelt. Die formale Gleichsetzung einer ganzen Bakterienzelle mit einem Enzymmolekül erscheint gewagt; der Ansatz hat sich jedoch durchaus bewährt. Die Halbsättigungskonstante K_S mag der Affinitätskonstante K_M des Bindeproteins bei der Substrataufnahme oder der des Enzyms entsprechen, das das Substrat als erstes bindet. Man muss jedoch berücksichtigen, dass der K_S -Wert eines Bakteriums für ein bestimmtes Substrat nicht unbedingt eine Konstante ist; abhängig von der Substratversorgungsanlage können die Anzahl von Substrattransportmolekülen verändert oder alternative, z. B. hochaffine Transporter gebildet werden.

setzung des Chemostaten im Kulturgefäß befindlichen Bakterien (x [g/l]) nicht wachsen, so würden sie aus dem Gefäß mit der **Auswaschrate**

$$D \cdot x = - \frac{dx}{dt} \quad (6.13)$$

ausgewaschen. Die Bakteriendichte im Gefäß würde also exponentiell nach

$$x = x_0 \cdot e^{-Dt} \quad (6.14)$$

abnehmen.

Das Wachstum der Bakterien in dem Kulturgefäß erfolgt exponentiell. Die Zuwachsrate ist gegeben durch den Ausdruck

$$\mu x = dx/dt, \quad (6.4)$$

die Bakteriendichte nimmt exponentiell nach

$$x = x_0 \cdot e^{\mu \cdot t} \quad (6.5)$$

zu. Die Rate der Veränderung der Bakteriendichte dx/dt in dem Kulturgefäß setzt sich also aus den beiden genannten Geschwindigkeiten zusammen

$$dx/dt = \mu x - Dx = x(D - \mu). \quad (6.15)$$

Ist die Wachstumskonstante μ gleich der Verdünnungsrate D , so gleichen sich Auswaschverlust und Bakterienzuwachs aus, d. h., die Änderung dx/dt ist Null, und die Bakteriendichte x bleibt konstant. Unter diesen Bedingungen befindet sich die Kultur im **Fließgleichgewicht**; die exponentielle Vermehrung der Zellen wird durch einen negativ exponentiellen Auswaschvorgang kompensiert. Dieses Fließgleichgewicht wird sich immer einstellen, solange die Verdünnungsrate D die maximale Wachstumsrate $\mu_{\max}$ der Bakterien unter den jeweiligen Kulturbedingungen nicht übersteigt.

Der Chemostat erlaubt die Aufrechterhaltung eines **substratbegrenzten Wachstums** über beliebig lange Zeiträume, und lässt so die Untersuchung von Limitationszuständen unter strikt kontrollierten Verhältnissen zu. Auf der Begrenzung der Wachstumsrate durch die Zulieferung eines beliebigen für das Wachstum notwendigen Substrats (H-Donator, C-, N-, S- oder P-Quelle) beruht die Stabilität des Systems. Wenn dafür gesorgt wird, dass die wirkliche Wachstumskonstante μ kleiner ist als die bei Substratsättigung erreichbare maximale Wachstumskonstante $\mu_{\max}$, so lässt sich die Verdünnungsrate D in einem weiten Bereich variieren, ohne dass die Bakterien ausgewaschen werden.

Die Abhängigkeit der Wachstumskonstante μ von der Substratkonzentration c_S folgt einer Sättigungskurve (Abb. 6.12). Im Allgemeinen wachsen Bakterien schon bei geringen Substratkonzentrationen (z. B. 10 mg Glucose/l Nährlösung = 50 μ M Glucose) mit maximaler Rate. Erst bei niedrigeren Substratkonzentrationen wird μ konzentrationsabhängig. K_S ist dann die Substratkonzentration, bei der die Wachstumskonstante μ ihren halben maximalen Wert erreicht ($\mu = \mu_{\max}/2$). K_S ist neben Y und $\mu_{\max}$ einer der fundamentalen Wachstumsparameter der Bakterien im Chemostaten (Plus 6.7).

In Abbildung 6.13 sind die Bakteriendichte, die Substratkonzentration, die Verdopplungszeit und die Bakterienausbeute gegen die Verdünnungsrate D aufgetragen. Wird die Verdünnungsrate D zwischen Null und dem Auswaschpunkt D_c variiert, so ändert sich die Bakteriendichte in einem weiten Bereich nur wenig. In diesem Bereich reagieren die

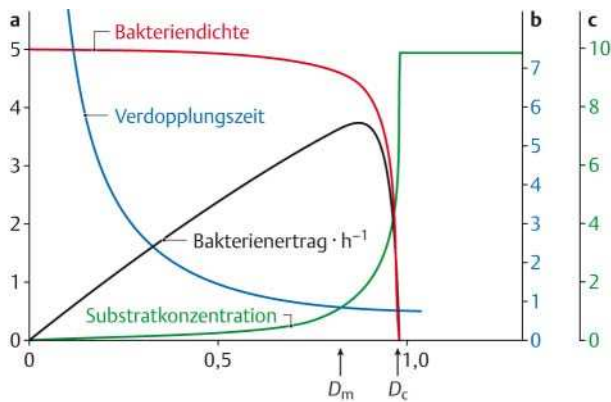


Abb. 6.13 Beziehungen zwischen Bakteriendichte, Substratkonzentration, Verdopplungszeit und Bakterienenertrag im Fließgleichgewicht bei verschiedenen Verdünnungsraten D im Chemostaten. Die Werte sind für ein Bakterium mit den Parametern $\mu_{\max} = 1,0 \text{ h}^{-1}$, $Y = 0,5$, $K_s = 0,2 \text{ g/l}$ und einer Substratkonzentration in der zufließenden Nährlösung von $S_R = 10 \text{ g/l}$ berechnet. Ordinaten: **a** Bakterienenertrag $Dx \text{ (g/l} \cdot \text{h)}$. **b** Verdopplungszeit $t_d \text{ (h)}$; **c** Substratkonzentration im Versuchsgefäß $c_s \text{ (g/l)}$. Abszisse: Verdünnungsrate $D \text{ (h}^{-1}\text{)}$; D_m Verdünnungsrate mit maximalem Bakterienenertrag; D_c Auswaschpunkt.

Bakterien auf eine Steigerung von D mit einem Anstieg ihrer Wachstumsrate. Die gesteigerte Wachstumsrate wirkt sich in einem zunehmenden Bakterienausstoss aus. Dieser erreicht bei D_m sein Maximum; oberhalb D_m geht er rasch zurück.

Die Substratkonzentration im Kulturgefäß und in der das Gefäß verlassenden Suspension ist bei niedrigen Verdünnungsraten über einen weiten Bereich gering. Bei der Verdünnungsrate, die der halbmaximalen Wachstumsrate entspricht, ist die Substratkonzentration im Kulturgefäß definitionsgemäß identisch mit der Halbsättigungskonzentration K_s . Auf diese Weise lässt sich K_s experimentell bestimmen. Wenn sich die Verdünnungsrate der maximalen Wachstumsrate nähert, wird ein immer größer werdender Anteil des Substrats mit ausgewaschen; und bei $D > \mu_{\max}$ erreicht die Substratkonzentration im Auslauf diejenige der zufließenden Nährlösung.

Die Stabilität des Fließgleichgewichts im Chemostaten beruht auf der Begrenzung der Wachstumsrate durch ein Substrat. Die Wachstumskonstante μ wird auf einem niedrigen Wert gehalten. Der Chemostat ist als selbstregulierendes System leicht zu betreiben. Er stellt u. a. ein gutes Modellsystem für die Wachstumsverhältnisse an einem natürlichen Standort bei stabilem limitierendem Substratnachschub dar und erlaubt die Untersuchung der Regulation des Wachstums bei geringen Wachstumsraten. Fließgewässer und Verdauungssysteme höherer Organismen sind komplexe kontinuierliche Kulturen; sie werden nicht homogen durchmischt und sind daher mit dem Chemostaten nur begrenzt vergleichbar.

Da im Chemostaten bei geringer Verdünnungsrate eine Selektierung auf hohe Substrataffinität erfolgt, kann man ihn auch für die **Anreicherung von Bakterien mit hoher Substrataffinität** aus natürlichem Standortmaterial einsetzen.

Wachstum im Turbidostaten

Der kontinuierlichen Kultur im Chemostaten steht die im Turbidostaten gegenüber. Wie der Name sagt, beruht sein Betrieb auf der Konstanthaltung einer bestimmten Bakteriendichte oder Trübung. Ein Trübungsmesser regelt über ein Schaltsystem die Nährlösungszufuhr. Im Kulturgefäß sind alle Nährstoffe im Überschuss vorhanden, und die Bakterien wachsen mit annähernd maximaler Wachstumsrate. Der Betrieb des Turbidostaten ist technisch aufwendiger als der des Chemostaten.

6.8.5 Unterschiede zwischen statischer und kontinuierlicher Kultur

Zwischen der klassischen statischen Kultur und der kontinuierlichen Kultur im Chemostaten bestehen grundlegende Unterschiede, die abschließend noch einmal betont werden sollen:

Die **statische Kultur** ist als geschlossenes System anzusehen, das in seiner Entwicklung eine Anlaufphase, eine exponentielle Phase, stationäre Phase und Absterbephase durchmacht (Jugend, Blüte, Altern und Tod). Zu jedem Zeitpunkt herrschen andere Kulturbedingungen. Eine Automatisierung ist in einer statischen Kultur kaum möglich.

Die **kontinuierliche Kultur** stellt ein offenes System dar, das einem Fließgleichgewicht zustrebt. Der Zeitfaktor ist gewissermaßen ausgeschaltet. Für die Organismen herrschen immer die gleichen Milieubedingungen. Die Anlage lässt sich leicht automatisieren.

6.9 Hemmung des Wachstums und Abtötung

Durch eine Reihe von chemischen Substanzen wird das Wachstum von Mikroorganismen verlangsamt oder völlig unterdrückt. Wird das Wachstum unter dem Einfluss einer Substanz gestoppt und nach deren Entfernung wieder aufgenommen, so handelt es sich bei der Substanz um ein Bakteriostatikum mit einer **bakteriostatischen Wirkung**. **Bakterizide Agenzien** töten Bakterien ab. Beide Effekte sind von der Konzentration der Agenzien abhängig. Bemerkenswerterweise gibt es aber gerade unter den Bakterien einige, die generelle Zell- und Stoffwechselgifte (Schwefelwasserstoff, Phenol, Kohlenmonoxid) zu tolerieren oder sogar als Energiequelle zu nutzen vermögen. Für eine große Zahl antimikrobieller Agenzien sind der Angriffsort in der Zelle und der Wirkungsmechanismus bekannt.

Schädigung der Zellgrenzschichten

Ethanol führt in höherer Konzentration (70 %) zur Koagulation der Proteine und wirkt bakterizid. Alkohole, Phenole, Kresole, Neutralseifen und andere **oberflächenaktive Agenzien (Detergenzien)** greifen an den Zellgrenzschichten an und schädigen die Cytoplasmamembran. Detergenzien sind amphiphil und bestehen aus lipophilen Gruppen (Alkylresten oder aromatischen Ringen) und hydrophilen, häufig ionisierten Gruppen. Aufgrund ihrer mikrobiziden Breitenwirkung werden Detergenzien generell als Desinfektionsmittel von Oberflächen und von Kleidung benutzt. Den Detergenzien ähneln in ihrer Wirkung einige **Polypeptidantibiotika** (Polymyxin, Colistin, Bacitracin, Subtilin) und antimikrobielle Pflanzengifte, die sich ebenfalls in der Cytoplasmamembran anreichern und diese durchlässig machen.

Hemmung des Stoffwechsels

Schädigung der Enzyme und des Grundstoffwechsels. Einige **Schwermetalle** (Kupfer, Silber, Quecksilber u. a.) wirken als starke Enzymgifte bereits in geringer Konzentration (oligodynamische Wirkung). Sowohl als Salze (HgCl_2 , CuCl , AgNO_3) als auch in Form organischer Verbindungen (4-Hydroxymercuribenzoat) binden sie an die SH-Gruppen von Enzymen. Auch die funktionelle Thiolgruppe des Coenzym A wird blockiert. **Cyanid**

blockiert durch Bindung des Eisens die Funktion des terminalen Enzyms der aeroben Atmung, der Cytochromoxidase. **Kohlenmonoxid** hemmt die Atmung durch Konkurrenz mit dem freien Sauerstoff an der Cytochromoxidase, wirkt also durch kompetitive Hemmung. Antimycin A hemmt den Elektronentransport in der Atmungskette durch Blockierung des Cytochrom bc_1 -Komplexes (Kap. 7.4.3). **2,4-Dinitrophenol** entkoppelt die Atmungskettenphosphorylierung. **Arsenat** hemmt die Substratkettenphosphorylierung. **Fluoracetat** blockiert den Citratzyklus, indem es zunächst wie Acetat aktiviert und in Citrat eingebaut wird (letale Synthese), dann aber als Fluorcitrat die Aconitase und damit die weitere Umsetzung des Citrats hemmt.

Kompetitive Hemmung. Die kompetitive Hemmung oder Konkurrenzhemmung beruht auf der Strukturverwandtschaft eines Hemmstoffs zum physiologischen Substrat. Ein Modellbeispiel der kompetitiven Hemmung ist die Hemmung der Umsetzung von Succinat zu Fumarat durch Malonat (vgl. Abb. 6.14). Der normale Metabolit Succinat konkurriert mit dem **Strukturanalogen** oder **Antimetaboliten** Malonat um das katalytische Zentrum der Succinatdehydrogenase. Die Wirkung ist außerordentlich spezifisch und erfolgt schon bei niedrigen Konzentrationen von Malonat. Die Hemmung kann durch Steigerung der Succinatkonzentration teilweise oder vollständig rückgängig gemacht werden.

Die Aufnahme eines Antimetaboliten in die Zelle kann sich insbesondere auf Biosynthesen in verschiedener Weise auswirken (vgl. Plus 6.8). In Abbildung 6.14 sind drei Metabolite und drei Antimetabolite dargestellt.

Beeinträchtigung der Synthese von Zellbestandteilen. Das bekannteste Beispiel einer Wachstumshemmung durch Einbau eines Strukturanalogen in eine Zellkomponente ist die Wirkung der Sulfanilsäurederivate. Die antibakterielle Wirkung der **Sulfonamide** ist empirisch gefunden worden (G. Domagk); erst später erkannte man in der Strukturähnlichkeit mit 4-Aminobenzoat den Schlüssel zum Verständnis des Wirkungsmechanismus. 4-Aminobenzoat ist Bestandteil des Coenzyms Tetrahydrofolat, das von den meisten Bakterien aus einfachen Bausteinen synthetisiert wird. Auch dem Nährboden zugesetztes 4-Aminobenzoat oder zugesetzte Sulfanilamide (Abb. 6.14) werden in die Zelle aufgenommen und in Folat eingebaut; letztere führen allerdings zur Synthese eines nicht funktionierenden Coenzyms oder erlauben gar keine Synthese. Der tierische Organismus vermag Folat weder *de novo* noch aus den Bausteinen aufzubauen; er nimmt das komplette Coenzym mit der Nahrung auf und wird daher nicht geschädigt. Die selektive Toxizität der Sulfonamide und die Möglichkeit, sie als Chemotherapeutika einzusetzen, ist somit der hohen Synthesefähigkeit der Bakterien und der beschränkten Synthesefähigkeit des tierischen Organismus zuzuschreiben.

Einfluss von Antibiotika

Hemmung der Proteinsynthese durch Antibiotika. Die Proteinsynthese bei Prokaryonten wird durch mehrere Antibiotika spezifisch gehemmt. Der Angriffspunkt ist die Funktion der 70S-Ribosomen. **Streptomycin** und **Neomycin** hemmen den Vorgang der Verknüpfung der Aminosäuren. **Erythromycin** beeinträchtigt die Funktion der 50S-Untereinheiten. **Tetracycline** hemmen die Anlagerung der Aminoacyl-tRNA an die Ribosomen. **Chloramphenicol** verhindert den Einbau von Aminosäuren in Proteine,

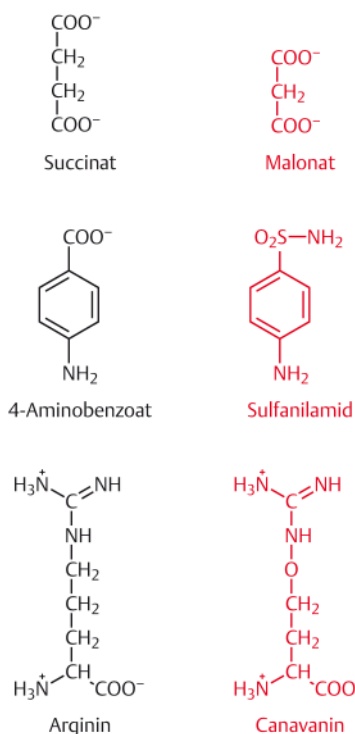


Abb. 6.14 Strukturformeln von kompetitiv wirksamen Hemmstoffen und den zugehörigen physiologischen Metaboliten.

Plus 6.8 Das Antimetaboliten-Konzept

Die Hemmung der Succinatdehydrogenase durch Malonat und die Wachstumshemmung durch Sulfanilsäurederivate sind Beispiele antagonistischer Beziehungen zwischen den physiologischen Metaboliten der Zelle und strukturverwandten Verbindungen. Der Antagonismus zwischen den Metaboliten und den **Antimetaboliten** (Strukturanalogen) kann sich auf verschiedenen Ebenen auswirken. Strukturanaloga können den Einbau des normalen Metaboliten verhindern und dadurch die Synthese von Zellbestandteilen unterbinden; sie können auch in Polymere eingebaut werden und eine Minderung oder einen Verlust der Aktivität eines Enzyms oder einer Nukleinsäure zur Folge haben.

indem es die Aminosäureverknüpfung durch die Peptidyltransferase verhindert. Chloramphenicol dient in der Chemotherapie als hochwirksames Bakteriostatikum und in der biochemischen Forschung als selektiver Hemmstoff der Proteinsynthese ohne Beeinträchtigung anderer Stoffwechselleistungen. Die genannten Antibiotika wirken natürlich auch auf die Ribosomen der Mitochondrien und Chloroplasten der Eukaryonten. Da aber die äußere Membran beispielsweise der Mitochondrien für Streptomycin sehr wenig durchlässig ist, hat Streptomycin in den niedrigen Konzentrationen, in denen es gegen Prokaryonten eingesetzt wird, auf Eukaryonten nahezu keine Wirkung. Die Teilung der Organellen wird erst bei Anwendung der 1000fachen Konzentration unterbunden.

Hemmung der Nukleinsäuresynthese durch Antibiotika. Die Nukleinsäuresynthese wird ebenfalls durch mehrere Antibiotika gehemmt. **Mitomycin C** verhindert selektiv die DNA-Synthese, ohne zunächst die RNA- und Proteinsynthese zu beeinträchtigen. Die Wirkung wird auf eine Vernetzung des DNA-Doppelstrangs und auf Strangbrüche zurückgeführt. **Actinomycin D** bildet mit dem DNA-Doppelstrang Komplexe, indem es sich an Guanin anlagert; es verhindert die Synthese aller drei Typen an Ribonukleinsäuren, nicht aber die Reduplikation der DNA. **Rifampicin** wirkt auf die DNA-abhängige RNA-Polymerase und verhindert somit u. a. die Synthese der mRNA in Bakterien.

Hemmung der Zellwandsynthese. Auf die Hemmung der Peptidoglykansynthese bei Prokaryonten durch Penicillin, Cephalosporin und andere zellwandwirksame Agenzien wurde bereits eingegangen (Kap. 5.14).

Absterben und Abtötung von Mikroorganismen

Unter Zelltod versteht man bei Mikroorganismen den irreversiblen Verlust der Fähigkeit zu wachsen und sich zu vermehren, oder – auf die experimentelle Praxis bezogen – den Verlust des Koloniebildungsvermögens. Viele Zellschädigungen, die zum Zelltod führen, sind unter bestimmten Bedingungen reparabel. Gut bekannt sind Reaktivierungen nach UV-Strahlen- und Hitzeeinwirkung. Quantitative Angaben über das Absterben und die Abtötung lassen sich bei Mikroorganismen nur für Populationen machen, nicht für einzelne Zellen. In einigen Fällen ist die Rate der Abnahme der Lebendzellzahl zu jedem Zeitpunkt der vorhandenen Zahl lebender Zellen proportional; die Abtötung folgt der Kinetik einer Reaktion 1. Ordnung: $N = N_0 \cdot e^{-kt}$ (k = exponentielle Absterberate). Das trifft beispielsweise auf die Sterilisation durch Strahlung zu.

6.10 Sterilisation und Desinfektion

Die Abtötung von Mikroorganismen ist die Grundlage der mikrobiologischen Arbeit und der Nahrungsmittelkonservierung. Die Befreiung eines Materials von lebenden Mikroorganismen oder deren Ruhestadien bezeichnet man als Entkeimung oder **Sterilisation** (Box 6.2). Davon unterscheiden sich die Teilentkeimung (**Pasteurisation**) und auch die Konservierung. Wird eine sterile oder definiert bewachsene Nährlösung durch andere, unwillentlich eingeführte Mikroorganismen verunreinigt, so spricht man von **Kontamination** oder Verunreinigung. In der medizinischen Mikrobiologie werden die Begriffe **Desinfektion** (Abtöten aller pathogenen Mikroorganismen) und Infektion verwendet.

Box 6.2 Sterilisation oder Entkeimung

Eine **Entkeimung** oder Teilentkeimung erreicht man durch feuchte Hitze, trockene Hitze, Filtration, Bestrahlung oder chemische Mittel.

Tab. 6.6 D₁₀-Werte (dezimale Reduktionszeiten) von Sporensuspensionen von drei Sporen bildenden Bakterienarten.

Sporen von	Dezimale Reduktionszeit in Sekunden bei					
	105 °C	120 °C	130 °C	140 °C	150 °C	160 °C
<i>Bacillus cereus</i>	12,1	4,2	2,6	1,3	1,0	0,7
<i>Bacillus subtilis</i>	27,8	4,5	3,1	2,1	1,1	0,5
<i>Alicyclobacillus stearothermophilus</i>	2857,0	38,6	8,8	3,9	2,4	1,4
<i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i> *		660,0				

Nach Miller und Kandler (1967) und *Hyun et al., (1983).

Die exponentiellen Absterbe- bzw. Abtötungsraten sind außer von der Organismenart noch von verschiedenen Bedingungen, wie z.B. dem Wassergehalt und pH-Wert des Milieus, dem Alter der Zellen oder Sporen, abhängig. Anstelle der Raten gibt man zur Kennzeichnung des unter bestimmten Bedingungen bei einer bestimmten Population eintretenden Abtötungserfolgs den D-Wert an, auch dezimale Reduktionszeit (D₁₀) genannt (Tab. 6.6). Dieser Wert gibt an, welche Zeit zur Abtötung von 90 % der Zellen notwendig ist.

Feuchte Hitze

Die vegetativen Zellen von Bakterien und Pilzen werden schon bei Temperaturen um 60 °C innerhalb von 5–10 min abgetötet, Hefe und Pilzsporen erst oberhalb 80 °C und die Sporen von Bakterien oberhalb 120 °C (15 min). Die zur Abtötung der Sporen einiger repräsentativer, äußerst hitzeresistenter Bakterienarten notwendigen Einwirkungszeiten von feuchter Hitze lassen sich aus den in Tabelle 6.6 angegebenen dezimalen Reduktionszeiten errechnen. Die Sporen thermophiler Bakterien sind besonders hitzeresistent. Man beachte: Je höher der Grad der Kontamination, also beispielsweise die Zahl thermoresistenter Sporen ist, desto länger muss erhitzt werden.

Temperaturen über dem Siedepunkt des Wassers erreicht man im **Autoklaven**, der zumeist über Druckmessung geregelt wird. Im Autoklaven herrscht eine Atmosphäre aus genanntem Dampf, dessen Temperatur vom Druck abhängig ist (Abb. 6.15). Die Abtötung durch feuchte Hitze hängt von der Temperatur und nicht vom Druck ab. Deshalb muss die Luft vor dem Schließen des Autoklaven durch Ausströmenlassen mit dem entstehenden Dampf entfernt werden. Die Sterilisationsdauer ist natürlich von der Größe (Wärmekapazität) der zu sterilisierenden Geräte oder Behältnisse abhängig (Tab. 6.7).

Häufig erreicht man den gleichen Sterilisationserfolg durch fraktionierte Sterilisation im strömenden Dampf bei 100 °C (**Tyndallisation**). Dazu werden die Lösungen an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 30 min auf 100 °C erhitzt und zwischenzeitlich bei Brutschranktemperatur aufbewahrt, um Sporen auskeimen zu lassen und die entstandenen vegetativen Zellen bei der nächsten Erhitzung abzutöten.

Für viele Zwecke begnügt man sich auch mit einer Teilentkeimung, also der Abtötung der vegetativen Formen von Mikroorganismen (Plus 6.9). Diese Teilentkeimung wird im allgemeinen durch **Pasteurisieren** erreicht. Dabei werden die Lösungen 5–10 min lang auf 75 °C oder 80 °C erhitzt. Auch Milch wird durch Pasteurisieren teilentkeimt; jedoch wird diese,

Tab. 6.7 Sterilisationszeiten für Flüssigkeiten in verschiedenen Gefäßen im Autoklaven (121–123 °C).

Gefäße	Volumen	Sterilisationszeit (min)
Reagenzgläser	20 ml	12–14
Erlenmeyer-Kolben	50 ml	12–14
Erlenmeyer-Kolben	200 ml	12–15
Erlenmeyer-Kolben	1000 ml	20–25
Erlenmeyer-Kolben	2000 ml	30–35
Flasche	9000 ml	50–55

Plus 6.9 Einwecken

Auch die **Konservierung** von Beeren und Steinobst (Einwecken) beruht auf einer Teilentkeimung. Bei der üblichen Erhitzung der Weckgläser für 20 min auf 80 °C werden nur vegetative Zellen und viele Pilzsporen abgetötet, während Bakteriensporen lebensfähig bleiben. Trotzdem bleiben Früchte, die durch Einwecken konserviert wurden jahrelang unverdorben, da der niedrige pH-Wert der Fruchtsäuren die Keimung von Bakteriensporen unterbindet. Erfreulicherweise gibt es keine hitzeresistenten Bakteriensporen, die unterhalb pH 4,5 entwicklungsfähig sind. Man kann auch säurearmes Gemüse (Bohnen, Erbsen, Möhren, Pilze u. a.) durch Pasteurisieren konservieren, wenn man durch Zusatz von z. B. Essig für eine hinreichende Ansäuerung sorgt. Auf pasteurisierten Erdbeeren tritt häufig der „Erdbeerpilz“ *Byssoschlamys nivea* auf. Seine Ascosporen halten 86 °C aus; bei dieser Temperatur beträgt der D₁₀-Wert 14 min.

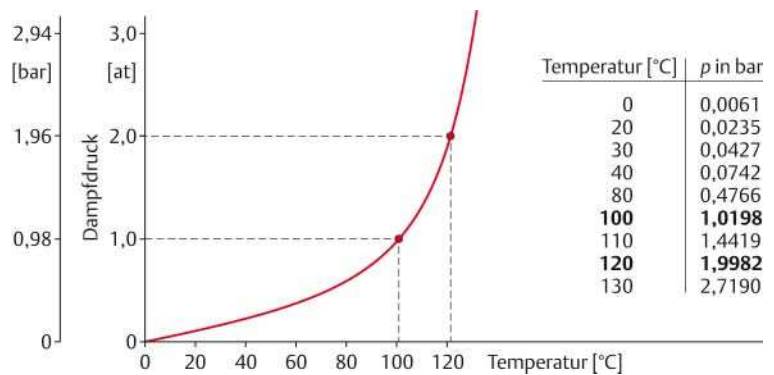


Abb. 6.15 Dampfdruck des Wassers im Sättigungszustand.

um den Geschmackswert nicht zu beeinträchtigen, kürzer erhitzt. Es sind zwei Pasteurisierungsverfahren im Gebrauch: Die Kurzzeiterhitzung (20 s auf 71,5–74 °C) und die Hoherhitzung (2–5 s auf 85–87 °C). Eine Sterilisation der Milch wird durch **Ultrahocherhitzung** erreicht. Dabei wird überhitzter Wasserdampf in die Milch injiziert, wobei eine Mischtemperatur von 135–150 °C erreicht wird, der die Milch nur 1–2 s ausgesetzt bleibt. Anschließend wird die Milch über eine Düse entspannt und gleichzeitig abgekühlt, wobei das durch die Dampf-injektion zugesetzte Wasser wieder entweicht.

Trockene Hitze

Durch trockene Hitze werden Bakteriensporen erst bei höheren Temperaturen und bei länger anhaltender Einwirkung abgetötet als durch feuchte Hitze. Gegen Hitze unempfindliche Glasgeräte, Pulver, Öle und dergleichen werden daher 2 Stunden bei 160 °C in einem **Trockensterilisator** entkeimt. Bei Materialien mit hoher Wärmekapazität oder mit thermischen Isoliereigenschaften muss man dabei die Aufheizzeiten berücksichtigen. In jedem Falle sollte eine Temperaturkontrolle (mit Indikatoren) und eine Sterilitätskontrolle mit versporter Erde oder Papierstreifen, die Sporen von *Alicyclobacillus acidocaldarius* enthalten, stattfinden. Wenn es das zu sterilisierende Material erlaubt, erhitzt man heute 30 min auf 180 °C. Erfahrungsgemäß werden dabei alle Sporen abgetötet. Die Abtötung durch Hitze beruht auf der Koagulation der Zellproteine.

Plus 6.10 Thermische Veränderung von Zuckern

Beim Kochen oder Autoklavieren können Zucker wie Glucose und Fructose ineinander umgewandelt und verändert werden. Glucose ist bei pH-Werten zwischen pH 3 und 5 am stabilsten und lässt sich, gelöst in destilliertem Wasser, auch durch Autoklavieren entkeimen. Wird Glucose aber bei pH 8, z. B. in einer gepufferten Nährlösung, 30 min gekocht, so wird 40% der Glucose zu Fructose umgesetzt. Metallsalze (Fe, Mn, Mo u. a.) und Phosphate beschleunigen diesen Vorgang. Da Fructose unter diesen Bedingungen zu Furfurolen umgewandelt wird (Karamellisierung), nehmen unsachgemäß sterilisierte Nährlösungen häufig eine braune oder schwarze Farbe an.

Filtration

Lösungen, die thermolabile Substanzen enthalten (Vitamine, einige Aminosäuren, Zucker und andere Substrate, Plus 6.10), entkeimt man am einfachsten durch Filtration. Unglasierte Porzellanzyylinder (Chamberland-Kerzen) wurden dazu bereits in Pasteurs Laboratorium verwandt. Im Laboratorium und zur Trinkwasserentkeimung werden üblicherweise Filter aus gepresstem **Kieselgur** eingesetzt. Ebenso eignen sich Glassinterfilter und **Membranfilter**. Membranfilter aus Nitrocellulose (Sartorius oder Millipore) gibt es mit verschiedenen Porendurchmessern. Zur routinemäßigen Entkeimung von Lösungen, die Hitzesterilisation nicht vertragen, gibt es Einwegfilter, die sich an Injektionsspritzen anschließen lassen. Mithilfe der Membranfilter kann man sogar Organismen verschiedener Gestalt und Größe voneinander trennen. Viruspartikel werden durch Filter nicht zurückgehalten.

Bestrahlung

UV-Strahlung. Von den zur Entkeimung bzw. Teilentkeimung gebräuchlichen Strahlungen (Ultraviolett-, Röntgen-, Gammastrahlung) kommt der UV-Strahlung im Laboratorium die größte Bedeutung zu. Die Strahlung der meisten UV-Lampen ist reich an Strahlen der Wellenlänge um 260 nm, die vorzugsweise von Nukleinsäuren absorbiert werden und bei längerer Einwirkung zur Abtötung aller Bakterien führen. Die UV-Strahlung eignet sich zur Teilentkeimung von Räumen, wobei Bakterien rasch, die erheblich weniger strahlungsempfindlichen Pilzsporen jedoch wesentlich langsamer abgetötet werden.

Ionisierende Strahlen. Röntgenstrahlen, Höhenstrahlen und Gammastrahlen, z. B. von ^{60}Co , wirken durch die Bildung von Hydroxylradikalen, die Makromoleküle zerstören. Zur Abtötung von Zellen genügen bereits sehr geringe Strahlendosen (Energienmengen). Das ist verständlich, da von dem Makromolekül DNA in einer Zelle nur eine einzige Kopie vorliegt, während von Proteinen und Polysacchariden viele Exemplare vorhanden sind. Ein „Treffer“ in der DNA kann zum Zelltod führen, ohne dass an anderen Molekülen Veränderungen nachweisbar sind. Ionisierende Strahlen können daher zur Entkeimung von Lebensmitteln und anderen kompakten Materialien eingesetzt werden. Bakterien der Gattung *Deinococcus* besitzen außergewöhnlich wirksame DNA-Reparaturmechanismen und sind daher extrem resistent gegenüber ionisierender Strahlung.

Chemische Mittel

Zur Sterilisation von Nahrungsmitteln, Pharmaka, Geräten und Apparaten sowie in der Laboratoriumspraxis hat sich **Ethylenoxid** (Oxiran, Abb. 6.16) bewährt. Es tötet sowohl vegetative Zellen als auch Sporen ab, wirkt jedoch nur in Gegenwart von Wasser (5–15 % Wassergehalt). Es wird im Gemisch mit Stickstoff oder Kohlendioxid in Gasform (2–50 % Ethylenoxid) angewandt.

Zur Schonung thermolabiler Substanzen in Nährlösungen ist die Sterilisation mit **β -Propiolacton** (Propan-3-olid; Abb. 6.16) eingeführt worden. Es ist viel wirksamer als Ethylenoxid, soll aber beträchtliche karzinogene und andere Nebenwirkungen haben. Es wird der fertigen Nährlösung zu 0,2 % zugesetzt und dann bei 37 °C 2 Stunden inkubiert. Lässt man die Nährlösung über Nacht stehen, so wird das Propiolacton vollständig zersetzt. Kohlenhydrate werden nicht angegriffen. Alternativ kann zur Sterilisation **Wasserstoffperoxid** zugesetzt werden, das man nach hinreichender Einwirkungszeit durch (filtersterilisierte) Katalase wieder abbaut. Getränke lassen sich auch mit **Diethyldicarbonat** (0,003 bis 0,02 %; Abb. 6.16) sterilisieren.

Zum Reinigen und zur Entkeimung von Glasgefäßen genügt meistens schon das Waschen mit in warmem Wasser gelösten **Detergenzien**, darunter SDS (Natriumdodecylsulfat) und andere im Haushalt gebräuchliche Spülmittel.

Plus 6.11 Sterile Aufzucht von Pflanzen

Samen, die zur Aufzucht von sterilen Pflanzen eingesetzt werden sollen, werden am besten mit herkömmlichen mikrobiziden Agenzien wie Bromwasser (1 %), Sublimat (HgCl_2 , 1 % in Alkohol), AgNO_3 (0,05 %), Calciumhypochlorit (1 % Cl_2 -Äquivalent), Uspulun (ein organisches Quecksilberpräparat) u. a. bei Einwirkungszeiten von 5–30 min. äußerlich sterilisiert. Damit die Samenoberfläche von diesen Mitteln vollständig benetzt wird, muss sie vorher mit Seifen oder anderen oberflächenaktiven Agenzien behandelt werden.

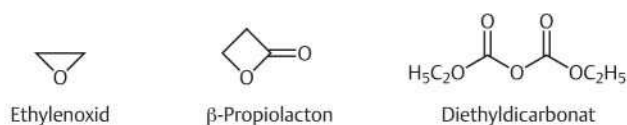


Abb. 6.16 Strukturformeln einiger chemischer Sterilisationsmittel.

Arbeitsflächen im Labor werden am einfachsten mit 70%igem Ethanol abgewischt. Für eine gründliche **Oberflächensterilisation**, wie sie vor allem in Kliniken gefordert wird, werden handelsübliche Präparate benutzt, die neben Alkoholen Detergenzien und Phenole als Wirksubstanzen enthalten.

6.11 Konservierungsverfahren

Plus 6.12 Mikrobielle Toxine

Nahrungsmittel werden für den menschlichen Genuss nicht nur dadurch verdorben, dass sie von Mikroorganismen zersetzt und abgebaut werden (aerobe **Verwesung** oder anaerobe **Fäulnis**), sondern auch durch die Bildung von **Toxinen** durch Bakterien und Pilze. Die wichtigsten Toxinproduzenten in Nahrungsmitteln sind *Clostridium botulinum* und *Staphylococcus*-Arten. Ersteres bildet ein auch in geringen Mengen hochtoxisches Exotoxin, das auf das Nervensystem wirkt und Lähmungen verursacht. **Botulinum-toxin** ist tatsächlich das wirksamste Gift, das uns bekannt ist (Letale Dosis 30 pg per kg; vgl. KCN 200 µg pro kg!). Staphylokokken bilden ein **Enterotoxin**, das für die Nahrungsmittelvergiftung verantwortlich ist. Es wirkt hauptsächlich auf das Darmepithel und führt zu Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und kolikartigen Bauchschmerzen. Einige Pilze produzieren Mykotoxine, von denen das **Aflatoxin** (von *Aspergillus flavus* gebildet) am bekanntesten ist. Sie haben eine kanzerogene Wirkung.

Organische Materialien unterliegen dem mikrobiellen Abbau, wenn sie nicht durch geeignete Mittel oder Bedingungen vor der Vermehrung und Einwirkung von Mikroorganismen geschützt werden. Zur Erhaltung oder Konservierung der organischen Stoffe sind verschiedene Maßnahmen geeignet. Die größte Bedeutung haben Konservierungsverfahren zum Schutz von Lebens- und Nahrungsmitteln (Plus 6.12). Mit diesbezüglichen Fragen beschäftigt sich die **Lebensmittel-Mikrobiologie**.

Physikalische Konservierungsverfahren

Über die Vollentkeimung oder **Sterilisation** durch Hitze wurde oben schon berichtet. Konservendosen sind in den meisten Fällen autoklaviert. Saure Obstsäfte sind auch haltbar, wenn man sie nur pasteurisiert und lediglich die vegetativen Zellen abgetötet hat, die Sporen aber noch keimfähig sind; die Endosporen der Bakterien vermögen im sauren Milieu nicht zu keimen.

Eine **Entkeimungsfiltration** durch feinporige Schichtenfilter auf Cellulosebasis wendet man zur Sterilisation von Obstsäften, Mineralwasser und Therapeutika (Infusionslösungen etc.) an.

Das weitverbreitete Verfahren der **Trocknung** von Lebensmitteln macht von der Tatsache Gebrauch, dass das Wachstum der Mikroorganismen einen gewissen Wassergehalt (im allgemeinen über 10% Wasser) erfordert (Kap. 6.4). Haferflocken, Dörrobst, Heu und Silogetreide verdanken ihre Haltbarkeit nur ihrem Trockenzustand und werden rasch von Pilzen und Bakterien verdorben, wenn sie Wasser aufgenommen haben.

Die Möglichkeit der **Strahlenbehandlung** von Lebensmitteln ist noch beschränkt. Ultraviolettbestrahlung wird vorwiegend zur Raumluftentkeimung in Molkereien, Kühlhäusern, Großbäckereien und auf sterilen Laborbänken benutzt. Selten werden Lebensmittel mit **ionisierenden Strahlen** behandelt, obwohl die Unbedenklichkeit der Behandlung mit Gammastrahlen vielfach überprüft und nachgewiesen worden ist. Bei den geringen Strahlendosen, die zur Abtötung von Mikroorganismen führen, treten keine merklichen Veränderungen im Sterilisationsgut auf.

Ein sicheres und auch im Privathaushalt dem Einwecktopf längst überlegenes Verfahren ist die **Lagerung bei tiefen Temperaturen**. In Tiefkühltruhen und Kühlhäusern wird das Gefriergut bei Temperaturen von ca. -20 °C gehalten. Die Lagerung von Lebensmitteln bei diesen Temperaturen führt weder zu einer nennenswerten Verminderung der Lebensfähigkeit der Mikroorganismen noch zur Zerstörung ihrer Toxine; das Wachstum wird aber völlig unterbunden. Auch psychrophile Bakterien vermögen unterhalb von -12 °C nicht mehr zu wachsen.

Chemische Konservierungsverfahren

Die Konservierung durch **Säuerung** nutzt den Umstand, dass bei niederem pH unter Luftabschluss nur wenige Mikroorganismen zu wachsen vermögen. Zu ihrer Abtötung ist eine **Pasteurisation** ausreichend; hitzeresistente Sporen keimen bei pH-Werten unter pH 4,0 nicht aus. Sauerkraut, Silage, sauren Gurken und Rohwurst (Salami, Savelatwurst) werden durch natürliche Ansäuerung im Zuge einer **Milchsäuregärung** haltbar gemacht. In vielen Fällen werden **Essigsäure**, **Milchsäure**, **Weinsäure** oder **Zitronensäure** zugesetzt. Gesäuerte, nichtpasteurisierte Lebensmittel werden bei Luftzutritt durch Hefen und andere Pilze zersetzt. Der Zusatz von **Propionsäure** zu Brot wirkt ebenfalls unspezifisch bakteriostatisch; überdies kann die Propionsäure spezifisch den Energiestoffwechsel von Pilzen hemmen.

Auch **Sorbinsäure**, **Benzoessäure** oder **Ameisensäure** dienen zur Lebensmittelkonservierung (Abb. 6.17). Zitrusfrüchte werden oberflächlich mit **Biphenyl** oder **o-Phenylphenol** behandelt. Schließlich sucht man das Mikrobienwachstum auch durch Applikation von **Antibiotika** einzuschränken, was jedoch wegen der Gefahr vermehrter Resistenzbildungen nicht ratsam ist.

Fleisch- und Fischprodukte werden durch **Räuchern** haltbar gemacht. Dabei wird der Wassergehalt des Räucherguts vermindert und es können antimikrobiell wirkende Substanzen wie **Phenole**, **Kresole**, **Aldehyde**, **Essigsäure** und **Ameisensäure** eindringen.

Beim **Salzen** legt man die Lebensmittel in 14–25 %ige Kochsalzlösungen ein. Dadurch wird ihnen das Wasser entzogen und das Wachstum verderbniserregender Mikroorganismen unterdrückt; nur einige hygienisch unbedenkliche halophile Bakterien können sich dabei vermehren.

Zucker wirkt in hohen Konzentrationen (etwa 50 % Saccharose) wachstumshemmend. Die Haltbarkeit von Marmeladen und Siruparten beruht in erster Linie auf ihrem Säure- und Zuckergehalt. Früchte können durch **Kandierung** in Zuckersirup vor dem mikrobiellen Abbau geschützt werden.

Eine Reihe von Lebensmitteln kann nur durch chemische Konservierungsstoffe haltbar gemacht werden. **Wein** verdankt seine Haltbarkeit seinem Säure- und Alkoholgehalt (2–3,5 M Ethanol!); gelegentlich setzt man zur Stabilisierung schweflige Säure oder Kaliumdisulfit ($K_2S_2O_5$) zu (**Schwefelung**). Wein und **Obstsäfte** kann man, wenn überhaupt notwendig, auch durch Zusatz von **Diethyldicarbonat** (Abb. 6.16) konservieren. Zur Stabilisierung des **Bieres** tragen neben dem Säure- und Alkoholgehalt die Extraktivstoffe des Hopfens bei.

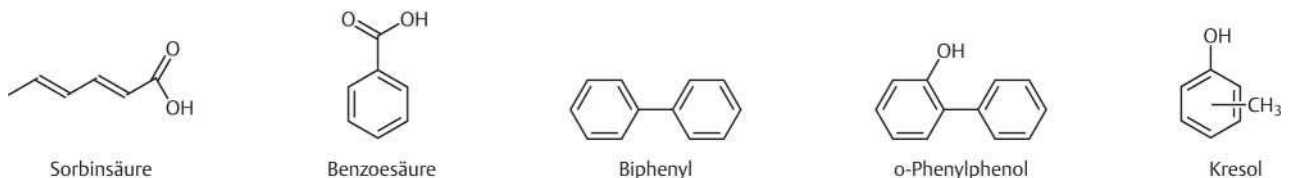


Abb. 6.17 Strukturformeln von einigen chemischen Konservierungsmitteln.

6.12 Kulturerhaltung

Der Erhalt von neu isolierten Reinkulturen ist nicht nur für das jeweils mit ihnen befasste Labor notwendig. Nach ihrer Beschreibung in einer diesbezüglich anerkannten wissenschaftlichen Zeitschrift müssen Reinkulturen von Mikroorganismen in öffentlich zugänglichen Mikroorganismensammlungen (Mikrobenbanken) hinterlegt werden, um beobachtete Leistungen durch andere Labors verifizieren zu können. Auch Stämme, deren Eigenschaften und Leistungen einem Patentschutz unterliegen, müssen naheliegenderweise langfristig zugänglich bleiben.

Dauerkulturen

Die regelmäßige Übertragung wachsender Kulturen auf Folgekulturen ist mühselig und birgt das ständige Risiko von Kontaminationen in sich. Außerdem führen mutative Veränderungen und Selektionierung durch die Kulturbedingungen sukzessive auch zu einer Veränderung der Kultur. Deshalb werden Mikroorganismen in **Dauerkulturen** konserviert.

Am einfachsten ist die Dauerkonservierung bei **sporenbildenden Bakterien**. Die Sporenbildung kann durch Mangansalze oder Bodenextrakt gefördert werden. Auch Zusatz von sterilisiertem Erdboden zu wachsenden Zellen von Sporenbildnern fördert die Sporenbildung. Ein solches Präparat kann in trockenem Zustand über viele Jahrzehnte gelagert werden.

Nichtsporenbildende Mikroorganismen können durch **Einfrieren** konserviert werden. Da Makromoleküle wie die DNA beim Einfrieren durch strukturelle Veränderung der sie umgebenden Wasserhülle geschädigt werden, setzt man dem Einfriermedium Substanzen zu, die die Wasserstruktur stabilisieren, z. B. 10–20% Glycerin, 5–10% Dimethylsulfoxid oder 20–30% Zucker. Anschließend kann man die Kultur im Tiefgefrierschrank bei -80°C oder in flüssigem Stickstoff bei -196°C einfrieren. Auch eine **Gefriertrocknung** ist möglich; in diesem Fall nimmt man die Zellen zuvor in Magermilch oder Pferdeserum (bei medizinisch bedeutsamen Stämmen) auf. Bei der Gefrierkonservierung ist besonders das Einfrieren und Auftauen der Mikroorganismen kritisch. Große Teile der Kultur verlieren hierdurch ihre Lebensfähigkeit. Deshalb friert man jeweils dichte Suspensionen ein, damit genügend Zellen überleben, die zu einer Folgekultur anwachsen können.

Lebendkulturen

Nicht alle Mikroorganismen lassen sich in der genannten Weise auf Dauer konservieren; vor allem Bakterien, die ein kompliziertes Gefüge zellinterner Membranen aufweisen (z. B. phototrophe Bakterien), überleben diesen Vorgang schlecht. In solchen Fällen bleibt nur die regelmäßige Übertragung von **Lebendkulturen** und die Lagerung im Kühlschrank. Hyperthermophile Bakterien und Archaeabakterien können bei Zimmertemperatur gelagert werden. Es empfiehlt sich, die Kulturen vorher **bei suboptimaler Temperatur** anwachsen zu lassen und sie das angebotene Substrat nicht vollständig verwerten zu lassen. Zellen auf und in Agarkulturen (sog. **Stichkulturen**) bleiben länger lebensfähig als in Flüssigkulturen, weil sie sich dort auch nach dem Auswachsen noch über längere Zeit von langsam zudiffundierendem Substrat ernähren können. Außerdem werden auf Festmedien **lytische Enzyme** aus einzelnen lysierenden Zellen nicht gleich für die gesamte Kultur, sondern nur für einzelne Kolonien zum Verhängnis.

6.13 Mikrobiologische Diagnostik

Eine wichtige Aufgabe des Mikrobiologen ist die Identifizierung von Mikroorganismen aus der Natur oder aus klinischem Material; sie wird vor allem in klinisch-diagnostischen Labors in großem Umfang betrieben. Zur Identifizierung sind zahlreiche Tests erforderlich, die nur in ihrer Gesamtheit eine eindeutige Einordnung eines Neuisolats bzw. eines klinisch relevanten Keims erlauben. Naturgemäß ist der Aufwand für die Identifizierung eines Neuisolats mit neuen, ungewöhnlichen Eigenschaften und seine Einordnung in das bestehende taxonomische System wesentlich größer als die Identifizierung eines prinzipiell bekannten Bakteriums im klinischen Routinelabor. Dafür müssen zumeist nur wenige Eigenschaften geprüft werden.

6.13.1 Klassische Techniken

Für die Identifizierung nach klassischen Techniken muss eine **Reinkultur** vorliegen. Hierzu werden Wachstumstests auf nichtselektiven Nährböden durchgeführt. Die gewachsenen Kolonien werden sowohl visuell geprüft als auch hinsichtlich der Zellform, Sporenbildung etc. mikroskopisch kontrolliert. Zellformen variieren gelegentlich abhängig vom jeweils verwerteten Substrat und von der Wachstumsphase; hierbei ist die Zellbreite typischerweise wenig beeinflusst, während die Zelllänge durchaus veränderlich ist (vgl. Box 6.3).

Die Zuordnung zum **Gram-Typ** geschieht über die klassische **Gram-Färbung** (Kap. 5.1.1), die immer im unmittelbaren Vergleich mit einem gramnegativen und einem grampositiven Kontrollorganismus durchgeführt werden muss. Sie kann aber auch durch Behandlung einer Kolonie mit 3 % KOH-Lösung erfolgen. Bei gramnegativen Zellen tritt nach dieser Behandlung die DNA aus und lässt sich mit einer Impfmasse als fädig-viskoser Schleim sichtbar machen, während bei grampositiven keine solche Schleimbildung zu beobachten ist. Die endgültige Zuordnung zu den gramnegativen oder grampositiven Bakterien ist gelegentlich erst nach der elektronenoptischen Untersuchung eines Ultradünnschnitts der Zellwand möglich. Weitere morphologische Kriterien sind eventuelle **Sporenbildung** oder **Geißeln**, die durch Präzipitation von Tanninen oder Schwermetallen (Silber- oder Quecksilbersalze) angefärbt werden können.

In der **Routinediagnostik im medizinisch-klinischen Labor** richtet sich das Interesse auf einen relativ kleinen Kreis klinisch relevanter Organismen, die zumeist mit Hilfe weniger Tests hinreichend sicher identifiziert werden können. Hierzu zählen vor allem diverse Färbetechniken sowie die Analyse des Spektrums der genutzten Substrate, die heute auf Standardnährböden weitgehend automatisiert durchgeführt werden kann (z. B. **BIOLOG-System**). Die Verwertung verschiedener Substrate wird durch sogenannte **chromogene Substrate** einfach nachgewiesen. Dies sind z.B. Zucker, die an einen o-Nitrophenylrest gekoppelt sind. Bei der Hydrolyse wird das farbige Nitrophenol freigesetzt und liefert damit einen Indikator für die Substratverwertung.

Einzelne Bakterien können gegenüber anderen mit spezifischen **Indikator-Nährmedien** differenziert werden; dies wird am Beispiel der Differenzierung von *E. coli* als Fäkalindikator gegenüber anderen Enterobakterien ausführlich in Kapitel 12 dargestellt. Diese Techniken setzen voraus, dass die jeweiligen Zielorganismen problemlos anwachsen und nicht z. B. durch vorhergehende Aushungerung oder zugesetzte Selektionssubstanzen beeinträchtigt sind.

Box 6.3 Die klassische Bakterien-diagnostik

Die klassische, **kultivierungsbasierte Identifizierung** von Mikroorganismen hat den Vorteil, dass sie den jeweilig angezüchteten Keim auch für weitere Untersuchungen zur näheren Spezifizierung verfügbar macht. Nachteil dieser amtlich vorgeschriebenen Techniken ist die vergleichsweise lange Zeitdauer von mehreren Tagen, die mit dem Anwachsen der Bakterien und der Durchführung der Differenzierungstests verbunden ist.

Im Einzelfall kann man sich auch das Verhalten gegenüber spezifischen **Hemmstoffen** zunutze machen. Viele Darmbakterien zeigen eine erhöhte Resistenz gegenüber Gallensäuren. Zum gezielten Nachweis solcher Bakterien werden daher den Medien Cholsäure, Deoxycholsäure oder andere Detergenzien (Brij 58, Tween etc.) zugesetzt. *Corynebacterium diphtheriae* weist man durch eine selektive Unterdrückung nach. Es wächst z.B. nicht auf Nährböden, die Tellurit enthalten. Als Kontrolle lässt man dieselbe Probe auf einem Nährboden ohne Tellurit wachsen. Auf dieselbe Weise kann man Enterobacteriaceae nachweisen, die auf Wismut-Agar nicht wachsen können.

Immunologische Verfahren können im Einzelfall über die Oberflächenantigene (O- und H-Antigene; Kap. 5.8) eine Identifikation von möglichen Krankheitserregern über die Ebene der Arten hinaus möglich machen. Vor allem für klinisch relevante Stämme (**Serovaren**) der Gattung **Salmonella** wurde ein immunologisches Identifikationssystem aufgebaut (Kaufmann-White-Schema), das in kurzer Frist eine Differenzierung zwischen mehr als zweitausend verschiedenen Stämmen und damit auch eine evtl. Identifizierung der Infektionsquelle möglich macht.

Ein weiteres Identifikationssystem stützt sich auf die unterschiedlichen **Muster von Lipidfettsäuren**, die von verschiedenen Organismen gebildet werden. Dieses System wird routinemäßig von Firmen angeboten (**FAME**" – engl. Fatty Acid Methyl Ester analysis), ist jedoch nicht für jede Organismengruppe geeignet und verlangt einen recht großen chemisch-analytischen Apparatenaufwand. Überdies variiert die Zusammensetzung der Membranlipide mit den Wachstumsbedingungen, weshalb diese Technik sich am besten für die Identifizierung nach kontrollierter Laborkultivierung eignet.

Die **Charakterisierung des Stoffwechsels** ist vor allem bei Neuisolaten mit ungewöhnlichen Eigenschaften von Interesse. Tests auf aerobes bzw. anaerobes Wachstum, die Reduktion von Nitrat, Sulfat, Thiosulfat, S^0 , Fumarat oder Eisen(III)salzen bzw. die Bildung von Gärprodukten erlauben eine erste Charakterisierung des Energiestoffwechsels. Bei aeroben Organismen ist in erster Linie das Muster der genutzten Substrate kennzeichnend; bei Anaerobiern, insbesondere bei Gärern, lässt das Muster der gebildeten Produkte Schlüsse auf die Wege des Substratabbaus zu. Das Muster der genutzten Substrate muss von Fall zu Fall im Vergleich mit anderen Organismen analysiert werden. Die physiologische Charakterisierung kann durch die Identifizierung spezifischer Elektronencarrier (**Cytochrome, Chinone**) vervollständigt werden. Eine gültige Beschreibung von phototrophen Bakterien erfordert die Charakterisierung der **Bakteriochlorophylle** und **Carotinoide**.

Für die **Beschreibung eines Neuisolats** als neue Gattung oder Art muss auch der **Guanin/Cytosin-(GC)-Gehalt** der DNA angegeben werden. Überdies muss das Isolat in wenigstens zwei international zugänglichen **Mikroorganismensammlungen** hinterlegt werden (Kap. 6.12).

6.13.2 Molekularbiologische Techniken

Zu den etablierten klassischen Methoden sind in den letzten Jahren **molekularbiologisch basierte Techniken** getreten, die eine Identifizierung von Mikroorganismen aufgrund der DNA-Nukleotidsequenzen erlauben, die für die **16S-ribosomale RNA** codieren (Kap. 2.3.2). Das auf diesen Sequenzen basierende Identifizierungssystem dient primär der Zuweisung von Neuisolaten zum System der bekannten taxonomischen Gruppierungen. Durch gezielten Vergleich jeweils hochvariabler Sequenzen

der 16S-rRNA ist im Einzelfall eine Identifizierung bis auf die Ebene der Art möglich. Da diese Methoden eine sehr viel schnellere Identifizierung erlauben als die sich über mehrere Tage hinziehenden Wachstumstests (v. a. bei langsamwüchsigen Stämmen, z. B. *Mycobacterium*), haben sie sich schnell einen wichtigen Platz sowohl in der Grundlagenforschung als auch in der medizinischen Diagnostik erobert. Da auf Sequenzähnlichkeiten basierende Identifizierungen jedoch auch auf Zufallsidentitäten einzelner Sequenzbereiche beruhen können, müssen die Resultate jeweils durch andere Untersuchungstechniken abgesichert werden.

Die **Polymerase-Kettenreaktion (PCR)** bietet die Möglichkeit, bestimmte DNA- oder RNA-Abschnitte spezifisch sogar aus einzelnen Zellen zu amplifizieren und nach einer Gelelektrophorese sichtbar zu machen. Die Identifizierung anhand der Sequenz ist hochsensitiv und hochspezifisch und deutlich schneller als die herkömmliche Kultivierung.

Bei der **Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung (FISH; Kap. 17.6.4)** werden durch Hybridisierung mit fluoreszenzmarkierten DNA-Sonden ribosomale RNAs nachgewiesen. Allerdings ist diese Methode für den Nachweis von Pathogenen in Umweltproben nur begrenzt geeignet, da die Sensitivität in hohem Maße von der verfügbaren ribosomalen RNA abhängt, die ihrerseits nur in aktiv wachsenden Zellen in höherem Ausmaß vorhanden ist. Die Technik der Zukunft dürfte auch hier die **DNA-Chip-Array-Technik** sein, bei der PCR-vermehrte DNA mit einer trägergebundenen Ziel-DNA hybridisiert wird. Die Technik kann innerhalb weniger Stunden Resultate liefern, ist aber für die Anwendung auf breiter Ebene noch nicht ausgereift.

Zusammenfassung

- Die meisten bekannten Bakterienstämme wachsen schnell, mit Verdopplungszeiten von wenigen Stunden bis Tagen, und können oft auf einfachen, leicht zusammenzusetzenden Nährlösungen kultiviert werden. **Nährlösungen** für Bakterien enthalten neben den wesentlichen Makroelementen der Zellsubstanz (C, O, H, N, S, P, Mg, K, Ca, Fe) Spurenelemente, gelegentlich auch Vitamine. Gelegentlich sind auch komplexe Nährlösungszusätze (Hefeextrakt, Pepton etc.) erforderlich.
- Durch gezielte Festlegung von Wachstumsbedingungen können bestimmte Bakterien selektiv aus Impfmaterialien aus der Natur **angereichert** und **isoliert** werden.
- Bakterien repräsentieren eine enorme Vielfalt **verschiedener Stoffwechseltypen**, und sie können unter sehr vielen verschiedenen Bedingungen gezielt kultiviert werden, z.B. bei sehr niedrigen bis sehr hohen Temperaturen, bei stark sauren, neutralen und alkalischen Medien, bei hoher und geringer Wasserverfügbarkeit, in Gegenwart oder Abwesenheit von Sauerstoff etc.
- Die Herstellung von **Reinkulturen** besteht in der Vereinzelung einzelner Zellen, aus denen dann eine genetisch homogene Population (ein Klon) hervorgehen kann.
- Das Wachstum von Mikroorganismen lässt sich mit Hilfe einfacher mathematischer Gesetzmäßigkeiten exakt beschreiben. **Zellertrag** und **Wachstumsgeschwindigkeit** sind jeweils organismenspezifisch vom genutzten Substrat abhängig. Der Zellertrag gibt Auskunft über die im jeweiligen Umsatzprozeß genutzte Menge ATP.

- Bei Wachstum im **Chemostaten** kann eine Bakterienkultur über lange Frist in einem stabilen Fließgleichgewicht bei limitierendem Substrat kultiviert werden.
- Zur **Abtötung von Mikroorganismen** können physikalische (feuchte Hitze, trockene Hitze, Bestrahlung) und chemische Methoden (Alkohol, Kresole, Phenole, Formaldehyd) eingesetzt werden. Zur Sterilisation von Nährlösungen werden feuchte Hitze und Sterilfiltration genutzt.
- Die meisten Mikroorganismen können als **Trockenkultur** oder durch **Einfrieren** auf lange Frist konserviert werden.
- Die **mikrobiologische Diagnostik** schließt neben klassischen Techniken der Zytologie, der Stoffwechselphysiologie und der DNA-Analyse heute vermehrt auch molekularbiologische Techniken (Sequenzierung der 16S-rRNA) ein.

7

Zentrale Stoffwechselwege

In diesem Kapitel geht es darum, wie Mikroorganismen aus der Umwandlung der Nährstoffe nicht nur Energie beziehen, sondern wie sie dabei auch die wichtigsten Vorstufen für die Biosynthese ihrer Zellbausteine bereitstellen. Dieses Thema ist allen Organismen gemeinsam. Freilich sind die Mikroorganismen die „chemischen Weltmeister“, mit einem schier unerschöpflichen Schatz an biochemischen Reaktionen.

Zuerst werden die **Grundmechanismen des Stoffwechsels** dargestellt. Die Prinzipien, wie Bakterien bei der Atmung Energie konservieren, ähneln sehr den Mechanismen in den Mitochondrien der Eukaryonten, die auf endosymbiontisch lebende Bakterien zurückgehen. Doch gibt es bei Prokaryonten viele Variationen, wie die häufigsten Nährstoffe, nämlich **Zucker**, bis zum CO_2 abgebaut werden. Ebenso wird die Rolle des **Sauerstoffs** beschrieben, der nicht nur bei der Atmung eine wichtige Rolle spielt, sondern auch ein wichtiges Signalmolekül ist und viele Zellbestandteile auch schädigen kann. Die Antworten auf Sauerstoff sind vielfältig, auch deshalb, weil viele Bakterien und Hefen ohne ihn zu leben vermögen.

Die gleichzeitig ablaufenden Abbau- und Syntheseprozesse sind miteinander vernetzt und müssen entsprechend reguliert werden. Die Zelle gleicht einer Fabrik, in deren Wareneingangsbereich nur wenige Rohstoffe eintreffen (die Elemente in den einfachen Nährstoffen, oft in anorganischer Form). Aus diesen Rohstoffen wird nicht nur die Energie gewonnen, sondern von ihnen leitet sich auch die ganze Vielfalt der Biosyntheseprodukte ab. Nur wenige zentrale Stoffwechselwege verbinden den Abbau von Nährstoffen mit der Neusynthese von Bausteinen.

Überblick

7.1 Grundmechanismen des Stoffwechsels und der Energieumwandlung ... 195

- 7.1.1 Abbau der Kohlenhydrate ... 196
- 7.1.2 Funktion der Enzyme ... 196
- 7.1.3 Umwandlung von Energie ... 200

7.2 Wege des Hexoseabbaus ... 202

- 7.2.1 Glykolyse ... 202
- 7.2.2 Pentosephosphatweg und oxidativer Pentosephosphatzyklus ... 203
- 7.2.3 KDPG-(2-Keto-3-desoxy-6-Phosphogluconat-)Weg ... 204
- 7.2.4 Energiebilanzen und Verbreitung der Zuckerabbauwege ... 206
- 7.2.5 Oxidation von Pyruvat ... 207

7.3 Citratzyklus und alternative Wege ... 208

7.4 Elektronentransportphosphorylierung der Atmungskette ... 210

- 7.4.1 Prinzip der Atmungskette ... 210
- 7.4.2 Komponenten der Atmungskette ... 213
- 7.4.3 Atmungskette bei Veratmung von Sauerstoff ... 215
- 7.4.4 Elektronentransportphosphorylierung ... 218
- 7.4.5 Rückläufiger Elektronentransport ... 220
- 7.4.6 Elektronentransportprozesse bei anaeroben Bakterien ... 220

7.5 Eigenschaften und Funktionen von Sauerstoff ... 220

- 7.5.1 Regulation durch Sauerstoff ... 221
- 7.5.2 Toxische Wirkung des Sauerstoffs und Entgiftungsreaktionen ... 221
- 7.5.3 Sauerstoff als Cosubstrat ... 222
- 7.5.4 Biolumineszenz ... 222

7.6 Verbindung zwischen Energiestoffwechsel und Biosynthese ... 223

- 7.6.1 Bereitstellung des Kohlenstoffs für die Biosynthese ... 223
- 7.6.2 Hilfszyklen und Sonderwege ... 223
- 7.6.3 Regulation von Genexpression und Enzymaktivität ... 226

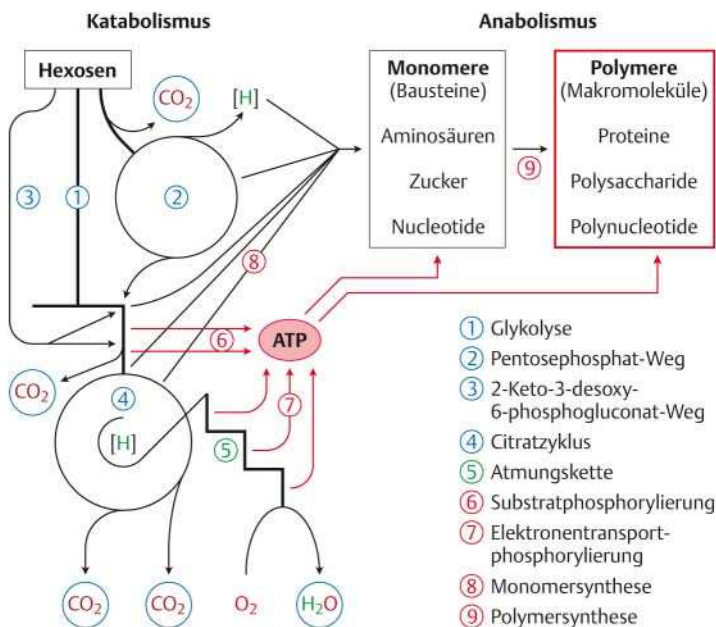
7.1 Grundmechanismen des Stoffwechsels und der Energieumwandlung

Bei der Besprechung des Kohlenstoffkreislaufs (Kap. 1.6.1) hatten wir zwei gegenläufige Prozesse einander gegenübergestellt: Die Photosynthese, bei der Kohlendioxid fixiert und Sauerstoff freigesetzt wird, und die Mineralisation der organischen Substanz, bei der Sauerstoff verbraucht wird und Kohlendioxid entsteht. Bereits J. R. Meyer (1848) formulierte: „Die Pflanzen nehmen eine Kraft, das Licht, auf und bringen eine Kraft hervor, die chemische Differenz“ („Kraft“ steht im Sinne von „Energie“).

Durch Photosynthese wird die Strahlungsenergie der Sonne in chemische Energie umgewandelt. Dabei wird Wasser in Sauerstoff und Wasserstoff gespalten und letzterer durch Bindung an Kohlenstoff (aus dem Kohlendioxid) überwiegend in Form von Kohlenhydraten stabilisiert (Abb. 7.1). Pflanzen fixieren so die geschaffene Potenzialdifferenz zwischen Wasserstoff und Sauerstoff, die die Energiequelle für alle aerob atmenden, organotrophen Lebewesen ist. Diese lösen den Wasserstoff wieder aus seiner Kohlenstoffbindung und setzen ihn mit Sauerstoff in einer biochemischen Knallgasreaktion um. Bei dieser Oxidation des Wasserstoffs wird die freiwerdende Energie portionsweise in biochemische Energie umgewandelt.

Zellen sind auf laufende Energiezufuhr angewiesen und nutzen die Nährstoffe ihrer Umgebung oder, in Notzeiten, die eigenen Speicherstoffe als Energiequellen. In der Zelle werden die Nährstoffe durch eine Reihe hintereinander geschalteter Enzymreaktionen über spezifische Stoffwech-

Plus 7.1 Begriffe des Stoffwechsels



Stoffwechselplan von Zellen, die aerob mit Glucose als Substrat leben.

Der Stoffumsatz in der Zelle (**Stoffwechsel, Metabolismus**), der von den Nährstoffen zur Neusynthese von Zellmaterial führt, lässt sich in drei Hauptabschnitte gliedern.

1. Die Nährstoffe werden zunächst in kleinere Bruchstücke zerlegt und zur Energiegewinnung in der Regel vollständig oxidiert (**Abbau, Katabolismus**).
2. Die beim Abbau beteiligten zentralen Umsetzungen von organischen Säuren und Phosphatestern werden als **Intermediärstoffwechsel oder Amphibolismus** bezeichnet. Beide Stoffwechselprozesse gehen nahtlos ineinander über.
3. Aus diesen niedermolekularen Verbindungen (zentrale Intermediate) werden auch die Bausteine der Zelle synthetisiert. Als Bausteine bezeichnen wir die Aminosäuren, Nukleotide, Zuckerphosphate und andere, aus denen schließlich die polymeren Makromoleküle (Proteine, Nukleinsäuren, Reservestoffe, Zellwandbestandteile usw.) aufgebaut werden. Die Bausteinsynthese und die Polymersynthese fasst man als **Synthesestoffwechsel oder Anabolismus** zusammen.

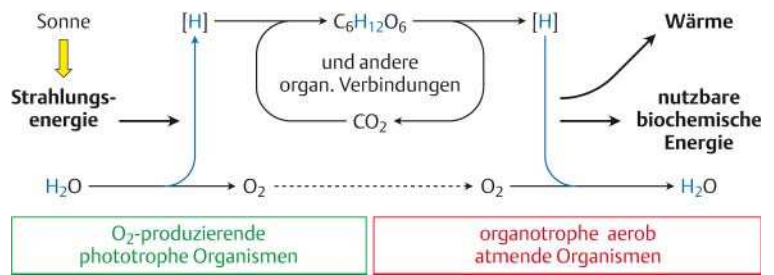


Abb. 7.1 Photosynthese und Atmung sind gegenläufige Prozesse. Bei der Atmung wird die in der Photosynthese fixierte Energie in biochemisch nutzbare Energie umgewandelt.

selwege umgesetzt. Diese Stoffwechselwege erfüllen eine weitere Funktion: Sie stellen die Vorstufen für die Zellbestandteile zur Verfügung. Man unterteilt den Stoffwechsel in die drei Abschnitte Katabolismus (Abbau), Amphibolismus (Intermediärstoffwechsel) und Anabolismus (Synthese) (Plus 7.1).

7.1.1 Abbau der Kohlenhydrate

Kohlenhydrate sind die mengenmäßig vorherrschenden Produkte der pflanzlichen Photosynthese (Kap. 1.6) und sind Nährstoffe für die überwiegende Zahl von Mikroorganismen. Deshalb gehen wir bei den weiteren Betrachtungen in erster Linie von Glucose als Wachstums substrat aus. Auf die Verwendung anderer Nährstoffe wie Makromoleküle, die z.B. außerhalb der Zelle durch ausgeschiedene Enzyme (Exoenzyme) zu den mono- oder dimeren Bausteinen abgebaut und in dieser Form aufgenommen werden, wird in Kapitel 9 eingegangen.

Die **zentralen Stoffwechselwege** sind in allen Organismen ähnlich (Plus 7.2). Hexosen (C_6) werden nach einleitenden Umwandlungsschritten zunächst in zwei C_3 -Verbindungen gespalten. Die Spaltprodukte werden in Pyruvat (Brenztraubensäure) überführt. Bei der oxidativen Decarboxylierung des Pyruvats entsteht Acetyl-CoA (C_2), das zunächst mit einem geeigneten Akzeptormolekül verknüpft und dann im Citratzyklus schrittweise zu Kohlendioxid oxidiert wird. Die bei den Dehydrogenierungsschritten abgespaltenen Wasserstoffatome, auch als Reduktionsäquivalente bezeichnet, werden in das ATP-bildende System der Atmungskette eingeschleust. Ein Teil der Hexose (C_6) wird zur Pentose (C_5) und CO_2 oxidiert, dabei entstehen auch die Reduktionsmittel für Biosynthesen.

7.1.2 Funktion der Enzyme

Die Zwischenverbindungen des Stoffwechsels nennt man **Metabolite** (Plus 7.3). Für die Umwandlung jedes Metaboliten in einen anderen ist ein spezielles Enzym verantwortlich. Bei den Enzymen handelt es sich um Proteine, die die Funktion von Katalysatoren haben (s. u.). Die wesentlichen Funktionseigenschaften eines Enzymproteins sind das **Erkennen** des betreffenden Metaboliten, die **Katalyse** und die **Regulierbarkeit** der katalytischen Aktivität.

Wirkungsweise der Enzyme

Die enzymkatalysierte Umwandlung eines Metaboliten wird durch seine Bindung an das Enzymprotein eingeleitet. Das Enzym reagiert im Allgemeinen nur mit einem Metaboliten, seinem Substrat, und katalysiert dessen Umwandlung in einen zweiten Metaboliten, bis sich ein Gleich-

Plus 7.2 Einheit in der Biochemie

Das Prinzip der „Einheit in der Biochemie“ ist einer der Lehrsätze der modernen Biologie. Es bringt die Annahme zum Ausdruck, dass die Biochemie der Lebewesen prinzipiell gleich ist und sich auf ein Schema zurückführen lässt. Das Prinzip betrifft beispielsweise die Universalität

- der Zellbausteine einschließlich ihrer Stereochemie,
- von Adenosin triphosphat (ATP) als universellen Energieträger,
- des genetischen Codes,
- der Hauptstoffwechselwege.

Es gibt nur wenige Bakteriengruppen, bei denen die Grundschemata modifiziert sind, einzelne Routen überwiegen und andere in verkürzter Form vorliegen oder verkümmert sind. Man kann annehmen, dass die Stoffwechselwege im Zuge der Evolution entstanden sind und dass sich der für die aeroben Organismen typische chemische Apparat erst ziemlich spät entwickelt hat, als Luft-sauerstoff zur Verfügung stand.

gewicht eingestellt hat. Jedes Enzym zeichnet sich also durch eine bestimmte **Substratspezifität** – es setzt nur einen Metaboliten um – und eine bestimmte **Wirkungsspezifität** – es katalysiert nur einen unter vielen möglichen Umwandlungsprozessen – aus.

Die **Erkennung des Substrats** und dessen Bindung erfolgt an einer ganz bestimmten Stelle des Enzymproteins, dem katalytischen Zentrum (Abb. 7.2). Das Enzym erkennt das Substrat an seinen sterischen Eigenschaften und seiner Ladung. Es passt zum Enzym wie der Schlüssel zum Schloss. In manchen Fällen entsteht erst nach der ersten Anbindung des Substrats das „richtige Schloss“ (engl. induced fit).

Enzyme fungieren als **Biokatalysatoren** und erniedrigen die **Aktivierungsenergie**. Das Enzym macht dadurch Stoffumwandlungen möglich, die sonst nur bei starker Erhitzung oder unter unphysiologischen, der Zelle nicht zuträglichen Bedingungen ablaufen würden. Die Geschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion kann um 10 Größenordnungen (Faktor 10^{10}) höher sein als die einer nichtenzymatischen Reaktion. Dadurch verkürzt sich die Halbwertszeit einer Reaktion von 300 Jahren auf eine Sekunde.

Regulation der katalytischen Aktivität

Eine ganz wesentliche Eigenschaft der Enzyme ist die steuerbare Veränderlichkeit ihrer katalytischen Aktivität – eine Voraussetzung für die Harmonie des Stoffwechselgeschehens in der Zelle. Die Aktivität der meisten Enzyme, die eine praktisch irreversible (nicht umkehrbare) Reaktion katalysieren, wird reguliert. Im Baustoffwechsel sind es häufig die ersten Enzymreaktionen, die vom Zentralstoffwechsel wegführen. Die Enzyme dieser Reaktionen erkennen nicht nur den Substratmetaboliten am katalytischen Zentrum, sondern auch den sog. Effektor oder Modulator, der an einem anderen Zentrum des Enzyms bindet. Effektoren haben hinsichtlich ihrer Struktur nichts mit den Substraten der Enzyme gemeinsam. Sie sind räumlich (sterisch) anders strukturiert: man spricht daher von **allosterischen Effektoren** und nennt die regulatorisch empfindlichen Bindungszentren auch allosterische Zentren der Enzyme. Die Bindung der Effektoren an das regulatorische Zentrum bewirkt eine geringfügige Gestaltänderung des Enzyms. Diese Änderung teilt sich dem katalytischen Zentrum mit, und verändert dadurch dessen katalytische Aktivität (Abb. 7.3).

Dieser Effektor kann das entsprechende Endprodukt einer Synthesekette oder eine andere niedermolekulare Verbindung wie AMP sein, deren Einflussnahme auf die Enzymaktivität sinnvoll ist. Endprodukte von Biosynthesewegen wirken als negative Effektoren. Positive Effektoren führen zu einer Steigerung der Enzymaktivität. So entscheidet die Konzentration der als Effektoren wirksamen Metabolite über die Aktivität des Enzyms und damit über die Geschwindigkeit des von ihm katalysierten Stoffflusses. Enzyme, welche frei umkehrbare Schritte katalysieren, werden meist nicht allosterisch reguliert.

Coenzyme und prosthetische Gruppen

Viele Enzyme bestehen aus einem Proteinanteil und einem Cofaktor, der an der Katalyse beteiligt ist. Man unterteilt die Cofaktoren in Coenzyme und prosthetische Gruppen. Dabei handelt es sich um niedermolekulare Verbindungen, die Bruchstücke der Substrate, beispielsweise Wasserstoff, Methylgruppen, Aminogruppen usw. aufnehmen und weiterreichen.

Plus 7.3 Metabolite

Viele Zwischenverbindungen der Stoffwechselwege liegen im phosphorylierten Zustand, meist als Phosphorsäureester, vor. Die nichtphosphorylierten Zwischenverbindungen enthalten Carboxygruppen oder ionisierbare basische Gruppen. Es scheint, als könnten nur diejenigen Metabolite von Enzymen umgesetzt werden, die eine ionisierte, fast immer negativ geladene Gruppe tragen. Daraus hat man abgeleitet, dass die Bindung von negativ geladenen Metaboliten an positiv geladene Oberflächen wie z. B. Pyrit kennzeichnend für die **Chemoevolution** ist. Diese Bindung erzeugt eine lokale hohe Konzentration der Reaktanden und räumliche Nähe als Voraussetzung für die Reaktivität und verhindert den Verlust der gebildeten Metabolite.

Ungeladene Moleküle oder Gruppen sind immer an Coenzyme oder an prosthetische Gruppen von Enzymen gebunden. Nichtionisiert sind nur am Anfang und Ende der Stoffwechselwege stehende Verbindungen, also viele Substrate (wie Zucker) und manche Ausscheidungsprodukte (wie viele Gärprodukte).

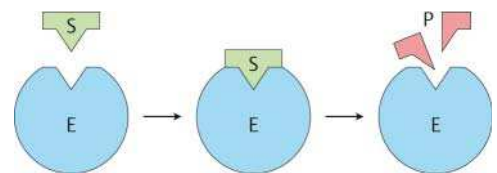


Abb. 7.2 Substraterkennung und Katalyse durch Enzyme. Das Enzym bindet das Substrat am katalytischen Zentrum, setzt es um und die Produkte lösen sich vom Enzymmolekül. Das Enzym selber geht unverändert aus der Reaktion hervor. E, Enzym; S, Substrat; P, Produkt.

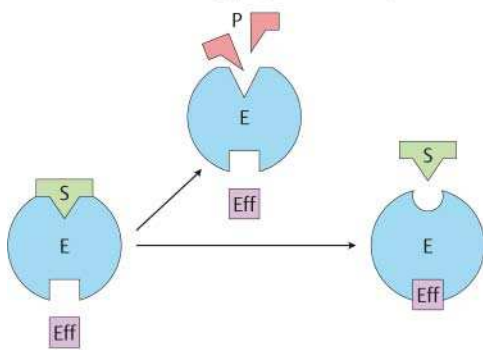
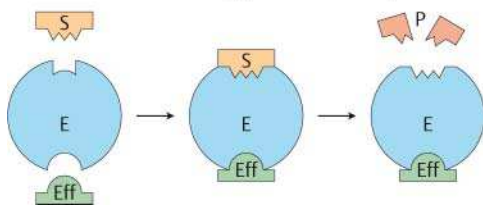
a allosterische Hemmung (negativer Effektor)**b** allosterische Aktivierung (positiver Effektor)

Abb. 7.3 Regulation der katalytischen Aktivität durch allosterische Effektoren. **a** Ein allosterisches Modulatormolekül kann die Gestalt des aktiven Zentrums indirekt verändern und dabei das Enzym inaktivieren. **b** Die Bindung des allosterischen Effektors kann das aktive Zentrum des Enzyms aber auch sterisch aktivieren. E, Enzym; S, Substrat; Eff, Effektor; P, Produkt.

Ein **Coenzym**, auch Cosubstrat oder Transportmetabolit genannt, wird am Enzym mit einem Substratbruchstück beladen, dissoziiert ab und überträgt das Bruchstück an einem anderen Enzymprotein auf eine zweite Verbindung. Es ist nichtkovalent an das Enzym gebunden.

Prosthetische Gruppen sind dagegen kovalent mit dem Enzym verbunden und übernehmen bzw. übergeben ein Bruchstück, ohne sich vom Protein zu lösen (Abb. 7.4).

Cofaktoren leiten sich oft von Vitaminen oder Nukleotiden ab. Ihre Vorstufen können von vielen Organismen nicht synthetisiert werden und müssen mit der Nahrung als Vitamine aufgenommen werden. Viele Milchsäurebakterien, Boden- und Wasserbakterien sowie andere Einzeller benötigen zum Teil die in Tabelle 7.1 aufgeführten Vitamine oder deren Vorstufen als Zusatzstoffe (Suppläne) zum Wachstum.

Tab. 7.1 Funktion von Coenzymen und prosthetischen Gruppen. Sie dienen als Wasserstoff-, Gruppen- oder Elektronenüberträger und stammen zum Teil von Vitaminen ab.

Coenzym oder prosthetische Gruppe	Übertragung von:	Zugehöriges Vitamin
Oxidoreduktasen		
NAD(P)	Wasserstoff, Elektronen	Nicotinsäure, Nicotinamid
FMN	Wasserstoff, Elektronen	Riboflavin (B ₂)
FAD	Wasserstoff, Elektronen	Riboflavin (B ₂)
Ubichinon (UQ)	Wasserstoff, Elektronen	–
Pyrolochinolinchinon (PQQ)	Wasserstoff, Elektronen	PQQ
F ₄₂₀	Wasserstoff, Elektronen	–
Liponat	Acylgruppen, Wasserstoff	Liponat
Cytochrome	Elektronen	Häm-Derivate
Transferasen		
Pyridoxalphosphat (PLP)	Aminogruppen	Pyridoxin (B ₆)
Tetrahydrofolat (THF, H ₄ -folat), Methanopterin,	Formyl-, Methyl-, Methylgruppen	Folat, 4-Aminobenzoat
Biotin	Carboxygruppen	Biotin (H)
Thiaminpyrophosphat (TPP)	Aldehydgruppen	Thiamin (B ₁)
Coenzym A	Acetyl-, Acylgruppen	Pantothenat
Coenzym M	Methylgruppen	–
Isomerasen		
Pyridoxalphosphat (PLP)	Decarboxylierung	Pyridoxin (B ₆)
Thiaminpyrophosphat	Decarboxylierung	Thiamin (B ₁)
Coenzym B ₁₂ , Vitamin B ₁₂	Methylgruppen	Cobalamin (B ₁₂)
Methanofuran	Carboxy-, Formylgruppe	–

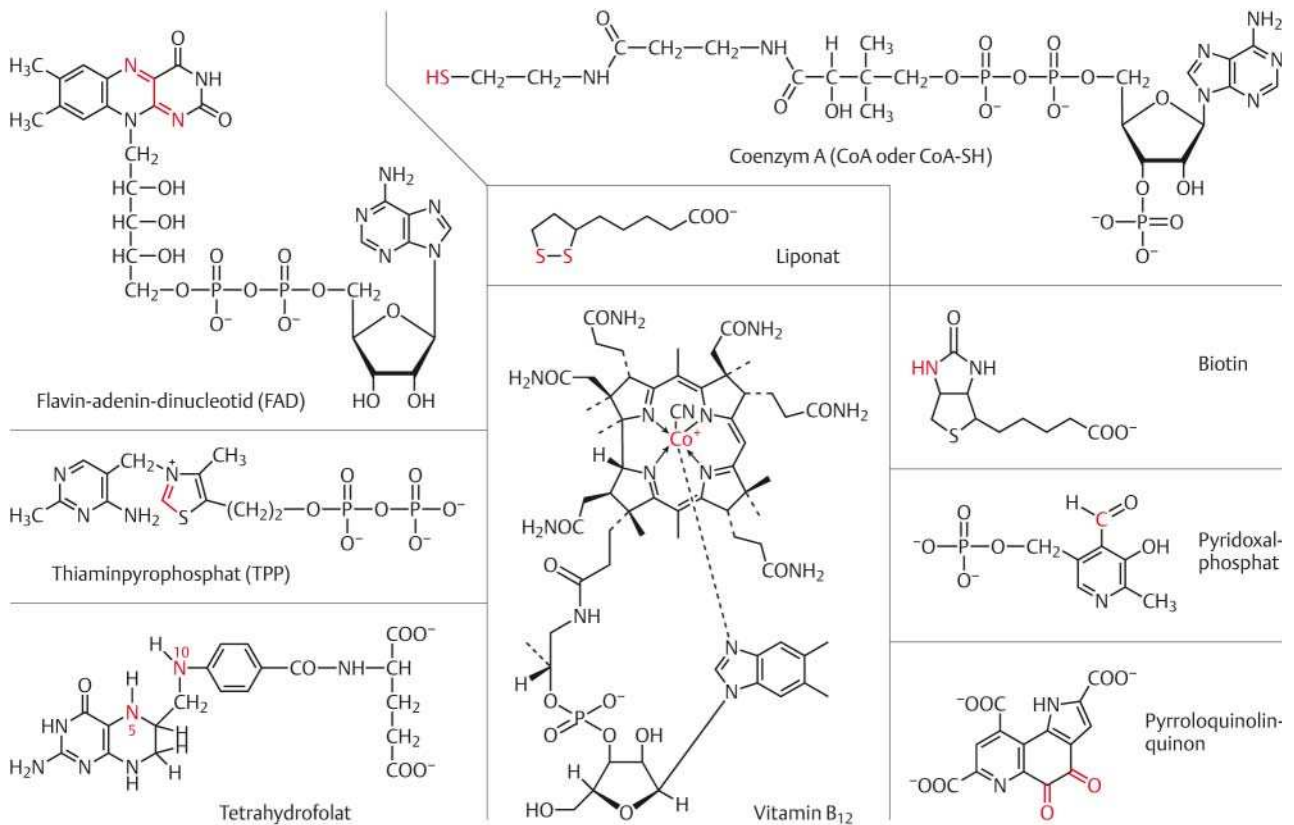


Abb. 7.4 Strukturformeln einiger Coenzyme und prosthetischer Gruppen. Die reagierenden Gruppen sind rot hervorgehoben.

Dehydrogenierung und Pyridinnukleotide

Bei der Oxidation organischer Verbindungen werden Elektronen vom Elektronendonator auf einen Elektronenakzeptor übertragen. Bei biologischen Redoxreaktionen, an denen Kohlenstoffverbindungen beteiligt sind, werden in der Regel zwei Elektronen gleichzeitig übertragen. Dabei werden außerdem zwei Protonen (H^+) vom Substrat abgespalten (Abb. 7.5). Diese formal unter Abspaltung von zwei H-Atomen ($2 [H]$) erfolgende Oxidation wird als Dehydrogenierung bezeichnet. Man gebraucht die folgenden Termini als Synonyme:

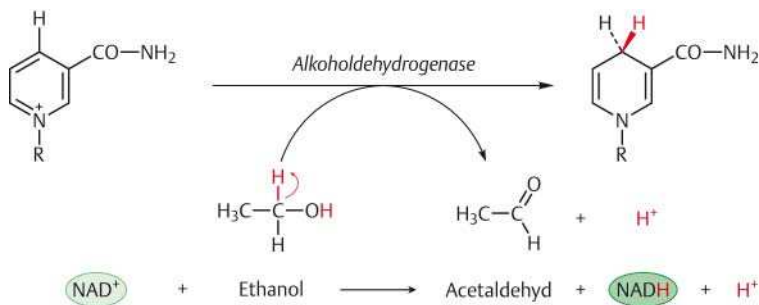


Abb. 7.5 Reaktion der Alkoholdehydrogenase. Das Hydridanion wird stereospezifisch an den Pyridinring angelagert.

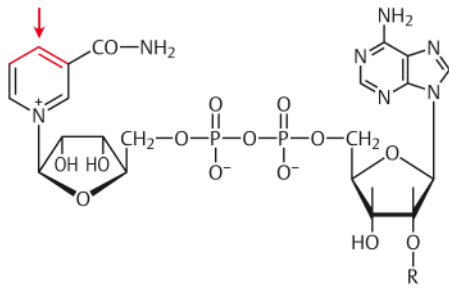


Abb. 7.6 Struktur von NAD⁺ und NADP⁺. Der Pfeil zeigt auf das Kohlenstoffatom des Pyridinrings, an das eine NAD(P)⁺-abhängige Dehydrogenase bei der Dehydrogenierung eines Substrats ein Hydridanion (H⁻) anlagert. NAD⁺: R = H; NADP⁺: R = H₂PO₃.

Box 7.1 Bestimmung der Enzymaktivität

Die reduzierten Formen der Coenzyme NADH und NADPH haben im Gegensatz zu den oxidierten Formen NAD⁺ und NADP⁺ bei 340 nm ein Absorptionsmaximum. Reduktion und Oxidation der Coenzyme lassen sich folglich an der Veränderung der Lichtabsorption bei dieser Wellenlänge verfolgen. Das ist die Grundlage vieler **optischer Testmethoden** zur Bestimmung von Enzymaktivitäten.

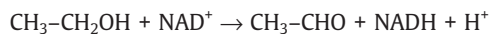
Wasserstoffdonator = **Elektronendonator** = Reduktant

Wasserstoffakzeptor = **Elektronenakzeptor** = Oxidant

Oxidation = Dehydrogenierung

Reduktion = Hydrogenierung.

Die Enzyme, welche von den Substraten Wasserstoffatome abspalten (oder in Umkehrrichtung Wasserstoffatome auf sie übertragen), bezeichnet man als **Dehydrogenasen**. Die Namensgebung bezieht sich auf den H-Donator (Lactat-Dehydrogenase, Malat-Dehydrogenase usw.). Viele Dehydrogenasen übertragen den abgespaltenen Wasserstoff reversibel auf eines der beiden Coenzyme **Nicotinamadenindinukleotid (NAD⁺)** oder **Nicotinamadenindinukleotid-Phosphat (NADP⁺)** (Abb. 7.6). Die Aktivität dieser Dehydrogenasen lässt sich leicht messen (Box 7.1). Man formuliert eine solche reversible Dehydrogenierung wie folgt:



Die für die Funktion der Coenzyme maßgebende Gruppe ist das Nicotinamid (auch als Nicotinsäureamid bezeichnet). Ein Wasserstoff wird mit seinem Bindungselektronenpaar als Hydridanion (also H⁻) vom Substrat auf den protonierten und deshalb positiv geladenen Pyridinring übertragen. Der zweite Wasserstoff geht als Proton in Lösung. Diese Wasserstoffübertragung ist stereospezifisch. Manche Enzyme (Alkoholdehydrogenase, Lactatdehydrogenase) übertragen auf die eine (A-)Seite, andere Dehydrogenasen (Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase) bedienen die andere (B-)Seite des Pyridinrings (Abb. 7.5).

Die beiden Coenzyme sind frei dissoziierbar, verlassen also das Dehydrogenaseprotein und übertragen den Wasserstoff nach Bindung an eine andere Dehydrogenase auf einen H-Akzeptor, also ein reduzierbares weiteres Molekül. NADH überträgt den Wasserstoff vorzugsweise auf Substrate bei Gärungen oder schleust ihn in die Atmungskette ein. NAD⁺ ist also das Oxidationsmittel der Zelle. NADPH ist dagegen vorwiegend an reduktiven Vorgängen der Biosyntheseprozesse beteiligt und ist das Reduktionsmittel der Zelle.

7.1.3 Umwandlung von Energie

Beim Hexoseabbau, im Citratzyklus und in der Atmungskette wird Zucker zu Kohlendioxid und Wasser oxidiert. Die dabei freigesetzte Energie hat denselben Betrag, der auch bei der Verbrennung des Zuckers frei würde. Die Unterteilung der Glucoseoxidation in zahlreiche enzymkatalysierte, theoretisch völlig reversible Reaktionen bietet die Möglichkeit, die freigesetzte Energie in biochemisch verwertbare Energie zu überführen, ohne dass viel Energie als Wärme verloren geht.

Bei vielen Stoffumwandlungen werden dennoch kleine Energiebeträge frei, die als Wärme verloren gehen. Dieser Verlust ist minimal und für die Zelle insofern von Nutzen, als das Gleichgewicht der Reaktionsteilnehmer auf der Seite der Produkte liegt. Wird bei der Umsetzung einiger Zwischenverbindungen ein größerer Betrag an Energie frei ($\Delta G = -40$ bis -60 kJ/mol), wird diese Energie im Zuge der **Substratphosphorylierung** in Form von ATP konserviert und damit energieaufwändigen Stoffwechselleistungen zugänglich gemacht. Der überwiegende Anteil der bei der Oxidation der Nährstoffe freiwerdenden Energie wird jedoch in der **Elektronentransportphosphorylierung der Atmungskette** (Kap. 7.4) in biochemisch verwertbare Energie (ATP) überführt.

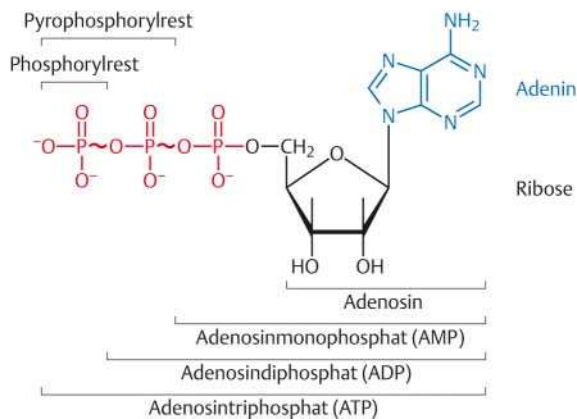


Abb. 7.7 Struktur von ATP. Die Phosphate sind über energiereiche Säureanhydridbindungen miteinander verbunden, bei deren Hydrolyse Energie frei wird.

ATP und andere energiereiche Verbindungen

Energieaufwändige Prozesse werden in der Zelle durch Adenosintri-phosphat (ATP) möglich gemacht. ATP ist die chemische Form, in der die durch Photosynthese, Atmung oder Gärung gewonnene Energie der Zelle verfügbar gemacht und verwertet wird. Es ist der universelle Überträger chemischer Energie zwischen energieerzeugenden und energieverbrauchenden Reaktionen und bedient so unterschiedliche Prozesse wie die Synthesen von Bausteinen und Makromolekülen (chemische Energie), Bewegungen (mechanische Energie) und den Transport von ungeladenen und geladenen Teilchen (osmotische Energie, elektrische Energie).

Die Säureanhydridbindungen zwischen den Phosphatgruppen (Abb. 7.7) sind „energiereich“, d.h., sie haben ein hohes Gruppenübertragungspotenzial. Zu ihrer Bildung ist mehr Energie notwendig als zur Knüpfung einer Esterbindung. Werden sie gespalten, wird umgekehrt viel Energie frei oder in den Reaktionsprodukten konserviert (Tab. 7.2). Unter Standardbedingungen setzt die Hydrolyse von ATP zu Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat etwa -32 kJ/mol (ΔG^0) frei. Bei zellulären Konzentrationen der Reaktanden ATP, ADP und Phosphat beträgt der Wert ca. -50 kJ/mol ($\Delta G'$). Entsprechend hoch ist der Energiebetrag, der für die Synthese von einem Mol ATP aufgewendet werden muss (Kap. 7.4). Die verschiedenen Stoffwechselpläne müssen unter dem Gesichtspunkt betrachtet werden, dass die Zelle meist bestrebt ist, aus den verfügbaren Nährstoffen unter den gegebenen Milieuvhältnissen ein Maximum an ATP zu gewinnen.

Regeneration von ATP

ATP wird durch zwei Prozesse regeneriert. Bei der **Elektronentransportphosphorylierung** wird an einer energetisierten Membran durch die ATP-Synthase ATP gebildet. Die Energetisierung durch Elektronentransport kann in einer Atmungskette oder infolge einer Lichtreaktion durch photosynthetischen Elektronentransport erfolgen (Kap. 7.4). Die **Substratkettenphosphorylierung**, auch Substratphosphorylierung oder Substratstufenphosphorylierung genannt, erfolgt im Intermediärstoffwechsel. Dabei wird fast immer eine Aldehydgruppe (z.B. Glycerinaldehydphosphat) oder eine Ketogruppe (z.B. Pyruvat, unter Decarboxylierung) zur Carbonsäure oxidiert. Die Energie der Reaktion wird durch zwischenzeitlich gebildete **energiereiche Derivate** gespeichert (Tab. 7.2).

Tab. 7.2 Energiereiche und energiearme Verbindungen von biochemischer Bedeutung. Angegeben ist die freie Energie $-\Delta G^0$ der Hydrolyse bei pH 7,0 unter Standardbedingungen.

Substrat	$-\Delta G^0$ kJ	kcal
Acyl-AMP	55,7	13,3
Phosphoenolpyruvat	54,4	13,0
Acetylphosphat	44,0	10,5
Acetoacetyl-CoA	44,0	10,5
Phosphokreatin	37,7	9,0
ATP ($\rightarrow$ AMP + PP _i)	31,8	7,6
UDP-Glucose	31,8	7,6
ATP ($\rightarrow$ ADP + P _i)	31,0	7,4
Saccharose	27,6	6,6
Aldose-1-phosphat	20,9	5,0
Glykoside	12,6	3,0
einfache Phosphatester	12,6	3,0

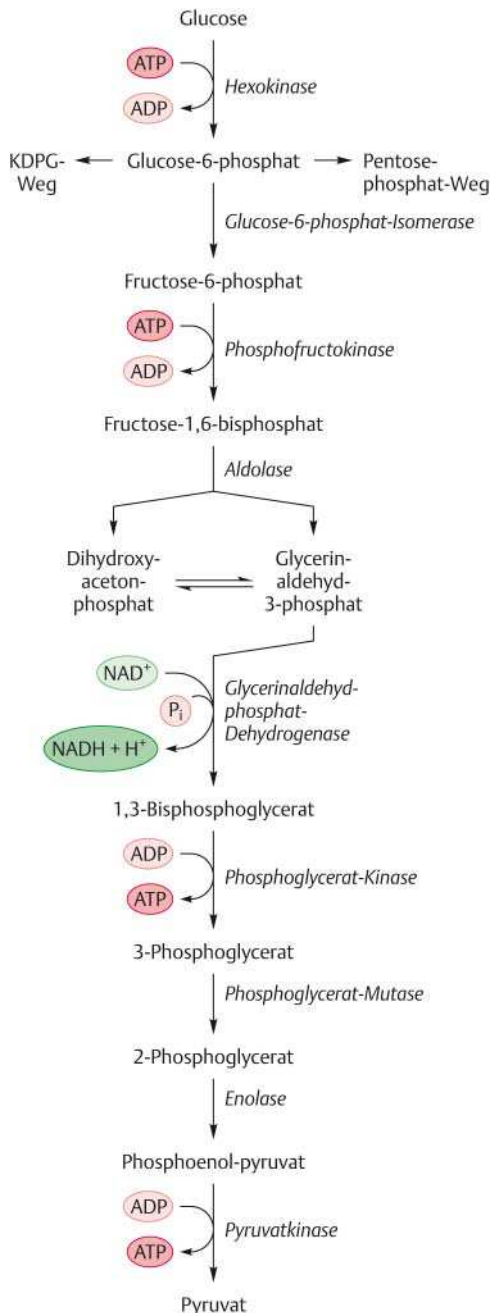


Abb. 7.8 Die Glykolyse im Überblick.

Meist entsteht ATP dadurch, dass die Phosphorylgruppe von Phosphorsäureanhydriden auf ADP übertragen wird. Die im Kohlenhydratstoffwechsel wichtigsten Reaktionen der ATP-Regeneration werden katalysiert durch:

- Phosphoglycerat-Kinase (Phosphorylgruppendonator: energiereiches 1,3-Bisphosphoglycerat)
- Pyruvat-Kinase (Phosphorylgruppendonator: energiereiches Phosphoenolpyruvat)
- Acetat-Kinase (Phosphorylgruppendonator: energiereiches Acetylphosphat).

Die Zucker vergärenden Bakterien und Hefen sind auf das durch diese Enzyme regenerierte ATP angewiesen (Kap. 12).

7.2 Wege des Hexoseabbaus

Im Folgenden werden die vier wichtigsten Reaktionsfolgen des Glucoseabbaus (die einleitende Spaltung zu C₃-Verbindungen, die Oxidation des Pyruvats, der Citratzyklus und die Atmungskette) mit ihren Funktionen vorgestellt.

Mehrere Wege führen von Glucose zu C₃-Körpern, darunter Pyruvat, eine der wichtigsten Intermediärverbindungen des Stoffwechsels. Der am weitesten verbreitete Abbauweg verläuft über Fructose-1,6-bisphosphat (FBP) und wird als FBP-Weg, **Glykolyse** oder nach den maßgebend beteiligten Forschern Embden-Meyerhof-Parnas-Weg bezeichnet (Abb. 7.8 bis 7.11).

Eine Reihe von Reaktionen, zu deren Katalyse die überwiegende Zahl der Lebewesen befähigt ist, führt zu Pentosephosphaten und wird als **Pentosephosphatweg** bezeichnet. Dieser Stoffwechselweg wird durch zwei zusätzliche Enzyme (Transaldolase, Transketolase) zu einem Zyklus geschlossen, der als **oxidativer Pentosephosphatzyklus** oder Warburg-Dickens-Horecker-Schema bekannt ist (Abb. 7.12). Die rückläufige Reaktionsfolge umfasst die wesentlichen Reaktionen zur Regeneration des CO₂-Akzeptors der autotrophen CO₂-Fixierung (Kap. 8.6.1).

Auf Bakterien beschränkt ist der Entner-Doudoroff-Abbauweg (nach seinen Entdeckern benannt) oder **KDPG-Weg**, nach dem charakteristischen Zwischenprodukt 2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat (KDPG) benannt (Abb. 7.13).

7.2.1 Glykolyse

Eine Übersicht über die Glykolyse, in der Glucose zu Pyruvat abgebaut wird, gibt Abbildung 7.8. Zunächst wird die Glucose zu Fructose-1,6-bisphosphat aktiviert und dann in zwei Triosephosphate und schließlich weiter zu Pyruvat gespalten.

Abbildung 7.9 zeigt die ersten Schritte der Glykolyse, in denen die Glucose zunächst durch das Enzym Hexokinase in 6-Stellung phosphoryliert und damit aktiviert wird (①). Dabei ist ATP Phosphatdonator. Glucose-6-phosphat ist die stoffwechselaktive Form der Glucose und Ausgangspunkt der drei oben genannten Abbauwege.

In der Glykolyse wird Glucose-6-phosphat zur Vorbereitung der Spaltung durch eine Glucosephosphat-Isomerase zu Fructose-6-phosphat isomerisiert (②) und anschließend durch Phosphofructokinase mit ATP an C1-Stellung phosphoryliert (③). Das entstandene Fructose-1,6-bisphos-

Abb. 7.9 Erste Schritte der Glykolyse. Erklärung siehe Text.

phat wird durch die Fructosebisphosphat-Aldolase zu Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat gespalten (④). Beide Triosephosphate stehen miteinander im Gleichgewicht, das stark auf der Seite des Dihydroxyacetonphosphats liegt. Die Triosephosphat-Isomerase katalysiert die Einstellung des Gleichgewichts (⑤) (Abb. 7.9).

Die nun folgende Dehydrogenierung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 3-Phosphoglycerat ist unter dem Aspekt der Energiegewinnung der wichtigste Schritt dieses Abbauwegs und anderer zu Glycerinaldehyd-3-phosphat führender Reaktionen. Die bei dieser Oxidation freiwerdende Energie ($\Delta G^0 = -67 \text{ kJ}$) wird in Form einer energiereichen Phosphatbindung konserviert.

Wie Abbildung 7.11 zeigt, wird zunächst die Aldehydgruppe an eine SH-Gruppe der Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase gebunden (①). Dann wird der Wasserstoff abgespalten und auf NAD^+ übertragen (②). Die entstandene Acyl-S-Enzym-Verbindung ist ein energiereicher Thioester. Durch Phosphorolyse, einem Austausch der S-Enzym-Gruppe gegen Orthophosphat (③), bleibt diese Energie im 1,3-Bisphosphoglycerat erhalten. Durch 3-Phosphoglyceratkinase wird diese energiereiche Phosphatgruppe auf ADP übertragen und es entstehen 3-Phosphoglycerat und ATP (④). Der Gesamtprozess ist reversibel! Da diese Phosphorylierung am Substrat erfolgt, bezeichnet man sie als Substratkettenphosphorylierung. Sind die Enzymproteine, das Orthophosphat oder das Adenosindiphosphat nicht vorhanden, kommt der Glucoseabbau hier zum Stillstand. Diese Faktoren sind demnach für die Regulation von Bedeutung (Pasteur-Effekt, s. S. 360).

Durch die Phosphoglycerat-Mutase wird 3-Phosphoglycerat zu 2-Phosphoglycerat umgewandelt (① in Abb. 7.11), aus dem unter Wasserabspaltung durch die Enolase Phosphoenolpyruvat entsteht (②). Dabei handelt es sich um einen Enolester, dessen energiereiche Phosphatgruppe durch die Pyruvatkinase auf ADP übertragen wird; dabei bleibt die Energie der Bindung weitgehend erhalten (③).

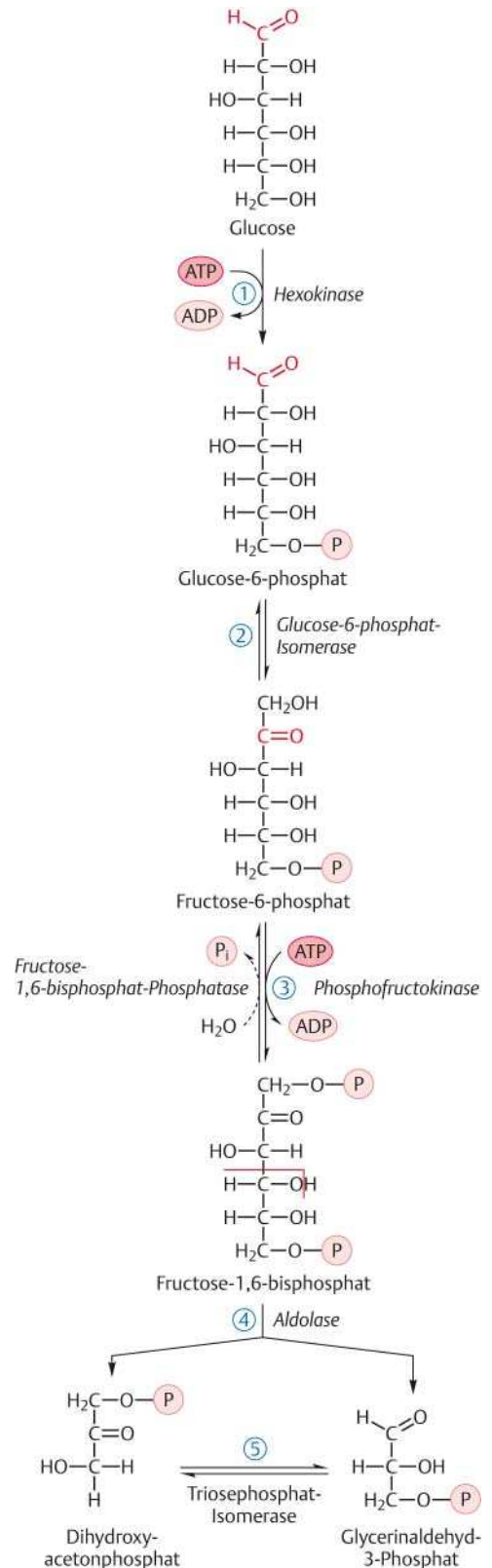
Das Pyruvat ist die Vorstufe weiterer Abbau-, Umwandlungs- und Syntheseprozesse. Mit Ausnahme der Hexokinase-, der Phosphofructokinase- und der Pyruvatkinase-Reaktion sind alle Reaktionen der Glykolyse reversibel.

Wird das gesamte, durch die Fructose-1,6-bisphosphatspaltung gebildete Triosephosphat zu Pyruvat umgesetzt, ist die Bilanz des Glucoseabbaus in der Glykolyse: 2 Pyruvat, 2 (4–2) ATP und 2 NADH . Die beiden energieliefernden Reaktionen, die bei der Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu Pyruvat ablaufen, sind für die anaeroben Organismen die wichtigsten Reaktionen der Energieumwandlung.

7.2.2 Pentosephosphatweg und oxidativer Pentosephosphatzklus

Der **Pentosephosphatweg** (Abb. 7.12 rechts) dient dazu, Hexosen in Pentosen umzuwandeln, die für Nukleinsäuren und Coenzyme benötigt werden. Außerdem dient der Prozess zur Bildung von 2 NADPH . Dazu wird Glucose-6-phosphat durch zwei Dehydrogenierungsschritte zu Ribulose-5-phosphat oxidiert.

Glucose-6-phosphat wird zunächst durch Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase dehydrogeniert (①), wobei der Wasserstoff auf NADP^+ über-



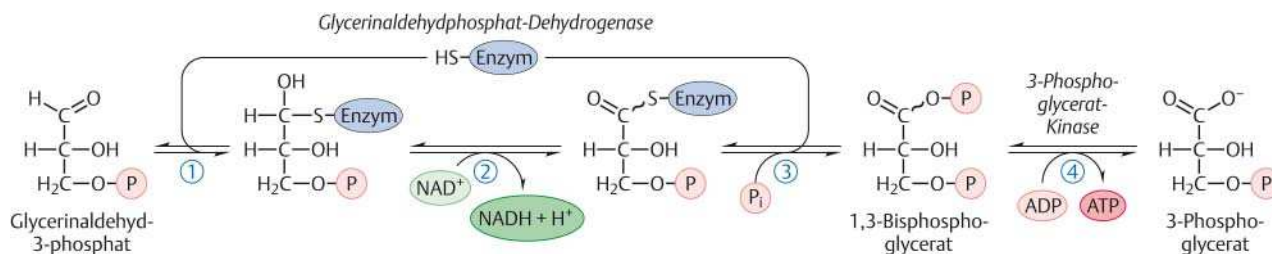


Abb. 7.10 Substratkettenphosphorylierung. Glycerinaldehyd-3-phosphat wird zu 3-Phosphoglycerat dehydriert. Alle Reaktionen sind reversibel. Erklärungen siehe Text.

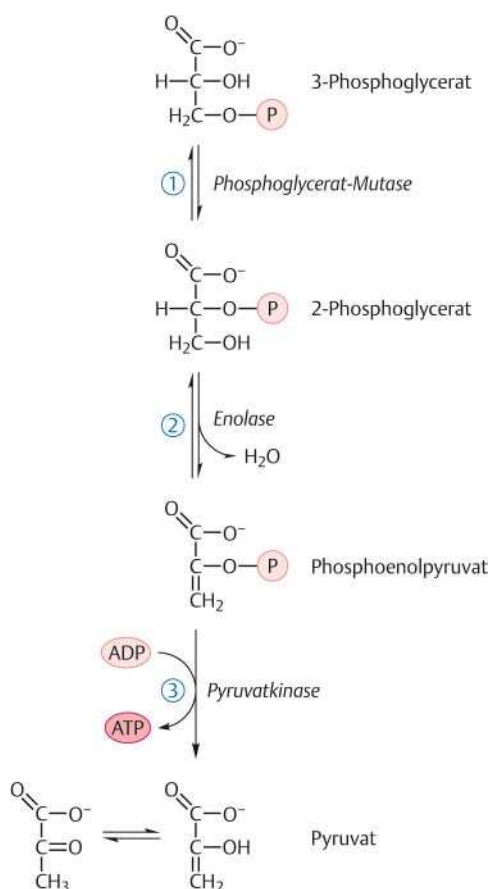


Abb. 7.11 Bildung von Pyruvat aus 3-Phosphoglycerat. Die Phosphatgruppe wird auf ADP übertragen. Erklärung siehe Text.

tragen und das labile 6-Phosphogluconolacton gebildet wird. Das 6-Phosphogluconolacton wird durch Gluconolactonase zu 6-Phosphogluconat hydrolysiert (2), aus dem durch 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase mit NADP⁺ 3-Keto-6-Phosphogluconat entsteht (3). Solche β -Ketosäuren decarboxylieren leicht und man erhält Ribulose-5-phosphat. Damit ist der eigentliche Oxidationsprozess abgeschlossen. Ribulose-5-phosphat steht mit Ribose-5-phosphat und Xylulose-5-phosphat im enzymkatalysierten Gleichgewicht. Über diesen Weg stellen viele Mikroorganismen 1 Pentose sowie 2 NADPH als Reduktionsmittel bereit.

Die folgenden Reaktionen ergeben einen zyklischen Prozess, den **oxidativen Pentosephosphatzyklus** (Abb. 7.12 links). Transketolase und Transaldolase übertragen C₃- und C₂-Fragmente und wandeln dadurch drei Pentosephosphate in zwei Fructose-6-phosphate und ein Glycerinaldehyd-3-phosphat um. Durch Isomerisierung von Fructose-6-phosphat zu Glucose-6-phosphat und Kondensation von zwei Triosephosphaten zu einem Hexosephosphat schließt sich der oxidative Pentosephosphatzyklus.

Der geschilderte Zyklus ist ein Nebenweg, dessen Bedeutung in der Bereitstellung von wichtigen Ausgangssubstanzen (Pentosephosphate, Erythrose-4-phosphat, Glycerinaldehyd-3-phosphat) und Reduktionsäquivalenten (NADPH) für Syntheseprozesse zu sehen ist. In einigen Bakterien, welche einen unvollständigen Citratzyklus haben, dient er jedoch der vollständigen Oxidation von Glucose zu CO₂ und damit zur Energiegewinnung. Die Reaktionsfolge ist völlig reversibel und in der rückläufigen Richtung in den Calvin-Zyklus (Ribulosebisphosphatzyklus) der Kohlendioxidfixierung, den Ribulosemonophosphatzyklus der Formaldehydfixierung und in andere Zyklen eingeschaltet.

Bei einem einmaligen Umlauf des Pentosephosphatzyklus entstehen aus 3 Molekülen Glucose-6-phosphat 2 Moleküle Fructose-6-phosphat, 1 Molekül Glycerinaldehyd-3-phosphat, 3 CO₂ und 6 (3 × 2) NADPH.

7.2.3 KDPG-(2-Keto-3-desoxy-6-Phosphogluconat-)Weg

Glucose-6-phosphat wird zunächst, wie oben für den Pentosephosphatweg geschildert, zu 6-Phosphogluconat dehydrogeniert (1 in Abb. 7.13). Durch eine 6-Phosphogluconat-Dehydratase wird unter Abspaltung von Wasser 2-Keto-3-desoxy-6-Phosphogluconat (KDPG) gebildet (2). KDPG wird durch die spezifische KDPG-Aldolase zu Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat gespalten (3). Letzteres wird in der Glykolyse zu Pyruvat oxidiert.

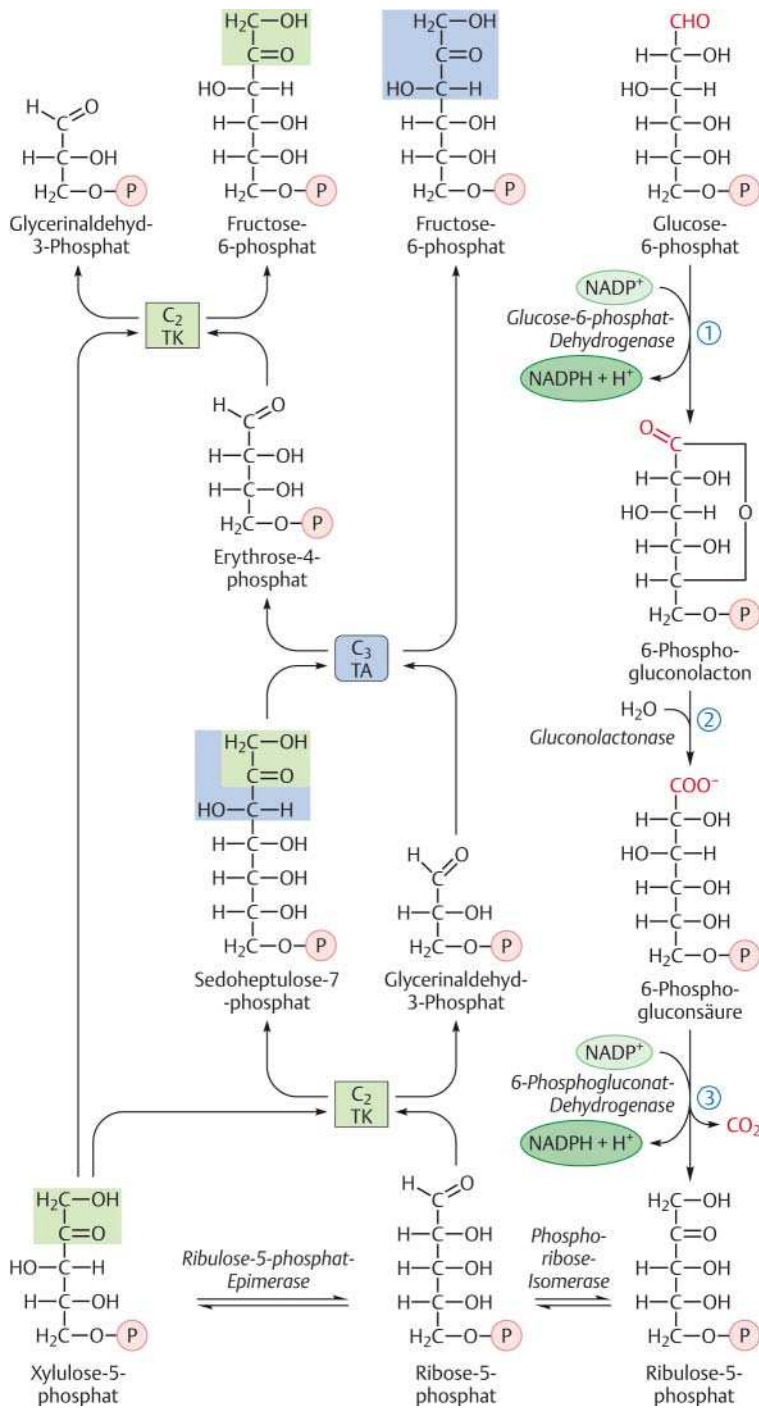


Abb. 7.12 Pentosephosphatweg des oxidativen Abbaus von Glucose-6-phosphat. Die rechte Spalte beschreibt den irreversiblen oxidativen Abbau von Glucose-6-phosphat über 6-Phosphogluconolacton. Mit der Bildung von Ribulose-5-phosphat enden die Oxidationsschritte. Der linke Teil beschreibt die reversible Bildung von Hexosen aus Pentosen mit Hilfe von Transaldolasen (TA) und Transketolasen (TK), die C₃- und C₂-Fragmente übertragen. Erklärung siehe Text.

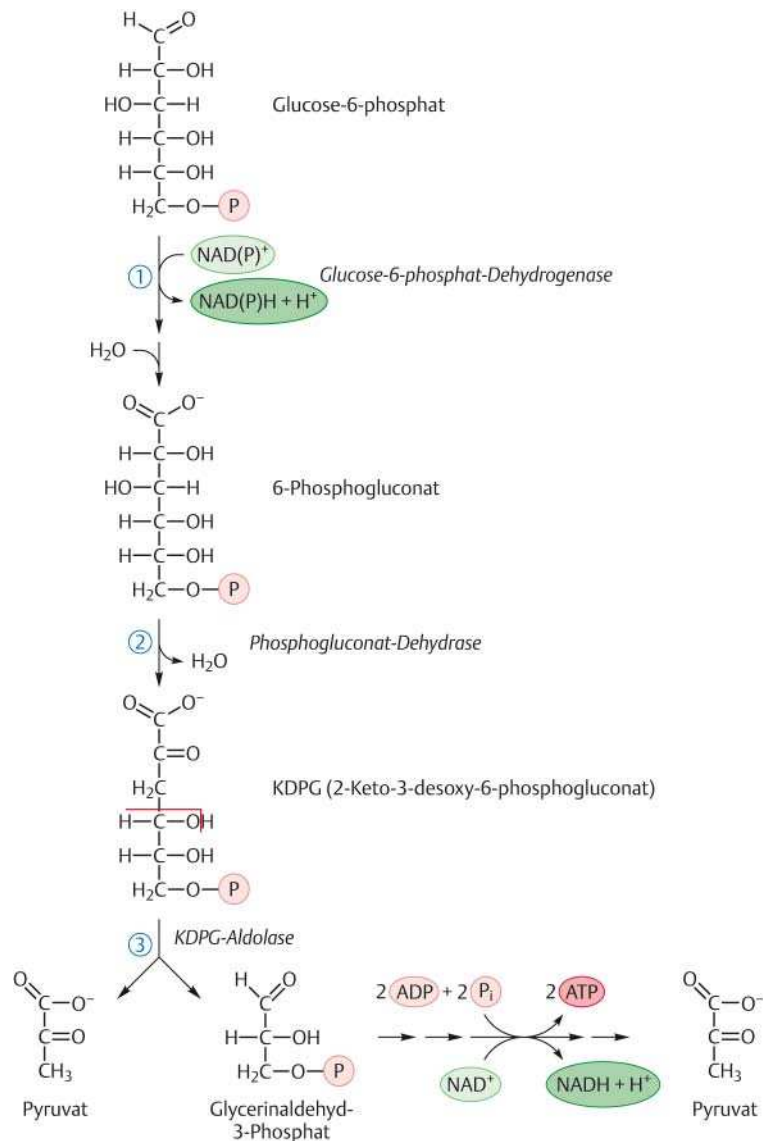


Abb. 7.13 Der KDPG-Weg des oxidativen Abbaus von Glucose. Das bei der Dehydrogenierung von Glucose-6-phosphat als Zwischenprodukt auftretende 6-Phosphogluconolacton ist nicht eingezeichnet. Erklärung siehe Text.

7.2.4 Energiebilanzen und Verbreitung der Zuckerabbauwege

Die **Bilanzen** der Zuckerabbauwege unterscheiden sich. In der Glykolyse werden pro Mol Glucose bei der Oxidation zu Pyruvat 2 Mol ATP und 2 Mol NADH erzeugt. Der KDPG-Weg erzeugt pro Mol Glucose je 1 Mol ATP, NADH und NADPH. In diesem Fall tritt also in der Bilanz ein NADPH an die Stelle von einem ATP und einem NADH. Diese Äquivalenz stimmt mit der Erfahrung überein, dass die Übertragung des Wasserstoffs von NADH auf NADP^+ durch Transhydrogenasen in vielen Fällen energieabhängig ist und unter ATP-Verbrauch verläuft.

Die Mikroorganismen unterscheiden sich beträchtlich in dem Ausmaß, in dem sie von dem einen oder anderen Weg Gebrauch machen (Tab. 7.3).

Tab. 7.3 Beteiligung verschiedener Wege am Hexoseabbau.

Art	Glykolyse	Pentose-phosphatweg	KDPG-Weg
<i>Candida utilis</i>	70–80 %	30–20 %	–
<i>Streptomyces griseus</i>	97 %	3 %	–
<i>Penicillium chrysogenum</i>	77 %	23 %	–
<i>Escherichia coli</i>	72 %	28 %	–
<i>Bacillus subtilis</i>	74 %	26 %	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	29 %	71 %
<i>Gluconobacter oxydans</i>	–	100 %	–
<i>Pseudomonas saccharophila</i>	–	–	100 %
<i>Ralstonia eutropha</i>	–	–	100 %

Die Enzyme der Glykolyse gehören in der Regel zum Grundbestand der Zelle, wenngleich dieser Weg bei vielen Bakterien nur in umgekehrter Richtung (unter Überbrückung der irreversiblen Schritte durch andere Enzyme) abläuft (s. Gluconeogenese, Kap. 7.6). Der Pentosephosphatweg ist anscheinend ebenfalls von universeller Bedeutung und auch der KDPG-Weg ist bei Bakterien z.B. für die Verwertung von Gluconat sehr weit verbreitet. Während z.B. *Escherichia coli* und *Clostridium*-Arten Glucose über die Glykolyse abbauen, schleusen sie Gluconat über den KDPG-Weg in den Intermediärstoffwechsel ein. Interessanterweise besitzen Archaeobakterien viele Varianten der zentralen Stoffwechselwege. Ob diese ursprünglich sind oder sich aus den bekannten Wegen abgeleitet haben, sei dahingestellt (Plus 7.4).

7.2.5 Oxidation von Pyruvat

Pyruvat steht im Zentrum des Intermediärstoffwechsels und kann zur Bildung zahlreicher Syntheseprodukte führen. Von vielen Organismen wird der überwiegende Teil des während des Katabolismus auftretenden Pyruvats zu Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) oxidiert. Im Stoffwechsel der Bakterien spielen die Reaktionen (1–3) eine überragende Rolle, Reaktion (4) ist seltener:

- (1) $\text{Pyruvat} + \text{HS-CoA} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{Acetyl-CoA} + \text{NADH} + \text{H}^+ + \text{CO}_2$
- (2) $\text{Pyruvat} + \text{HS-CoA} + 2 \text{ Ferredoxin}_{\text{ox}} \rightarrow \text{Acetyl-CoA} + 2 \text{ Ferredoxin}_{\text{red}} + \text{CO}_2$
- (3) $\text{Pyruvat} + \text{HS-CoA} \rightarrow \text{Acetyl-CoA} + \text{Formiat}$
- (4) $\text{Pyruvat} \rightarrow \text{Acetaldehyd} + \text{CO}_2$

Reaktion (1) wird auch oxidative Decarboxylierung bzw. dehydrierende Decarboxylierung genannt. Die Reaktion ist irreversibel und wird vom Pyruvatdehydrogenase-Multienzymkomplex (kurz **Pyruvatdehydrogenase**) katalysiert. Das Enzym ist bei aeroben Organismen vorhanden und bildet Acetyl-CoA, das in den Citratzyklus eingeschleust wird. Pyruvat wird unter Beteiligung von mehreren Cofaktoren zu Acetyl-CoA, Kohlendioxid und NADH umgesetzt (Abb. 7.14).

Der Multienzymkomplex lässt sich in drei Proteine zerlegen: die Pyruvatdehydrogenase (E1), die Dihydroliponamid-Transacetylase (E2) und

Plus 7.4 Varianten der Zuckerabbauwege in Archaeobakterien

Archaeobakterien verwenden häufig Varianten der drei genannten Stoffwechselwege. Eine dieser Varianten kennt man z.B. auch von Clostridien und manchen aeroben Bakterien, die Gluconat über eine Variante des KDPG-Weges abbauen: Glucose wird erst zu Gluconat oxidiert. Die Gluconatdehydratase setzt das Gluconat zu 2-Keto-3-desoxygluconat um, das erst auf dieser Stufe durch eine Ketodesoxygluconat-Kinase mit ATP phosphoryliert wird. Das Produkt, 2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat (KDPG), wird durch KDPG-Aldolase gespalten.

Eine andere Möglichkeit ist die direkte Spaltung von 2-Keto-3-desoxygluconat zu Pyruvat und Glycerinaldehyd. Glycerinaldehyd wird zu Glycerat dehydrogeniert und dieses mit ATP zu 2-Phosphoglycerat umgesetzt. Dies ist nur eine Auswahl der unerwarteten Varianten in Archaeobakterien, die einige Fragen hinsichtlich der Evolution der Stoffwechselwege aufwerfen.

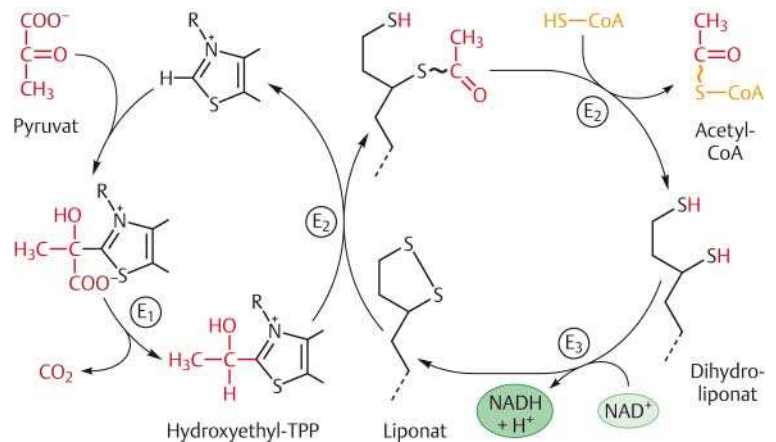


Abb. 7.14 Die Reaktionsschritte bei der Pyruvatdehydrogenierung. Erklärung siehe Text.

die Dihydroliponamid-Dehydrogenase (E3). Bei der einleitenden Umsetzung an E1 wird Pyruvat an die 2-Position des Thiazolrings des Thiaminpyrophosphats (TPP) angelagert und CO_2 abgespalten. Das dabei entstandene Hydroxyethyl-TPP reagiert mit der Disulfidbrücke des an E2 gebundenen oxidierten Liponats, es entsteht S-Acetyldihydroliponat. Die gebundene Acetylgruppe wird von der Thiolgruppe des Coenzym A übernommen, wobei das Liponat zum Dithiol (Dihydroliponat) reduziert wird. Die beiden Thiolgruppen des Dihydroliponats werden durch E3 unter Reduktion von NAD^+ wieder zum Disulfid des Liponats oxidiert.

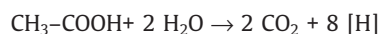
Reaktion (2) kommt in strikt anaeroben Bakterien vor, die den Pyruvat-Dehydrogenase-Multienzymkomplex nicht enthalten. Die reversible Reaktion wird von der **Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase** katalysiert. Das Enzym kann auch umgekehrt Acetyl-CoA reaktiv zu Pyruvat carboxylieren (Kap. 7.6.2).

Reaktion (3) ist biologisch umkehrbar und wird von der **Pyruvat-Formiat-Lyase** katalysiert. Das Enzym findet man in vielen fakultativ anaeroben Bakterien, die Formiat ausscheiden, insbesondere den *Enterobacteriaceae*, aber auch in phototrophen Bakterien.

Reaktion (4) wird durch die **Pyruvatdecarboxylase** katalysiert. Das Enzym ist in Hefen und einigen Bakterien, die Ethanol als Gärprodukt ausscheiden, vorhanden und oxidiert Pyruvat nicht, sondern decarboxyliert es irreversibel. Acetaldehyd wird anschließend zu Ethanol reduziert.

7.3 Citratzyklus und alternative Wege

Der Citratzyklus wird auch Citronensäurezyklus, Tricarbonsäurezyklus, oder, nach seinem Entdecker Hans Krebs, Krebs-Zyklus genannt (Abb. 7.15). Er dient der Oxidation von Acetyl-CoA zu Kohlendioxid unter Abspaltung des Wasserstoffs. Die Gesamtbilanz formuliert für Essigsäure ist:



Durch drei der beteiligten Dehydrogenasen wird der Wasserstoff auf NAD(P)^+ , durch die Succinatdehydrogenase (s. Atmungskette, Komplex II, Kapitel 7.4) dagegen direkt auf ein Chinon in der Membran übertragen. Die Coenzyme transportieren den Wasserstoff in der Regel zur Atmungs-

kette. Außerdem wird 1 ATP regeneriert (wenn man den Prozess mit Acetyl-CoA statt der freien Essigsäure formuliert).

Die Citratsynthase kondensiert Acetyl-CoA zunächst mit Oxalacetat zu Citrat (①) in Abb. 7.15, wobei Coenzym A (HS-CoA) irreversibel abgespalten wird. Citrat ist zwar ein spiegelbildlich symmetrisches Molekül, wird aber asymmetrisch abgebaut. Aconitat-Hydratase katalysiert die reversible Umwandlung der drei Tricarbonsäuren Citrat $\rightarrow$ cis-Aconitat $\rightarrow$ Isocitrat ineinander (②). Isocitrat-Dehydrogenase katalysiert die Reaktionen, die von Isocitrat zu 2-Oxoglutarat führen (③). In Bakterien wird dabei meist NADP⁺ reduziert, das weitere Reduktionsmittel für Biosynthesen bereitstellt. Das zwischenzeitlich gebildete Oxalsuccinat, eine β -Ketosäure, wird sofort decarboxyliert. 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase katalysiert eine der Pyruvatdehydrogenase-Reaktion völlig analoge irreversible oxidative Decarboxylierung einer α -Ketosäure (④). Das entstandene Succinyl-CoA wird durch Succinat-Thiokinase (auch Succinyl-CoA-Synthetase

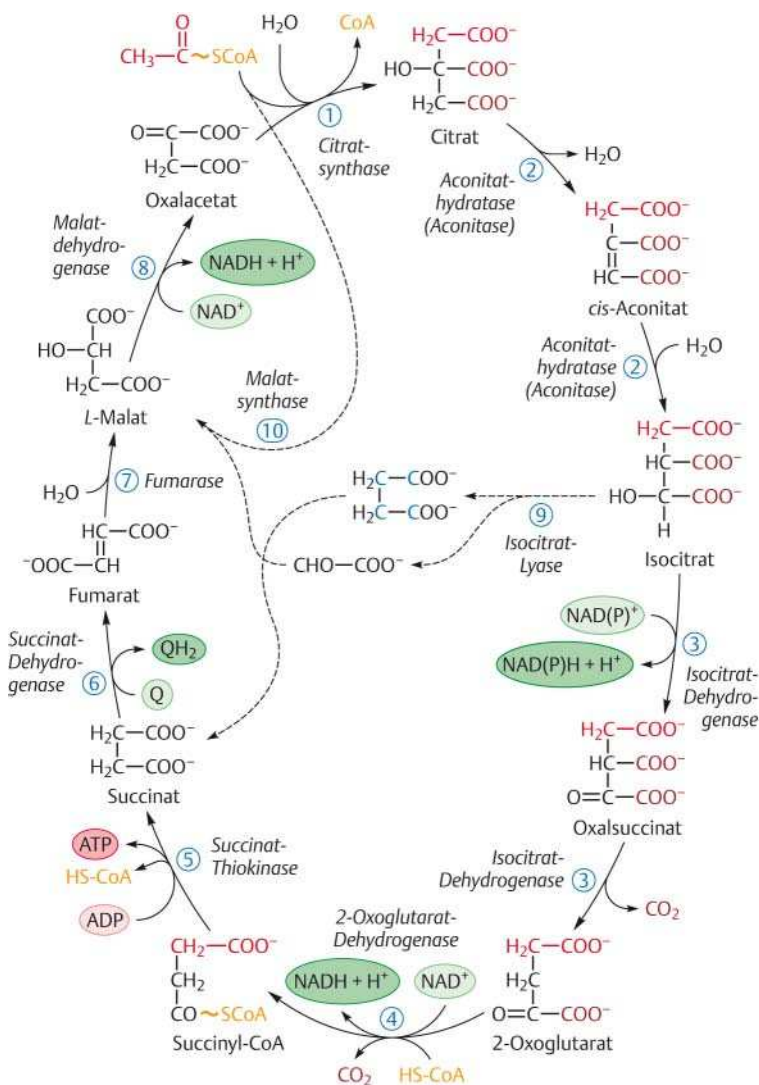
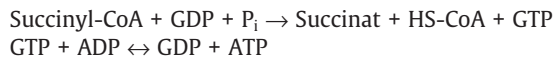


Abb. 7.15 Der Citratzyklus. ① Citratbildung, ② Isomerisierung, ③ und ④ Oxidative Decarboxylierung, ⑤ Substratkettenphosphorylierung, ⑥ – ⑧ Regeneration des Oxalacetats durch Dehydrierung. Die reduzierten Coenzyme müssen in der Atmungskette wieder oxidiert werden, damit der Zyklus kontinuierlich ablaufen kann. Zur Verdeutlichung des asymmetrischen Abbaus des Citrats sind die aus dem Acetat stammenden C-Atome bis zu Reaktion ⑥ rot markiert. Succinat ist die erste symmetrische Verbindung. Die punktierten Pfeile markieren den Glyoxylatzyklus (vgl. Abb. 7.27, Kap. 7.6.2). Bis auf die Schritte ① und ④ sind die Reaktionen reversibel.

Plus 7.5 Alternative Wege der Oxidation von organischen Verbindungen

Verschiedene Bakterien besitzen nur einen unvollständigen Citratzyklus, in dem meist das 2-Oxoglutarat oxidierende Enzym fehlt (man spricht von Hufeisenform des unvollständigen Zyklus). Der Zyklus erfüllt noch seine biosynthetische Rolle, aber Acetyl-CoA kann auf diesem Weg nicht mehr oxidiert werden. Es gibt zwei Alternativen, um organische Verbindungen dennoch vollständig zu CO₂ zu oxidieren. Eine Möglichkeit ist der **oxidative Pentosephosphatzyklus** (Kap. 7.2.2), der z.B. bei Cyanobakterien (und in Chloroplasten) im Dunkeln betrieben wird. Dieser Weg ist geeignet für Bakterien, deren autotropher Kohlenstoffstoffwechsel um die Synthese und den Abbau von Zuckern kreist. Eine andere Möglichkeit ist der **oxidative Acetyl-CoA-Weg**. Es ist eine Umkehrung des reduktiven Acetyl-CoA-Weges der autotrophen CO₂-Fixierung (Kap. 8.6.1, 13). Dieser Weg ist günstig für anaerobe Bakterien, die fakultativ autotroph sind und in ihrer Umwelt Acetat und verschiedene C₁-Verbindungen antreffen, die ebenfalls über diesen Weg assimiliert oder oxidiert werden.

genannt) in einer gekoppelten Reaktion unter Phosphorylierung von GDP gespalten (⑤):



Succinatdehydrogenase ist ein Membranproteinkomplex. Er oxidiert Succinat zu Fumarat und überträgt die Elektronen auf Ubichinon (E⁰ +0,11 V) in der Membran (⑥). Das Redoxpotenzial (E⁰) des Fumarat/Succinat-Paares ist ca. 0 V, sodass NAD⁺ mit einem Redoxpotenzial von –0,32 V nicht reduziert werden kann. Fumarase (Fumarathydratase) lagert in einer stereospezifischen Hydratation, die zu L-Malat führt, Wasser an Fumarat an (⑦). Malatdehydrogenase dehydrogeniert dann Malat zu Oxalacetat und der Acetatakzeptor ist damit regeneriert (⑧). Die Synthese von Citrat und die Oxidation von 2-Oxoglutarat sind irreversibel, alle anderen Reaktionen sind reversibel. Bei strikten Anaerobiern gibt es einige Enzymvarianten, das Prinzip ist aber das gleiche. Alternative Wege der Oxidation organischer Verbindungen sind in Plus 7.5 aufgeführt.

7.4 Elektronentransportphosphorylierung der Atmungskette

Während die meisten anaerob lebenden Organismen ATP nur durch Substratkettenphosphorylierung zu regenerieren vermögen, synthetisieren atmende und photosynthesetreibende Organismen ATP auf eine ungleich wirksamere Art und Weise. Sie verfügen über einen besonderen Apparat: die **Elektronentransportkette** und das Enzym **ATP-Synthase**. Beide Systeme sind bei den Prokaryonten in der Cytoplasmamembran und bei den Eukaryonten in der inneren Membran der Mitochondrien bzw. in der Thylakoidmembran der Chloroplasten lokalisiert. Sowohl Mitochondrien als auch Chloroplasten, die beiden der Energiegewinnung dienenden Organellen der Eukaryonten, leiten sich von Bakterien ab (Endosymbiose). Die Prinzipien ihrer Energietransformation sind deshalb mit denen der Prokaryonten vergleichbar. Im Fall der Mitochondrien findet man ganz ähnliche Verhältnisse bei Bakterien der alpha-Gruppe der Proteobakterien. Im Fall der Chloroplasten dienen Cyanobakterien als Vorbild.

Über die Atmungskette werden die Reduktionsäquivalente über Membranproteinkomplexe auf Sauerstoff übertragen. In der Membran findet also eine biochemische Knallgasreaktion, die Reaktion von H₂ mit O₂ zu H₂O, statt. Sie unterscheidet sich von der chemischen Wasserstoffverbrennung energetisch dadurch, dass der größte Teil der freien Energie (etwa 60%) als biologisch verwertbare Energie in Form von ATP gespeichert wird. Nur ein geringerer Teil (etwa 40%) geht als Wärme verloren. Die Prinzipien des Elektronentransports und der Elektronentransportphosphorylierung der Atmung gelten auch für die Photosynthese (Kap. 14). Wenn statt Sauerstoff andere terminale Elektronenakzeptoren in einer Atmungskette verwendet werden, spricht man von anaerober Atmung (Kap. 13).

7.4.1 Prinzip der Atmungskette

Die Reduktionsäquivalente (Elektronen, e⁻, plus Protonen, H⁺) werden an der Cytoplasmamembran der Prokaryonten oder an der inneren Mitochondrienmembran der Eukaryonten abgenommen. Die Elektronen werden so durch die Membran geleitet, dass dabei Protonen, ein positiv geladenes Ion, von der Cytoplasmaseite gegen das Konzentrations- und

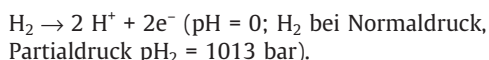
Ladungsgefälle, also den elektrochemischen Gradienten, nach außen transportiert werden. Dadurch baut sich über die Membran ein elektrochemisches Potenzial auf, das durch den Konzentrationsgradienten und das Ladungsungleichgewicht bestimmt wird. Die beim Elektronenfluss frei werdende Energie wird also in einem elektrochemischen Potenzial über die Membran konserviert, bevor sie zur ATP-Synthese benutzt wird.

Dieses elektronen- und protonentransportierende System nennt man Atmungskette oder Elektronentransportkette. Die Kette setzt sich aus verschiedenen Komponenten zusammen, über die kaskadenartig Elektronen bzw. Wasserstoff zum Sauerstoff geleitet werden. Einige der Komponenten übertragen nur Elektronen, andere übertragen Elektronen zusammen mit Protonen, also Wasserstoff. Einige der beteiligten Proteinkomplexe „pumpen“ beim Durchlass von Elektronen eine bestimmte Anzahl von Protonen von der Membraninnenseite nach außen.

Redoxpotenzial

Entscheidend für die Atmungskette ist der Fluss von Elektronen von einem Redoxsystem mit negativerem zu einem mit positiverem Potenzial. Bei dem Elektronenfluss verhalten sich die Komponenten der Atmungskette wie typische Redoxkatalysatoren – sie pendeln zwischen ihrer oxidierten und ihrer reduzierten Form hin und her. Ihnen lässt sich ein Redoxpotenzial zuordnen.

Das **Redoxpotenzial** ist ein quantitatives Maß für die Tendenz von Verbindungen oder Elementen, Elektronen abzugeben. Die Tendenz zur Elektronenabgabe wird relativ zu der des molekularen Wasserstoffs angegeben. Definitionsgemäß hat das Wasserstoffhalbelement, eine bei pH = 0 mit Wasserstoff umspülte Platinelektrode, das Elektrodenpotenzial 0 V.



Das Redoxpotenzial für hälftige Reduktion unter Standardbedingungen (oxidierte und reduzierte Stufe in gleicher Konzentration) wird mit E^0 bezeichnet. Man rechnet in der Biochemie mit den auf pH 7,0 bezogenen Potenzialen E^0 . Bei diesem pH-Wert hat die **Wasserstoffelektrode** ein Potenzial E^0 von –0,42 Volt. Abbildung 7.16a veranschaulicht die Abhängigkeit des auf das Potenzial des Wasserstoffhalbelements bezogenen Potenzials vom pH-Wert. Aus der **Nernst-Gleichung**

$$E = E^0 + (RT/nF) \cdot \ln (c_{\text{ox}}/c_{\text{red}})$$

lässt sich herleiten, dass das wirkliche Potenzial eines Redoxsystems E von den Konzentrationen an oxidiertem und an reduziertem Stoff abhängt. n ist die Anzahl der übertragenen Elektronen (in mol), T die Temperatur (in K), F die Faraday-Konstante (96,5 kJ/V), c_{ox} die Konzentration des oxidierten, c_{red} die Konzentration des reduzierten Reaktionspartners des Redoxsystems.

Analog der Spannungsreihe der Elemente können auch biologische Substanzen ihrem Redoxpotenzial entsprechend zu einer Reihe geordnet werden. Für die wirklichen zellulären Konzentrationen der Redoxpartner und für 30 °C sowie für pH 7,0 gilt gerundet die Beziehung

$$E' = E^0 + (0,06/n) \lg (c_{\text{ox}}/c_{\text{red}})$$

Das Redoxpotenzial ist also umso negativer, je größer das Verhältnis der Konzentrationen von reduziertem zu oxidiertem Reaktionspartner ist (Abb. 7.16b).

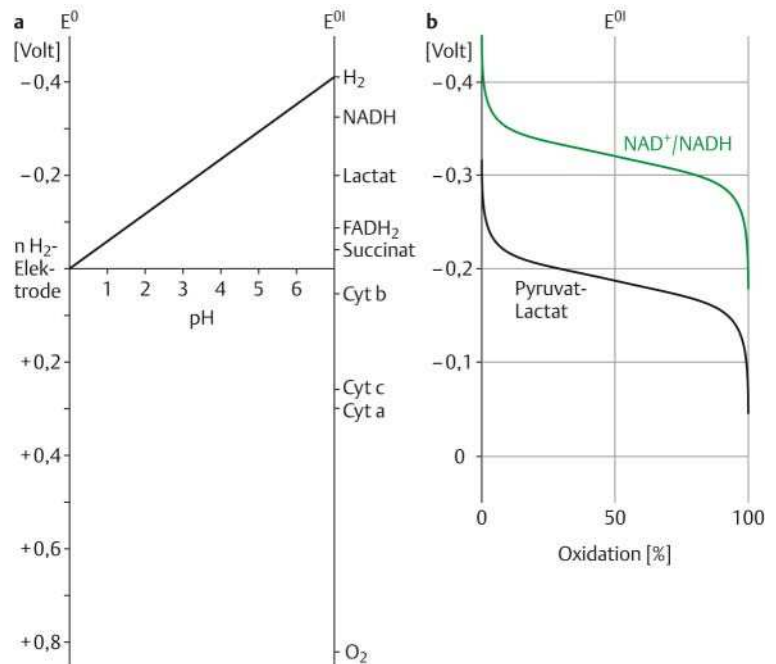


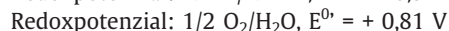
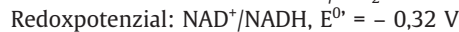
Abb. 7.16 Redoxpotenziale. **a** Abhängigkeit des auf das Potenzial des Wasserstoffhalbelements ($n\text{-H}_2\text{-Elektrode}$) bezogenen Potentials vom pH-Wert. Das Normalpotential E^0 ist für einige Verbindungen eingetragen. **b** Abhängigkeit des wirklichen Potentials E' zweier Redoxsysteme von der Konzentration an oxidiert und reduzierter Form.

Das Redoxpotential ist auch ein Maß für die maximale Nutzbarkeit oder für die freie Energie ΔG^0 einer Reaktion. Aus der Differenz der Redoxpotenziale zweier miteinander reagierender Redoxsysteme ΔE^0 lässt sich die freie Energie der Umsetzung ΔG^0 errechnen nach:

$$\Delta G^0 = -n F \Delta E^0 = -n 96,5 \Delta E^0 \text{ (kJ/mol)}$$

Die Normalpotenziale E^0 der Komponenten der Atmungskette reichen von -0,32 V für NAD^+/NADH über +0,11 V für Ubichinon/Ubichinol H_2 , ca. +0,3 V für Cytochrom c ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) bis +0,81 V für $1/2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$. Auch Substrat-/Produktpaaren lassen sich Normalpotenziale zuordnen: Pyruvat/Lactat -0,19 V, Oxalacetat/Malat -0,17 V und Fumarat/Succinat -0,03 V.

Für die Knallgasreaktion ergibt sich unter Berücksichtigung der Differenz zwischen den Normalpotenzialen von H_2 und O_2 (-0,42 bis +0,81 V = 1,23 V) ein Betrag an freier Energie von $\Delta G^0 = -2 \cdot 96,5 \cdot 1,23 = -237 \text{ kJ/mol}$. Für den in der Zelle auf dem Niveau von NADH angelieferten Wasserstoff ist die Potenzialdifferenz etwas geringer:



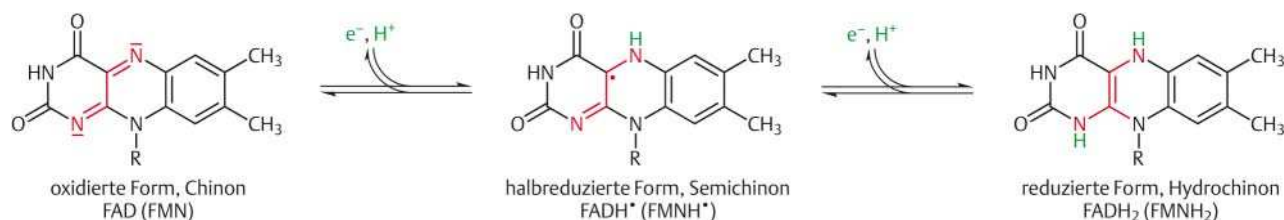
Die Differenz (+0,81 V - (-0,32 V)) = 1,13 V ist einer freien Energie ΔG^0 von -218 kJ/mol äquivalent. In analoger Weise lassen sich aus den Differenzen zwischen den Potenzialen der Elektronenüberträger der Atmungskette die entsprechenden Energiebeträge errechnen (Tab. 7.4), die frei werden, wenn eine Anzahl von n Elektronen diese Kette durchlaufen.

Tab. 7.4 Redoxpotenziale der Komponenten der Atmungskette, Potenzialdifferenzen und Energieäquivalente.

Komponenten der Atmungskette	$E^{0'}$ (V)	Differenz (V)	$-\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)	$-\Delta G^{0'}$ (kcal/mol)
2 H^+/H_2	- 0,42			
		0,10	19,3	4,61
NAD(P) $^+$ /NAD(P)H	- 0,32			
		0,24	46,4	11,1
Flavoprotein	- 0,08			
		0,04	7,7	1,84
Cytochrom <i>b</i>	- 0,04			
		0,31	59,8	14,30
Cytochrom <i>c</i>	+ 0,27			
		0,02	3,8	0,92
Cytochrom <i>a</i>	+ 0,29			
		0,52	100,4	24,0
Sauerstoff	+ 0,81			

7.4.2 Komponenten der Atmungskette

Die Atmungskette besteht aus einer Reihe von integralen Membranproteinkomplexen (I – IV), die als Oxidoreduktasen wirken und die man mit Detergenzien herauslösen und isolieren kann. Sie besitzen Reaktionszentren mit Flavinnukleotiden, Eisen-Schwefel-Zentren und Hämen als redoxaktive prosthetische Gruppen. Hinzu kommen zwei kleinere Komponenten, die Chinone und Cytochrom *c*, ein kleines, nur locker an die Außenseite der Membran gebundenes Protein mit einem kovalent gebundenen Häm. In der Atmungskette fließen Elektronen von Redoxsystemen mit negativerem zu solchen mit positiverem Potenzial. Daher ist die Anordnung der Proteinkomplexe und der anderen am Elektronenfluss beteiligten Komponenten in der Membran vorgegeben. Innerhalb der Membranproteinkomplexe I, III und IV finden die Elektronenübergänge über eine sehr hohe Redoxpotenzialdifferenz statt. Die dabei frei werdende Energie wird zum Transport von Protonen über die Membran genutzt und so der Protonengradient über die Membran aufgebaut. Komplex II wirkt als Dehydrogenase und ist nicht am Protonentransport über die Membran beteiligt (vgl. Abb. 7.21).

**Abb. 7.17 Das Isoalloxazinsystem der Flavinnukleotide FMN und FAD.**

Flavoproteine

Die **Flavoproteine** sind Enzyme, die FMN oder FAD als prosthetische Gruppe enthalten und Wasserstoff übertragen. Die Wirkgruppe ist das Isoalloxazinsystem (Abb. 7.17), das als reversibles Redoxsystem wirkt. Die reagierenden Zentren sind zwei N-Atome, an die je ein [H] angelagert werden kann. Flavoproteine sind in der Lage, zwischen Prozessen der Wasserstoffübertragung zu vermitteln, bei denen ein bzw. zwei H-Atome übertragen werden, weil sie selbst entweder ein H-Atom (Semichinon-zustand) oder zwei H-Atome übertragen können.

Eisen-Schwefel-Proteine

Die Eisen-Schwefel-Proteine (FeS) sind Redoxsysteme, die nur Elektronen übertragen. Sie enthalten Eisenatome, die einerseits an den Schwefel der Aminosäure Cystein und andererseits an anorganischen Sulfidschwefel gebunden sind (Abb. 7.18). Letzterer lässt sich durch Ansäuern leicht als Schwefelwasserstoff freisetzen. Die Cysteinreste sind Teil der Polypeptidkette, die FeS-Zentren kann man als prosthetische Gruppe des Polypeptids ansehen. Sie sind in mehreren Enzymkomplexen der Atmungskette enthalten. Von dem in der Cytoplasmamembran lokalisierten Eisen sind 80% in den FeS-Proteinen und nur 20% in den Hämgruppen der Cytochrome enthalten. FeS-Proteine spielen aber auch bei anderen Stoffwechselprozessen eine entscheidende Rolle (Plus 7.6).

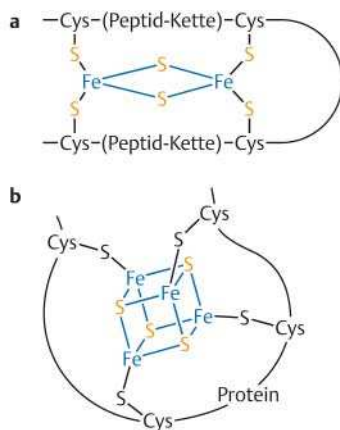


Abb. 7.18 Struktur eines Eisen-Schwefel-Proteins der Atmungskette. Es gibt zwei hauptsächliche Klassen von FeS-Proteinen. **a** Klasse mit Fe_2S_2 -Zentrum. **b** Klasse mit Fe_4S_4 -Zentrum (nach Doenecke et al., 2005).

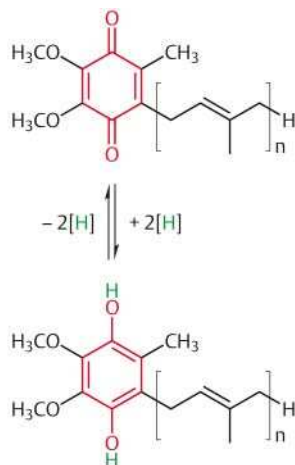


Abb. 7.19 Die Reduktion von Ubichinon zu Ubichinol.

Chinone

Als weitere Redoxsysteme sind **Chinone** an der Atmungskette beteiligt. In der inneren Mitochondrienmembran und bei aeroben gramnegativen Bakterien ist Ubichinon (Coenzym Q, ein Benzochinon; Abb. 7.19), in anaeroben gramnegativen und grampositiven Bakterien ist Menachinon (ein Naphthochinon) und in Chloroplasten Plastochinon (ein Benzochinon) enthalten. Die Chinone sind lipophil und daher in der Lipidphase der Membran lokalisiert. Sie können Wasserstoff oder Elektronen übertragen. Die Übertragung kann sich in zwei Schritten vollziehen, wobei Semichinon als Zwischenstufe auftritt. Im Vergleich zu den übrigen Komponenten der Atmungskette liegen die Chinone in 10–14fachem Überschuss vor. Sie dienen als Sammelbecken (Pool) für den durch verschiedene Coenzyme und prosthetische Gruppen in die Atmungskette eingeschleusten Wasserstoff, den sie an die Cytochrome weitergeben.

Cytochrome

Die **Cytochrome** sind Redoxsysteme, die nur dem Transport von Elektronen dienen, die sie aus dem Sammelbecken der Chinone erhalten. Da sie keinen Wasserstoff übertragen, geht eine der Zahl der Elektronen äquivalente Anzahl von Protonen aus dem Chinonpool in Lösung.

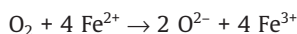
Die Cytochrome sind – wie der Name andeutet – farbig und unterscheiden sich durch ihre Absorptionsspektren und Redoxpotenziale. Man unterscheidet u.a. zwischen Cytochromen *a*, *a*₃, *b*, *c*, *d* und *o*. Cytochrome enthalten verschiedene Arten von Häm als prosthetische Gruppe. Das zentrale Eisenatom des Häminrings nimmt durch Valenzwechsel ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) an der Elektronenübertragung teil. Im Cytochrom *c* ist die Hämgruppe kovalent an Cystein-Aminosäuren des Apoproteins gebunden (Abb. 7.20), es kann mit Salzlösungen aus der Membran gelöst werden. Bei den elektro-

Plus 7.6 Rolle von FeS-Proteinen

Außer beim Elektronentransport bei der Atmung (und der Photosynthese) sind FeS-Proteine an vielen anderen (vor allem) Redoxreaktionen beteiligt, wie der N₂-Fixierung, Sulfidreduktion, Nitritreduktion, Bildung und Oxidation von molekularem Wasserstoff und an der Alkanoxidation. Die FeS-Proteine haben oft ein stark negatives Redoxpotenzial. E⁰ liegt gewöhnlich im Bereich von -0,2 bis -0,6 V. Außer FeS-Proteinen mit Fe₂S₂-Zentren in Chloroplasten und aeroben Bakterien (s. Text) gibt es solche mit einem (*Clostridium*, *Chromatium*) oder zwei Fe₄S₄-Zentren (*Clostridium*, *Azotobacter*) (Abb. 7.18). Einige elektronenübertragende kleine FeS-Proteine werden nach Vorkommen oder Funktion als Ferredoxin, Putidaredoxin, Rubredoxin oder Adrenodoxin bezeichnet.

nenübertragenden Cytochromen sind alle sechs Bindestellen des Häm-Eisens durch Liganden besetzt (oktaedrischer Komplex). Sie reagieren deshalb nicht mit anderen Metallliganden wie Cyanid oder Kohlenmonoxid oder mit Sauerstoff und können daher nicht mit diesen Verbindungen gehemmt werden.

Cytochrome sind auch an der Übertragung der Elektronen auf Sauerstoff beteiligt (Plus 7.7). **Cytochromoxidasen** reagieren als Endoxidasen mit Sauerstoff und beladen ihn mit 4 Elektronen:



7.4.3 Atmungskette bei Veratmung von Sauerstoff

Oxidasepositive Bakterien

Die Komponenten der Atmungskette lassen sich aufgrund ihrer Redoxpotenziale in eine Reihe anordnen, die mit NADH (negativstes Potenzial) beginnt und mit der terminalen Oxidase und Sauerstoff endet (Abb. 7.21). Wir besprechen hier zunächst die Verhältnisse in den sogenannten oxidasepositiven Bakterien, die Cytochrom c enthalten und durch einen Oxidase-Test nachweisbar sind (Box 7.2).

Vom NADH werden die Elektronen durch hintereinander geschaltete große Membranproteinkomplexe auf Sauerstoff übertragen. Diese Komplexe sind:

- Komplex I: NADH-Dehydrogenase (NADH-Ubichinon-Oxidoreduktase)
- Komplex II: Succinatdehydrogenase (Succinat-Ubichinon-Oxidoreduktase)
- Komplex III: Cytochrom-bc₁-Komplex (Ubichinol-Cytochrom-c-Oxidoreduktase)
- Komplex IV: Cytochromoxidasen (Cytochrom-c-O₂-Oxidoreduktase)

Sie durchspannen die Cytoplasmamembran und fixieren die prosthetischen Gruppen – Flavine, Cytochrome, FeS- und Cu-Zentren – in einer bestimmten Lage. Mit Hilfe von Hemmstoffen hat man schon früh die Reihenfolge der Komponenten der Atmungskette festlegen können (Plus 7.8).

Komplex I, die **NADH-Dehydrogenase**, oxidiert NADH auf der Cytoplasmaseite und überträgt die Elektronen auf Ubichinon (Q), welches in großem Überschuss in der Plasmamembran vorhanden ist. Komplex I ist eine Protonenpumpe und pumpt pro Reaktionsumsatz 4 H⁺ (manchmal

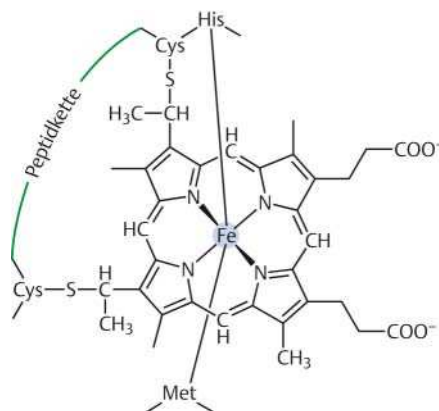


Abb. 7.20 Häm des Cytochrom c in der Atmungskette.

Plus 7.7 Cytochrome in Anaerobiern

Cytochrome galten lange Zeit als Merkmale für aerobe und phototrophe Organismen. Inzwischen gibt es zahlreiche Beispiele für anaerobe Atmungsketten, die den Prinzipien der aeroben Atmungskette entsprechend aufgebaut sind. Selbst aerotolerante Milchsäurebakterien wie *Streptococcus lactis* und *Leuconostoc mesenteroides* sowie das anaerobe *Bifidobacterium* bilden Cytochrome, wenn sie auf Häm in oder Blut enthaltenden Nährböden wachsen.

Box 7.2 Oxidase-Test

Das Cytochrom c an der Membranoßenseite ist für Farbstoffe zugänglich und kann spontan reduzierte Farbstoffe (z.B. die farblose Leukoform von Tetramethylparaphenylendiamin, TMPD) zur farbigen (blauen) Form oxidieren; die Elektronen fließen dann zum Sauerstoff. Durch diesen **Oxidase-Test** lässt sich die Anwesenheit von Cytochrom c leicht feststellen; Kolonien von oxidasepositiven Bakterien reagieren blau. Dies gilt auch sinngemäß für die Mitochondrien.

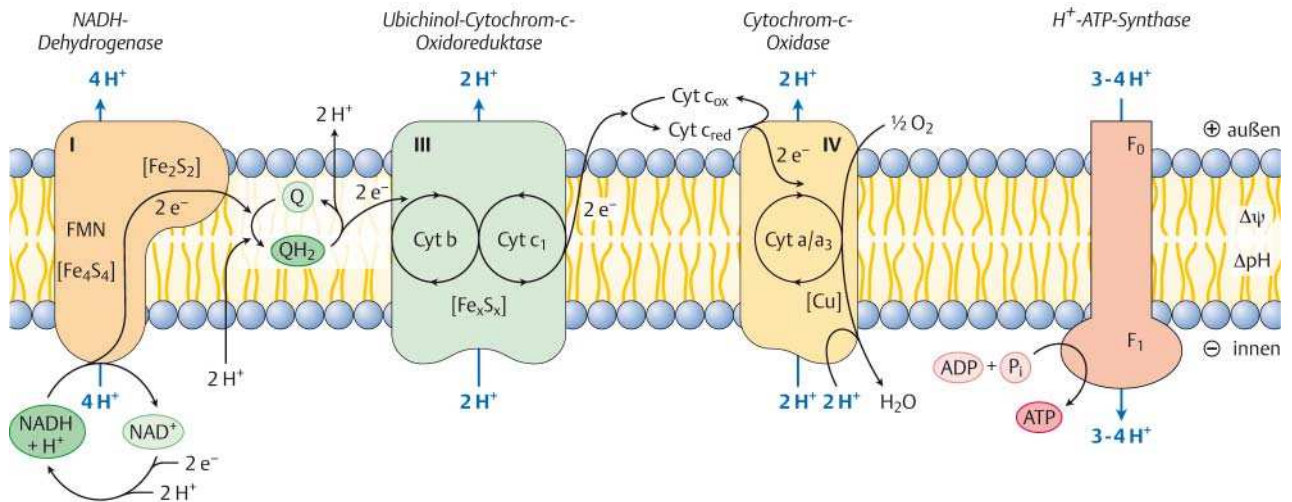


Abb. 7.21 Anordnung der Redoxsysteme der Atmungskette und der Elektronentransport von NADH zu Sauerstoff. Der Prozess ist an die Translokation von Protonen aus der Zelle heraus in den Außenraum gekoppelt. Das erzeugt ein elektrochemisches Protonenpotenzial, welches die Synthese von ATP durch die H^+ -ATP-Synthase antreibt. Dabei folgen die Protonen dem Membranpotenzial (innen negativ) und dem H^+ -Konzentrationsgefälle (innen alkalisch, also weniger Protonen). Zwar erscheint die Lipiddoppelschicht symmetrisch, doch die Orientierung der Funktionsproteine (Elektronentransportkomponenten, ATP-Synthase, u.a.) verleiht ihr einen asymmetrischen Charakter. Beim Durchfluss von 2 Elektronen durch die Transportkette werden 10 H^+ nach außen transportiert. Der Elektronenfluss und die einzelnen Komponenten sind im Text erklärt. Cyt, Cytochrom; Cu, Kupfer; FAD, Flavinadenindinukleotid; FMN, Flavinmononukleotid; FeS, Eisen-Schwefel-Protein; NADH, Nicotinamidadenindinukleotid; Q, Ubichinon; QH₂, Ubichinol; $\Delta\psi$, elektrisches Membranpotenzial; ΔpH , pH-Differenz zwischen Außen- und Innenseite.

Plus 7.8 Hemmstoffe der Atmungskette

Die Atmungskette wird durch verschiedene Zellgifte gehemmt oder blockiert. Amytal, Rotenon und Piericidin A hemmen die NADH-Dehydrogenase. Antimycin A blockiert den Elektronentransport zwischen Cytochrom *b* und *c*. Die Endoxidasen sind durch Metalliganden wie Cyanid (CN⁻), Azid (N₃⁻) und Kohlenmonoxid (CO) hemmbar, da die sechste Koordinationsstelle des Eisens für die Reaktion mit O₂ frei ist; dort binden diese Hemmstoffe. Die spezifische Wirkung dieser Gifte und Veränderungen der charakteristischen Absorptionsspektren der Komponenten der Atmungskette sind die Indikatoren, mit deren Hilfe die Atmungskette aufgeklärt worden ist.

auch Na⁺) nach außen. Die ebenfalls membrangebundene **Succinatdehydrogenase** (Succinat-Ubichinon-Oxidoreduktase, Komplex II) überträgt die Elektronen aus der Oxidation von Succinat gleichfalls auf Ubichinon, ohne dass sie Protonen nach außen pumpt. Das Ubichinon nimmt gleichzeitig mit zwei Elektronen aus dem Cytoplasma auf und transportiert so den Wasserstoff innerhalb der Lipiddoppelschicht. Es wird dabei zu Ubichinol (QH₂) reduziert, welches dann an der Membranaußenseite wieder zu Ubichinon oxidiert wird, d.h. 2 H^+ nach außen freisetzt und die Elektronen an das oxidierende Enzym **Cytochrom *bc*₁-Komplex** (Ubichinol-Cytochrom-*c*-Oxidoreduktase, Komplex III) weitergibt. Dieser Komplex enthält zwei *b*-Typ-Cytochrome und ein Cytochrom *c*₁ sowie ein relativ redoxpositives FeS-Zentrum (Rieske-FeS-Zentrum). Er überträgt die Elektronen auf Cytochrom *c*. Cytochrom *c* ist ein kleines peripheres Membranprotein, das an der Membranaußenseite sitzt. Bei der Reduktion von Cytochrom *c* werden vom Cytochrom-*bc*₁-Komplex zusätzlich 2 H^+ nach außen abgegeben. Diese zusätzliche H^+ -Freisetzung geschieht durch einen Kreisprozess, der als Q-Zyklus bekannt ist. Die **Cytochromoxidase** (Komplex IV) überträgt die Elektronen von reduziertem Cytochrom *c* von der Membranaußenseite auf O₂ auf der Membraninnenseite. Die Reduktion von Sauerstoff zu Wasser verbraucht Protonen aus dem Cytoplasma. Diese terminale Oxidase enthält Cytochrom *a*, Cytochrom *a*₃ und drei Cu-Atome und bewirkt, dass pro Sauerstoffatom, das zu Wasser reduziert wird, 2 H^+ nach außen abgegeben werden.

Oxidasenegative Bakterien und verzweigte Atmungsketten

Die aus den Redoxpotenzialen erschlossene Reihenfolge der Redoxsysteme ist experimentell durch spektrophotometrische und hemmstoffanalytische Untersuchungen bestätigt worden. Dieses für Mitochondrien und oxidasepositive Bakterien gültige System ist bei aeroben Prokaryonten jedoch oft abgewandelt. Viele Bakterien haben kein Cytochrom *c*. Sie sind oxidasen negativ. Ebenso fehlt der Cytochrom-*bc*₁-Komplex. Solche Bakterien oxidieren das reduzierte Ubichinol direkt mit anderen Endoxidasen, den Chinoloxidasen (Abb. 7.22). Das Chinol wird dabei an der Außenseite des Proteinkomplexes oxidiert, sodass die bei der Chinoloxidation freigesetzten 2 H⁺ außen bleiben. Die häufigste Endoxidase bei oxidasenegativen Bakterien ist eine **Chinoloxidase**, welche der Cytochrom-*c*-Oxidase sehr ähnelt und auch ein Kupfer-Atom enthält, aber statt Häm *a* ein Häm *o* enthält. Dieser Komplex wird bei hoher Sauerstoffkonzentration gebildet. Er pumpt bei der Oxidation von QH₂ zusätzlich 2 H⁺ nach außen. Bei Sauerstoffmangel wird eine andere Chinoloxidase mit Häm *d* gebildet, welche keine H⁺ nach außen pumpt, aber eine wesentlich höhere Affinität für O₂ hat. Man spricht von **verzweigter Atmungskette**, wenn Bakterien – je nach den äußeren Bedingungen – verschiedene Endoxidasen synthetisieren (Plus 7.9).

Bakterien, die in sauerstoffarmer Umgebung leben, haben meist mehrere Varianten der Endoxidase, die unterschiedliche Affinität für Sauerstoff haben. Ein Beispiel dafür sind die symbiontischen Knöllchenbakterien der Leguminosen. Freilebend verwenden sie die gewöhnliche Cytochromoxidase, als Knöllchensymbionten unter Sauerstoffmangel dagegen die zu O₂ hoch affine alternative Endoxidase.

Plus 7.9 Warum verzweigte Atmungsketten?

Bakterien mit Cytochrom-*o*-Endoxidase übertragen theoretisch 8 H⁺ nach außen (4 + 2 + 2), wenn 2 e⁻ von NADH zu Sauerstoff fließen; solche mit Cytochrom-*d*-Endoxidase nur 6 H⁺ (4 + 2). Im Extremfall (bei starkem Sauerstoffmangel) wird statt der gewöhnlichen NADH-Dehydrogenase I die NADH-Dehydrogenase II gebildet, die keine H⁺ nach außen pumpt. Dann setzt nur noch die Oxidation von Ubichinol an der Außenseite der Membran 2 H⁺ nach außen frei. Verzweigte Elektronentransportketten erlauben also eine **Feinanpassung der Atmungskette** an die Sauerstoffverhältnisse (Oxidasen mit unterschiedlich hoher Affinität zu O₂), mit dem Preis, dass bei geringer Sauerstoffkonzentration auch weniger Energie konserviert werden kann. So kann *Bradyrhizobium japonicum* mit abnehmender Sauerstoffkonzentration zwischen folgenden Endoxidasen wählen: Cytochrom-*c*-Oxidasen mit Cytochrom *aa*₃ oder Cytochrom *cbb*₃ oder Chinoloxidase mit Cytochrom *bb*₃ (Reihenfolge nach zunehmender Affinität zu O₂).

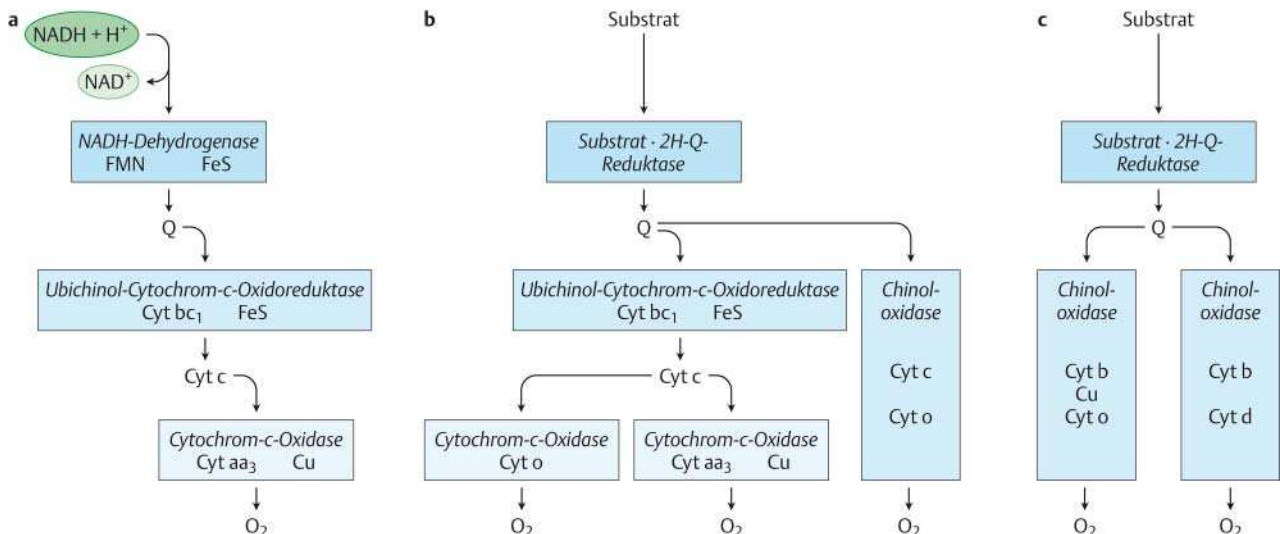


Abb. 7.22 Grundschemata der Elektronentransportkette in den Membranen der Mitochondrien und vieler Bakterien. **a** Am Elektronentransport in der Atmungskette der Mitochondrien und vieler Bakterien sind die drei Proteinkomplexe mit den charakteristischen prosthetischen Gruppen beteiligt (vgl. Abb. 7.21). Bei vielen Bakterien ist die Atmungskette modifiziert und verzweigt. **b** In *Paracoccus denitrificans* können die Elektronen entweder über die Ubichinol-Cytochrom-*c*-Oxidoreduktase, Cyt *c* und Cytochromoxidase oder direkt vom Ubichinol über Cyt *o* als Endoxidase auf Sauerstoff übertragen werden. **c** In *Escherichia coli* werden die Elektronen über Cyt *b* entweder auf Cyt *o* (geringe Affinität für O₂, K_M ca. 3 μM) oder auf Cyt *d* (hohe Affinität für O₂, K_M ca. 0,1 μM) auf Sauerstoff übertragen. Bei Mangel an O₂ wird hauptsächlich Cyt *d* gebildet. Cyt, Cytochrom; Q, Ubichinol.

7.4.4

Elektronentransportphosphorylierung**Elektrochemisches Potenzial**

Die ATP-Bildung vollzieht sich sowohl bei der Atmung und als auch bei der Photosynthese an Membranen. Die Außenseite intakter Mitochondrien oder Bakterien ist, verglichen mit der Innenseite, elektrisch positiv geladen und das Zellmilieu ist meist schwach alkalisch. Die Wasserstoff- und Elektronenübertragungsprozesse sind mit einer Translokation von Protonen (H^+ , also positiv geladene Teilchen) nach außen verknüpft. Protonen werden folglich gegen ihren Konzentrationsgradienten und gegen den Ladungsgradienten transportiert. Dadurch wird ein elektrochemisches Potenzial aufgebaut und die freigesetzte Energie auf diese Weise ganz ähnlich wie in einer Batterie gespeichert.

Beide Gradienten, der des pH-Wertes und der des elektrischen Membranpotenzials, üben auf die ausgestoßenen Protonen eine Kraft in Richtung zurück in das Zellinnere aus.

Diese elektrochemische Potenzialdifferenz für Protonen Δp (auch **Protonenpotenzial** oder engl. **proton motive force** genannt) setzt sich aus zwei Größen zusammen:

1. dem **elektrischen Membranpotenzial** $\Delta\Psi$ (in V) und
2. aus dem **Protonendiffusionspotenzial**, welches proportional zur pH-Differenz zwischen Außen- und Innenseite (ΔpH) ist, gemäß:

$$\Delta p = \Delta\Psi - Z \Delta pH \text{ (mV)},$$

wobei $Z = 2,3 \text{ RT/F}$, also 60 mV bei 30 °C ist. Das Protonenpotenzial kann ausschließlich auf der pH-Differenz oder ausschließlich auf dem Membranpotenzial oder auf beiden zusammen beruhen.

Plus 7.10 Experimente zur Mitchell-Theorie

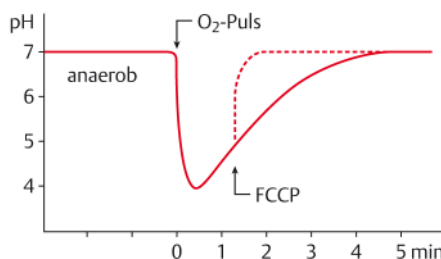
Die nur ca. 10 nm dünne Cytoplasmamembran der Bakterien und die innere Mitochondrienmembran sind undurchlässig für Ionen, einschließlich der H^+ - und OH^- -Ionen, – die elektrische Leitfähigkeit der Membranen ist gering; oder anders gesagt, Membranen sind gute Isolatoren. Das an lebenden Zellen gemessene Membranpotenzial liegt häufig in der Größenordnung 0,1 bis 0,2 V (außen positiv). Dieser scheinbar geringe Betrag entspricht immerhin einer elektrischen Feldstärke von 100 000 bis 200 000 V/cm! Zusammen mit dem pH-Gradienten und dem damit geschaffenen Protonendiffusionspotenzial liegt das Protonenpotenzial in der Größenordnung von 0,2 V und ist damit ausreichend, um ATP zu synthetisieren.

Experimentelle Befunde bestätigen den Aufbau eines Protonenpotenzials über die Membran. Setzt man zu einer anaerob gehaltenen Suspension von aeroben Bakterien oder Mitochondrien Sauerstoff zu, so stellt man im Suspensionsmedium eine Erniedrigung des pH-Wertes fest. Daraus ist zu schließen, dass während der Atmung aus Bakterienzellen und Mitochondrien Protonen austreten (Abb.). Der Elektronentransport läuft ab, ohne dass ATP gebildet wird; die beiden Prozesse sind entkoppelt.

Ebenso kann man Experimente mit Entkopplern durchführen. Entkoppler sind schwache organische Säuren oder Basen, die

in der protonierten wie unprotonierten Form durch Membranen diffundieren. Sie geben dort ein Proton ab, wo der pH-Wert alkalischer ist. Wird FCCP (eine schwache, lipidlösliche Säure) als Entkoppler hinzugegeben, bricht der Protonengradient über die Membran zusammen und der pH-Wert des Mediums steigt wieder an (Abb.).

Stellt man aus Bakterien oder Mitochondrien Vesikel her, bei denen die ursprüngliche Innenseite nach außen gekehrt ist (engl. inside-out-Vesikel), so beobachtet man bei der Atmung einen umgekehrten Protonentransport, der zur Alkalisierung des Suspensionsmediums führt.



Nachweis der Protonenextrusion bei der Atmung von Bakterien.

Die ungleiche Ladungsverteilung an der Membran, also der elektrochemische Gradient, ist die treibende Kraft für die Regeneration von ATP. Die Membran enthält die H^+ -ATP-Synthase, ein Enzymkomplex, der von diesem elektrochemischen Gradienten angetrieben wird (**chemiosmotische Theorie** nach Mitchell). Strömen die Protonen durch die ATP-Synthase zurück in das Zellinnere, treiben sie die ATP-Synthase an. Die experimentellen Befunde (Plus 7.10) stehen mit dieser Theorie im Einklang.

Das **biologische Energiequant** ist also ein Proton (oder gelegentlich ein Na^+ -Ion), das im Zuge des Elektronentransports über die Membran transloziert wird. Es ermöglicht die Synthese eines Bruchteils eines ATP-Moleküls. Wir werden bei der anaeroben Atmung (Kap. 13) Fälle kennen lernen, wo ein gesamter Energiestoffwechselweg zur Translokation von nur einem oder wenigen Protonen führt und nur ein Bruchteil eines ATP pro Reaktion synthetisiert wird.

ATP-Synthase

Das Protonenpotenzial wird zur Synthese von ATP aus ADP und P_i durch die ATP-Synthase genutzt. Wie die Komponenten der Atmungskette ist auch die **H^+ -ATP-Synthase** ein Bestandteil der Membranen von Mitochondrien, Chloroplasten und Bakterien. Das Enzym setzt das durch die Elektronentransportkette geschaffene Protonenpotenzial in die energiereiche Phosphatanhydridbindung von ATP um (Abb. 7.21).

Die 350 kDa große H^+ -ATP-Synthase (Abb. 7.23) besitzt einen statischen Kopf, der in das Zellinnere ragt. Dieser ist über einen drehbaren Stiel mit einer Basis verbunden, welche in die Lipidschicht der Cytoplasmamembran eingebettet ist. Eine Proteinbrücke (Stator) hält den Kopfteil fest. Der Protoneneinstrom führt zur Drehung des Stiels und bewirkt dadurch eine Konformationsänderung im Kopf. Dieser enthält drei Bindungsstellen für die Substrate ADP und P_i . Pro einer vollständigen Drehung werden drei ATP erzeugt, dabei strömen dreimal 3 bis 4 H^+ in die Zelle. Wieviele H^+ tatsächlich für ein ATP benötigt werden, ist schwer zu ermitteln und mag bei verschiedenen Organismen variieren. Wir gehen hier von 4 H^+ aus. Die Umkehrbarkeit der ATP-Synthase-Reaktion hat wichtige biologische Folgen (Plus 7.11).

Wirkungsgrad. Die Energie der biologischen Knallgasreaktion, ca. – 240 kJ, wird also als elektrochemischer Gradient über der Membran gespeichert. Unter zellulären Bedingungen ist der Wirkungsgrad der biologischen Energieumwandlung in ATP-Energie etwa 55 %. Damit kostet die Synthese von ATP etwa 90 kJ, von denen ca. 50 kJ in die Synthesereaktion eingehen und ca. 40 kJ als Wärme verloren gehen.

Anders ausgedrückt setzen zwei Elektronen, die in einer Elektronentransportkette eine Potenzialdifferenz von 0,47 V durchlaufen, 90 kJ frei womit 1 ATP synthetisiert werden kann. Wenn in der ATP-Synthase-Reaktion vier H^+ pro ATP verbraucht werden, muss ein Membranpotenzial von 0,13 V oder eine pH-Differenz von 2,2 aufgebaut werden. Dieses erforderliche Membranpotenzial ΔE von 0,13 V errechnet sich aus $\Delta G = -n \cdot F \cdot \Delta E$, wobei $\Delta G = +50$ kJ für die ATP-Synthase und n die Zahl 4 für 4 Ladungen der 4 Protonen eingesetzt werden. F ist die Faraday-Konstante (Kap. 7.4.1). Die pH-Differenz von 2,2 liefert 50 kJ Energie, wenn 4 H^+ von außen nach innen strömen.

Dies sind Mindestwerte, die eine hundertprozentige Energieumwandlung voraussetzen (entsprechend 50 kJ für die ATP-Synthase); die realis-

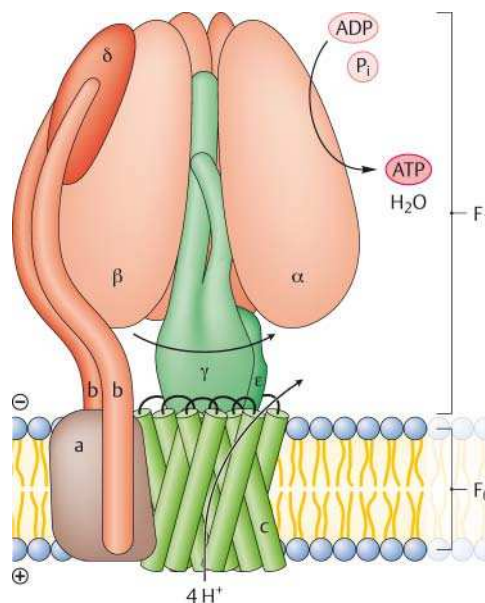


Abb. 7.23 Schematische Darstellung der H^+ -ATP-Synthase und des Reaktionsablaufs. Die katalytische Domäne (F_1) besteht aus 5 verschiedenen Proteinen (α – ϵ). Der ionenleitende membranintegrierte Teil (F_0) besteht aus 3 verschiedenen Untereinheiten. Das Rotorelement besteht aus einigen c-Untereinheiten und der γ -Untereinheit. Das Statorelement aus a, b, α , β und δ sorgt dafür, dass sich nur der unsymmetrisch aufgebaute Rotor gegen den fixierten Rest des Moleküls dreht.

Plus 7.11 Umkehrbarkeit der ATP-Synthase-Reaktion

Die Umkehrbarkeit der Reaktion der ATP-Synthase ist für die Zelle von außerordentlicher Bedeutung. Steht ATP, beispielsweise durch Substratphosphorylierung, zur Verfügung, lässt sich mit Hilfe der ATP-Synthase ein Protonenpotenzial aufbauen. Dieser Vorgang ist besonders für anaerobe Bakterien wichtig, die keine Atmung oder Photosynthese betreiben. Das Enzym funktioniert in diesem Fall also als Protonenpumpe oder elektrogene Pumpe. Die Reversibilität der in der Cytoplasmamembran ablaufenden Prozesse hat zur Folge, dass das Protonenpotenzial und ATP ineinander umwandelbar sind. Diese Umwandelbarkeit ist für die angeschlossenen Prozesse (Transportvorgänge, Geißelbewegung, Biosyntheseprozesse) entscheidend.

Plus 7.12 Geschätzte Energiebilanz der Glucoseveratmung

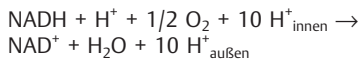
Auf der Grundlage einer näherungsweise experimentell bestimmten Stöchiometrie lässt sich eine Energiebilanz der Glucoseveratmung abschätzen. Nehmen wir an, dass 1 Mol Glucose über die Glykolyse und den Citratzyklus abgebaut wird, so erhalten wir:

a) Glykolyse: 2 NADH

b) Pyruvatdehydrogenierung: 2 NADH

c) Citratzyklus: 6 NADH und 2 QH₂

Insgesamt sind es also 10 NADH und 2 QH₂. Wenn in der Atmungskette 2 Elektronen von einem einzigen NADH zu Sauerstoff fließen, übertragen oxidasepositive Organismen (und Mitochondrien) theoretisch 10 H⁺ nach außen (4 + 2 + 2 + 2):



Zwei Elektronen, die von reduziertem Ubichinon (QH₂) aus dem Citratzyklus (Reaktion der Succinatdehydrogenase) zum Sauerstoff fließen, transduzieren 6 H⁺. Rechnerisch führt die Oxidation der reduzierten Elektronenüberträger mit O₂ bei oxidasepositiven Bakterien (und Mitochondrien) also zur Translokation von 112 H⁺ (10 · 10 + 2 · 6), woraus sich bei einem angenommenen Verhältnis von 4 H⁺ pro ATP etwa 28 ATP gewinnen lassen. Zuzüglich der zwei in der Glykolyse und der beiden im Citratzyklus gewonnenen ATP erhält man aus einem Molekül Glucose maximal 32 ATP. Die Oxidation von 1 Mol Glucose (C₆H₁₂O₆ + 6 O₂ → 6 CO₂ + 6 H₂O) setzt 2870 kJ frei. Damit kostet die Synthese von 1 Mol ATP unter Zellbedingungen ca. 90 kJ.

Für oxidasenegative Bakterien, denen der Cytochrom-bc₁-Komplex fehlt, sind die errechneten Werte entsprechend geringer. Die aerobe Glucoseveratmung ergibt nur maximal 26 ATP. Dies sind nur Schätzungen, da die tatsächliche Anzahl H⁺, die in der Elektronentransportkette nach außen transportiert und bei der ATP-Synthese nach innen strömen, nicht genau bekannt ist.

tischen Werte (Wärmeenergie ist biologisch nicht nutzbar) sind um ca. 80 % höher (entsprechend 90 kJ für die ATP-Synthese). Mit gewisser Vorsicht lassen sich die Energiebilanzen verschiedener Bakterien voraussagen (Plus 7.12).

7.4.5 Rückläufiger Elektronentransport

Besondere Probleme haben solche Bakterien, die Wasserstoffdonatoren wie Sulfid, Thiosulfat, Schwefel, Nitrit oder Fe²⁺ verwenden, deren Redoxpotenziale positiver sind als die der Pyridinnukleotide. Reduzierte Pyridinnukleotide werden für Syntheseprozesse, insbesondere zur Reduktion des 3-Phosphoglycerats im Zuge der autotrophen CO₂-Fixierung benötigt. Da jedoch eine direkte Reduktion von NAD⁺ durch diese Wasserstoffdonatoren aus thermodynamischen Gründen nicht möglich ist, wird NAD⁺ durch einen rückläufigen, energieabhängigen, entweder durch ATP oder durch das Protonenpotenzial getriebenen Elektronentransport, reduziert.

7.4.6 Elektronentransportprozesse bei anaeroben Bakterien

Viele Bakterien machen auch unter anaeroben Bedingungen von einer Elektronentransportphosphorylierung Gebrauch. Sie übertragen die beim Substratabbau auftretenden Elektronen über eine (verkürzte) Elektronentransportkette auf äußere (dem Nährmedium zugesetzte) oder innere (beim Substratabbau gebildete) Elektronenakzeptoren (Kap. 13). Als Elektronenakzeptoren können Nitrat-, Sulfat-, und Fumarat-Ionen sowie Schwefel und CO₂ fungieren. Man fasst die betreffenden Bakterien zu den physiologischen Gruppen der Nitratreduzenten und Denitrifikanten, den Desulfurikanten, Schwefelreduzenten und schließlich den methanogenen sowie acetogenen Bakterien zusammen. Diese Bakterien spielen im Haushalt der Natur eine eminente Rolle. Die Elektronentransportphosphorylierung wurde lange Zeit als der für die Atmung charakteristische Energieumwandlungsprozess angesehen. Finden diese Prozesse unter anaeroben Bedingungen statt, spricht man daher auch von anaerober Atmung (Kap. 13).

7.5 Eigenschaften und Funktionen von Sauerstoff

Sauerstoff ist für die meisten Organismen lebenswichtig. Luft enthält ca. 21 Volumenprozent Sauerstoff, luftgesättigtes Wasser enthält bei 20 °C 0,276 mM gelöstes O₂. Die Löslichkeit in Wasser nimmt mit steigender Temperatur ab und beträgt bei 35 °C nur noch 0,22 mM. Sauerstoff diffundiert zwar rasch durch Membranen, doch Mikroorganismen sind regelmäßig mit Sauerstoffmangel (**Anaerobiose**) konfrontiert, weil die Sauerstoffzehrung leicht die Lösung von neuem O₂ aus der Luft in das Wasser übertrifft.

Um durch eine Wasser- oder Gewebeschicht von 1 mm Dicke zu diffundieren, braucht Sauerstoff mehrere Minuten. Die Diffusionslimitierung ist ein Grund für die Begrenzung der Schichtdicke von Biofilmen.

Man unterteilt Mikroorganismen nach ihrem Verhalten gegenüber Sauerstoff in: **obligat aerobe** (auf Sauerstoff angewiesen), **fakultativ aerobe** (bevorzugen Atmung mit Sauerstoff, können aber auch anaerob leben), **mikroaerobe** (benötigen geringe Sauerstoffkonzentrationen,

hohe Konzentrationen sind toxisch), **aerotolerante** (können Sauerstoff zwar nicht für die Atmung verwenden (anaerob), sind aber gegen schädigende Wirkung von Sauerstoff gewappnet), **strikt anaerobe** Mikroorganismen (können nur in Abwesenheit von Sauerstoff wachsen, Sauerstoff ist meist Gift für sie).

7.5.1 Regulation durch Sauerstoff

Sauerstoff ist eines der wichtigsten **Regelsignale** für Mikroorganismen. Besonders in fakultativ aeroben Mikroorganismen und bei phototrophen Bakterien steuert er große Bereiche des Energiestoffwechsels. Die aerobe Lebensweise wird bevorzugt, da die Atmung am meisten Energie liefert. Wir haben bei den verzweigten Atmungsketten (Kap. 7.4.3) schon ein Beispiel kennen gelernt, wo Stoffwechselwege je nach Konzentration des verfügbaren Sauerstoffs gewählt werden. Noch komplexer wird die sauerstoffabhängige Regulation, wenn die Wahl zwischen aerober und anaerober Atmung getroffen werden muss, sofern ein Elektronenakzeptor als Ersatz für Sauerstoff vorhanden ist. Auf die Regelmechanismen wird an anderer Stelle eingegangen (Kap. 13, 16).

Nach einer **Hierarchie der Elektronenakzeptoren** (Kap. 13) werden die Stoffwechselwege bevorzugt, die jeweils die höchsten Energieausbeuten haben, also aerobe Atmung > mikroaerobe Lebensweise mit angepasster aerober Atmung > anaerobe Atmungsformen > Gärung. Fakultativ aerobe Bakterien wie *Escherichia coli* können auch Energie durch Gärung gewinnen, wenn kein Elektronenakzeptor zur Verfügung steht. Hier sind es über 150 Gene (oder 5 % des Genoms), deren Expression durch Sauerstoff reguliert wird. Im Fall von *E. coli* oder *Klebsiella* reprimiert Sauerstoff die Transkription der Gene für folgende Stoffwechselwege: anaerobe Atmung, Gärung, Pyruvat-Formiat-Lyase, Nitrogenase. Durch Sauerstoff induziert werden: aerobe Atmung, Citratzyklus, Pyruvatdehydrogenase, Oxygenasen und sauerstoffabhängige Synthese- und Abbauewege. Viele Mikroorganismen zeigen auch eine taktische Bewegung hin zu oder weg von Sauerstoff (**Aerotaxis**), um den geeigneten Lebensbereich zu finden.

7.5.2 Toxische Wirkung des Sauerstoffs und Entgiftungsreaktionen

Sauerstoff ist der terminale Elektronenakzeptor der aeroben Atmung und somit für alle aeroben Organismen essenziell. Sauerstoff wirkt aber auch auf aerobe Organismen, und noch mehr auf anaerobe Organismen, als Zellgift. Die meisten Organismen besitzen deshalb Enzyme, die sie gegen die toxischen und sehr reaktiven Intermediate des Sauerstoffs (engl. reactive oxygen species, ROS) schützen. Im biologischen Bereich gibt es **drei Arten der Aktivierung des Sauerstoffs**, die sich durch die Anzahl der Elektronen, die gleichzeitig auf das Sauerstoffmolekül übertragen werden, unterscheiden:

- (1) $\text{O}_2 + 4 \text{e}^- \rightarrow \text{O}^{2-} + \text{O}^{2-}$
- (2) $\text{O}_2 + 2 \text{e}^- \rightarrow \text{O}_2^{2-}$
- (3) $\text{O}_2 + 1 \text{e}^- \rightarrow \text{O}_2^-$

Reaktion (1) wird von der **Cytochromoxidase** (oder der Chinoloxidase) katalysiert, dem terminalen Enzym der Elektronentransportkette. Auch einige andere blaue, Kupfer enthaltende Enzyme (Tyrosinase, Laccase) übertragen 4 Elektronen auf O_2 . Die zwei dabei entstehenden O^{2-} -Ionen

(Oxidionen) reagieren mit je zwei Protonen zusammen unter Bildung von 2 H₂O und werden dadurch inaktiviert.

Reaktion (2) ist für einige **flavinhaltige Oxidasen** (Glucoseoxidase, Aminosäure-Oxidasen, Xanthinoxidase) charakteristisch. Diese Enzyme übertragen zwei Elektronen gleichzeitig und reduzieren O₂ zum Peroxidion, das mit Protonen zu **Wasserstoffperoxid**, H₂O₂, zusammentritt. H₂O₂ ist für die Zelle toxisch, es oxidiert beispielsweise SH-Gruppen. **Katalase** und **Peroxidase** machen Wasserstoffperoxid unschädlich und üben dadurch eine **Schutzwirkung** aus. Peroxidasen benötigen zur Reduktion der Peroxide ein reduziertes Cosubstrat, z.B. Glutathion (GSH). Peroxidasen katalysieren auch die Zersetzung von Peroxiden (Abb. 7.24). Die meisten aeroben Organismen verfügen über eine Katalase, da in vielen anaeroben und aeroben Bakterien Flavoenzyme enthalten sind.

Reaktion (3) wird von einer großen Zahl von Oxidasen (Xanthinoxidase, Aldehydoxidase, NADPH-Oxidase u. a.) katalysiert. Es wird nur ein Elektron übertragen, wobei das **Superoxid-Radikalanion** O₂⁻ entsteht, das sehr reaktionsfähig ist. Es handelt sich hierbei zwar nur um eine Nebenreaktion der genannten Enzyme; das Superoxid-Radikalanion und vor allem das Folgeprodukt seiner Umsetzung mit H₂O₂ (O₂⁻ + H₂O₂ + H⁺ → O₂ + H₂O + OH-Radikal), das **Hydroxylradikal**, sind jedoch äußerst reaktionsfähig und führen in der Zelle zu sehr reaktiven Verbindungen (Kap. 8.4.4). Eine Schutzwirkung gegenüber den Superoxidradikalen übt die **Superoxid-Dismutase** aus (Abb. 7.24).

Gemeinsam mit Katalase führt Superoxid-Dismutase also zu einer Überführung der Superoxidradikale zu harmlosem Sauerstoff (im Grundzustand). Nur diejenigen Organismen vermögen Sauerstoff zu tolerieren, die über Superoxid-Dismutase verfügen.

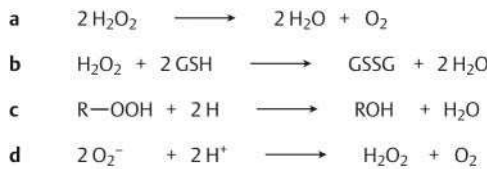


Abb. 7.24 Reaktionen zur Inaktivierung von reaktiven Sauerstoffspezies. **a** Katalasereaktion. **b** Glutathion(GSH)-Peroxidase. **c** Zersetzung von Peroxid durch Peroxidase. **d** Superoxid-Dismutase-Reaktion.

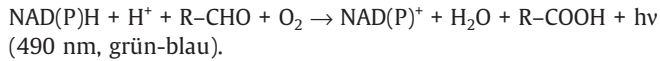
7.5.3 Sauerstoff als Cosubstrat

Sauerstoff dient als Cosubstrat für Enzyme (Mono- und Dioxygenasen), die schwierige, d.h. reaktionsträge Substrate für weitere Reaktionen reaktiver machen, indem sie ein oder zwei Atome des Sauerstoffmoleküls in das Substrat (z.B. Methan, Ammoniak oder Alkane) einbauen. Auf diese Weise werden sogar Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen gespalten (ring-spaltende Dioxygenasen). Solche **Oxygenasen** spielen vor allem beim Abbau der Aromaten und Kohlenwasserstoffe eine Rolle. Es gibt aber auch einige Biosyntheseschritte, bei denen Sauerstoffatome mit Hilfe von Oxygenasen in Substrate eingebaut werden. Der klassische Fall ist die O₂-abhängige Synthese von Cholesterin. Da Hefen in ihren Membranen Cholesterin besitzen, sind sie daher auch bei der Gärung auf geringe Mengen Sauerstoff angewiesen. Anaerobier oder fakultativ anaerobe Bakterien müssen unter anoxischen Bedingungen andere Enzyme und Strategien wählen, um Sauerstoff erfordernde Reaktionen zu ersetzen. Wir werden in Kapitel 10 auf eine besondere Rolle von Sauerstoff im Stoffwechsel zu sprechen kommen.

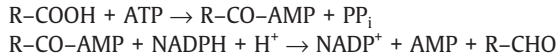
7.5.4 Biolumineszenz

Eine besonders faszinierende Rolle spielt Sauerstoff bei der **Biolumineszenz**, bei der Organismen sichtbares Licht emittieren. Dahinter verbergen sich viele verschiedene biochemische Prinzipien, die aber alle auf der enzymatischen Oxidation einer organischen Verbindung mit Sauerstoff beruhen. Die Reaktion erzeugt ein angeregtes, energiereiches Zwischenprodukt, das unter Lichtemission zerfällt.

Bei Bakterien erfordert die Biolumineszenz zwei Enzyme. Die **Luciferase**, eine Monoxygenase mit FMN im aktiven Zentrum, katalysiert die lichtemittierende Reaktion durch die Oxidation eines langkettigen Aldehyds (Dekanal):



Ein **Aldehyd-Reduktase-Komplex** sorgt für die Rückbildung des Aldehyds aus der Säure, die zur Vorbereitung auf die Reduktion zuerst unter ATP-Verbrauch aktiviert werden muss:



Insgesamt wird in einer ATP-, NADPH- und sauerstoffabhängigen Reaktion Licht erzeugt. Die biologische Rolle dieses Phänomens bleibt rätselhaft. Man findet Biolumineszenz z.B. bei den marinen Bakteriengattungen *Vibrio* und *Photobacterium*. Dieses Enzymsystem wird nur bei hohen Zelldichten gebildet (Quorum Sensing, Kap. 16.10).

7.6 Verbindung zwischen Energiestoffwechsel und Biosynthese

Die zentralen Stoffwechselwege sind nicht nur für die Oxidation der Substrate zuständig, sondern sie müssen gleichzeitig die Vorstufen für alle Biosynthesewege bereitstellen. Ein Modell des Zellstoffwechsels muss also neben den Stoffflüssen mit dem Ziel der Energiegewinnung auch die abzweigenden Stoffflüsse in Richtung Bausteinsynthese berücksichtigen.

7.6.1 Bereitstellung des Kohlenstoffs für die Biosynthese

Der Kohlenstoff der Zellbausteine stammt aus einem Dutzend Zwischenverbindungen der drei zentralen Stoffwechselwege, der Glykolyse/Gluconeogenese, dem Pentosephosphatweg und dem Citratzyklus (Abb. 7.25) (**Intermediärstoffwechsel**). Diese Stoffwechselwege wurden in den Kapiteln 7.2 und 7.3 besprochen. Die ersten Biosyntheseschritte zweigen von einer begrenzten Zahl an zentralen Intermediaten ab. Jegliches organische Substrat, das als Energie- und Kohlenstoffquelle dient, muss also gleichzeitig auch eine der Zwischenverbindungen der drei zentralen Stoffwechselwege liefern, aus denen alle anderen Vorläufermoleküle synthetisiert werden können. Diese Regel gilt für alle Lebewesen und verdeutlicht das Prinzip der **Einheit in der Biochemie** (vgl. Plus 7.2). Bisher sind wir vom Substrat Glucose ausgegangen, weil es das häufigste Substrat der Natur ist. Wir werden im Folgenden einige Sonderfälle kennen lernen, die zusätzliche Reaktionen erfordern.

7.6.2 Hilfszyklen und Sonderwege

Dadurch, dass aus den Stoffwechselkreisläufen ständig Intermediate für Synthesen abfließen, entstehen Defizite an Verbindungen, die für die Aufrechterhaltung der Kreisläufe gebraucht werden. Abhilfe schaffen hier Hilfszyklen und Sonderwege mit auffüllenden, **anaplerotischen Reaktionen**. Der Citratzyklus stellt einen großen Verteilerkreis dar, dem ständig Verbindungen entzogen werden. Allein die Hälfte der Aminosäuren und

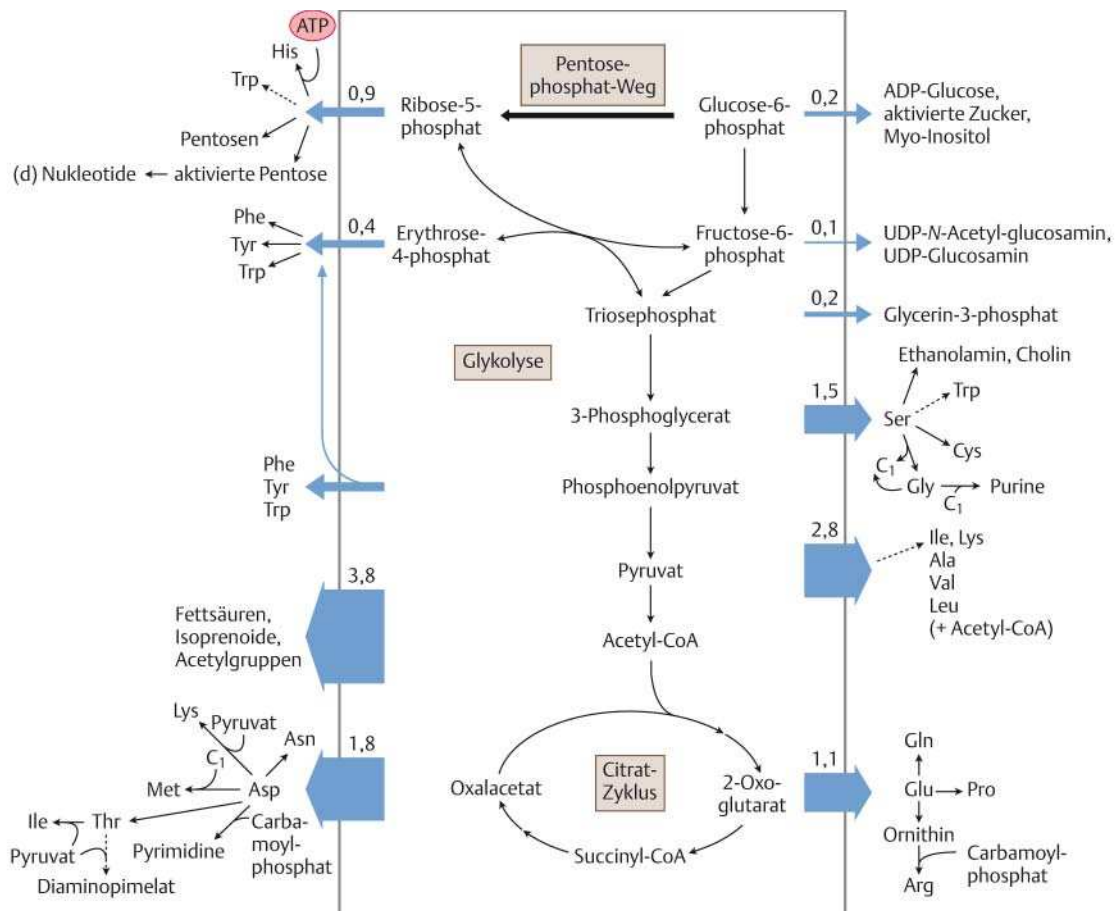


Abb. 7.25 Bereitstellung von Kohlenstoffverbindungen aus den drei zentralen Stoffwechselwegen. Die wenigen gezeigten Verbindungen dienen für die Synthese aller Zellbausteine. Die Zahlen geben an, wieviel mmol des Vorläufermoleküls für die Synthese von 1 g Zelltrockenmasse benötigt werden. Entsprechend dick sind die Pfeile, welche die abzweigenden Stoffflüsse für Biosynthesen andeuten. Bei aeroben Mikroorganismen wird etwa die Hälfte des Substrats zur Energiegewinnung zu CO₂ oxidiert, die andere Hälfte dient als C-Quelle für Biosynthesen. C₁, C₁-Verbindungen (insbesondere an Tetrahydrofolsäure gebundene).

damit ein Viertel des Zellkohlenstoffs stammt aus 2-Oxoglutarat und Oxalacetat. Dadurch steht Oxalacetat für die Kondensation mit Acetyl-CoA nicht mehr zur Verfügung. Der Zyklus würde augenblicklich zum Stillstand kommen, würde nicht Oxalacetat (C₄) aus Phosphoenolpyruvat oder Pyruvat (C₃) nachgeliefert. Das erfordert den Einbau von CO₂. Dieser CO₂-Einbau wird als **heterotrophe CO₂-Fixierung** bezeichnet.

Wenn Naturstoffe wie Proteine, Nukleinsäuren, Fette oder Aromaten abgebaut werden, entstehen daraus keine Hexosen, sondern andere Verbindungen wie Acetyl-CoA, Pyruvat oder Zwischenprodukte des Citratzyklus. Über den Prozess der **Gluconeogenese** werden aus solchen Verbindungen Hexosephosphate gebildet. Bei der Oxidation der Hexosephosphate zu Acetyl-CoA sind drei Schritte irreversibel: die Reaktionen der Phosphofructokinase (Abb. 7.9 S. 203), der Pyruvatkinase (Abb. 7.11 S. 204), und der Pyruvatdehydrogenase (Abb. 7.14 S. 208). Die Aktivität dieser **Schrittmacherenzyme** wird streng reguliert (Abb. 7.28). Um Zu-

cker aus kleinen Molekülen aufbauen zu können, müssen diese Enzyme durch andere Enzyme ersetzt oder umgangen werden. Die Umkehr des Weges in Syntheserichtung erfordert zusätzliche Energie. Deshalb werden auch die Schrittmacherenzyme der Gluconeogenese streng reguliert, und zwar gegensinnig zur Glykolyse. Einige Sonderformen anaplerotischer Reaktionen sind in Plus 7.13 erläutert.

Gluconeogenese aus C₃-Verbindungen

Bei aerobem Wachstum auf **C₃-Verbindungen** wie Milchsäure, bei deren Abbau durch die Lactatdehydrogenase Pyruvat entsteht, muss für die Synthese von Phosphoenolpyruvat (PEP) aus Pyruvat die irreversible Pyruvatkinase-Reaktion umgangen werden, bei der ein ATP gebildet wird. Die Synthese von PEP erfordert die Spaltung von zwei energiereichen Bindungen und kann auf zwei Wegen erreicht werden (Abb. 7.26).

1. Pyruvat kann durch die Pyruvat-Wasser-Dikinase oder die Pyruvat-Phosphat-Dikinase direkt zu PEP umgesetzt werden. Dabei wird ATP zu AMP gespalten und ein Phosphat in PEP eingebaut.
2. Alternativ wird Pyruvat ATP-abhängig durch die Pyruvatcarboxylase zu Oxalacetat carboxyliert. Aus Oxalacetat kann durch PEP-Carboxykinase, ein Schlüsselenzym der Gluconeogenese, unter Verbrauch eines weiteren ATP und unter Decarboxylierung PEP synthetisiert werden.

Vom Phosphoenolpyruvat werden nun die reversiblen Schritte der Glykolyse rückwärts durchlaufen bis zum Fructose-1,6-bisphosphat. Die Reaktion der Phosphofructokinase ist irreversibel. Deshalb wird die Phosphofructokinase durch ein weiteres Schlüsselenzym der Gluconeogenese, die Fructose-1,6-bisphosphatase ersetzt, welche Fructose-1,6-bisphosphat an C1 irreversibel zu Fructose-6-phosphat dephosphoryliert, wobei anorganisches Phosphat freigesetzt wird. Fructose-6-phosphat kann dann als Baustein für Synthesen dienen (Abb. 7.28).

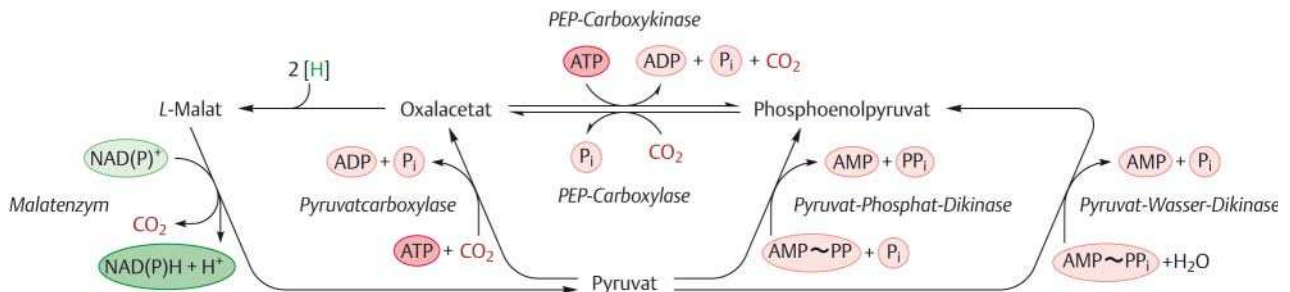
Gluconeogenese aus Fettsäuren

Noch schwieriger wird es, Zucker und andere Vorläufermoleküle aus Verbindungen zu bilden, die über **Acetyl-CoA** abgebaut werden, denn dann muss auch noch die irreversible Pyruvatdehydrogenase-Reaktion (Abb. 7.14 S. 208) umgangen werden. Zu diesen Substraten zählen Essigsäure und andere Fettsäuren, Alkohole und Alkane, die über Fettsäuren abgebaut werden, Ester, die in Fettsäure und Alkohol gespalten werden, oder der bakterielle Speicherstoff Polyhydroxybuttersäure. Um die Synthese zu bewerkstelligen, haben Pflanzen, Pilze und Bakterien den so-

Plus 7.13 Sonderfälle anaplerotischer Reaktionen

Anaerobe Bakterien können Acetyl-CoA reaktiv zu Pyruvat carboxylieren. Dies gelingt nur dadurch, dass das Enzym Pyruvatsynthase anders aufgebaut ist als die Pyruvatdehydrogenase und statt NADH ein viel stärkeres Reduktionsmittel verwendet, nämlich das reduzierte FeS-Protein Ferredoxin (Kap. 8.6). Ein Sonderfall ist auch **Glyoxylat**, das bei der Oxidation von Glycolsäure ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{COOH}$) (Calvin-Zyklus, Kap. 8.6) oder beim Abbau von Harnsäure entsteht. Zwei Moleküle Glyoxylsäure ($\text{O}=\text{CH}-\text{COOH}$) können unter CO_2 -Verlust zu Tartronatsemialdehyd ($\text{O}=\text{CH}-\text{CHOH}-\text{COOH}$) kondensiert werden. Dessen Reduktion liefert D-Glycerinsäure ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{COOH}$), die nur noch ATP-abhängig zu 3-Phosphoglycerat umgesetzt werden muss. **Propionat** ($\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{COOH}$), das beim Abbau von Fettsäuren mit ungeradzahligem C-Atomen entsteht, wird unter Carboxylierung über Methylmalonyl-CoA zu Succinat ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) aufgebaut (Kap. 12.6.2).

Abb. 7.26 Anaplerotische Reaktionen und heterotrophe CO₂-Fixierung. Pyruvat dient als Ausgangsprodukt für verschiedene Reaktionen, die dazu dienen, Intermediärprodukte, die aus dem Citratzyklus entzogen wurden, nachzuliefern. Pyruvat-Wasser-Dikinase überträgt das zweite Phosphat von ATP auf Wasser, es entsteht anorganisches Phosphat. Pyruvat-Phosphat-Dikinase überträgt das zweite Phosphat von ATP auf Phosphat, es entsteht Pyrophosphat. Pyruvatcarboxylase und Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (PEP-Carboxylase) fixieren CO₂, indem sie Pyruvat bzw. Phosphoenolpyruvat zu Oxalacetat carboxylieren. Die Kombination Pyruvat-Phosphat-Dikinase und PEP-Carboxylase wird übrigens auch von den C₄-Pflanzen genutzt, um primär CO₂ in C₄-Verbindungen zu fixieren.



genannten **Glyoxylatzyklus** der Acetyl-CoA-Assimilation entwickelt, der neben den Enzymen der zentralen Stoffwechselwege nur zwei zusätzliche Enzyme benötigt (Abb. 7.27). Ein Molekül Acetyl-CoA wird über die bekannten Reaktionen des Citratzyklus mit Oxalacetat über Citrat in Isocitrat eingebaut. Isocitrat wird durch das erste Schlüsselenzym des Glyoxylatzyklus, **Isocitratlyase**, in Succinat und Glyoxylat gespalten. Succinat wird weiter zu Oxalacetat oxidiert. Glyoxylat wird mit einem zweiten Molekül Acetyl-CoA zu Malat kondensiert, katalysiert durch das zweite Schlüsselenzym **Malatsynthase**.

Der Mensch dagegen kann Acetyl-CoA nur veratmen oder zu Fetten aufbauen. In der Summe wird aus 2 Acetyl-CoA die C₄-Verbindung Malat synthetisiert. Aus Malat lassen sich Pyruvat und PEP und damit alle anderen Vorläufermoleküle herstellen (Abb. 7.26).

7.6.3 Regulation von Genexpression und Enzymaktivität

Die Enzyme der drei zentralen Stoffwechselwege (Glykolyse, Pentosephosphatweg, Citratzyklus) sind in der Regel konstitutiv vorhanden. Allerdings wird beispielsweise bei Wachstum auf Acetat die Synthese der Schlüsselenzyme der Glykolyse reprimiert. Die Schlüsselenzyme der genannten Sonderwege werden dagegen erst bei Bedarf in Gegenwart der betreffenden Substrate gebildet. Bei fakultativ anaeroben Bakterien wird die Synthese aller Enzyme, die an der Oxidation von Pyruvat zu CO₂ beteiligt sind, bei Sauerstoffmangel reprimiert. Diese Umstellungsprozesse dauern viele Minuten und laufen auf der Ebene der Transkription ab.

Der ambivalente Charakter der zentralen Stoffwechselwege, für Abbau und Synthesen gleichzeitig zu sorgen (**Amphibolismus**), erfordert aber auch eine rasche Regulation der Enzymaktivitäten innerhalb von Sekunden. Damit Glykolyse und Gluconeogenese nicht gleichzeitig ablaufen und damit Energie verschwinden (**Futile Cycle** oder Leerlaufreaktion), wird die Aktivität aller **Schlüsselenzyme** strikt reguliert, meist durch

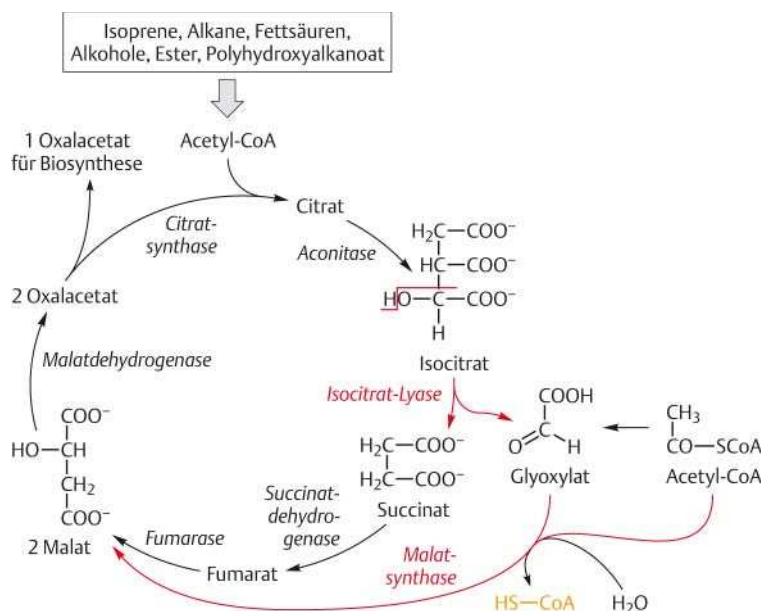


Abb. 7.27 Reaktionen des Glyoxylatzyklus der Acetyl-CoA-Assimilation. Erklärung siehe Text.

allosterische Regulation (Abb. 7.28). Schritte, die reversibel sind, werden nicht reguliert.

Das Regulationsprinzip soll am Beispiel der Pyruvatdehydrogenase von *Escherichia coli* exemplarisch besprochen werden. Jedoch lassen sich die Regulationseigenschaften nicht von einem Organismus auf einen weit entfernt verwandten Organismus übertragen, da dessen Lebensumstände ganz andere sind. Die Pyruvatdehydrogenase wird durch ihr Produkt Acetyl-CoA gehemmt, das so signalisiert, dass es gerade im Überfluss vorhanden ist. Unabhängig davon hemmt NADH das Enzym ebenfalls und signalisiert, dass die NADH-Veratmung mit der Zufuhr von Acetyl-CoA in den Citratzyklus nicht Schritt halten kann. Umgekehrt signalisiert AMP Mangel an ATP, also Energie, und erhöht die Aktivität des Enzyms. Aktivierend wirkt auch PEP, das signalisiert, dass die Glykolyse rascher verläuft als der PEP-Verbrauch.

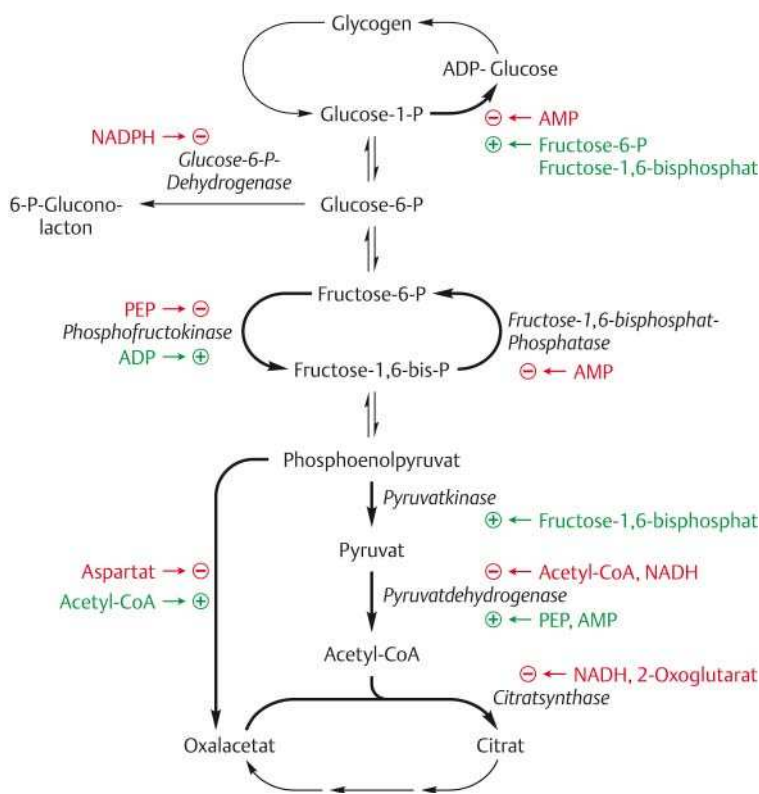


Abb. 7.28 Allosterische Kontrolle von zentralen Stoffwechselwegen. Es werden nur irreversible enzymatische Reaktionen reguliert. Das Schema gilt für *Escherichia coli* und Verwandte. + bedeutet Aktivierung, – bedeutet Hemmung.

Zusammenfassung

- Die Umsetzung der Stoffe in der Zelle (Stoffwechsel = **Metabolismus**), die von den Nährstoffen zur Neusynthese von Zellmaterial führen, lässt sich in drei Hauptabschnitte gliedern: Abbau (**Katabolismus**), Intermediärstoffwechsel (**Amphibolismus**), Synthesestoffwechsel (**Anabolismus**).
- Kohlenhydrate sind die wichtigsten Nährstoffe für Mikroorganismen. Der am weitesten verbreitete Abbauweg ist die **Glykolyse**. Der **Pentose-phosphatweg** spielt für die Synthese von Pentosen und NADPH eine Rolle. Er lässt sich leicht zum oxidativen Pentosephosphatzyklus erweitern. Auf Bakterien beschränkt ist der **KPDG-Weg** (Entner-Doudoroff-Abbauweg). Archaeobakterien haben Varianten dieser Abbauwege.
- Der überwiegende Teil des gebildeten Pyruvats wird zu **Acetyl-Coenzym A** oxidiert. Acetyl-CoA wird dann im Citratzyklus schrittweise zu Kohlendioxid oxidiert.
- **Substratphosphorylierungen** erfolgen im Intermediärstoffwechsel. Die Energie der Reaktion wird durch zwischenzeitlich gebildete, energiereiche Phosphorsäurederivate gespeichert.
- Die **ATP-Bildung** vollzieht sich bei Atmung und Photosynthese an Membranen. Die Wasserstoff- und Elektronenübertragungsprozesse sind verknüpft mit einer Translokation von Protonen, die freigesetzte Energie wird ähnlich wie in einer Batterie gespeichert. Die H^+ -ATP-Synthase setzt das Protonenpotenzial in die energiereiche Phosphat-Anhydrid-Bindung von ATP um.
- Die **Elektronentransportkette** und **ATP-Synthase** sind bei den Prokaryonten in der Cytoplasmamembran und bei den Eukaryonten in der inneren Membran der Mitochondrien bzw. in der Thylakoidmembran der Chloroplasten lokalisiert (Endosymbiose!).
- Die Komponenten der **Atmungskette** lassen sich aufgrund ihrer Redoxpotenziale in einer Reihe anordnen. Sie beginnt mit NADH und der NADH-Dehydrogenase und endet mit der terminalen Cytochrom-c-Oxidase und Sauerstoff. Der Chinonpool nimmt die Elektronen aus der Oxidation der meisten Substrate auf. Vielen Bakterien fehlt Cytochrom c. Sie oxidieren das reduzierte Chinon direkt mit terminalen Chinoloxidasen. Man spricht von **verzweigter Atmungskette**, wenn Bakterien je nach Bedingung verschiedene Endoxidasen synthetisieren.
- Bakterien, die einen Wasserstoffdonator als Substrat nutzen, dessen Redoxpotenzial positiver ist als das der Pyridinnukleotide, verwenden für die NAD^+ -Reduktion einen **rückläufigen, energieabhängigen Elektronentransport**.
- **Sauerstoff** ist wichtigster Elektronenakzeptor und deshalb Regelsignal für Mikroorganismen. Die meisten Organismen enthalten Enzyme, die eine Schutzwirkung gegenüber den toxischen Produkten des Sauerstoffs entfalten. Sauerstoff dient als Cosubstrat für Enzyme, welche schwierige Substrate angreifen. Sauerstoff wird auch bei der Biolumineszenz benötigt.
- Der **Kohlenstoff** der Zellbausteine stammt aus einem Dutzend Zwischenverbindungen der drei zentralen Stoffwechselwege, der Glykolyse/Gluconeogenese, dem Pentosephosphatweg und dem Citratzyklus. Hilfszyklen und Sonderwege werden benötigt, um Acetyl-CoA oder Pyruvat in Zellmaterial zu assimilieren und um diejenigen Verbindungen aufzufüllen, die dem Citratzyklus für Biosynthesezwecke entzogen werden.

8 Biosynthesen

Mikroorganismen sind **prototroph** und können, wie Pflanzen und anders als Tiere, in der Regel alle Bausteine für Makromoleküle und auch die Coenzyme und Cofaktoren selbst herstellen. Sind jedoch fertige Bausteine oder Vitamine im Medium vorhanden, werden sie von den meisten Mikroorganismen in die Zelle transportiert. Dort reprimieren sie dann die Transkription der Gene für ihre Synthese. Allerdings haben Bakterien, die an komplexe Nahrungsquellen angepasst sind (z. B. Milch, Blut, Darmtrakt, zersetzendes Pflanzenmaterial), häufig die Gene für einige Biosynthesewege verloren und sind auf die Zugabe von Bausteinen (Wachstumsfaktoren) oder Vorstufen für Cofaktoren (Vitamine) angewiesen. Sie sind **auxotroph**. Diese Reduktion des Genoms auf Zentralfunktionen (oft nur ca. 500 Gene) trifft besonders auf Parasiten und Symbionten unter den Mikroorganismen zu. Am weitesten fortgeschritten ist sie bei der Endosymbiose. Extremfälle stellen das Chloroplasten- und das Mitochondriengenom dar.

Überblick

- 8.1 Organisation der „Zellfabrik“ ... 231**
- 8.2 Syntheseleistung der Zelle ... 232**
- 8.3 Makromoleküle und ihre Bausteine ... 233**
- 8.4 Assimilation der Elemente N, P, S und der Spurenelemente ... 233**
 - 8.4.1 Stickstoff ... 234
 - 8.4.2 Schwefel ... 238
 - 8.4.3 Phosphor ... 240
 - 8.4.4 Spurenelemente ... 240
- 8.5 Bereitstellung von C₁-Einheiten, Energie, Reduktions- und Oxidationsmitteln ... 242**
 - 8.5.1 C₁-Einheiten ... 242
 - 8.5.2 Energie ... 243
 - 8.5.3 Reduktions- und Oxidationsmittel ... 244
- 8.6 Synthese von Zellmaterial aus CO₂ und Formaldehyd ... 244**
 - 8.6.1 Synthese von Zellmaterial aus CO₂ (autotrophe CO₂-Fixierung) ... 244
 - 8.6.2 Synthese von Zellmaterial aus Formaldehyd ... 249
- 8.7 Biosynthesen der Bausteine ... 252**
 - 8.7.1 Aminosäuren ... 252
 - 8.7.2 Zucker ... 252
 - 8.7.3 Nukleotide und Desoxynukleotide ... 254
 - 8.7.4 Lipide ... 256
 - 8.7.5 Synthesen von Zellwandkomponenten an der Membran ... 259
 - 8.7.6 Speicherstoffe ... 260

8.1 Organisation der „Zellfabrik“

In Abbildung 8.1 sind die Stufen bei der Synthese einer neuen Bakterien- oder Pilzzelle dargestellt. Wir gehen von einfachen Bestandteilen der Nahrung aus, Glucose als Kohlenstoff- (und Energie-)quelle, Ammoniak (oder ein Ammoniumsalz) als Stickstoffquelle, Phosphat als Phosphorquelle und Sulfat als Schwefelquelle. Die Elemente Sauerstoff und Wasserstoff sind hier nicht berücksichtigt, da sie aus dem Substrat oder aus dem Wasser stammen und nicht begrenzt sind. Die Zusammensetzung einer typischen Bakterienzelle aus den einzelnen Elementen ist in Tabelle 8.1 genannt. Die Zelle benötigt diese Elemente in geeigneter Form und verwendet dazu ganz wenige Ausgangsverbindungen.

Kohlenstoff. Ein wachsender Mikroorganismus erscheint wie eine geordnete Zellfabrik mit wenigen zentralen Ressorts und Wareneingangsstellen. Der Kohlenstoff der Bausteine stammt aus einem Dutzend Zwischenverbindungen der drei zentralen Stoffwechselwege, der Glykolyse/ Gluconeogenese, dem Pentosephosphatweg und dem Citratzyklus. Von dieser begrenzten Zahl an zentralen Intermediaten zweigen die ersten Biosyntheseschritte ab (Kap. 7.6.1).

Im Kohlenstoffmetabolismus spielen **C₁-Einheiten** eine wichtige Rolle. Es handelt sich um Formyl(CHO)-, Hydroxymethyl(CH₂OH)- oder Methyl(CH₃)-Gruppen und Derivate, welche durch ein Heteroatom (O, N, S) vom Kohlenstoffgerüst getrennt sind. Beispiele sind das Methionin und das Puringerüst. Solche C₁-Gruppen kommen in keiner Zwischenverbindung des Zentralstoffwechsels vor und müssen eigens bereitgestellt werden. Die C₁-Einheiten stammen aus Serin oder Glycin und werden an den C₁-Träger, das Coenzym Tetrahydrofolsäure, gebunden, oxidiert oder reduziert und übertragen. Einige Syntheseschritte erfordern CO₂ für Carboxylierungen, bei denen häufig enzymgebundenes Biotin als CO₂-Träger fungiert. Beispiele sind anaplerotische Reaktionen, wie die der Pyruvatcarboxylase.

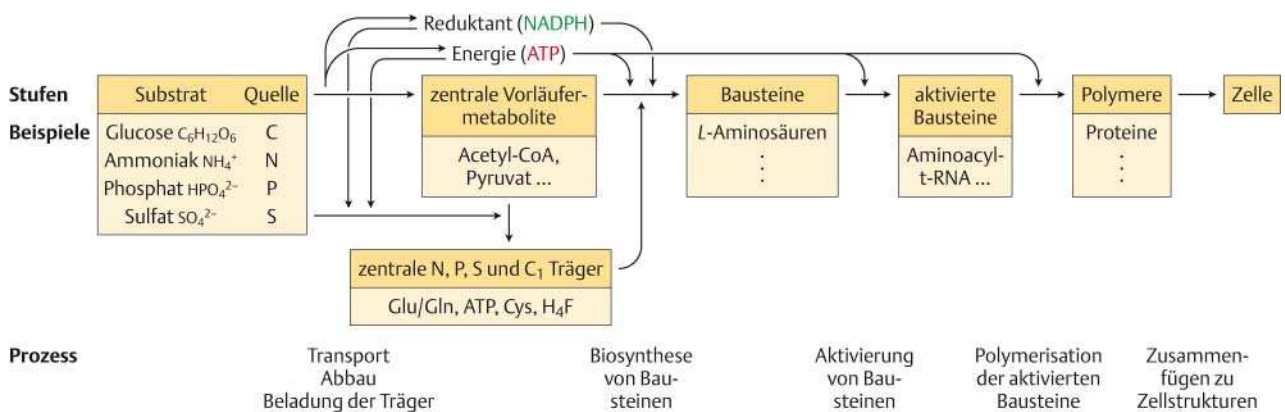


Abb. 8.1 Verschiedene Stufen bei der Synthese von neuem Zellmaterial. Das Schema geht von einfachen Substraten wie Glucose, Ammonium, Phosphat und Sulfat aus, die zunächst in Biosynthesebausteinen gebunden werden. Die Bausteine werden dann aktiviert, zu Makromolekülen polymerisiert und die Makromoleküle schließlich zu Zellstrukturen zusammengefügt.

Stickstoff. Der Stickstoff wird zuerst in den N-Trägermolekülen Glutamin und Glutamat (sowie Carbamoylphosphat und wenig Aspartat) gebunden und von dort in die Bausteine wie Aminosäuren, (Desoxy)Nukleotide oder Amino Zucker eingebaut. In den N-haltigen Zellbausteinen liegt der Stickstoff auf der Oxidationsstufe des Ammoniak vor.

Schwefel. Da der meiste Schwefel in der Zelle auf der Oxidationsstufe des Sulfids vorliegt, muss Sulfat zuerst zu Schwefelwasserstoff reduziert werden. Dann erfolgt die Bindung des Schwefels an den S-Träger Cystein, von wo er in schwefelhaltige Bausteine wie Methionin, einige Coenzyme oder Eisen-Schwefel-Zentren übertragen wird.

Phosphor. Phosphor stammt aus Phosphat. Der universelle P-Träger ist ATP. Phosphor wird für die Synthese von (Desoxy)Nukleotiden, Phospholipiden, Lipopolysacchariden, Teichonsäuren und vielen Coenzymen und Cofaktoren benötigt.

8.2 Syntheseleistung der Zelle

Die erforderliche Syntheseleistung einer Zelle lässt sich errechnen, wenn man den Anteil der Elemente an der Zelltrockenmasse und die Wachstumsrate kennt (vgl. Kap. 6).

Die mittlere Elementzusammensetzung einer Zelle in Gewichtsprozenten ist: 48 % (C), 24 % (O), 14 % (N), 7 % (H), 3 % (P), 0,3–0,6 % (S), 1 % (K),

Tab. 8.1 Bedarf an Material und Energie für die Synthese von 1 g Zelltrockenmasse.

Element/Gruppe	Bedarf (mmol)	Hauptsächliche Vorläufer und Trägermoleküle für die Elemente
C	42	zentrale Vorläufermoleküle aus Glykolyse, Pentosephosphatweg, Citratzyklus
N	10	Glutamin, Glutamat (wenig Carbamoylphosphat, Aspartat)
P	1	ATP
S	0,1–0,2	Cystein
C ₁ -Einheiten	1,2	Tetrahydrofolsäure, S-Adenosylmethionin
Reduktant	19	NADPH
Oxidant	3,5	NAD ⁺
Energiebedarf (ATP-Äquivalente):		
für Synthese der Bausteine	19	ATP (wenig GTP)
für Aktivierung und Verknüpfung der Bausteine	32	
für Transport der Nährstoffe	6	
für Turnover, Reparatur, Anpassung und sonstiges	15	

1 % (Na), 0,5 % (Ca), 0,5 % (Mg), 0,2 % (Cl), 0,2 % (Fe), der Rest sind Spurenelemente. Die Zelle kann man sich vereinfacht als Verbindung der Zusammensetzung $C_4H_7O_{1,5}N$ mit einer „formalen Molekülmasse“ von etwa 100 g/mol vorstellen, bei der die mengenmäßig wenig wichtigen Elemente vernachlässigt sind.

Anhand dieser Formel lassen sich einfache Überlegungen zu den Stoffflüssen und Assimilationsleistungen anstellen. In einem komplexen Medium sind alle Bausteine vorhanden und können aufgenommen werden. Dies spart NADPH und das meiste ATP, die für die Bausteinsynthese benötigt werden. In einem Mineralsalzmedium und bei einer Generationszeit von 1 Stunde sind die spezifischen Assimilationsraten der wichtigsten Bioelemente in einer exponentiell wachsenden Kultur in nmol des eingebauten Elements/min/g Zelltrockenmasse etwa 450 nmol/min/g (C), 100 (N), 10 (P) und 1–2 (S) (Tab. 8.1).

Die Biosynthesewege beinhalten viele Reduktionsschritte, für die NADPH als **Reduktionsmittel** benötigt wird. Gelegentlich erfolgen auch Oxidationsschritte mit NAD^+ als **Oxidationsmittel**. Schließlich kostet die Biosynthese der Bausteine Energie in Form von ATP. Man beachte, dass viel mehr ATP für die Aktivierung der Bausteine und die Makromolekülsynthese nötig ist als für die Synthese der monomeren Bausteine. Da der Proteinsyntheseparat, bestehend aus den Makromolekülen Protein und RNA, die Hälfte der Trockenmasse einer schnell wachsenden Zelle ausmachen kann, ist es verständlich, dass dessen Synthese besonders streng und bedarfsgerecht reguliert wird. Tabelle 8.1 gibt eine Zusammenfassung des Bedarfs an Material und Energie für die Synthese von ein Gramm Zelltrockenmasse. Im Unterschied zur großen Vielfalt im Energiestoffwechsel ist der Baustoffwechsel vergleichsweise einheitlich und die betreffenden Biosynthesegene sind Bestandteil eines jeden Bakteriengenoms (Plus 8.1).

8.3 Makromoleküle und ihre Bausteine

Das Ziel der Biosynthese ist es, Makromoleküle herzustellen, die als Katalysatoren, Regulatoren, Träger der Erbinformation oder Strukturelemente dienen (Tab. 8.2). Die endgültigen Zellstrukturen sind meist aus mehreren Makromolekülen zusammengesetzt. Die meisten Synthesen finden im Cytoplasma oder auf der cytoplasmatischen Seite der Membran statt. Ausgenommen ist die nicht unbeträchtliche Zahl von letzten Syntheseschritten für die Bausteine der Zellhüllen. Diese Bausteine müssen in aktivierter Form durch die Cytoplasmamembran gelangen, damit sie sich außerhalb der Zelle (ohne ATP!) zu Polymeren verbinden können. Das bekannteste Beispiel dafür ist die Synthese des Mureins (Kap. 8.7.5).

8.4 Assimilation der Elemente N, P, S und der Spurenelemente

Unter Assimilation versteht man in diesem Zusammenhang die Aneignung eines Elements aus einer äußeren Quelle, meist einer anorganischen Verbindung. Die wichtigsten natürlichen Quellen für die Elemente N, P, S und die Spurenelemente wären eigentlich die organischen Bausteine, die bei der Zersetzung von organischem Material wieder frei werden. Da der größte Teil des organischen Materials im Stoffkreislauf aber zur Energiegewinnung oxidiert oder vergoren wird, werden diese Elemente meist

Plus 8.1 Gene des Baustoffwechsels im Genom

Bis zu 1200 Synthesereaktionen (anabole Reaktionen) werden benötigt, um alle Makromoleküle einer Mikroorganismenzelle zu synthetisieren. Das Rückgrat dieses komplexen Netzwerks bilden jedoch nur ca. 100 Reaktionen der zentralen Stoffwechselwege. Die meisten Biosynthesewege der Bausteine sind aufgeklärt. Es gibt aber bei den Coenzymen noch manche unbekannte und ungewöhnliche Reaktion zu entdecken. Es ist bemerkenswert, dass sich Eubakterien und Archaeobakterien hinsichtlich der Biosynthese- und Abbauelemente ähnlich sind, dass aber Archaeobakterien hinsichtlich der Molekularbiologie der Zelle größere Gemeinsamkeiten mit Eukaryonten haben. Um die typischen 70–100 Bausteine herzustellen, werden in *Escherichia coli* etwa 7 % der ca. 4000 Gene und der etwa 1000 Operons benötigt. Weitere 10 % der Gene sind für den Stoffwechsel der Makromoleküle (Protein, RNA, DNA, Polysaccharide usw.) von Bedeutung (die Synthese von Proteinen und Nukleinsäuren wird in Kapitel 15 beschrieben), 4 % der Gene werden benötigt für den Zusammenbau der Makromoleküle zu komplexen Zellstrukturen wie z. B. Flagellen. Wegen ihrer universellen Bedeutung findet man die meisten Biosynthesegene in allen Mikroorganismen, ausgenommen „metabolischen Krüppeln“, die als Parasiten oder eng angepasste Symbionten von den Bausteinen des Wirtes zehren.

Tab. 8.2 Mittlere Zusammensetzung einer Prokaryontenzelle (*Escherichia coli*).

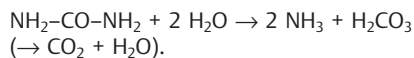
Die Makromoleküle machen 96 % des Trockengewichts aus.

Makromolekül (% des Trockengewichts)	Bedarf an Bausteinen für 1 g Zelltrockenmasse (μmol)	Bausteine	Aktivierung
Protein (50 %)	5000	20 L-Aminosäuren	als aa-tRNA
RNA (10–20 %)	300–600	4 NMP	als NTP
DNA (3 %)	100	4 dNMP	als dNTP
Lipide (10 %)	130	Glycerin	als Glycerin-3-phosphat
	260	3–4 Fettsäuren (16:0, 16:1Δ9, 18:1Δ11)	mit Acyl-Carrier-Protein
	130	3–4 polare Kopfgruppen (Ethanolamin, Glycerin, L-Serin)	mit CDP
Murein (3–10 %)	30–100	N-Acetylglucosamin	mit UDP
	30–100	N-Acetylmuraminsäure	mit UDP
	90–300	3 D-, L-Aminosäuren	mit ATP
	30–100	D-Ala-D-Ala	mit ATP
Lipopolysaccharid (10 %)	16	N-Acetylglucosamin	mit UDP
	48	3–4 Fettsäuren	mit Acyl-Carrier-Protein
	24	Ethanolamin	mit CDP
	100–200	mehrere Zucker	mit NDP

als **oxidierte Ionen (Nitrat, Phosphat, Sulfat, Fe(III))** in anorganischer Form frei. Solche Ionen müssen in die Zelle transportiert werden. Bei Mangel an diesen Ionen wird dafür häufig ein hoch affines, ATP-getriebenes Transportsystem verwendet. Sind diese Ionen in größerer Konzentration vorhanden wird ein Symport mit H⁺ oder Na⁺ bevorzugt. Er kostet weniger Energie, kann aber auch nur gegen ein geringeres Konzentrationsgefälle zwischen innen und außen arbeiten.

Plus 8.2 Urease

Harnstoff wird durch das Nickelenzym Urease hydrolytisch zersetzt:



Manche Bakterien, die hohe Harnstoffkonzentrationen in ihrer Umgebung vorfinden, bilden konstitutiv Urease. Beispiele sind das Magenbakterium *Helicobacter pylori*, das die Base NH₃ bildet und dadurch in der sauren Magenschleimhaut überlebt, und *Bacillus pasteurii* und *Sporosarcina ureae*, die in Jauche vorkommen und an pH-Werte von 9–10 angepasst sind.

8.4.1 Stickstoff

Ammoniak bzw. Nitrat als N-Quelle

Beim Abbau von organischen Verbindungen wird der Zellstickstoff wieder als **Ammoniak** NH₃ frei. Ammoniak ist auch die bevorzugte N-Quelle. Ammoniak ist flüchtig, giftig und eine schwache Base (NH₄⁺, pK_a = 9,3); er liegt bei neutralem pH als NH₄⁺ vor, das aktiv aufgenommen wird. Wegen seiner Giftigkeit binden Landtiere den Ammoniak sofort und scheiden Stickstoff in unschädlicher, gut wasserlöslicher Form als **Harnstoff** (Plus 8.2) oder **Harnsäure** (ein Purin) aus; beides sind ebenfalls wichtige N-Quellen für Mikroorganismen.

Ammonium bleibt nur unter anaeroben Bedingungen erhalten und ist für chemolithotrophe Bakterien (Nitrifizierer) ein begehrtes Substrat. Mit Sauerstoff wird es über Nitrit zu Nitrat oxidiert (Kap. 11.3.3), das unter aeroben Bedingungen die häufigste N-Quelle ist.

Das Nitrat wird in die Zelle aufgenommen und durch zwei lösliche Enzyme zu Ammoniak reduziert: durch das Molybdän-Enzym Nitratreduktase und durch das Sirohäm-Enzym Nitritreduktase.



Man spricht hierbei von **assimilatorischer Nitratreduktion**; Ammonium reprimiert die Synthese dieser Enzyme. Wir werden bei der anaeroben Atmung eine *dissimilatorische*, membrangebundene Nitratreduktion kennen lernen, die der Energiegewinnung dient und die durch Sauerstoff reprimiert wird (Kap. 13.2.1).

Abbildung 8.2 gibt einen Überblick über die assimilatorische Nitratreduktion und den weiteren Einbau des Stickstoffs in organische Moleküle. NH_3 wird dabei in zwei Stufen in Zellmaterial eingebaut. In einem ersten Schritt wird NH_3 in Trägermoleküle fixiert. **Glutamat** dient dabei als Träger für 80% des N, der für die α -Aminogruppen der Aminosäuren bestimmt ist. **Glutamin** dient als Träger für N, der für Aminosäuren oder die Basen der Nukleotide bestimmt ist.

Die wichtigste NH_3 -assimilierende Reaktion wird durch die Glutaminsynthetase katalysiert und kostet 1 ATP pro assimiliertes N-Atom (Abb. 8.3a). Das Enzym hat eine hohe Affinität für NH_4^+ . Glutamin dient dann für die Synthese von Glutamat aus 2-Oxoglutarat durch das Enzym Glutamatsynthase (auch als Glutamin-2-Oxoglutarat-Aminotransferase GOGAT bezeichnet, Abb. 8.3b). Letztlich kostet so die Assimilation jedes NH_3 -Moleküls in Glutamin oder Glutamat jeweils 1 ATP. Wegen des hohen Energiebedarfs wird die Synthese von Glutaminsynthetase reprimiert und deren Aktivität gehemmt, wenn Glutamat und Glutamin im Überschuss vorhanden sind. Nur bei hoher Konzentration von NH_3 wird Ammoniak durch die Glutamat-Dehydrogenase gebunden (Abb. 8.3c). Das Enzym ist reversibel und hat eine niedrige Affinität zu NH_3 .

Eine geringere Rolle spielt Carbamoylphosphat ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$) sowohl als N- als auch als C-Träger. Carbamoylphosphat wird durch die Carbamoylphosphat-Synthetase aus CO_2 und dem Stickstoff aus Glutamin unter Verbrauch von 2 ATP gebildet; es wird zur Synthese von Arginin und von Pyrimidinen benötigt (s. Abb. Plus 8.10, S. 253 und Abb. 8.26, S. 255). In einem zweiten Schritt wird der gebundene Ammoniak von den Trägermolekülen in die Bausteine eingebaut (Abb. 8.4). Dabei übertragen Aminotransferasen die α -Aminogruppe des Glutamats auf α -Ketosäuren, die direkten Vorläufer der Aminosäuren. Amidotransferasen übertragen die Amidgruppe des Glutamins auf Vorläufermoleküle mit Alkohol- oder Ketogruppen, meist unter ATP-Hydrolyse. So entstehen Aminosäuren und andere N-haltige Zellverbindungen.

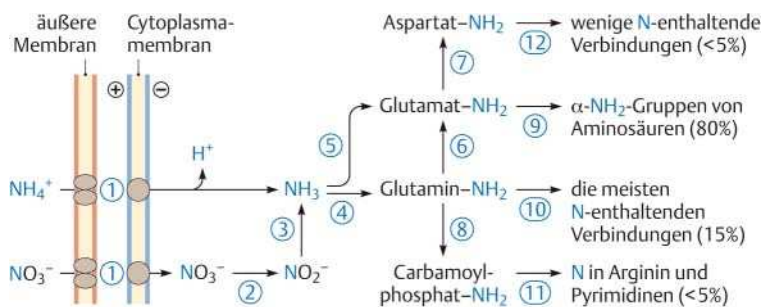


Abb. 8.2 Assimilation von Stickstoff in Zellmaterial. Die Prozentwerte geben den Bedarf am Gesamtstickstoff an. ① Transport der N-haltigen Verbindungen; ② Nitratreduktase; ③ Nitritreduktase; ④ Glutaminsynthetase; ⑤ Glutamat-Dehydrogenase; ⑥ Glutamatsynthase (GOGAT); ⑦ Glutamat-Oxalacetat-Transaminase; ⑧ Carbamoylphosphat-Synthetase; ⑨ Aminotransferasen; ⑩ Amidotransferasen; ⑪ Carbamoyl-Transferasen; ⑫ N-Übertragungen in zwei Schritten von Aspartat ausgehend (ein Beispiel findet sich in Plus 8.10 [S. 253] bei der Synthese von Arginin aus Citrullin).

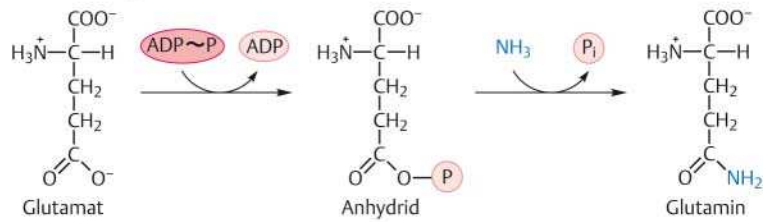
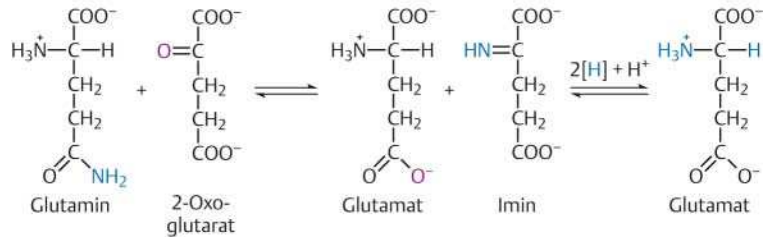
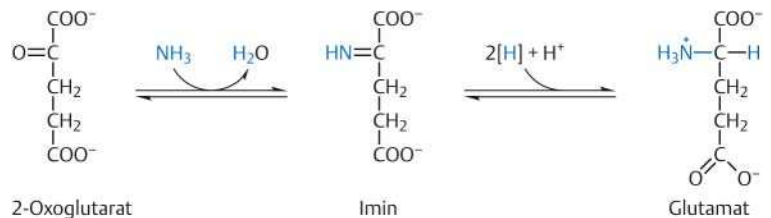
a Glutamin-Synthetase**b Glutamin-2-Oxoglutarat-Aminotransferase (GOGAT)****c Glutamat-Dehydrogenase**

Abb. 8.3 Reaktionen, die an der Assimilation von Ammonium beteiligt sind. **a** Glutaminsynthetase-Reaktion. **b** GOGAT-Reaktion. **c** Glutamat-Dehydrogenase-Reaktion.

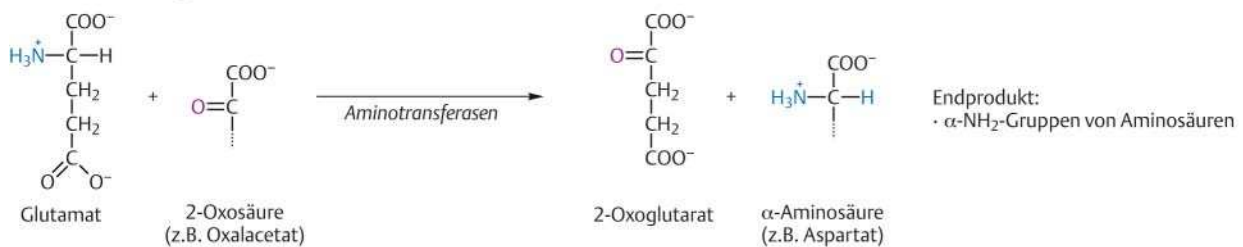
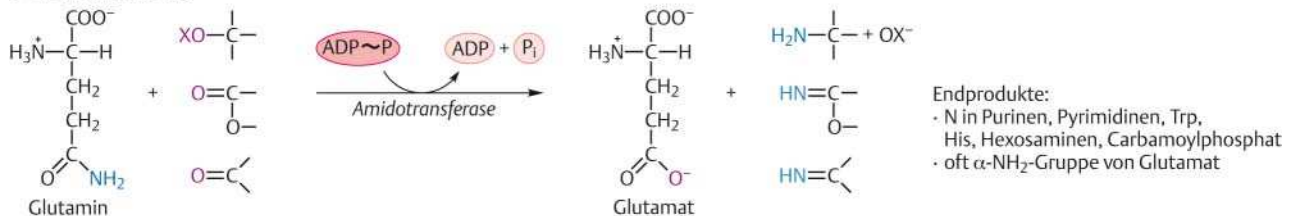
a Transaminierung**b Transamidierung**

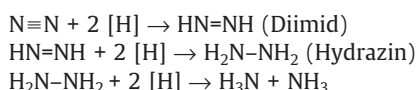
Abb. 8.4 Reaktionen, die an der Übertragung von Stickstoff aus Glutamat und Glutamin beteiligt sind.

a Transaminierung durch Aminotransferasen; **b** Transamidierung durch Amidotransferasen.

Molekularer Stickstoff als N-Quelle

Dem hohen Stickstoffbedarf wachsender Zellen steht oft eine zu geringe Menge an Stickstoffquellen gegenüber, so dass Stickstoffmangel eintritt. Viele Prokaryonten, aber kein einziger Eukaryont, können dann den Luftstickstoff zu Ammoniak reduzieren. Diese Fähigkeit findet sich in fast allen Verwandtschaftsgruppen; wahrscheinlich wurden die Gene für Stickstofffixierung häufig durch lateralen Gentransfer erworben. Besondere Bedeutung hat die symbiontische Stickstofffixierung in den Wurzelknöllchen der Schmetterlingsblütler (Kap. 18.2.1).

Der biologische Katalysator der N_2 -Reduktion zu Ammoniak ist das Enzym **Nitrogenase**, die das biochemische Äquivalent zum Haber-Bosch-Verfahren (Plus 8.3) darstellt. Formal erfolgt die Reduktion von N_2 in drei Stufen, die aber so nicht nachweisbar sind:



Bei der bakteriellen Stickstofffixierung werden pro übertragenem Elektron 2 ATP hydrolysiert. Die ATP-Hydrolyse zwingt die Nitrogenase in eine energiereiche Konformation, in der das Redoxpotenzial der elektronenübertragenden FeS-Zentren extrem negativ wird. Dabei scheint es unvermeidlich zu sein, dass bei der Reaktivität des reduzierten aktiven Zentrums auch zwei Protonen zu Wasserstoff reduziert werden. Die Gesamtbilanz der Nitrogenase-Reaktion ist



Ferredoxin. Die Elektronen für die Stickstofffixierung werden durch das kleine FeS-Protein Ferredoxin bereitgestellt, das bei Eisenmangel durch das kleine Flavoprotein Flavodoxin ersetzt werden kann. Diese Elektronenüberträger selber werden auf unterschiedlichen Wegen reduziert. In Cyanobakterien erfolgt die Reduktion im Photosystem I, bei anaeroben Bakterien bei der Oxidation von Pyruvat, H_2 oder Formiat. Dabei kann der bei der Nitrogenase-Reaktion freigesetzte Wasserstoff wieder dazu verwendet werden, Ferredoxin mit dem Enzym Hydrogenase zu reduzieren ($H_2 + 2$ oxidierte Ferredoxine $\rightarrow 2 H^+ + 2$ reduzierte Ferredoxine). Aerobe Bakterien und nichttoxygene phototrophe Bakterien verwenden einen revertierten Elektronentransport, um die Elektronen von Chinon oder von NAD(P)H auf Ferredoxin anzuheben.

Nitrogenasen. Diese Enzyme bestehen aus zwei Komponenten, die schnell durch Luftsauerstoff inaktiviert werden. Deshalb haben aerobe Stickstofffixierer besondere Strategien zum Schutz gegen Sauerstoff entwickelt (Plus 8.4). Beide Komponenten haben ein sehr negatives Redoxpotenzial. Komponente I, die **Nitrogenase-Reduktase**, ist ein homodimeres Eisen-Schwefel-Protein, das ein FeS-Zentrum zwischen seinen Untereinheiten gebunden hält. Komponente II, die eigentliche **Nitrogenase**, setzt sich aus je 2 α - und 2 β -Untereinheiten, 30 Eisen- und 2 Molybdän-Atomen zusammen. Sie enthält zwei FeS-Zentren, die Elektronen sammeln und übertragen, sowie zwei komplexe Metallzentren (FeMo-Cofaktoren), die das aktive Zentrum darstellen (Abb. 8.5). Die Nitrogenase-Reduktase nimmt jeweils 1 Elektron von Ferredoxin auf und überträgt es unter Hydrolyse von 2 ATP auf die Nitrogenase. Dort werden die benötigten Elektronen gesammelt und auf N_2 übertragen, ohne dass Zwischenprodukte entstehen. Nitrogenasen reduzieren auch

Plus 8.3 Biologie und Haber-Bosch-Verfahren

Die N_2 -Reduktion zu Ammoniak mit Wasserstoff ist eigentlich ein exergoner Prozess ($N_2 + 3 H_2 \rightarrow 2 NH_3$, $\Delta G^{0'} = -53$ kJ). Wegen der stabilen Dreifachbindung des Distickstoffmoleküls ist die Aktivierungsenergie jedoch sehr hoch. In der Technik ist der Prozess als Haber-Bosch-Verfahren bekannt; es erfordert einen Metallkatalysator, hohe N_2 - und H_2 -Drücke und hohe Temperaturen. Die Natur kann solch drastische Bedingungen nicht anwenden und nützt deshalb die ATP-Energie, um die Aktivierungsenergie zu senken und die Elektronen auf das für die Reduktion nötige negative Potenzial anzuheben.

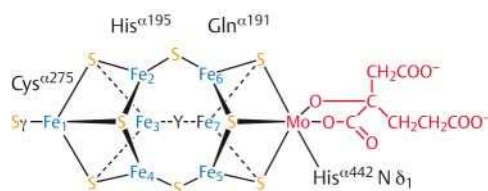


Abb. 8.5 Struktur des Reaktionszentrums von Molybdän-Nitrogenasen. Die Komponente II der Nitrogenase, die eigentliche Nitrogenase, besteht aus 2 α - und 2 β -Untereinheiten. Sie enthält zwei FeS-Zentren, welche der Elektronensammlung und -übertragung dienen, sowie zwei komplexe Metallzentren (FeMo-Cofaktoren), die das aktive Zentrum darstellen. Komponente II enthält insgesamt 2 Mo, 30 Fe, 34 S und 2 Homocitratmoleküle! Der FeMo-Cofaktor enthält 7 Fe(II) und 1 Mo, welches teilweise mit Schwefel, teilweise mit Homocitrat (rot) komplexiert ist. Der Y-Ligand ist vielleicht S.

Plus 8.4 Nitrogenase und Sauerstoff

Das aktive Zentrum der Nitrogenase ist so reaktiv, dass es bei Kontakt mit O_2 irreversibel geschädigt wird. Mikroorganismen begegnen dieser Gefahr durch eine der folgenden Gegenmaßnahmen:

1. Das Enzym wird nur unter anoxischen Bedingungen gebildet.
2. Das Enzym wird kovalent modifiziert (Anhängen eines AMP-Restes) oder an ein Schutzprotein gebunden (Konformationsschutz) und dadurch vorübergehend inaktiviert, aber zugleich unempfindlich gegen Sauerstoff gemacht.
3. Der Sauerstoffzutritt wird verringert. Dies kann geschehen durch:
 - eine hohe Atmungsrate, bei der Sauerstoff bereits an der Membran abgefangen wird (Atmungsschutz),
 - dicke Schleimschichten, welche Konvektion und Diffusion erschweren,
 - Sauerstoffvermeidung infolge negativer Aerotaxis.
4. andere Maßnahmen:
 - **Heterocysten.** In fädigen Cyanobakterien befindet sich die Nitrogenase in sog. Heterocysten. Das sind von einer dicken Wand umgebene Zellen im Zellfaden, die nur Photosystem I besitzen (das ATP bildet, aber keinen Sauerstoff entwickelt). Die Heterocysten erhalten Saccharose von den Nachbarzellen und geben gebundenen Stickstoff ab.
 - **Leghämoglobin.** Die hohe Zelldichte von N_2 -fixierenden Rhizobien in den Wurzelknöllchen der Leguminosen führt dagegen zu einem Sauerstoffmangel bei der Atmung. Hier sorgt das von der Pflanze synthetisierte Leghämoglobin für eine geregelte Nachfuhr von Sauerstoff; die O_2 -Konzentration am Zielort ist dadurch sehr gering und hemmt nicht die Nitrogenase. Entsprechend haben die Endoxidasen der Atmung der Symbionten eine besonders hohe Affinität zu Sauerstoff, um unter dieser Bedingung arbeiten zu können.

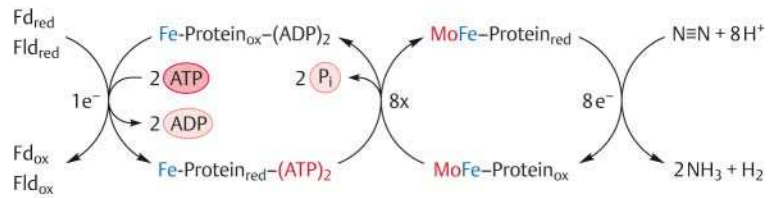


Abb. 8.6 Modell der Nitrogenase-Reaktion. Die Nitrogenase-Reduktase (Komponente I) nimmt jeweils 1 Elektron von Ferredoxin (Fd) oder Flavodoxin (Fld) auf und überträgt es unter Hydrolyse von 2 ATP auf die Nitrogenase (Komponente II). Dort werden die benötigten Elektronen gesammelt und auf N_2 übertragen. Für die Reduktion eines Stickstoffmoleküls zu 2 NH_3 -Molekülen werden 8 Elektronen benötigt.

Acetylen ($HC\equiv CH$) zu Ethylen ($H_2C=CH_2$), was empfindlich gaschromatographisch nachweisbar ist (**Acetylen-Reduktionstest**). Auch $HC\equiv N$ (Cyanid), $NN=N$ (Azid) und $N=N=O$ (N_2O , Lachgas) werden unspezifisch reduziert.

Neben dieser klassischen Mo-Nitrogenase gibt es zwei andere Nitrogenasen, die statt Molybdän Vanadium oder Eisen enthalten. Diese Varianten sind eine Anpassung an Verhältnisse, in denen eines der Elemente nicht vorkommt.

Die Synthese der Nitrogenase wird durch Sauerstoff sowie durch anorganische und organische Stickstoffverbindungen unterdrückt. Bei Energiemangel hemmt das angehäuften ADP die Enzymaktivität. Dies ist Ausdruck der hohen Kosten der Reduktion von Stickstoff. Man schätzt, dass für die Fixierung von 1 mg N ein Gärer wie *Clostridium pasteurianum* 1 g einer organischen C-Quelle verwenden muss, der aerobe *Azotobacter chroococcum* sogar bis zu 30 g Glucose.

8.4.2 Schwefel

Ähnlich wie beim Stickstoff verhält es sich beim Schwefel. Er wird bei der Zersetzung von organischem Material als H_2S frei. H_2S ist für chemolithotrophe Bakterien (Sulfurikanten) ein begehrtes Substrat, das mit Sauerstoff über Sulfid zu Sulfat oxidiert wird (Kap. 11.4). Deshalb ist Sulfat, neben Thiosulfat, unter aeroben Bedingungen die häufigste S-Quelle. Nur unter Luftausschluss ist H_2S stabil (Geruch nach faulen Eiern!); es fällt aber meist mit Fe^{2+} als schwarzes FeS aus, weshalb Gewässerschlick schwarz ist.

Sulfat als S-Quelle

Sulfat wird in die Zelle transportiert und durch lösliche Enzyme zu Sulfid reduziert, man spricht von **assimilatorischer Sulfatreduktion**. Abbildung 8.7 gibt einen Überblick über die Assimilation und den anschließenden Einbau des Schwefels in Zellmaterial. Die Reduktion erfolgt in zwei Stufen über Sulfid (Abb. 8.8).

Sie ist energetisch ungünstig ($E^0 = -516$ mV) und wird erst durch Verwendung von ATP möglich gemacht. Dabei geht Sulfat mit der α -Phosphatgruppe des ATP eine reaktionsfreudige Säureanhydridbindung ein (**Adenosin-Phospho-Sulfat, APS**) und Pyrophosphat wird abgespalten. Sulfat in APS kann dann leicht unter Freisetzung von AMP zu Sulfid

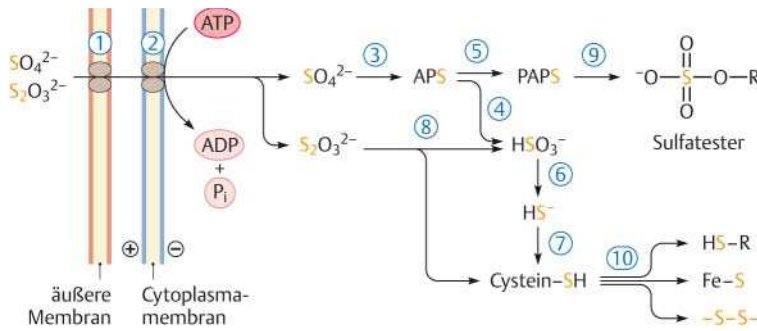


Abb. 8.7 Assimilation von Schwefel in Zellmaterial. APS, Adenosinphosphosulfat. PAPS, Phosphoadenosinphosphosulfat, PAPS ist zusätzlich an C3 der Ribose des AMP-Teils von APS phosphoryliert und dient als Vorläufer für Sulfat-ester. ①, ② Transportsysteme; ③ ATP-Sulfurylase; ④ APS-Reduktase; ⑤ APS-Kinase; ⑥ Sulfatreduktase; ⑦ Serintransacetylase und O-Acetylserin-Sulfhydrylase; ⑧ S-Sulfocystein-Reduktion bei der Verwertung von Thiosulfat; ⑨ Sulfat-transfer zur Bildung von Sulfatestern; ⑩ Sulfhydryltransfer.

reduziert werden. **Sulfit** wird durch Sulfatreduktase zu Sulfid reduziert ($\text{HSO}_3^- + 6 [\text{H}] \rightarrow \text{HS} + 3\text{H}_2\text{O}$) ($\Delta G^\circ = -72 \text{ kJ}$).

Die Synthese dieses löslichen Enzymsystems der assimilatorischen Sulfatreduktion wird durch Cystein reprimiert, das als Schwefelträger dient. Wir werden bei der anaeroben Atmung eine *dissimilatorische* Sulfatreduktion kennen lernen, die der Energiegewinnung dient und mit dem Aufbau eines Protonenpotenzials an der Membran gekoppelt ist (Kap. 13.5).

Fixierung und Übertragung des Schwefelwasserstoffs

Schwefelwasserstoff, H_2S , ist flüchtig, giftig und eine schwache Base (H_2S , $\text{pK}_{a1} = 7,0$); er liegt bei neutralem pH teilweise als Hydrogensulfid-anion, HS^- , vor. Sulfid muss deshalb sofort gebunden werden. HS^- wird in zwei Stufen in Zellmaterial eingebaut. Es wird an O-Acetylserin gebunden, das aus Serin und Acetyl-CoA entsteht. Die Acetylgruppe erleichtert die Lösung der C-O-Bindung und den Eintritt des HS^- ; es entsteht **Cystein**

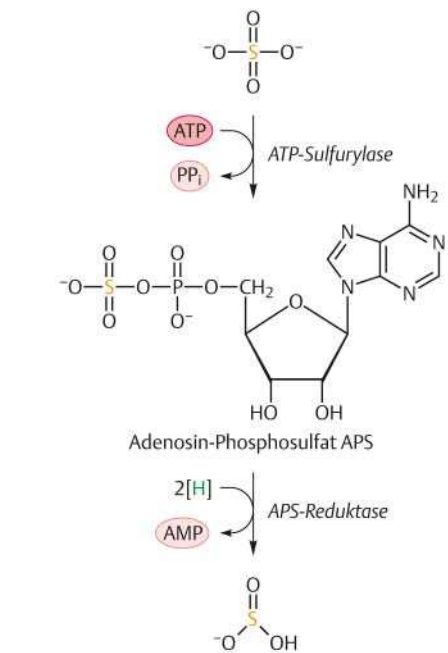
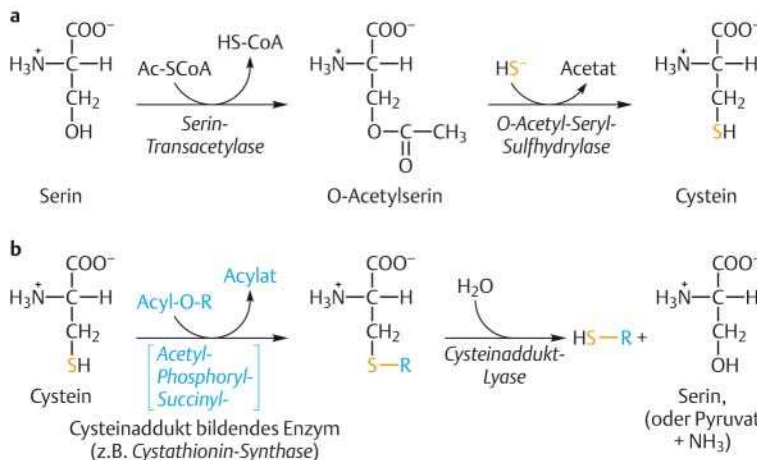


Abb. 8.8 Reduktion von Sulfat zu Sulfit. Die Reduktion von Sulfat zu Sulfit erfolgt in zwei Stufen. Die ATP-Sulfurylase aktiviert das Sulfat mithilfe von ATP zu Adenosin-Phosphosulfat (APS, $\Delta G^\circ = +46 \text{ kJ}$), aus dem die APS-Reduktase Sulfit freisetzt ($\Delta G^\circ = -68 \text{ kJ}$). Die Hydrolyse von Pyrophosphat durch Pyrophosphatase ($\Delta G^\circ = -22 \text{ kJ}$) fördert die Sulfataktivierung durch die ATP-Sulfurylase.

Abb. 8.9 Reaktionen, die an der Assimilation von Sulfid und an der Weitergabe von S aus Cystein (Sulfhydryltransfer) beteiligt sind. **a** Der Einbau des Sulfidschwefels erfolgt mithilfe der beiden Enzyme Serin-Transacetylase und Acetylserin-Sulfhydrylase. **b** Von Cystein ausgehend wird der Schwefel dann in verschiedene Vorläufermoleküle für Zellbausteine eingebaut. Die daran beteiligten Enzyme sind Cysteinaddukt bildende Enzyme und Cysteinaddukt-Lyasen.

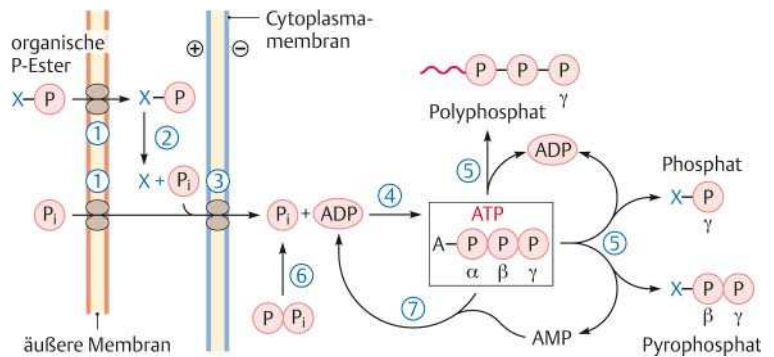
und Acetat wird frei (Abb. 8.9a). Cystein ist der S-Träger, von dem in einem zweiten Schritt der Schwefel in die Vorläufermoleküle der Bausteine, Coenzyme und prosthetischen Gruppen der Enzyme eingebaut wird (Abb. 8.9b). Es ist verständlich, dass viele Mikroorganismen die Schwefelquellen in der Reihenfolge Cystein > Sulfid > Sulfat bevorzugen und entsprechend die Synthese der Enzyme der Schwefelassimilation regulieren.

8.4.3 Phosphor

Phosphor ist oft das wachstumsbegrenzende Element in der Natur. Anders als bei den Elementen N und S, liegt P praktisch ausschließlich in der höchsten oxidierten Stufe des Phosphats vor, entweder frei oder, wie in der Zelle, als organisches Phosphat. Das freie, anorganische Phosphat wird zur Unterscheidung von dem gebundenen organischen oft als P_i (von engl. inorganic phosphate) bezeichnet. Phosphat ($H_2PO_4^-$; $pK_{a2} = 7,0$) liegt bei neutralem pH-Wert als Anion $H_2PO_4^-$ und als HPO_4^{2-} vor und wird meist ATP-abhängig aufgenommen. Organische Phosphate werden in der Regel nicht direkt aufgenommen, sondern im Periplasma oder an der Zelloberfläche durch unspezifische Phosphatasen hydrolysiert. Das freigesetzte Phosphat wird dann transportiert.

Phosphat wird im Energiestoffwechsel durch Substratphosphorylierung oder Elektronentransportphosphorylierung an ADP gebunden und es entsteht energiereiches ATP. Dieses ist nicht nur Energieträger, sondern gleichzeitig der universelle P-Donor, von dem sich die Phosphatgruppen der Bausteine herleiten. So entstehen durch Übertragung von Phosphoryl- oder Pyrophosphorylgruppen Polyphosphate, Phosphate oder Pyrophosphate. Aus ATP und AMP synthetisiert die Adenylatkinase zwei ADP (Abb. 8.10). Die wenigen Phosphonatverbindungen, in denen eine C- PO_3H_2 -Bindung vorliegt, werden durch C-P-Lyasen gespalten und das entstandene Phosphit ($P(OH)_3$) wird unter H_2 -Freisetzung zu H_3PO_4 oxidiert.

Abb. 8.10 Assimilation von Phosphor in Zellmaterial. ① und ③ Aufnahmesysteme für Phosphat bzw. organische Phosphate; ② organische Phosphatasen; ④ ATP-Bildung durch Substratphosphorylierung oder Elektronentransportphosphorylierung; ⑤ Übertragung von Phosphoryl- oder Pyrophosphorylgruppen; ⑥ Pyrophosphatase; ⑦ Adenylatkinase.



8.4.4 Spurenelemente

Alkalimetalle (Na, K) und Erdalkalimetalle (Mg, Ca) sind Makroelemente und kommen in der Zelle frei oder teilweise gebunden in größerer Menge vor. Sie zählen somit nicht zu den Spurenelementen. Die betreffenden Kationen werden direkt in die Zelle transportiert und dienen vor allem als Elektrolyte. Sie sind aber auch für viele Zellfunktionen essenziell.

Im Gegensatz dazu sind die Spurenelemente (z.B. die Übergangsmetalle V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, W, aber auch Se u. a.) besonders katalytisch wirksam. Sie sind als Bestandteile von Cofaktoren oder Enzymen fest gebunden und kommen nur in geringen bis geringsten Spuren vor. Das mengenmäßig Wichtigste unter ihnen ist Eisen (Fe), das deshalb häufig auch als Makroelement behandelt und hier stellvertretend besprochen wird.

In der Natur ist Eisen wegen der geringen Löslichkeit seiner Verbindungen oft wachstumslimitierend (Plus 8.5). Deshalb werden lösliche, niedermolekulare Eisenkomplexbildner (rel. Molekülmasse < 1500), sog. **Siderophore** (Eisenträger) gebildet und ausgeschieden. Diese haben mit $10^{30} - 10^{50}$ l/mol bei pH = 7,0 eine noch höhere Stabilitätskonstante als die natürlichen, unlöslichen Eisenkomplexe! Der im Labor verwendete Komplexbildner EDTA hat nur eine Stabilitätskonstante von 10^{25} l/mol.

Man unterscheidet je nach Komplexbildungstyp mehrere Klassen dieser Verbindungen (Abb. 8.11).

Auch die gelb-grün fluoreszierenden Pigmente, die von *Pseudomonas putida* und *Pseudomonas aeruginosa* ausgeschieden werden, haben die Funktion von Siderophoren, ebenso die Ferrioxamine der Actinomyceten und die Mycobactine und Exocheline der Mykobakterien. Interessanterweise können viele Bakterien Komplexbildner von anderen Bakterien und Pilzen aufnehmen und verwerten, wie beispielsweise das Ferrichrom der Pilze.

Die Siderophore binden das Eisen und werden als Eisen(III)-Komplexe über spezifische Kanäle und unter Verbrauch von Energie aufgenommen (Abb. 8.12, Plus 8.6). In der Zelle werden sie entweder durch Hydrolyse zerstört und damit das Fe(III) freigesetzt (Enterobactin), oder das gebundene Fe(III) wird zu löslichem Fe(II) reduziert (Ferrichrom). Das Eisen wird sofort in Fe-Speicherproteine oder in Zielmoleküle (Häm, FeS-Zentren) eingebaut. Es darf nur in winzigen Mengen in freier Form vorkommen, da freies Fe(II) nämlich mit H_2O_2 als sogenanntes Fenton-Reagenz reagiert und das OH-Radikal bildet (Kap. 7.5.2). Dies ist das potenteste unselektive Oxidationsmittel ($E^0 + 2,2$ V!), das mit allen Biomolekülen reagiert (Kap. 10.4). Schon aus diesem Grund, aber auch wegen der Kostspieligkeit der Fe-Aufnahme, reprimiert Fe(III) als Korepressor, zusammen mit einem Repressorprotein, die Transkription der Gene der Eisenaufnahmesysteme (Abb. 8.12).

Für viele Bakterien sind die Eisenaufnahmesysteme auch wichtige Faktoren, die ihnen **Pathogenität** verleihen. Die Freihaltung des Milieus von Eisen gehört zu den natürlichen Abwehrmechanismen höherer Organismen. Sie besitzen eisenbindende Proteine, die das vorhandene Eisen so fest binden, dass es für Mikroorganismen nicht verfügbar ist. Auf diese Weise verhindert das Conalbumin das Wachstum von Mikroorganismen in Hühnereiklar, Lactoferrin ist in Milch, Tränen- und Speichelflüssigkeit vorhanden und Transferrin wirkt im Blutserum. In Hühnereiklar eingepflichte Bakterien wachsen erst, wenn man gleichzeitig mit dem Impfgut Eisenionen in Form von Eisenammoniumcitrat injiziert. Mit anderen Worten: Eisen spielt bei der Auseinandersetzung zwischen höheren Organismen und Bakterien eine große Rolle. Den Kampf gewinnt der Partner, der einen Chelatbildner mit hoher Bindungsstärke für Eisen produziert. Manche Pathogene lysieren Erythrocyten (Hämolyse), um das Hämoglobin zu nutzen. Sie können aus eisenhaltigen Proteinen, die sie an der Oberfläche binden, sogar Häm oder Fe-Ionen herauslösen!

Plus 8.5 Verfügbarkeit von Eisen

Eisen ist zwar das vierthäufigste Element in der Erdkruste, dennoch ist seine biologische Verfügbarkeit äußerst gering. Es ist oft das wachstumslimitierende Element, besonders in großen Bereichen der tropischen Ozeane, wo die Nachdiffusion von gelöstem Eisen aus dem Sediment sehr niedrig ist. Der Grund für Eisenmangel ist die äußerst geringe Löslichkeit der stabilen Fe(III)-Komplexe, wie Oxidhydrat $FeO(OH)$, Carbonat $Fe_2(CO_3)_3$ oder Magnetit Fe_3O_4 , bei neutralem pH-Wert. Die Stabilitätskonstante K ($K = [Ligand-Metall-Komplex]/[Ligand][Metall]$) beträgt 10^{38} l/mol für $Fe(OH)_3$, was einer Fe(III)-Konzentration von etwa 10^{-18} mol/l entspricht. Zum Vergleich: Ein einziges Molekül Eisen in einer Bakterienzelle entspräche etwa einer Konzentration von 10^{-9} mol/l! Nur im Sauren liegen Fe(III) und unter anaeroben Bedingungen Fe(II) in ausreichender Konzentration gelöst vor.

Plus 8.6 Besonderheiten der Aufnahmesysteme für große Moleküle

Die Eisenaufnahmesysteme weisen Besonderheiten auf. Große Moleküle, wie die Siderophore oder auch Vitamin B_{12} , die über ATP-abhängige Transportsysteme aufgenommen werden, benötigen neben einem spezifischen porinähnlichen Kanal in der äußeren Membran auch periplasmatische Bindeproteine (bei grampositiven Bakterien sind die Aufnahmesysteme an der Zellohülle verankert). Die Freisetzung des Siderophors aus dem Kanal ist energieabhängig und erfolgt mit Hilfe eines verlängerten transmembranen Proteinkomplexes, der von der Cytoplasmamembran bis zum Kanal reicht (Abb. 8.12). Nur eine energetisierte Membran erlaubt die Freisetzung des Siderophors aus dem Kanal. Da das Eisenaufnahmesystem auch für die Aufnahme des T1-Phagen (engl. T-one) „missbraucht“ wird (so wurde es ursprünglich entdeckt), nennt man dieses Membranprotein auch Ton-Komplex.

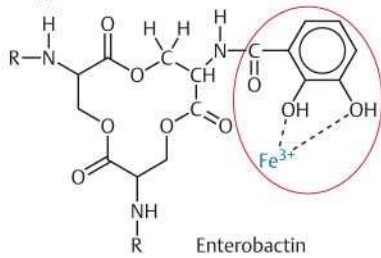
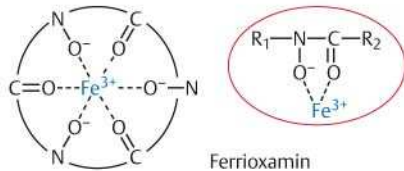
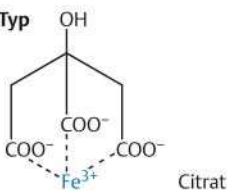
a Catechol-Typ**b Hydroxamat-Typ****c Carboxylat-Typ**

Abb. 8.11 Allgemeine Strukturen von eisenkomplexierenden Verbindungen (Siderophore).
a Enterobactin als Beispiel für den Catechol-Typ mit 2,3-Dihydroxybenzoesäure. **b** Ferrioxamin vom Hydroxamat-Typ mit $R_1\text{-NOH-CO-R}_2$ (auch das Ferrichrom der Pilze gehört zu diesem Typ). **c** Citrat als Beispiel für den Carboxylat-Typ.

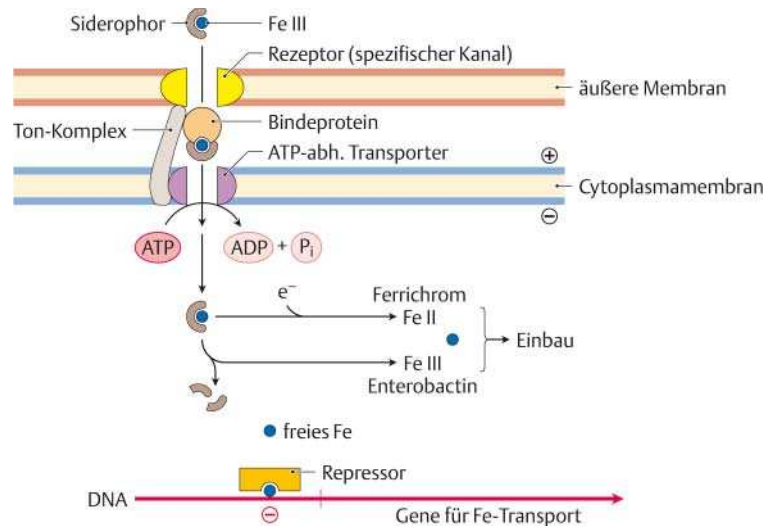


Abb. 8.12 Schema des Eisentransports in *Escherichia coli*.
 Erklärung siehe Text.

8.5 Bereitstellung von C_1 -Einheiten, Energie, Reduktions- und Oxidationsmitteln

8.5.1 C_1 -Einheiten

In den Zellbausteinen treten verschiedene **C_1 -Einheiten** wie Methylgruppen ($-\text{CH}_3$), Hydroxymethylgruppen ($-\text{CH}_2\text{OH}$), Formylgruppen ($-\text{CHO}$) und Carboxylgruppen ($-\text{COOH}$) auf. Verschiedene Coenzyme, wie Tetrahydrofolsäure (H_4 -folat, FH_4 oder auch THF), S-Adenosylmethionin oder Biotin dienen dem Transfer dieser Einheiten.

Der Bedarf an C_1 -Einheiten wird aus Serin und Glycin gedeckt (Abb. 8.13). Die Hydroxymethylgruppe des Serins ($-\text{CH}_2\text{OH}$) entspricht Formaldehyd (HCHO , bzw. Formalhydrat, $\text{H}_2\text{C}(\text{OH})_2$) gebunden an Glycin. Diese Gruppe wird durch das Enzym Serin-Hydroxymethyl-Transferase reversibel abgelöst und auf das Coenzym **Tetrahydrofolsäure** übertragen. Die C_1 -Bindung an Tetrahydrofolsäure entspricht der spontanen Reaktion von Formalhydrat ($\text{H}_2\text{C}(\text{OH})_2$) mit den N^5 - und N^{10} -Stickstoffatomen des Coenzym unter Austritt von zwei Wassermolekülen zu N^5 , N^{10} -Methylen-Tetrahydrofolsäure (N^5 , N^{10} -Methylen- FH_4); es entstehen Glycin und Wasser. Die Methylengruppe (Formaldehydstufe) wird über N^5 , N^{10} -Methenyl-Tetrahydrofolat zu N^{10} -Formyl-Tetrahydrofolat (Formiatstufe) oxidiert oder zu N^5 -Methyl-Tetrahydrofolat (Methanolstufe) reduziert. Die C_1 -Gruppen der verschiedenen Stufen werden auf entsprechende Akzeptoren übertragen. Sie werden hauptsächlich für die Synthese von Methionin, Purinen, Thymin (hier ausnahmsweise eine C-CH_3 Gruppe!) und N-Formylmethionin benötigt. Ein Teil des Glycins wird unter Decarboxylierung verwendet, um auf ähnliche Weise aus seiner Amino-methylgruppe C_1 -Einheiten bereitzustellen. Der unmittelbare Methylgruppdonor ist häufig **S-Adenosylmethionin**, der aus ATP und Methionin entsteht (die $-\text{S-CH}_3$ -Gruppe des Methionins stammt aus CH_3 -Tetrahydrofolat). Dabei wird eine Triphosphatgruppe von ATP abgespalten.

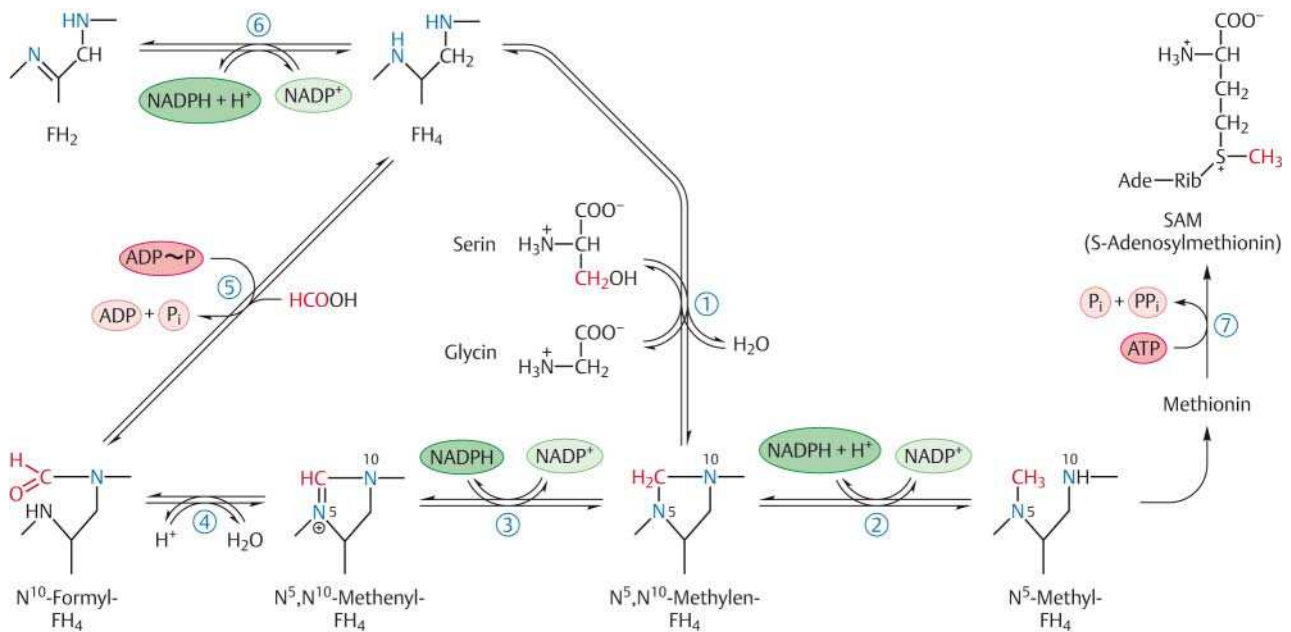


Abb. 8.13 Schema des C₁-Stoffwechsels. Es wird nur der C₁-bindende Teil der Tetrahydrofolsäure (FH₄) gezeigt. FH₂ steht für Dihydrofolsäure. ① Serin-Hydroxymethyl-Transferase; die C₁-Bildung aus Glycin ist hier nicht gezeigt; ② Methyl-Tetrahydrofolat-Reduktase; ③ Methyl-Tetrahydrofolat-Dehydrogenase; ④ Methenyl-Tetrahydrofolat-Cyclohydrolase; ⑤ Formyltetrahydrofolat-Synthetase; ⑥ Dihydrofolat-Reduktase; ⑦ S-Adenosylmethionin-Synthetase.

8.5.2 Energie

ATP als **Energiequelle** und gleichzeitiger Phosphordonor wird hauptsächlich durch Atmung und Photosynthese gebildet. Es dient auch als **Coenzym** für die Aktivierung von Zwischenstufen bei der Synthese. Viele Intermediärverbindungen bedürfen zur Herstellung ihrer Reaktionsbereitschaft einer **Aktivierung durch Gruppenübertragung**. Dabei wird von drei Möglichkeiten der ATP-Spaltung Gebrauch gemacht:

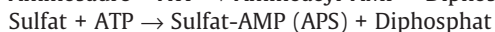
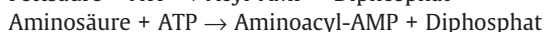
Zucker werden durch Umwandlung zu Zuckerphosphaten aktiviert:



Ribose-5-phosphat wird durch Übertragung von Diphosphat (Pyrophosphat) aktiviert:



Viele organische Säuren, alle Aminosäuren und anorganisches Sulfat werden durch Übertragung der AMP-Gruppe unter Abspaltung von Diphosphat aktiviert:



AMP wird dann im nächsten Schritt bei aktivierten Fettsäuren durch Coenzym A, bei aktivierten Aminosäuren durch tRNA bzw. beim Sulfat durch Reduktion der Säure ersetzt.

Plus 8.7 Energieladung

Man hat den Begriff Energieladung eingeführt, um das Phosphorylierungspotenzial der Adeninnukleotide in einer Zelle zu beschreiben. Mit dem Phosphorylierungspotenzial wird die Fähigkeit eines Adeninnukleotids bezeichnet, eine Phosphorylgruppe auf ein Akzeptormolekül zu übertragen. Nach der Adenylatkinase-Gleichung $\text{AMP} + \text{ATP} = \text{ADP} + \text{ADP}$ hat ATP volles, ADP halbes Phosphorylierungspotenzial (man braucht 2 ADP, um 1 ATP zu generieren). AMP kann keine Phosphorylgruppe übertragen (es hat kein Phosphorylierungspotenzial). Das Enzym Adenylatkinase sorgt im System der Adeninnukleotide für ein Gleichgewicht zwischen den Nukleotiden und eine Rückführung des AMP.

Die **Energieladung** der Zelle wird als das intrazelluläre Konzentrationsverhältnis beschrieben:

$$\text{Energieladung} = \frac{[\text{ATP}] + 0,5 [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

Der Maximalwert der Energieladung ist gleich 1, wenn in der Zelle ausschließlich ATP vorliegt. In der Zelle wird die Energieladung sehr genau reguliert und auf einem Wert von etwa 0,8 gehalten. Der ATP-Umsatz einer Zelle ist so rasch (die Hälfte des ATP wird in 10–100 ms umgesetzt), dass diese Regulation unmittelbar erfolgen muss. Das erklärt die wichtige Rolle der Adeninnukleotide als Hemmstoffe oder Aktivatoren bei der allosterischen Regulation der Aktivität vieler Schlüsselenzyme des Stoffwechsels.

Um die Reaktionen zu Ende laufen zu lassen und die vollständige Umsetzung zu gewährleisten, wird das entstehende Diphosphat durch eine Pyrophosphatase gespalten und dem Gleichgewicht somit entzogen. Die Aktivierung dieser Metabolite lässt sich die Zelle also zwei energiereiche Bindungen kosten. Der ATP-Spiegel in der Zelle wird sorgfältig kontrolliert (Plus 8.7).

8.5.3 Reduktions- und Oxidationsmittel

Wenn bei Biosynthesen ein **Reduktionsmittel** benötigt wird, ist dies meist NADPH. Das Konzentrationsverhältnis $[\text{NADPH}]/[\text{NADP}^+]$ gibt das Reduktionspotenzial an und wird ≥ 1 gehalten. NADPH wird hauptsächlich im oxidativen Pentosephosphatweg gebildet (Kap. 7.2.2). Dabei entstehen nicht nur zwei NADPH, sondern auch ein Pentosephosphat als Baustein. Überschüssiges NADPH hemmt das erste Enzym, die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase. Da der oxidative Pentosephosphatweg als NADPH-Quelle meist nicht ausreicht, dienen auch andere (exergone) Oxidationsschritte des Stoffwechsels wie die Isocitrat-Dehydrogenase-Reaktion der Reduktion von NADP^+ .

Wenn bei Biosyntheseschritten ein **Oxidationsmittel** benötigt wird, so ist es fast immer NAD^+ . NADH wird in der Atmungskette durch den NADH-Dehydrogenase-Komplex zu NAD^+ oxidiert. Das Konzentrationsverhältnis $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$ gibt das Oxidationspotenzial an und wird ebenfalls ≥ 1 gehalten.

8.6 Synthese von Zellmaterial aus CO_2 und Formaldehyd

Die Synthese von allen Zellverbindungen allein aus CO_2 stellt eine besondere Herausforderung an den Zellstoffwechsel dar. Der CO_2 -Gehalt der Luft beträgt 0,037 Volumenprozent. Das entspricht nur 12 μM gelöstem CO_2 bei pH 7. Die CO_2 -Fixierung ist der mengenmäßig wichtigste Syntheseprozess auf der Erde. Jährlich werden $2 \cdot 10^{11}$ Tonnen anorganischen Kohlenstoffs fixiert. Das entspricht etwa 10% des Luft- CO_2 . Deshalb ist die Carboxylase, welche die CO_2 -Bindung katalysiert (Rubisco, s. u.), das mengenmäßig häufigste Protein in der Natur.

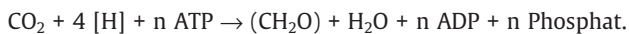
8.6.1 Synthese von Zellmaterial aus CO_2 (autotrophe CO_2 -Fixierung)

Die Assimilation des Kohlenstoffs aus anorganischem Kohlendioxid ist ein sehr wichtiger biochemischer Vorgang. Diese sogenannte autotrophe Lebensweise ist in vielen Prokaryontengruppen verbreitet und eine ursprüngliche Eigenschaft (Plus 8.8), die fakultativ oder obligat sein kann. **Fakultativ** autotrophe Bakterien bevorzugen organische C-Quellen und schalten die CO_2 -Fixierung ab, wenn organische Substrate vorhanden sind. Eine **obligat** autotrophe Lebensweise zeigen dagegen Spezialisten, die sich an eine rein anorganische Umgebung angepasst haben (Chemolithotrophe). Während der längsten Zeit der Erdgeschichte waren ausschließlich Prokaryonten für die Synthese von organischem Material aus CO_2 verantwortlich. Heute übernehmen hauptsächlich die Pflanzen diese Rolle. Sie haben sich die Fähigkeit zur Assimilation von Kohlenstoff aus CO_2 durch Endosymbiose mit autotrophen photosynthetisierenden Cyanobakterien (die Vorläufer der Chloroplasten!) vor etwa 1,4–1,2 Milliarden Jahren angeeignet.

Tab. 8.3 Vergleich der autotrophen CO₂-Fixierungswege. Der ATP-Bedarf ist für die Fixierung von 3 CO₂ in 1 Triosephosphat angegeben. Die errechnete Menge Zellmaterial, die aus einem Mol ATP synthetisiert werden kann, setzt Standardbiosynthesewege und die ATP-Mengen für die Teilprozesse des Stoffwechsels, wie sie in Tabelle 8.1 angegeben sind, voraus.

CO ₂ -Fixierungsweg	ATP-Bedarf/ 3 CO ₂ assimiliert	errechneter Wachstumsertrag	Verhältnis zu O ₂	Vorteile	Verwendung von CO ₂ oder HCO ₃ ⁻
Calvin-Zyklus	9 ATP	5,8 g Zellen/mol ATP	aerob	Zucker als Produkte, weitgehend getrennt von anderen Stoffwechselwegen	CO ₂
reduktiver Citratzyklus	5 ATP	8,5 g Zellen/mol ATP	anaerob, microaerob	geeignet für mikroaerobe Verhältnisse, umkehrbar zur Oxidation von Acetyl-CoA	CO ₂
reduktiver Acetyl-CoA-Weg	4 ATP	9,6 g Zellen/mol ATP	strikt anaerob	geeignet für Assimilation von C ₁ -Verbindungen, umkehrbar zur Oxidation von Acetyl-CoA und C ₁ -Einheiten	CO ₂
3-Hydroxypropionat-zyklus	10 ATP	nicht bestimmt	aerob	geeignet für die mixotrophe Assimilation von Gärprodukten	HCO ₃ ⁻

Der Prozess der Assimilation von CO₂ in Zellmaterial erfordert Reduktionsäquivalente und Energie, um CO₂ auf die Stufe der Kohlenhydrate (CH₂O)_n, also die Formaldehydstufe CH₂O zu reduzieren:



Dabei müssen C–C-Bindungen geknüpft werden, sodass die zentralen Stoffwechselzwischenprodukte gebildet werden können, aus denen alle anderen Bausteine entstehen (Kap. 7.6.1).

Bisher kennt man vier **autotrophe CO₂-Fixierungswege**, die in Tabelle 8.3 miteinander verglichen werden. Welcher Weg beschritten wird, ist davon abhängig, wieviel Energie zur Verfügung steht, ob anaerobe Bedingungen existieren, welche Reduktionsmittel (Elektronendonatoren) und welche zelleigenen Elektronenüberträger und Coenzyme zur Verfügung stehen, und ob häufig vorkommende kleine organische Moleküle mitverwertet werden können.

Calvin-Zyklus

Der wichtigste CO₂-Fixierungsweg, den neben den grünen Pflanzen auch Cyanobakterien, anoxygene phototrophe Purpurbakterien und chemolithotrophe aerobe Bakterien und damit die meisten autotrophen Bakterien nutzen, wurde von Calvin und Mitarbeitern in den 1950er Jahren an der einzelligen Grünalge *Chlorella* aufgeklärt. Er wird auch reduktiver Pentosephosphatzyklus genannt. Der zyklische Prozess verwendet Ribulose-1,5-bisphosphat als Ausgangsverbindung und CO₂-Akzeptormolekül und lässt sich in drei Stufen unterteilen.

1. **Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase** bindet CO₂ an C2 der reaktiven Endiolatform von Ribulose-1,5-bisphosphat (① in Abb. 8.14) und die zwischenzeitlich gebildete C₆-Verbindung (3-Oxo-Säure) wird zu 2 Molekülen 3-Phosphoglycerat hydrolysiert (②). (Abb. 8.14, 8.15).

2. Das fixierte CO₂ findet sich in der Carboxylgruppe eines der beiden 3-Phosphoglyceratmoleküle. 3-Phosphoglycerat wird aktiviert (③), bevor die Carboxylgruppe auf dem Weg der Gluconeogenese zur Aldehydstufe

Plus 8.8 Autotrophie und der Ursprung des Lebens

In der frühen Evolution (**Chemoevolution**) muss es eine Nettosynthese von organischen Verbindungen aus anorganischem CO₂ gegeben haben. Am einfachsten stellt man sich einen zyklischen Prozess mit einer reaktiven Mineraloberfläche als Katalysator vor. An diese Oberfläche bindet ein reaktionsfreudiges Ausgangsmolekül (der Akzeptor) und geht eine Bindung mit CO₂ ein; auch CO oder Formaldehyd, die beide in vulkanischen Gasen vorkommen, sind als Reaktionspartner denkbar. Das Produkt der Reaktion geht weitere Reaktionen mit sich selbst und anderen abgeleiteten Molekülen ein. Dadurch kann die Ausgangsverbindung, der CO₂-Akzeptor, rückgebildet werden. Ein Stoffwechselzyklus ist entstanden. Einem solchen Kreisprozess können dann netto organische Moleküle entzogen werden, die ein „Wachstum“ ermöglichen. Die wahrscheinlich ursprüngliche Fähigkeit, das gesamte Zellmaterial aus anorganischem CO₂ aufzubauen, nennt man **Autotrophie** (Selbsternährung). Sie ist auch heute die Quelle für organisches Material, verwendet aber nun die Maschinerie der hoch entwickelten Zelle. Die Rolle des Katalysators haben CO₂-bindende Enzyme, sog. Carboxylasen, übernommen.

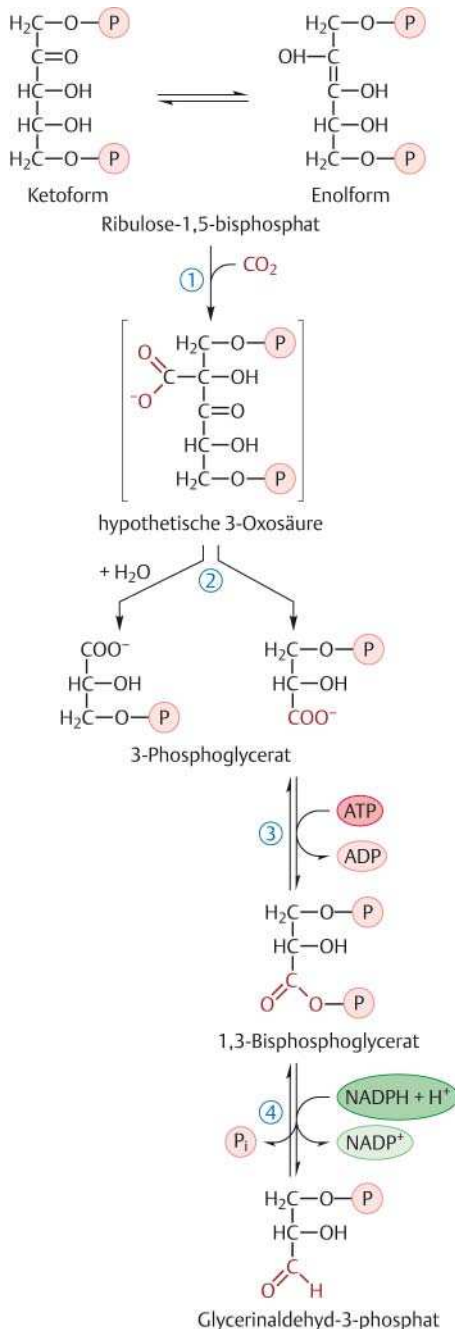


Abb. 8.14 Reaktionen des Calvin-Zyklus. Die Carboxylierungsreaktion der Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase (①) mit der anschließenden Spaltung der 3-Oxosäure in 2 Moleküle 3-Phosphoglycerat ist irreversibel (②). Die Phosphorylierung durch die 3-Phosphoglycerat-Kinase (③) und die Reduktion, katalysiert durch Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (④), sind reversibel.

des Glycerinaldehyd-3-phosphats reduziert wird (④). Zur Reduktion der beiden Moleküle 3-Phosphoglycerat werden zwei NAD(P)H und zwei ATP benötigt (Abb. 8.14, 8.15). Das NAD(P)H stammt aus der Photosynthese oxygener phototropher Bakterien (also aus dem Wasser) oder aus der Oxidation anorganischer Verbindungen durch anoxygene phototrophe oder chemotrophe Bakterien. Die beiden Triosephosphatmoleküle werden zu Fructose-6-phosphat aufgebaut (s. Gluconeogenese, Kap. 7.6.2).

3. Aus Fructose-6-phosphat wird durch Zuckerumwandlungsreaktionen, an denen hauptsächlich Transaldolase und Transketolase beteiligt sind, Ribulose-5-phosphat gebildet. Dieser Stoffwechselteil wird als Pentosephosphatzyklus (Kap. 7.2.2) bezeichnet. Er dient in vielen Organismen der Umwandlung von verschiedenen C_3 - bis C_7 -Zuckern. Die Umsetzung von Ribulose-5-phosphat zum CO_2 -Akzeptor Ribulose-1,5-bisphosphat erfordert ein drittes ATP und wird von Ribulose-5-phosphatkinase katalysiert (Abb. 8.15).

Führt man diesen Zyklus dreimal aus, so ist netto ein Molekül Triosephosphat entstanden, das für Biosynthesezwecke abgezweigt werden kann. Der Calvin-Zyklus benötigt im Prinzip nur zwei zusätzliche Enzyme, Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase und Ribulose-5-phosphatkinase, die man als dessen Schlüsselenzyme bezeichnet. Ihr Nachweis legt nahe, dass das betreffende Bakterium den Calvin-Zyklus verwendet.

Die Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase hat eine **Oxygenase-Nebenaktivität** (Abb. 8.16). Deshalb wird das Enzym auch Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (Rubisco) genannt. Das C2-Atom

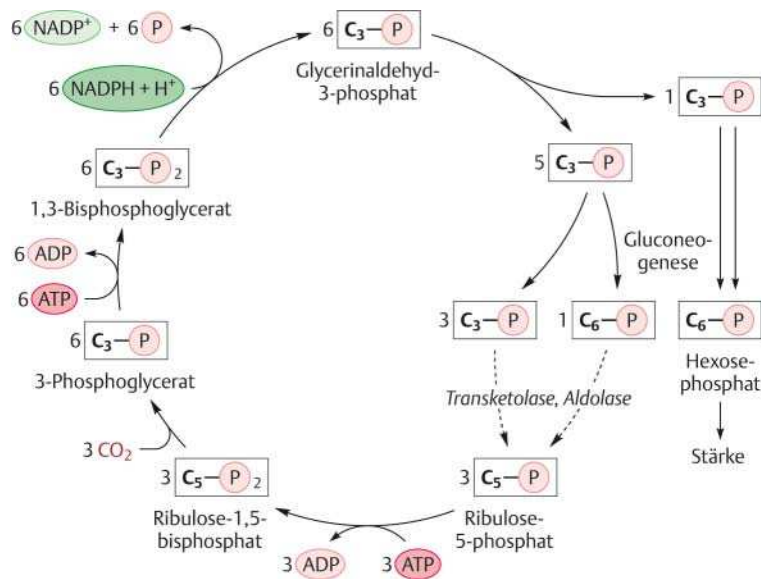


Abb. 8.15 Schema des vollständigen Calvin-Zyklus. Das Schema zeigt die Fixierung des CO_2 durch die Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase und die anschließende Reduktion zu zwei Molekülen Glycerinaldehyd-3-phosphat. Aus Triosephosphat wird in der Gluconeogenese Hexosephosphat aufgebaut. Transketolase- und Transaldolase-Reaktionen sowie Ribulose-5-phosphat-Kinase regenerieren den CO_2 -Akzeptor Ribulose-1,5-bisphosphat. Bei drei Umläufen kann aus drei CO_2 ein Triosephosphat für die Biosynthese entzogen werden (aus Doenecke et al., 2006).

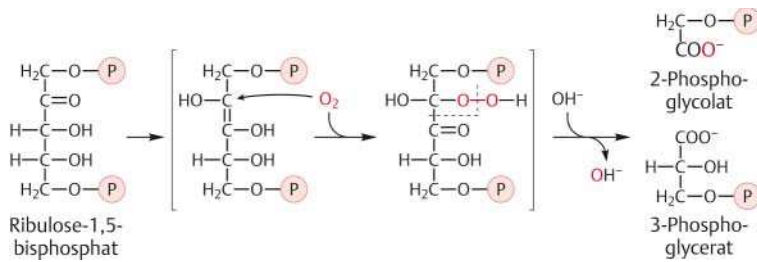


Abb. 8.16 Oxygenase-Reaktion der Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (Rubisco). Die Rubisco kann statt CO₂ auch O₂ an Ribulose-1,5-bisphosphat anlagern. Diese Reaktion findet in Gegenwart von Sauerstoff statt (aus Doenecke et al., 2006).

des reaktiven Endiolat-Übergangszustands reagiert nämlich auch schwach mit Sauerstoff unter Bildung eines Peroxids, das zu Phosphoglycolat und 3-Phosphoglycerat zerfällt. Sauerstoff liegt mit ca. 20 Volumenprozent der Luft in viel höherer Konzentration gelöst vor (ca. 200 µM) als CO₂ (ca. 12 µM) (Plus 8.9).

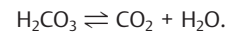
Reduktiver Citratzyklus

In verschiedenen mikroaeroben oder anaeroben Bakterien wird CO₂ über einen rückläufigen, d.h. reduktiven Citratzyklus fixiert. Aus 2 CO₂ und 8 [H] wird 1 Molekül Acetyl-CoA aufgebaut (Abb. 8.17). In der bekannten, oxidativen Richtung des Zyklus wird 1 Molekül Acetyl-CoA zu 2 CO₂ und 8 [H] unter Bildung von 1 ATP abgebaut (Kap. 7.3). Um den oxidativen Citratzyklus umzukehren, braucht es 2 ATP und drei neue Enzyme, um die irreversiblen Schritte des oxidativen Zyklus zu umgehen (Abb. 8.17). Die Succinatdehydrogenase wird durch die **Fumaratreduktase** ersetzt (③ in Abb. 8.17), die 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase durch die **2-Oxoglutarat-Synthase** (⑤). Das oxidationsempfindliche Enzym verwendet redu-

Plus 8.9 Seitenaspekte der autotrophen CO₂-Fixierung durch Rubisco

Das Verhältnis Carboxylase-/Oxygenaseaktivität wird bestimmt durch die Konzentrationen der beiden gelösten Gase und ist abhängig vom Enzymtyp. Es liegt unter natürlichen aeroben Bedingungen zwischen zwei und vier. 2-Phosphoglycolat wird in der Regel zu Glycolat dephosphoryliert und dann verwertet. In Pflanzen wird es im Prozess der Photorespiration unter Verbrauch von O₂, ATP und NADPH zu 3-Phosphoglycerat zurückgebildet.

Rubisco hat eine sehr geringe Wechselzahl, sodass sie in großen Mengen vorkommen muss. Ihre Konzentration ist ähnlich der des Substrats CO₂ und sie macht bis zu 20% des Proteingehalts autotropher Zellen aus. In manchen Bakterien liegt sie, zusammen mit anderen Enzymen wie Carboanhydrase, in phagenähnlichen Partikeln kristallin verpackt vor (Carboxysomen). Carboanhydrase stellt folgendes Gleichgewicht ein:



Es sorgt für die Nachlieferung von gelöstem CO₂ aus gelöstem Bicarbonat, welches im Gleichgewicht mit Kohlensäure steht ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$; scheinbarer pK_a der Kohlensäure ist 6,3). Etwa 99% des H₂CO₃ zersetzt sich im Gleichgewicht zu CO₂ und Wasser.

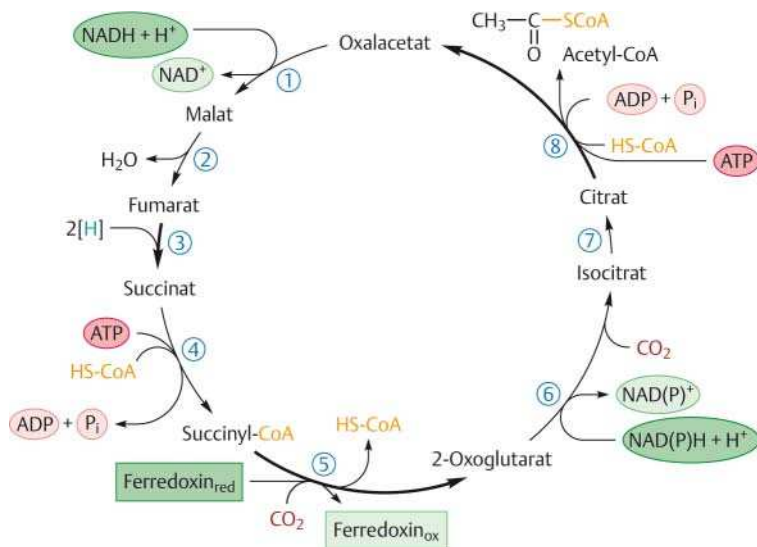


Abb. 8.17 Reaktionen des reduktiven Citratzyklus. ①, ②, ④, ⑥ und ⑦ sind die bekannten Reaktionen des (oxidativen) Citratzyklus (Abb. 7.15, S. 209). Reaktionen ③, ⑤ und ⑧ werden durch drei andere Enzyme, die Fumaratreduktase (③), die 2-Oxoglutarat-Synthase (⑤) und die ATP-Citratlyase (⑧) katalysiert.

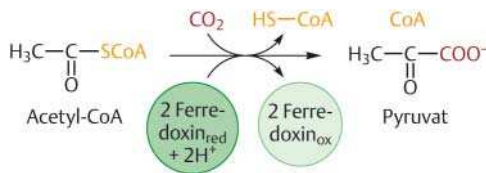


Abb. 8.18 Umsatz von Acetyl-CoA zu Pyruvat. Die reversible Reaktion wird durch die Pyruvatsynthase katalysiert.

ziertes Ferredoxin als Elektronendonator, das ein viel negativeres Redoxpotenzial hat als NADH und so die reduktive Carboxylierung von Succinyl-CoA zu 2-Oxoglutarat ermöglicht. Schließlich wird die Citrat-Synthase durch die reversible **ATP-Citratlyase** ersetzt (8). Das Enzym setzt unter ATP-Spaltung Citrat zu Citryl-CoA um und spaltet es in Acetyl-CoA und Oxalacetat, die Ausgangsverbindung des Zyklus.

Die Assimilation von Acetyl-CoA verläuft, wie in den meisten Anaerobiern, ohne den Glyoxylatzzyklus. Acetyl-CoA wird durch das Ferredoxin abhängige Enzym Pyruvat-Synthase zu Pyruvat umgesetzt, ähnlich wie zuvor Succinyl-CoA zu 2-Oxoglutarat (Abb. 8.18). Die Umsetzung von Pyruvat zu Triosephosphat (Kap. 7.6.2) kostet 3 weitere ATP, sodass für die Synthese eines Triosephosphates 5 ATP benötigt werden. Der Weg ist also energetisch günstiger als der Calvin-Zyklus. Hinzu kommt, dass manche Anaerobier wie der Sulfatreduzierer *Desulfobacter hydrogenophilus* den modifizierten Citratzyklus zur Oxidation von Acetyl-CoA verwenden können, wenn organisches Material zur Verfügung steht. Dabei wird in der ATP-Citratlyase-Reaktion ein zusätzliches ATP gewonnen.

Reduktiver Acetyl-CoA-Weg

Dieser Weg wird nach den Entdeckern auch **Wood-Ljungdahl-Weg** genannt. Strikt anaerobe Bakterien, welche neben CO₂ auch reduzierte C₁-Verbindungen in ihrem Lebensraum vorfinden (CO, Formiat, Methanol, Methylamin, Methylether), assimilieren CO₂ und diese C₁-Verbindungen über einen ungewöhnlichen Weg, der ebenfalls zu Acetyl-CoA führt (Abb. 8.19 und Kap. 13.8). Diesen nichtzyklischen Weg verwenden methanogene Archaeobakterien, acetogene Bakterien und einige sulfatreduzierende Bakterien. Die Synthese von Acetyl-CoA kostet vermutlich weniger als ein ATP.

Von diesem Weg gibt es viele Varianten. Hier wird der Weg in Eubakterien beschrieben. Ein Molekül CO₂ wird mit 6 [H] über gebundene Zwischenstufen zu N⁵-Methyl-Tetrahydrofolat (N⁵-Methyl-FH₄) reduziert. Die Methylgruppe wird anschließend auf Cobalt in einem Vitamin-B₁₂-

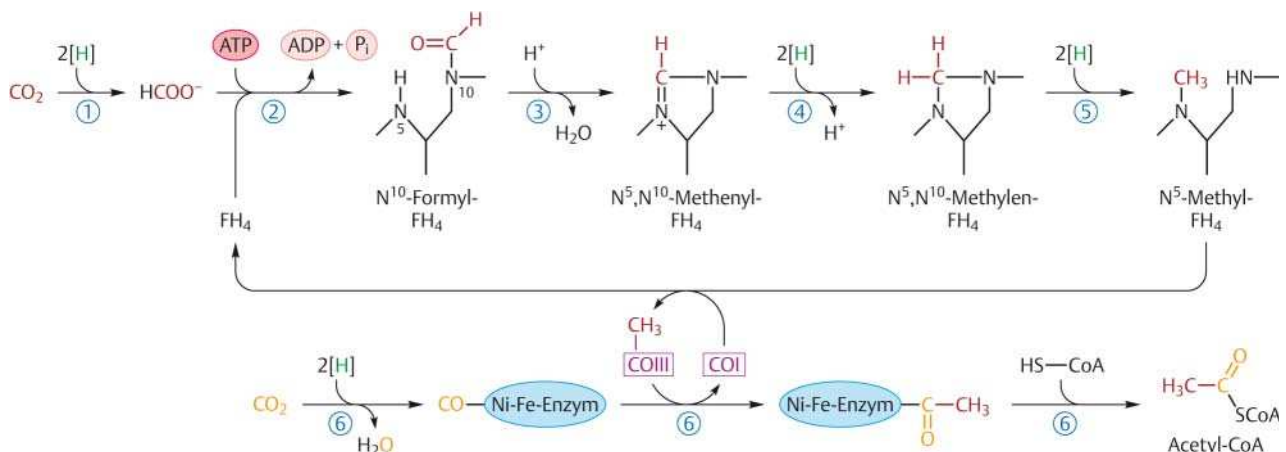


Abb. 8.19 Reaktionen des reduktiven Acetyl-CoA-Weges, wie er in Eubakterien abläuft. ① Formiatdehydrogenase; ② Formyl-Tetrahydrofolat-Synthetase; ③ bis ⑤, Enzyme, welche die an Tetrahydrofolsäure (FH₄) gebundene Formylgruppe zur Methylgruppe reduktiv umsetzen; ⑥ Acetyl-CoA-Synthasekomplex, bestehend aus einer Methyltransferase, einem Corrinoid (Vitamin-B₁₂)-Protein, und einer CO-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthase (Kap. 13.8). Erklärung siehe Text.

enthaltenden Protein übertragen. Das Schlüsselenzym des Stoffwechselwegs ist ein oxidationsempfindliches Ni-Fe-Enzym, das entsprechend seiner mehrfachen Funktion **Acetyl-CoA-Synthase/CO-Dehydrogenase** genannt wird. Es katalysiert eine komplexe Reaktion, nämlich die Reduktion von CO₂ mit reduziertem Ferredoxin (2 [H]) zu einer metallgebundenen Carbonylgruppe (CO) und H₂O. Es überträgt dann die Methylgruppe vom Methyl-Vitamin-B₁₂ auf die Carbonylgruppe wobei ein gebundener Acetatrest entsteht. Dieser löst sich mit Coenzym A unter Bildung von Acetyl-CoA. Die Umsetzung von Acetyl-CoA zu Triosephosphat erfolgt wie beim reduktiven Citratzyklus (s. o.).

Die Synthese von 1 Triosephosphat kostet nur höchstens 4 ATP. Hinzu kommt, dass der Prozess sogar umkehrbar ist und für die Oxidation von Acetyl-CoA verwendet werden kann (Kap. 7.3). Die zahlreichen Varianten dieses Weges unterscheiden sich in den C₁-übertragenden Coenzymen und den Elektronenüberträgern. Dieser Prozess kommt dem vermuteten ursprünglichen präbiotischen CO₂-Fixierungsprozess wahrscheinlich am nächsten. Im Labor lässt sich sogar in vitro die Bildung von Essigsäure und von weiteren biologischen Schlüsselverbindungen aus CO₂, CO, H₂ und H₂S in Gegenwart von Ni- und Fe-Sulfiden simulieren.

3-Hydroxypropionatzyklus

Bei der Gattung *Chloroflexus* (grüne phototrophe Nicht-Schwefelbakterien) findet man einen Zyklus, der zur Synthese von Glyoxylat aus zwei CO₂ führt. Er geht von Acetyl-CoA aus und verläuft über 3-Hydroxypropionat und Propionyl-CoA zu Succinyl-CoA. Man erhält Methyl-CoA, das in Acetyl-CoA und Glyoxylat gespalten wird. Die Carboxylasen sind Acetyl-CoA-Carboxylase (Kap. 8.7.4) und Propionyl-CoA-Carboxylase. Ein ähnlicher Weg existiert in Arten der Ordnung *Sulfolobales* (Crenarchaeota). Bisher zeichnet sich ab, dass der Prozess sehr energieaufwändig ist. Er erlaubt aber neben der Fixierung von CO₂ gleichzeitig die Assimilation typischer Gärprodukte wie Essigsäure, Propionsäure oder auch C₄-Dicarbonsäuren. Dies kann bei fakultativ autotrophen Bakterien ein entscheidender Vorteil sein.

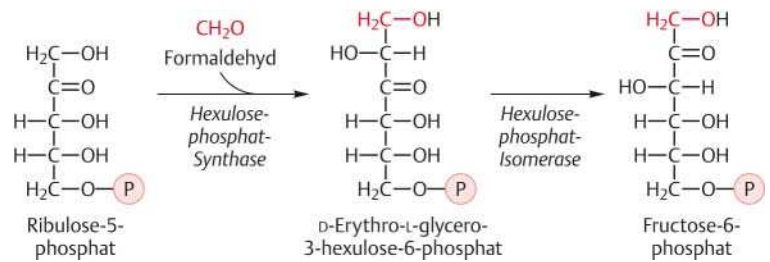
8.6.2 Synthese von Zellmaterial aus Formaldehyd

Fossiler Kohlenstoff ist eine schier unerschöpfliche Energie- und Kohlenstoffquelle, die sich Mikroorganismen erschlossen haben. Darunter ist Methan, ein Produkt der bakteriellen Methanbildung. Es kommt als Gashydrat in bisher nur abschätzbaren Mengen im Ozeansediment ab einer Wassertiefe von 400 m vor (Kap. 13.7). Daneben gibt es Methanol, Methylamin und viele pflanzliche Methyletherverbindungen. Bakterien und Hefen aus den verschiedensten Gruppen, die mit solchen C₁-Verbindungen wachsen können, werden als methylotroph bezeichnet. Die Oxidation dieser C₁-Verbindungen zu CO₂ verläuft über freien oder an Tetrahydrofolsäure gebundenen Formaldehyd, welcher sehr reaktionsfähig ist. Die Assimilation von Formaldehyd in eine der zentralen Vorläufermoleküle des Zentralstoffwechsels kann auf mehreren Wegen geschehen.

Hexulosephosphatzyklus

Freier Formaldehyd wird durch das Enzym Hexulose-6-phosphatsynthase in einer Aldolase-Reaktion direkt auf C1 von Ribulose-5-phosphat übertragen (Abb. 8.20). Das entstandene Hexulose-6-phosphat wird zu Fructose-6-phosphat isomerisiert. Durch Zuckerumlagerung im Pentosephos-

Abb. 8.20 Assimilation von Formaldehyd über den Hexulosephosphatweg. Formaldehyd wird an Ribulose-5-phosphat angelagert und die entstandene C₆-Verbindung zu Fructose-6-phosphat isomerisiert.

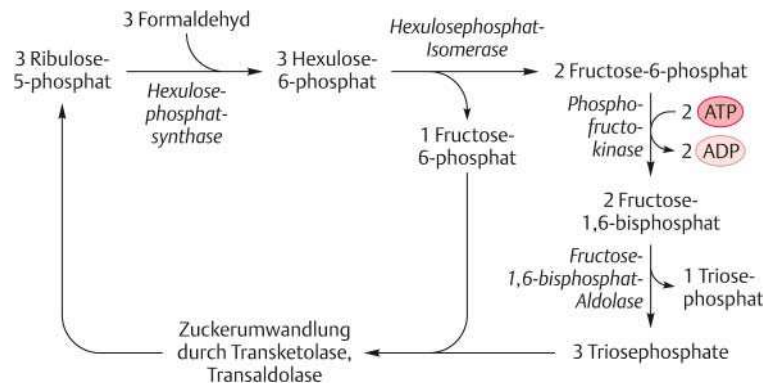


phatzyklus (Kap. 7.2.2 und Calvin-Zyklus, Kap. 8.6.1) wird der Formaldehyd-akzeptor Ribulose-5-phosphat regeneriert (Abb. 8.21). Die Netto-gleichung nach drei Runden dieses Zyklus lautet:



Aus drei Formaldehyd ist ein Triosephosphat entstanden, das assimiliert wird. Dieser Zyklus hat also Ähnlichkeit mit dem Calvin-Zyklus.

Abb. 8.21 Regeneration des Formaldehyd-akzeptormoleküls. Die Reaktionen zur Regeneration des Ribulose-5-phosphats aus Fructose-6-phosphat entsprechen im Wesentlichen den Reaktionen des Calvin-Zyklus (Abb. 8.14). Pro drei Zyklen kann ein Triosephosphat für Synthesen entzogen werden. Es gibt jedoch Varianten der Rückbildung von Ribulose-5-phosphat aus Fructose-6-phosphat.



Dihydroxyacetonzyklus

Hefen verwenden dagegen den **Dihydroxyacetonzyklus**, bei dem Formaldehyd in einer speziellen Transaldolase-Reaktion an C1 von Xylulose-5-phosphat addiert wird. Das entstandene enzymgebundene Hexulose-6-Phosphat wird in Dihydroxyaceton und Glycerinaldehyd-3-phosphat gespalten. Dihydroxyaceton wird zu Dihydroxyacetonphosphat phosphoryliert. Die Ausgangsverbindung Xylulose-5-phosphat wird wie beim Hexulosephosphatzyklus beschrieben regeneriert.

Serinweg

Bei der Synthese von C₁-Einheiten (Kap. 8.5.1) haben wir die reversible Umsetzung von Serin zu Glycin und gebundenem Formaldehyd (N⁵, N¹⁰-Methylen-tetrahydrofolat) durch die Serin-Hydroxymethyl-Transferase kennen gelernt. In Umkehrung wird so Formaldehyd gebunden (Abb. 8.22a). Serin wird in mehreren Schritten zu Phosphoenolpyruvat (PEP) umgewandelt. PEP-Carboxylase bildet daraus unter Aufnahme von Bicarbonat Oxalacetat, das zu Malat reduziert wird. Malat wird ATP-abhängig zu Malyl-CoA aktiviert (Malyl-CoA-Synthase) und dieses wird

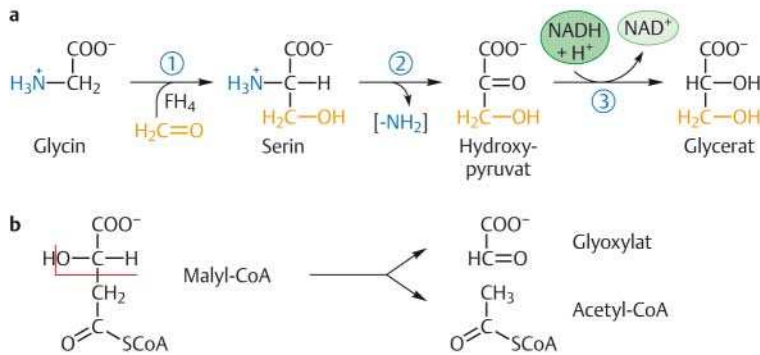


Abb. 8.22 Schlüsselreaktionen bei der Assimilation von Formaldehyd über den Serinweg. **a** Die Schlüsselreaktionen werden durch die Serin-Hydroxymethyl-Transferase (①), eine Transaminase (②) und die Hydroxypyruvat-Reduktase (③) katalysiert. **b** Spaltung von Malyl-CoA in Glyoxylat und Acetyl-CoA durch die Malyl-CoA-Lyase.

zu Acetyl-CoA und Glyoxalat gespalten (Malyl-CoA-Lyase) (Abb. 8.22b, 8.23). Glyoxylat bekommt die Aminogruppe des Serins übertragen und der Formaldehydakzeptor Glycin ist zurückgebildet. Acetyl-CoA, das aus einem Formaldehyd- und einem Bicarbonatmolekül entstanden ist, wird über den Glyoxylatzyklus assimiliert.

Anaerober Weg

Anaerobier verwenden für die Assimilation von C₁-Verbindungen den **Acetyl-CoA-Weg** (Abb. 8.19, S. 248). Er kann gleichzeitig der Oxidation von C₁-Verbindungen zu CO₂ und deren Assimilation über Acetyl-CoA in Zellmaterial dienen (Kap. 7.3).

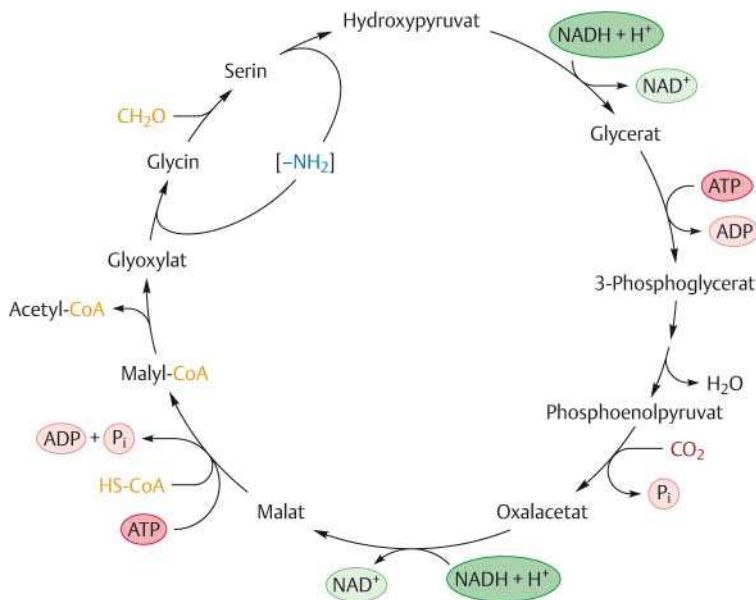


Abb. 8.23 Regeneration des Formaldehydakzeptors Glycin und Fixierung von CO₂ im Serinweg, durch den vollständigen Zyklus, bei dem durch PEP-Carboxylase CO₂ fixiert wird. Pro Zyklus kann ein Acetyl-CoA für Synthesen entzogen werden.

8.7 Biosynthesen der Bausteine

Im Folgenden besprechen wir die biosynthetische Herkunft der wichtigsten Bausteine für Makromoleküle.

8.7.1 Aminosäuren

Die Stoffflüsse des Kohlenstoffs, die von den zentralen Stoffwechselwegen ausgehen, sind in Plus 7.1 (s. Abb. 7.25, S. 224) aufgeführt. Die Hälfte des Kohlenstoffs und mehr als die Hälfte des Stickstoffs gehen ein in die 20 *L*-Aminosäuren der Proteine. Ihre Synthese verläuft in der Regel über 2-Oxosäuren, die durch Transaminierung die Aminogruppe aus Glutamat erhalten. Wichtiges Coenzym des Aminosäurestoffwechsels ist Pyridoxalphosphat (s. S. 199). Die meisten Aminosäuren leiten sich von einer gemeinsamen Aminosäurevorstufe ab; man ordnet sie nach ihrer Herkunft in fünf Familien: Glutamatfamilie, Aspartatfamilie, Pyruvatfamilie, Serinfamilie und die Aromatenfamilie (Plus 8.10). Histidin steht mit einem besonders komplexen Syntheseweg abseits.

Damit Aminosäuren eine Peptidbindung eingehen können, wird die Carboxylgruppe mit Hilfe von ATP mit der 3'-OH-Gruppe der Ribose eines AMP-Restes am 3'-Ende einer tRNA verestert. Diese Reaktionen werden durch die Aminoacyl-tRNA-Synthetasen katalysiert; man erhält so die beladene tRNA, Aminoacyl-tRNA, welche die aktivierte Form der Aminosäure darstellt (Kap. 15.8).

8.7.2 Zucker

Bakterien und Pilze benötigen vor allem Aminozucker für die Synthese der Zellwände. Die wichtigsten Zuckerbausteine sind die Aldohexosen *D*-Glucose, *D*-Mannose und *D*-Galactose und deren Aminoderivate. Sie unterscheiden sich von *D*-Glucose nur durch die Stellung der OH-Gruppe

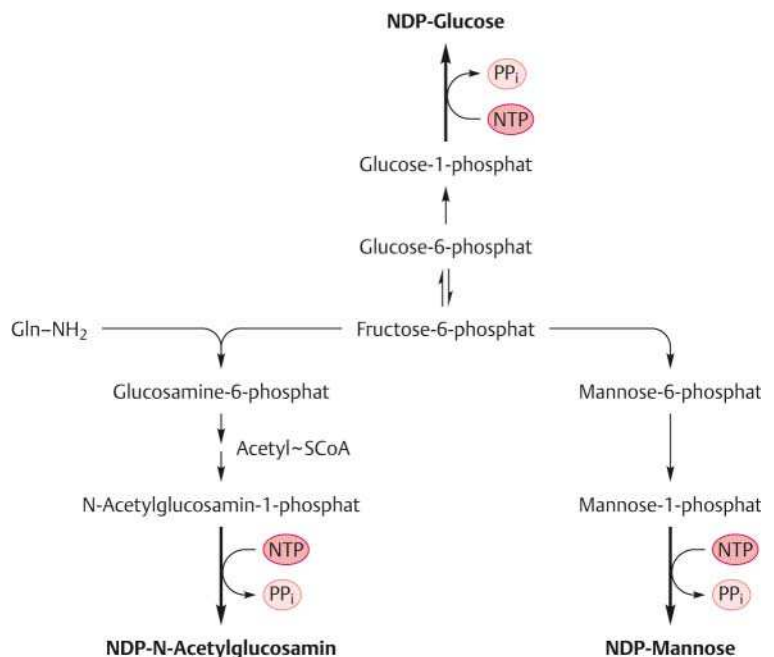
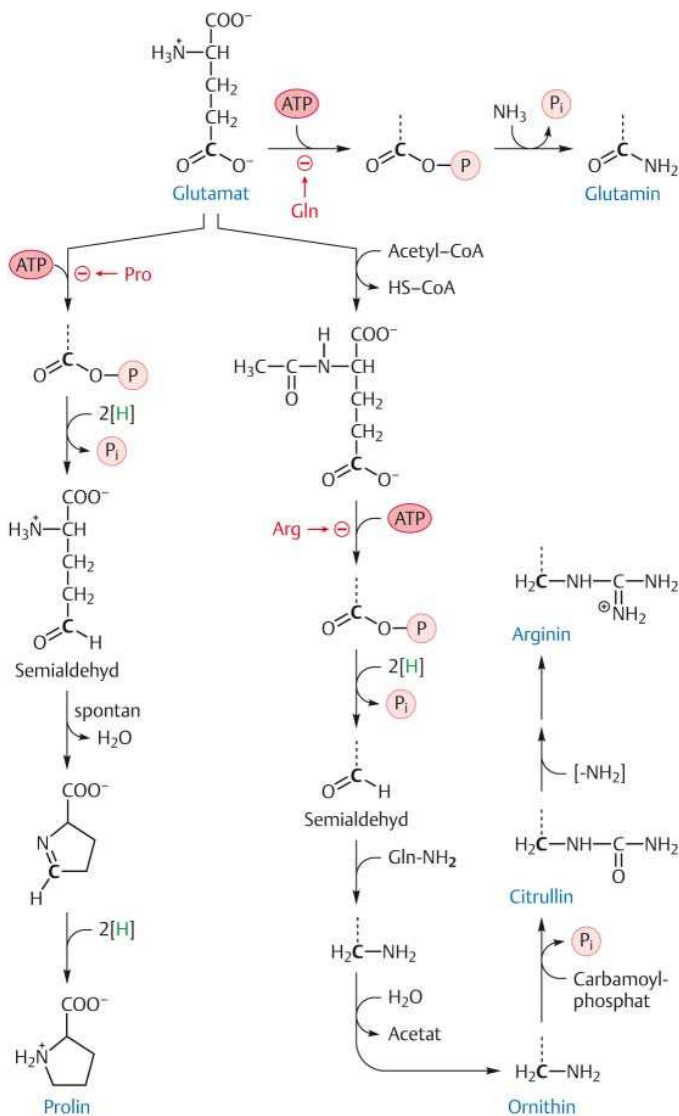


Abb. 8.24 Bildung von primären Zucker-1-phosphaten und deren Aktivierung zu Nukleosiddiphosphat(NDP)-aktivierten Bausteinen. In der Regel erfolgt die Umwandlung von Zuckerbausteinen auf der Stufe der nukleosiddiphosphat-aktivierten Zucker. Verschiedene Nukleosidtriphosphate (ATP, UTP, GTP, CTP) dienen zur Aktivierung. Die verschiedenen Nukleotide signalisieren auch, für welchen Zweck (Zellwand, Speicherstoff, Glykolipid, Glykoprotein) die Zucker verwendet werden sollen.

an C2 (Mannose) bzw. an C4 (Galactose). *D*-Ribose wird für die Synthese der Nucleinsäuren benötigt. Erythrose-4-phosphat geht mit Phosphoenolpyruvat in die Aromatensynthese ein. Die Bildung der primären Zuckerphosphate aus Fructose-6-phosphat der Glykolyse/Gluconeogenese und deren Aktivierung zu Nukleosiddiphosphatbausteinen ist in Abbildung 8.24 gezeigt. Zuckerphosphate lassen sich durch die Enzyme Transaldolase und Transketolase auf einfache Weise reversibel ineinander umwandeln (Abb. 7.12, S. 205). Diese Reaktionen sind weitere Quellen für Pentosen und der Lieferant für Erythrose-4-phosphat.

Plus 8.10 Beispiel für die Biosynthese einer Aminosäurefamilie



Stellvertretend behandeln wir die Glutamatfamilie, um Synthesestrategien und Regulationsprinzipien zu erklären (Abb.). Die Synthese von **Glutamat** aus 2-Oxoglutarat und Ammoniak haben wir bei der N-Assimilation besprochen (Kap. 8.4.1). Alle weiteren Reaktionen finden an der Carboxyl-Seitengruppe des Glutamats statt, die dazu mit Hilfe von ATP zu einem reaktionsfreudigen Carboxylat-Phosphat-Anhydrid aktiviert wird. Die Phosphatgruppe dient bei der Synthese von **Glutamin** als Austrittsgruppe, um dem NH_3 Platz zu machen. Bei der Synthese von Prolin erleichtert sie die Reduktion zur Aldehydgruppe, die spontan unter Austritt von Wasser mit der α -Aminogruppe eine Schiff-Base bildet. Ihre Reduktion ergibt **Prolin**. Bei der Argininsynthese wird auf dem Weg zum Ornithin ebenfalls die Aldehydstufe durchlaufen. Hier ist die Ringbildung durch Ausbildung einer Schiff-Base unerwünscht und die Aminogruppe wird deshalb vorübergehend durch Verknüpfung mit einer Acetylschutzgruppe aus Acetyl-CoA blockiert. Die Synthese von **Arginin** aus Ornithin entspricht der Harnstoffsynthese der Leber. Dies ist ein Beispiel für die Verwendung von Carbamoylphosphat als C- und N-Baustein. Irreversible Kinaschritte, welche am Anfang der Abzweigungen stehen, werden durch allosterische Rückhemmung durch ihre Endprodukte Glutamin, Prolin und Arginin gehemmt.

Synthese der Aminosäuren der Glutamatfamilie. Glutamat steht im Zentrum dieses Synthesewegs. Diese Abbildung soll das Prinzip eines verzweigten Biosynthesewegs und seine Regulation verdeutlichen.

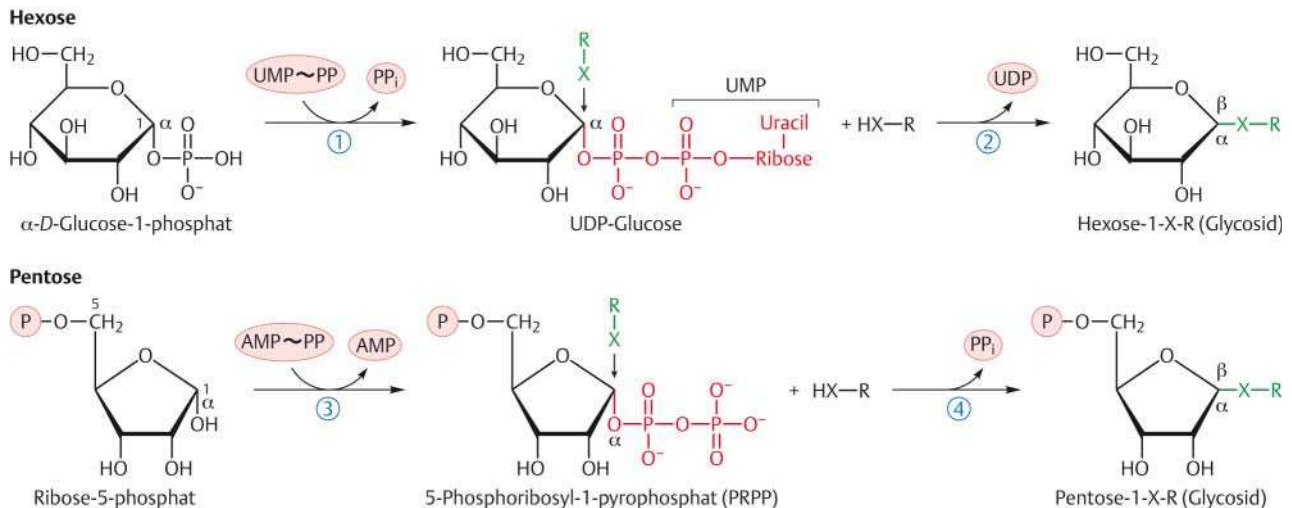


Abb. 8.25 Aktivierung von Zuckern und Übertragung des Zuckers auf die Hydroxy- bzw. Aminogruppe eines anderen Moleküls (Glykosidbildung). Handelt es sich bei HX-R um HO-R, wird eine O-glykosidische Bindung geknüpft, handelt es sich um H₂N-R, entsteht eine N-glykosidische Bindung. ① Hexoseaktivierung durch Nucleotidyltransfer katalysiert durch Nucleosidtriphosphat(NTP)-Hexose-1-phosphat-Nucleotidyl-Transferase; ② Bildung eines Hexoseglykosids aus NDP-Zucker (hier UDP-Glucose); ③ Pentoseaktivierung durch Pyrophosphatübertragung katalysiert durch 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat(PRPP)-Synthetase; ④ Bildung eines Pentoseglykosids aus PRPP.

Aktivierung von Hexosephosphat. Die betreffenden Zucker-1-phosphate werden für die Bildung von glykosidischen Bindungen mit Nucleosidtriphosphaten NTP (z. B. ATP oder UTP) aktiviert (Abb. 8.25). Dabei wird unter Abspaltung von PP_i vom NTP ein AMP- oder UMP-Rest auf das C1-Phosphat übertragen. Es entsteht der aktivierte Hexosebaustein, ein Nucleosiddiphosphat(NDP)-aktivierter Zucker (z. B. UDP-Glucose).

Aktivierung von Pentosephosphat. Ribose-5-phosphat entsteht durch Isomerisierung von Ribulose-5-phosphat, das im Pentosephosphatweg aus Glucose-6-phosphat gebildet wird. Die Aktivierung des glykosidischen C1-OH erfordert ATP, aber im Gegensatz zu den Hexosen wird hier die Pyrophosphatgruppe übertragen und AMP wird frei. Es entsteht der aktivierte Pento-sebaustein, 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat (PRPP) (Abb. 8.25).

Übertragung der Zucker auf ein weiteres Molekül. Durch Bindung des glykosidischen C1-Atoms des Zuckers an Phosphat kann die C1-Sauerstoffbindung leicht gelöst und die Glucose auf andere Hydroxy- oder Aminoverbindungen übertragen werden (Abb. 8.25). Im Fall einer Hydroxyverbindung, die häufig ein anderer Zucker darstellt, wird eine O-glykosidische Bindung geknüpft und man erhält ein **O-Glykosid**, z. B. ein Disaccharid. Der Prozess kann mit weiteren aktivierten Zuckern fortgesetzt werden und es entstehen Oligo- und Polysaccharide. Reagiert das aktivierte C1 des Zuckers mit dem freien Elektronenpaar des Stickstoffs einer Aminoverbindung, so ergibt sich ein **N-Glykosid** (Nukleotide, s. u.).

8.7.3 Nukleotide und Desoxynukleotide

Die Bausteine von RNA und DNA, Nukleotide und Desoxynukleotide, sind aus aktivierter Pentose (PRPP) und der N-glykosidisch gebundenen Base aufgebaut.

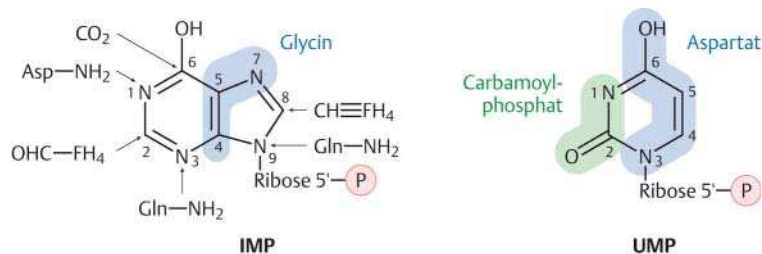


Abb. 8.26 Herkunft der Atome von Purin- und Pyrimidinnukleotiden. Inosinmonophosphat (IMP) ist der gemeinsame Vorläufer von Purinnukleotiden, Uridinmonophosphat (UMP) der gemeinsame Vorläufer von Pyrimidinnukleotiden.

Synthese der Purinnukleotide. Die Synthese der Purinbase erfolgt am Zuckermolekül PRPP in vielen Einzelschritten. Aus kleinen Bausteinen (1 Molekül Glycin, 3 N aus 2 Glutamat und 1 Aspartat, 1 CO₂, und 2 C₁-Einheiten) entsteht die Purinbase Inosin in der gemeinsamen Vorstufe Inosin-5-monophosphat (IMP) (Abb. 8.26). Aus IMP werden Adenosin-5-monophosphat (AMP) und Guanosin-5-monophosphat (GMP) gebildet.

Synthese der Pyrimidinnukleotide. In diesem Fall wird die Base getrennt aus den beiden großen Bausteinen Aspartat und Carbamoylphosphat synthetisiert. Es entsteht in wenigen Schritten die Pyrimidinbase Orotat, die N-glykosidisch mit 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat (PRPP) zu Orotidin-5-monophosphat verknüpft wird. Daraus entsteht Uridin-5-monophosphat (UMP). Aus UMP wird Cytosin-5-monophosphat (CMP) synthetisiert.

Synthese von DNA-Bausteinen. Diese Synthese erfordert zwei zusätzliche Maßnahmen. Erstens muss die Ribose der Nukleotide zu 2-Desoxyribose reduziert werden (Abb. 8.27a). Dies geschieht auf der Stufe der Nukleosiddiphosphate oder -triphosphate durch das Schlüsselenzym **Ribonukleotidreduktase**. Die scheinbar einfache Reaktion erfordert einen komplizierten radikalischen Mechanismus. Zweitens muss dUMP an C5 des Pyrimidinrings zu dTMP methyliert werden (Abb. 8.27b). Der Donor der C₁-Einheit ist Methylentetrahydrofolat. Die Methylengruppe wird während der Übertragung zur Methylgruppe reduziert. Die zwei [H] für

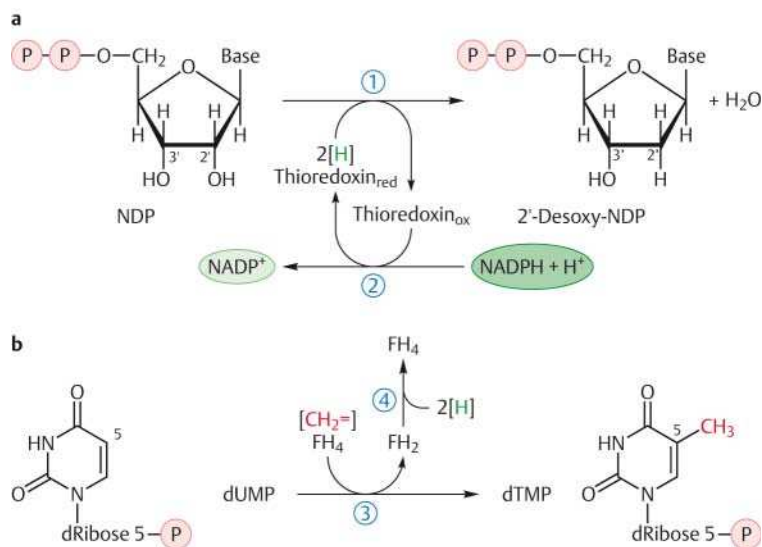


Abb. 8.27 Synthese von Desoxyribonukleotiden. a Reduktion der Ribose durch die Ribonukleotid-Reduktase (1); das reduzierte Thioredoxin wird durch die Thioredoxinreduktase (2) wieder regeneriert. b Methylierung des Desoxyuridin-5'-phosphats (dUMP); FH₂, Dihydrofolat; FH₄, Tetrahydrofolat.

Plus 8.11 Angriffspunkt Dihydrofolatreduktase

Dihydrofolatreduktase ist Angriffspunkt vieler Wirkstoffe, die der Folsäure ähneln. Sie hemmen das Enzym und damit selektiv das Wachstum von Krebszellen und Bakterienzellen – beide haben eine hohe Wachstums- und damit DNA-Syntheserate gemeinsam.

Tab. 8.4 Typische Lipidzusammensetzung der Cytoplasmamembran eines gramnegativen Prokaryotiums (*Escherichia coli*) und eines grampositiven Bakteriums der niedrigen GC-Gruppe (*Bacillus subtilis*). Die erste Ziffer im Index der Fettsäure gibt die Kettenlänge (Anzahl C-Atome) an, der Wert nach dem Doppelpunkt die Anzahl cis-Doppelbindungen. Wenn ein Δ -Symbol folgt (z. B. C16:1 Δ 9), so gibt die Ziffer dahinter die Position der Doppelbindung an (also z. B. zwischen C9 und C10).

Typ	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Fettsäure	C _{16:0} C _{16:1Δ9} C _{18:1Δ11}	<i>ante-iso</i> C _{15:0} <i>iso</i> C _{17:0} <i>iso</i> C _{15:0}
polare Gruppen	-P-Ethanolamin -P-Glycerin -P-Serin	-Glucose -Glucose-O-Glucose -P-Ethanolamin -P-Glycerin

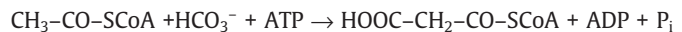
Abb. 8.28 Struktur des Acyl-Carrier-Proteins ACP und des Coenzym A. Im ACP ist das Phosphat des Phosphopantetheins an einen Serinrest der Fettsäuresynthase gebunden. Im Coenzym A ist der 4'-Phosphopantetheinrest an AMP gebunden, das zusätzlich an C3-OH der Ribose mit Phosphat verestert ist.

die Reduktion stammen aus dem Träger Tetrahydrofolsäure, der dabei zur Dihydroform oxidiert wird. Das Enzym Dihydrofolatreduktase stellt wieder die Tetrahydroform des Coenzym her (Plus 8.11).

8.7.4 Lipide

Die Lipide der Cytoplasmamembran sind eigentlich keine Makromoleküle, sie sind aber aus mehreren Bausteinen zusammengesetzt und aggregieren spontan zu Doppelmembranstrukturen. Die Lipide der Eubakterien und der Archaeobakterien sowie die der Hefen und Pilze sind sehr verschiedenartig, sodass wir hier nur auf ausgewählte Beispiele eingehen können (Plus 8.12). Als Beispiele dienen die Lipide von *Escherichia coli* (gramnegativ) und *Bacillus subtilis* (grampositiv) (Tab. 8.4). Hinzu kommen die Lipopolysaccharide der äußeren Membran der gramnegativen Bakterien, deren Synthese wir hier nicht besprechen. Ihre Bausteine sind in Kapitel 5 gezeigt.

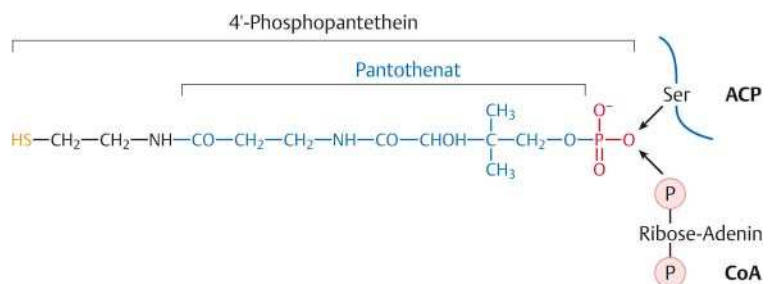
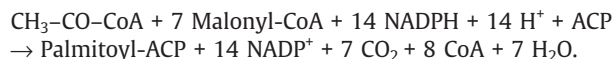
Ein typisches **Membranlipid** besteht aus zwei Molekülen Fettsäuren, einem Molekül Glycerin und einem polaren Rest. Die Biosynthese der langkettigen Fettsäuren erfolgt an einem kleinen **Acyl-Carrier-Protein** (ACP, Abb. 8.28), das Phosphopantethein als prosthetische Gruppe enthält. Diese Gruppe besitzt ähnlich wie Coenzym A eine reaktive SH-Gruppe. Die Biosynthese beginnt mit einer Kondensation von C₂-Einheiten aus Acetyl-CoA (Abb. 8.29a). Um die Reaktivität von Acetyl-CoA bei der Knüpfung der C-C-Bindung zu erhöhen, wird die Methylgruppe des Acetyl-CoA vorher in einer biotinabhängigen Reaktion durch **Acetyl-CoA-Carboxylase** carboxyliert:



Dabei entsteht **Malonyl-CoA**.

Die aus CO₂ eingebaute Carboxygruppe wird dann in den nachfolgenden Kondensationsreaktionen wieder als Kohlendioxid abgespalten (Abb. 8.29b). Man erhält eine β -Ketosäure. In drei Schritten erfolgt dann die Reduktion der β -C=O-Gruppe über die 3-Hydroxyacyl- und die Enoyl-ACP-Stufe zur Acyl(CH₂)-Gruppe, was 2 NADPH erfordert. Diese Schritte der **Fettsäuresynthese** laufen an einem multifunktionellen großen Protein (Eukaryonten) oder an einzelnen Proteinen (Prokaryonten) ab. Die wachsende Fettsäure bleibt dabei als reaktiver Thioester an die Thiolgruppe des ACP gebunden.

Die Umsatzgleichung für die Synthese von Palmitoyl-ACP (C₁₆) ist:



Die *cis*-ungesättigten Fettsäuren werden auf der Stufe der C₁₀-Fettsäure abgezweigt, indem die *trans*-Doppelbindung der Enoyl-Verbindung zur *cis*-Doppelbindung umgelagert wird (Abb. 8.30). Es wird kein Wasserstoff angelagert, vielmehr wird die Kettenverlängerung unmittelbar fortgesetzt. Dabei sorgt die unterschiedliche Temperaturabhängigkeit der beteiligten Enzyme dafür, dass bei Kälte eher der Weg zur ungesättigten Fettsäure eingeschlagen wird. Außerdem gibt es die Möglichkeit, Doppelbindungen nachträglich mit Hilfe von Sauerstoff über einen sog. aeroben Weg einzuführen.

Daneben gibt es in jeder Cytoplasmamembran noch **Neutrallipide**, die aus mehreren **Isopreneinheiten** aufgebaut sind und verschiedene Funktionen erfüllen (Tab. 8.5). Für die Synthese der Isopren Grundeinheit, eine C₅-Verbindung, gibt es zwei Wege, die zur gemeinsamen Vorstufe **Isopentenylpyrophosphat** führen (Abb. 8.31). Einer geht von drei Molekülen Acetyl-CoA aus. Zwischenprodukt ist 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA). Das HMG-CoA wird zu Mevalonat reduziert. Ein anderer Weg geht von Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-phosphat aus, deren Kondensation zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat und schließlich ebenfalls zum Mevalonat führt. Aus Mevalonat entsteht durch Phosphorylierung und Decarboxylierung das Isopentenylpyrophosphat, das aktive Isopren (C₅). Durch Verknüpfung von zwei C₅-Isopreneinheiten gelangt man zu einem C₁₀-Molekül (Terpene), von dort zu C₁₅- (Sesquiterpen, „Anderthalb-Terpene“), C₂₀- (Diterpene), C₃₀- (Triterpene) (Abb. 8.32) und höheren Isoprenverbindungen bis C₅₅ (Tab. 8.5 und Abb. 8.33). Die Synthese dieser Moleküle erfordert weitere Reaktionen, wie Zyklisierung, Reduktion oder Hydroxylierung.

Plus 8.12 Typen von Membranlipiden

Die Membranlipide bestehen aus einem **Alkohol**, der in der Regel mit **Fettsäuren** (C₁₄ – C₁₈) verestert ist. Ein Teil der Fettsäuren enthält in der Mitte der Kette eine *cis*-Doppelbindung. Nur in wenigen Bakteriengruppen wie den Cyanobakterien findet man Fettsäuren mit mehreren Doppelbindungen. Grampositive Bakterien enthalten dagegen methylverzweigte Fettsäuren: *iso*-Fettsäuren tragen die Methylgruppe am vorletzten C-Atom, *ante-iso*-Fettsäuren am vorvorletzten C-Atom. Ungesättigte und methylverzweigte Fettsäuren erniedrigen den Schmelzpunkt der Membran und werden in höheren Mengen bei Kälte eingebaut (Tab. 8.4). Einige Schmelzpunkte von Fettsäuren zum Vergleich: C_{12:0} 40°C, C_{18:0} 70°C, C_{18:1} 13°C, C_{18:2} -5°C.

Die Alkoholkomponente ist in den Glycerinlipiden Glycerin-3-phosphat, das durch Reduktion aus Dihydroxyacetonphosphat gewonnen wird. Eukaryontische Mikroorganismen besitzen teilweise Sphingolipide, in denen statt Glycerin ein langkettiger, ungesättigter Aminoalkohol, das Sphingosin, als Grundgerüst dient. Eine Besonderheit der Glycerinlipide der Archaeobakterien ist, dass sie statt Fettsäuren reduzierte C₂₀-Polyisoprenalkohole (Isoprenalkohole) enthalten, die in Etherbindung an Glycerin gebunden sind. Die Lipidbausteine müssen neben einem hydrophoben Kohlenwasserstoffteil (die Ketten der Fettsäuren, der Isopreneinheiten und des Sphingosins) einen hydrophilen Teil enthalten. Dieser polare Rest ist an eine Alkoholgruppe des Gerüstalkohols Glycerin oder Sphingosin gebunden. In **Phospholipiden** ist dieser polare Rest ein verestertes Phosphat, das weitere polare Moleküle gebunden enthält (Serin, Ethanolamin oder Glycerin). In **Glykolipiden** ist es ein glykosidisch gebundener Zucker, meist Glucose, zum Teil mit weiteren polaren Gruppen.

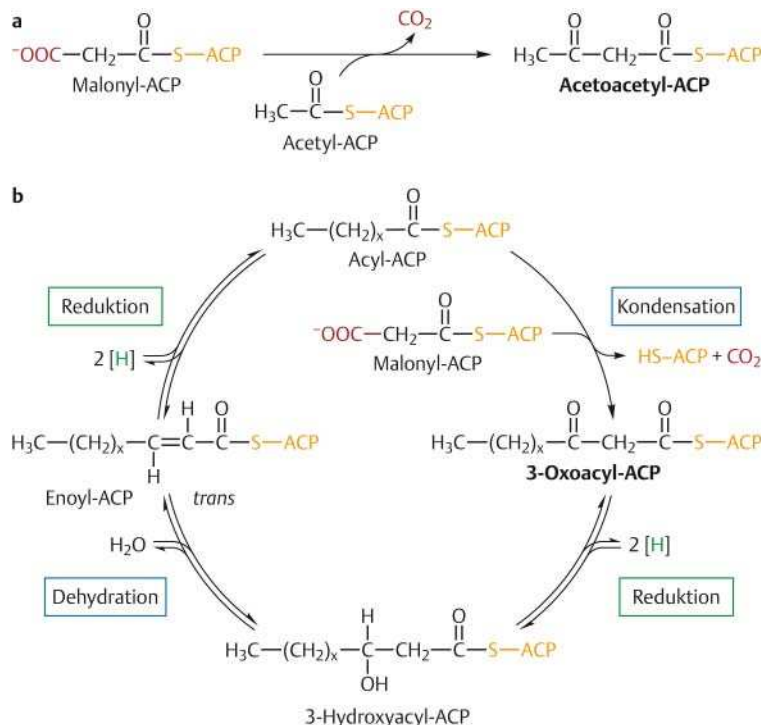


Abb. 8.29 Biosynthese von Fettsäuren. **a** Initiation: Acetyl-ACP und Malonyl-ACP reagieren unter CO₂-Abspaltung zu Acetoacetyl-ACP. **b** Elongation: Die Verlängerung erfolgt durch Kondensation von Malonyl-ACP mit der bereits bestehenden Fettsäure, ebenfalls unter Abspaltung von CO₂. Es folgen zwei Reduktionen und eine Dehydratation, sodass die Fettsäure pro Umlauf um eine C₂-Einheiten verlängert wird.

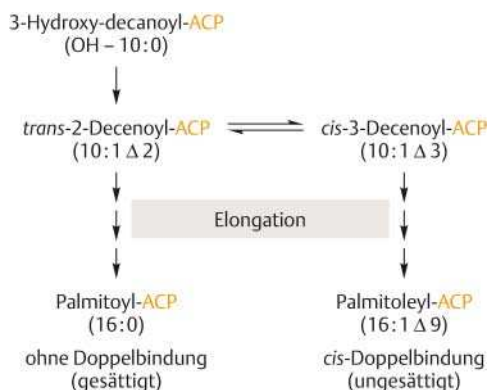


Abb. 8.30 Entstehung ungesättigter Fettsäuren (Beispiel Palmitoleylsäure). Die Doppelbindung des *trans*-2-Decenoyl-ACP wird umgelagert und es entsteht *cis*-3-Decenoyl-ACP, das durch weitere Elongation zum Palmitoleyl-ACP verlängert wird (rechts). Wird die Doppelbindung des *trans*-2-Decenoyl-ACP nicht umgelagert, entsteht die gesättigte Fettsäure Palmitinsäure (links).

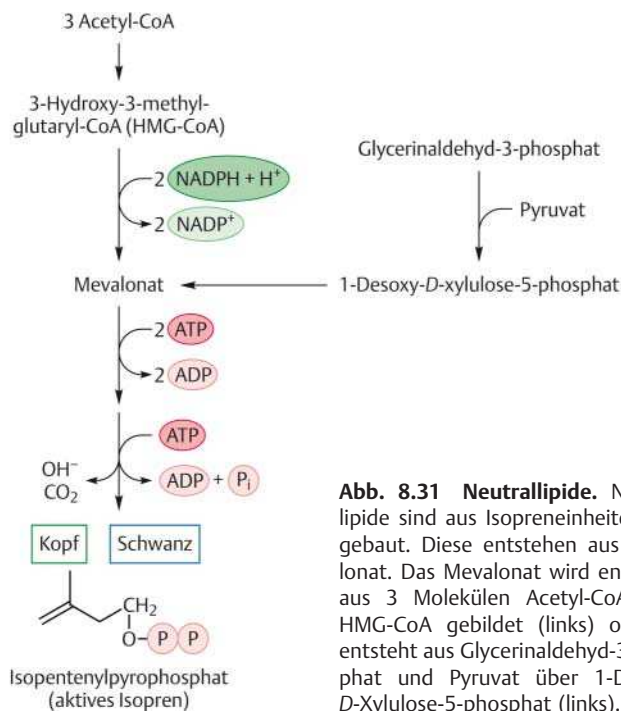


Abb. 8.31 Neutrallipide. Neutrallipide sind aus Isopreneinheiten aufgebaut. Diese entstehen aus Mevalonat. Das Mevalonat wird entweder aus 3 Molekülen Acetyl-CoA über HMG-CoA gebildet (links) oder es entsteht aus Glycerinaldehyd-3-phosphat und Pyruvat über 1-Desoxy-D-Xylulose-5-phosphat (links).

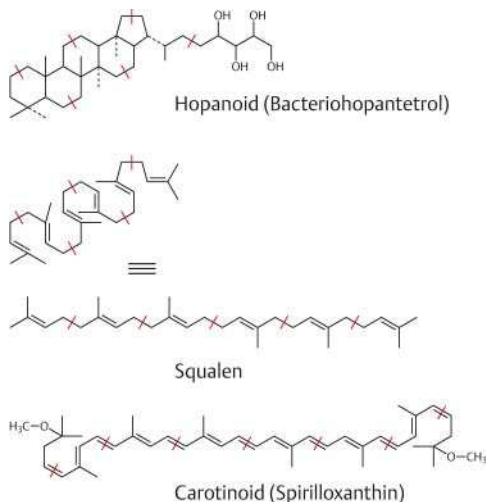


Abb. 8.32 Struktur des Triterpens Squalen (Mitte), das aus 6 Isopreneinheiten aufgebaut ist, und davon abgeleitet ein Hopanoide (oben). Unten ist ein Carotinoid dargestellt, das aus 8 Isopreneinheiten besteht. Die roten Trennstriche in der Squalenstruktur markieren die 6 Isopreneinheiten.

Tab. 8.5 Beispiele verschiedener Isoprene.

Verbindung	Anzahl Isopreneinheiten	Vorkommen	Funktion
Isopranalkohol, Glycerinether	4	Lipide der Archaeobakterien	Membranaufbau
Chinone	6 und mehr	Coenzyme	Elektronentransport
Carotinoide	8	Akzessorische Pigmente	Lichtabsorption
Steroide	6	Cholesterin, Eukaryonten	Membranstabilisierung
Squalen	6	Eukaryonten, Prokaryonten	Membranstabilisierung
Hopanoide	6	Prokaryonten	Membranstabilisierung
Bactoprenol	11	Prokaryonten	Zuckertransport über Membranen
sonstige	variabel	Isoprenseitenketten, Pigmente, Zytokine	oft Membrananker

8.7.5 Synthesen von Zellwandkomponenten an der Membran

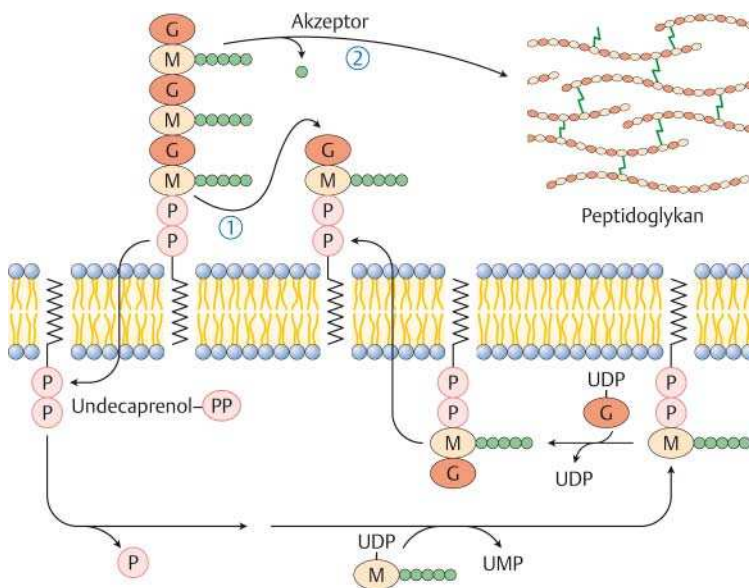
Verschiedene extrazelluläre komplexe Verbindungen werden aus aktivierten Bausteinen an der Cytoplasmamembran synthetisiert. Dazu zählen die Zellwände der Pilze, Hefen, Eubakterien und Archaeobakterien, aber auch die Kapselsubstanzen der Bakterien. Wir besprechen hier nur die **Synthese des Mureins** (ein Peptidoglykan) aus der Zellwand der Eubakterien.

Ein Problem bei dieser Synthese ist das Fehlen von ATP außerhalb der Zelle, wo die neuen Bindungen geknüpft werden. Die Zuckerbausteine werden deshalb als lösliche **UDP-aktivierte Zucker** auf der Cytoplasmaseite angeliefert. Sie werden als Disaccharid in einer aktivierten Form durch das Trägermolekül **Undecaprenolphosphat** über die Membran gereicht, sodass sie an der Membranaußenseite neue Bindungen mit der

Plus 8.13 Die Biosynthese des Mureins

Die aktivierten cytoplasmatischen Bausteine des Mureins sind UDP-N-Acetylglucosamin und UDP-N-Acetylmuraminosäurepentapeptid. Bei der Übertragung auf den Träger Undecaprenol(Bactoprenol)phosphat bleibt die C1-Phosphatbindung erhalten, da aus dem UDP-Rest UMP abgespalten wird. UDP-N-Acetylmuraminsäurepentapeptid besteht aus **UDP-N-Acetylglucosamin**, dessen C3-OH-Gruppe mit der aktivierten OH-Gruppe des Phosphoenolpyruvat eine Etherbindung eingeht. Nach Reduktion der Doppelbindung entsteht der **UDP-aktivierte** Milchsäureether **N-Acetylmuraminsäure** (die charakteristische Verbindung der eubakteriellen Zellwände). Dann werden an die freie Carboxylgruppe der Milchsäure schrittweise D- und L-Aminosäuren in ATP-abhängigen Schritten angeknüpft. Die letzten beiden Aminosäuren der **Pentapeptidseitenkette** sind D-Ala-D-Ala, die als

Dipeptid eingebaut werden (Abb. unten Mitte). Es erfolgt die Übertragung auf das Trägermolekül **Undecaprenolphosphat** und die N-Acetylglucosamineinheit wird am C4 glykosidisch gebunden. Die beiden Zuckerbausteine werden durch Umklappen des Trägers über die Cytoplasmamembran nach außen gereicht. Dort wird die neu angekommene Disaccharideinheit mit einem vorhandenen Mureinstrang durch eine Transglykosidase verknüpft und so verlängert (**Transglykosylierung**). Die Mureinstränge werden durch Transpeptidasen miteinander quervernetzt. Dabei wird von einer Pentapeptidkette eines Mureinstranges der letzte D-Ala-Rest abgespalten und gleichzeitig eine neue Bindung mit der freien Aminogruppe der Diaminosäure in der Pentapeptidkette eines anderen Stranges geknüpft (**Transpeptidierung**) (s. Peptidoglykanstruktur Abb. 5.12, S. 134).



Synthese von Murein. M, N-Acetylmuramin-säure; G, N-Acetylglucosamin. Die Aminosäuren der Pentapeptidketten sind als grüne Kreise dargestellt. ① Transglykosylierung (Glykanverlängerung); ② Transpeptidierung (Quervernetzung).

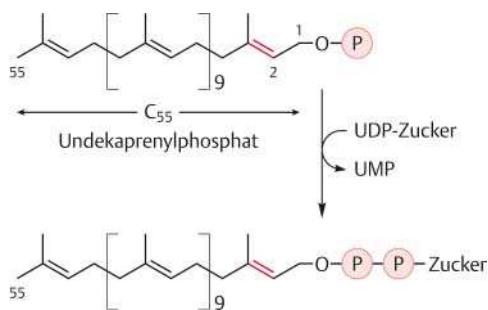


Abb. 8.33 Beladung von Undecaprenol mit einem UDP-Zucker. Bei Dolicholphosphat, welches die Rolle bei der Synthese von extrazellulären Glyoproteinen übernimmt, ist die rot gezeichnete Doppelbindung reduziert.

wachsenden Zellwand eingehen können (Abb. 8.33). Dies geschieht bei den Zuckern durch **Transglykosylierung**. Dabei wird die glykosidische Bindung zum Trägermolekül gelöst und mit der freien OH-Gruppe eines anderen trägergebundenen Zuckers eine neue glykosidische Bindung eingegangen. Auf diese Weise wird ein Strang um zwei Zuckereinheiten verlängert.

Bei der Verknüpfung von Aminosäuren der Seitenketten des Mureins wird die Peptidbindung im *D*-Ala-*D*-Ala-Teil eines Peptidrests aufgegeben und durch **Transpeptidierung** gleichzeitig eine neue Peptidbindung mit der freien Aminogruppe eines benachbarten Peptidoglykanstranges eingegangen. So kommt es zur Vernetzung der Stränge. Die Biosynthese des Mureins ist komplex und Einzelheiten werden getrennt besprochen (Plus 8.13).

Die Knüpfung der neuen Bindungen außerhalb der Zelle ist völlig reversibel. Die neuen Glykosid- und Peptidbindungen sind energetisch gleichwertig mit den aufgegebenen Bindungen. Was treibt dann die Synthese an? Nach der Übertragung der Zuckerkette vom Trägermolekül bleibt Undecaprenolpyrophosphat übrig. Ein Phosphatrest wird irreversibel abgespalten und ergibt Undecaprenolphosphat, das wieder auf die cytoplasmatische Seite der Membran zurückklappt und einen neuen Syntheszyklus beginnt (Abb. Plus 8.13). Dies treibt den ganzen Prozess in die Vorwärtsrichtung. Das **Wachstum der Zellwand** erfordert ein Wechselspiel zwischen Enzymen, welche neue Bindungen herstellen, bevor andere Enzyme bestehende Verbindungen zwischen den alten Strängen lösen. Da die Zellwandsynthese eine typische bakterielle Stoffwechselleistung ist, sind deren Hemmstoffe als Antibiotika von großer Bedeutung (Plus 8.14).

8.7.6 Speicherstoffe

Mikroorganismen legen Speicherstoffe an in Zeiten, in denen eine C- und Energiequelle im Überschuss vorhanden ist, das Wachstum aber durch N-, P-, S- oder Fe-Mangel begrenzt ist. In diesem Fall fließt der Hauptteil des Kohlenstoffs in die Synthese von Bausteinen für Speicherstoffe. Speicherstoffe sind wasserunlöslich, damit osmotisch nicht wirksam und können bis 90 % der Zelltrockenmasse ausmachen. Speicherstoffe werden in Notzeiten wieder mobilisiert und dienen dann als Kohlenstoff- und Energiequelle.

Polyglucose. Die Polyglucose ähnelt der Stärke der Pflanzen oder dem Glykogen der Tiere. Sie entsteht durch α -1,4-glykosidische Verknüpfung von *D*-Glucoseeinheiten, die als ADP-Glucose aktiviert sind (Abb. 8.34a und Kap. 8.7.2). Die Reaktion wird von der Glykogensynthase katalysiert. Es entsteht eine schraubenförmige Struktur. Daneben kommen α -1,6-Bindungen vor, sogenannte Verzweigungsstellen der Zuckerketten, die von der Transglykosylase geknüpft werden. Man beachte, dass Strukturpolysaccharide der Zellwände wie beispielsweise Cellulose, Chitin oder Murein die Zuckereinheiten in β -1,4-glykosidischer Form enthalten. Diese Bindung führt zu einem zugstabilen, strickähnlichen Makromolekül.

Polyhydroxyfettsäuren. Diese Fettsäuren der Bakterien werden meist aus 3-Hydroxybuttersäureeinheiten gebildet, indem die Carboxylgruppe eines Bausteins eine Esterbindung mit der C3-Alkoholgruppe eines anderen Bausteins eingeht (Polyester). Kondensation von zwei Acetyl-CoA liefert Acetoacetyl-CoA, das zu 3-Hydroxybutyryl-CoA reduziert wird. Die CoA-aktivierte Säuregruppe kann leicht die Esterbindung eingehen und

Plus 8.14 Hemmstoffe der Zellwandsynthese

Für alle Schritte der Mureinbiosynthese (vgl. Abb. Plus 8.13) kennt man spezifische Hemmstoffe, die als Antibiotika wertvoll sind. Da die bakterielle Zellwand einzigartig ist, wirken Hemmstoffe ihrer Synthese gezielt auf Bakterien. Beispiele sind die **β -Lactam-Antibiotika** (Penicilline, Cephalosporine). Es sind *D*-Ala-*D*-Ala-Analoga, welche u. a. die Transpeptidierung und damit die Quervernetzung der Peptidseitenketten hemmen (Kap. 5.14). Diese Enzyme nennt man „Penicillinbindepoteine“. Sie binden kovalent radioaktiv markiertes Penicillin, woran man sie erkennen kann. **Vancomycin** verhindert die Transglykosylierung und damit die Verlängerung des Zuckerstranges. **Bacitracin** hemmt die Abspaltung des Phosphatrests vom Undecaprenolpyrophosphat und bringt die Übertragung der Bausteine über die Membran zum Erliegen, weil Undecaprenolphosphat nicht zurückgebildet wird. **Cycloserin** hemmt die Racemisierung von *L*-Ala zu *D*-Ala.

es entsteht eine Polyhydroxyfettsäure, auch Polyhydroxyalkanoat (PHA) genannt. Hefen und Pilze legen **Triglyceridspeicher** (Fette) in Vakuolen an. Triglyceride entstehen aus Glycerin-3-phosphat und drei Acyl-Carrier-Protein-(ACP)-aktivierten Fettsäuren (s. S. 256) (Abb. 8.34b).

Polyphosphate. Einige Bakterien können bei Überschuss an Energie und Phosphat einen Polyphosphatspeicher anlegen. Dabei werden Phosphat-einheiten von ATP zu Phosphorsäureanhydrid kondensiert, das als Phosphat- und in geringerem Ausmaß als Energiespeicher dient (Abb. 8.34c).

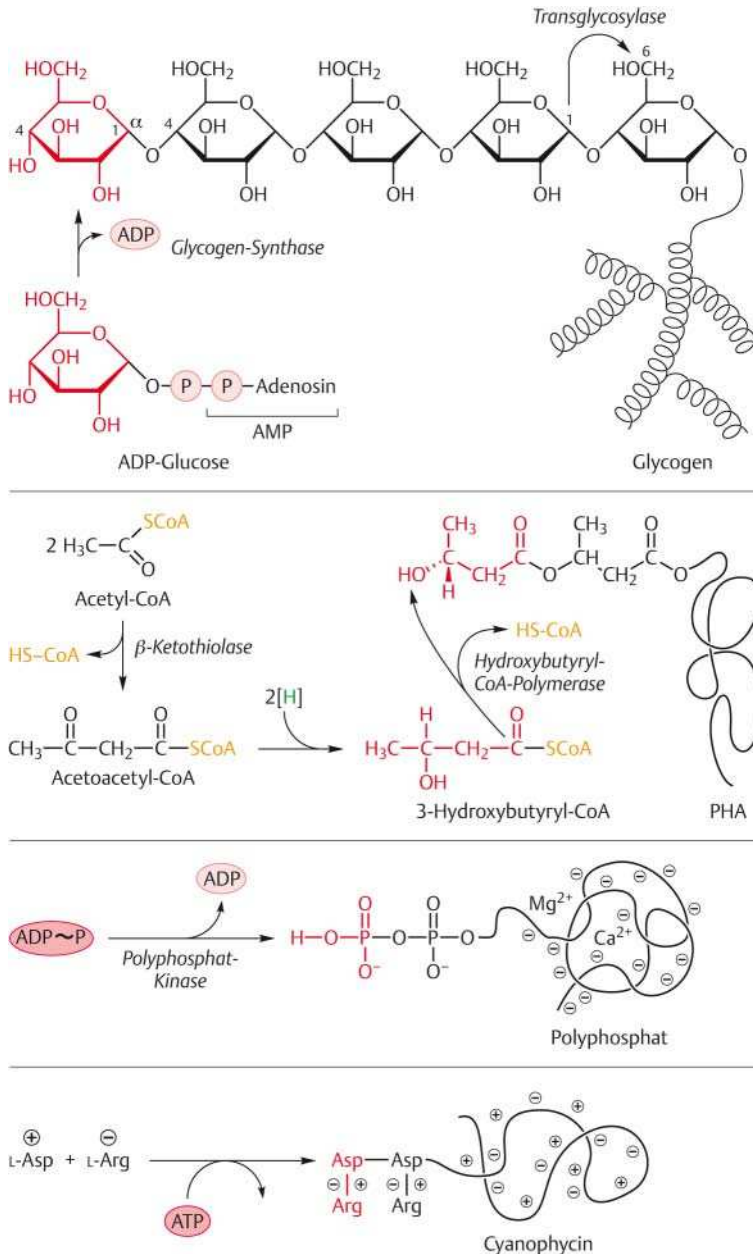


Abb. 8.34 Synthese von Speicherstoffen. a Glykogen. b Polyhydroxyfettsäure (PHA). c Polyphosphat. d Reserveprotein Cyanophycin.

Proteinspeicher. Schließlich können Cyanobakterien bei N-, C- und Energieüberschuss einen Proteinspeicher (Cyanophycin) anlegen, der nur aus einer sauren (Aspartat) und einer basischen Aminosäure (Arginin) besteht und nicht an Ribosomen synthetisiert wird (Abb. 8.34d).

Zusammenfassung

- Mikroorganismen können meist alle Bausteine für Makromoleküle und auch die Coenzyme und Cofaktoren selbst herstellen (**prototroph**). Sind fertige Bausteine oder Vitamine im Medium vorhanden, werden sie in die Zelle transportiert und reprimieren die Transkription der Gene für ihre Synthese. Bakterien, die an komplexe Nahrungsquellen angepasst sind, haben häufig die Gene für einige Biosynthesewege verloren, sie sind **auxotroph**.
- Die meisten Bakterien können die Elemente **N, P, S** und die **Spurenelemente** aus anorganischen Quellen assimilieren. Deren wichtigste natürliche Quellen sind Nitrat, Phosphat, Sulfat und Fe(III). Solche Ionen müssen in die Zelle transportiert werden. Nitrat und Sulfat werden zu NH_3 bzw. H_2S reduziert. Die Überträger des Stickstoffs bei der Biosynthese von Zellbausteinen sind vor allem Glutamat und Glutamin, der Überträger des Phosphors ist ATP, der Überträger des Schwefels ist Cystein. Nur Prokaryonten können mit Hilfe des Enzyms **Nitrogenase** den molekularen Stickstoff der Luft zu NH_3 reduzieren.
- Für Synthesen muss die Zelle auch C_1 -Einheiten, Energie, Reduktionsmittel und Oxidationsmittel bereitstellen. **C_1 -Einheiten** stammen aus Serin und werden über Tetrahydrofolsäure übertragen. Die Energiequelle ist **ATP**. Das Reduktionsmittel ist **NADPH**, das in wenigen Reaktionen des Intermediärstoffwechsels regeneriert wird. Das Oxidationsmittel ist **NAD^+** , das in der Atmung regeneriert wird.
- Bakterien verwenden verschiedene Mechanismen, um autotroph CO_2 zu fixieren. Der wichtigste autotrophe **CO_2 -Fixierungsweg** ist der Calvin-Zyklus. Methylotrophe Bakterien und Hefen können mit C_1 -Verbindungen wie Methan oder Methanol wachsen. Sie assimilieren Formaldehyd in Zellmaterial.
- Die Hälfte des Kohlenstoffs und mehr als die Hälfte des Stickstoffs geht ein in die 20 *L*-Aminosäuren der Proteine. Die meisten **Aminosäuren** leiten sich von einer gemeinsamen Aminosäurevorstufe ab; man ordnet sie nach ihrer Herkunft in fünf Familien: Glutamatfamilie, Aspartatfamilie, Pyruvatfamilie, Serinfamilie und die Aromatenfamilie.
- Die wichtigsten Bausteine für Lipide, Nucleinsäuren, Zellwände und Speicherstoffe stammen ebenfalls aus etwa einem Dutzend zentralen Stoffwechselintermediaten.

9 Transport über die Cytoplasmamembran

Die Cytoplasmamembran grenzt das Cytoplasma vom umgebenden, wässrigen Milieu ab und sorgt so im Zellinnern für konstante Bedingungen. Es entsteht ein abgeschlossenes Kompartiment, welches den enzymkatalysierten Ablauf chemischer Reaktionen unter definierten Bedingungen erlaubt. Somit fungiert die Membran als **Permeabilitätsbarriere** für gelöste chemische Verbindungen. Der Stoffaustausch mit der Umwelt wird durch spezielle, in die Membran integrierte **Transportproteine** gewährleistet. Diese Proteine koppeln den Transport ihrer Substrate an den Verbrauch von Zellenergie, wodurch ein Import oder Export auch gegen ein Konzentrationsgefälle möglich wird.

Man unterscheidet primär und sekundär aktive Transportproteine, je nach dem ob ATP oder ein elektrochemischer Ionengradient über der Membran als Energiequelle dienen. Diffusionskontrollierte Transporter sind in der Cytoplasmamembran, im Gegensatz zur äußeren Membran gramnegativer Bakterien, die Ausnahme. Hoch spezifische Transportsysteme wurden für die Aufnahme von Nährstoffen entwickelt, während spezielle Exportproteine der Zelle Resistenz gegenüber Antibiotika und antibakteriell wirksamen Chemikalien verleihen.

Die Cytoplasmamembran muss auch von zahlreichen Proteinen überwunden werden, deren Wirkort das Periplasma, die äußere Membran oder das umgebende Medium ist. Hierfür stehen zwei Proteintransportkomplexe zur Verfügung, die ihre Substrate entweder ungefaltete (**Sec-System**) oder in gefaltetem Zustand (**Tat-System**) auf die Außenseite der Membran geleiten. Pathogene gramnegative Bakterien verfügen darüberhinaus über spezielle Sekretionssysteme, mit deren Hilfe sie Effektorproteine zur Manipulation ihrer Wirtszellen ausscheiden. Einige dieser Proteinkomplexe zeigen Ähnlichkeiten zu Aufnahmesystemen für DNA in den Prozessen der Konjugation und Transformation. Schließlich nimmt die Cytoplasmamembran aufgrund der Aktivitäten der in ihr verankerten Proteine vielfältige Stoffwechselfunktionen wahr: So dient sie als Ort der Energiegewinnung in den Prozessen der Atmung und Photosynthese (Kap. 7, 14), der Synthese von Zellwandbestandteilen (Kap. 8), der Verankerung von Flagellen (Kap. 5), der Rezeption von Reizen, die Taxis und Differenzierung auslösen, und der Genregulation (Kap. 16).

Überblick

- 9.1 Grundlagen des Transports ... 265**
 - 9.1.1 Passiver Transport durch Diffusion ... 265
 - 9.1.2 Passiver Transport durch Kanalproteine ... 265
 - 9.1.3 Aktiver Transport durch Carrier ... 266
- 9.2 Transportmechanismen und Transportsysteme ... 267**
 - 9.2.1 Primäre Transportsysteme ... 269
 - 9.2.2 Sekundäre Transportsysteme ... 270
 - 9.2.3 Gruppentranslokation ... 271
 - 9.2.4 Zusammenwirken von Exoenzymen und Transport ... 272
- 9.3 Weitere Aspekte der Transportsysteme ... 272**
 - 9.3.1 Beteiligung von Transportsystemen an der Gen- und Proteinregulation ... 272
 - 9.3.2 Transportsysteme als chemotaktische Rezeptoren ... 273
 - 9.3.3 Transportsysteme als Mediatoren der Differenzierung ... 275
- 9.4 Resistenz durch proteinvermittelten Export ... 275**
- 9.5 Translokationssysteme für den Proteinexport ... 276**
 - 9.5.1 Sec-Translokationssystem ... 276
 - 9.5.2 Tat-Translokationssystem ... 277
 - 9.5.3 Spezielle Sekretionssysteme ... 277
- 9.6 Aufnahme von DNA ... 279**

9.1 Grundlagen des Transports

9.1.1 Passiver Transport durch Diffusion

Neben apolaren Verbindungen (z. B. undissoziierte Fettsäuren) können nur wenige kleine, polare Substanzen, darunter vor allem Wasser, aber auch Ethanol, Glycerin und Harnstoff sowie einige Gase (z. B. O₂, NH₃, H₂, CO₂) das hydrophobe Innere einer biologischen Membran durch **Diffusion** frei passieren. Die Membran ist für größere polare Substanzen wie Glucose sowie Ionen praktisch impermeabel. Die Transportrate einer Verbindung wird dabei von der Konzentrationsdifferenz der Substanz über der Membran bestimmt (Tab. 9.1, Plus 9.1).

Die Substanz wird allerdings nur langsam aufgenommen und nicht in der Zelle angereichert. Solche Prozesse werden auch als **passiver** Transport bezeichnet.

9.1.2 Passiver Transport durch Kanalproteine

Der Transport von gelösten Stoffen durch die unspezifischen (Kanal-) **Porine** der äußeren Membran in das Periplasma gramnegativer Bakterien erfolgt ebenfalls durch Diffusion in Richtung des Konzentrationsgradienten. Darüberhinaus enthält die Cytoplasmamembran zahlreicher Bakterien sogenannte **Kanalproteine**, die zur Aufrechterhaltung des Turgordrucks

Plus 9.1 Diffusion in Lösung und durch biologische Membranen

Unter Diffusion versteht man allgemein einen Materietransport, der durch einen Konzentrationsunterschied hervorgerufen wird und letztlich zum Konzentrationsausgleich führt. Für ungeladene Verbindungen lässt sich der **Diffusionsprozess in Lösung** gemäß dem **1. Fickschen Gesetz** beschreiben:

$$V = D \cdot A \cdot \frac{(c_1 - c_2)}{d} \quad (9.1)$$

V = Diffusionsrate [mol/s]
 D = Diffusionskoeffizient [cm²/s]
 A = Fläche, die zur Diffusion zur Verfügung steht [cm²]
 c₁-c₂ = Konzentrationsdifferenz [M]
 d = Schichtdicke [cm]

Dabei gibt der Diffusionskoeffizient D an, wieviele Teilchen pro Zeiteinheit die Fläche A passieren.

Die Diffusion von Nährstoffen aus wässriger Umgebung hin zu Bakterienzellen kann limitierend für das Wachstum sowohl einzelner Zellen als auch in Zellverbänden wie Biofilmen sein (Kap. 17.7).

Im Unterschied zur Situation in Lösung ist bei der **Diffusion durch eine biologische Membran** noch die Verteilung des Stoffes zwischen Membran und angrenzenden wässrigen Phasen zu berücksichtigen. Dabei sind die Konzentrationen innerhalb der Membran (c₁', c₂') von denen in der Wasserphase (c₁, c₂) verschieden. Die treibende Kraft für den Transport ist der **Gradient** innerhalb der Membran:

$$\frac{c_1' - c_2'}{d}$$

Die jeweiligen Konzentrationen (c, c') stehen über den Verteilungskoeffizienten K in Verbindung:

$$K = \frac{c'}{c} \quad (9.2)$$

Unter Verwendung des Fickschen Gesetzes ergibt sich so für die Diffusion durch Membranen folgende Beziehung:

$$V = D \cdot A \cdot K \cdot \frac{(c_1 - c_2)}{d} \quad (9.3)$$

Aus praktischen Gründen wurde der **Permeabilitätskoeffizient P** eingeführt:

$$P = \frac{D}{d} \cdot K \text{ [cm/s]} \quad (9.4)$$

Der Permeabilitätskoeffizient ist somit ein Maß dafür, mit welcher Geschwindigkeit ein Stoff durch eine Membran diffundieren kann. In Abhängigkeit von der betrachteten Membran ist P für verschiedene Stoffe unterschiedlich. So beträgt P in synthetischen, proteinfreien Membranen für Wasser ca. 2,5 · 10⁻³ cm/s. Für Glucose liegt P dagegen nur noch bei 10⁻⁷ cm/s, für Kaliumionen lediglich bei 10⁻¹² cm/s. Einige sich daraus ergebende Transport(Diffusions)raten sind in Tabelle 9.1 zusammengefasst.

Gleichung 9.3 lässt sich dann umformen und die Diffusionsrate V ist:

$$V = P \cdot A \cdot (c_1 - c_2) \quad (9.5)$$

Tab. 9.1 Vergleich der Transportraten für gelöste Stoffe über die Cytoplasmamembran nach dem Prinzip der Diffusion oder über Transportproteine.

Substanz	Transportrate ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot (\text{g Trockengewicht Zellen})^{-1}$)		
	durch Diffusion bei einer Konzentrationsdifferenz von 10 μM	durch Diffusion bei einer Konzentrationsdifferenz von 10 mM	durch Transportproteine (V_{max})
K^+	0,00002	0,02	100
Glucose	0,001	1	50
Phenylalanin	0,08	8	1
Harnstoff	0,04	40	5

der Zelle (Kap. 16.7.3) Wasser transportieren (Aquaporine) oder, bei hyposmotischem Schock, im Cytoplasma gelöste Stoffe wie Kaliumionen, einige Aminosäuren oder Zucker (compatible Solutes) entlang des Konzentrationsgradienten aus der Zelle entlassen (mechanosensitive Kanäle, Msc).

9.1.3 Aktiver Transport durch Carrier

Die weitaus meisten wasserlöslichen Stoffe (z. B. Zucker, Aminosäuren, Carbonsäuren, anorganische Ionen, Vitamine) können dagegen nur mit Hilfe spezieller **Transportproteine** (auch als **Carrier** oder **Permeasen** bezeichnet) in die Zelle aufgenommen werden. Transportproteine gewährleisten die für das Zellwachstum erforderlichen hohen Aufnahmeraten. Um bei niedriger Substratkonzentration im Medium zu signifikanter Akkumulation der Substrate im Cytoplasma zu gelangen, die Verbindungen also gegen den Konzentrationsgradienten anzureichern, wird Energie aufgewendet. Aufgrund dieser Eigenschaften finden sich in der Zelle auch spezielle Transporter für solche Substrate, die prinzipiell durch Diffusion die Membran passieren können (z. B. Phenylalanin, Harnstoff oder Glycerin) (Tab. 9.1).

Die Wirkungsweise der meisten Transportproteine ähnelt der von Enzymen. Zu den Wechselwirkungen mit dem zu transportierenden Substrat gehören die Schritte der Substratbindung, der Translokation und der Freisetzung des Substrates (Abb. 9.1). Transportproteine setzen die Aktivierungsenergie für die transmembrane Diffusion des gelösten Substrats herab, indem sie dessen Wasserhülle durch nichtkovalente Wechselwirkungen ersetzen und eine hydrophile Pore zur Passage durch die Membran bilden. Auf solche Transportvorgänge sind die Gesetze der Enzymkinetik anwendbar. Durch Proteine vermittelte Transportprozesse folgen einer Sättigungskinetik, weisen Substratspezifität auf und sind sensitiv gegenüber Inhibitoren. Diese Kriterien gelten nicht für passiven Transport (Abb. 9.2).

Abb. 9.1 Modell eines proteinvermittelten Transportvorgangs. Der Transporter durchläuft beim Transport eines Substrates prinzipiell vier Schritte. Dabei nimmt er mindestens zwei unterschiedliche Konformationszustände ein. Die damit jeweils verbundene Veränderung der Raumstruktur der Proteine ist energieabhängig, wobei jedoch die molekularen Details noch weitgehend unbekannt sind.

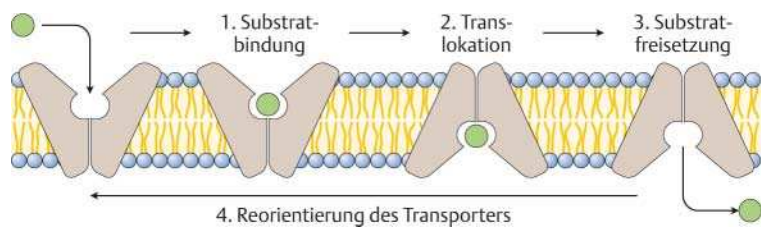
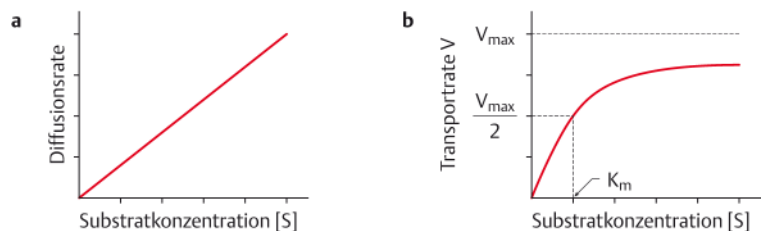


Abb. 9.2 Kinetiken diffusionskontrollierter und proteinvermittelter Transportprozesse. **a** Abhängigkeit der Diffusionsrate von der Substratkonzentration $[S]$ bei erleichterter Diffusion. **b** Abhängigkeit der Transportrate (V) von der Substratkonzentration bei einem durch Transportproteine vermitteltem Vorgang; Michaelis-Menten-Diagramm: V_{max} , maximale Transportrate; K_m , Substratkonzentration bei halbmaximaler Transportrate ($V_{\text{max}}/2$).



9.2 Transportmechanismen und Transportsysteme

Im Gegensatz zu diffusionskontrollierten Prozessen erfordert der Transport von Substraten gegen ein Konzentrationsgefälle die Bereitstellung von Zellenergie. Man spricht daher auch von **aktivem** Transport (Plus 9.2).

Grundsätzlich können nach den nachfolgend genannten Mechanismen Substanzen nicht nur in die Zelle aufgenommen, sondern auch aus der Zelle ausgeschleust (sekretiert) werden (Kap. 9.4).

Je nach der verwendeten Energieform unterscheidet man primäre und sekundäre Transportprozesse sowie Gruppentranslokation (Abb. 9.3; Tab. 9.2).

Tab. 9.2 Beispiele bakterieller Transportsysteme und ihrer Substrate.

Typ	Substrat	Organismen
Primäre Transporter		
Ionen-ATPasen	K ⁺ , Cd ²⁺ , Arsenat	<i>E. coli</i> u. a.
ABC-Transporter		
bindeproteinabhängige Importer	Zucker (Maltose, Ribose, Arabinose u.a.) Aminosäuren (diverse) Peptide (Oligo-, Dipeptide) anorganische Ionen (Phosphat, Sulfat, Fe ³⁺ , Ni ²⁺) Vitamine (B ₁₂)	<i>E. coli</i> u. a.
Exporter	Toxine (Hämolyisin, Colicin V) Kapselkomponenten Komponenten der äußeren Membran (Lipid A) Antibiotika (Streptomycin) diverse bakteriozid/bakteriolytisch wirkende Chemikalien	<i>E. coli</i> u. a.
Decarboxylasen	Carbonsäuren/Na ⁺	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Oxalobacter formigenes</i> <i>Propionigenium modestum</i>
Sekundäre Transporter		
Uniporter	Glucose	<i>Zymomonas mobilis</i>
Symporter	Zucker (Lactose, Arabinose, Galactose u. a.) Aminosäuren (diverse) anorganische Ionen (Phosphat, K ⁺) organische Säuren (Citrat)	<i>E. coli</i> u. a.
Antiporter (weit verbreitet)	Malat/Lactat Tetracyclin/H ⁺ , Na ⁺ /H ⁺	<i>Lactococcus lactis</i> u. a. <i>E. coli</i> u. a.
Gruppentranslokation (PTS)		
	Hexosen (Glucose, Fructose, Mannose, Sucrose u.a.) Zuckeralkohole (Mannitol, Glucitol u. a.)	<i>E. coli</i> u. a.

9.2.1 Primäre Transportsysteme

Primäre Transporter verwenden chemische Energie, indem sie den Substrattransport über die Membran an die Hydrolyse von Verbindungen mit hohem Phosphatgruppenübertragungspotenzial, wie Adenosintriphosphat (ATP), koppeln. Darüberhinaus werden auch Transportproteine, die photochemische Reaktionen oder Redoxenergie nutzen, in diese Gruppe eingegliedert. Meist handelt es sich um Systeme, die aus mehreren Proteinuntereinheiten oder funktionellen Domänen bestehen. Typische Vertreter der ATP-verbrauchenden Transportsysteme sind diverse **Ionen-ATPasen**, welche Anionen oder Kationen transportieren, sowie die Familie der **ABC-(ATP-binding-cassette-)Transporter**.

ABC-Transporter

ABC-Transporter bestehen typischerweise aus zwei Proteindomänen, die in die Membran integriert sind und mit zwei ATP-hydrolysierenden Domänen einen Komplex bilden. Letztere sind durch typische Sequenzmotive (Walker-Boxen A und B und Signatursequenz) charakterisiert, die zur Bindung und Hydrolyse von ATP benötigt werden. ABC-Transporter kommen in den Zellen aller Organismen einschließlich des Menschen vor und sind an einer Vielzahl von Prozessen beteiligt, wie z. B. Signaltransduktion, Proteinsekretion (Kap. 9.5), Resistenzen gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika, Antigenpräsentation, Pathogenese und Sporulation. Defekte ABC-Transporter können darüberhinaus beim Menschen Erbkrankheiten wie Mukoviszidose (auch Cystische Fibrose genannt) oder Stargardtsche Makuladegeneration (eine Augenerkrankung) verursachen.

Zu den ABC-Transportern gehört auch die auf Prokaryonten beschränkte, wichtige Klasse der **bindeproteinabhängigen Transportsysteme**, welche die Aufnahme diverser Substrate wie verschiedene Zucker (z. B. Maltose, Cellobiose, Ribose), Aminosäuren (z. B. Histidin, Arginin, Glutamin), Peptide und anorganische Ionen (z.B. Phosphat, Sulfat) ermöglichen. Charakteristisch ist ein extrazelluläres, spezifisches **Substratbindeprotein**, das sich bei gramnegativen Bakterien im Periplasma befindet und bei grampositiven Organismen über eine aminoterminalen Fettsäuremodifikation in der Cytoplasmamembran verankert ist. Bindeproteine besitzen ähnliche Raumstrukturen und funktionieren nach dem Prinzip der Venusfliegenfalle. Nach Bindung des Substratmoleküls ändert das Protein seine Raumstruktur derart, dass das Substrat eingeschlossen wird. Nur in dieser Form kann das Substrat von den eigentlichen Transportkomponenten erkannt und anschließend unter ATP-Verbrauch in das Cytoplasma transportiert werden. Bindeproteinabhängige Transportsysteme zeichnen sich durch hohe Affinität zum Substrat und relativ niedrige Transportraten aus (Abb. 9.4).

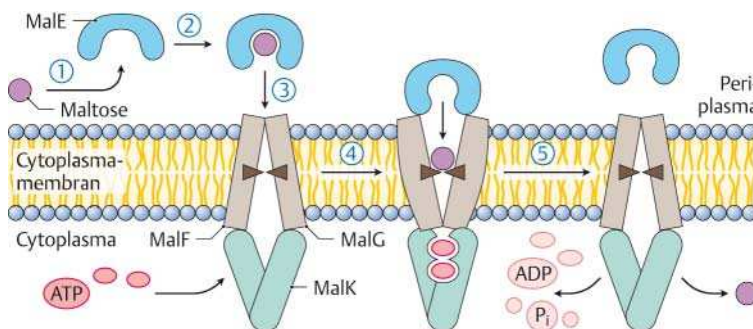


Abb. 9.4 Modell des bindeproteinabhängigen ABC-Transporters zur Aufnahme des Disaccharids Maltose bei *E. coli*. Maltose (M) gelangt über ein spezifisches Porin der äußeren Membran (Maltoporin oder LamB, Kap. 5.8) in das Periplasma (nicht gezeigt). Dort wird Maltose vom spezifischen Bindeprotein MalE gebunden (①), wodurch ein geschlossener MalE-Maltose-Komplex entsteht (②). In dieser Form wird Maltose dem Transportkomplex in der Cytoplasmamembran, bestehend aus MalF, MalG und MalK₂, zugeführt (③). Gleichzeitig bindet ATP an die MalK-Untereinheiten, wodurch sich diese schließen und die Transportpore aus MalF und MalG zur periplasmatischen Seite geöffnet wird. Maltose wird in die Pore entlassen (④). Anschließend ATP-Hydrolyse trennt die MalK-Untereinheiten, wodurch die Pore sich zur cytoplasmatischen Seite öffnet, Maltose freigesetzt wird und das System in den Ausgangszustand zurückkehrt (⑤).

Na⁺-abhängige Decarboxylasen

Eine besondere Klasse von primären Transportsystemen stellen Na⁺-abhängige Decarboxylasen dar. Diese Transporter koppeln die biotinabhängige Decarboxylierung von Carbonsäuren, wie Oxalat oder Methylmalonyl-CoA mit dem Export von Na⁺-Ionen und wurden z. B. im Gärungsstoffwechsel bei *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium* und *Propionigenium modestum* gefunden.

9.2.2 Sekundäre Transportsysteme

Sekundäre Transportsysteme nutzen als Energiequelle vorhandene elektrochemische Ionengradienten (z. B. H⁺, Na⁺, oder geladene organische Verbindungen), wie sie durch Aktivitäten primärer Transporter entstehen. Die Systeme bestehen stets aus nur einer Polypeptidkette, die im Regelfall die Membran zwölfmal überspannt. Transportiert werden diverse Zucker, Zuckerphosphate, Aminosäuren, Peptide, Carbonsäuren und anorganische Ionen. Sekundäre Transportsysteme verbrauchen weniger Energie als primäre Transporter. Im Unterschied zu bindproteinabhängigen Transportern sind sekundäre Systeme meist durch eine relativ geringe Affinität zum Substrat und eine hohe Transportrate charakterisiert.

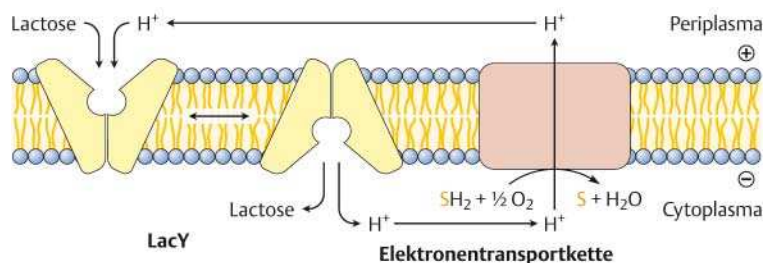
Verfügt ein Bakterium somit über mehrere Transportsysteme für ein Substrat, wird der weniger energieaufwändige sekundäre Transporter in der Regel konstitutiv exprimiert. Die hoch affinen, bindproteinabhängigen Transporter werden dagegen erst bei niedrigen Substratkonzentrationen oder Anwesenheit eines bestimmten Substrats induziert.

Sekundäre Transporter lassen sich in drei Klassen unterteilen (Abb. 9.3, Tab. 9.2):

Symport. Proteine, die nach einem Symportmechanismus funktionieren, transportieren Substrat und Kopplungsign in die gleiche Richtung. Nach diesem Prinzip arbeitet das bislang am besten charakterisierte Transportprotein, der Lactosetransporter (Lactosepermease oder LacY) bei *E. coli*. Der Transport eines Moleküls Lactose (Milchzucker, Disaccharid aus Glucose und Galactose) ist dabei an die Aufnahme eines Protons gekoppelt (Abb. 9.5).

Antiport. Werden dagegen zwei Substrate in entgegengesetzte Richtungen transportiert, so spricht man von einem Antiportmechanismus. Auf diese Weise wird z. B. bei dem Milchsäure-Bakterium *Lactococcus lactis* die Sekretion eines Stoffwechselprodukts (Lactat) mit der Aufnahme des Substrats (Malat) gekoppelt.

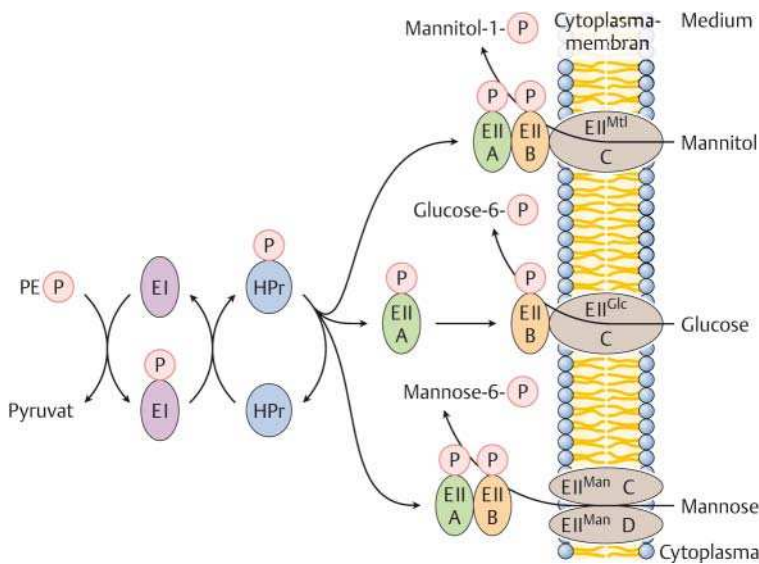
Abb. 9.5 Kopplung der Lactoseaufnahme an den elektrochemischen Protonengradienten über der Membran. In *E. coli* dient das LacY-Protein der Aufnahme von Lactose. Proteine der Atmungskette pumpen Protonen nach außen, wodurch ein elektrochemischer Protonengradient aufgebaut wird. Dieser wird vom LacY-Protein zum Transport von Lactose ins Cytoplasma genutzt. Das Protein wechselt dabei zwischen zwei Konformationen. SH₂, Energiesubstrat (z. B. NADH₂).



Uniport. Nach dem Uniportmechanismus arbeiten Proteine, die positiv geladene Substratmoleküle (z.B. K^+ -Ionen bei *Halobacterium salinarum*) über die Membran transportieren und dabei durch das Membranpotenzial (innen negativ) angetrieben werden. Auch neutrale Substrate können nach diesem Mechanismus in das Cytoplasma gelangen, wobei der Gradient des zu transportierenden Substrates als treibende Kraft dient. Dieser Fall ist beim Glucosetransport in dem strikt gärenden Bakterium *Zymomonas mobilis* verwirklicht.

9.2.3 Gruppentranslokation

Einen Sonderfall stellen die bisher nur bei Eubakterien nachgewiesenen **Phosphoenolpyruvat-(PEP-)Phosphotransferasesysteme (PTS)** dar, welche Hexosen (z. B. Glucose, Mannose, Fructose) und Zuckeralkohole (z. B. Glucitol, Mannitol) transportieren. Dabei wird der hoch energetische Phosphatrest von PEP über mehrere Proteinkinasen letztlich auf das Substrat übertragen, sodass dieses im Cytoplasma in modifizierter (phosphorylierter) Form vorliegt. Man spricht daher auch von Gruppentranslokation (Abb. 9.6). Neben den unspezifischen, cytoplasmatischen Komponenten Enzym I (EI) und Histidinprotein (HPr) bestehen die Systeme aus der substratspezifischen Komponente Enzym II (EII). Letztere ist aus mindestens drei funktionellen Domänen (A bis C) aufgebaut, von denen die EIIC-Komponente das eigentliche, integral in der Membran verankerte Transportprotein darstellt. Abhängig vom System können die EIIA- und EIIB-Domänen mit dem EIIC-Protein fusioniert sein oder als separate Proteine im Cytoplasma vorkommen. Während die EIIB-Komponente an einem speziellen Cysteinrest phosphoryliert wird, wird der Phosphatrest bei den anderen Komponenten jeweils auf einen Histidinrest übertragen. Das Transportsystem für Glycerin in *E. coli* ist ein Beispiel für ein sehr einfaches System (Plus 9.3).

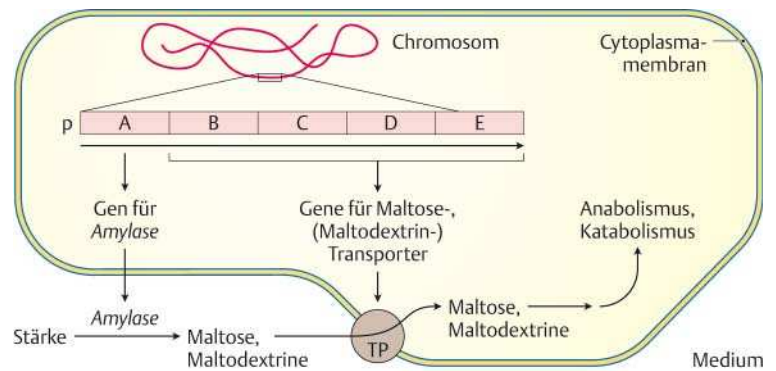


Plus 9.3 Das Transportsystem für Glycerin

Als primitives Phosphotransferasesystem kann auch das Transportsystem für Glycerin bei *E. coli* betrachtet werden. Hier ist ein integrales diffusionskontrolliertes Membranprotein (GlpF) mit einer cytoplasmatischen Glycerinkinase (GlpK) gekoppelt, sodass Glycerin in der Zelle direkt als 3-Phosphoglycerin vorliegt. Das GlpF-Protein gehört zur Proteinfamilie der Aquaporine. Das sind Kanalproteine, die sowohl bei pro- als auch bei eukaryontischen Organismen für die schnelle Aufnahme oder Abgabe von Wasser sorgen.

Abb. 9.6 Komponenten der Phosphotransferasesysteme für verschiedene Zucker und Zuckeralkohole. EI und HPr sind die allen gemeinsamen Komponenten, während die EII-Proteine substratspezifisch sind. EII besteht aus mindestens drei funktionellen Modulen (A bis C), die fusioniert auf einem Protein (EII-Mannitol) oder getrennt voneinander (EII-Glucose) vorkommen können. Die EIIC-Domäne kann auch in zwei Subdomänen (C und D) auftreten. Der Phosphatrest von Phosphoenolpyruvat wird über die einzelnen Komponenten auf das zu transportierende Substrat übertragen. S, Substrat; Pyr, Pyruvat; PEP, Phosphoenolpyruvat; HPr, Histidinprotein.

Abb. 9.7 Koordination der Synthese von Exoenzymen und Transportsystemen. Die Gene für ein Stärke abbauendes Enzym (Amylase) und ein Transportsystem, das die entstehenden Produkte (Maltodextrine, aus bis zu sieben α -1,4-glykosidisch verknüpften Glucoseeinheiten) in das Cytoplasma aufnimmt, sind in einem Operon organisiert und werden gemeinsam transkribiert. P, Promotor; TP, Transporter.



9.2.4 Zusammenwirken von Exoenzymen und Transport

Transportsysteme sind nicht in der Lage, Biopolymere wie Polysaccharide, Proteine, Nukleinsäuren oder komplexe Lipide in die Zelle zu transportieren. Deren Verwendung als Nährstoffe setzt deshalb die extrazelluläre, hydrolytische Zerlegung in kleinere Bausteine voraus. Hydrolytische Exoenzyme zum Abbau komplexer Biopolymere werden von zahlreichen, häufig grampositiven Bakterien (u. a. der Gattungen *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptomyces*), aber auch von Archaeobakterien gebildet. Um eine konzertrierte Aktion dieser Enzyme mit der Aufnahme der Hydrolyseprodukte zu gewährleisten, sind in diesen Bakterien die Gene für Exoenzyme und Transportproteine häufig in einer transkriptionellen Einheit organisiert. So spalten verschiedene Amylasen Stärke in Maltodextrine, meist Maltotriose, aber auch in Maltose, welche von einem bindeproteinabhängigen ABC-Transporter in die Zelle transportiert werden (Abb. 9.7). Ähnliche Zusammenhänge bestehen für die Verwertung anderer Zuckerpolymere wie Cellulose, Hemicellulose (Xylan) oder Chitin.

9.3 Weitere Aspekte der Transportsysteme

9.3.1 Beteiligung von Transportsystemen an der Gen- und Proteinregulation

Einige Transportproteine spielen eine wichtige Rolle bei der Erkennung von Substraten im Medium sowie bei der Regulation verschiedener Stoffwechselwege. Viele chemoheterotrophe Bakterien verwenden Glucose als bevorzugte Kohlenstoff- und Energiequelle. Bei Verfügbarkeit von Glucose werden deshalb Stoffwechselwege zur Verwertung alternativer Zucker auf der Transkriptionsebene abgeschaltet (**Katabolitrepresion**).

An dieser Regulation sind Komponenten des Phosphotransferasesystems für Glucose beteiligt. Bei *E. coli* und anderen *Enterobacteriaceae* handelt es sich dabei um das $EIIA^{Glc}$ -Protein. In seiner phosphorylierten Form ($EIIA^{Glc}-P$) aktiviert das Protein das Enzym Adenylatcyclase, das den Botenstoff cAMP synthetisiert. In einem Komplex mit dem cAMP-Rezeptorprotein (CRP) wirkt cAMP als Transkriptionsaktivator zur Expression von Genen, deren Produkte den Zellen die Aufnahme und Verwertung anderer Kohlenstoffquellen ermöglichen. $EIIA^{Glc}-P$ liegt jedoch nur in Abwesenheit von Glucose in ausreichender Konzentration vor, da dann das Substrat für die Übertragung des Phosphatrests fehlt.

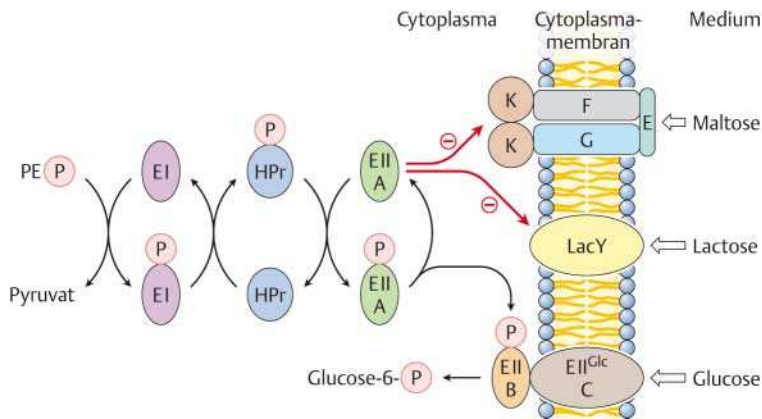


Abb. 9.8 Modell des durch das Phosphotransferasesystem für Glucose vermittelten Induktorausschlusses bei *E. coli*. Bei Anwesenheit von Glucose im Medium wird der vom PEP übertragene Phosphorylrest zügig von der EIIA-Komponente auf EIIB und schließlich auf das Substrat weitergeleitet. Somit liegt EIIA vorwiegend nichtphosphoryliert vor. In dieser Form hemmt das Protein die Aktivitäten anderer Transportsysteme, z.B. des Maltose-ABC-Transporters (EFGK₂) oder der Lactosepermease (LacY). Dadurch wird verhindert, dass Induktormoleküle für die Verwertung alternativer Zucker in die Zelle gelangen.

In seiner dephosphorylierten Form, die bei Anwesenheit von Glucose vorherrscht, wirkt EIIA^{Glc} darüberhinaus als Inhibitor für Transportsysteme zur Aufnahme alternativer Zucker, so z. B. der Lactosepermease und dem bindproteinabhängigen ABC-Transporter für Maltose (**Induktorausschluss**, Abb. 9.8).

Bei grampositiven Bakterien wie *B. subtilis* übernimmt die HPr-Komponente des Phosphotransferasesystems eine regulatorische Funktion. In Gegenwart von Glucose unterliegt das Protein einer vom Transportprozess unabhängigen, zusätzlichen Phosphorylierung an einem speziellen Serinrest. Das dafür verantwortliche Enzym, eine Kinase, wird dabei durch Fructose-1,6-bisphosphat, ein Zwischenprodukt des Glucoseabbaus, aktiviert. In phosphorylierter Form wirkt HPr zusammen mit dem CcpA-Protein als Repressor von Genen für alternative Zucker-Verwertung.

Auch andere Transportsysteme sind an regulatorischen Prozessen beteiligt. So werden die Expression von Genen des Maltose- bzw. des Glycerin-3-phosphat-Stoffwechsels bei *E. coli* und anderen *Enterobacteriaceae* durch die ATP-bindenden Komponenten des jeweiligen bindproteinabhängigen ABC-Transporters beeinflusst.

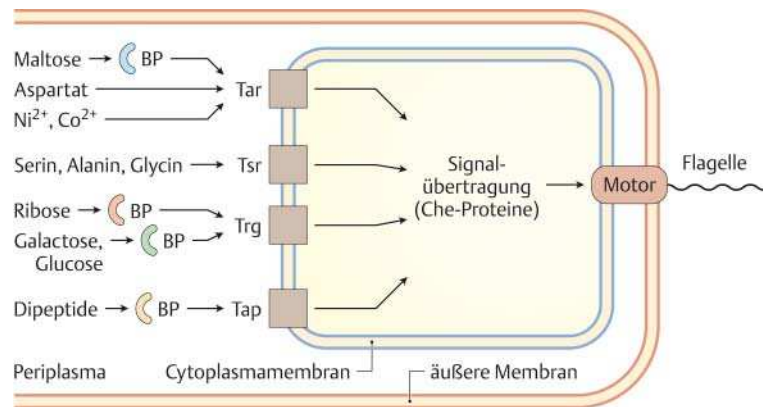
9.3.2 Transportsysteme als chemotaktische Rezeptoren

Die vielfältigen Reaktionen, mit denen Mikroorganismen auf die Verfügbarkeit verschiedener Substrate reagieren, setzt deren Erkennung im Medium voraus. Daran sind neben speziellen, in der Membran inserierten Rezeptorproteinen auch Transportproteine beteiligt. So erfolgt bei *E. coli* und anderen *Enterobacteriaceae* die Erkennung chemischer Reizstoffe, die eine Bewegungsänderung zur Folge haben (**Chemotaxis**, Kap. 5.9.1, 16.9) hauptsächlich über vier verschiedene Sensorproteine (Tar, Trg, Tsr, Tap), mit Spezifitäten für Zucker (wie Maltose oder Ribose), Aminosäuren (wie Aspartat), Dipeptide oder Kationen, wie Ni²⁺ und Co²⁺. Die Bindung der Substrate kann entweder direkt erfolgen (z. B. Aspartat) oder im Komplex mit der entsprechenden periplasmatischen Bindprotein-Komponente eines ABC-Transporters (z. B. Maltose) (Abb. 9.9).

Im Fall von Glucose wird eine chemotaktische Reaktion darüberhinaus auch durch Bindung des Substrates an die EIIC-Komponente des Phosphotransferasesystems und Weiterleitung des Signals über EI ausgelöst (s. auch Abb. 9.6).

Abb. 9.9 Chemotaktische Rezeptoren in *E. coli*.

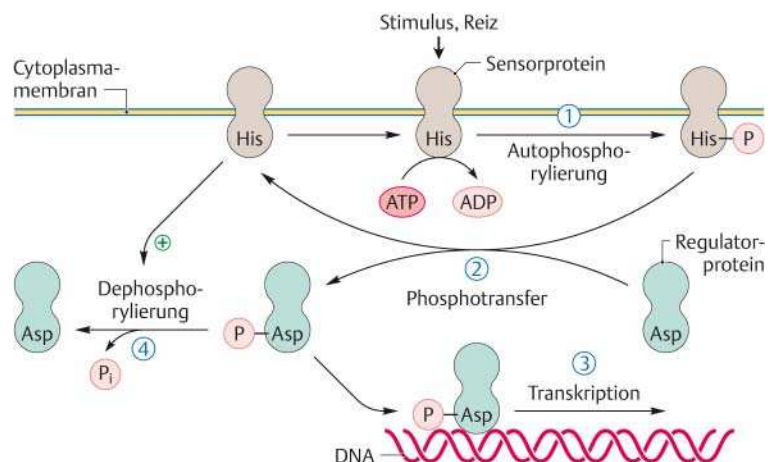
Substanzen, die bei *E. coli* eine chemotaktische Reaktion auslösen, werden durch vier Rezeptoren in der Cytoplasmamembran (Tar, Tsr, Trg, Tap) entweder direkt oder vermittelt durch die Bindeproteinkomponente (BP) eines ABC-Transporters erkannt. Bindung der Effektormoleküle an die periplasmatische Domäne der Rezeptoren aktiviert, vermittelt durch die cytoplasmatischen Proteinbereiche, eine Signalübertragungskaskade (Che-Proteine). Dadurch ändert sich die Drehrichtung der Geißeln.



Die Reizerkennung an der extrazellulären Seite der Membran hat Veränderungen an den cytoplasmatischen Abschnitten der Rezeptorproteine zur Folge, wodurch eine Signaltransduktionskette mit dem Ergebnis einer Umkehrung der Flagellenrotation in Gang gesetzt wird. Die Reizleitung erfolgt dabei über eine Phosphorylierungskaskade. Die Aufnahme der Substrate in das Cytoplasma ist aber nicht erforderlich, um eine chemotaktische Antwort nach diesem Mechanismus auszulösen (Kap. 16.9). Ähnliche Mechanismen sind auch für die Phototaxis halophiler Archaeen, wie *Halobacterium salinarum*, beschrieben.

In vielen Fällen werden äußere Reize in Mikroorganismen durch **Sensor-Regulator-Systeme** (auch **Zweikomponenten-Systeme** genannt) erkannt und über Phosphorylgruppentransfer in eine Zellantwort umgesetzt. Das Sensorprotein ist dabei fast immer ein integrales Membranprotein (Abb. 9.10). Die chemotaktische Reizverarbeitung stellt einen Spezialfall dieser Systeme dar.

Abb. 9.10 Sensor-Regulator-(Zweikomponenten-)System. Spezifische Sensorproteine in der Cytoplasmamembran erkennen (meist chemische) Reize an ihrer extrazellulären Domäne. Das führt zur Autophosphorylierung der cytoplasmatischen Domäne an einem spezifischen Histidinrest (His) (1). Die Phosphorylgruppe (P) wird auf einen Aspartatrest (Asp) des zugehörigen Regulatorproteins übertragen (2), das dadurch aktiviert wird und die Transkription bestimmter Gene initiiert (3). Fällt der Reiz weg, wird der phosphorylierte Regulator durch Phosphataseaktivität des Sensorproteins wieder inaktiviert (4). Sensor- und Regulatorproteine liegen jeweils als Homodimere vor (nicht dargestellt).



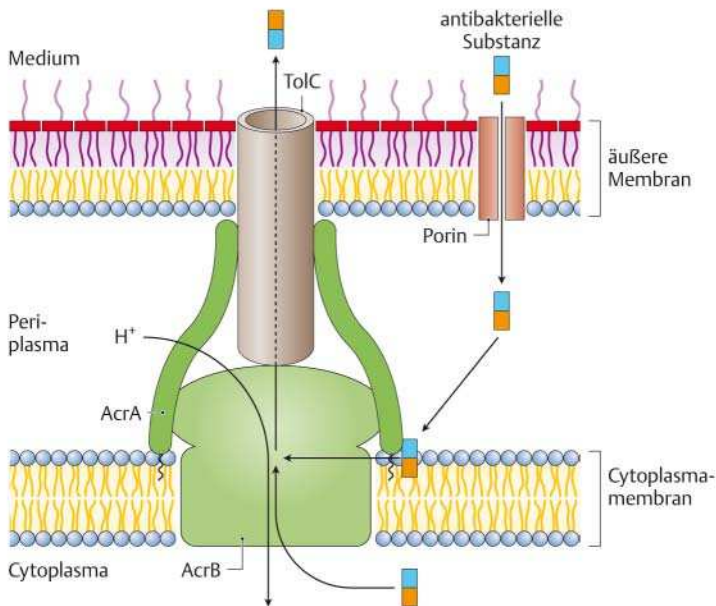
9.3.3 Transportsysteme als Mediatoren der Differenzierung

Transportproteine spielen ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Erkennung von Signalen, die zu Differenzierungsprozessen, wie Sporulation bei *Bacillus subtilis*, Fruchtkörperbildung bei Myxobakterien oder der Biolumineszenz einiger Arten der Gattung *Vibrio* (s.a. Quorum Sensing, Kap. 16.10), führen. In jedem Fall werden niedermolekulare Signalmoleküle (z. B. Peptide, Oligosaccharide, Acylhomoserinlactone) von speziellen Transportern entweder exportiert oder aus der Umgebung aufgenommen, die im Cytoplasma zur Induktion bestimmter Gene führen.

9.4 Resistenz durch proteinvermittelten Export

Ein bei Mikroorganismen weit verbreiteter Mechanismus zur Entfernung toxischer Stoffe aus dem Cytoplasma besteht in der aktiven, also energieabhängigen Exkretion der Stoffe in das Medium. Auf diese Weise kann die intrazelluläre Konzentration der Verbindungen unter einem für die Zelle letalen Schwellenwert gehalten werden. Sekretionssysteme dieser Art benötigen als Energiequelle entweder das elektrochemische Protonenpotenzial über der Membran oder ATP. Zum Beispiel verleiht der Tetrazyklin/ H^+ -Antiporter, der auf Transposon Tn10 codiert ist, Resistenz gegen bestimmte Antibiotika. Arsenat- und Cadmium-ATPasen oder $Co^{2+}/Zn^{2+}/Cd^{2+}$ - H^+ -Antiporter sind für die Schwermetallentgiftung verantwortlich. **Multiresistenzproteine** entfernen membranzerstörende Substanzen wie Gallensäuren und andere Detergenzien. Ein besonders gut untersuchtes Beispiel stellt das AcrBA-TolC-System bei *E. coli* dar (Plus 9.4).

Plus 9.4 Das AcrBA-TolC-Exportsystem von *E. coli*



Dieses Exportsystem besteht aus dem integralen Membranprotein AcrB, welches durch das periplasmatische Protein AcrA mit dem Kanalprotein TolC in der äußeren Membran verbunden wird. Auf diese Weise entsteht eine die Zellohülle überspannende Pore, durch welche zahlreiche Substrate wie Antibiotika und membranzerstörende Chemikalien aus der Zelle entfernt werden. Dabei wird der elektrochemische Protonengradient als Energiequelle genutzt. Nach neuesten Erkenntnissen können Substrate nicht nur aus dem Cytoplasma, sondern bereits aus dem Periplasma entfernt werden (Abb.).

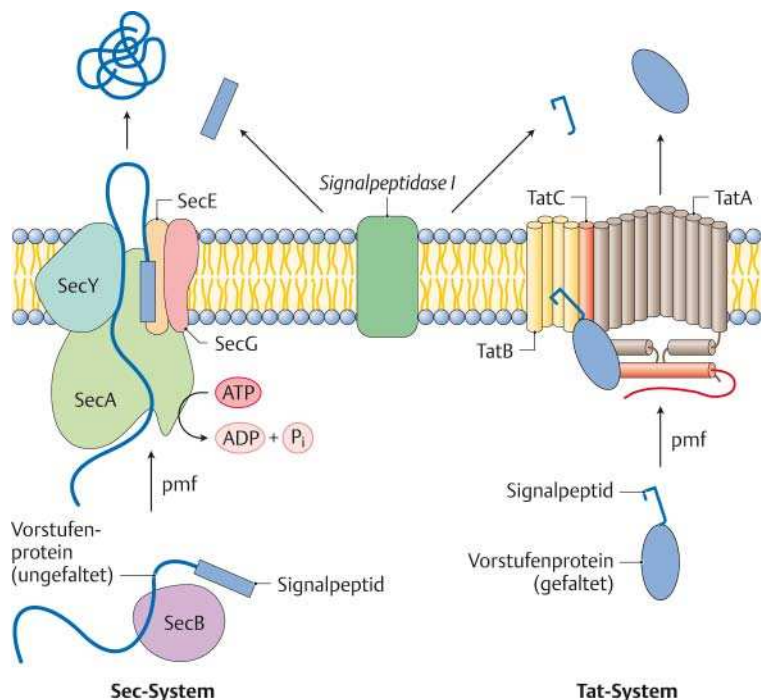
9.5 Translokationssysteme für den Proteinexport

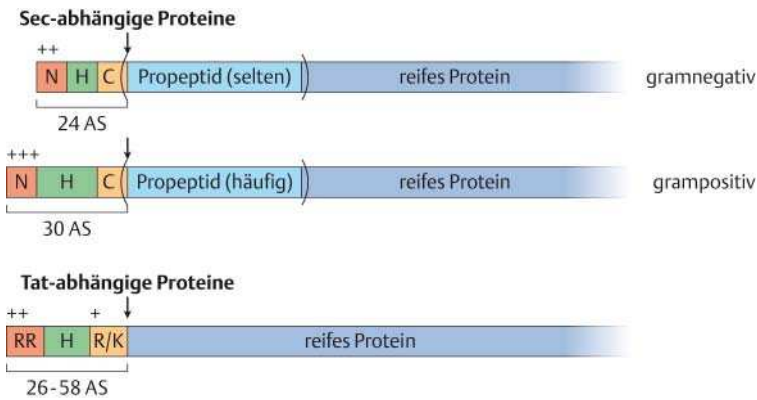
Mikroorganismen besitzen zahlreiche Proteine, die ihre Funktion außerhalb der Zelle ausüben. Dazu zählen Exoenzyme, die auf der Außenseite der Cytoplasmamembran verankert sind oder ins Medium abgegeben werden und den Abbau polymerer Verbindungen katalysieren. Andere Beispiele sind Virulenzproteine, die Wirtszellen attackieren, oder Enzyme und Proteine des Periplasmas und der äußeren Membran bei gramnegativen Bakterien. Da alle größeren Polypeptide an den Ribosomen im Cytoplasma synthetisiert werden, müssen sie durch spezielle Transportsysteme über die Cytoplasmamembran transportiert werden.

9.5.1 Sec-Translokationssystem

Für die weitaus meisten extrazellulären Proteine geschieht dies mit Hilfe des generellen Sekretionssystems (Sec) (Abb. 9.11). Das Sec-System besteht aus einem Membranproteinkomplex (SecYEGDF) sowie einer peripheren Komponente, dem SecA-Protein. Proteine, die für den Export bestimmt sind, werden als Vorstufen (Präproteine) synthetisiert, die zur Erkennung am aminoterminalen Ende eine **Signalsequenz** besitzen. Diese ist durch positiv geladene Aminosäuren, einen hydrophoben, helikalen Teil sowie durch eine Spaltstelle für eine Protease gekennzeichnet (Abb. 9.12). Die Signalsequenz dirigiert das Protein nicht nur an seinen Bestimmungsort, sondern verhindert auch, dass die am Ribosom wachsende Proteinkette sich zu schnell spontan faltet, da nur entfaltete Proteine exportiert werden können. Lösliche Hilfsproteine, sogenannte **Chaperone**, wie z. B. SecB, tragen zur Stabilität der entfalteten Form des Proteins bei und präsentieren das Protein der löslichen Form des SecA-Proteins. SecA hat eine ATP-Hydrolyse-Aktivität und inseriert sich unter

Abb. 9.11 Sec- und Tat-Translokationssysteme für den Proteinexport. Das Sec-Translokationssystem (links) besteht aus SecA (ATPase) und dem eigentlichen Translokationskomplex SecYEG (die ebenfalls beteiligten Proteine SecD und SecF sind nicht essenziell und wurden daher nicht dargestellt). Das Chaperon SecB kann durch andere Proteine gleicher Funktion ersetzt werden. Das mit N-terminalem Signalpeptid synthetisierte Vorstufenprotein wird von SecB gebunden und so an vorzeitiger Faltung gehindert. Über SecA wird die Proteinkette an den Translokationsapparat herangeführt, wobei ATP verbraucht wird. Die effiziente Translokation ins Periplasma erfordert die protonenmotorische Kraft (pmf) über der Membran. Nachdem die Signalpeptidase I das Signalpeptid abgespalten hat, faltet sich das Protein spontan in seine native Form. Das Tat-Translokationssystem (rechts) besteht bei *E. coli* aus den Komponenten TatA, TatB und TatC und transloziert bereits vollständig gefaltete Proteine unter Beteiligung der protonenmotorischen Kraft. Die entsprechenden Proteine werden an einem speziellen Signalpeptid erkannt (s. Text und Abb. 9.12).





ATP-Verbrauch in die Membran, wobei die zu transportierende Polypeptidkette auf den Transportkomplex übertragen wird. Die eigentliche Transportpore, die aus den Proteinen SecYEG gebildet wird, hat einen Durchmesser von ca. 5–8 Å (1 Ångström = 10^{-10} m). Energetisiert durch die protonenmotorische Kraft (pmf) wird die Kette auf die Außenseite der Membran verbracht. Dort trennt eine spezifische Protease (Signalpeptidase I) das Signalpeptid ab und setzt das reife Protein frei, das dann seine funktionelle Raumstruktur einnimmt.

9.5.2 Tat-Translokationssystem

Kürzlich wurde ein Sec-unabhängiges Exportsystem für die Translokation meist cofaktorhaltiger Enzyme entdeckt, welches seine Substrate an zwei charakteristischen Argininresten im Signalpeptid erkennt (engl. **twin arginine transporter, Tat**).

Im Gegensatz zum Sec-System werden hier vollständig gefaltete Proteine ins Periplasma exportiert. Das System besteht aus den Komponenten TatABC, die sich nach einem derzeitigen Modell erst nach Erkennung des zu transportierenden Proteins zu einer aktiven Pore mit einem Durchmesser von ca. 50–60 Å zusammenlagern. Dieser Schritt ist von dem elektrochemischen Protonengradienten (protonenmotorische Kraft) über der Cytoplasmamembran abhängig (Abb. 9.11, 9.12). Man schätzt, dass bei *E. coli* ca. 2,5% der zu exportierenden Proteine über das Tat-System ins Periplasma gelangen.

9.5.3 Spezielle Sekretionssysteme

Gramnegative Bakterien benötigen darüberhinaus spezielle **Sekretionssysteme** (Typ I bis V), die den Transport von Proteinen, wie Exoenzyme oder Virulenzfaktoren (Kap. 18.5) über die äußere Membran vermitteln. Dabei kann der Transport über die Cytoplasmamembran sowohl sec-abhängig (Typ II, V) als auch sec-unabhängig (Typ I, III, IV) verlaufen (Tab. 9.3).

Sec-abhängige Systeme

Typ-II-Sekretionssystem. Sekretionssysteme vom Typ II benutzen das Sec-System zur Translokation der Proteine ins Periplasma (Abb. 9.13). Am Transport über die äußere Membran ist danach meist ein Multiproteinkomplex beteiligt, wobei einige der Komponenten, darunter ein ATP

Abb. 9.12 Aufbau von Signalpeptiden. Signalpeptide von Sec-abhängig transportierten Proteinen bestehen aus einer N-terminalen (N), hydrophoben (H) und C-terminalen (C) Domäne. Die N-terminale Domäne ist positiv geladen (+), die C-terminale Domäne enthält die Erkennungssequenz für die Signalpeptidase I (↓). Die Signalpeptide gramnegativer Bakterien sind in der Regel deutlich kürzer (durchschnittlich 24 AS) und haben eine niedrigere Nettoladung in der N-Region (durchschnittlich +2) als die Signalpeptide grampositiver Bakterien (durchschnittl. 30 AS und +3). Außerdem enthalten die Vorstufen von Exportproteinen grampositiver Bakterien häufig ein Propeptid. Signalpeptide von Proteinen für das Tat-System besitzen stets zwei aufeinanderfolgende Argininreste (RR) in der N-terminalen Domäne. Vor der Spaltstelle für die Signalpeptidase (↓) befindet sich eine weitere positiv geladene Aminosäure (R, Arginin oder K, Lysin).

Tab. 9.3 Beispiele für Sekretionssysteme von Typ I bis V.

Typ	sekretierte Proteine	Bakterien
I	α-Hämolyisin (Toxin) Adenylatcyclase (Toxin)	<i>E. coli</i> <i>Bordetella pertussis</i>
II	Pullulanase Cholera toxin	<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Vibrio cholerae</i>
III	Invasine, Yop-Proteine	<i>Salmonella</i> ssp. <i>Yersinia</i> ssp.
IV	Pertussistoxin (Sec-abhängig) Nukleoprotein-komplex Einzelstrang-DNA bei Konjugation Virulenzprotein (CagA)	<i>Bordetella pertussis</i> <i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>E. coli</i> <i>Helicobacter pylori</i>
V („Auto-transporter“)	IgA1 Protease	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>

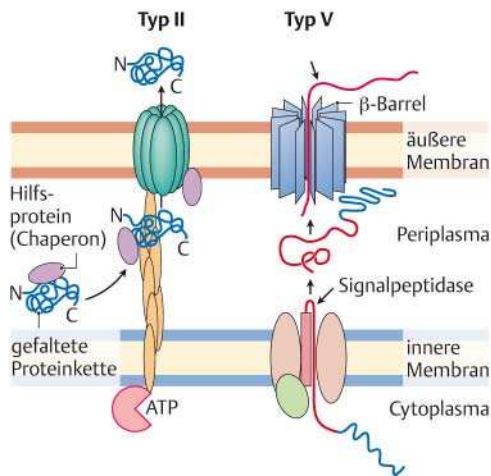


Abb. 9.13 Sec-abhängige Sekretionssysteme:

Das Typ II-System (z.B. Pullulanase-PulA-Exporter bei *Klebsiella oxytoca*) transloziert Proteine, die über das Sec-System in das Periplasma gelangen und sich dort falten. Exporter vom Typ V (Autotransporter) (z.B. Exporter für IgA-Protease bei *Neisseria gonorrhoeae*) katalysieren ihren eigenen Transport über die äußere Membran.

bindendes Protein, in der Cytoplasmamembran verankert sind. Nach diesem Mechanismus wird beispielsweise bei *Klebsiella oxytoca* das Enzym Pullulanase sekretiert, welches von Pullulan, einem von Pilzen produzierten Polysaccharid, Maltotrioseeinheiten abspaltet.

Typ-V-Sekretionssystem. Ebenfalls abhängig vom Sec-System sind sogenannte Autotransporter, die auch als Typ-V-Sekretionssysteme klassifiziert werden (Abb. 9.13). Hier ist die Information zur Translokation über die äußere Membran vollständig in der Polypeptidkette selbst enthalten. Wahrscheinlich bilden sie eine Pore in der Membran, durch die der aktive Anteil des Proteins hindurchtritt und anschließend durch Autoproteolyse freigesetzt wird. Eine Protease von *Neisseria gonorrhoeae* (IgA1-Protease), aber auch zahlreiche andere Proteine, werden auf diese Weise ins Medium abgegeben. Bei einer ebenfalls weit verbreiteten Variante dieses Systems (engl. two-partner secretion, TPS) ist noch ein weiteres Protein beteiligt (z. B. Export von Cytolysin bei *Serratia marcescens*).

Sec-unabhängige Systeme

Transporter vom **Typ I** und **III** funktionieren vollkommen und **Typ IV-Systeme** meist unabhängig vom Sec-System (Abb. 9.14).

Typ-I-Sekretionssystem. Diese Transporter sind im Prinzip ABC-Exportsysteme. Der ABC-Transporter in der Cytoplasmamembran wird über ein ins Periplasma exponiertes Membranprotein (Membranfusionsprotein) mit einer Komponente in der äußeren Membran (z. B. TolC, s. auch Abb. Plus 9.4) verbunden. Es bildet sich eine Translokationspore aus. Nach dem Typ-I-Mechanismus werden zahlreiche Toxine, darunter das α -Hämolysin bei bestimmten *E. coli*-Stämmen oder die Adenylatcyclase bei *Bordetella pertussis* (Erreger des Keuchhustens) sekretiert.

Typ-III-Sekretionssystem. Dieses System hat eine herausragende Bedeutung bei der Attacke pathogener Bakterien auf die Zellen des Wirts, indem sie zellschädigende Enzyme (Effektorproteine) in die Wirte einführen. Für solche Sekretionsproteine wird ein erheblicher Teil der für die Pathogenität erforderlichen genetischen Information bereitgestellt. Die Komponenten dieser Systeme (ca. 20 verschiedene Proteine) bilden Poren aus, welche die Cytoplasmamembran und die äußere Membran überspannen. Die Poren sind mit einer nadelförmigen Struktur verbunden, die Kontakt zur Plasmamembran der Wirtszelle herstellt. Auf diese Weise werden die jeweiligen Substratmoleküle direkt in die Wirtszelle „injiziert“. Dabei wird ATP als Energiequelle benötigt. Die ATP-bindenden Proteine haben Ähnlichkeit zu den entsprechenden Untereinheiten von ABC-Transportern. Beispiele für Typ-III-Sekretionssysteme umfassen Transporter für Virulenzproteine bei *Yersinia enterocolitica* (Yops) und *Salmonella typhimurium* (Inv). Interessanterweise haben diese komplexen Strukturen Ähnlichkeit zu dem Basalkörper von Flagellen und auch das Flagellin scheint durch einen ähnlichen Mechanismus durch den Basalkörper exportiert zu werden.

Typ-IV-Sekretionssystem. Diese Transporter sind ebenfalls Multikomponentensysteme, die sich wahrscheinlich von dem DNA-Translokationsapparat zur Konjugation befähigter Bakterien ableiten (Kap. 9.6). Sekretionssysteme vom Typ IV spielen beispielsweise eine Rolle bei der Übertragung eines DNA-Proteinkomplexes in Pflanzenzellen durch das Boden-

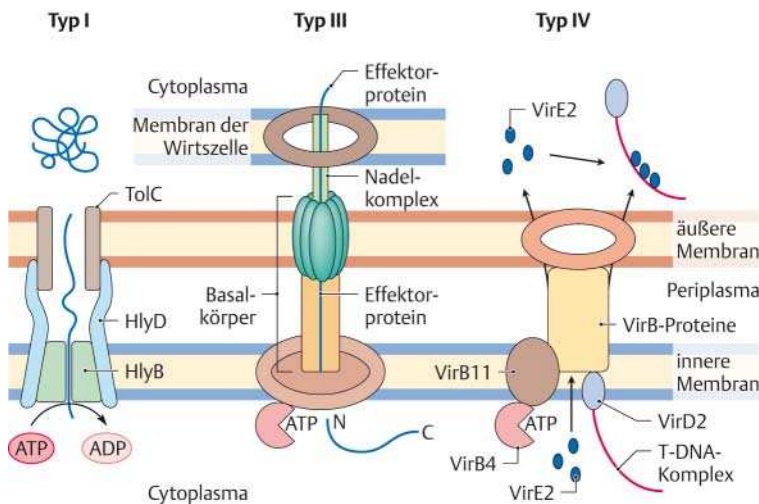


Abb. 9.14 Sec-unabhängige Sekretionssysteme. Typ I (hier: Hämolysin-HlyA-Exporter) kombiniert einen ABC-Transporter (HlyB) mit einer weiteren Komponente der Cytoplasmamembran (HlyD), die durch Proteinbereiche im Periplasma Kontakt zu einer Pore der äußeren Membran (TolC) herstellt. Substratproteine werden an einer C-terminalen Signalsequenz erkannt. Typ III-Systeme (z.B. Exporter für Effektorproteine-YopE-von *Yersinia* ssp.) verbinden einen Translokationsapparat, der dem für das Flagellenprotein Flagellin ähnelt, mit einem Nadelkomplex zur Injektion von Effektormolekülen in eine Wirtszelle. Typ IV-Systeme (hier: T-DNA- und Effektorprotein-VirE2-Exporteur bei *Agrobacterium tumefaciens*, s. Kapitel 15, 18) sind ähnlich komplex aufgebaut und meist Sec-unabhängig.

bakterium *Agrobacterium tumefaciens* (Kap. 15.6.2, 18.6.1). Auch das Virulenzprotein CagA bei *Helicobacter pylori*, einem Besiedler der Magenschleimhaut (Kap. 18.4), wird von einem Typ-IV-Sekretionssystem abgegeben.

9.6 Aufnahme von DNA

Eine Reihe von Bakterien, darunter grampositive Bodenbakterien der Gattung *Bacillus*, aber auch pathogene Organismen wie *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* und *Neisseria gonorrhoeae*, können freie DNA aus der Umgebung in das Cytoplasma aufzunehmen. Diese Eigenschaft wird als **natürliche Kompetenz** bezeichnet. Da sich die genetische Ausstattung der Zellen durch die DNA-Aufnahme verändert, spricht man von **Transformation** (Kap. 15.6.1). Bei der DNA kann es sich dabei um Plasmide handeln oder um DNA-Spaltstücke, die durch Endonukleasen (DNasen, Restriktionsendonukleasen) produziert werden. Die Zellen versetzen sich auf diese Weise nicht nur in die Lage, defekte Chromosomenabschnitte zu reparieren, sondern können auch Gene für neue Stoffwechselwege oder Virulenzgene aufnehmen.

Wie am Beispiel von *B. subtilis* untersucht, erfolgt die Aufnahme der DNA dabei in mehreren Stufen. Zunächst wird doppelsträngige DNA bevorzugt an speziellen Stellen der Zelloberfläche gebunden, wodurch ein anschließender Abbau durch DNasen zu Fragmenten von ca. 19 kb erleichtert wird. Die nachfolgende Aufnahme erfolgt sehr wahrscheinlich als DNA-Einzelstrang mit einer Geschwindigkeit von 50–200 Basen pro Sekunde.

Bei dem Transportsystem handelt es sich meist um einen Proteinkomplex mit Ähnlichkeit zu Typ-II-Sekretionssystemen und Proteinen, die beim Export von Typ-IV-Pilinmolekülen beteiligt sind. Bei den nahe verwandten Bakterien *Helicobacter pylori* und *Campylobacter jejuni* wird dagegen ein zu Typ-IV-Sekretionssystemen ähnlicher Transportkomplex zur DNA-Aufnahme verwendet.

Daneben kann DNA auch über den Vorgang der **Konjugation** direkt zwischen Zellen ausgetauscht werden (Kap. 15.6.2). Der Transfer eines

Einzelstrangs der Donorzelle erfolgt dabei ebenfalls über ein Typ-IV-Sekretionssystem. Die hierfür notwendigen Gene sind auf dem F-Plasmid der Donorzelle lokalisiert. Sowohl ATP als auch die protonenmotorische Kraft werden für den Transport der DNA benötigt.

Phagen-DNA wird über partiell lysierte Zellmembranen ohne direkte Beteiligung von Proteinkanälen injiziert. Allerdings erfordert die Anheftung der Phagen spezielle Rezeptormoleküle auf der Oberfläche der Rezipientenzelle, wie Proteine (darunter Porine und Eisen-Siderophor-Rezeptoren), Polysaccharide oder Lipopolysaccharide. Diese Proteine üben im allgemeinen normale Zellfunktionen aus. So dient bei *E. coli* der Rezeptor für den Phagen Lambda, das LamB-Protein oder Maltoporin, der Aufnahme von Maltodextrinen in das Periplasma (Kap. 5.8).

Zusammenfassung

- Die **Cytoplasmamembran** ist eine lebenswichtige Struktur aller Zellen. Sie hält die Zellkonsistenz aufrecht, dient der Konservierung von Energie und ermöglicht den Stoffaustausch mit der Umwelt.
- Transportvorgänge über die Membran können sowohl passiv durch **Diffusion** als auch aktiv, d. h. **energieabhängig**, verlaufen und werden mit wenigen Ausnahmen durch spezielle Proteine (Transportproteine) bewerkstelligt.
- **Transportproteine** des aktiven Transports ermöglichen die Aufnahme oder Abgabe von Substanzen gegen ein Konzentrationsgefälle.
- Bei aktivem Transport unterscheidet man **primäre** und **sekundäre Transporter** als auch **Gruppentranslokation**.
- **Primäre Transporter** nutzen chemische Energie (meist ATP) als Energiequelle und umfassen ABC-Transporter, Ionen-ATPasen, Decarboxylasen sowie licht- oder redoxgetriebene Systeme.
- **Sekundäre Transporter** koppeln die Aufnahme von Substraten oder Abgabe von Produkten an Ionengradienten über der Membran. Man unterscheidet Uniport, Symport und Antiport.
- Nach dem Prinzip der **Gruppentranslokation** arbeitet das Phosphotransferasesystem, das von Phosphoenolpyruvat (PEP) abhängig ist. Es dient der Aufnahme von Zuckern und Zuckeralkoholen und kommt nur bei Eubakterien vor. Hier wird der hoch energetische Phosphatrest des PEP auf das zu transportierende Substrat übertragen.
- Transportproteine sind an zahlreichen **Zellprozessen** beteiligt, wie z. B. an der Energiegewinnung, Aufnahme von Nährstoffen, Regulation, Reizerkennung und Zelldifferenzierung.
- Transportsysteme, die den Export von Substraten in das umgebende Medium ermöglichen, spielen eine wesentliche Rolle bei der **Resistenz gegenüber Antibiotika** und bei der **Besiedlung von Wirtsorganismen** durch pathogene Bakterien.
- Der generelle Export von Proteinen über die Cytoplasmamembran erfolgt durch zwei Translokationssysteme. Das **Sec-System** transportiert ungefaltete Proteine unter Verwendung sowohl von ATP als auch des elektrochemischen Protonengradienten als Energiequelle. Zu transportierende Proteine werden an einer aminoterminalen Signalsequenz erkannt, die am Ende des Prozesses durch spezifische Signalpeptidasen abgespalten wird. Das **Tat-System** transportiert gefaltete Proteine und benötigt nur den elektrochemischen Protonengradienten als Energiequelle. Die Signalsequenz ist durch ein Motiv aus zwei Argininmolekülen gekennzeichnet.

- Pathogene gramnegative Bakterien verwenden verschiedene **Sekretionssysteme** (Typ I bis V) zur Ausschleusung von Effektorproteinen in das umgebende Milieu oder zur direkten Injektion in die Wirtszelle. Die Translokation über die Cytoplasmamembran kann dabei Sec-abhängig oder -unabhängig erfolgen.
- Transportsysteme mit Ähnlichkeiten zu Typ-II- oder Typ-IV-Sekretionssystemen sind an der **Aufnahme von DNA** beteiligt.

10

Abbau organischer Verbindungen

Mikroorganismen können als **Destruenten** im Kreislauf des Kohlenstoffs im Prinzip alle organischen Verbindungen, die von Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen jemals gebildet wurden, als Energie- und Kohlenstoffquelle nutzen. Sie sind nicht nur unter aeroben, sondern auch unter anaeroben Bedingungen an der Mineralisierung der Stoffe wesentlich beteiligt. Die hauptsächlichlichen Substrate in der Natur sind wasserunlösliche, hochmolekulare **Polymere** wie beispielsweise die festen Bestandteile des Holzes oder der Blätter.

Polymere müssen außerhalb der Zelle der Mikroorganismen abgebaut werden, da sie nicht aufgenommen werden können. Die Abbauewege der verschiedenen Polymere mithilfe unterschiedlicher Enzyme (**Exoenzyme**) haben viele Gemeinsamkeiten. Exoenzyme haben große wirtschaftliche Bedeutung bei der Verwertung von nachwachsenden Rohstoffen und in der Lebensmittelindustrie. Auch sind sie wichtige Pathogenitätsfaktoren von Krankheitserregern.

Die freigesetzten Bruchstücke, meist die Bausteine der Polymere, werden in die Zelle transportiert und dort als Nährstoffe verwertet. Die niedermolekularen Verbindungen werden letztlich mit Sauerstoff zu CO_2 oxidiert. Hier findet sich eine Vielfalt von biochemischen Prozessen ohnegleichen, sodass nur auf die wichtigsten Stoffwechselwege eingegangen werden kann. Die Grenzen des Abbaus werden erreicht, wenn chemisch inerte Fremdstoffe, sogenannte **Xenobiotika**, als Nahrungsquelle dienen. Hier erfolgt häufig ein Cometabolismus mit ähnlichen, natürlichen Nährstoffen. Schließlich bauen manche Mikroorganismen bei hohem Nährstoffangebot die organischen Moleküle nicht mehr vollständig ab, sondern begnügen sich mit einer unvollständigen Oxidation. Die Produkte dieser Umsetzung sind wiederum wirtschaftlich interessant.

Überblick

- 10.1 Aerobe und anaerobe Mineralisierung ... 285**
 - 10.1.1 Aerobe Mineralisierung ... 285
 - 10.1.2 Anaerobe Mineralisierung ... 285
- 10.2 Gemeinsame Aspekte des Polymerabbaus ... 286**
- 10.3 Abbau von Polysacchariden ... 287**
 - 10.3.1 Cellulose ... 287
 - 10.3.2 Hemicellulosen ... 288
 - 10.3.3 Pectine ... 289
 - 10.3.4 Andere Polysaccharide ... 290
 - 10.3.5 Chitin und Murein ... 290
 - 10.3.6 Stärke ... 291
 - 10.3.7 Fructane ... 292
- 10.4 Abbau von Lignin ... 292**
- 10.5 Abbau von Proteinen, Nukleinsäuren und Lipiden ... 295**
 - 10.5.1 Proteine ... 295
 - 10.5.2 Nukleinsäuren ... 296
 - 10.5.3 Lipide ... 296
- 10.6 Abbau niedermolekularer Substanzen ... 297**
 - 10.6.1 Zucker ... 298
 - 10.6.2 Aminosäuren ... 300
 - 10.6.3 Aromatische Verbindungen ... 302
 - 10.6.4 Kohlenwasserstoffe ... 308
 - 10.6.5 Fettsäuren ... 312
 - 10.6.6 Purine, Pyrimidine und andere heterozyklische Verbindungen ... 314
- 10.7 Abbau und Cometabolismus von Xenobiotika ... 315**
- 10.8 Unvollständige Oxidationen ... 317**

10.1 Aerobe und anaerobe Mineralisierung

10.1.1 Aerobe Mineralisierung

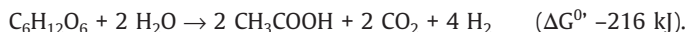
Der **vollständige aerobe Abbau** von organischen Verbindungen ist für ca. 90–95 % des Stoffumsatzes verantwortlich. Er führt zur **Mineralisierung**, d. h. zu den anorganischen Produkten CO_2 , H_2O , Nitrat, Phosphat und Sulfat (Stickstoff und Schwefel werden erst als Ammoniak (NH_3) und Schwefelwasserstoff (H_2S) freigesetzt und dann durch Bakterien zu Nitrat und Sulfat oxidiert (s. Kap. 11). Die Mineralisierung ist das Ergebnis eines komplexen Wechselspiels zwischen Pilzen, Hefen und Bakterien mit Protozoen, sowie mit kleinen Tieren wie Nematoden, Würmern und Insekten und ihren Larvenstadien. Zudem findet im Darmtrakt von Tieren ein Teil des Nahrungsaufschlusses, besonders von Fasermaterial, mithilfe von anaeroben Mikroorganismen statt. Die vollständige Oxidation von Glucose zu CO_2 nach der Gleichung $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{O}_2 \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$ setzt -2870 kJ (ΔG^0) frei. Aerobe Mikroorganismen verwenden etwa die Hälfte der Glucose zur Energiegewinnung, die andere Hälfte für die Synthese von Bausteinen.

10.1.2 Anaerobe Mineralisierung

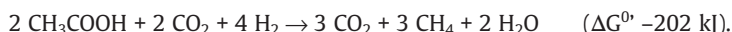
Unter **anaeroben Bedingungen**, wenn die Sauerstoffzehrung die Nachdiffusion von Sauerstoff übertrifft, findet ebenfalls eine vollständige Mineralisierung statt, sofern ein anderer Elektronenakzeptor anstelle von Sauerstoff zur Verfügung steht (**anaerobe Atmung**, s. Kap. 13). In anaeroben Meeressedimenten stellt Sulfat einen solchen, fast unerschöpflichen Elektronenakzeptor dar (ca. 28 mM im Meerwasser). Hier sieht die Bilanz wie folgt aus: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 3 \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 3 \text{H}_2\text{S} + 6 \text{H}_2\text{O}$, wobei die freigesetzte Energie mit -480 kJ (ΔG^0) viel geringer ist als bei der aeroben Mineralisierung.

Fehlt jeglicher Elektronenakzeptor, findet eine unvollständige **anaerobe Mineralisierung** zu Biogas (Methan und CO_2) statt. Vom anaeroben Abbau ausgenommen sind Lignin und ein Großteil der Kohlenwasserstoffe. Deren Anhäufung in Sedimenten und die Biogasbildung haben zur Entstehung von fossilen Kohle- und Öllagerstätten und von Methanhydraten in den urzeitlichen Sümpfen und Sedimenten der Gewässer geführt.

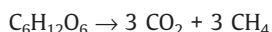
Der anaerobe Mineralisierungsprozess zu Biogas verläuft in mehreren Stufen, an denen eine Kette von gärenden Bakterien, teilweise auch Hefen und ganz selten anaerobe Pilze beteiligt sind. In dieser Nährstoffkette hat jeder Teilnehmer seinen Platz (Kap. 17.8.1). Glucose wird zunächst von verschiedenen Gärern nach folgender Bilanz zu Acetat umgesetzt:



Methanbildende Archaeobakterien setzen dann in einer letzten Stufe die Gärprodukte Acetat, Wasserstoff und CO_2 zu Methan und CO_2 um, nach der Umsatzgleichung:



Die Umsetzung von Glucose zu **Biogas** erfolgt nach der Summengleichung:



Sie entspricht einer vollständigen Disproportionierung des Kohlenhydratkohlenstoffs $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Dieser unter anaeroben Bedingungen bestmögliche Prozess setzt aber nur $-418 \text{ kJ } (\Delta G^0)$ frei. Der geringe Betrag muss für den Lebensunterhalt und das Wachstum von 2–3 verschiedenen Bakterien in der Nährstoffkette ausreichen. Der Großteil der potenziellen Energie der Glucose steckt noch im Methan.

Auch niedermolekulare **Fremdstoffe (Xenobiotika)**, die in der Natur nicht vorkommen, werden zumindest teilweise umgesetzt (Kap. 10.7). Allerdings sind hier natürliche Grenzen gesetzt: Chemisch resistente Moleküle wie Kohlenwasserstoffe mit mehreren Halogenatomen (wie polychlorierte Biphenyle oder Dioxine), aber auch völlig wasserunlösliche polymere Feststoffe ohne jegliche reaktionsfähige funktionelle Gruppen (Teflon, Polyethylen usw.). Diese Substrate haben kein Gegenstück unter den Naturstoffen, für deren Umsetzung Mikroorganismen Enzyme hätten entwickeln können. Sie sind aus physikalischen oder chemischen Gründen für Enzyme nicht zugänglich.

Pilze sind an der aeroben **Zerstörung von komplexen Strukturen** wie Holz maßgeblich beteiligt. Der Angriff würde von der Oberfläche her zu langsam vor sich gehen. Pilze dringen deshalb mit ihren **Mycelfäden** in diese Strukturen ein und schaffen so eine große Oberfläche und einen direkten räumlichen Kontakt der Zelle mit ihrem polymeren Substrat. Die mycelbildenden grampositiven Bakterien, die Actinomyceten und Streptomyceten, spielen in dieser Hinsicht im Boden eine ähnliche Rolle wie die Pilze. Die Nährstoffe für das Wachstum können weit entfernt von den Hyphenspitzen bereitgestellt werden, sodass die Hyphen auch ein vorläufig wenig ergiebiges Substrat erschließen können. Pilze bevorzugen leicht saures Milieu (die Zerstörung der Vakuole der Pflanzen führt zu lokal saurem pH!) und tolerieren Wassermangel. In wässriger Umgebung dominieren dagegen Bakterien, häufig gramnegative Bakterien. Grampositive *Corynebacterium*-, *Nocardia*- und Mykobakterienarten haben wasserabstoßende Oberflächen, die sie für den Abbau von lipophilen Stoffen prädestinieren.

10.2 Gemeinsame Aspekte des Polymerabbaus

Plus 10.1 Endo- und Exospaltung

Im Prinzip unterscheidet man zwei Typen von Exoenzymen: Es gibt solche, die ihr polymeres Substrat dort in der Bausteinkette spalten, wo das Substrat leicht zugänglich ist (**endospaltend**). Und es gibt solche, die von einem Ende der Bausteinkette einzeln oder paarweise Bausteine abspalten (**exospaltend**). Exospaltende Enzyme spalten nur von einem Ende her, z.B. vom nicht-reduzierenden Ende einer Polysaccharidkette oder vom N-terminalen oder C-terminalen Ende eines Proteins. Das Lignin der Pflanzen ist ein besonders schwieriger Fall, da seine Bindungen für Hydrolyse nicht zugänglich sind, sondern Sauerstoff als Reagens erfordern.

Die eigentlichen organischen Substrate der Mikroorganismen sind meist wasserunlösliche **komplexe Verbundstoffe** aus mehreren großen Biopolymeren, von denen keines in die Zelle aufgenommen werden kann. Sie müssen zuerst durch Exoenzyme in ihre monomeren Bausteine oder in oligomere Bruchstücke zerlegt werden. Dabei werden die Bindungen, die bei der Polymersynthese unter Wasseraustritt geknüpft wurden (Glykosid-, Peptid-, Esterbindung), wieder irreversibel mit Wasser gespalten (Plus 10.1). Die entstehenden wasserlöslichen, niedermolekularen Verbindungen werden dann in die Zelle transportiert und dienen als Nährstoffe. Der Abbau der Biopolymere erfolgt außerhalb der Zelle durch hydrolytische **Exoenzyme** und ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Er wird dadurch behindert, dass die Substrate meist nicht wasserlöslich sind. Sie sind aufgrund ihrer Verbindung mit anderen Polymeren chemisch inerte Struktur für Enzyme sozusagen verdeckt (z.B. Lignocellulose der Pflanzen oder der gehärtete Chitinpanzer der Arthropoden). Auch machen teilweise kristalline Bereiche (Cellulose) die Polymere für die Mikroorganismen, ihre Enzyme und sogar für Wasser schlecht zugänglich.

Manche Exoenzyme werden ins Medium ausgeschieden, andere werden an der Außenseite der Zelle, teilweise zusammen mit anderen Enzymen in Form großer **Enzymkomplexe**, gebunden. Das erlaubt eine Konzentrierung der Enzyme an *einer* Stelle und den schrittweisen Abbau der angegriffenen Strukturen. Exoenzyme haben daher neben dem katalytisch aktiven Zentrum oft auch **Bindestellen** für die Anheftung an die eigene Zelloberfläche, an das polymere Substrat und eventuell auch an Oberflächenstrukturen bestimmter Zellen eines Wirtsorganismus. Der Mensch setzt die vielfältigen Exoenzyme zur **biotechnologischen Nutzung** nachwachsender Rohstoffe und ihrer Veredelung ein. Sie sind deshalb die bestuntersuchten Enzyme und die gesuchtesten in der Industrie. Für pathogene Mikroorganismen sind Exoenzyme entscheidende **Pathogenitätsfaktoren**, welche die Strukturen des Wirtes angreifen. Die **Sekretion** von Exoenzymen und die **Regulation** ihrer Biosynthese sind spannende biologische Fragen, an denen intensiv gearbeitet wird (Plus 10.2).

10.3 Abbau von Polysacchariden

Die Hauptprodukte der pflanzlichen Photosynthese sind letztlich die sichtbaren faserigen oder verholzten Strukturen der Pflanzen, welche hauptsächlich aus Zuckern entstanden sind. Die wichtigsten sind die **Strukturpolysaccharide der Pflanzenzellwand**: Cellulose (30–50%), Hemicellulosen (20–30%) und Pectin (3–5%). Die Zucker der Strukturpolysaccharide liegen in der D-Pyranoseform und β -glykosidisch gebunden vor. Die Polysaccharidfasern sind häufig mit Lignin inkrustiert (20–30%), das aus aromatischen Verbindungen entstanden ist. Hinzu kommen **Speicherpolysaccharide**, wie die transient gebildete Stärke in den Chloroplasten und die Stärke in Speichergeweben (2–3 %), welche die Hauptnahrungsquelle des Menschen darstellt. Der Abbau dieser polymeren Kohlenhydrate führt zu Di- und Monosacchariden.

10.3.1 Cellulose

Die **Cellulosefibrillen** sind in eine Matrix von Hemicellulosen und Lignin eingebettet. Eine einzelne Cellulosefibrille besteht aus vielen Mikrofibrillen und diese wiederum aus Elementarfibrillen, die sich aus vielen linearen Cellulosemakromolekülen zusammensetzen. Aufgrund von Wasserstoffbrücken zwischen benachbarten Zuckerketten bilden sich in den Elementarfibrillen neben den amorphen teilweise kristalline Bereiche aus und bestimmen die Festigkeit der Cellulose (Abb. 10.1a). Eine Cellulosefaser ist so zugfest wie ein gleich dickes Stück Stahldraht. Die Cellulosemoleküle bestehen aus mehreren Tausend Glucosemolekülen, die β -1,4-glykosidisch gebunden sind. Die Grundeinheit ist das Disaccharid **Cellobiose** (Abb. 10.1b). In dem fadenförmigen Molekül sind die Zuckereinheiten zickzackförmig jeweils um 180° gegen einander verdreht.

Cellulasen hydrolysieren diese Bindungen. Sie sind an die Oberfläche der Pilze und Bakterien gebunden, stellen auf diese Weise einen engen Kontakt mit dem Substrat her und gewährleisten eine rasche Aufnahme der löslichen Spaltprodukte. Die Mikroorganismen legen sich dazu mit ihrer Längsachse parallel zur Faserrichtung eng an die Fibrille.

Cellulasen bilden eine ganze Enzymfamilie. Endoglucanasen spalten zuerst die amorphen wasserzugänglichen Bereiche der Cellulose (Abb. 10.1c). Die so freigelegten freien Enden werden vom nichtreduzierenden Ende her von Exoglucanasen zu Tri- und Disaccharideinheiten (Cellobiose)

Plus 10.2 Regulation der Sekretion von Exoenzymen

Die Sekretion der Exoenzyme erfordert einen Proteinsekretionsapparat und ihre Synthese wird strikt reguliert. Der Proteinexport wird an anderer Stelle (Kap. 9) besprochen. Wie erkennt eine Zelle, dass außen ein polymeres Substrat wie Cellulose vorhanden ist? Exoenzyme werden immer in kleinen Mengen gebildet. Die von ihnen freigesetzten charakteristischen **oligomeren Bruchstücke** der Polymere (z.B. das Disaccharid Cellobiose) wirken bereits in niedrigen Konzentrationen als Signal für das Vorhandensein des polymeren Substrats (z.B. Cellulose), aus dem sie stammen. Die Bruchstücke werden aufgenommen und induzieren die verstärkte Synthese des Exoenzyms, z.B. durch ein Zweikomponentensystem. Dagegen signalisieren **monomere Bruchstücke** (z.B. Glucose), dass leicht abbaubare Substrate vorhanden sind und reprimieren die Exoenzymsynthese (Katabolitrepession, Glucose-Effekt, Kap. 16.5).

Sinnvollerweise beginnt die Synthese von Exoenzymen häufig erst beim Übergang in die stationäre Wachstumsphase oder in die Sporulationsphase. Die gut erschließbaren Wachstumssubstrate sind dann aufgezehrt, die Zelle stellt sich auf das Überleben unter Mangelbedingungen und auf Stress ein. Diese Mangelsituation ist eher der Normalzustand im Leben von Mikroorganismen. Das gilt natürlich nicht für die intrazellulären Speicherpolymere (Kap. 8.7.6) und deren Abbau durch intrazelluläre Enzyme.

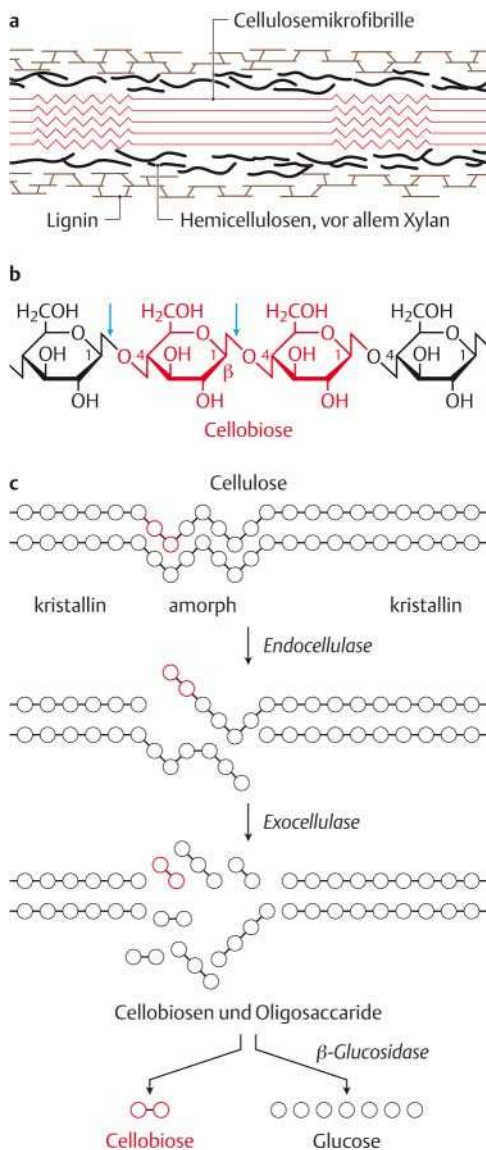


Abb. 10.1 Abbau der pflanzlichen Zellwand.

a Aufbau einer Cellulosemikrofibrille aus Cellulose, Hemicellulosen und Lignin. Die Cellulose enthält kristalline und amorphe Bereiche; an letzteren setzt der Abbau ein. **b** Cellulose besteht aus einer Kette von β -1,4-glykosidisch verknüpften Glucosemolekülen. Das Dissaccharid Cellulose ist rot gezeichnet, die Pfeile geben die Angriffsstellen der Enzyme an. **c** Abbau einer Cellulosefibrille. Der Angriff beginnt im amorphen Bereich durch Endocellulase (Endo- β -1,4-Glucanase). Die Exocellulase spaltet von freigesetzten nichtreduzierenden Kettenenden Di- und Oligosaccharide ab. Eine β -Glucosidase spaltet ebenfalls die glykosidische Bindung und es entsteht Glucose.

gespalten. Cellobiose wird durch Cellobiase (eine β -1,4-Glucosidase) in Glucoseeinheiten gespalten. Glucose und Cellobiose werden in die Zelle transportiert (Kap. 10.6.1). Cellobiosephosphorylase kann intrazellulär die glykosidische Bindung phosphorolytisch spalten und erspart ATP zur Aktivierung von Glucose:



Einige besondere Aspekte des Celluloseabbaus werden gesondert besprochen (Plus 10.3).

Plus 10.3 Celluloseabbau

Beim Celluloseabbau spielen neben Pilzen auch Bakterien, die auf den Abbau komplexer Strukturen spezialisiert sind und von denen manche Arten Mycelien ausbilden, eine große Rolle. Beispiele sind Myxobakterien, Actinomyceten, Streptomyceten, *Cellulomonas*- und *Bacillus*-Arten und unter anaeroben Bedingungen *Clostridium*-Arten. Pilze sind besonders effektiv in der Zerstörung von Holz und im Abbau von Cellulose, die stark mit Lignin inkrustiert ist. **Braunfäulepilze**, wie der Hausschwamm, greifen Cellulose an und lassen das rotbraune (nicht mehr tragfähige!) Lignin zurück. Bei Clostridien sind insgesamt über ein Dutzend cellulose- und xylanspaltende Enzyme an der Zelloberfläche als Multienzymkomplex organisiert. Dieser ist als **Cellulosompartikel** elektronenmikroskopisch sichtbar. Vom anaeroben **Celluloseabbau im Pansen** der Wiederkäuer (Rind, Schaf, Ziege), an dem eine eigene anaerobe Bakterien- und Protozoenfauna und in geringem Umfang anaerobe Pilze beteiligt sind, lebt indirekt der Mensch. Die Gärprodukte Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure werden vom Tier resorbiert, die Einzeller werden teilweise im Darm verdaut und daraus Fett und Eiweiß (Milch, Fleisch) aufgebaut.

10.3.2 Hemicellulosen

Der Begriff Hemicellulosen ist ein Sammelbegriff für **alkalilösliche Polysaccharide** der sekundären Pflanzenzellwand, ausgenommen Cellulose und Pectin. Sie sind die zweithäufigste Zuckerquelle. Das glykosidische C1-Atom der Zucker (*D*-Pyranosen) ist mit der OH-Gruppe am C4-Atom, selten auch an C3 oder C6 eines anderen Zuckers β -glykosidisch verknüpft. Nach der Hauptzuckerkomponente unterscheidet man **Xylane** (aus Xylose), **Mannane** (aus Mannose) und **Galactane** (aus Galactose). Hemicellulosen enthalten im Unterschied zur Cellulose noch andere Zucker sowie zahlreiche Seitengruppen wie Acetylerster, Methylether und Uronsäuren. Sie bilden kürzere Ketten, sind verzweigt und nicht kristallin, und somit besser wasserlöslich und relativ gut abbaubar. Deshalb ist der Hemicelluloseabbau viel weiter verbreitet als der Celluloseabbau.

Xylane stellen den Hauptteil der Hemicellulosen. Im Vergleich zur Cellulose tritt an die Stelle der Hexose β -D-Glucose die Pentose β -D-Xylose, die sich von der Pyranoseform der *D*-Glucose formal nur dadurch unterscheidet, dass die C6-Gruppe (CH_2OH) durch ein H-Atom ersetzt ist (Abb. 10.2). Xylane enthalten auch Glucuronsäure und Arabinose und sind mit aromatischen (phenolischen) Säuren verestert. Die letzteren sind über Etherbrücken mit dem Lignin verbunden. Für **Xylanasen** gilt, entsprechend abgewandelt, was über Cellulasen gesagt wurde. Für die Abspaltung der Seitengruppen sind zusätzliche Enzyme nötig. Das Hauptprodukt des Abbaus ist neben Xylose das Disaccharid Xylobiose. Organismen, die Xylan abbauen, verwerten Pentosen meist über den Pentosephosphatzyklus (Kap. 7.2.2).

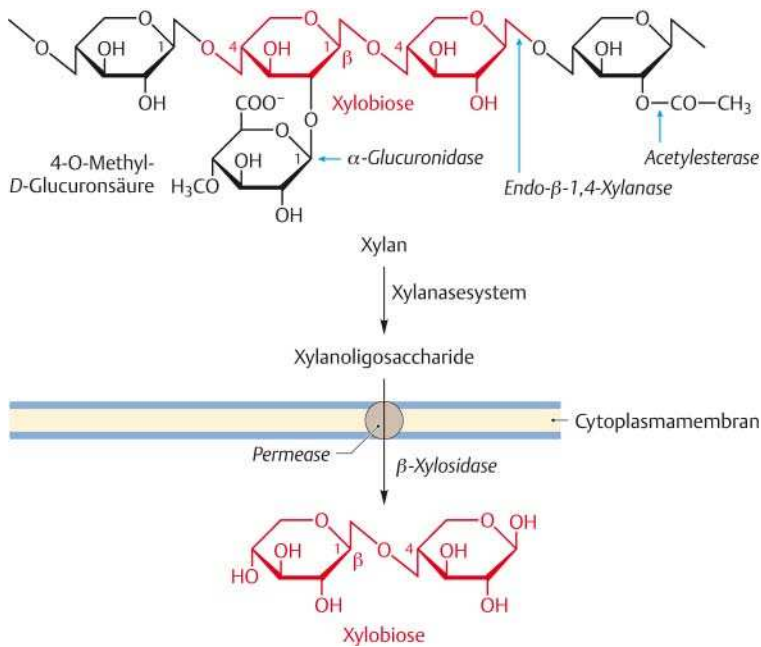


Abb. 10.2 Struktur von Xylan und am Abbau beteiligte Enzyme. Die Pfeile zeigen die Angriffspunkte der entsprechenden Enzyme. Die Xylobiose-einheit ist rot hervorgehoben.

10.3.3 Pectine

Pectine sind Polysaccharide der Mittellamellen der pflanzlichen Zellwand. Sie kommen in löslicher Form auch in Früchten vor (Geliermittel). Es sind **polyanionische lineare Polymere** aus α -1,4-verbundenen Zuckersäuren wie Galacturonsäure. Die C6-Säuregruppe ist teilweise mit Methanol verestert (Abb. 10.3). **Pectinasen** sind eine komplexe Mischung aus endo- und exospaltenden Enzymen. Hinzu kommen Methylesterasen, die Methanol freisetzen. Pectine sind die wichtigste Methanolquelle in der Natur.

Pectinasen aus Pilzen werden genutzt, um Fruchtsäfte zu klären und Früchte enzymatisch zu mazerieren, um die Saftausbeute beim Pressen zu erhöhen. Pectinolytische Fähigkeit ist bei phytopathogenen Bakterien

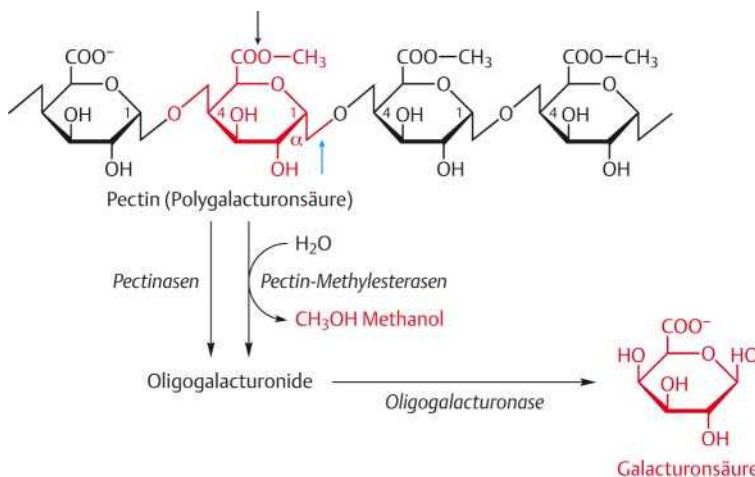


Abb. 10.3 Struktur und Abbau von Pectin. Pectin besteht aus einer Kette von α -1,4-glykosidisch verknüpften Galacturonsäuren, die durch Pectinase, Pectinmethylesterase und Oligogalacturonase abgebaut werden. Die Pfeile zeigen die Angriffspunkte der entsprechenden Enzyme.

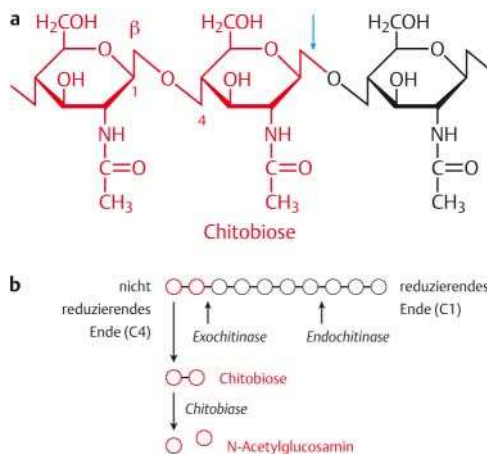


Abb. 10.4 Struktur und Abbau von Chitin.

a Chitin besteht aus einer Kette von β-1,4-glykosidisch verknüpften N-Acetylglucosamineinheiten. Zwei solcher N-Acetylglucosamine bilden das Disaccharid Chitobiose (rot dargestellt). **b** Der Abbau des Chitins erfolgt durch Exo- und Endochitinasen. Chitobiase spaltet die entstandene Chitobiose in das Monosaccharid N-Acetylglucosamin. Die Pfeile zeigen die Angriffspunkte der jeweiligen Enzyme.

und Pilzen weit verbreitet und ein wichtiger Pathogenitätsfaktor, kommt aber auch bei Bacillen und anaeroben Clostridien vor. Früher machte man sich deren Fähigkeit bei der Flachsröste zunutze. Dabei wird das Pectin der Mittellamelle durch Bakterien verdaut und die Cellulosefasern des Flachsstängels werden somit freigesetzt.

10.3.4 Andere Polysaccharide

Neben den Polysacchariden der Pflanzen gibt es eine Vielzahl weiterer Polysaccharide. Von Bedeutung ist **Agar**, der in marinen Algen teilweise in großen Mengen vorkommt. Agar besteht aus D-Galactose und 3,6-Anhydrogalactose, die alternierend durch β-1,4- und β-1,3-Bindungen verknüpft sind. Bakterien und Pilze produzieren eine Vielzahl von Exopolysacchariden. Auf alle diese Verbindungen einzugehen würde den Rahmen dieses Lehrbuchs sprengen.

10.3.5 Chitin und Murein

Aus **Chitin** bestehen die Zellwandfasern von Pilzen und einigen Algen, aber auch das Exoskelett von Arthropoden (Insekten, Spinnen und Krebstieren). Im Exoskelett werden die Polysaccharide nach der Häutung mit Phenolen quervernetzt („gegerbt“) oder es wird Kalk eingelagert (calcifiziert). Diese Prozesse haben ähnliche Auswirkungen wie die Lignifizierung von Cellulose, sowohl was die Stabilität der Struktur als auch was die erschwerte Abbaubarkeit betrifft. Der Abbau des Chitins durch **Chitinasen** kann deshalb mit dem Lignocelluloseabbau durch Bakterien und Pilze verglichen werden.

Dieses wichtige Polysaccharid besteht aus β-1,4-glykosidisch verbundenen Einheiten von N-Acetyl-D-Glucosamin (Abb. 10.4a). Das Produkt des Abbaus ist das Disaccharid **Chitobiose**, das durch Chitobiase in seine monomeren Zuckerbausteine **N-Acetylglucosamin** gespalten wird (Abb. 10.4b).

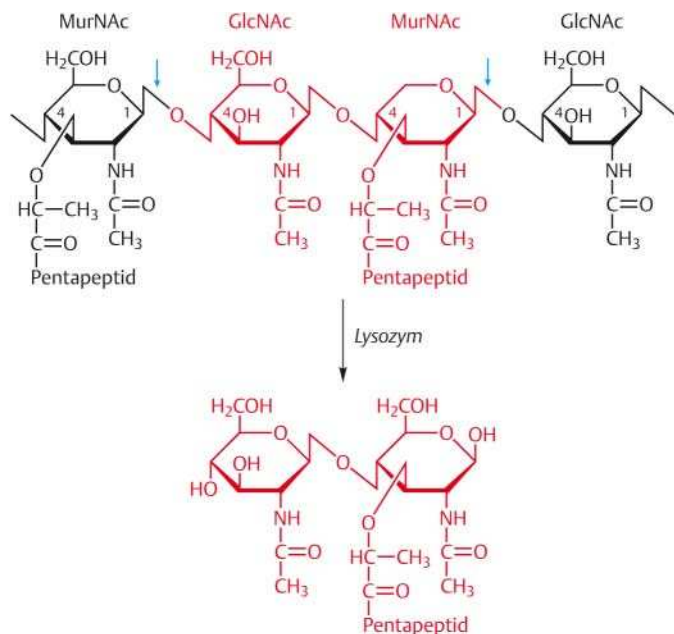


Abb. 10.5 Struktur und Abbau von Murein.

Murein besteht aus alternierenden β-1,4-glykosidisch verknüpften Einheiten aus N-Acetylglucosamin (GlcNAc) und N-Acetylmuraminsäure (MurNAc). Die MurNAc trägt über eine Etherbindung ein Pentapeptid (vgl. Abb. 5.12 S. 134); die β-1,4-glykosidische Bindung, welche durch Lysozym gespalten wird, ist mit einem Pfeil gekennzeichnet.

Chitobiose und N-Acetylglucosamin werden in die Zelle transportiert. Bei Bakterien geschieht dies oft über das Phosphotransferasesystem (Kap. 9.2.3). N-Acetylglucosamin wird dabei zu N-Acetylglucosamin-6-phosphat aktiviert. Durch Hydrolyse wird die Acetylgruppe abgespalten und das entstandene Glucosamin-6-phosphat wird zu Fructose-6-phosphat desaminiert, aus dem es ursprünglich auch biosynthetisch entstanden ist.

Chitin kann von Pilzen und Bakterien, darunter insektenpathogene Arten, abgebaut werden. Beispiele sind Bakterien der Cytophaga-Gruppe, Actinomyceten und Streptomyceten. In Sonderfällen wird Chitin zu dem klebrigen Chitosan deacetyliert, für das es technische Anwendungen gibt.

Die typische Zellwandsubstanz der Eubakterien, das **Murein**, ist ein Peptidoglykan mit alternierend β -1,4-glykosidisch verbundenen Einheiten aus N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäurepentapeptid-Einheiten. Das bekannteste zellwandlytische Enzym ist **Lysozym**, welches die glykosidische Bindung zwischen dem C1 der N-Acetylmuraminsäure und dem C4 des N-Acetylglucosamins spaltet. Dabei entsteht ein Disaccharid mit einem Lactylether und Peptidrest an einem der Amino Zucker (Abb. 10.5).

10.3.6 Stärke

Die Stärke, der häufigste **Speicherstoff** der Pflanzen, besteht aus hundert bis tausenden α -1,4-glykosidisch verknüpften D-Glucoseeinheiten (**Amylose**). Sie bilden eine Wendel, in die sich Jod einlagern kann (Stärkeblau zum Nachweis von Stärke bzw. von Jod). Amylose ist in heißem Wasser leicht löslich. Häufiger ist das verzweigte **Amylopectin**, bei dem etwa

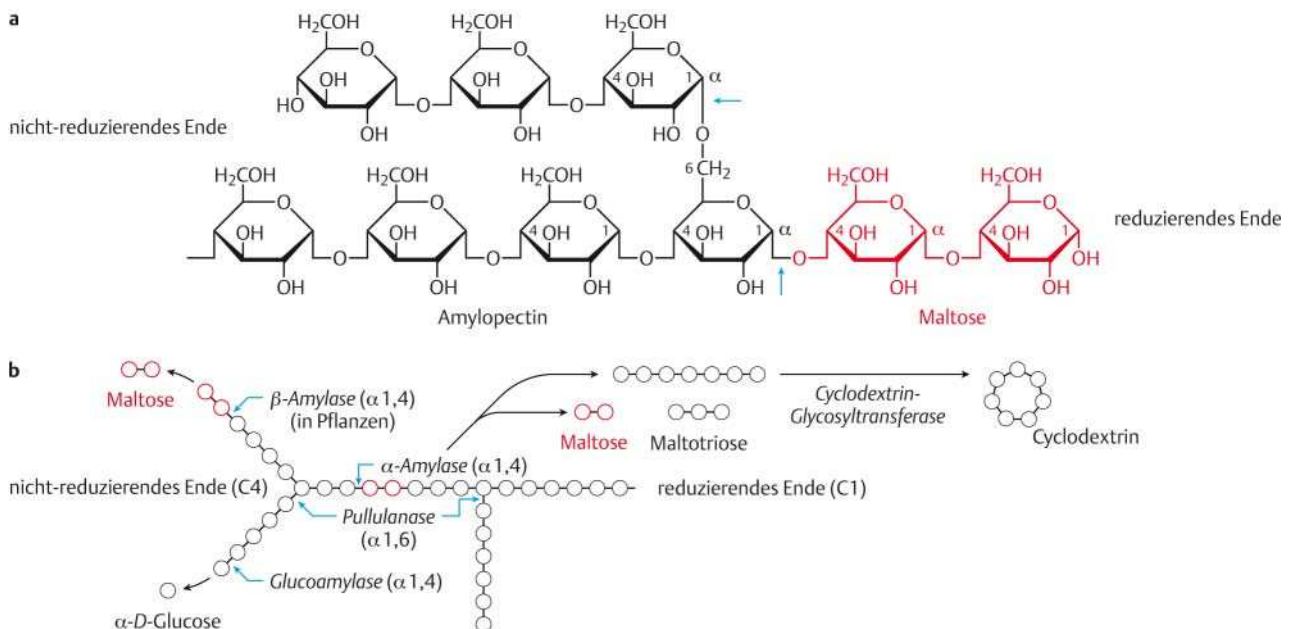


Abb. 10.6 Struktur und Abbau von Amylopectin. **a** Amylopectin besteht aus einer Kette von α -1,4-glykosidisch verknüpften Glucoseeinheiten. Etwa bei jedem 25. Glucosemolekül verzweigt sich diese Kette über eine α -1,6-glykosidische Verknüpfung. Die Pfeile geben die Angriffsstellen der abbauenden Enzyme an. **b** Die verschiedenen Bindungen innerhalb des Amylopectins werden jeweils von spezifischen Enzymen gespalten (beachte, dass sich die Bezeichnung α - und β -Amylase auf die α - bzw. β -Stereokonfiguration der glykosidischen C1-OH-Gruppe des freigesetzten reduzierenden Endes des Zuckers beziehen; beide Enzyme spalten nur α -glykosidische Bindungen). β -Amylase kommt in Pflanzen, aber nicht in Bakterien vor und bildet Maltose.

Plus 10.4 Biotechnologische Aspekte des Stärkeabbaus

Die stärkehydrolysierenden Enzyme haben naturgemäß eine große wirtschaftliche Bedeutung. Die Verwertung von Stärke ist bei Bakterien und Pilzen weit verbreitet, die wichtigsten Enzymproduzenten sind *Aspergillus*-Arten. Das entzweigende Enzym, welches die α -1,6-Bindung spaltet, wird oft als Pullulanase bezeichnet und ist nach dem Rußtaupilz *Aureobasidium pullulans* benannt. Dieser Pilz bildet ein lineares Speicherpolymer (Pullulan) aus Maltotrioseeinheiten, welche miteinander α -1,6-verknüpft sind. Aber auch extremophile Bakterien können mit einer Vielzahl von thermostabilen oder bei Kälte aktiven Glucosidasen Stärke abbauen. Hefen bilden dagegen keine Amylasen. Deshalb ist man bei der alkoholischen Vergärung von Stärke enthaltendem Material auf die Amylasen des Keimlings (z.B. beim Bierbrauen) oder auf Pilze wie *Aspergillus oryzae* (z.B. bei der Herstellung von Reiswein) angewiesen. Eine besondere Reaktion katalysieren Cyclodextrin-Glucosyltransferasen (Abb. 10.6b). Sie haben endo-1,4-spaltende α -Amylaseaktivität und können zusätzlich eine glykosidische Bindung zwischen C1 des reduzierenden Endes und C4 des nicht-reduzierenden Endes kurzer Glucoseketten (6, 7 oder 8 Glucoseeinheiten) ausbilden. Die entstehenden ringförmigen Oligosaccharide, die (α -, β -, und γ -)Cyclodextrine, sind wegen ihrer Fähigkeit, Einschlusskomplexe zu bilden, technisch vielseitig anwendbar.

jeder 25. Zucker am C6-Atom eine α -1,6-verknüpfte Zuckerseitenkette trägt (Abb. 10.6a). Es bildet in heißem Wasser Stärkekleister. Noch stärker verzweigt ist das **Glykogen** der Tiere, das mit Jod braun reagiert.

Endospaltung durch **α -Amylasen** verflüssigt die Stärke rasch (Abb. 10.6b). Letztlich entstehen, neben Oligosacchariden mit 3–10 Glucoseeinheiten, das Disaccharid Maltose und das Monosaccharid Glucose. Exoabsplattung vom nichtreduzierenden Ende her durch **Glucoamylase** liefert Glucose (rasche Verzuckerung). Durch Einwirkung dieser beiden Enzyme allein kommt man schließlich zu einem so genannten Grenzdextrin, eine Reststärke mit vielen Verzweigungen. Die α -1,6-Bindung an den Verzweigungsstellen wird durch ein drittes, endospaltendes Enzym, **Pullulanase**, gespalten. Glucose und Maltose sowie niedere Oligomere werden in die Zelle transportiert. Auf die biotechnologischen Aspekte des Stärkeabbaus wird gesondert eingegangen (Plus 10.4).

10.3.7 Fructane

In vielen Pflanzenfamilien kommen lösliche **Fructane** (Polyfructosane) als rasch zugängliche Energiespeicher in Vakuolen vor. Fructane bestehen aus einer Saccharoseeinheit, an deren Glucose- oder Fructoseil weitere Fructosemoleküle gebunden sind. Fructane werden auch von Mikroorganismen rasch verwertet.

10.4 Abbau von Lignin

Der Abbau von Lignin und Kohlenwasserstoffen, die beide nicht durch einfache hydrolytische Spaltung von Bindungen zerlegt werden können, benötigt molekularen Sauerstoff. Lignin ist nach den Kohlenhydraten der mengenmäßig zweitwichtigste Naturstoff, der 10–30 % der Masse der Gefäßpflanzen ausmacht. Dieser **persistente Naturstoff** wird von Pilzen abgebaut. Der Beitrag von Bakterien, vor allem Actinomyceten und

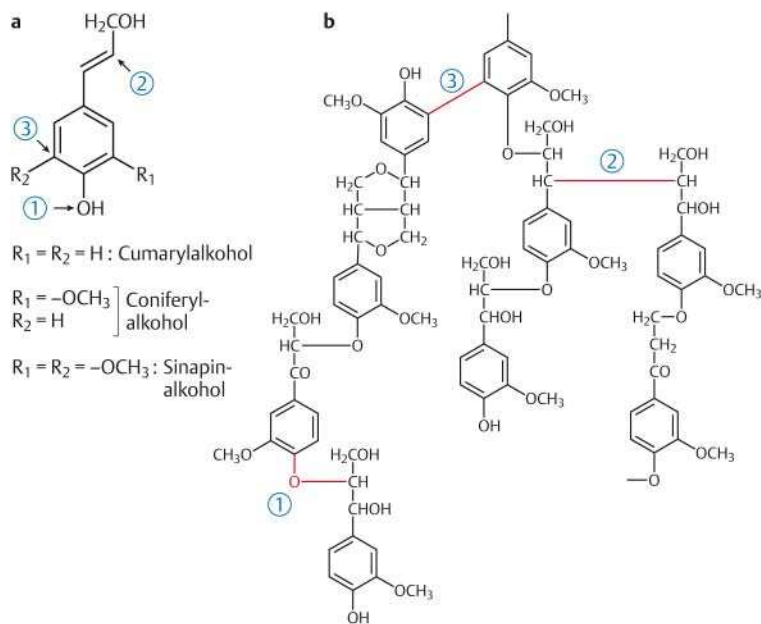
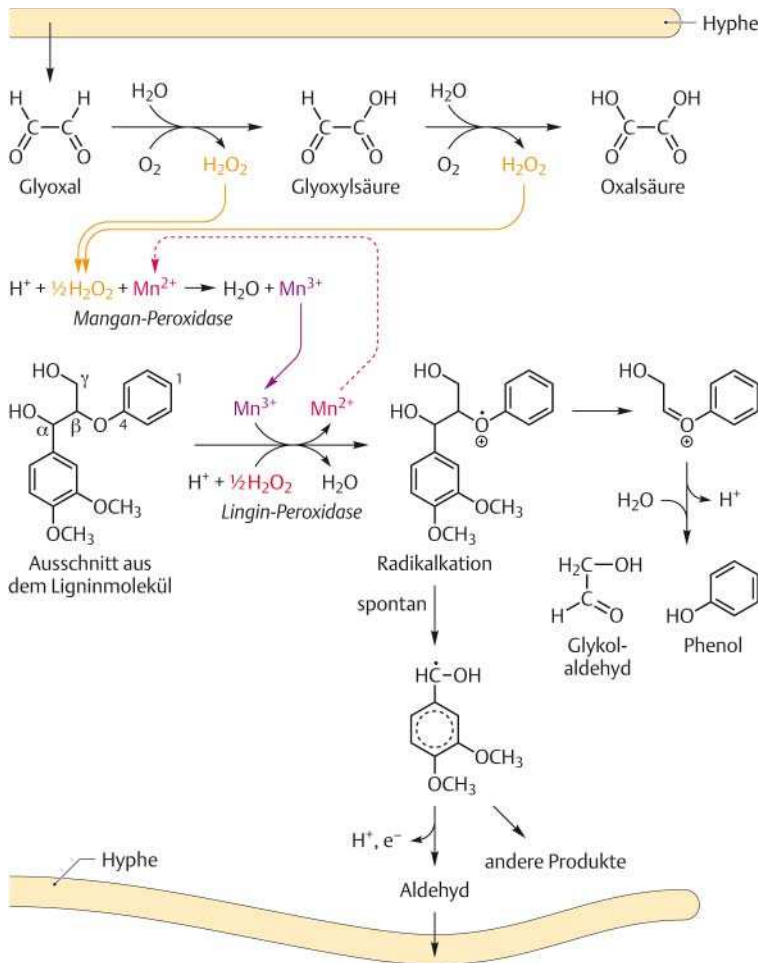


Abb. 10.7 Struktur des Lignins. a Struktur der Monolignole. Die Pfeile geben die Positionen an, die bei der Ligninsynthese durch radikalische Polymerisation bevorzugt eine Bindung eingehen. Die Ziffern beziehen sich auf die Bindungen in (b). b Ausschnitt aus einem Ligninkörper aus Coniferylalkohol. ① β -O-4-Etherbindung; ② C-C-Bindung zwischen den Seitenketten; ③ Biarylbindung zwischen zwei Aromatenringen.

Streptomyceten, zum Ligninabbau ist begrenzt und betrifft eher die letzten Stufen. Lösliche Ligninfragmente dürften dagegen von vielen Bakterien verwertet werden (Kap. 10.6.4). Lignin findet sich besonders im Holz (18–30 %). Es ist aus aromatischen Phenylpropaneinheiten (C_6-C_3 -Körper) aufgebaut, die aus einem phenolischen Aromaten (C_6) mit mindestens einer freien phenolischen OH-Gruppe und einem C_3 -Alkoholrest mit Doppelbindung bestehen.

Bei diesen Bausteinen handelt es sich um die Monolignole *p*-Cumaryl-, Coniferyl- und Sinapinalkohol, die in verschiedenen Pflanzen in unterschiedlichen Mengenverhältnissen vorkommen (Abb. 10.7). Um Struktur und Probleme beim Abbau von Lignin zu verstehen, macht man sich am besten mit der ungewöhnlichen Synthese von Lignin durch die Pflanzen bekannt (Plus 10.5).

Pilze bauen Lignin ab, um die Cellulose und Hemicellulosen, die ihre eigentlichen Wachstumssubstrate darstellen, verwerten zu können. Lignin allein kann nicht als einzige C- und Energiequelle dienen. Daneben erschließt der Ligninabbau auch in Proteinen gebundenen Stickstoff. Pilze bilden im Gegensatz zu Bakterien **Hyphen** aus, mit denen sie komplexe Strukturen netzartig durchdringen können. Das Wachstumssubstrat kann dabei erst einmal weit entfernt von den Hyphenspitzen liegen.



Plus 10.5 Radikalische Polymerisation bei der Ligninsynthese

Bei der Synthese des Lignins in Pflanzen werden die Phenylpropaneinheiten mithilfe von Sauerstoff radikalisch zu einem dreidimensionalen Riesenmolekül mit undefinierter Struktur polymerisiert. Durch Entzug eines H-Atoms reagiert das entstehende Substratradikal entsprechend seinen mesomeren Grenzstrukturen vor allem mit der Doppelbindung und der phenolischen OH-Gruppe wahllos und spontan mit dem nächstgelegenen Baustein unter Ausbildung einer Bindung. Die in Gang gesetzte Kettenreaktion setzt sich in alle Raumrichtungen fort, bis kein geeignetes Substrat mehr in der Nähe ist. Die entstehenden Bindungen (β -O-4-Ether-, C-C- und Biarylbindungen) sind chemisch enorm stabil. Lignin ist eng mit Cellulose und Hemicellulosen der sekundären Pflanzenzellwand verknüpft (inkrustiert, Lignocellulose). Diese Verholzung bedingt die Widerstandsfähigkeit, Elastizität und Druckfestigkeit von Holz.

Abb. 10.8 Ligninolytisches System eines Weißfäulepilzes. Um Lignin abzubauen zu können, exkretiert der Pilz sowohl Enzyme als auch Moleküle, bei deren Oxidation H_2O_2 entsteht, das wiederum für den Abbau von Lignin benötigt wird. Der Abbau verläuft über Radikalkationen, die spontan zerfallen. Die entstehenden Produkte (Alkohole und Aldehyde) werden zum Teil vom Pilz aufgenommen oder dienen den extrazellulären Oxidasen als Substrat, wie z. B. Glykolaldehyd (siehe auch Text).

Plus 10.6 Humusbildung

Lignin ist das pflanzliche Massenprodukt, welches biologisch am langsamsten abgebaut wird. Beim Abbau von Pflanzenmaterial bleiben ein großer Teil des Lignins und dessen unvollständige aromatische Abbauprodukte übrig. Sie bilden die **Humusstoffe**, die für die Bodenfruchtbarkeit entscheidend sind. Unter Luftausschluss, z. B. in Mooren, bleibt Lignin liegen und bildet Torf, aus dem in geologischen Zeiträumen unter Druck und höherer Temperatur zuerst **Lignit**, dann **Braunkohle** und zuletzt **Steinkohle** entstehen. Die Humusbildung aus Lignin ist ein komplexer Vorgang. Es sind auch andere schwer abbaubare Stoffe wie Wachse, Kohlenwasserstoffe, Kohlenhydrate und abbauresistente Proteine daran beteiligt. Während das **C:N-Verhältnis** im Pflanzenmaterial etwa 40:1 ist, ist es im Humus 10:1. Freilich liegt der Stickstoff hier nicht in löslichen Verbindungen, sondern in Form von einpolymerisierten N-haltigen Verbindungen vor, aus denen er durch Bodenmikroorganismen erst langsam wieder in verwertbarer Form freigesetzt wird. Beim Ligninabbau zu kleineren Bruchstücken und vor allem bei der Spaltung von aromatischen Ringen mit Sauerstoff (Kap. 10.6.) entstehen viele Carbonsäuregruppen (Huminsäuren). Diese wirken als **Kationenaustauscher** und bilden zusammen mit basischen Bodenbestandteilen und Tonkolloiden ein günstiges Ionengleichgewicht. Sie binden vor allem Alkali- und Erdalkali-Ionen und puffern den pH-Wert. Wo diese basischen Mineralien fehlen, z. B. in Heide, Nadelwald und Torf, reagiert Rohhumus deshalb sauer.

Je dicker die Humusschicht, desto größer ist das **Wasserrückhaltevermögen** des Bodens. In den warmfeuchten Tropengebieten erfolgt die **Humuszersetzung** durch Bodenmikroorganismen und -tiere so rasch, dass sich keine nennenswerte Bodenschicht ausbilden kann. Die Entwaldung führt zu einer raschen Bodenverarmung und zur Austrocknung. In manchen Steppengebieten verhindern dagegen kalte Winter und trockene Sommer die Humusmineralisierung; es bilden sich humusreiche, fruchtbare Schwarzerdeböden.

Weißfäulepilze bauen bevorzugt Hemicellulosen und Lignin ab und lassen die weißen Cellulosefasern zurück. Braunfäulepilzen gelingt es, Hemicellulosen und auch Cellulose weitgehend abzubauen. Sie lassen die rotbraune Ligninmasse zurück (Plus 10.3, S. 288). Der Ligninabbau ist hauptsächlich verantwortlich für die Bildung von Humusstoffen und damit für die Bodenfruchtbarkeit (Plus 10.6).

Wegen der Komplexität der wasserunlöslichen Ligninstruktur studiert man den Ligninabbau mit niedermolekularen wasserlöslichen Modellverbindungen. Modellorganismen dafür sind **Weißfäulepilze** wie *Phanerochaete chrysosporium*. Der Ligninabbau erfolgt durch extrazelluläre Enzyme, die an den Hyphenspitzen in Membranvesikeln durch Exocytose freigesetzt werden (Abb. 10.8). Die Enzyme haben gemeinsam, dass sie dem Substrat abhängig von H_2O_2 ein Elektron entziehen. In Abb. 10.8 ist der Abbau einer löslichen Modellverbindung gezeigt. Die entstehenden **Radikalkationen** zerfallen spontan in Bruchstücke oder sie knüpfen mit anderen Bruchstücken erneut Bindungen. Der Ligninabbau erfordert neben diesen Exoenzymen also auch Sauerstoff, Hilfsenzyme, eine organische Elektronenquelle für die Bildung von H_2O_2 , sowie Metalle und Komplexbildner. Die organischen Cofaktoren entstehen sinnvoller Weise als Nebenprodukte beim Abbau des Lignins. Beim Abbau wird Lignin in mehrere Bruchstücke gespalten. Die Seitenkette des C_6-C_3 -Körpers ergibt Glykolaldehyd, der Rest der C_6-C_3 -Verbindung liefert ein Benzaldehydderivat und der phenolische Rest wird aus der Etherbindung freigesetzt. Beide Aldehyde werden mit O_2 durch Oxidasen (z. B. Glyoxaloxidase) unter Bildung von H_2O_2 zu Säuren oxidiert. H_2O_2 entsteht auch durch Glucoseoxidase, welche die aus Cellulose freigesetzte Glucose nutzt. Aus dem C_2 -Bruchstück entsteht letztlich Oxalsäure, ein guter Komplexbildner. Dieser wird benötigt, um Mn-Kationen zu binden. H_2O_2 ist das Cosubstrat der **Peroxidasen**; es dient u. a. dazu, Mn^{2+} zu Mn^{3+} zu oxidieren.

Die ligninspaltenden Enzyme sind vor allem **Häm-Enzyme**, Ligninperoxidase und Mn-abhängige Peroxidase. Sie verwenden H_2O_2 (Wasserstoffperoxid) als Oxidationsmittel. Ihre Wirkung kann im Labor durch Fenton-Reagens nachgeahmt werden (Box 10.1). Daneben spielen die Cu-enhaltenden Laccasen als unspezifische Polyphenol-Oxidasen eine Rolle. Die Mn-abhängige Peroxidase greift vor allem die häufigen β -O-4-Etherbindungen der Phenole an. Mn^{3+} ist ein unspezifisches starkes Oxidationsmittel (Mn^{2+}/Mn^{3+} ; in aquatisierter Form $E^0 + 1,5$ V), das in komplexierter Form von der Peroxidase wegdiffundiert und entfernt von der lebenden Hyphe beim Ligninabbau wirksam wird. Es entzieht dem Lignin ein Elektron und erzeugt so das reaktive Radikalkation. Dabei entsteht Mn^{2+} , das durch die Peroxidase mit Hilfe von H_2O_2 wieder zu Mn^{3+} oxidiert wird. Möglicherweise spielen noch andere niedermolekulare Mediatoren eine Rolle, die reaktive Radikale erzeugen. Da das Mn^{3+} -Reagens unspezifisch ist, reagiert es auch mit Fremdstoffen. Lignin abbauende Pilze sind deshalb maßgeblich an der aeroben Beseitigung von **Xenobiotika** im Boden beteiligt (Kap. 10.7).

Box 10.1 Fenton-Reagens

Das Fenton-Reagens ($Fe^{2+} + H_2O_2$) ist ein anorganisches Modell für die Peroxidasen. Gibt man H_2O_2 mit Fe^{2+} zusammen, entsteht ein Hydroxylradikal ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^\bullet$). Das Hydroxylradikal ist das stärkste Oxidationsmittel in biologischen Systemen ($OH^\bullet + H^+ + e^- \rightarrow H_2O$; $E^0 = +2,18$ V). Es oxidiert wahllos alle möglichen Verbindungen.

10.5 Abbau von Proteinen, Nukleinsäuren und Lipiden

10.5.1 Proteine

Proteine sind der Hauptbestandteil des Cytoplasmas. Sie bestehen aus den 20 L-Aminosäuren, die linear durch Peptidbindungen verbunden sind. Die Peptidbindungen dieser Makromoleküle werden durch extrazelluläre Enzyme hydrolytisch gespalten. Man unterscheidet endospaltende **Proteinasen** (oder auch Proteasen genannt) und exospaltende **Peptidasen**. Letztere Exoenzyme spalten entweder vom N-terminalen Ende her einzelne Aminosäuren ab (Aminopeptidasen) oder sie entfernen sie vom C-terminalen Ende her (Carboxypeptidasen) (Abb. 10.9a). Die entstehenden Oligopeptide und Aminosäuren werden in die Zelle transportiert und die Oligopeptide dort durch intrazelluläre Peptidasen zerlegt (Abb. 10.9b).

Man unterteilt Proteinasen nach der **Natur ihres aktiven Zentrums** in Serin-, Cystein-, Aspartat- und Metalloproteinasen. Diese Gruppen lassen sich gezielt hemmen. Für die Praxis ist die **Seitenkettenspezifität** wichtig, d. h. die Aminosäure, deren Peptidbindung gespalten wird. Ebenso von Bedeutung ist die Temperatur, der pH-Wert oder die Salzkonzentration, bei denen die Enzyme aktiv und stabil sind. Proteinase werden oft in einer inaktiven längeren Prä-Form synthetisiert. Durch Eigenverdau oder mit Hilfe einer aktivierenden anderen Proteinase wird die aktive Form durch Abspaltung eines Peptidrests gebildet.

Schwieriger als bei den wasserlöslichen Proteinen ist der Abbau von wasserunlöslichen Strukturproteinen wie Keratin, Elastin oder Collagen und ähnlichen Proteinen, die Bindegewebe, Sehnen, Haare, Hautoberfläche, Horn oder Federn aufbauen. Solche Proteine sind oft durch Disulfidbrücken quervernetzt.

Auf die biotechnologische Verwendung der Proteinase und ihre Rolle als Pathogenitätsfaktoren wird gesondert eingegangen (Plus 10.7). Proteolytische Aktivität kann mit Säure nachgewiesen werden (Box 10.2).

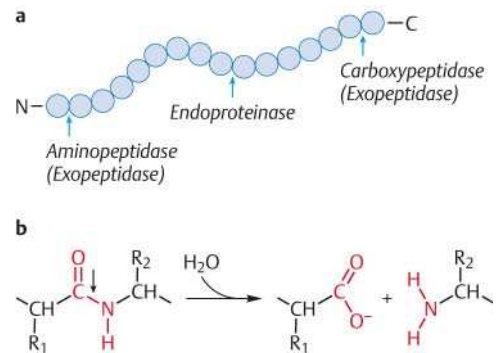


Abb. 10.9 Abbau von Proteinen. a Spaltstellen der verschiedenen Enzyme. b Die Hydrolyse der Peptidbindung.

Box 10.2 Nachweis proteolytischer Aktivität

Proteolytische Aktivität testet man z. B. mit einem Gelatinenährboden, dem man zum Nachweis Säure (HCl) zugibt; unverbrauchte Gelatine fällt weiß aus. Man erkennt Proteolyse an dem klaren Hof, der die proteolytischen Kolonien umgibt.

Plus 10.7 Proteinase

Die **praktische Anwendung** von Proteasen reicht von der Milchwirtschaft, Gerberei, Waschmittelherstellung, biologischen Forschung bis zur medizinischen Praxis.

Bei pathogenen Bakterien zählen spezifische Proteinase zu den wichtigsten **Pathogenitätsfaktoren**. Sie können Bindegewebe auflösen, Hämolyse lysieren Blutzellen. Auch einige hochwirksame Toxine fungieren als Proteinase, die gezielt Schlüsselproteine der Zelle proteolytisch inaktivieren.

Proteolytische Aktivität ist weit verbreitet. Die Aminosäuren dienen als wertvolle C-, N-, S- und Energiequelle. Die meisten Biosynthesewege für Aminosäuren werden nicht benötigt, wenn diese als Bausteine zur Verfügung stehen. Deshalb

sind Peptone oder Tryptone häufig Bestandteil von Wachstumsmedien. Dabei handelt es sich um wasserlösliche, durch Hitze nicht mehr fällbare Gemische von Oligopeptiden und Aminosäuren, die durch Pepsin- bzw. Trypsinverdau billiger Eiweißquellen (Milchweiß, Sojaeiweiß) erhalten werden.

Prokaryonten haben im Unterschied zu höheren Eukaryonten keinen ausgeprägten Protein-Turnover. Dennoch spielen intrazelluläre, für ihre Proteinsubstrate hochspezifische Proteinase auch bei Bakterien eine zentrale Rolle bei der Regulation des Zellstoffwechsels. Hierauf wird in diesem Zusammenhang nicht eingegangen.

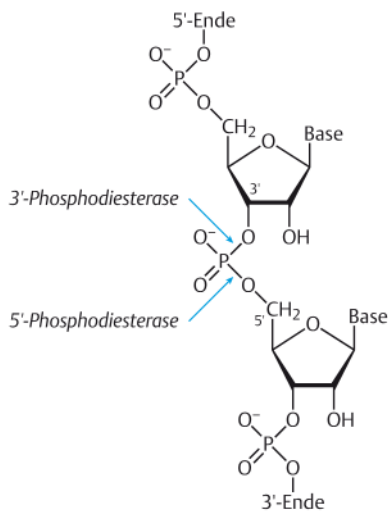


Abb. 10.10 Angriffspunkte für Phosphodiesterasen in einem RNA-Molekül.

10.5.2 Nukleinsäuren

Die Nukleinsäuren RNA und DNA bestehen aus vier (Desoxy)Nukleotiden mit unterschiedlichen Basen, die durch Phosphatesterbindung linear verknüpft sind. Sie bestehen aus Ribose bzw. Desoxyribose, N-glykosidisch gebundener Purin- oder Pyrimidinbase und Phosphat, das die Zuckereinheiten über Diesterbindung verbindet. RNA und DNA werden durch sequenzunabhängige Exoenzyme (**Phosphodiesterasen**) in Oligonukleotide und schließlich in (Desoxy)Nukleosid-3'-phosphate oder (Desoxy)Nukleosid-5'-phosphate gespalten (Abb. 10.10). Diese werden häufig durch periplasmatische unspezifische Phosphatasen in die (Desoxy)Nukleoside und Phosphat gespalten. Die Bruchstücke werden in die Zelle transportiert. Nukleasen teilt man in endo- oder exospaltende Enzyme ein und ob sie RNA, DNA oder RNA-DNA-Hybride, einzelsträngige oder doppelsträngige Nukleinsäuren umsetzen. Intrazelluläre Nukleasen erkennen spezifische Spaltstellen und spielen bei der Regulation des Zellstoffwechsels und im Nukleinsäurestoffwechsel eine entscheidende Rolle. Sie werden hier nicht behandelt.

Beim Turnover der Nukleinsäuren in der Zelle werden (Desoxy)Nukleotide frei. Diese, sowie ihre Bestandteile (Basen, (Desoxy)Nukleoside, (Desoxy)Ribosephosphate) werden durch vielerlei Reaktionen für die Biosynthesen von Nukleinsäuren wiederverwertet. Diese Wiederverwertungsreaktionen nennt man **Salvage Pathways**.

10.5.3 Lipide

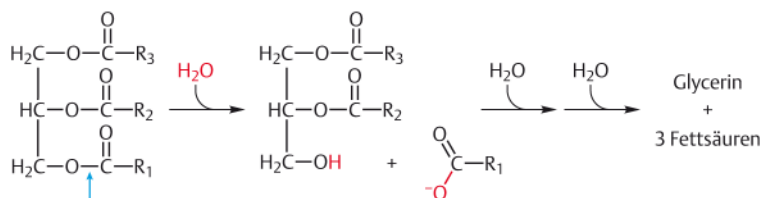
Lipide sind wichtige Zellbestandteile, die als Phospho- oder Glykolipide wesentlich am Aufbau biologischer Membranen beteiligt sind und in Form von Triacylglyceriden als Energiespeicher dienen. Es sind zwar keine Makromoleküle, sie können aber wegen der geringen Wasserlöslichkeit in intakter Form nicht aufgenommen werden und ihr Abbau durch Exoenzyme ähnelt in dieser Hinsicht dem von Makromolekülen.

Triacylglyceride (Fette und Öle) enthalten drei Fettsäuren, die mit Glycerin verestert sind (Abb. 10.11). Sie kommen als Fettspeicher in Samen und Früchten sowie bei Tieren aber auch bei Hefen vor.

Triacylglyceride werden durch **Lipasen** schrittweise in ihre Bestandteile hydrolysiert. Lipasen sind Esterasen (Acyldihydrolasen), die häufig Serin im aktiven Zentrum haben und erst an der Lipid-Wasser-Grenzschicht aktiv werden. Sie werden ins Medium ausgeschieden oder an der Zelloberfläche gebunden. Lipasen sind wichtige Biokatalysatoren, die industriell verwendet werden (Plus 10.8). Die Organismen selbst sind meist an der Oberfläche der Lipidtröpfchen angesiedelt.

Unter **Phospholipasen** fasst man mehrere Enzyme mit unterschiedlichen Spezifitäten zusammen, welche am Abbau von **Phospholipiden** beteiligt sind. Nur das Enzym, welches Phosphat von Glycerin abspaltet (Phospholipase C), wird als Exoenzym ausgeschieden. Es produziert Di-

Abb. 10.11 Natürliche Hydrolyse eines Triglycerids durch Lipasen. Die Angriffsstelle der Lipase ist mit einem Pfeil gekennzeichnet. Die Endprodukte der Hydrolyse eines Triglycerids sind das Glycerin und die 3 Fettsäuren.



acylglycerin, das leicht durch die Membran diffundiert. Beim Abbau von Membranlipiden können zwischenzeitlich sogenannte Lysophospholipide wie das 1-Acylglycerin-3-phosphat entstehen, die intrazelluläre Signalmoleküle in Eukaryonten darstellen. Sie sind außerdem exzellente Detergenzien, die Membranen schädigen. Manche pathogene Bakterien scheiden daher Phospholipasen aus, um Membranen der Wirtszellen durchlässig zu machen und das Wirtsgewebe zu schädigen.

10.6 Abbau niedermolekularer Substanzen

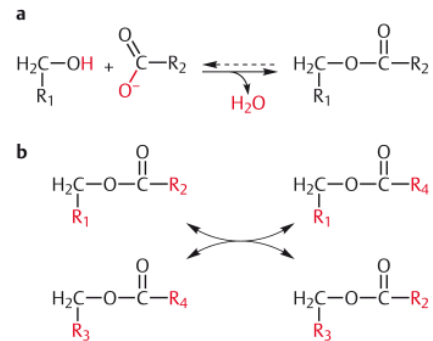
Die Mineralisierung der Substrate in einem Organismus, d. h. ihr vollständiger Abbau zu CO_2 , H_2O , NH_3 , H_3PO_4 und H_2S , lässt sich bei aller Vielfalt der Stoffwechselwege grundsätzlich in zwei Prozesse einteilen: einen oxidativen und einen reduktiven Teilprozess (Abb. 10.12). Auf diese Weise lassen sich die biologische Vielfalt und die vielfältigen Kombinationsmöglichkeiten der Stoffwechselmodule ordnen.

Im **oxidativen Teil** des Stoffwechsels werden die Substrate unter Beteiligung von Wasser vollständig zu CO_2 und H_2O oxidiert. Die anderen Elemente werden als NH_3 , H_3PO_4 und H_2S freigesetzt. Diese Oxidation ist gekoppelt an die Reduktion von elektronenübertragenden Coenzymen, hauptsächlich löslichem NAD(P) und membrangebundenen Chinonen, welche die Energie des gebundenen Wasserstoffs auffangen. Wann immer es energetisch möglich ist, wird im oxidativen Teil des Stoffwechsels eine geringe Menge an ATP durch **Substratphosphorylierung** gebildet. Der Prozess ist meist gekoppelt an die Oxidation einer Aldehyd- oder Ketogruppe zur Säuregruppe unter Ausbildung einer energiereichen Zwischenverbindung. Aus dem zentralen Abbauweg werden auch die **Vorstufen für die Bausteinsynthese** entnommen (s. Kap. 8.7 und Abb. 7.25, S. 224).

Im **reduktiven Teil** des Stoffwechsels werden die reduzierten Elektronenüberträger an der **Membran** wieder oxidiert. Die Elektronen werden

Plus 10.8 Biotechnologische Aspekte des Lipidabbaus

Von biotechnologischer Bedeutung ist die Tatsache, dass Lipasen als nützliche Biokatalysatoren oft in nichtwässrigen Lösungsmitteln noch aktiv sind und dann die Rückreaktion, d. h. die Veresterung von Fettsäuren mit Glycerin oder einem anderen Alkohol, katalysieren. Sie können auch den Alkohol oder die Fettsäure in Estern gegen angebotene andere Verbindungen via Umesterung austauschen (Abb.). Lipasen spielen als Waschmittelzusatz (Entfernung von Fett) und in der Nahrungsmittelindustrie eine wirtschaftliche Rolle.



Weitere Reaktionen von Lipasen. **a** Ester-synthese. **b** Umesterung.

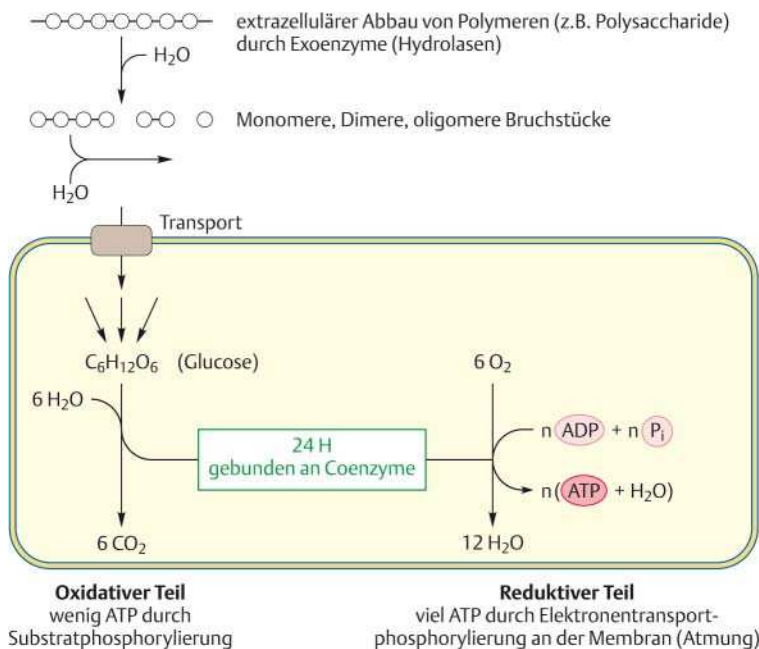


Abb. 10.12 Stoffwechselschema mit oxidativem und reduktivem Teil. Beide Teile sind durch Elektronen übertragende Coenzyme miteinander verbunden. Vorgeschaltet ist der extrazelluläre Abbau der Substrate und der Transport der löslichen Bruchstücke in die Zelle.

in einer Elektronentransportkette auf Sauerstoff oder einen anderen terminalen Elektronenakzeptor übertragen. Dabei wird ein elektrochemischer Protonengradient über die Membran aufgebaut, welcher für die Synthese der Hauptmenge des ATP durch **Elektronentransportphosphorylierung** verantwortlich ist (Kap 7.4).

Wenn organische Substrate als Kohlenstoff- und Energiequelle dienen sollen, müssen sie also zu wenigstens einem Intermediat der zentralen Stoffwechselwege umgesetzt werden wie z.B. Glucose-6-phosphat oder Acetyl-CoA. Diese sorgen dann für die Endoxidation bis zu CO_2 sowie für die Bereitstellung von Baumaterial für die Synthesen. Während die zentralen Stoffwechselwege in der Regel konstitutiv aktiv sind, werden die zuführenden Stoffwechselwege durch die betreffenden Substrate induziert.

10.6.1 Zucker

Zucker sind die Abbauprodukte von Polysacchariden. Daneben spielen lösliche Di- oder Oligosaccharide sowie verschiedene Glykoside, in denen ein Zucker glykosidisch an einen Alkohol gebunden ist, eine große Rolle als Transportzucker, osmotische Schutzsubstanz (engl. compatible solute), Frost- oder Fraßschutzmittel besonders von Pflanzen. Beispiele sind Saccharose, Lactose, Trehalose, Raffinose und eine Reihe von Bitterstoffen (Tannine). Diese Verbindungen enthalten hauptsächlich Glucose, Galactose, Fructose oder Glucosamin in verschiedenen glykosidischen Verknüpfungen.

Oligosaccharide, Disaccharide, Glykoside und monomere Zucker werden entweder durch das **Phosphotransferasesystem** (bei vielen gramnegativen Bakterien) oder durch **Permeasen** in die Zelle transportiert (Abb. 10.13). Beim Transport durch das Phosphotransferasesystem wird bereits eine Phosphorylgruppe auf das Substrat übertragen (Kap. 9.2.3). Oligosaccharide, Disaccharide und Glykoside können durch Hydrolyse

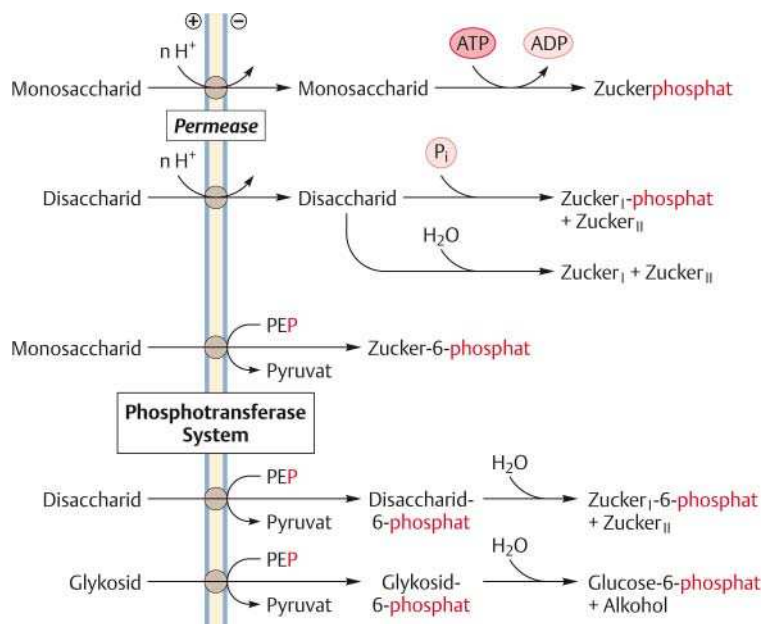


Abb. 10.13 Aufnahme von Zuckern, Disacchariden und Glykosiden in die Zelle. PEP, Phosphoenolpyruvat.

oder Phosphorolyse gespalten werden. Man erhält verschiedene Zucker, Zucker-1-phosphate und Zucker-6-phosphate. Kinasen setzen die freien Zucker zu Zucker-1-phosphaten oder Zucker-6-phosphaten um. Die wesentlichen, von Glucose-1-phosphat oder Glucose-6-phosphat ausgehenden Zuckerabbauwege wurden in Kapitel 7.2 besprochen. Verschiedene Zucker und Derivate sind in Abbildung 10.14 gezeigt.

Einige charakteristische Reaktionen des Zuckerabbaus sind in Abbildung 10.15 zusammengefasst. Die Umwandlung von verschiedenen **Hexosen** zu Glucose- oder Fructosephosphaten erfordert die Induktion von wenigen zusätzlichen Enzymen. Zu den Reaktionen gehören Phosphorylierung mit ATP, Phosphorolyse von Glykosiden, Keto-Enol-Isomerisierung, Oxidation und Reduktion, sowie zusätzliche Reaktionen zur Entfernung von Substituenten wie Acetylerster, Methylether oder Amino- gruppen.

So wird N-Acetylglucosamin nach Aufnahme durch das Phosphotransferasesystem zu N-Acetylglucosamin-6-phosphat. Dieses wird zunächst deacetyliert und dann desaminiert zu Fructose-6-phosphat. Zuckeralkohole werden zu Ketosen oxidiert. Speicherglykogen wird phosphorolytisch abgebaut zu Glucose-1-phosphat, welches zu Glucose-6-phosphat isomerisiert wird. Einige Bakterien, die auf den Abbau von Hexonaten (z. B. Gluconsäure) spezialisiert sind, oxidieren Glucose durch eine peri-

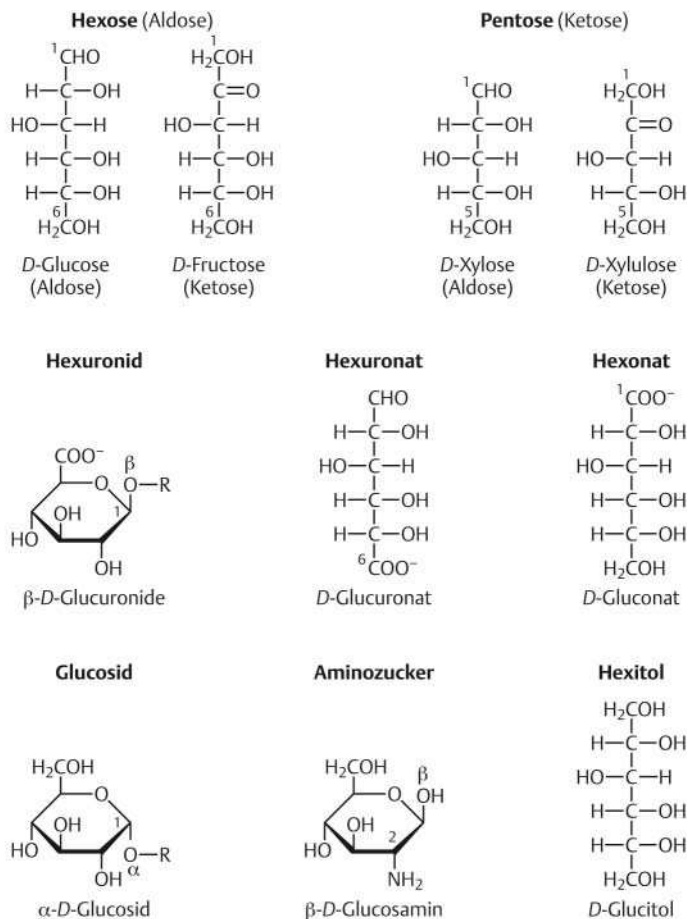
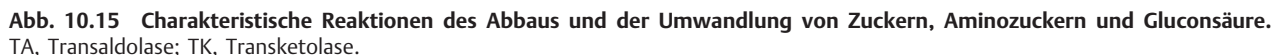


Abb. 10.14 Strukturen verschiedener Zucker und ihrer Derivate.



Pentosen, die vor allem aus dem Abbau von Hemicellulosen stammen, werden zu D-Xylulose-5-phosphat umgewandelt. Dieses kann mit Ribose-5-phosphat über den Pentosephosphatzyklus in Fructose-6-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat umgewandelt werden (Kap. 7.2.2). Der weitere Abbau erfolgt dann über die Glycolyse (Kap. 7.2.1). Ein besonderer Abbauweg der Pentosen, der Phosphoketolaseweg, wird bei der heterofermentativen Milchsäuregärung beschrieben (s. Kap. 12.2.3). Desoxyribose-5-phosphat aus dem DNA-Abbau wird durch eine spezielle Aldolase in Acetaldehyd und Glycerinaldehyd-3-phosphat gespalten.

Die Abbauprodukte der Proteine, Oligopeptide und L-Aminosäuren, werden durch verschiedenartige Transportsysteme in die Zelle aufgenommen. Die Oligopeptide werden intrazellulär durch unspezifische Peptidasen zu Aminosäuren hydrolysiert. D-Aminosäuren werden durch Racemasen in die L-Form umgewandelt. Der erste Schritt im Abbau von Aminosäuren ist die **Entfernung der α -Aminogruppe**. Dafür gibt es drei Möglichkeiten:

Oxidative Desaminierung. Die α -Aminogruppe wird unter Entzug von 2 H zur 2-Iminogruppe oxidiert und daraus wird hydrolytisch NH_3 abgespalten. Es entsteht die 2-Oxogruppe. Diese Reaktionen katalysieren NAD^+ -abhängige Dehydrogenasen wie Glutamatdehydrogenase und Alanindehydrogenase. Alternativ werden die Aminosäuren durch relativ substratunspezifische Aminosäureoxidasen oxidiert und desaminiert. Es sind

Flavoenzyme, welche die zwei Elektronen direkt auf die Cytochrome der Atmungskette übertragen (Abb. 10.16a).

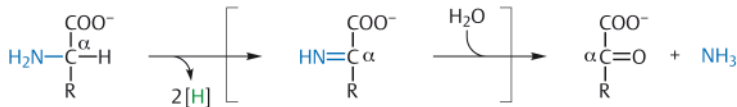
Transaminierung. Die α -Aminogruppe wird auf die Ketogruppe einer 2-Oxosäure übertragen. Der N-Empfänger ist in der Regel 2-Oxoglutarat oder Pyruvat aus dem Zentralstoffwechsel. Diese Reaktionen katalysieren Transaminasen. Das entstandene Glutamat bzw. Alanin wird dann durch Glutamatdehydrogenase bzw. Alanindehydrogenase wieder desaminiert (Abb. 10.16b).

Desaminierung durch Eliminierung. Diese Reaktion setzt voraus, dass die Eliminierung von Ammoniak vom α -C-Atom durch geeignete Substituenten am β -C-Atom erleichtert wird.

Folgende Möglichkeiten der **Eliminierung von Ammoniak** vom α -C-Atom gibt es:

(i) Die Aminosäuren Serin, Cystein und Threonin enthalten in β -Stellung zur Carboxylgruppe eine elektronenanziehende Hydroxyl- oder Thiolgruppe, die unter Austritt von H_2O bzw. H_2S leicht eliminiert werden können. Die entstandene Zwischenverbindung trägt eine α - β -C=C-Doppelbindung. Es ist ein Enamin (analog zu einem Enol), das im tautomeren Gleichgewicht bevorzugt in der 2-Ketiminform (analog zu einem Keton) vorliegt (analog der Keto-Enol-Tautomerie). Das Imin wird hydrolytisch

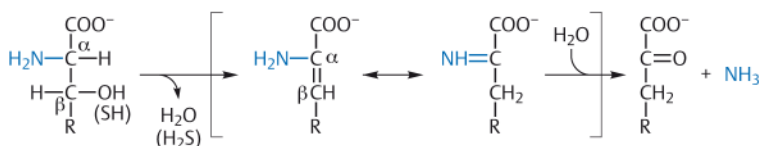
a Dehydrogenasen oder Oxidasen



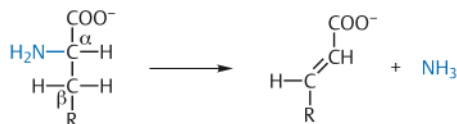
b Transaminasen



c Dehydratasen oder Desulphydrasen



d Aminosäure-Ammoniak-Lyase



e C-C-Lyasen

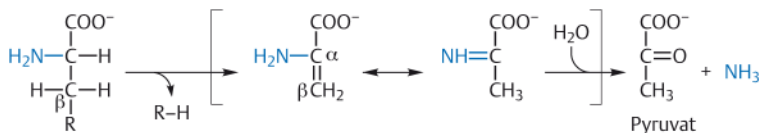


Abb. 10.16 Entfernung der α -Aminogruppe der Aminosäuren. **a** Oxidative Desaminierung. **b** Transaminierung. **c** Eliminierung bei Serin, Cystein und Threonin. **d** Eliminierung bei Aspartat, Histidin und Phenylalanin. **e** Eliminierung bei Tyrosin und Tryptophan (siehe auch Text).

gespalten zur 2-Oxosäure (Pyruvat, 2-Oxobutyrat) und NH_3 . Diese Reaktionen katalysieren Dehydratasen und Desulphydrasen (Abb. 10.16c).

(ii) Die Aminosäuren Aspartat, Histidin und Phenylalanin tragen Substituenten am β -C-Atom, welche ein delokalisiertes π -Elektronensystem aufweisen (Carboxylat-, Imidazol- bzw. Benzolgruppe). Solche Substituenten stabilisieren die α - β -C=C-Doppelbindung, die entsteht, wenn aus jenen Aminosäuren direkt NH_3 eliminiert wird. Solche Eliminierungsreaktionen werden von Aminosäure-Ammoniak-Lyasen katalysiert (Abb. 10.16d).

(iii) Einen Sonderfall stellen die Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan dar. Sie enthalten am β -C-Atom einen aromatischen oder heterozyklischen Substituenten, der leicht als Phenol bzw. Indol eliminiert werden kann (die Indolbildung aus Tryptophan wird auch als diagnostisches Merkmal genutzt). Die verbliebene C_3 -Seitenkette dieser Aminosäuren enthält dann eine α - β -C=C-Doppelbindung. Die Enaminverbindung wird, wie oben beschrieben, leicht hydrolytisch desaminiert, man erhält Pyruvat und NH_3 . Diese Reaktionen werden von C-C-Lyasen katalysiert (Abb. 10.16e).

Basische Aminosäuren können (meist unter anaeroben Bedingungen) auch zuerst durch Aminosäuredecarboxylasen decarboxyliert werden. Es entstehen die entsprechenden, übelriechenden primären Amine (früher als Leichengifte bezeichnet). Es sind Basen, die bei neutralem pH-Wert als Kationen vorliegen. Aus Lysin entsteht so Cadaverin, aus Arginin Agmatin. Die Decarboxylierung dient zur Neutralisation von sauren Gärprodukten. Diese **biogenen Amine** sind auch die Bausteine der löslichen Polyamine, die in verschiedenen Prokaryonten in größerer Konzentration vorkommen und deren Funktion man nicht genau kennt. Vermutlich dienen sie als positiv geladene Gegenionen für die negativ geladenen Nukleinsäuren. Die Amine können auch desaminiert und über die entsprechenden Fettsäuren abgebaut werden.

Die Abbauwege der stickstofffreien Derivate der Aminosäuren führen schließlich zu Intermediaten des Zentralstoffwechsels.

10.6.3 Aromatische Verbindungen

Aromaten bilden nach den Kohlenhydraten die zweithäufigste organische Substanzklasse und sind deshalb verbreitete und wichtige Wachstums-substrate. Hauptquellen sind das pflanzliche polymere Lignin und zellwandgebundene einfache phenolische Säuren; aber auch viele niedermolekulare Produkte des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels (Flavonoide, Chinone usw.) und drei der 20 L-Aminosäuren enthalten aromatische Ringe.

Aerober Abbau von Aromaten

Aromaten wie die Benzolderivate sind durch eine hohe **Resonanzenergie** stabilisiert. Diese theoretische Größe spiegelt die Energiedifferenz zwischen dem energieärmeren delokalisierten π -Elektronensystem und den energiereicheren, lokalisiert gedachten drei Doppelbindungen wieder. Um diese zyklischen Strukturen aufzubrechen, braucht es im aeroben Stoffwechsel molekularen Sauerstoff als Cosubstrat. Wir werden einen zweiten Fall kennenlernen, die Kohlenwasserstoffe, deren C-C- und C-H-Bindungen chemisch ebenfalls so reaktionsträge (paraffin) sind, dass sie aerob nur mit Hilfe von molekularem Sauerstoff angegriffen werden können.

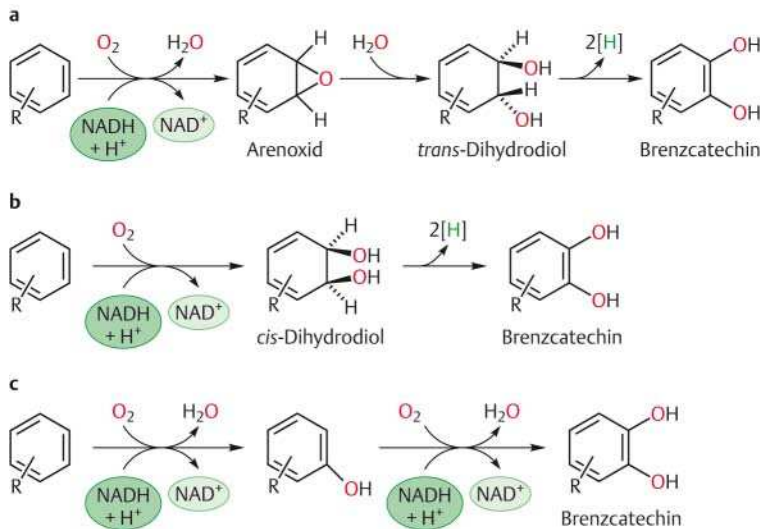


Abb. 10.17 Oxygenase-Reaktionen, die an der aeroben Umsetzung von aromatischen Verbindungen im peripheren Stoffwechsel beteiligt sind. **a** Umsetzung über ein Epoxid und *trans*-Dihydrodiol. **b** Umsetzung mit einer Dioxygenase/Reduktase über das *cis*-Dihydrodiol. **c** Umsetzung über zwei Monooxygenasen, falls der Aromat schon eine funktionelle Gruppe enthält.

Der Angriff auf Aromaten wird durch **Oxygenasen** katalysiert (Abb. 10.17). Es sind Enzyme, die entweder *ein* Sauerstoffatom (**Monooxygenasen**) oder *beide* Sauerstoffatome (**Dioxygenasen**) des O_2 -Moleküls in das Substrat einbauen. Monooxygenasen benötigen als Cosubstrat ein reduziertes Coenzym, meist NAD(P)H, das den Wasserstoff für die Aktivierung des Sauerstoffs zu einem im aktiven Zentrum gebundenen Peroxid (R-O-O-H) liefert; das Coenzym wird dabei oxidiert. Das Peroxid kann ein Sauerstoffatom auf das Substrat übertragen, das andere Sauerstoffatom wird als H_2O abgespalten. Oxygenasen sind nicht zu verwechseln mit Oxidasen, welche ein Substrat dehydrogenieren und die Elektronen letztlich unter Bildung von H_2O oder H_2O_2 auf Sauerstoff übertragen.

Peripherer und zentraler Stoffwechselweg. Die meisten Aromaten werden von Pflanzen synthetisiert, können von diesen aber nicht abgebaut werden. Tiere können zwar einige Aromaten vollständig oxidieren, dennoch ist der Aromatenstoffwechsel eine Domäne der Mikroorganismen. Anhand weniger Prinzipien lässt sich die zugrunde liegende biologische Strategie des aeroben Aromatenabbaus gut verstehen. Wegen der Vielfalt der Aromaten kann aus ökonomischen Gründen nicht für jede Einzelverbindung ein eigener Weg eingeschlagen werden. Daher erfolgt der Abbau der vielen verschiedenen Substrate, die in der Natur immer in Substratgemischen vorliegen, in zwei Stufen. In einem ersten Schritt werden ganze Gruppen von Substraten in einige wenige zentrale Verbindungen überführt, deren aromatischer Ring durch die Einführung von Hydroxylgruppen in 1,2- oder 1,4-Stellung verändert ist. Diese konvergierenden oder kanalisierenden Reaktionen nennt man **periphere** Stoffwechselwege (engl. **upper pathways**). An ihnen sind verschiedene, mehr oder weniger substratspezifische Oxygenasen beteiligt, die durch die betreffenden Substrate induziert werden. Die wenigen **zentralen Intermediate** sind Brenzcatechin (engl. catechol), Protocatechusäure und Gentisinsäure sowie Homogentisinsäure (Abb. 10.18).

Die Möglichkeiten, Hydroxylgruppen mit Hilfe von Oxygenasen in den aromatischen Ring einzuführen, sind in Abbildung 10.17 gezeigt. Abbildung 10.19a zeigt stellvertretend, wie eine Gruppe von aromatischen

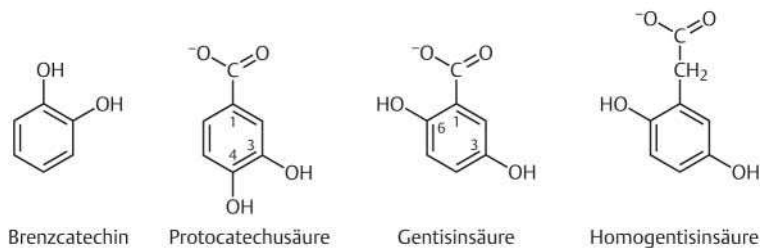


Abb. 10.18 Zentrale Intermediate des aeroben Aromatenabbaus.

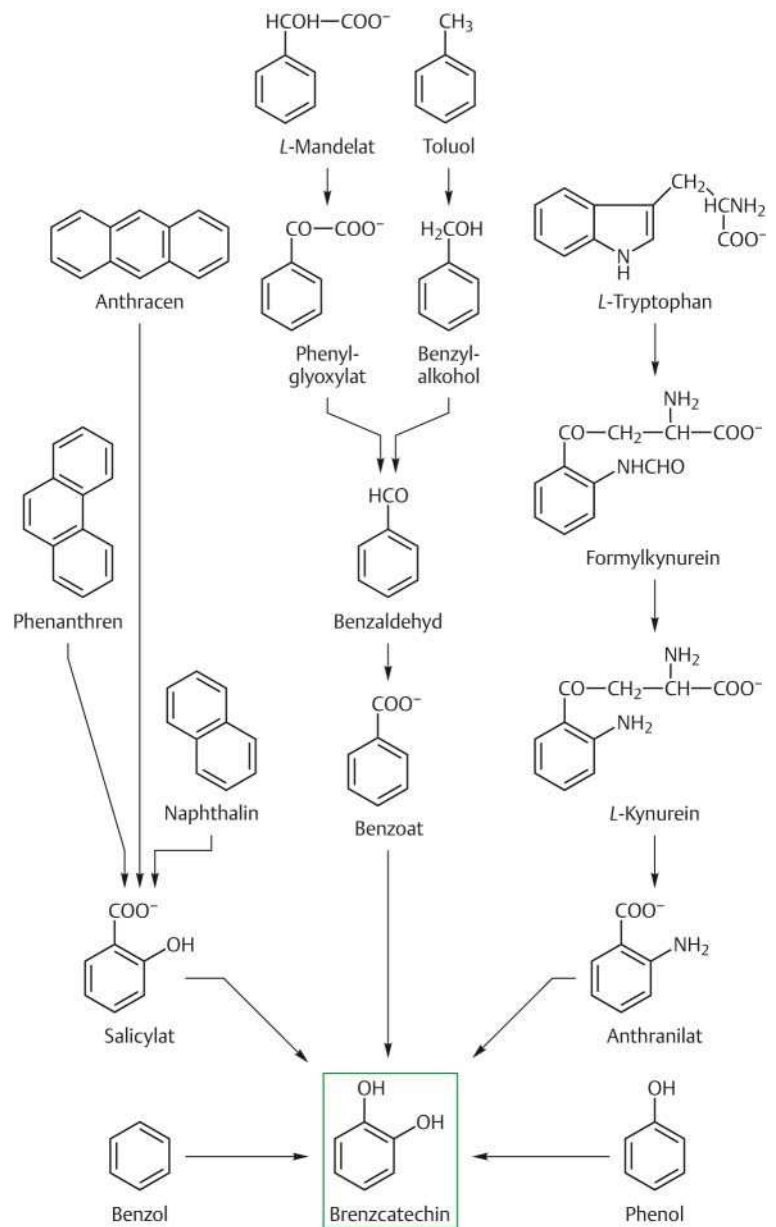


Abb. 10.19 Brenzcatechin als ein zentrales Intermediat im aeroben Aromatenstoffwechsel. Die Abbildung zeigt beispielhaft, wie verschiedene Aromaten in das zentrale Intermediat Brenzcatechin überführt werden.

Verbindungen in das zentrale Intermediat Brenzcatechin überführt wird, zu dem viele der einfachsubstituierten und die 1,2-disubstituierten aromatischen Ringe abgebaut werden. Die Substituenten des aromatischen Ringes, ausgenommen OH-Gruppen, werden häufig vor der Ringspaltung entfernt, aliphatische Seitenketten werden verkürzt. Chlor-, Nitro- und Sulfonatgruppen von Xenobiotika werden meist durch Oxygenasen abgespalten. An ihre Stelle tritt dann die OH-Gruppe.

Im zweiten Schritt werden die Intermediate im **zentralen Stoffwechselweg** (engl. **lower pathway**) weiter abgebaut. Aufgrund der 1,2- bzw. 1,4-Dihydroxygruppierung können die aromatischen C-C-Bindungen des Ringes durch wenige ringspaltende Dioxygenasen mit Hilfe von Sauerstoff gespalten werden; die entstehenden nichtzyklischen Verbindungen werden dann zu zentralen Stoffwechselprodukten abgebaut. Der zentrale Stoffwechselweg wird meist durch das Substrat des ringspaltenden Enzyms induziert. Es handelt sich also um eine sequenzielle Induktion.

Der weitere Abbau soll am Beispiel von Brenzcatechin besprochen werden (Abb. 10.20). Die **ringspaltenden Dioxygenasen** spalten die C-C-Bindung entweder zwischen den die zwei OH-Gruppen tragenden C-Atomen (intradiol- oder **ortho-Spaltung**). Das Produkt ist eine ungesättigte Dicarbonsäure. Dieser Weg wird nach dem Intermediat 3-Oxoadipat (β -Keto adipat) auch β -Keto adipatweg genannt. Der weitere Abbau führt zu Acetyl-CoA und Succinat. Oder die Dioxygenasen spalten die Bindung zwischen dem die OH-Gruppe tragenden C-Atom und einem benachbarten C-Atom mit einem H-Atom (extradiol- oder **meta-Spaltung**). Das Produkt ist dann der ungesättigte Semialdehyd einer 2-Hydroxydicarbonsäure. Der weitere Abbau führt zu Acetaldehyd und Pyruvat. Für Protocatechusäure gilt sinngemäß das gleiche. Die Verbindung trägt lediglich eine Carboxylgruppe in *para*-Stellung zu einer der OH-Gruppen. Gentisin-säure und Homogentisin-säure (Abb. 10.18) werden durch Dioxygenasen zwischen dem OH-tragenden C-Atom und dem benachbarten C-Atom mit der COOH- oder CH₂-COOH-Seitengruppe in einer Art *ortho*-Spaltung gespalten. Die Abbauewege führen zu Succinat und Pyruvat (im Fall von Gentisat) bzw. zu Succinat und Acetoacetat (im Fall von Homogentisat). Neben den besprochenen Beispielen gibt es noch einige weniger verbreitete Aromatenabbauewege, auf die hier nicht eingegangen wird.

Die Enzyme dieser Stoffwechselwege werden nur bei Bedarf gebildet. Die Wahl des verwendeten Abbauewegs (d. h. die Art der Kombination von peripherem und zentralem Stoffwechselweg) hängt von verschiedenen Faktoren ab. Allein für den Angriff auf Toluol gibt es fünf verschiedene Oxygenasen. Unter anderem sind einige Zwischenprodukte reaktiv (z.B. Aldehyde) und können in Gegenwart von Sauerstoff toxische, oft braune Nebenprodukte bilden.

Anaerober Abbau von Aromaten

Aus dem zwingenden Bedarf des aeroben Aromatenstoffwechsels für Sauerstoff als Cosubstrat für Oxygenasen könnte man folgern, dass ein anaerober Stoffwechsel von Aromaten nicht möglich ist. Dies trifft für das polymere Substrat Lignin zu. Niedermolekulare Verbindungen sind vollständig mineralisierbar, aber die Ringstruktur muss durch ein völlig anderes Prinzip gebrochen werden. Dies geschieht, wie aus der Chemie bekannt, durch **Reduktion** mit einem besonders starken Reduktionsmittel. Auch die Vorbereitung der Substrate für die Ringreduktion, d. h. die Reaktionen der peripheren konvergierenden Stoffwechselwege, verläuft völlig anders und liefert andere zentrale Intermediate als im aeroben

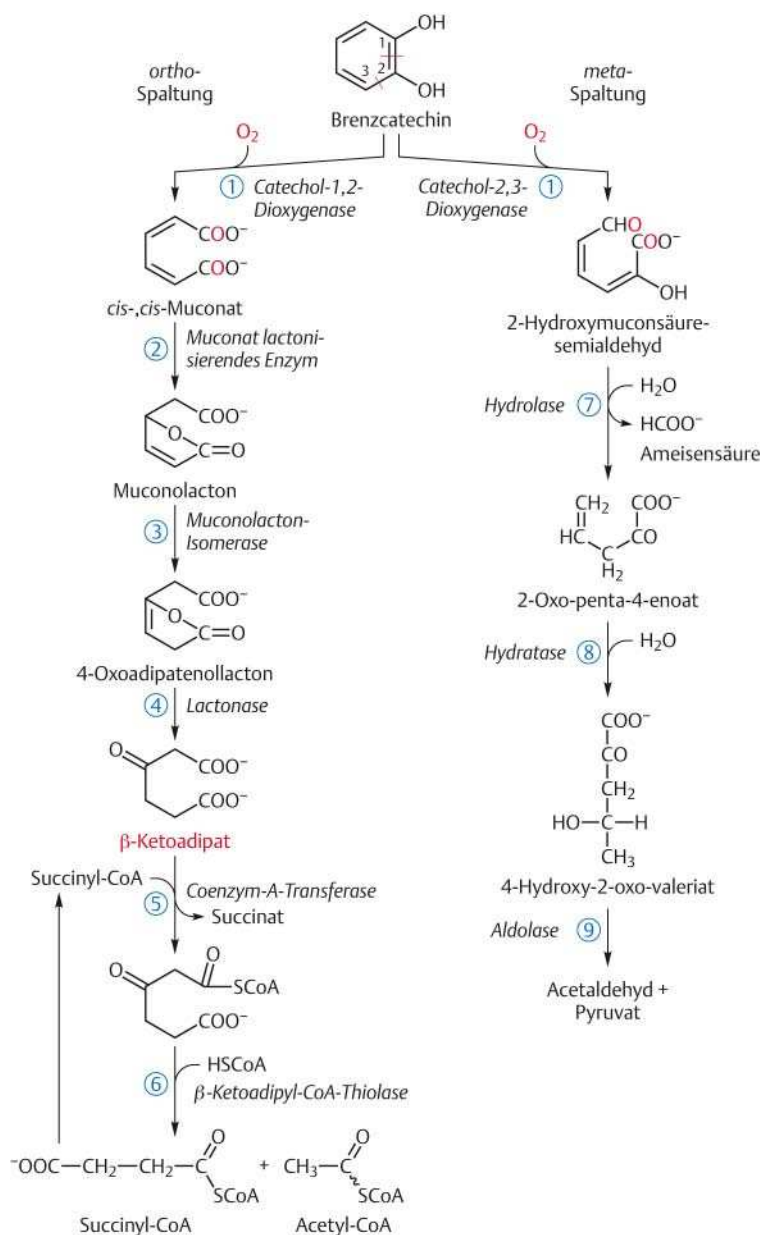


Abb. 10.20 Aerobe *ortho*- und *meta*-Spaltungsweg von Brenzcatechin (Catechol). Dioxygenasen führen Sauerstoff ein und spalten den Ring (①). Beim *ortho*-Spaltungsweg (links) wird zunächst ein Lacton gebildet (②), gefolgt von einer Umlagerung der Doppelbindung zu einem labilen Enollacton (③), das irreversibel zu 3-Oxo-adipat geöffnet wird (④). Dieses wird durch Übertragung des Coenzym-A-Restes von Succinyl-CoA zum CoA-Thioester aktiviert (⑤) und dann zu Acetyl-CoA und Succinyl-CoA (welches gleich zur Aktivierung verwendet wird) thiolytisch gespalten (⑥). Beim *meta*-Spaltungsweg (rechts) wird vom Semialdehyd Ameisensäure abgespalten (⑦) und man gelangt nach Wasseranlagerung an die Doppelbindung (⑧) und Aldolspaltung (⑨) der C₅-Verbindung zu Acetaldehyd und Pyruvat.

Stoffwechsel. Diese Intermediate sind für einen reduktiven Angriff geeignet. Die Umsetzung verschiedener Aromaten im peripheren Stoffwechsel konvergiert beim **Benzoyl-CoA**, dem wichtigsten zentralen Intermediat des anaeroben Aromatenabbaus (Abb. 10.21).

Abbildung 10.22 zeigt das Prinzip des zentralen anaeroben Stoffwechselwegs, auch Benzoyl-CoA-Weg genannt, am Beispiel von Benzoesäure. Hier gibt es Varianten. Gezeigt ist der Weg in Bakterien mit einer Nitrat-atmung. Der Abbau umfasst vier Teilprozesse:

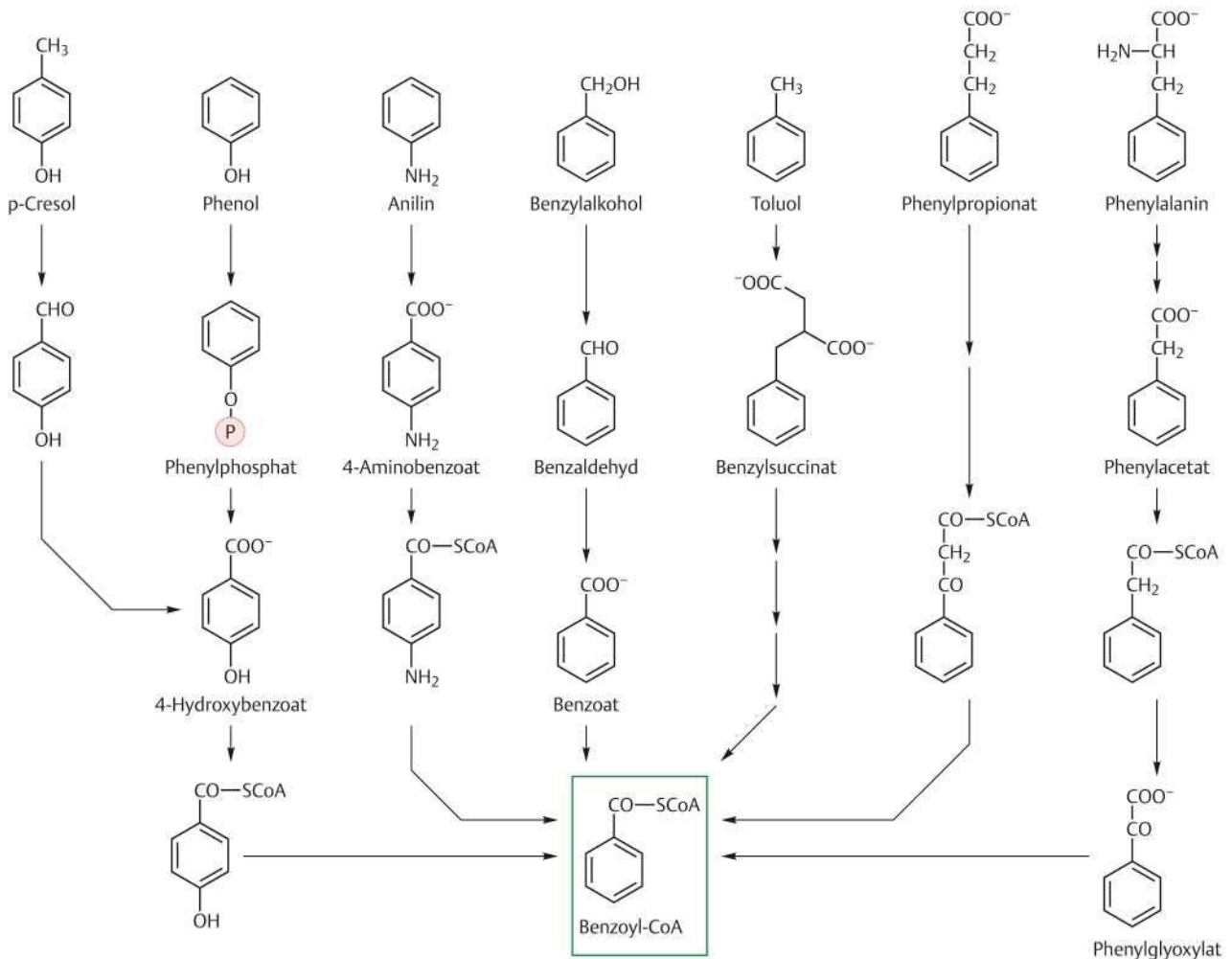


Abb. 10.21 Anaerober peripherer Stoffwechsel von Aromaten. Die Aromaten werden vor der Ringreduktion im zentralen Stoffwechsel vorbereitet. Es entsteht das zentrale Intermediat, Benzoyl-CoA.

1. Aktivierung der Carboxyl-Gruppe mit Coenzym A zu Benzoyl-CoA. Diese Reaktion erfordert ATP, das zu AMP und Pyrophosphat gespalten wird. Die Carboxythioestergruppe direkt am Ring wirkt stark elektronenanziehend und erleichtert die Ringreduktion. Alle Folgeschritte verwenden CoA-Thioester.
2. Reduktion des Ringes in Teilschritten, bei denen abwechselnd Elektronen und Protonen übertragen werden. Dabei dient Ferredoxin mit negativem Redoxpotenzial als Donator für die Elektronen. Bei der Übertragung des ersten Elektrons auf den Ring muss eine Potenzialdifferenz von mehr als $-1,0$ V überwunden werden. Dies gelingt dadurch, dass das ringreduzierende Enzym, Benzoyl-CoA-Reduktase, zwei ATP pro Reaktion spaltet. Es enthält sehr elektronegative Eisen-Schwefel-Zentren. Die Reaktion erinnert oberflächlich an die Nitrogenase-Reaktion, bei der ATP-Hydrolyse hilft, die stabile Dreifachbindung des Stickstoffs zu reduzieren.

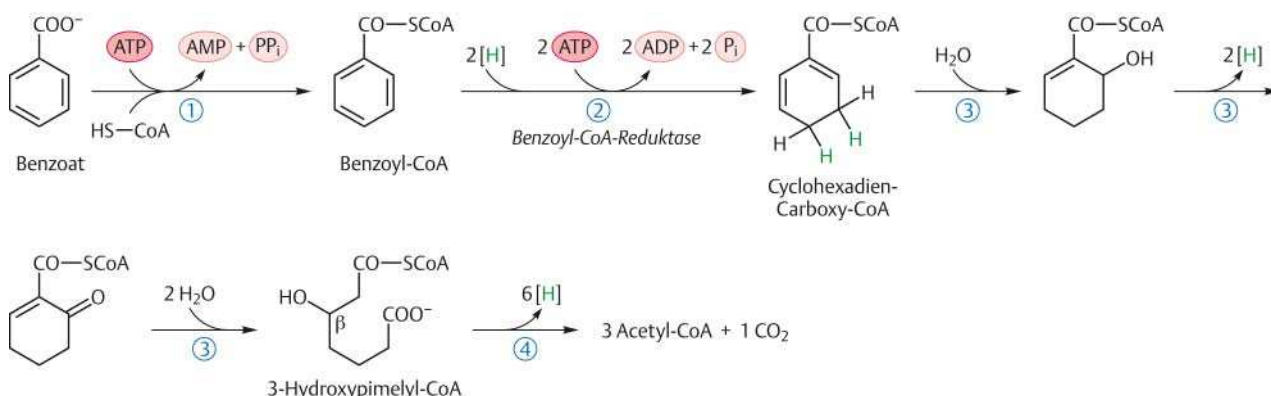


Abb. 10.22 Anaerober zentraler Stoffwechsel von Benzoyl-CoA. Gezeigt ist der Weg in Bakterien mit einer Nitratatmung. Der Abbau besteht aus folgenden vier Teilprozessen. ① Aktivierung der Carboxyl-Gruppe mit Coenzym A zu Benzoyl-CoA. ② Reduktion des Rings in Teilschritten, bei denen abwechselnd Elektronen und Protonen übertragen werden. ③ Das entstehende, zyklische Dien wird in einer Art β -Oxidation umgesetzt. ④ Das Produkt, eine C_7 -Dicarbonsäure, wird weiter durch β -Oxidation abgebaut. Weitere Erklärung siehe Text.

3. Das entstehende nichtaromatische, zyklische Dien wird in einer Art β -Oxidation umgesetzt, wobei der Kohlenstoffring hydrolytisch geöffnet wird.
4. Die erhaltene C_7 -Dicarbonsäure wird weiter durch β -Oxidation abgebaut. Man erhält als Endprodukte 3 Acetyl-CoA, 1 CO_2 und 6 $[H]$.

Auch im anaeroben Aromatenstoffwechsel gibt es eine faszinierende Vielfalt, auf die gesondert eingegangen wird (Plus 10.9).

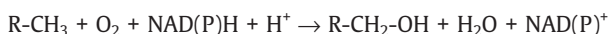
10.6.4 Kohlenwasserstoffe

Aerober Abbau von Kohlenwasserstoffen

Kohlenwasserstoffe (Alkane, Paraffine) sind Bestandteile von Paraffinen und Erdöl, sie kommen aber auch in der Wachsschicht von Blättern und Früchten vor. Verzweigte Alkane und Alkene befinden sich in der großen Gruppe der Terpene sowie in Kautschuk und kautschukähnlichen Pflanzensäften. Diese wasserunlöslichen niedermolekularen Verbindungen bereiten besondere Probleme. Kohlenwasserstoffe werden mit zunehmender Kettenlänge immer weniger wasserlöslich. Deshalb werden von den Mikroorganismen Emulgatoren ausgeschieden oder die Organismen haben eine wachsartige Oberfläche, die die Anheftung an lipophiles Substrat und dessen Aufnahme erlaubt (Plus 10.10).

Kohlenwasserstoffe mit ihren stabilen C-C- und C-H-Bindungen sind so wenig reaktiv (paraffin), dass sie aerob nur mit Hilfe von Oxygenasen und molekularem Sauerstoff angegriffen werden können. Es gibt mehrere **Möglichkeiten des Angriffs**, bei denen letzten Endes ein primärer Alkohol entsteht (Abb. 10.23):

Am häufigsten ist der **terminale Angriff** durch eine Alkan-Monooxygenase am Ende des Moleküls (Abb. 10.23 ①). Es entsteht der entsprechende primäre Alkohol:

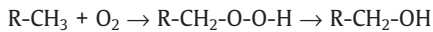


Der Alkohol wird über die entsprechende Fettsäure abgebaut. Seltener ist die diterminale Oxidation, welche zu Dicarbonsäuren führt. Der terminale

Plus 10.9 Varianten des anaeroben Aromatenstoffwechsels

Resorcin (1,3-Dihydroxybenzol) und Phloroglucin (1,3,5-Trihydroxybenzol), zwei andere zentrale Intermediate, haben im Unterschied zu Benzoesäure zwei oder drei zueinander *metaständige* Hydroxylgruppen, welche den aromatischen Charakter schwächen. Man kann sich die beiden Moleküle als zyklische Ketone vorstellen. Folgerichtig lässt sich Resorcin ohne ATP allein durch zwei Elektronen aus dem Ferredoxin und Phloroglucin bereits mit NADPH zu einem nichtaromatischen zyklischen Produkt (Diketon) reduzieren. Der Abbau durch eine Art β -Oxidation ergibt drei Acetyl-CoA. Anaerob atmende sowie anaerobe, photosynthetisierende Bakterien gewinnen ihre Energie aus der angeschlossenen anaeroben Atmung, in der Acetyl-CoA oxidiert wird, oder aus der Photosynthese. Aus energetischen Überlegungen lässt sich ableiten, dass gärende Bakterien Benzoyl-CoA in einer ATP-unabhängigen Weise dearomatisieren müssen. Allerdings ist dieser Weg noch nicht bekannt.

Angriff durch eine Dioxygenase liefert ein Alkan-Peroxid (Abb. 10.23 ②), aus welchem durch Reduktion Wasser abgespalten wird und so der primäre Alkohol entsteht:



Die seltene **subterminale Oxidation** an C2 durch eine Monoxygenase liefert einen sekundären Alkohol mit einer 2-Hydroxygruppe (Abb. 10.23 ③). Diese wird zur 2-Ketogruppe oxidiert. Chemisch lässt sich in die C-C-Bindung neben einer Ketogruppe leicht ein Sauerstoffatom einschleiben, man erhält dann einen Ester. Diese so genannte Baeyer-Villiger-Oxidation wird durch spezielle Monoxygenasen „nachgeahmt“. Aus dem 2-Keton des n-Alkans resultiert ein Acetylerster, der zu Essigsäure und den um zwei C-Atome kürzeren primären Alkohol hydrolysiert wird. Der primäre Alkohol wird anschließend zur Fettsäure oxidiert.

Die bakteriellen Alkan-Monoxygenasen sind membrangebundene Metalloenzyme. Der Elektronendonator ist oft Rubredoxin, ein kleines, eisenhaltendes Protein, das wiederum durch eine NADH-abhängige Reduktase reduziert wird. Bei Pilzen und Hefen gehören die Alkan-Monoxygenasen zur großen Familie der Cytochrom-P₄₅₀-Monoxygenasen. Diese Hämproteine sind Monoxygenasen und werden direkt durch NADH-abhängige Reduktasen reduziert.

Die Ausführungen gelten abgewandelt auch für Alkene, deren C=C-Doppelbindung das Molekül reaktiver macht, sodass hier eine Epoxidbildung die Regel ist. Das Epoxid wird hydrolytisch gespalten und man erhält das Dihydroxyalkan. Verzweigte Alkane werden durch Hydroxylierung an beiden Enden noch langsamer abgebaut – je verzweigter die Moleküle sind, desto schlechter ist der Abbau möglich. Der weitere Abbau von Alkoholen und Fettsäuren wird in Kapitel 10.6.5 besprochen.

Oxidation von Methan. Methan ist der häufigste natürliche Kohlenwasserstoff und wohl das häufigste organische Molekül auf diesem Planeten, wie die sensationelle Entdeckung der riesigen **Methanhydratlager** in Meeressedimenten und Permafrostböden zeigt. Methangas ist in Wasser hinreichend löslich und damit für Mikroorganismen ein gut zugängliches Substrat. Allerdings ist es am schwierigsten von allen Kohlenwasserstoffen angreifbar und Substrat von Spezialisten unter den Bakterien.

Methan wird durch eine komplex aufgebaute, Kupfer enthaltende membrangebundene **Methan-Monoxygenase** zu **Methanol** oxidiert (Abb. 10.24a). Die Methan-Monoxygenase-Reaktion verbraucht NADH und Sauerstoff und liefert keinen Beitrag zur Energiegewinnung. Methan-Monoxygenase hat eine geringe Wechselzahl und hydroxyliert auch andere relativ inerte Verbindungen wie NH₃ oder Toluol. Die Weiteroxidation von Methanol zu CO₂ über die Formaldehyd- und Ameisensäurestufe erfolgt in drei Dehydrogenierungsschritten und liefert sechs [H], von denen zwei [H] für die Reaktion der Methan-Monoxygenase benötigt werden, vier [H] (nämlich in Form von 1 NADH und 1 PQQH₂, s.u.) werden in der Atmungskette oxidiert.

Methanol wird durch eine periplasmatische Methanol-Dehydrogenase, welche Pyrrolochinolin-Chinon (PQQ, Methoxatin) als prosthetische Gruppe enthält (Abb. 10.24b), weiter zu Formaldehyd oxidiert. Das positive Redoxpotenzial von PQQ (E° = +120 mV) erleichtert die Oxidation. Die Elektronen werden auf Cytochrom c übertragen. PQQ ist auch Cofaktor ähnlicher periplasmatischer Dehydrogenasen wie Glucose-, Alkohol- oder Polyoldehydrogenase (Kap. 10.8). Die weitere Oxidation des **Formaldehyds** über die Stufe der Ameisensäure ist biochemisch sehr vielfältig

Plus 10.10 Das Problem wasserunlöslicher Substrate

Kohlenwasserstoffe werden mit zunehmender Kettenlänge immer weniger wasserlöslich. Gesättigte lineare Kohlenwasserstoffe sind bei 20° C entweder gasförmig (C₁ bis C₄), flüssig (C₅ bis C₁₆) oder fest (ab C₁₇). Der Abbau der flüssigen oder festen Alkane ist langsam und erfordert **Emulgatoren**. Diese werden ausgeschieden oder an die Zelloberfläche der Organismen gebunden, um eine große Kohlenwasserstoff-Wasser-Grenzschicht zu schaffen. Es entstehen winzige Alkantröpfchen, die die Zugänglichkeit für Sauerstoff verbessern und die Aufnahme in die Zelle erleichtern. Diese Aufnahme setzt einen direkten Kontakt der hydrophoben (= lipophilen) Oberfläche der Mikroorganismen mit den emulgierten Substratröpfchen voraus.

Die Aufnahme der Substrate ist der geschwindigkeitbestimmende Schritt. Sie erfolgt durch Diffusion über die Membran oder durch eine Aufnahme in Form von Mikrotröpfchen über einen nicht genau bekannten Mechanismus. Am aeroben Abbau langkettiger Kohlenwasserstoffe sind hauptsächlich Pilze und Hefen beteiligt, aber auch verschiedene Bakteriengruppen sind darauf spezialisiert. Einige der grampositiven Bakterien der Hoch-(GC)-Actinomycetenlinie (*Arthrobacter*, Corynebakterien, Mykobakterien, Nocardien, Actinomyceten, Streptomyceten) haben an ihrer Oberfläche hydrophobe Substanzen, z.B. wachsartige Mykolsäuren, welche die Anheftung an das Substrat möglich machen. Aber auch gramnegative Bakterien (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*) sind unter den Alkanverwertern vertreten. Kurzkettige Kohlenwasserstoffe, ausgenommen Methan, spielen in der Natur eine untergeordnete Rolle. Sie werden von wenigen Spezialisten verwertet.

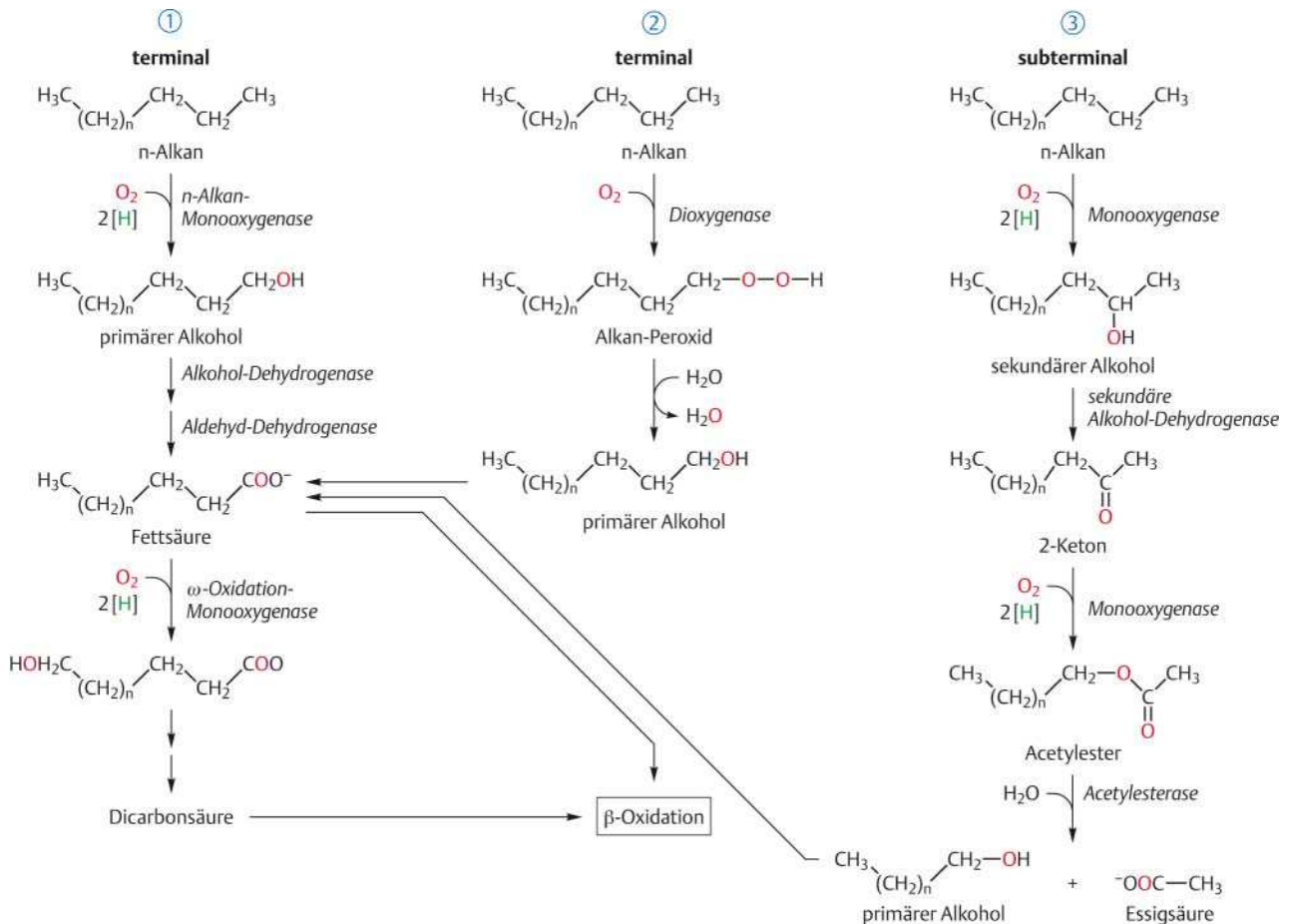


Abb. 10.23 Aerobes Abbau von Alkanen durch verschiedene Monooxygenasen. Es entsteht als Zwischenprodukt immer ein primärer Alkohol, der dann zu einer Fettsäure und über eine β -Oxidation abgebaut wird. Am häufigsten ist der terminale Angriff durch eine Alkan-Monooxygenase (1). Das Produkt, ein primärer Alkohol, wird anschließend zur Fettsäure oxidiert. Seltener ist die diterminale Oxidation, welche zu Dicarbonsäuren führt. Der terminale Angriff durch eine Dioxygenase (2) liefert ein Alkanperoxid, welches zum primären Alkohol und Wasser hydrolysiert wird. Selten greifen Monooxygenasen Alkane subterminal (3) an. Letztendlich entsteht auch hier über ein 2-Keton und einen Acetylerster ein primärer Alkohol.

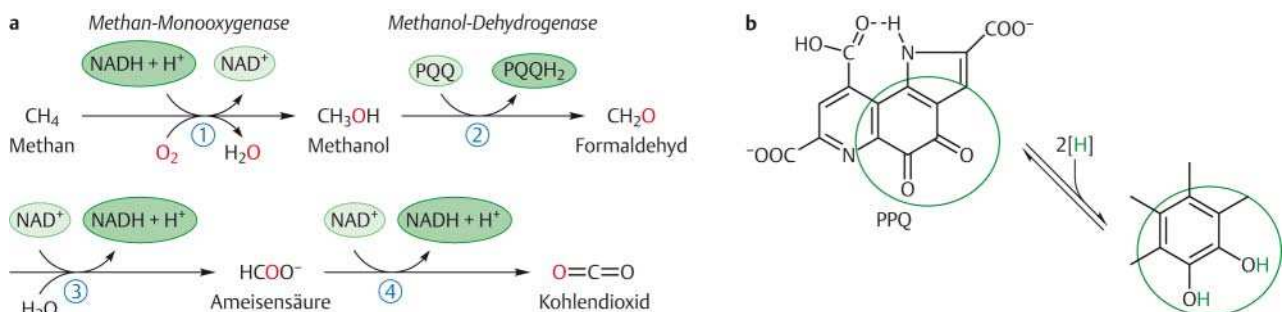


Abb. 10.24 Aerobes Stoffwechsel von Methan. a Schematische Darstellung des Reaktionswegs. Methan wird über Methanol, Formaldehyd und Formiat zu CO_2 oxidiert. (Zur Reaktionsabfolge siehe Text). b Struktur der oxidierten und reduzierten Form des Coenzym PQQ.

gelöst. Der Aldehyd ist zu reaktiv und wird deshalb gebunden in Form eines Adduktes an Glutathion oder an ein Tetrahydropterin wie Tetrahydrofolsäure oder Tetrahydromethanopterin. Formaldehyd ist auch das Zwischenprodukt, welches zur Bausteinsynthese abgezogen wird (Kap. 8.6.2).

Eine Ausnahme vom Prinzip der Formaldehydbindung an ein Coenzym machen einige fakultativ methylo tro phe Bakterien, welche Formaldehyd mit einem Metaboliten, nämlich Ribulose-5-phosphat, kondensieren (Kap. 8.6.2). Der in dem entstehenden Hexulose-6-phosphat gebundene Formaldehyd wird über Fructose-6-phosphat und Glucose-6-phosphat zu Ribulose-5-phosphat und CO_2 oxidiert.

Viele methanoxidierende Bakterien enthalten intracytoplasmatische Membranen, um die Membranfläche für die Bindung der benötigten großen Mengen an Methan-Monooxygenase zu vergrößern. Bei Kupfermangel wird ersatzweise ein lösliches Eisenenzym gebildet, das ein hydroxo-überbrücktes Di-Eisen-Zentrum hat. Reduziertes Cytochrom c bzw. NADH dienen als Elektronendonatoren.

Methan wird durch wenige spezialisierte Bakterien oxidiert, die andere Alkane und die meisten anderen organischen Verbindungen nicht verwerten können. Dagegen kann Methanol außer von den Methanoxidierern auch von verschiedenen anderen Bakterien und von Hefen oxidiert werden. Methanol stammt vor allem aus dem Pectinabbau. Methan und Methanol verwertende Mikroorganismen sowie Mikroorganismen, die andere C_1 -Verbindungen (Methylamin, Methylmercaptan, Dimethylether, Formaldehyd, Ameisensäure usw.) als Substrate verwenden können, fasst man als **methylo tro phe Organismen** zusammen. Darunter gibt es auf wenige Substrate festgelegte Spezialisten wie auch Generalisten, die Methanol verwerten, wenn keine günstigeren Substrate zugegen sind. Der Stoffwechsel mancher methylo tro pher Bakterien ist ein Beispiel dafür, wie Gene für ganze Stoffwechselwege über weite verwandtschaftliche Distanzen übertragen werden können (Plus 10.11).

Methanol kann leicht und billig großtechnisch durch chemische Katalyse aus Methan (Erdgas) gewonnen werden. Deshalb ist mikrobielles Wachstum auf Methanol ein biotechnologisch interessanter Prozess, um Biomasse und daraus Einzellerprotein (engl. single cell protein) und andere Produkte zu gewinnen.

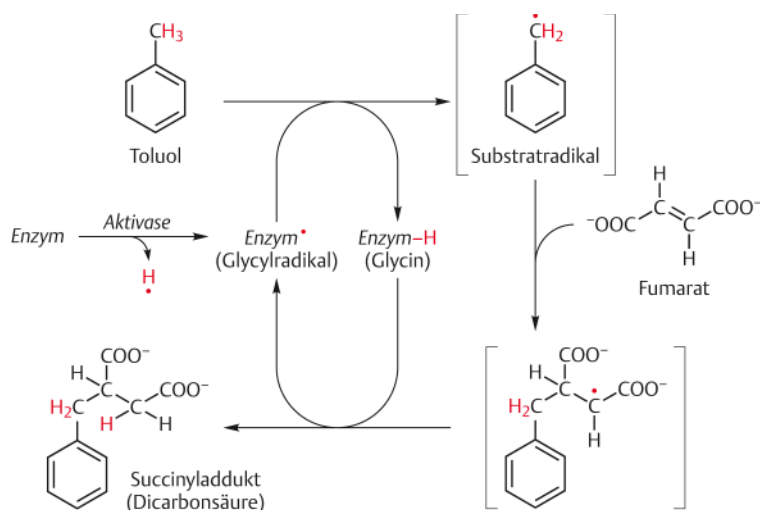
Anaerober Abbau von Kohlenwasserstoffen

Unter anoxischen Bedingungen galten Kohlenwasserstoffe (z.B. Alkane wie Hexadecan, aber auch aromatische Kohlenwasserstoffe wie Toluol) lange Zeit als nicht biologisch abbaubar. Anaerob atmende Bakterien können aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe jedoch radikalisch angreifen (Abb. 10.25). Dazu verwenden sie Enzyme, welche im aktiven Zentrum ein Glycylradikal enthalten. Über den Abbau kurzketziger Kohlenwasserstoffe ist wenig bekannt. Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe – ausgenommen Naphthalin – werden anaerob kaum abgebaut. Ein faszinierendes Kapitel ist die kürzlich entdeckte anaerobe Oxidation von Methan, ein Prozess, der aus thermodynamischen und mechanistischen Gründen für unwahrscheinlich gehalten wurde (Plus 10.12).

Plus 10.11 Lateraler Gentransfer

In dem methylo tro phen Eubakterium (beta-Proteobakterium) *Methylobacterium extorquens* wurde der Enzym- und Cofaktorapparat gefunden, der bei Methanol verwerten, Methan bildenden Archaeobakterien zur Oxidation von Formaldehyd zu CO_2 dient und der offenbar durch lateralen Gentransfer aus den Archaeobakterien erworben wurde. Diese beiden methanbildenden und methanoxidierenden Bakteriengruppen coexistieren wahrscheinlich seit mehr als einer Milliarde Jahren an der dünnen, nur Millimeter dicken Grenzschicht von Sedimenten, wo Biogas aus der anaeroben Zone auf Sauerstoff trifft. Diese räumliche Nähe fördert offensichtlich lateralen Genaustausch selbst zwischen nur weitläufig miteinander verwandten Mikroorganismen.

Abb. 10.25 Anaerober Angriff von Alkanen durch radikalische Addition von Fumarat. Als Beispiel ist der aromatische Kohlenwasserstoff Toluol gewählt. Das aktive Enzym, Benzylsuccinat-synthase, muss zunächst aus der inaktiven Enzymvorstufe durch ein Hilfsenzym gebildet werden. Das Glycylradikal des Enzyms, das nur unter Ausschluss von O₂ stabil ist, entzieht dem Kohlenwasserstoff ein H-Atom und wird zu Glycin, der Kohlenwasserstoff wird zum Substratradikal. Dieses Radikal addiert dann an die Doppelbindung von Fumarat (Cosubstrat) und entzieht anschließend dem Glycin wieder das zuvor übertragene H-Atom. Es entsteht ein Succinyladdukt des Kohlenwasserstoffs, das als Dicarbonsäure prinzipiell leicht abbaubar ist. Dazu braucht es nur eine modifizierte β -Oxidation. Entsprechendes gilt in Abwandlung für aliphatische Kohlenwasserstoffe. Hier erfolgt die Addition von Fumarat bevorzugt am vorletzten C-Atom der Kohlenwasserstoffkette.



10.6.5 Fettsäuren

Fettsäuren entstehen beim Abbau (Verseifung) von Fetten und Ölen (Triacylglyceride) und von Membranlipiden, aber auch beim Abbau von anderen Estern und Wachsen (Ester langkettiger Alkohole und Fettsäuren). Kurzketige Fettsäuren und Alkohole (C₂ – C₆) entstehen auch als Gärprodukte. Alkane, Alkohole und Aldehyde werden zu Fettsäuren oxidiert. Wachstum auf Fettsäuren ist also nicht nur bei fettabbauenden Mikroorganismen verbreitet.

Langkettige **Fettsäuren** werden durch Permeasen transportiert, kurzketige diffundieren vermutlich in der ungeladenen protonierten Form passiv durch die Membran. Der Abbau erfolgt in mehreren Schritten. Der erste Abbauschritt ist die ATP-abhängige **Aktivierung** der Säure durch die Fettsäure-Coenzym-A-Ligase (Abb. 10.26). ATP wird dabei in AMP und Pyrophosphat (PP_i) gespalten. Die anschließende Spaltung von PP_i durch die Pyrophosphatase macht die Reaktion irreversibel.

Die Oxidation der Fettsäuren unter Abspaltung von Acetylseinheiten ist als **β -Oxidation** bekannt, da dabei das β -C-Atom (–CH₂–) der Fettsäure

Plus 10.12 Anaerobe Oxidation von Methan – ein Leben nahe am thermodynamischen Gleichgewicht

Eine Sensation stellt die Entdeckung dar, dass es in anaeroben Bereichen der Meeresedimente, wo Methan unter hohem Druck und damit in hoher Konzentration gelöst vorkommt, zu einer anaeroben Oxidation von Methan kommt. Der langsame Prozess ermöglicht dicken Bakterienmatten am Boden des Schwarzen Meeres das Wachstum.

Der Gesamtprozess ($\text{CH}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{S} + 2 \text{H}_2\text{O}$; $\Delta G^0 = -22 \text{ kJ}$) lässt sich in zwei Teilprozesse gliedern: Methanoxidation ($\text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 8 [\text{H}]$) und Sulfatatmung ($8 [\text{H}] + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{H}_2\text{S} + 4 \text{H}_2\text{O}$). Den ersten Prozess katalysieren Archaeobakterien in Umkehrung der Bildung von Methan aus CO₂ und 4 H₂ ($4 \text{H}_2 = 8 [\text{H}]$), mit nur wenigen notwendigen Änderungen des Feinbaus der Coenzyme und Enzyme. In manchen Fällen scheinen die Archaeobakterien, die nahe ver-

wandt sind mit Methan bildenden Bakterien, auch die Sulfatatmung durchzuführen (Sulfatreduzierer wie *Archaeoglobus* sind in dieser Verwandtschaftsgruppe schon bekannt). In anderen Fällen sind die Methan oxidierenden Archaeobakterien mit Sulfat reduzierenden Eubakterien (delta-Proteobakterien) räumlich eng vergesellschaftet (vgl. Abb. 17.16, S. 553). Wie beide Organismen Energie aus dem Gesamtprozess beziehen und wie die Reduktionsäquivalente zwischen ihnen ausgetauscht werden, ist rätselhaft. Dieser Prozess bedeutet ein Leben nahe am thermodynamischen Gleichgewicht, ein weiteres Beispiel für extreme Lebensweisen bei Prokaryonten. Er hat große globale Bedeutung, da Methan ein **Treibhausgas** ist und zur Erderwärmung beiträgt.

zur Ketostufe ($-\text{CO}-$) oxidiert wird. Die β -Oxidation ist im Prinzip eine Umkehr der Reaktionen der Fettsäuresynthese (Kap. 8.7.4), unterscheidet sich aber in einigen Punkten. Zum Beispiel erfolgt der Abbau der Fettsäuren in Coenzym-A-gebundener Form, während die Synthese an einem Acyl-Carrier-Protein (ACP) stattfindet.

Die erste Oxidation beim Abbau der Fettsäure durch die Acyl-CoA-Dehydrogenase ergibt eine *trans*-Doppelbindung (① in Abb. 10.27); der Schritt erfordert wegen des positiven Redoxpotenzials (ca. 0 V) den positiven Elektronenakzeptor FAD (bei der Synthese ist der Umkehrschritt NADPH-abhängig). Die Elektronen werden von einem elektronenübertragenden Flavoprotein übernommen und an der Membran auf Chinon übertragen. Eine Enoyl-CoA-Hydratase addiert dann Wasser an die Doppelbindung und liefert die *L*-3-Hydroxyverbindung (bei der Synthese entsteht die *D*-Form) (②). Die Oxidation der OH-Gruppe erfolgt mit NAD^+ (bei der Synthese ist der Umkehrschritt NADPH-abhängig) (③, *L*-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase).

Diese Schritte erfolgen bei Bakterien an drei Einzelenzymen. Diese können auch die *cis*-Form von ungesättigten Fettsäuren in die *trans*-Form umlagern und *D*- und *L*-Hydroxyformen in einander umwandeln. Bei Eukaryonten sind alle Enzymfunktionen zu einem großen Multienzymkomplex vereinigt. Nach dem zweiten Oxidationsschritt erfolgt die thiolische Abspaltung einer Acetylseinheit mit Coenzym A zu Acetyl-CoA durch β -Ketothiolase (④) und das um C_2 -verkürzte Acyl-CoA geht weitere β -Oxidationszyklen ein.

Bei der Oxidation ungeradzahlgiger Fettsäuren bleibt zuletzt ein **Propionyl-CoA** übrig. Propionyl-CoA wird durch das Biotinenzym Propionyl-CoA-Carboxylase am α -C-Atom zu (*S*)-Methylmalonyl-CoA carboxyliert. Biotinenzyme spalten bei der Aktivierung von Bicarbonat ATP zu ADP und Phosphat. Das (*S*)-Stereoisomere wird durch eine Isomerase in die (*R*)-Form umgewandelt, gefolgt von einer Kohlenstoffumlagerung zu Succinyl-CoA durch eine Coenzym- B_{12} -abhängige Mutase (Kap. 12.6). Beim Abbau von geradzahlgigen **Dicarbonsäuren** bleibt Succinyl-CoA übrig, und bei ungeradzahlgigen Dicarbonsäuren Glutaryl-CoA. Die aktivierte C_5 -Dicarbonsäure Glutaryl-CoA wird zu Glutaconyl-CoA dehydrogeniert, dieses wird zu Crotonyl-CoA decarboxyliert. Crotonyl-CoA wird durch β -Oxidation zu zwei Acetyl-CoA umgesetzt.

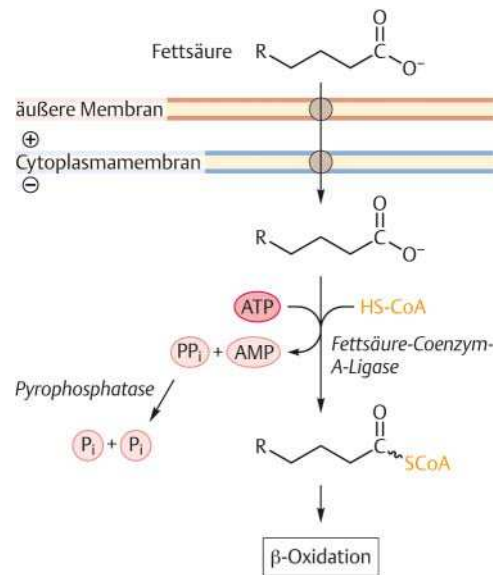


Abb. 10.26 Transport von Fettsäuren. Fettsäuren werden durch Permeasen transportiert und nach Aktivierung mit Coenzym A im Cytosol über die Reaktionen der β -Oxidation abgebaut.

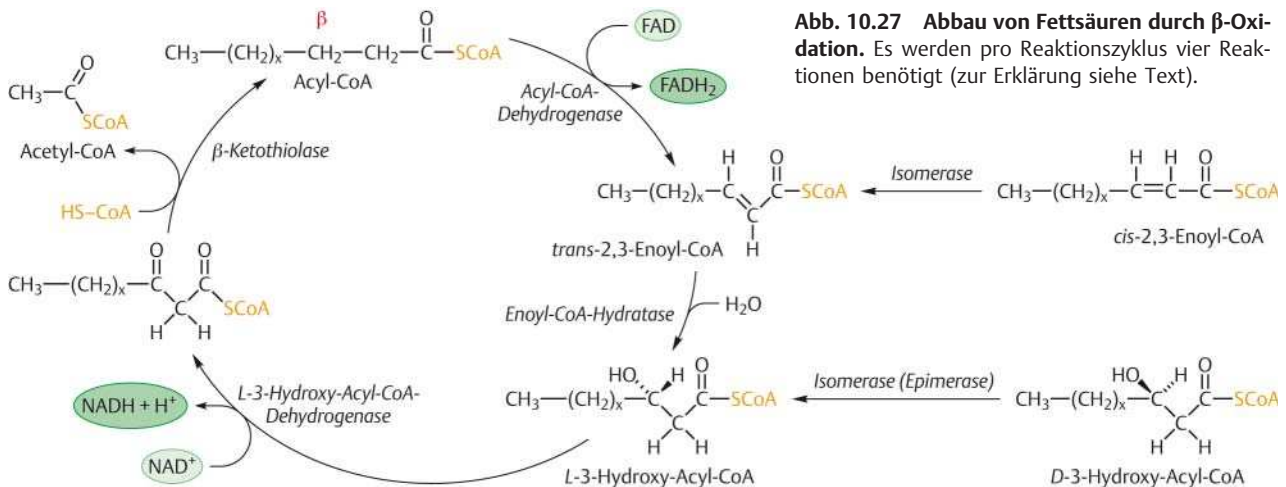
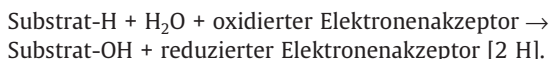


Abb. 10.27 Abbau von Fettsäuren durch β -Oxidation. Es werden pro Reaktionszyklus vier Reaktionen benötigt (zur Erklärung siehe Text).

10.6.6 Purine, Pyrimidine und andere heterozyklische Verbindungen

Weit verbreitet sind N-, O- und S-heterozyklische Verbindungen. Darunter befinden sich die Purin- und Pyrimidinbasen der Nukleinsäuren und vieler Cofaktoren, die Heterozyklen der Aminosäuren Histidin, Prolin und Tryptophan sowie ein wichtiges tierisches Ausscheidungsprodukt, die Harnsäure. Für den Abbau werden in vielen Fällen eine oder mehrere Hydroxylgruppen in das Substrat eingeführt. Häufig wird die **Hydroxylierung** von **Molybdän-Cofaktor enthaltenden Dehydrogenasen** ohne Beteiligung von molekularem Sauerstoff katalysiert. Der eingeführte Sauerstoff stammt aus Wasser:



In anderen Fällen können Monooxygenasen beteiligt sein:



In Abbildung 10.28 ist stellvertretend der Abbau von Purinen gezeigt. Er erfolgt über Harnsäure und ergibt Glyoxylat und Harnstoff (s. Glyoxylat-

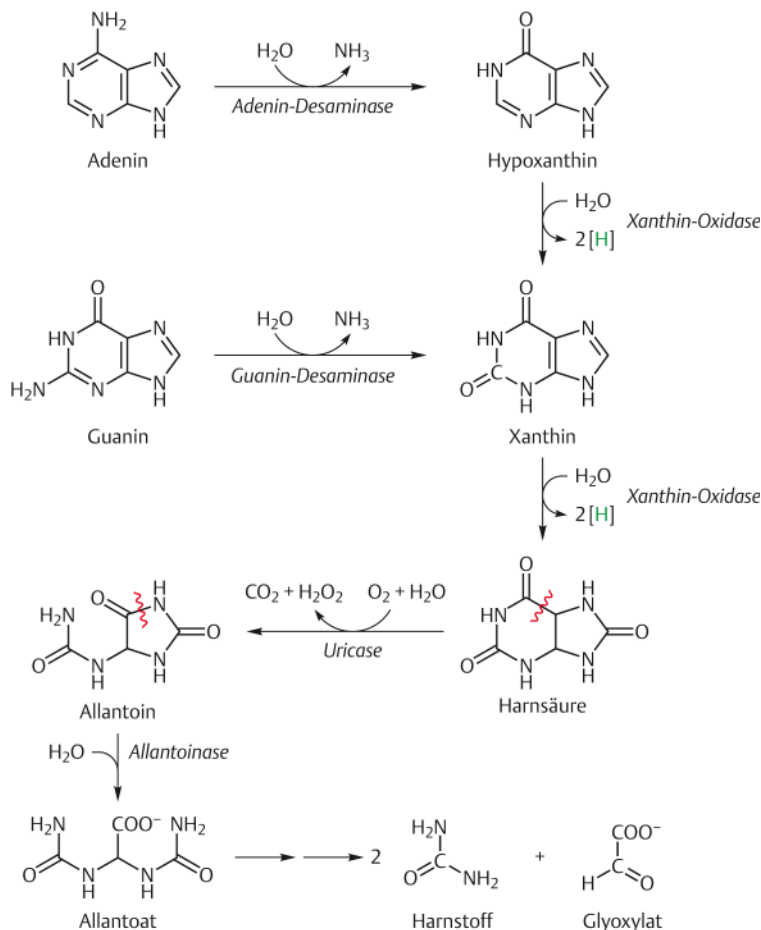


Abb. 10.28 Abbau von Purinen. Die Purine werden zunächst zu Hypoxanthin (bzw. Xanthin) desaminiert. Hypoxanthin wird weiter zu Xanthin oxidiert. Durch eine weitere Oxidation durch die Xanthinoxidase entsteht Harnsäure. Mikroorganismen und die meisten Säugetiere bauen die Harnsäure weiter zu Allantoin und Allantoat ab. Letztlich entstehen daraus Harnstoff und Glyoxylat.

stoffwechsel, Kap. 7.6.2). Der Pyrimidinabbau ergibt β -Alanin, das oxidativ zu Malonatsemialdehyd desaminiert wird. Weiteroxidation zu Malonyl-CoA und dessen Decarboxylierung ergibt Acetyl-CoA.

10.7 Abbau und Cometabolismus von Xenobiotika

Die Abbauleistungen der Mikroorganismen sind so vielfältig, dass unter aeroben Bedingungen praktisch alle Naturstoffe mineralisiert werden können. Man spricht vom „**Prinzip der biologischen Unfehlbarkeit**“.

Der Mensch hat willentlich oder unbeabsichtigt synthetische Verbindungen (**Fremdstoffe, Xenobiotika**) in den Naturkreislauf gebracht, die nicht natürlich vorkommen. Manche davon sind im Zeitraum eines Menschenlebens schwer oder kaum abbaubar (recalcitrant, widerspenstig). Von anderen weiß man, dass sie aus dem Boden verschwinden, kennt aber ihre Abbauprodukte nicht. Ungünstige Bedingungen für den Abbau herrschen besonders im kalten, nährstoffarmen und anoxischen Grundwasser, dem wichtigsten Trinkwasserreservoir. Zu den schwer abbaubaren Xenobiotika zählen unlösliche polymere Feststoffe wie Teflon oder Polyethylen, die unschädlich sind. Dagegen sind die Weichmacher der Plastikstoffe langsam wasserlöslich und deshalb problematisch. Mehrfach halogenierte niedermolekulare Substanzen oder polyzyklische Aromaten sind dagegen gering wasserlöslich und toxisch (Abb. 10.29).

Die meisten Xenobiotika sind – sofern ihre Substituenten ihnen nicht eine zu hohe Stabilität verleihen – durch Enzyme angreifbar, die im Naturhaushalt ähnliche Verbindungen umsetzen. So gibt es vor allem

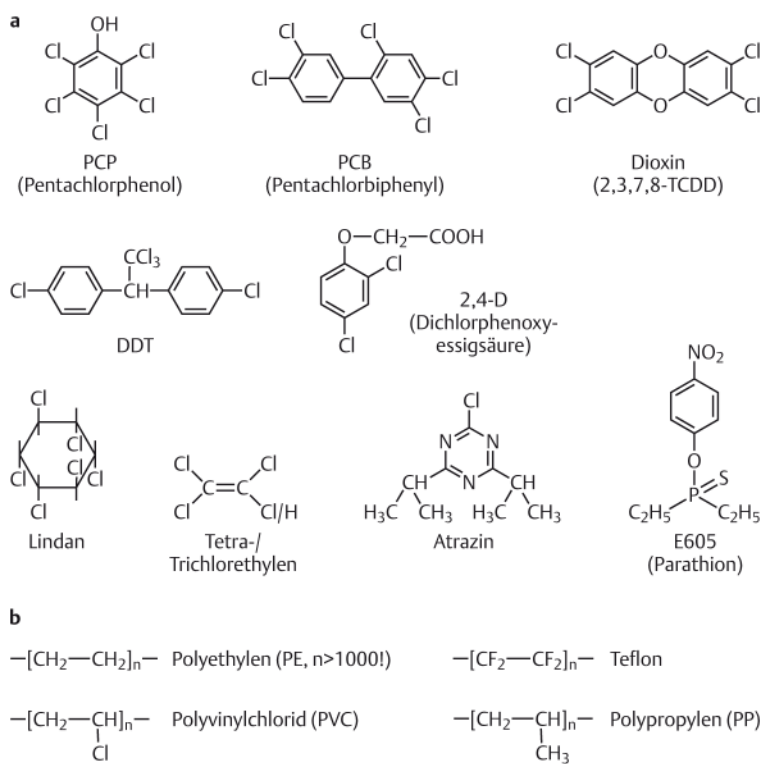


Abb. 10.29 Einige Xenobiotika. **a** Toxische, niedermolekulare, schwer abbaubare Xenobiotika. **b** Nichttoxische, schwer abbaubare Polymere.

Plus 10.13 Ligninabbau, Aromatenabbau und Cometabolismus

Der Ligninabbau durch Pilze stellt einen Fall von Cometabolismus dar, bei dem die Zucker aus Cellulose und Hemicellulosen als Hilfssubstrate dienen. Die am Ligninabbau beteiligten Peroxidasen transformieren unspezifisch eine ganze Reihe von Fremdstoffen, die in Huminstoffe eingebunden und somit wasserunlöslich gemacht werden.

Ein anderes Beispiel ist der aerobe Aromatenstoffwechsel. Die Oxygenasen im peripheren Stoffwechsel haben eine geringe Substratspezifität, da sie eine Reihe von ähnlichen Verbindungen in ein gemeinsames zentrales Intermediat umsetzen sollen. Sie setzen deshalb oft auch Fremdstoffe um, deren vollständiger Abbau aber durch die höhere Spezifität der Enzyme des zentralen Stoffwechsels verhindert wird. Diese **Co-oxidation** ist also häufig der Schlüssel zum Fremdstoffabbau.

im marinen Bereich eine unerwartete Vielzahl von halogenierten natürlichen Verbindungen, die Mikroorganismen als Nahrungsquelle dienen können. Dehalogenierende Enzyme sind also natürlich vorhanden.

Wir haben Oxygenasen und Peroxidasen als potente Enzyme kennengelernt, welche inerte Substrate hydroxylieren, aromatische Ringe spalten oder unspezifisch Radikalkationen erzeugen, die spontan zerfallen. Diese und andere Enzyme können Xenobiotika gemeinsam mit ihren natürlichen Substraten umsetzen (Cometabolismus) (Plus 10.13). Die Naturstoffe oder auch gut abbaubare Fremdstoffe (**Hilfssubstrate**) dienen dabei als Wachstumssubstrat und als Quelle für benötigte Cosubstrate (z.B. NADPH, ATP, H_2O_2). Außerdem sind sie nötig, um die Synthese der abbauenden Enzyme zu induzieren. Xenobiotika liegen nämlich häufig in geringer Konzentration in einem Substanzgemisch vor, was den Transport, die enzymatische Umsatzgeschwindigkeit und die Induktion der Abbauwege beeinträchtigt. Kurz, es liegt kein Selektionsdruck zugunsten der Nutzung von Xenobiotika vor.

Der Abbau muss nicht vollständig sein. Es genügt, wenn der toxische Fremdstoff in ein weniger toxisches oder unproblematisches Produkt umgewandelt wird. Freilich kann auch das Gegenteil eintreten und es entsteht ein noch toxischeres Abbauprodukt (Suizidmetabolit). Verschiedene Organismen können bei der Umsetzung des Fremdstoffs zusammenwirken oder ihn gleichzeitig zu verschiedenen Produkten umsetzen. Ein Wechsel von aeroben und anaeroben Verhältnissen kann sich günstig auf die Abbaubarkeit auswirken, wie das folgende Beispiel zeigt.

Mehrfach halogenierte Kohlenwasserstoffe wie polychlorierte Biphenyle (technisch vielseitig verwendete Flüssigkeit), Pentachlorphenol (Holzschutzmittel) oder DDT (Insektizid) sind durch die vielen elektronenanziehenden Halogenatome Elektronenmangelverbindungen. Sie sind für den elektrophilen Angriff von Oxygenasen schwer zugänglich und deshalb aerob schwer abbaubar. Unter anaeroben Bedingungen werden Oxygenase-Reaktionen zum Angriff von inerten Substraten häufig durch Reduktase-Reaktionen oder Radikal-Reaktionen ersetzt. Wir haben solche Beispiele beim anaeroben Stoffwechsel von Aromaten (Kap. 10.6.3) und Kohlenwasserstoffen (Kap. 10.6.4) kennen gelernt. Elektronenmangelverbindungen nehmen leicht Elektronen auf. Sie können anaerob teilweise durch **Coreduktion** mit Hilfe von Reduktasen umgesetzt werden. Auf diese Weise lassen sich polychlorierte Verbindungen z.B. dehalogenieren:



Interessanterweise können halogenierte Verbindungen auch als Elektronenakzeptoren einer anaeroben Atmung dienen (Plus 10.14).

Die zweifach oder einfach halogenierten Produkte der anaeroben Umsetzung sind wiederum schwerer reduktiv zu dehalogenieren. Sie sind jedoch bessere Substrate für Oxygenasen. Schaltet man den anaeroben und den aeroben Prozess hintereinander, ist der Abbau der mehrfach halogenierten Kohlenwasserstoffe effektiver. Anaerobe Prozesse sind besonders für die Sanierung von Grundwasser von Bedeutung, da hier der Eintrag von Sauerstoff technisch aufwändig ist. Man hat heute genügend Erfahrungen über die biologische Abbaubarkeit von Fremdstoffen gesammelt, um in Zukunft Fehler, die in der Vergangenheit gemacht wurden, weitgehend zu vermeiden.

10.8 Unvollständige Oxidationen

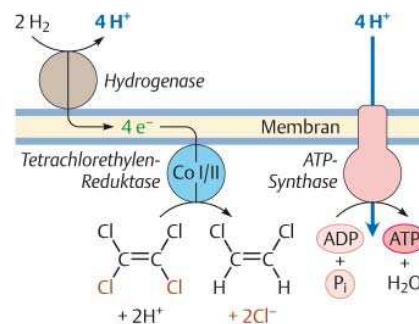
In manchen Biotopen treten vorübergehend Substrate in sehr hohen Konzentrationen auf. Pflanzensäfte und Früchte enthalten neben Säuren auch viel Zucker, die von säuretoleranten Hefen zu Alkohol vergoren werden.

Säuretolerante **Acetobacter-Arten** (Essigsäurebakterien) sind mit Hefen vergesellschaftet und oxidieren aerob Ethanol unvollständig zu Essigsäure. Sie lassen sich auf Kreideagar anhand der Hofbildung leicht nachweisen, denn das weiße CaCO_3 der Kreide wird durch die gebildete Essigsäure aufgelöst. Die **Alkoholdehydrogenase** ist hier ein **periplasmatisches PQQ-Enzym**. Die Zwischenstufe, Acetaldehyd, wird durch ein Molybdo-Häm-Enzym zu Essigsäure oxidiert. Unter diesen Bedingungen wird die Bildung der Succinatdehydrogenase reprimiert, der Citratzyklus ist unvollständig. Erst wenn Ethanol als Substrat verbraucht ist, wird die Succinatdehydrogenase induziert. Die Oxidation der Essigsäure erlaubt unter den nun sehr sauren Bedingungen ein langsames Wachstum. Mit dieser Lebensstrategie werden konkurrierende aerobe Mikroorganismen, welche die hohe Ethanol- und Zuckerkonzentration vielleicht toleriert hätten, durch rasche Ansäuerung ferngehalten. Ein hoher Stoffumsatz kann also auch bei geringer Energieausbeute sinnvoll sein.

Entsprechendes gilt für die unvollständige Oxidation von Glucose zu Gluconsäure durch **Gluconobacter-Arten**. Glucose wird durch das periplasmatische **PQQ-Enzym Glucosedehydrogenase** zu Gluconat oxidiert. Nur ein Teil des Gluconats wird aufgenommen und über den oxidativen Pentosephosphatzyklus zu Glycerinaldehyd-3-phosphat oxidiert. Dieses wird über Pyruvat und Acetaldehyd zu Essigsäure oxidiert. Die periplasmatischen, PQQ-enhaltenden Alkoholdehydrogenasen sind relativ unspezifisch und oxidieren auch sekundäre Alkohole unter Bildung von Ketonen oder Zuckeralkohole zu Aldosen oder Ketosen. Durch die periplasmatische Lage der Dehydrogenasen gelangen die Reaktanten selbst bei hoher Konzentration nicht in die Zelle. Vielmehr werden die Produkte ausgeschieden. Diese Prozesse werden biotechnologisch bei der Herstellung von Speiseessig, von Gluconsäure, sowie für die Oxidation von *D*-Sorbitol (= *D*-Glucitol) zu *L*-Sorbose, eine Zwischenstufe der industriellen Synthese von Vitamin C (Ascorbinsäure), genutzt. *Aspergillus*-Arten und andere Pilze scheiden dagegen **Glucoseoxidase** aus, die Elektronen werden unter Bildung von H_2O_2 auf Sauerstoff übertragen. Das gebildete Gluconolacton wird spontan oder enzymatisch zu Gluconat hydrolysiert. H_2O_2 wird durch Katalase zerstört.

Plus 10.14 Dehalorespiration

Verschiedene anaerobe Bakterien können aus der reduktiven Dehalogenierung von chlorierten Verbindungen sogar Energie gewinnen. Das bekannteste Beispiel ist Tetrachlorethylen ($\text{Cl}_2\text{C}=\text{CCl}_2$), das in großem Maßstab bei der chemischen Reinigung eingesetzt wird (Abb.). Tetrachlorethylenreduzierende Bakterien oxidieren Wasserstoff, Ameisensäure oder auch Essigsäure und übertragen zwei Elektronen auf die membrangebundene Tetrachlorethylen-Reduktase, ein Vitamin- B_{12} -Enzym. Aus der Tetrachlorverbindung entsteht unter Abspaltung von zwei Cl^- das *cis*-Dichlorethylen. Im Zuge des Elektronentransports wird ein elektrochemischer Protonengradient aufgebaut, der von der ATP-Synthase zur Synthese von ATP genutzt wird. Diese so genannte Dehalorespiration ist ein Sonderfall einer anaeroben Atmung. Alkylchloride und Arylchloride haben ein Redoxpotenzial im Bereich von +250 – +580 mV, sind also gute Elektronenakzeptoren.



Dehalorespiration, eine Form der anaeroben Atmung, am Beispiel von Tetrachlorethylen.

Zusammenfassung

- Mikroorganismen können als **Destruenten** im Kreislauf des Kohlenstoffs alle natürlichen organischen Verbindungen als Energie- und Kohlenstoffquelle nutzen. Man spricht vom „Prinzip der biologischen Unfehlbarkeit“.
- Vom anaeroben Abbau ausgenommen sind Lignin und ein Großteil der Kohlenwasserstoffe. Deren Anhäufung in Sedimenten hat zur Bildung von **fossilen Kohlenstoffverbindungen** geführt.
- Die eigentlichen organischen Substrate der Mikroorganismen sind meist komplexe Verbundstoffe aus mehreren großen Biopolymeren. Sie müssen zuerst durch **Exoenzyme** in ihre monomeren Bausteine oder in oligomere Bruchstücke zerlegt werden. Exoenzyme erlauben

pathogenen Mikroorganismen, Strukturen lebender Zellen anzugreifen. Die praktische Anwendung von Exoenzymen ist vielfältig.

- Die mengenmäßig bedeutendsten Polymere sind die **Polysaccharide** Cellulose, Hemicellulosen, Pectin, Chitin und Stärke. Diese sind nachwachsende Rohstoffe bzw. wichtige Nahrungsmittel des Menschen. Enzyme, welche die glykosidischen Bindungen dieser Polysaccharide spalten, sind deshalb von besonderem biotechnologischem Interesse.
- Lignin und Kohlenwasserstoffe können aerob mit molekularem Sauerstoff abgebaut werden. Beim Abbau bleiben ein großer Teil des Lignins und dessen aromatische Abbauprodukte übrig. Sie bilden die **Humusstoffe**, die für die Bodenfruchtbarkeit entscheidend sind.
- Die Peptidbindungen der Proteine werden durch endospaltende **Proteinasen** und exospaltende **Peptidasen** gespalten. **Nukleasen** spalten die Phosphodiesterbindungen von Nukleinsäuren. Lipide enthalten Esterbindungen, die durch **Lipasen** gespalten werden, die erst an der Lipid-Wasser-Grenzschicht aktiv werden. Lipolytische Organismen scheiden zur Emulgierung der Fette Emulgatoren aus.
- Die **Mineralisierung** der niedermolekularen Substrate kann man in zwei Prozesse einteilen: einen oxidativen Teil im Cytoplasma und einen reduktiven Teil an der Cytoplasmamembran. Diese Teilprozesse sind durch elektronenübertragende Coenzyme miteinander verbunden. Im reduktiven Teil kann ATP durch Elektronentransportphosphorylierung gewonnen werden.
- Die Umwandlung von verschiedenen **Hexosen** zu Glucose- oder Fructosephosphaten erfordert die Induktion von wenigen zusätzlichen Enzymen als Ergänzung der zentralen Stoffwechselwege. Einige Bakterien oxidieren Glucose periplasmatisch zu Gluconsäure. Gluconsäure wird meist über den KDPG-Weg abgebaut.
- **Pentosen** werden zu *D*-Xylulose-5-phosphat umgewandelt. Dieses kann über den Pentosephosphatzyklus in Fructose-6-phosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat umgewandelt werden. Der weitere Abbau erfolgt dann über die Glykolyse.
- Der erste Schritt im Abbau von **Aminosäuren** ist die Entfernung der α -Aminogruppe. Dafür gibt es drei Möglichkeiten: oxidative Desaminierung, Transaminierung und Eliminierung. Das Kohlenstoffgerüst der Aminosäuren wird über verschiedene Wege zu den zentralen Stoffwechselintermediaten abgebaut.
- Aromaten sind durch Resonanzenergie stabilisiert. Um diese zyklischen Kohlenstoffverbindungen aufzubrechen, wird im aeroben Stoffwechsel molekularer Sauerstoff als Cosubstrat benötigt. Der Angriff wird durch **Oxygenasen** katalysiert. Periphere Stoffwechselwege (engl. upper pathway) führen zu wenigen zentralen Intermediaten. Diese Verbindungen werden durch wenige ringspaltende Dioxygenasen mit Hilfe von Sauerstoff in einem zentralen Stoffwechselweg (engl. lower pathway) gespalten.
- Niedermolekulare aromatische Verbindungen sind auch unter anaeroben Bedingungen vollständig mineralisierbar. Der Aromat wird durch Reduktion gebrochen, die Zwischenverbindungen sind meist Coenzym-A-Ester.
- Auch der **aerobe Stoffwechsel** von Kohlenwasserstoffen erfordert molekularen Sauerstoff und Oxygenasen. Dabei werden Carbonsäuren oder Dicarbonsäuren gebildet, die durch β -Oxidation abgebaut werden. Die aerobe Oxidation von Methan führt über Methanol, Formaldehyd und Formiat zu CO_2 , wobei der reaktive Formaldehyd an ein Trägermolekül gebunden wird. Der **anaerobe Abbau** von Kohlenwasser-

stoffen beginnt mit der radikalischen Addition von Fumarat an das Substratmolekül. Die anaerobe Oxidation von Methan mit Sulfat als Elektronenakzeptor erfolgt durch spezialisierte Archaeobakterien.

- **Fettsäuren** werden zu Coenzym-A-Estern aktiviert und durch die β -Oxidation zu Acetyl-CoA abgebaut. Ungeradzahlige Fettsäuren ergeben neben Acetyl-CoA ein Molekül Propionyl-CoA.
- Der Abbau von **Purinen, Pyrimidinen** und anderen heterozyklischen Verbindungen erfordert häufig den Einbau von Hydroxylgruppen in das Substrat ohne Beteiligung von molekularem Sauerstoff.
- Auch niedermolekulare Fremdstoffe (**Xenobiotika**), die in der Natur nicht vorkommen, werden zumindest teilweise umgesetzt. Oxygenasen, Peroxidasen und andere Enzyme können Xenobiotika gemeinsam mit ihren natürlichen Substraten umsetzen (Cometabolismus).
- In Pflanzensäften und Früchten treten Säuren und Zucker in sehr hohen Konzentrationen auf. Säuretolerante Essigsäurebakterien sind mit Hefen vergesellschaftet und oxidieren aerob Ethanol unvollständig zu Essigsäure. Entsprechendes gilt für die unvollständige Oxidation von Glucose zu Gluconsäure durch *Gluconobacter*-Arten. Diese Prozesse werden biotechnologisch genutzt.

11

Oxidation anorganischer Verbindungen: Chemolithotrophe Lebensweise

Die lithotrophe Lebensweise ist ein Merkmal, das man ausschließlich bei Prokaryonten antrifft. **Lithotrophe** Bakterien oxidieren reduzierte anorganische Verbindungen und wachsen in Mineralsalzmedien ohne organische Substanzen. Je nach Art des Energiestoffwechsels werden sie in photo- und chemolithotrophe Organismen eingeteilt. Die **Chemolithotrophen** gewinnen die Energie für ihr Wachstum aus der Oxidation von **anorganischen Verbindungen**. Die meisten chemolithotrophen Organismen sind zugleich **autotroph** und verwenden CO_2 als C-Quelle. In solchen Fällen dient die anorganische Oxidationsreaktion auch als Quelle für Reduktionsmittel (NAD(P)H), die für die CO_2 -Fixierung und für andere Syntheseschritte (Chemosynthese) benötigt werden. Die **Chemosynthese** ermöglicht Leben im Dunkeln allein auf Kosten von anorganischer Substanz. Dagegen verwenden **photolithotrophe** Organismen Licht als Energiequelle und die anorganischen Verbindungen dienen lediglich als Elektronendonator für Biosynthesen (Kap. 14). In der Natur gibt es zahlreiche Beispiele für **Symbiosen** zwischen Tieren und lithotrophen Bakterien; außerdem sind auch die Plastiden der Pflanzen und Algen ursprünglich prokaryontische Endosymbionten. Erst solche Symbiosen vermitteln den eukaryontischen Wirten die Fähigkeit zur photo- oder chemolithotrophen Lebensweise.

Überblick

- 11.1 Habitate und Lebensweise von chemolithotrophen Bakterien ... 323**
 - 11.1.1 Art und Herkunft der Substrate ... 323
 - 11.1.2 Habitate ... 324
 - 11.1.3 Lebensweise ... 324
 - 11.1.4 Stoffwechseltypen und ihre Nischen ... 326
 - 11.1.5 Symbiosen ... 327
- 11.2 Prinzipien der Lithotrophie ... 328**
 - 11.2.1 Stoffwechselprinzip ... 328
 - 11.2.2 Rückläufiger Elektronentransport ... 328
- 11.3 Reduzierte Stickstoffverbindungen als Elektronendonatoren ... 329**
 - 11.3.1 Ammonium- und nitritoxidierende Nitrifikanten ... 330
 - 11.3.2 Biochemie der Ammoniumoxidation ... 330
 - 11.3.3 Biochemie der Nitritoxidation ... 331
 - 11.3.4 Ökologische und praktische Bedeutung der Nitrifikation ... 332
- 11.4 Reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren ... 333**
 - 11.4.1 Biochemie der Sulfid- und Schwefeloxidation ... 336
 - 11.4.2 Schwefelwasserstoffoxidierende Symbionten ... 338
- 11.5 Reduzierte Metallionen als Elektronendonatoren ... 339**
 - 11.5.1 Biochemie der Oxidation von Metallionen ... 341
 - 11.5.2 Erzlaugung ... 341
- 11.6 Wasserstoff als Elektronendonator ... 342**
 - 11.6.1 Biochemische Grundlagen ... 343
 - 11.6.2 Aerobe wasserstoffoxidierende Mikroorganismen ... 343
- 11.7 Kohlenmonoxid als Elektronendonator ... 344**

11.1 Habitate und Lebensweise von chemolithotrophen Bakterien

11.1.1 Art und Herkunft der Substrate

Chemolithotrophe Bakterien leben von der Oxidation anorganischer Substrate (lithos, griech. Stein). Reduzierte anorganische Verbindungen werden zu oxidierten Produkten umgesetzt und diese ausgeschrieben (Abb. 11.1). Die bei der Oxidation freigesetzten Reduktionsäquivalente werden für die Atmung und für Biosynthesen benötigt. In der Natur kommen reduzierte anorganische Verbindungen meist nicht zusammen mit gut abbaubaren organischen Verbindungen vor. Deshalb müssen chemolithotrophe Bakterien ihr Zellmaterial häufig aus CO_2 aufbauen, sie sind chemolithoautotroph. Diesen neuen Modus vivendi, nämlich eine Chemosynthese aus CO_2 mithilfe einer anorganischen Redoxreaktion, hat erstmals Sergej Winogradsky 1887 erkannt (Plus 11.1).

Die reduzierten anorganischen Verbindungen stammen aus dem Stoffwechsel von Bakterien, die unter anoxischen Bedingungen eine anaerobe Atmung betreiben (Kap. 13). In solche Regionen gelangtes, schwer abbaubares organisches Material (z. B. Lignocellulose) wird langsam zu Gärpro-

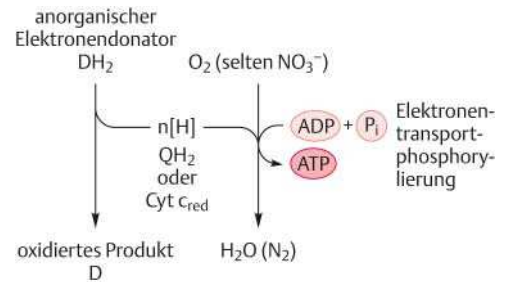


Abb. 11.1 Stoffwechselschema der Chemolithotrophie.

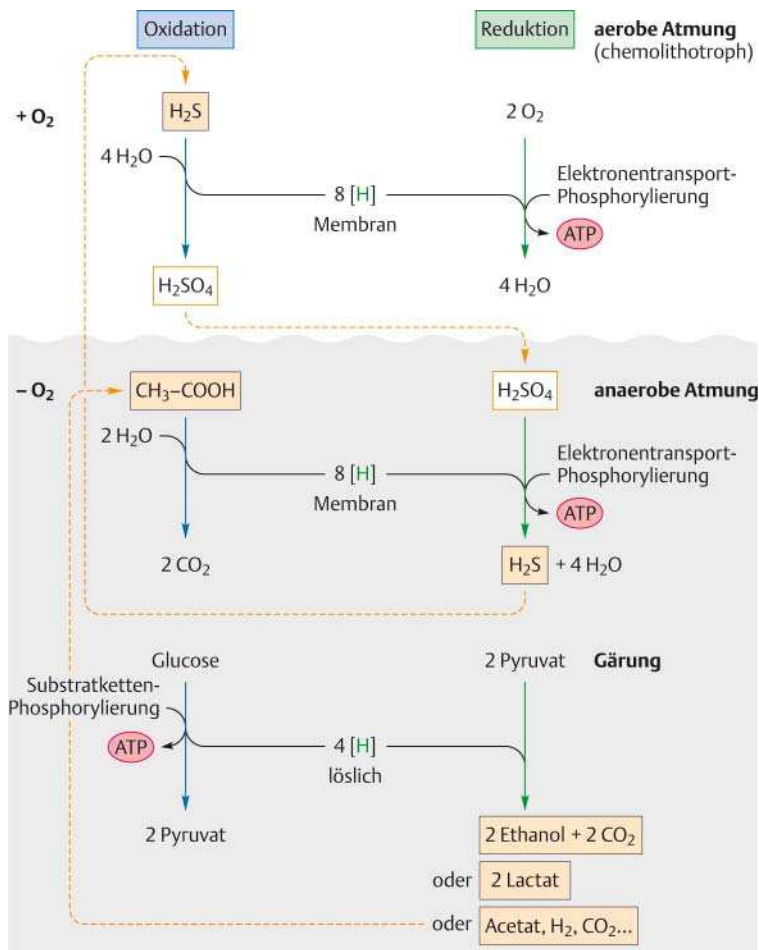


Abb. 11.2 Verschiedene Typen des bakteriellen Energiestoffwechsels und ihre Rolle im Stoffkreislauf der Natur. Oben ist die chemolithotrophe Lebensweise am Beispiel der Oxidation von H_2S dargestellt, darunter ist die anaerobe Atmung am Beispiel der Sulfatatmung und ganz unten die Gärung gezeigt. Die anaerobe Atmung sorgt für den Nachschub an reduzierten anorganischen Elektronendonatoren und schließt so den Kreislauf der Stoffe. Dieser Kreislauf beruht auf einem Wechsel von aerober und anaerober Lebensweise in oxisch-anoxischen Gradienten im natürlichen Habitat. Angetrieben wird der Kreislauf durch den Energiegehalt organischen Materials, das als Elektronendonator dient. Es wird durch chemoorganotrophe Mikroorganismen in Gegenwart eines Oxidationsmittels (Elektronenakzeptor) abgebaut. Der Aufbau der organischen Substanz und die Freisetzung von Sauerstoff aus Wasser sind letztlich vom Sonnenlicht abhängig (nach Doenecke et al., 2005).

Plus 11.1 Winogradsky's Erkenntnisse

Winogradsky führte seine Versuche mit dem farblosen fädigen Riesenbakterium *Beggiatoa* durch, das wegen seiner Größe schon länger bekannt war. Er inkubierte die *Beggiatoa*-Bakterienmatten, die er am Grund von Teichen gesehen hatte, mit Gips (CaSO_4), der als Substrat für H_2S bildende Sulfat-reduzierer diente. Dabei beobachtete er lebhaftes Wachstum nahe der Oberfläche des Wassers. Inkubierte er *Beggiatoa* in einer feuchten Kammer in Gegenwart von Schwefelwasserstoff und Luft und ohne organische Verbindungen, wurden in den Zellen Schwefelkügelchen abgelagert. Bei Mangel an H_2S verschwanden diese wieder und es bildete sich Schwefelsäure.

Beggiatoa veratmete also offenbar Schwefel anstelle organischer Substanz. Winogradsky schloss daraus: „Durch einen rein anorganischen Prozess, den der Schwefeloxidation, werden alle ihre Lebensbewegungen im Gange erhalten. Darum habe ich diese Organismen Schwefelorganismen oder Schwefelbakterien genannt.“ Seine Kollegen in Straßburg erkannten sogleich die Neuartigkeit des Stoffwechseltyps und gratulierten ihm mit den Worten: „Sie haben einen neuen Modus vivendi gefunden“ (in H. G. Schlegel, Geschichte der Mikrobiologie, 1999, Deutsche Akademie der Naturforscher, Leopoldina).

Die Herkunft des Zellkohlenstoffs aus CO_2 entdeckte Winogradsky später an nitrifizierenden Bakterien. Seine Arbeiten sind ein Muster an Beobachtung, Überlegung, vorsichtiger Schlussfolgerung und weitsichtiger Betrachtung, die bis heute ihren Wert als Lektüre behalten haben.

dukten, wie Alkohol, Essigsäure, Wasserstoff und CO_2 , umgesetzt (Abb. 11.2). Bakterien mit einer anaeroben Atmung können diese Gärprodukte vollständig zu CO_2 oxidieren. Die Produkte der anaeroben Atmung und der Methanbildung (NH_3 , H_2S , CH_4 , Fe(II) u. a.) diffundieren in den oxischen Bereich und werden an einer schmalen Grenzschicht durch aerobe chemolithotrophe Bakterien oxidiert. Die oxidierten Produkte (NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 , Fe(III) u. a.) diffundieren wieder in die anoxische Zone und stehen für die anaerobe Atmung erneut zur Verfügung. Chemolithotrophe Bakterien wirken so entscheidend am Stoffkreislauf mit.

11.1.2 Habitate

Chemolithotrophe Mikroorganismen benötigen zum einen **reduzierte Elektronendonatoren**, die in der Natur vor allem durch anaerobe Atmungsprozesse in anoxischen Habitaten gebildet werden. Zum anderen benötigen sie aber auch **Sauerstoff** (selten andere **oxidierte Elektronenakzeptoren**), der nur in oxischen Habitaten vorhanden ist. Die Bakterien sind meist mikrooxisch und siedeln sich in Sedimenten an der **Schichtgrenze** zwischen anoxischer und oxischer Zone an. Dort trifft der notwendige Elektronendonator aus der unteren Schicht auf einen geeigneten Elektronenakzeptor in der oberen Schicht. Obwohl diese **Stoffgradienten** bereits für die Einnischung der verschiedenen Gruppen chemolithotropher und anaerob atmender Bakterien wichtig sind, werden sie erst durch die Stoffwechselaktivitäten der entsprechenden Mikroorganismen erzeugt.

Die Grenzschicht, in der eine chemolithotrophe Lebensweise stattfinden kann, ist sehr eng begrenzt, da die notwendigen Substrate nur durch Diffusion dorthin gelangen. Die **Mischzeit** eines Moleküls ist dabei proportional zum Quadrat der Diffusionsstrecke. Ein kleines Substratmolekül braucht nur Millisekunden, um einen Mikrometer weit zu diffundieren und mit seinem Reaktionspartner zu reagieren, bei 0,1 mm Strecke ist die Mischzeit schon 10 Sekunden, und bei 1 Millimeter gar 15 Minuten. Deshalb leben die chemolithotrophen Mikroorganismen in einer nur 0,1 bis maximal 1 Millimeter dicken Grenzschicht zwischen oxischer und anoxischer Zone. Die Diffusion der reduzierten anorganischen Substrate an die Sauerstoffgrenzschicht erfolgt langsam und damit ist der Nachschub von Substrat wachstumsbegrenzend. Aus dem Gleichgewicht zwischen Nachdiffusion und Verbrauch der Substrate resultieren **winzige Substratkonzentrationen**.

11.1.3 Lebensweise

Chemolithotrophe Bakterien sind typische **Gradientenorganismen**. Da in der Grenzschicht zwischen oxischer und anoxischer Zone nur geringe Substratkonzentrationen auftreten und kaum organische Substrate vorhanden sind, tolerieren diese Bakterien auch nur solche geringen Substratkonzentrationen. Organische Verbindungen haben sogar oft toxische Wirkung. Die Organismen sind häufig obligat chemolithoautotroph und oft **Spezialisten**. Viele fixieren CO_2 .

Die **Redoxpotenziale** der meisten anorganischen Redoxreaktionen sind relativ positiv, sodass bei der Oxidation anorganischer Substrate nicht NAD^+ als Elektronenakzeptor ($E^\circ = -0,32 \text{ V}$) dienen kann. Vielmehr werden Chinone (E° ca. 0 V) oder Cytochrome vom Typ c ($E^\circ +0,3 - +0,35 \text{ V}$) reduziert. In der Atmungskette hin zu Sauerstoff entfallen also bis zu zwei Kopplungsstellen (NADH-Ubichinon-Oxidoreduktase, Komplex I,

und der Cytochrom-*bc*₁-Komplex = Ubichinol-Cytochrom-*c*-Oxidoreduktase, Komplex III) (Kap. 7.4). Die entsprechend geringen ATP-Ausbeuten führen zu einem **langsamen Wachstum** mit **geringen Zelldichten**. Allerdings gleichen die chemolithotrophen Organismen diese geringen Energieausbeuten teilweise durch einen **hohen Stoffumsatz** wieder aus. Der erste Schritt bei der Oxidation einiger chemisch schwer angreifbarer Substrate wie Methan oder Ammoniak verbraucht sogar Reduktionsäquivalente in einer Monooxygenase-Reaktion.

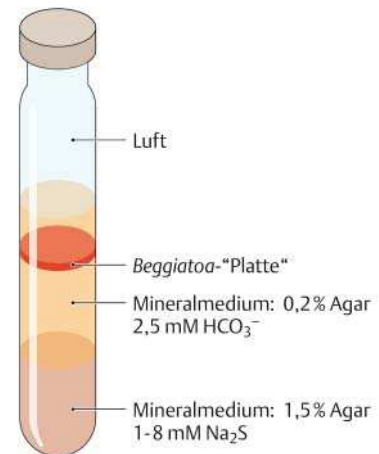
Die biologischen Reaktionen in den Zellen stehen häufig in **Konkurrenz zu spontan ablaufenden chemischen Oxidationen**. Zum Beispiel oxidiert Luftsauerstoff H₂S spontan zu Schwefel, Thiosulfat und Sulfat, oder Fe²⁺ zu Fe³⁺. Der hohe Stoffumsatz der Bakterien als Folge der geringen Energieausbeute konkurriert erfolgreich mit dem spontanen chemischen Prozess, vor allem sorgt er für den raschen und fast vollständigen Verbrauch von Sauerstoff.

Für Biosynthesen, besonders für die autotrophe CO₂-Fixierung, benötigen Chemolithotrophe NAD(P)H, das sie nur über einen **rückläufigen Elektronentransport** aus reduzierten Chinonen oder Cytochromen unter Beteiligung der NADH-Ubichinon-Oxidoreduktase und des Cytochrom-*bc*₁-Komplexes gewinnen können. Dieser energieaufwändige Prozess (die Elektronen werden sozusagen „bergauf“ gehoben) ist zusätzlich verantwortlich für die geringen Zellzahlen und das langsame Wachstum. Hinzu kommt, dass die **CO₂-Fixierung** pro CO₂ nicht nur 2 NAD(P)H, sondern zusätzlich 3 ATP benötigt (s. Calvin-Zyklus, Kap. 8.6.1).

Box 11.1 Vorkommen und Kultivierung von Chemolithotrophen

Obwohl lithotrophe Organismen oxische bis anoxische Gradientenhabitate brauchen, kommen die meisten ubiquitär vor. Dies ist vor allem darauf zurückzuführen, dass bereits winzige Partikel, auf denen sich Mikroorganismen überall in der Umwelt ansiedeln, für die Ausbildung von Gradienten im Mikromaßstab ausreichen (Kap. 11.1.2) und vielen lithotrophen Organismen die Einnischung erlauben. Bekannte Beispiele sind Belebtschlammflocken im Abwasser, Bodenkrumen oder mariner „Schnee“. Hohe Zahlen lithotropher Mikroorganismen sind an oligotrophen Standorten im Dunkeln zu erwarten, wo weniger Konkurrenz durch schneller wachsende Chemoorganotrophe herrscht. Photolithotrophe dominieren im Licht. Die meisten Lithotrophen sind autotroph und benötigen CO₂ als C-Quelle.

Für die Anreicherung und Isolierung chemolithotropher Mikroorganismen benutzt man deshalb **Minimalmedien**, die den gewünschten Elektronendonator als einzige reduzierbare Verbindung enthalten, und die dunkel und mit CO₂ als einziger C-Quelle gehalten werden (Abb.). Je nach den anzureichernden Organismen wählt man den Elektronenakzeptor. Bei Anreicherungen lithotropher Mikroorganismen muss man mit langsamem Wachstum (Generationszeit im Bereich von Tagen) und geringer Zellausbeute rechnen. So müssen *Acidithiobacillus ferrooxidans* etwa 150 g Fe²⁺ und *Nitrosomonas* 30 g Ammoniak oxidieren, um 1 g Zelltrockenmasse zu bilden.



Marines Gradientenmedium für die Anzucht von schwefelwasserstoffoxidierenden Bakterien. Wie im natürlichen Lebensraum bildet sich ein Gradient des Elektronendonators H₂S aus der unteren anoxischen Zone und des Elektronenakzeptors Sauerstoff aus dem Luftraum oben. HCO₃⁻ dient als einzige C-Quelle. Schwefelwasserstoffoxidierende Bakterien (z. B. *Beggiatoa* sp.) siedeln sich als „Platte“ an der Stelle an, wo optimale H₂S- und Sauerstoffkonzentrationen für das Wachstum herrschen.

Kultivierung

Chemolithotrophe Bakterien sind bis heute schwer im Labor zu kultivieren (Box 11.1). Dies hat mehrere Gründe:

1. Trotz hoher Stoffumsatzraten erzielen sie nur geringe Zellausbeuten und wachsen langsam. Dies liegt an den relativ hohen Redoxpotenzialen der meisten anorganischen Substrate, die nur wenig Energiekonservierung erlauben, und dem Energiebedarf der NAD(P)H-Bildung durch rückläufigen Elektronentransport.
2. Die Stoffgradienten, die von den verschiedenen Mikroorganismen in der Natur aufgebaut werden, sind im Labor nur schwer nachzustellen.
3. Sowohl die anorganischen Elektronendonatoren als auch der Sauerstoff werden nur in geringen Konzentrationen toleriert. Ebenso wirken organische Substanzen oft toxisch.

11.1.4 Stoffwechseltypen und ihre Nischen

Chemolithotrophe Bakterien nutzen in der Natur **Nischen**, in denen Gradienten von Sauerstoff, reduzierten anorganischen Verbindungen und organischen Verbindungen herrschen (Abb. 11.3). In Gegenwart von organischen Verbindungen werden anorganische Verbindungen häufig nur cometabolisiert. Fakultativ chemolithotrophe Bakterien können sowohl anorganische als auch organische Stoffe oxidieren. Bei Wachstum mit anorganischen Verbindungen reprimieren sie die Synthese der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase, eines Schlüsselenzyms des Citratzyklus. Obligat chemolithoautotrophe Bakterien sind Spezialisten, die sich in Nischen unter mikrooischen Bedingungen ohne Licht durchsetzen können, wenn nur anorganische Substrate verfügbar sind. Ihr Citratzyklus ist unvollständig und sie benötigen dessen Reaktionen nur noch für Biosynthesen. Diese Nischen haben sich verschiedene Bakteriengruppen erobert, die nicht miteinander verwandt sind. Vielmehr findet man bei jedem Stoffwechseltyp Vertreter verschiedener Verwandtschaftsgruppen.

Die **Stoffwechseltypen** teilt man nach den verwendeten anorganischen Substraten ein, also nach Bakterien, die z. B. Methan, reduzierte Stickstoffverbindungen, reduzierte Schwefelverbindungen oder reduzierte Metallionen oxidieren (Abb. 11.4). So oxidieren **Nitrifikanten** in der obersten, oxischen Schicht der Sedimente Ammonium, das aus Abbauprozessen und anaerober Atmung stammt, zu Nitrat. Nitrat dient wiederum anderen chemolithotrophen oder chemoorganotrophen Nitratatmern in tieferen Schichten der Sedimente als Elektronenakzeptor. Aerobe oder nitratreduzierende Bakterien (**Sulfurikanten**) oxidieren Sulfid, das durch Sulfat-atmung entstanden ist.

Auch die **methanogenen Archaeobakterien** und die **acetogenen Bakterien**, die sich ganz unten in anaeroben Sedimenten ansiedeln, gehören zu den Chemolithotrophen. Beide Gruppen verwerten Wasserstoff als Elektronendonator und reduzieren damit den Elektronenakzeptor CO_2 in

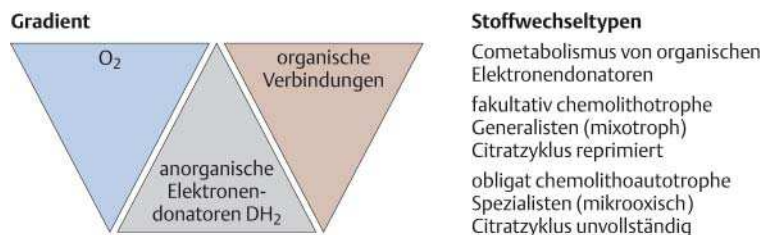


Abb. 11.3 Chemolithotropher Stoffwechsel in natürlichen Gradientenhabitaten.

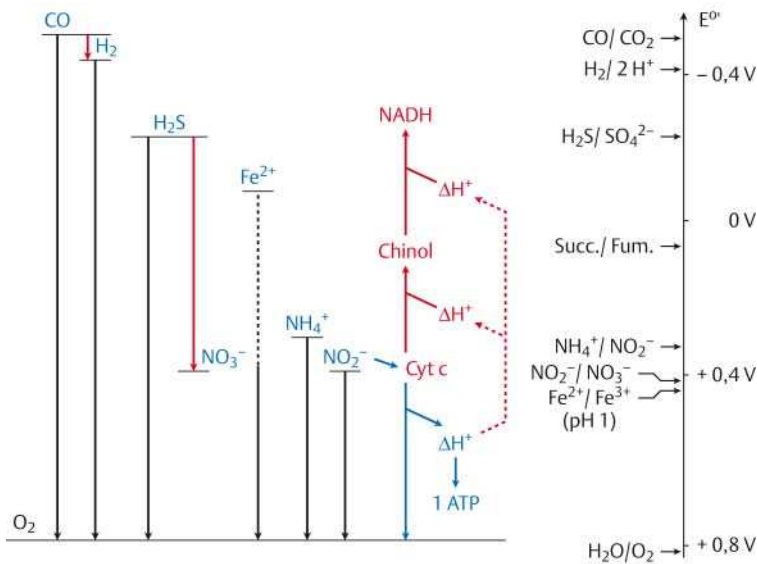


Abb. 11.4 Redoxskala der wichtigsten chemolithotrophen Elektronendonatoren. Die Skala gibt die Standardredoxpotenziale verschiedener Redoxreaktionen an. Die schwarzen Pfeile zeigen die Redoxspannen im chemolithotrophen Stoffwechsel mit Sauerstoff als Elektronenakzeptor. Die roten Pfeile zeigen Beispiele anaerober chemolithotropher Systeme. Das Redoxpotenzial von Fe(II) schwankt, je nach Löslichkeit der Fe(II) - bzw. Fe(III) -Mineralien stark (gestrichelter Teil des Pfeils bei Fe(II)). Der durchgezogene Teil des Pfeils zeigt das Potenzial bei einem pH -Wert von 1 an, das für acidophile Fe(II) -Oxidierer relevant ist. Am Beispiel der Nitritoxidation ist die Thermodynamik der Energiekonservierung (blau) und des rückläufigen Elektronentransports (rot) gezeigt. ΔH zeigt an, dass hier Energie in Form einer Proton motive Force konserviert wird.

einer anaeroben Atmung zu Methan oder Acetat (Kap. 13.7). Ein Großteil des Methans diffundiert in oxische Zonen und wird dort von **aeroben methanotrophen Bakterien** als Elektronendonator verwendet – nur ein geringer Teil entweicht in die Atmosphäre. Der methanotrophe Stoffwechsel ist als eine Art chemolithotrophe Lebensweise zu sehen. Da Methan ein organisches Molekül ist, wird dieser Stoffwechseltyp in Kapitel 10.6.4 näher behandelt.

Je nach Gehalt des Standorts an biologisch verfügbaren Eisenmineralien oder anderen schwerlöslichen Metallsalzen findet man auch chemolithotrophe Mikroorganismen, die **reduzierte Metallionen** oder sogar elementares Eisen als Elektronendonatoren oxidieren. Weitere besondere Gruppen anaerober Chemolithotropher sind die anaeroben **Anammox-Bakterien** (Kap. 13.2.3), die Ammonium mit Nitrit als Elektronenakzeptor oxidieren und im Meer an der Stickstofffreisetzung aus Nitrat beteiligt sind, und die **anaeroben methanoxidierenden Konsortien** (Kap. 13.7), die sich vor allem an Lagerstätten von Methaneis ansiedeln.

11.1.5 Symbiosen

Die Gase CH_4 und H_2S kommen in der Natur in großen Mengen als Produkte der anaeroben Methanogenese und der Sulfatatmung vor. Am Meeresgrund, zu dem kein Licht vordringt, existieren viele Symbiosen zwischen Tieren und chemolithoautotrophen Bakterien. Diese Bakterien oxidieren Methan zu CO_2 bzw. H_2S zu H_2SO_4 . Sie fixieren den Kohlenstoff aus Methan oder aus CO_2 in Zellmaterial und in Form organischer Verbindungen und ernähren so ihre Wirtsorganismen, wie Muscheln, darmlose Röhrenwürmer (Pogonophoren) und einige Oligochaeten. Der Wirt lebt also im Dunkeln von der **Chemosynthese** der Bakterien. Diese Symbiosen sind der Ersatz für die Symbiosen mit Algen und Cyanobakterien, die den eukaryontischen Wirt durch Photosynthese ernähren und Licht benötigen. Letztlich kann man Lithotrophie als ausschließlich prokaryontisches Merkmal ansehen, denn selbst die photolithotrophen Pflanzen verdanken ihr Dasein photolithoautotrophen Endosymbionten.

11.2 Prinzipien der Lithotrophie

11.2.1 Stoffwechselprinzip

Das Wachstum chemolithotropher Organismen beruht auf energieliefernden Redoxreaktionen zwischen anorganischen Elektronendonatoren und Elektronenakzeptoren, die eine ATP-Synthese erlauben. Diese Reaktionen laufen an der Cytoplasmamembran oder an intracytoplasmatischen Membranen ab. Im Fall der Oxidation von reduzierten Metallionen findet der Prozess jedoch an der Zelloberfläche statt. Spezifische Dehydrogenasen oxidieren den Elektronendonator und die Elektronen werden über transmembrane Elektronentransportsysteme der aeroben oder anaeroben Atmungskette zu einer terminalen Reduktase geleitet, die in der Regel Sauerstoff (selten andere Elektronenakzeptoren) reduziert. Die freigesetzte Energie wird in Form eines Protonengradienten (engl. proton motive force, ΔH^+) über die Membran gespeichert und über die ATP-Synthase zur Phosphorylierung von ADP zu ATP genutzt (Elektronentransportphosphorylierung, ETP). Das generelle Schema des Energiestoffwechsels der Chemolithotrophen ist damit identisch mit dem der aeroben oder anaeroben Atmung (Kap. 7, 13). Die Standardredoxpotenziale (E^0) der möglichen Elektronendonatoren zwischen $-0,5$ V und $+0,4$ V (Abb. 11.4) zeigen die jeweils verfügbare freie Energie aus der Oxidation der betreffenden Verbindung an. Welche Paare von Elektronendonatoren und -akzeptoren für Chemolithotrophie in Frage kommen, hängt von den einzelnen Redoxpotenzialen der Reaktionspartner ab. Nach der Gleichung $\Delta G = -nF\Delta E$ entspricht eine elektrochemische Potenzialdifferenz von etwa $0,1$ V zwischen einem Elektronendonator und einem Akzeptor einer Energie von 20 kJ, wenn 2 Elektronen übertragen werden. Dieser Energiebetrag reicht aus, um ein Proton (das biologische Energiequant) über die Membran zu transportieren. Es sind nur Kombinationen zwischen einem Elektronendonator von niedrigerem Redoxpotenzial und einem Elektronenakzeptor von höherem Redoxpotenzial möglich (Abb. 11.4). Sauerstoff ($E^0 = +0,81$ V) bringt als Elektronenakzeptor der aeroben Atmung die größte Energieausbeute; mit alternativen Elektronenakzeptoren ist die Energieausbeute geringer.

11.2.2 Rückläufiger Elektronentransport

Aus den Redoxpotenzialen der anorganischen Elektronendonatoren (Abb. 11.4) kann man ablesen, dass nur die CO_2 - oder H_2 -verwertenden Chemolithotrophen für den Baustoffwechsel unmittelbar NAD(P)^+ zu NAD(P)H reduzieren können. Die Potenziale der übrigen anorganischen Elektronendonatoren (z. B. Ammonium, Nitrit oder Sulfid) sind viel positiver als das von NAD(P)H . Deshalb werden die Elektronen aus diesen Verbindungen erst auf der Ebene der **Chinone** oder des **Cytochrom c** in die Atmungskette eingeschleust. Die Versorgung mit NAD(P)H für Biosynthesen stellt bei diesen Organismen ein energetisches Problem dar, das durch den Prozess des **rückläufigen Elektronentransports** gelöst wird. Damit bezeichnet man die Umkehrung („Rückwärtslaufen“) der Reaktionen der Atmungskettenkomplexe. Diese katalysieren die endergone Elektronenübertragung von Cytochrom c auf den Chinonpool (Komplex III), bzw. vom Chinol auf NAD(P)^+ (Komplex I), die durch das **Einströmen von Protonen** über die Membran angetrieben wird. Der dafür notwendige Protonengradient stammt aus der Oxidation des anorganischen Elektronendonators. Bei einigen Chemolithotrophen, z. B. bei nitrifizierenden

Bakterien, wird pro Reaktionszyklus weniger Energie konserviert als für den rückläufigen Elektronentransport zum NAD(P)H benötigt wird. Diese Bakterien sorgen deshalb durch einen **hohen Substratumsatz** für die Aufrechterhaltung des notwendigen Membranpotenzials, wachsen aber wegen des hohen Energieaufwands für den rückläufigen Elektronentransport nur langsam und zu geringen Dichten.

11.3 Reduzierte Stickstoffverbindungen als Elektronendonatoren

Bei der Zersetzung von Biomasse wird der organisch gebundene Stickstoff als Ammoniak freigesetzt. Bei der anaeroben Atmung werden wir zudem einen Fall kennen lernen, wo Nitrat über Nitrit zu Ammoniak reduziert wird (Kap. 13.2.2). Wichtig sind ausschließlich biologische Quellen von Ammonium. Als Mineralien kommen Ammoniumsalze wegen ihrer guten Löslichkeit praktisch nicht vor.

Ammoniak bzw. Ammonium-Ionen werden von **nitrifizierenden Mikroorganismen (Nitrifikanten)** zu Nitrit und weiter zu Nitrat oxidiert (Plus 11.2). Diese Nitrifikation hat große ökologische Bedeutung. Sie führt das flüchtige Stoffwechselprodukt Ammoniak zurück in das nichtflüchtige Nitrat, welches bevorzugte Stickstoffquelle von Pflanzen und aeroben Mikroorganismen ist.

Der Prozess der **Nitrifikation**, also die aerobe Oxidation von Ammonium-Ionen zu Nitrat, wird nie von einer Bakterienart allein geleistet, sondern von **syntrophen Assoziationen** aus zwei physiologischen Typen von Bakterien. Man findet stets getrennte Arten ammoniumoxidierender Bakterien, die Nitrit als Endprodukt ausscheiden, und nitritoxidierender Bakterien, die das Nitrit weiter zu Nitrat oxidieren. Es sind neutrophile Organismen mit einem pH-Optimum zwischen 7 und 8. In diesem Bereich wirken Ammoniak und Nitrit am wenigsten toxisch. Die Ammoniakoxidierer versorgen die Nitritoxidierer mit Substrat und diese verhindern durch ihre Stoffwechselaktivität, dass sich toxisches Nitrit anhäuft. Dementsprechend sind Vertreter beider Gruppen in der Natur stets eng vergesellschaftet (Abb. 11.5). Es ist ein Rätsel, warum der Gesamtprozess nicht in einem einzigen Organismus abläuft.

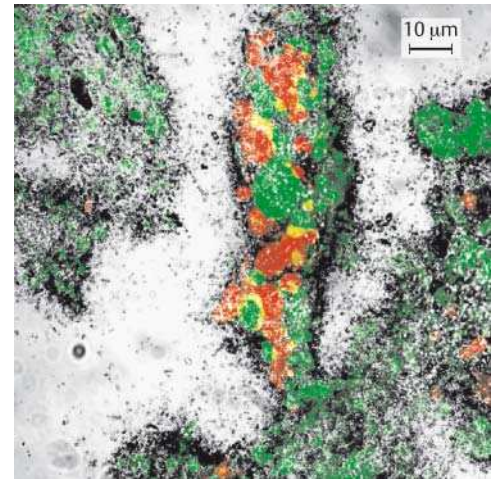


Abb. 11.5 Mischkultur von nitrifizierenden Bakterien in einer Belebtschlammflocke. Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) einer Kultur von *Nitrosomonas*- (grün) und *Nitrospira*-Arten (rot) aus einer Kläranlage. Die schwarzen Silberkörnchen einer *in-situ*-Autoradiografie zeigen den Einbau von radioaktivem Pyruvat in Zellen von *Nitrospira* (Mixotrophie!) und der heterotrophen Begleitflora, während *Nitrosomonas* als obligat autotropher Organismus Pyruvat nicht verwertet (aus Daims et al., 2001).

Plus 11.2 Salpeter

Nitrat ist wichtiger Bestandteil von Schießpulver (auch Schwarzpulver genannt), das sich aus Kaliumnitrat, Schwefel und Kohle zusammensetzt. Es ist deshalb verständlich, dass die Verfügbarkeit von Nitrat ein wichtiges Ziel der Machthaber war. Die Gewinnung von Nitrat war strikt reguliert und dieses Recht stand nur den Königen zu (Regalie = Königsrecht). Lange Zeit kannte man nur Nitratvorkommen in Ägypten und Indien (Bengalen; das berühmte Taj Mahal wurde mit Geld aus dem Salpeterhandel erbaut, und ein Grund für den Feldzug Napoleons nach Ägypten waren die dortigen Nitratvorkommen). Der lange Seeweg über Venedig und die Zölle machte das Handelsgut teuer. Deshalb wurde Nitrat haupt-

sächlich durch die Aktivität von nitrifizierenden Bakterien aus dem Harn von Tier und Mensch biologisch erzeugt. Salpeter (CaNO_3 , „Steinsalz“), der an den Wänden von eigens angelegten Salpetergruben, Dunggruben und Viehställen auskristallisierte (ausblühte), wurde von einem besonderen Berufsstand gewonnen, den Salpeterern. Zur Zeit Napoleons verfügte Frankreich über eine mehrfach größere Salpeterproduktion als seine Gegner, eine Voraussetzung für seine militärische Überlegenheit. Erst durch die Entdeckung von ergiebigen Nitratlagerstätten in Chile und die Erfindung von Dynamit durch Nobel verlor Salpeter seine Aura.

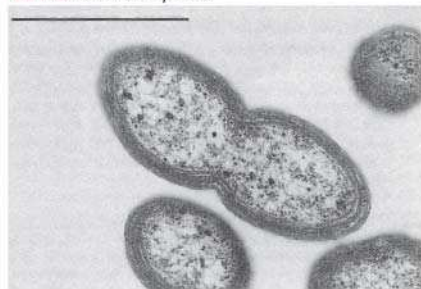
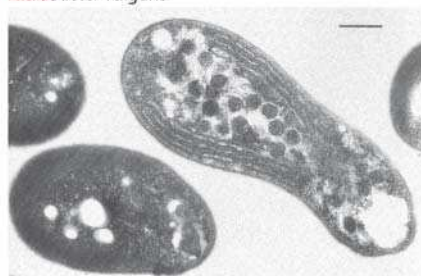
Nitrosomonas europaea*Nitrobacter vulgaris*

Abb. 11.6 Intracytoplasmatische Membransysteme in Nitrifizierern. Die sechseckigen Strukturen im Cytoplasma sind Carboxysomen, in denen bei diesen Organismen die Ribulose-1,5-bisphosphatcarboxylase/Oxygenase verpackt ist (Balken: oben 5 µm, unten 0,25 µm) (aus Bergey's Manual of Systematic Microbiology, 2005).

Tab. 11.1 Nitrifizierende Mikroorganismen. Die Arten der Proteobakterien sind mit der jeweiligen Klasse (alpha – delta) bezeichnet.

Arten der Proteobakterien	Klasse
Ammoniumoxidierer	
<i>Nitrosomonas europaea</i>	beta
<i>Nitrospira briensis</i>	beta
<i>Nitrosolobus multiformis</i>	beta
<i>Nitrosococcus oceanus</i>	gamma
<i>Nitrosopumilus maritimus</i>	Crenarchaeota
Nitritoxidierer	
<i>Nitrobacter hamburgensis</i>	alpha
<i>Nitrococcus mobilis</i>	gamma
<i>Nitrospina gracilis</i>	delta
<i>Nitrospira marina</i>	Nitrospirae

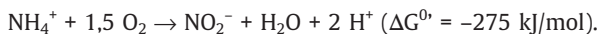
11.3.1 Ammonium- und nitritoxidierende Nitrifikanten

Sowohl die ammonium- als auch die nitritoxidierenden Mikroorganismen sind **polyphyletisch**, d. h. sie haben sich mehrfach unabhängig voneinander entwickelt. Alle Gattungsnamen der ammoniumoxidierenden Arten beginnen mit der Vorsilbe **Nitroso-**, die der nitritoxidierenden Arten mit der Vorsilbe **Nitro-**. Mischkulturen nitrifizierender Mikroorganismen können relativ leicht angereichert werden, während die Isolierung einzelner Stämme bzw. die Trennung der Nitroso- und Nitrobakterien wegen ihres langsamen Wachstums, der geringen Biomassenausbeuten und der Toxizität von Nitrit schwierig ist. **Nitrosobakterien** gehören vor allem in die Gruppe der beta- oder gamma-Proteobakterien (Tab. 11.1); die bekannteste Art ist *Nitrosomonas europaea* (Abb. 11.6). **Nitrobakterien** finden sich in den alpha-, gamma- und delta-Proteobakterien, wie auch in einer weiteren separaten Gruppe gramnegativer Bakterien, die nach der Gattung *Nitrospira* benannt ist. Die bekannteste Gattung ist das alpha-Proteobakterium *Nitrobacter* (z. B. *N. vulgaris*; Abb. 11.6). Allerdings scheinen die *Nitrospirae* in der Natur wesentlich häufiger zu sein als die *Nitrobacter*-Verwandten und die Hauptrolle bei der Nitritoxidation zu spielen.

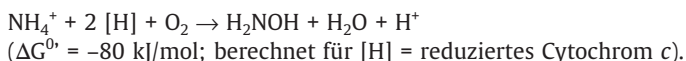
Die meisten nitrifizierenden Bakterien enthalten ausgedehnte **intrazelluläre Membranstrukturen**, in denen die membrangebundenen Enzyme der Ammoniumoxidation (Ammonium-Monooxygenase) bzw. der Nitritoxidation (Nitrit/Nitrat-Oxidoreduktase) sowie der aeroben Atmungskette lokalisiert sind (Abb. 11.6). Vor kurzem wurde darüber hinaus ein erster Vertreter von **ammoniumoxidierenden Archaeobakterien** isoliert, das mesophile *Crenarchaeum Nitrosopumilus maritimus*. Dieser Organismus ist zugleich die erste charakterisierte Art einer nicht-thermophilen Gruppe der *Crenarchaeota*, deren Existenz bisher nur aus Metagenomanalysen von Umweltproben bekannt war. Dies deutet auf eine weite Verbreitung des nitrifizierenden Stoffwechsels auch in bisher noch unbekannten Mikroorganismen hin. Die Nitrosobakterien sind in der Regel obligat chemolithoautotroph, während einige Arten von Nitrobakterien fakultativ chemolithotroph sind und einige organische Substrate mit Sauerstoff oder Nitrat oxidieren. Die CO₂-Assimilation aller bekannter eubakterieller Nitrifizierer läuft über den Calvin-Zyklus.

11.3.2 Biochemie der Ammoniumoxidation

Ammonium wird durch die **Nitrosobakterien** nach folgender Gleichung zu Nitrit oxidiert:



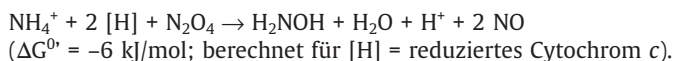
An der Umsetzung sind drei Enzyme beteiligt (Abb. 11.7). Der erste Schritt ist die Oxidation von Ammonium zu Hydroxylamin (①). Diese Reaktion ist chemisch schwierig und erfordert molekularen Sauerstoff als Co-substrat für eine membrangebundene **Ammonium-Monooxygenase**. Für die Reaktion dieses Enzyms werden 2 Reduktionsäquivalente ([H]) benötigt, die aus der folgenden Oxidation des Hydroxylamins abgezweigt werden. Die Gesamtreaktion des Enzyms verläuft nach folgender Gleichung:



Der ΔG^0 -Wert dieser Reaktion mit Wasserstoff als Reduktionsmittel ($2[\text{H}] = \text{H}_2$) errechnet sich zu -221 kJ/mol. Da aber dem Enzym kein

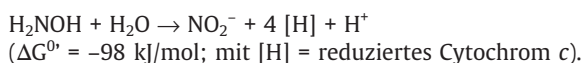
Wasserstoff ($E^0 = -0,41 \text{ V}$), sondern Cytochrom c (E^0 ca. $+0,32 \text{ V}$) zur Verfügung steht, verringert sich die freigesetzte Energie entsprechend des Potenzialunterschieds ($\Delta E^0 = -0,73 \text{ V}$). Mit $\Delta G = -nF\Delta E$ erhält man so $\Delta G^0 = -80 \text{ kJ/mol}$ mit Cytochrom c als Reduktionsmittel ($[H] =$ reduziertes Cytochrom c).

Die Ammonium-Monooxygenase ist ein Kupferenzym, das Ähnlichkeit mit der Methan-Monooxygenase zeigt (Kap. 10.6.4) und wie diese eine nur geringe Wechselzahl hat. Die Ammonium-Monooxygenase kann auch eine **alternative Reaktion mit N_2O_4** anstelle von Sauerstoff katalysieren:



Der direkte Elektronendonator für die Ammonium-Monooxygenase ist nicht bekannt. Wahrscheinlich erfüllen Cytochrom- c -ähnliche Proteine diese Funktion (Abb. 11.7), da man entsprechende Gene in nitrifizierenden Bakterien gefunden hat und die freigesetzten Elektronen etwa das Redoxpotenzial von Cytochrom c besitzen.

Die zweite Reaktion der Ammoniumoxidation wird durch die **Hydroxylamin-Dehydrogenase** katalysiert (②). Es ist ein periplasmatisches Enzym, das die 4-Elektronen-Oxidation von Hydroxylamin zu Nitrit katalysiert:

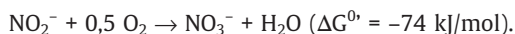


Die Hydroxylamin-Dehydrogenase ist ein komplexes Multihämenzym, das die Elektronen vermutlich über ein lösliches auf ein membranständiges **Cytochrom c** überträgt. Von dieser Stufe aus werden die Reduktionsäquivalente in zwei Richtungen verteilt: 2 Elektronen laufen zurück zur Ammonium-Monooxygenase, 2 Elektronen werden zur **terminalen Oxidase** weitergeleitet und dort auf Sauerstoff übertragen (Abb. 11.7 ③). Vermutlich werden erst bei dieser letzten Reaktion Protonen über die Membran gepumpt. Der erzeugte Protonengradient dient dann zur ATP-Bildung über ATP-Synthase und wird für den rückläufigen Elektronentransport sowie für andere energieverbrauchende Prozesse benötigt. Letztlich stehen so bei der Ammoniumoxidation also von 6 möglichen nur 2 Elektronen für die Energiekonservierung zur Verfügung.

Die Ammonium-Monooxygenase setzt neben Ammonium auch einige andere Substrate, wie z. B. Methan und andere kleine Kohlenwasserstoffe oder aromatische Verbindungen, unspezifisch um (Cometabolismus). Diese Substrate werden in der Regel nicht durch die Ammoniumoxidierer selbst genutzt, sondern in für andere Bakterien leichter verwertbare Produkte umgewandelt.

11.3.3 Biochemie der Nitritoxidation

Nitrit wird durch die Nitrobakterien nach folgender Gleichung zu Nitrat oxidiert:



Die Umsetzung wird von zwei membrangebundenen Enzymen katalysiert (Abb. 11.8). Die **Nitrit/Nitrat-Oxidoreduktase**, ein Molybdän-Enzym, katalysiert die Oxidation von Nitrit zu Nitrat:

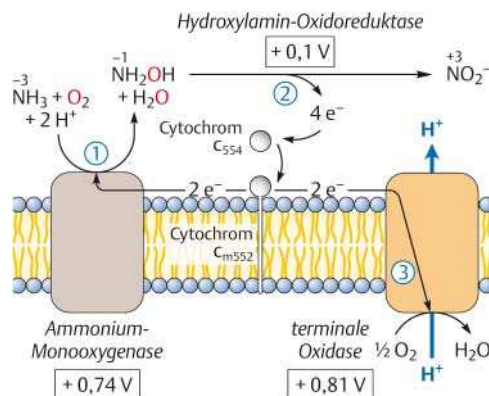
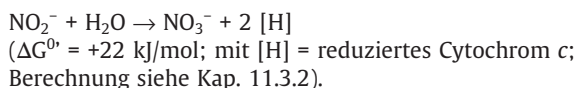


Abb. 11.7 Mechanismus der Ammoniumoxidation. Es sind jeweils die Redoxpotenziale der Teilreaktionen angegeben, ebenso die Oxidationsstufe des N-Atoms in den jeweiligen Intermediaten. Beachte, dass die Lokalisierung der Ammonium-Monooxidase-Reaktion noch unbekannt ist. Weitere Erklärung siehe Text.

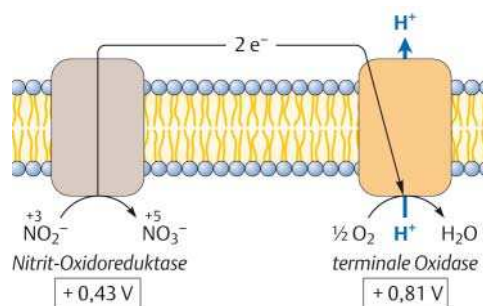


Abb. 11.8 Mechanismus der Nitritoxidation. Es sind jeweils die Redoxpotenziale der Teilreaktionen und die Oxidationsstufen der N-Atome angegeben. Erklärung siehe Text.

Plus 11.3 Energetik der Nitrifikation und des Anammox-Prozesses

Da die Redoxpotenziale der Ammonium/Nitrit- und der Nitrit/Nitrat-Redoxpaare relativ hoch sind (Abb. 11.4, S. 327), kommen aus thermodynamischen Gründen für Nitroso- und Nitrobakterien nur noch **wenige Elektronenakzeptoren** infrage, um diese reduzierten Stickstoffverbindungen zu oxidieren. Dementsprechend benutzen alle nitrifizierenden Mikroorganismen **Sauerstoff** als Elektronenakzeptor. Für *Nitrosomonas* wurde daneben auch eine indirekte Ammoniumoxidation nachgewiesen, allerdings nur mit sehr reaktivem Stickstoffdioxid als Elektronenakzeptor (NO_2 bzw. N_2O_4 nach chemischer Dimerisierung). NO_2 entsteht aus NO in einer Nebenreaktion der Ammonium-Monooxygenase, nach der Gleichung:

$\text{NO} + \text{O}_2 + 2 [\text{H}] \rightarrow \text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
 $(\Delta G^\circ = -132 \text{ kJ/mol mit } [\text{H}] = \text{reduziertes Cytochrom c; Berechnung siehe Kap. 11.3.2}).$

Bei allen Nitrifikanten wird Energie nur durch die **terminale Oxidase** (Komplex IV) konserviert. Diese transloziert pro Mol O_2 4 Protonen über die Membran, die für die Bildung von einem ATP durch ATP-Synthase nötig sind.

Während unter aeroben Bedingungen die oben vorgestellten aeroben chemolithotrophen Nitrifizierer die Ammoniumoxidation dominieren, hat man in den letzten Jahren auch die **anaerobe Ammoniumoxidation** (Anammox) als bakteriellen Prozess identifiziert. Hier findet man einen speziellen Fall einer anaeroben Atmung, in der Ammonium als Elektronendonator und Nitrit als Elektronenakzeptor zu molekularem Stickstoff umgesetzt werden (Kap. 13.2.3).

Die Reaktion wird erst exergon, wenn ein Elektronenakzeptor mit einem Standardredoxpotenzial von mehr als +0,43 V verwendet wird, allerdings ist dieser Elektronenakzeptor bisher nicht bekannt. Die Elektronen werden wahrscheinlich direkt zur **terminalen Oxidase** weitergeleitet, wo wie bei der Ammoniumoxidation die Energiekonservierung erfolgt (Plus 11.3).

Neben den Nitrifikanten und den Anammox-Bakterien kennt man auch einige heterotrophe Bakterien und Pilze, die Ammonium oder organische Amino- oder Nitroverbindungen zu Nitrit und Nitrat umsetzen (**heterotrophe Nitrifikation**). Im Gegensatz zu den vorgestellten Chemolithotrophen wachsen diese Organismen jedoch nicht in Minimalmedien mit Ammonium bzw. Nitrit als einzigen Elektronendonatoren, sondern benötigen organische Substrate. Die biochemischen Prozesse der Ammoniumoxidation bei diesen Organismen sind bisher nicht aufgeklärt. Sie scheinen jedoch nicht über spezifische Reaktionen, sondern cometabolisch über andere katabole Wege abzulaufen. Für die Ammoniumoxidation wird vermutet, dass hier eine unspezifische Co-Oxidation über die Methan-Monooxygenase methanotropher Bakterien stattfindet (Kap. 10.6.4). Die Rolle der heterotrophen Mikroorganismen bei der Nitratbildung ist eher bescheiden und wirkt sich nur bei schlechten Wachstumsbedingungen der autotrophen Nitrifikanten aus (z. B. in sauren Böden).

11.3.4 Ökologische und praktische Bedeutung der Nitrifikation

Die weite Verbreitung der nitrifizierenden Bakterien belegt, dass diese Mikroorganismen eine wichtige Rolle im **Stoffkreislauf** spielen. In der modernen **Abwasserbehandlung** hat sich die Stickstoffeliminierung über eine Kombination von nitrifizierenden und denitrifizierenden Stufen als Standardverfahren durchgesetzt. Dabei wird das Ammonium aus dem Abbau von Biomasse zunächst unter **oxischen** Bedingungen von den **Nitrifizierern** zu Nitrat oxidiert und anschließend unter **anoxischen** Bedingungen durch **Denitrifikanten** zu Stickstoff reduziert, der in die Atmosphäre abgegeben wird. Die Nitrifikation läuft bei geringer Konzentration von verwertbaren organischen Verbindungen am effizientesten, während für eine effiziente Denitrifikation organische Substanz in größerer Menge vorhanden sein muss. Effektive Stickstoffeliminierung in Kläranlagen ist

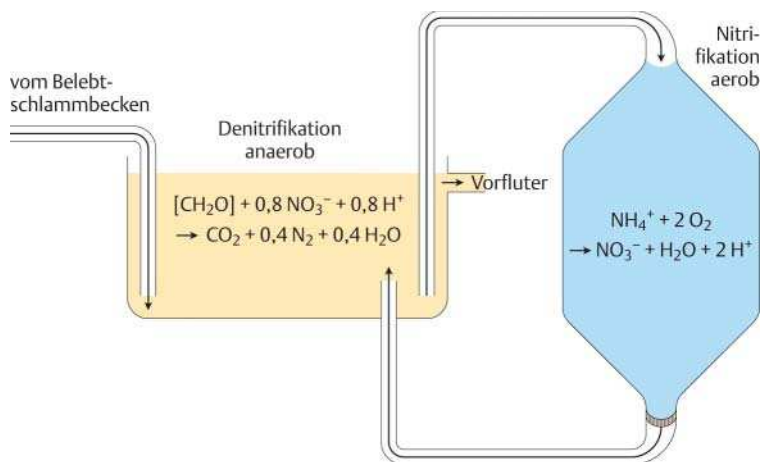


Abb. 11.9 Abwasserbehandlung mit Nitrifikationsstufe. Das Abwasser durchläuft die Nitrifikation (oft im aeroben Tropfkörperverfahren) meist nach der Denitrifikationsstufe, muss dann aber im Kreislauf wieder zurückgeführt werden, um effiziente Stickstoffeliminierung zu erreichen.

deshalb abhängig von der Prozessführung und kann auf verschiedene Weise erreicht werden. Beispielsweise wird Abwasser aus der kohlenstoffarmen Nitrifikationsstufe in einer Rücklaufschleife in das vorgeschaltete Denitrifikationsbecken geleitet, in dem noch abbaubare Kohlenstoffverbindungen für die anaerobe Atmung vorhanden sind (Abb. 11.9).

In der **Landwirtschaft** ist die Nitrifikation unerwünscht, da das Ammoniumkation aus Düngemitteln viel langsamer aus dem Boden ausgewaschen wird als das Nitrat anion, in das es durch die Aktivität der Nitrifikanten umgesetzt wird (vgl. Humusstoffe, Kap. 10.4.). Als Gegenmaßnahme steht zur Diskussion, Düngemitteln Zusatzstoffe beizumischen, welche die Aktivität der Nitrifizierer unterdrücken und so den Stickstoffverlust hinauszögern (z. B. 2-Chlor-6-(trichlormethyl)-pyridin).

Schließlich spielen die Nitrifizierer auch eine bedeutende Rolle bei der **Zerstörung von Gebäuden und Denkmälern** (Abb. 11.10). Ammoniak oder Stickoxide aus der Luft werden dabei von nitrifizierenden Bakterien, die sich als Biofilm auf oder unter der Oberfläche des porösen Gesteins ansiedeln, zu Salpetersäure oxidiert. Da heutzutage in den Abgasen große Mengen Stickoxide freigesetzt werden, führt dies zu erheblichen Korrosionserscheinungen und Instandhaltungskosten.

11.4 Reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren

Oxidierbare Schwefelverbindungen kommen hauptsächlich an zwei Standorten vor, als Metallsulfide im Boden und Gestein (Kap. 11.5) und als Schwefelwasserstoff (Produkt der anaeroben Atmung von Sulfatreduzierern) in Gewässern und Sedimenten. Für Biologen sind zudem besonders die seltenen Schwefelquellen interessant. Durch die chemische Reaktion von Sauerstoff mit Schwefelwasserstoff entstehen neben S^0 auch Thiosulfat und andere Schwefelverbindungen, die meist im Gemisch vorliegen.

Viele Arten von Eubakterien und Archaeobakterien nutzen eine Vielzahl reduzierter Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren (Tab. 11.3, Plus 11.4). Zu diesen Organismen zählen unter anderem auch viele **photolithotrophe** Bakterien, die zu den physiologischen Gruppen der schwefelabhängigen Purpurbakterien (*Chromatiaceae*, Kap. 14.3.1) und der schwefelabhängigen Grünen Bakterien (*Chlorobiaceae*, Kap. 14.3.2) gehören.

In diesem Kapitel werden die **chemolithotrophen** schwefel- und sulfidoxidierenden Mikroorganismen (**Sulfurikanten**) näher beschrieben. Diese werden auch als **farblose Schwefelbakterien** bezeichnet und umfassen viele phylogenetisch sehr unterschiedliche Gattungen, die in Tabelle 11.2 zusammengefasst sind. Bei den photolithotrophen Bakterien dient die Schwefeloxidation lediglich zur Versorgung des Baustoffwechsels mit Reduktionsäquivalenten, während die chemolithotrophen Schwefeloxidierer damit zusätzlich auch ihren Energiestoffwechsel betreiben. Dennoch verlaufen die Schlüsselreaktionen der Schwefeloxidation dieser Organismen über sehr ähnliche biochemische Reaktionen.

Die meisten Arten der farblosen Schwefelbakterien gehören zu den **Proteobakterien**. In der alpha-Gruppe finden sich dabei einige **fakultativ chemolithoautotrophe** Arten, z. B. in den Gattungen *Paracoccus* oder *Starkeya*. Diese wachsen aerob in neutralen Medien mit **Thiosulfat** als Elektronendonator, allerdings nicht mit Sulfid oder elementarem Schwefel. *Acidiphilium acidophilum* (pH-Optimum bei 3,0) ist zurzeit das einzige bekannte alpha-Proteobakterium, das neben Thiosulfat auch Schwefel als Elektronendonator verwendet. Die Gattung *Thiobacillus* repräsentiert neu-



Abb. 11.10 Zerstörung von steinernen Skulpturen und Bauwerken. Tuffstein-Pestkreuz aus dem 17. Jahrhundert mit typischen Verwitterungsmerkmalen durch die Aktivität nitrifizierender Bakterien und Flechten (Aufnahme B. Heider, Bobingen).

Plus 11.4 Substratvielfalt der Sulfurikanten

Verschiedene Arten von Sulfurikanten nutzen oft ganz unterschiedliche reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren. Neben Schwefelwasserstoff (H_2S) und elementarem Schwefel (S^0) sind hier besonders Thiosulfat ($S_2O_3^{2-}$) und Tetrathionat ($S_4O_6^{2-}$) sowie andere Polythionate ($^{\circ}O_3S-(S)_n-SO_3^-$) wichtig. Manche Arten oxidieren sogar das Sulfid aus mineralischen Erzen wie Eisensulfid (FeS), Pyrit (FeS_2) oder sogar Bleiglanz (PbS). Da alle diese Verbindungen ein ähnlich niedriges Redoxpotenzial wie Schwefelwasserstoff haben, ist ihre Oxidation entweder mit Sauerstoff oder Nitrat als Elektronenakzeptor möglich (Abb. 11.4). Tabelle 11.3 zeigt einige der bekannten Umsetzungen durch Sulfurikanten.

Tab. 11.2 Schwefeloxidierende Mikroorganismen. Als optimale Temperaturen der bisher im Labor nicht kultivierbaren Gattungen wurden die üblichen Standorttemperaturen angenommen. Obligat chemolithotrophe Arten sind fett gedruckt.

Phylogenetische Gruppe	Art	Elektronendonatoren	pH-Optimum	Temperaturoptimum
Archaeobakterien	<i>Sulfolobus metallicus</i>	FeS_2, S^0	2–3	65°C
	<i>Acidianus ambivalens</i>	HS^-, S^0	2–3	80°C
	<i>Metallosphaera sedula</i>	FeS_2, S^0	2–3	75°C
alpha-Proteobakterien	<i>Paracoccus denitrificans</i>	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	8	30°C
beta-Proteobakterien	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	$\text{HS}^-, \text{S}^0, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}, \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$	7	30°C
gamma-Proteobakterien	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	$\text{HS}^-, \text{S}^0, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}, \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$	1–3	30°C
	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	$\text{HS}^-, \text{S}^0, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}, \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$	1–3	30°C
	<i>Beggiatoa</i> sp.	HS^-, S^0	7	< 20°C
	<i>Thioploca</i> sp.	HS^-, S^0	7	< 20°C
	<i>Thiomargarita namibiensis</i>	HS^-, S^0	7	< 20°C
epsilon-Proteobakterien	<i>Thiomicrospira denitrificans</i>	$\text{HS}^-, \text{S}^0, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	7	30°C
Aquificales	<i>Aquifex pyrophilus</i>	$\text{S}^0, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	7	85°C
	<i>Hydrogenobacter acidophilus</i>	$\text{S}^0, \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	3–4	65°C
Firmicutes	<i>Bacillus schlegelii</i>	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	7	65°C

Tab. 11.3 Summengleichungen der Umsetzung verschiedener reduzierter Schwefelverbindungen durch chemolithotrophe Mikroorganismen.

Schwefel- verbindung	Summenformel	Freie Energie (ΔG^0)
Schwefel- wasserstoff	$\text{HS}^- + 2 \text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$	–797 kJ/mol
	$\text{HS}^- + 4 \text{NO}_3^- \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 4 \text{NO}_2^- + \text{H}^+$	–500 kJ/mol
	$\text{HS}^- + \text{H}^+ + 0,5 \text{O}_2 \rightarrow \text{S}^0 + \text{H}_2\text{O}$	–209 kJ/mol
	$\text{HS}^- + \text{NO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{S}^0 + \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	–135 kJ/mol
Schwefel	$\text{S}^0 + 1,5 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+$	–587 kJ/mol
Thiosulfat	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + 2 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+$	–818 kJ/mol
Tetrathionat	$\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 3,5 \text{O}_2 + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{SO}_4^{2-} + 6 \text{H}^+$	–1484 kJ/mol

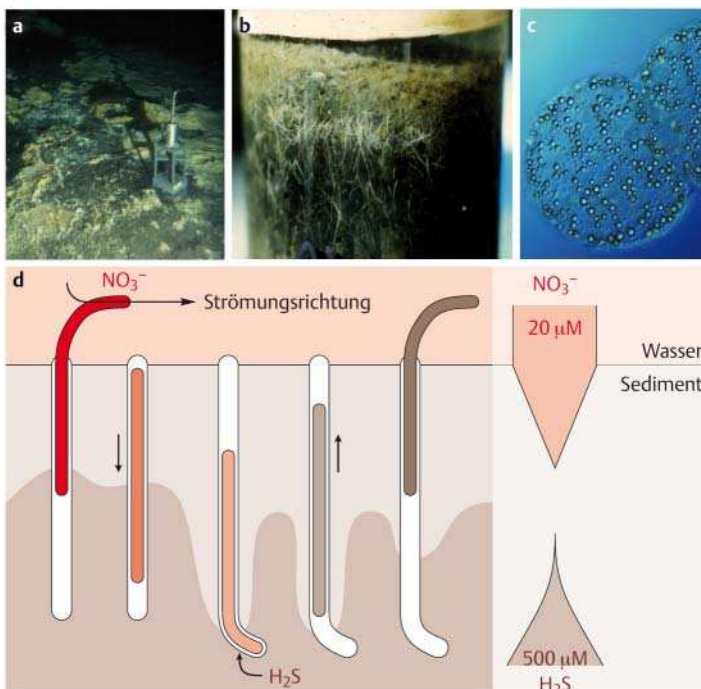
trophile Sulfurikanten der beta-Proteobakterien. Die Arten dieser Gattung sind entweder obligat oder fakultativ chemolithotroph und verwerten eine Vielzahl von reduzierten Schwefelverbindungen. Neben aeroben Sulfurikanten findet man mit *Thiobacillus denitrificans* auch eine Art, bei der die Sulfid- oder Thiosulfatoxidation mit anaerober Atmung über Denitrifikation gekoppelt ist (Name!). Die meisten bekannten Gattungen der Sulfurikanten gehören zu den gamma-Proteobakterien. Die bekanntesten sind die extrem acidophilen Arten der Gattung *Acidithiobacillus* (früher *Thiobacillus*), besonders *A. thiooxidans* und *A. ferrooxidans*, aber auch viele neutrophile Arten. Die meisten dieser Bakterien sind obligat chemolithotroph und nutzen viele verschiedene Schwefelverbindungen. Die *Acidithiobacillus*-Arten produzieren als Endprodukt große Mengen

Schwefelsäure und sind an **pH-Werte von 1–3** angepasst. Sie sind in Minimalmedien mit zugesetztem Schwefel einfach anzureichern und spielen in der Gewinnung von Metallen durch biologische Laugung eine große Rolle (Kap. 19.15). Die Bakterien verursachen schwere Korrosionsschäden, wo Schwefelwasserstoff mit Luft in Kontakt kommt, z. B. in Abwasserkanälen.

Unter den neutrophilen Sulfurikanten sind einige Gattungen besonders auffallend, da sie **große Einzelzellen** bilden. Dazu gehören z. B. die gamma-Proteobakterien *Beggiatoa*, *Thioploca* oder *Thiomargarita* (Plus 11.5). Bei diesen Gattungen wird Schwefel, der bei der Oxidation von Schwefelwasserstoff als Zwischenprodukt anfällt, in Form von **Kügelchen** im Periplasma gespeichert. Zugleich enthalten die Zellen große **Vakuolen**, in denen sie Nitrat als anaeroben Elektronenakzeptor ablagern. All diese Arten mit einer großen Nitratspeichervakuole sind **obligat chemolithotroph** und oxidieren Schwefelwasserstoff durch anaerobe Atmung über **Nitratammonifikation**. Sie sind neben den obligat aeroben Schwefeloxidierern wichtig für das biogeochemische Gleichgewicht des Schwefelkreislaufs.

Auch die meisten **symbiontischen Sulfurikanten**, die sich z. B. mit marinen Tieren wie Muscheln oder Röhrenwürmern assoziiert haben und diesen das Wachstum auf Kosten der Oxidation von Schwefelwasserstoff mit Sauerstoff ermöglichen, zählen zu den gamma-Proteobakterien. Alle

Plus 11.5 Biologie großer Schwefelbakterien



Marine denitrifizierende Sulfurikanten. **a** *Beggiatoa*-Matten in der Tiefsee (Aufnahme Holger Jannasch). **b** *Thioploca*-Fäden in einem ausgestochenen Sedimentkern (Aufnahme Markus Hüttel). **c** Zelle von *Thiomargarita namibiensis*. Die Einschlüsse sind Schwefelkügelchen, die als gespeichertes Reduktionsmittel dienen (Aufnahme Heide Schulz). **d** Lebensweise von *Thioploca*-Arten.

Beggiatoa-Arten siedeln sich als weiße Matten an der Oberfläche von Sedimenten des Meeres und des Süßwassers an, in denen sulfatreduzierende Bakterien H_2S produzieren (Plus 11.1, S. 324). Die *Beggiatoa*-Matten (Abb. **a**) wachsen dann auf der Grundlage der Oxidation des aufsteigenden Schwefelwasserstoffs mit Nitrat. Nahe verwandt sind weitere Gattungen wie *Thioploca* oder *Thiomargarita*, die Riesenzellen bilden (Abb. **b**, **c**). *Thioploca*-Arten bilden dabei fädige Zellen, die in selbst geschaffenen Röhren im Sediment nach oben und unten wandern und dabei je nach Bedarf Schwefelwasserstoff in den unteren Sedimentschichten bzw. Nitrat an der Sedimentoberfläche aufnehmen und speichern (Abb. **d**). *Thiomargarita namibiensis* ist das bisher größte bekannte Bakterium, das kugelförmige Zellen mit bis zu 500 μm Durchmesser bildet, deren Größe vor allem auf das Volumen einer zentralen nitratspeichernden Vakuole zurückzuführen ist. Dadurch kann dieses Bakterium im anaeroben Sediment lange überleben und seltene Gelegenheiten zur Nitrataufnahme nutzen, wenn Stürme das Sediment aufwirbeln.

diese autotrophen bakteriellen Sulfurikanten nutzen den Calvin-Zyklus zur CO_2 -Assimilierung.

Weitere bakterielle Gruppen von chemolithotrophen Schwefeloxidierern finden sich in den epsilon-Proteobakterien sowie bei den extrem thermophilen *Aquificales*, von denen einige Arten elementaren **Schwefel oder Thiosulfat** als möglichen Elektronendonator nutzen und CO_2 über den reduktiven Citratzyklus fixieren. Schließlich findet man auch bei den **grampositiven Bakterien** einige fakultative Chemolithotrophe mit **Thiosulfat** als Elektronendonator, z. B. *Bacillus schlegelii*; und auch von einigen photolithotrophen schwefeloxidierenden *Chromatiaceae* ist bekannt, dass sie im Dunkeln auf einen chemolithotrophen Stoffwechsel umschalten können.

Es gibt auffallend viele **Archaeobakterien**, die chemolithotroph mit reduzierten Schwefelverbindungen leben. Diese gehören z. B. zu den Gattungen *Sulfolobus*, *Acidianus* und *Metallosphaera*. Es handelt sich ausnahmslos um Vertreter der extrem thermoacidophilen Ordnung der **Sulfolobales**, die bei pH-Werten von 1–3 und Temperaturen bis 80°C optimal wachsen. Wie bei *Acidithiobacillus* führt die Schwefeloxidation durch diese Organismen zur Produktion von großen Mengen **Schwefelsäure**. Die Bakterien sind also an die von ihnen selbst geschaffenen, durch Hydrogensulfat gepufferten ($\text{HSO}_4^- \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$, $\text{pK}_a = 2$) sauren pH-Wert optimal angepasst. Einige Arten wie *S. metallicus* oder *M. sedula* wachsen sogar direkt auf **sulfidischen Erzen** wie Pyrit. *A. ambivalens* wechselt zwischen **Schwefeloxidation mit O_2** unter oxidischen und **Schwefelatmung** mit H_2 oder organischen Verbindungen unter anoxischen Bedingungen.

11.4.1 Biochemie der Sulfid- und Schwefeloxidation

Je nach Verwandtschaftsgruppe haben sich bei den Sulfurikanten verschiedene Stoffwechselwege für die Oxidation reduzierter Schwefelverbindungen entwickelt, die bei vielen Arten noch nicht vollständig entschlüsselt sind. Die hohe **Reaktivität** vieler Schwefelverbindungen und die Instabilität vieler Enzyme des Schwefelstoffwechsels erschweren die biochemischen Untersuchungen an diesem System. Dies gilt besonders für die mikrobielle Verwertung von **Schwefelwasserstoff bzw. Sulfiden**, die oft durch chemische Oxidationsprozesse und Disproportionierungsreaktionen zu elementarem Schwefel, Polysulfiden oder anderen höher oxidierten Schwefelverbindungen umgesetzt werden. Die verschiedenen Arten sulfidoxidierender Sulfurikanten enthalten Enzyme, die Sulfid oxidieren und die freigesetzten Elektronen entweder auf Chinone (mithilfe einer **Sulfid-Chinon-Oxidoreduktase**) oder auf Cytochrom c übertragen (mithilfe des **Flavocytochrom c**, einer Sulfid-Cytochrom-c-Oxidoreduktase).

Es ist zurzeit nicht klar, ob die Sulfidoxidation hauptsächlich durch eines dieser enzymatischen Systeme oder durch nichtenzymatische Umsetzung erfolgt. Allerdings scheinen alle sulfidoxidierenden chemolithotrophen Mikroorganismen zunächst als **Zwischenprodukt elementaren Schwefel bzw. Polysulfide** (z. B. Pentasulfid, HS-S-S-S-S^-) zu produzieren. Dies steht im Gegensatz zur Sulfatreduktion, bei der das erste Intermediat Sulfid in einem Reduktionsschritt, bei dem 6 Elektronen übertragen werden, direkt zu Sulfid reduziert wird, ohne dass dabei elementarer Schwefel als Zwischenprodukt anfällt (Kap. 13.5).

Zwischen verschiedenen Gruppen von Sulfurikanten unterscheiden sich die Stoffwechselwege der weiteren **Oxidation von elementarem Schwefel oder Thiosulfat**. Am besten verstanden sind sie beim extrem thermophilen Archaeobakterium *Acidianus ambivalens* und bei *Paracoccus*-Arten.

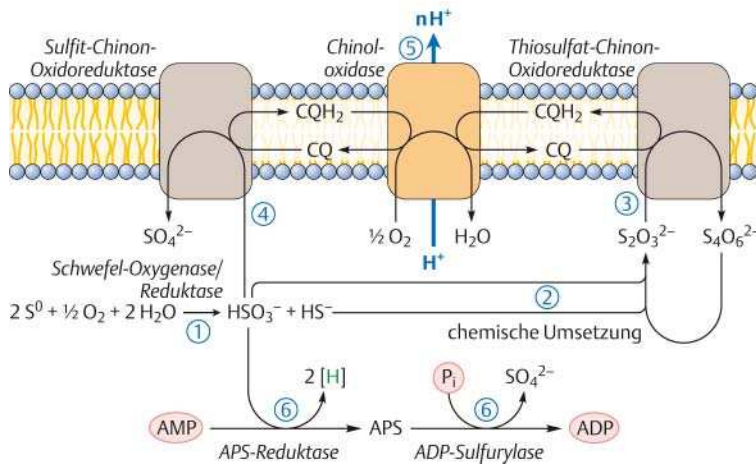
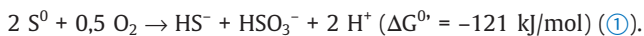


Abb. 11.11 Mechanismus der Schwefeloxidation bei *Acidianus*. Bei *Acidianus* findet die Schwefeloxidation durch eine cytoplasmatische Schwefel-Oxygenase/Reduktase und zwei membranbundene Oxidoreduktasen statt. In der Membran dient ein archaebakterielles Chinon (*Caldariella*-Chinon, CQ) als Elektronenakzeptor, und Protonen werden über die Membran gepumpt. Außerdem ist eine Substratkettenphosphorylierung möglich.

Schwefelstoffwechsel in *Acidianus ambivalens*

Der Schwefelstoffwechsel von *Acidianus ambivalens* ist in Abbildung 11.11 dargestellt. Das Schlüsselenzym der Schwefeloxidation bei *A. ambivalens* ist die cytoplasmatische **Schwefel-Oxygenase/Reduktase**, die eine Disproportionierung von Schwefel zu Sulfid und Sulfit bei gleichzeitiger Umsetzung mit Sauerstoff katalysiert:



Das gebildete Sulfit wird dann entweder nichtenzymatisch zu Thiosulfat umgesetzt (2), das über eine **Thiosulfat-Chinon-Oxidoreduktase** weiter zu Tetrathionat oxidiert wird (3), oder direkt durch eine **Sulfit-Chinon-Oxidoreduktase** zu Sulfat oxidiert (4). Beide Oxidoreduktasen sind membranständig und nutzen ein archaebakterielles Chinon, *Caldariella*-Chinon, als Elektronenakzeptor. Energiekonservierung erfolgt dabei erst im letzten Schritt bei der Reoxidation des reduzierten *Caldariella*-Chinols mit Sauerstoff durch eine **Chinol-Oxidase** (5). Diese pumpt während der Reaktion Protonen über die Membran nach außen, die anschließend zur ATP-Synthese durch die ATP-Synthase genutzt werden. Alternativ dazu ist bei der Oxidation von Sulfit auch die ATP-Bildung durch **Substratkettenphosphorylierung** möglich (6). *A. ambivalens* besitzt wie die meisten anderen Schwefeloxidierer eine bidirektionelle **Adenosinphosphosulfat-(APS)-Reduktase** und eine **APS-Phosphat-Adenyltransferase**; mit deren Hilfe kann bei der Oxidation von Sulfit zu Sulfat AMP via APS zu ADP phosphoryliert werden. Aus 2 ADP kann via Adenylatkinase 1 ATP und 1 AMP gebildet werden (Kap. 8.4.3).

Schwefelstoffwechsel in *Paracoccus* sp.

Der Schwefelstoffwechsel von *Paracoccus* sp. ist in Abbildung 11.12 dargestellt. Bei schwefeloxidierenden *Paracoccus*-Arten wurde ein proteingebundenes Schwefeloxidationssystem (Sox) charakterisiert. Alle Komponenten sind dabei im **Periplasma** lokalisiert. Deshalb erfolgt auch hier während der Schwefeloxidation keine direkte Energiekonservierung, sondern erst bei der Passage der freigesetzten Redoxäquivalente durch die Atmungskette. Zunächst wird in einer oxidativen Reaktion ein Thiosulfat-substrat kovalent an die Thiolgruppe eines exponierten **Cysteins** eines

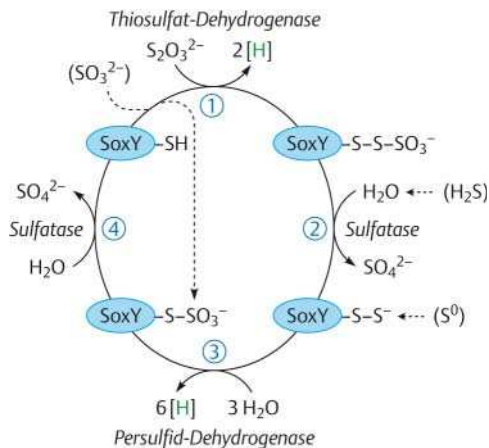


Abb. 11.12 Mechanismus der Schwefeloxidation bei *Paracoccus*. Bei *Paracoccus* findet die Schwefeloxidation im Periplasma an einem Schwefeloxidationssystem (Sox) statt. Neben Thiosulfat könnten in diesen Oxidationszyklus auch andere Schwefelverbindungen eingespeist werden, z.B. Sulfid, Schwefelwasserstoff oder elementarer Schwefel (gestrichelte Pfeile).

Trägerproteins (SoxY) gebunden, Die Reaktion wird durch eine **Thiosulfat-Dehydrogenase** katalysiert. Die terminale Sulfongruppe wird durch eine **Sulfatase** hydrolysiert und Sulfat wird freigesetzt, wobei an SoxY ein Persulfid zurückbleibt (②). Der endständige Schwefel dieses Intermediats wird dann durch eine **Persulfid-Dehydrogenase** um 6 Elektronen zu einer Sulfongruppe oxidiert (③). Nach hydrolytischer Abspaltung eines weiteren Sulfats (④) liegt SoxY schließlich wieder in der Ausgangsform vor. Neben Thiosulfat könnten in diesen Oxidationszyklus auch andere Schwefelverbindungen eingespeist werden, z.B. Sulfid, Schwefelwasserstoff oder elementarer Schwefel (Plus 11.6). Bei Organismen, die diese Verbindungen verwerten, wird Sulfid wahrscheinlich durch eine Nebenaktivität der Thiosulfat-Dehydrogenase in den Stoffwechsel eingespeist, Schwefelwasserstoff kann mit den gebundenen Sulfongruppen zu Thiosulfat, und elementarer Schwefel mit den Persulfidgruppen zu länger-kettigen Derivaten reagieren (Abb. 11.12).

Es ist auch verständlich, dass die Oxidation von H_2S oder S^0 durch denitrifizierende Bakterien keine sauerstoffbenötigenden Oxygenaseschritte enthalten kann, sondern nach folgender Gleichung abläuft:



11.4.2 Schwefelwasserstoffoxidierende Symbionten

Neben freilebenden schwefeloxidierenden Chemolithotrophen sind auch einige Arten bekannt, die als **Symbionten** mariner Tiere leben. Besonders beeindruckende Beispiele für solche Symbiosen kennt man von den mittelozeanischen Spreizungszonen am Meeresboden. Dort treten heiße Quellen mit vielen gelösten Mineralien und hohen Konzentrationen von H_2S aus, die über geothermische Prozesse im Erdmantel angetrieben werden. Bei Kontakt mit dem kalten Wasser der Tiefsee fallen die Mineralien aus und bilden kaminartige Strukturen, so genannte **Schwarze Raucher**. In der Nähe dieser Strukturen findet man reiche Lebensgemeinschaften von Tieren, die alle von **schwefeloxidierenden chemolithoautotrophen Mikroorganismen** als Primärproduzenten abhängen. Einige Tiere haben sich an diese Lebensräume durch Symbiose mit H_2S -oxidierenden Bakterien angepasst. So findet man spezielle Arten von gamma-Proteobakterien in den Kiemen einiger Muschelarten und bei Riesenröhrenwürmern aus der Gruppe der Pogonophoren (Abb. 11.13). Letztere sind hochgradig an die symbiontische Lebensweise angepasst. Sie haben ihren kompletten Verdauungstrakt zurückgebildet und verfügen stattdessen über ein spezielles Organ (**Trophosom**), in dem die endosymbiontischen H_2S -oxidierenden Bakterien wachsen und über das Blut des Wirts mit H_2S , Sauerstoff und CO_2 versorgt werden. Symbiosen mit H_2S -oxidierenden autotrophen

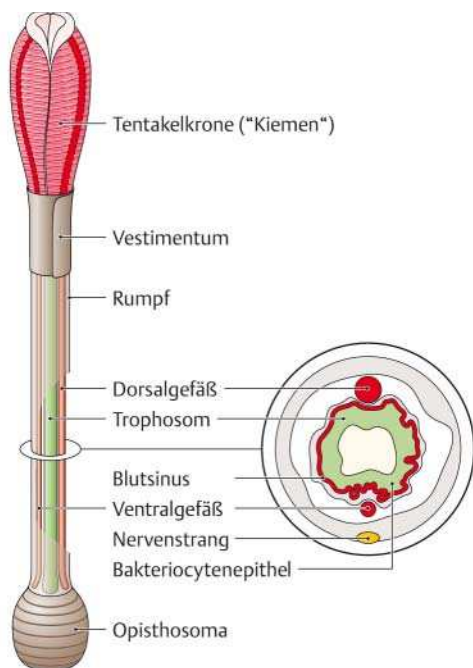


Abb. 11.13 Schema des Längs- und Querschnitts von Pogonophoren (*Riftia pachyptila*). Diese darmlosen Tiere leben in Röhren, die den gesamten Körper bis auf die Tentakelkrone bedecken und von der gürtelähnlichen Struktur des Vestimentums synthetisiert werden. Bis zu 50 % der Körpermasse nimmt ein besonderes Organ in der Rumpfsektion der Tiere ein, das Trophosom. In besonderen Zellen (Bacteriocyten) des inneren Epithels des Trophosoms befinden sich symbiontische schwefelwasserstoffoxidierende Bakterien, die durch das Blutgefäßsystem des Wurms mit H_2S , O_2 und CO_2 versorgt werden. Der Gasaustausch erfolgt durch die Tentakel am Vorderende der Würmer, die stark durchblutet werden und die Funktion von Kiemen übernehmen. Mit dem Hinterende (Opisthosoma) verankern sich die Tiere am Grund der Röhren im Sediment.

Plus 11.6 Varianten der Schwefeloxidation

Aus Genomdaten ist zu entnehmen, dass ähnliche Systeme wie bei *Paracoccus* sp. bei vielen anderen eubakteriellen Sulfurikanten und photolithotrophen Schwefelbakterien, nicht jedoch bei Archaeobakterien vorkommen. Bei einigen weiteren Bakterien, besonders bei den extrem acidophilen *Acidithiobacillus*-Arten, wird jedoch ein anderer Stoffwechselweg für die Sulfid- und Schwefel-Oxidation eingeschlagen. Aufgrund des stark sauren Mediums ist zu erwarten, dass bei diesen Arten die enzymatischen Reaktionen im Cytoplasma und nicht, wie bei *Paracoccus*, im Periplasma ablaufen. Da alle

Acidithiobacillus-Arten Tetrathionat als Elektronendonator verwerten, wird ein Stoffwechselweg der **Thiosulfatoxidation über Tetrathionat** als erstem Intermediat vermutet. Dieser verläuft dann weiter über Sulfatabspaltung durch eine Tetrathionat-Hydrolase und anschließende Oxidation des endständigen Persulfids. Der Prozess ist analog zur Thiosulfatoxidation bei *Paracoccus*, bis auf die Beteiligung des SoxY-Trägerproteins. Die Thiosulfat-Dehydrogenase dieser Bakterien synthetisiert aus 2 Thiosulfatmolekülen ein Tetrathionat.

Bakterien kennt man auch von marinen Muscheln, Schwämmen, dem Wattwurm *Arenicola*, darmlosen Oligochaeten u. a.

11.5 Reduzierte Metallionen als Elektronendonatoren

Reduzierte Metallverbindungen, besonders Eisenminerale, gibt es in Böden und Gestein, die Pyrit (FeS_2 , „Katzengold“, Abb. 11.14) und andere sulfidische Mineralien enthalten. Unter Ansäuerung des Mediums erlauben die Mineralien die gleichzeitige Oxidation des reduzierten Metalls und des Sulfids. Außerdem kommen freie Fe^{2+} -Ionen in Gewässern vor (Plus 11.7).

Reduzierte Metallionen, besonders **Fe(II) und Mn(II)**, werden von vielen chemolithotrophen Mikroorganismen als Elektronendonatoren genutzt. Sie sind, wie die meisten Metallsalze, schlecht löslich und können von Mikroorganismen nur genutzt werden, wenn diese Zugang zu den Metallionen erhalten. Eine mögliche Strategie der Mikroorganismen besteht darin, in **extrem sauren Lebensräumen** zu leben, da unter diesen Bedingungen relativ große Mengen von Fe^{2+} -Verbindungen löslich sind. Außerdem liegt das Redoxpotenzial des $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ -Redoxpaars bei diesen Bedingungen noch relativ günstig ($E^0 = +0,42 \text{ V}$ bei pH 1), um als Elektronendonator zu dienen (Plus 11.7). Die Bakterien schaffen sich ihr saures Lebensmilieu selbst, indem sie neben dem reduzierten Metall auch den anorganischen Schwefel in Metallsulfiden (z. B. Pyrit, FeS_2) zu Schwefelsäure oxidieren. Viele der acidophilen Fe^{2+} -oxidierenden Arten oxidieren zugleich Sulfid bzw. Schwefel als Elektronendonator. Bekannte acidophile Fe^{2+} -oxidierende Arten sind in den eubakteriellen Gattungen *Acidithiobacillus* (Abb. 11.14) und *Leptospirillum* vertreten, zusätzlich sind einige Arten von **thermoacidophilen Archaeobakterien** bekannt, die Fe(II) in

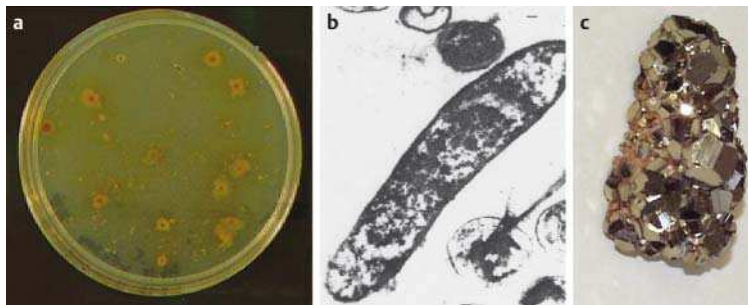
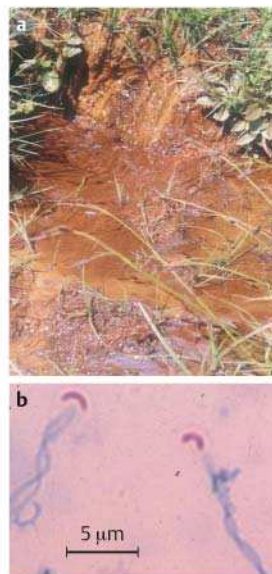


Abb. 11.14 *Acidithiobacillus ferrooxidans* und sein Substrat, Pyrit. **a** Kultur von *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Aufnahme Jim Horan). **b** Mikroskopische Aufnahme von *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Aufnahme D. G. Lundgren). **c** Pyrit („Katzengold“, FeS_2 , Aufnahme Jim Horan).

Plus 11.7 Neutrophile Mikroorganismen, die Metallionen oxidieren

Neben den acidophilen gibt es auch neutrophile Bakterien, die Metallionen oxidieren und die damit offensichtlich andere Strategien für die Mobilisierung der reduzierten Metallionen entwickelt haben. Das hohe Standardredoxpotenzial des $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ -Redoxpaars bei neutralem pH ($E^{0'} = +0,77 \text{ V}$) lässt eigentlich keinen Energiegewinn mehr zu, da die Differenz zum Elektronenakzeptor Sauerstoff zu gering ist. Außerdem ist Fe(II) als FeCO_3 schwer löslich. Da aber bei pH 7 Eisen(III)-Mineralien (oder Fe(II) , III)-Mineralien wie Magnetit, Fe_3O_4) noch schlechter löslich sind als Fe(II) -Mineralien, verschiebt sich das chemische Gleichgewicht zu Gunsten der Fe(II) -Oxidation. Das reale Redoxpotenzial E' sinkt dadurch auf wesentlich niedrigere Werte, die Elektronentransport zur terminalen Oxidase zulassen (Abb. 11.4, S. 327).

Bekannte neutrophile Fe(II) -oxidierende Arten sind die beta-Proteobakterien *Gallionella ferruginosa* oder *Leptothrix discophora*. Die nierenförmigen Zellen von *Gallionella* sitzen auf einer charakteristischen stielartigen Struktur auf, in die präzipitiertes Eisen(III)-oxid eingelagert ist, welches sich bei der Fe^{2+} -Oxidation spontan bildet. Es ist deshalb zu vermuten, dass die Enzyme der Fe(II) -Oxidation nur an der Stielseite der Zelle ausgebildet werden, da sich die Zelle sonst in ihr unlösliches Stoffwechselprodukt einschließen würde. Diese Bakterien kann man an vielen pH-neutralen Standorten mit reduzierten Metallionen beobachten, z.B. am Ende von Drainageröhren, in Moorgräben oder in Gebirgsbächen, wo sie dichte Flocken mit dicken rostigen Eisenoxidbelägen bilden (Abb.). Für das scheidenbildende filamentöse Bakterium *Leptothrix discophora* ist neben der Fe^{2+} -Oxidation auch die Oxidation von Mn^{2+} zu Braunstein (MnO_2) nachgewiesen. Das extrem thermophile Archaeobakterium *Ferroplasma placidus* koppelt die Oxidation von Fe^{2+} sogar mit anaerober Atmung mit Nitrat als Elektronenakzeptor.



Neutrophile Metalloxydierer. **a** Typischer Standort in klaren Wasserläufen. Die Anwesenheit metallionenoxidierender Bakterien erkennt man an der rötlichen Farbe der Sedimente und den irisierenden dünnen Häutchen von Mangan- und Eisenoxiden an der Wasseroberfläche (Aufnahme: U. Lüttge, Darmstadt). **b** Zellen von *Gallionella ferruginosa* nach Doppelfärbung mit Berliner Blau und nach Ziehl-Neelsen. Die bohnenförmigen Zellen bauen charakteristische Stielstrukturen auf, die mit Eisenoxiden inkrustiert werden. Durch dieses Nukleationszentrum der Eisenoxidation werden die Zellen vor reaktiven Sauerstoffmetaboliten (Fenton-Reaktion) geschützt, außerdem auch vor der Einschließung durch die wachsenden Eisenoxidschichten bewahrt (Aufnahme H. Hanert, Braunschweig).

Tab. 11.4 Fe(II) -oxidierende Mikroorganismen.

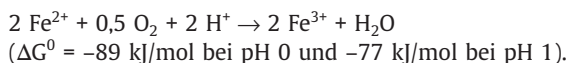
Phylogenetische Gruppe	Art	Elektronendonatoren	pH-Optimum	Temperaturoptimum
Archaeobakterien	<i>Ferroplasma acidarmanus</i>	Fe^{2+}	2–3	60°C
	<i>Sulfolobus metallicus</i>	FeS_2	2–3	65°C
	<i>Acidianus brierleyi</i>	FeS_2	2–3	80°C
	<i>Metallosphaera sedula</i>	FeS_2	2–3	75°C
	<i>Ferroplasma placidus</i>	Fe^{2+}	7	80°C
beta-Proteobakterien	<i>Leptothrix discophora</i>	Fe^{2+} , Mn^{2+}	7	30°C
	<i>Gallionella ferruginosa</i>	FeCO_3	7	30°C
gamma-Proteobakterien	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	Fe^{2+}	2–3	30°C
Nitrospirae	<i>Leptospirillum ferrooxidans</i>	FeS_2 , Fe^{2+}	2–3	30°C

löslicher Form oder aus sulfidischen Erzen oxidieren (Tab. 11.4). Typische Standorte sind saure Abwässer aus Erzbergwerken oder Abraumhalden, bzw. vulkanische Standorte mit Eisensulfiderzen.

Außer Fe(II)- und Mn(II)-Salzen werden von spezialisierten Mikroorganismen eine Vielzahl weiterer reduzierter Metalle als Elektronendonatoren für chemolithotrophes Wachstum verwendet. Beispielsweise sind aus arsen- bzw. antimonkontaminierten Standorten chemolithotrophe Bakterien isoliert worden, die Arsenit zu Arsenat bzw. Antimonit zu Antimonat oxidieren. Ebenso wurden erst vor kurzem die ersten Bakterien beschrieben, die chemolithotroph mit elementarem Eisen als Elektronendonator und Sulfat als Elektronenakzeptor von einer anaeroben Atmung leben (Kap. 13.5).

11.5.1 Biochemie der Oxidation von Metallionen

Zu den biochemischen Vorgängen bei der chemolithotrophen Fe(II)-Oxidation sind nur bei *Acidithiobacillus ferrooxidans* Einzelheiten bekannt. In dieser Art werden **gelöste Fe²⁺-Ionen** im **Periplasma** durch ein cytochromhaltiges Enzymsystem zu Fe³⁺ oxidiert. Die freigesetzten Elektronen werden über Cytochrome und das Cu-Protein **Rusticyanin** zur terminalen Oxidase an die Cytoplasmamembran transportiert. Diese Oxidase pumpt während der Reduktion von Sauerstoff Protonen nach außen und konserviert so Energie aus der Fe(II)-Oxidation. Die Reaktion liefert pro zwei oxidierten Fe²⁺-Ionen nur etwa die Energie, die für die Synthese eines ATP nötig ist:



Energie wird nur über den letzten Atmungskettenkomplex konserviert (s. auch rückläufiger Elektronentransport, Abb. 11.4). Die biochemischen Mechanismen sind jedoch nicht universell. Besonders bei **neutrophilen Metallionenoxidierern** müssen **andere biochemische Mechanismen** angenommen werden, da Eisenminerale um pH 7 extrem schwerlöslich sind und deshalb keine Fe²⁺-Ionen in das Periplasma gelangen können. Die Fe(II)-oxidierenden Enzyme dieser Organismen sind vermutlich an der Zelloberfläche lokalisiert und leiten Elektronen aus den Metallionen bei direktem Kontakt der Zellen mit Eisenmineralien zur terminalen Oxidase ab.

11.5.2 Erzlaugung

Die acidophilen Fe(II)- und schwefeloxidierenden Bakterien werden im **Metallbergbau** eingesetzt, um Edelmetalle, wie Kupfer, Zink, Nickel, Molybdän, Gold oder Uran, aus niederwertigen sulfidischen Erzen zu ge-

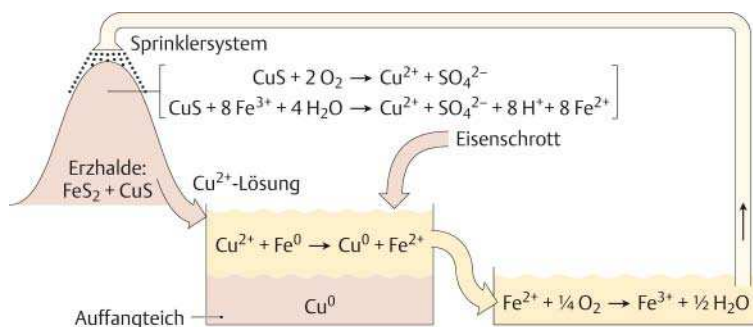


Abb. 11.15 Schema der Erzlaugung mit acidophilen sulfid- und Fe(II)-oxidierenden Bakterien.

winnen. Diese Erzlaugung (Kap. 19.15) wird besonders in großen Tagebauen im großen Stil betrieben, indem man Wasser im Kreislaufverfahren durch Halden mit erzhaltigem Gestein sickern lässt. Durch die Aktivität von *Acidithiobacillus* werden die schwerlöslichen Metallsulfide in lösliche Metallsulfate überführt, die dann in Auffangteichen gesammelt und aufkonzentriert werden. Die bakterielle Oxidation der Sulfidionen zu Schwefelsäure sorgt für die nötige Ansäuerung. Gleichzeitig agieren die produzierten **Fe³⁺-Ionen als starkes Oxidationsmittel**, das auch die schwerlöslichen Sulfide anderer Metallionen oxidiert. Die edlen Metalle lassen sich aus Sammelteichen mit Metallsulfatlösungen einfach durch Zugabe von Eisenschrott gewinnen, der sich in saurer Lösung unter Ausfällung von metallischem Kupfer oder anderer edlerer Metalle auflöst (Abb. 11.15). Die dabei gebildeten Fe²⁺-Ionen werden durch die Aktivität der eisenoxidierenden Bakterien in gut belüfteten Becken zu Fe³⁺-Ionen oxidiert, bevor die Lösung wieder über die Halde geleitet wird.

11.6 Wasserstoff als Elektronendonator

Wasserstoff wird beim anaeroben biologischen Abbau von organischer Materie in großen Mengen gebildet. Geringere Mengen werden auch bei geochemischen Prozessen freigesetzt und finden sich in vulkanischen Gasen. Wegen des sehr niedrigen Redoxpotenzials von molekularem Wasserstoff ($\text{H}_2/2 \text{H}^+$, $E^0 = -0,41 \text{ V}$) kommen für die biologische Oxidation alle **biologischen Elektronenakzeptoren** in Frage.

Dementsprechend sind viele physiologisch sehr unterschiedliche Eubakterien und Archaeobakterien in der Lage, Wasserstoff chemolithotroph oder photolithotroph zu verwerten. Viele dieser Wasserstoffverwerter sind bereits in den anaeroben Standorten vorhanden, teilweise sogar eng mit den wasserstoffproduzierenden Organismen vergesellschaftet. Diese Organismen sind oft strikt anaerob und koppeln die Wasserstoffoxidation entweder an **Sulfatreduktion**, **Acetogenese** oder **Methanogenese** (Tab. 11.5). Darüber hinaus gibt es bei fast allen Gruppen von Prokaryonten, die durch **anaerobe oder aerobe Atmung** Energie konservieren, fakultativ oder obligat chemolithotrophe Vertreter mit Wasserstoff

Tab. 11.5 Beispiele für wasserstoffverwertende Bakterien aus verschiedenen physiologischen Gruppen. Für die chemolithotrophen Arten ist jeweils die Gleichung der Reaktion des Energiestoffwechsels, für die phototrophe Wasserstoffverwertung ist dagegen die der autotrophen CO₂-Fixierung angegeben. Weitere Einzelheiten zu den Gruppen der anaeroben Atmer in Kapitel 13.

Physiologische Gruppe	Repräsentative Art	Reaktion	freie Energie ΔG^0
aerobe Atmer	<i>Ralstonia eutropha</i>	$2 \text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$	-474 kJ/mol
Mikroaerophile	<i>Metallosphaera sedula</i>	$2 \text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$	-474 kJ/mol
Denitrifizierer	<i>Paracoccus denitrificans</i>	$5 \text{H}_2 + 2 \text{NO}_3^- + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$	-1121 kJ/mol
Fumaratreduzierer	<i>Wolinella succinogenes</i>	$\text{H}_2 + \text{Fumarat} \rightarrow \text{Succinat}$	-86 kJ/mol
Sulfatreduzierer	<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	$4 \text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4 \text{H}_2\text{O}$	-152 kJ/mol
Schwefelreduzierer	<i>Wolinella succinogenes</i>	$\text{H}_2 + \text{S} \rightarrow \text{HS}^- + \text{H}^+$	-28 kJ/mol
Acetogene	<i>Acetobacterium woodii</i>	$4 \text{H}_2 + 2 \text{CO}_2 \rightarrow \text{H}_3\text{C-COO}^- + \text{H}^+ + 2 \text{H}_2\text{O}$	-112 kJ/mol
Methanogene	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	$4 \text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$	-139 kJ/mol
Phototrophe	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	$2 \text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow <\text{CH}_2\text{O}> + \text{H}_2\text{O}$	-4 kJ/mol

als Elektronendonator (Tab. 11.5). Je nach Organismus unterscheiden sich die Wege der autotrophen CO₂-Fixierung (Kap. 8.6.1). Es gibt bei den wasserstoffverwertenden Chemolithotrophen auch einige Arten, die organische Verbindungen als Elektronenakzeptoren verwenden (z. B. Fumarat-atmung bei *Wolinella succinogenes*). Diese Organismen sind in der Regel chemolithoheterotroph, d. h. sie bestreiten zwar ihren Energiestoffwechsel über Chemolithotrophie, synthetisieren Biomasse aber aus den vorhandenen organischen Verbindungen.

11.6.1 Biochemische Grundlagen

Die Schlüsselenzyme des Wasserstoffstoffwechsels sind die Hydrogenasen. In chemolithotrophen Mikroorganismen sind typischerweise „Aufnahme“-Hydrogenasen zu finden, die Wasserstoff in Protonen und Elektronen spalten und die Elektronen z. B. auf der Stufe von NAD(P)H oder der Chinone in die Atmungskette einschleusen. Sehr ähnliche wasserstoffentwickelnde Enzyme, die die rückläufige Reaktion katalysieren, sind z. B. bei Gärern zu finden (Kap. 12). Die Katalyse findet an einem ungewöhnlichen Metall-Schwefel-Cofaktor im aktiven Zentrum der Hydrogenasen statt. In Eisenhydrogenasen handelt es sich dabei um ein Fe₅S₆ Zentrum, in Nickel/Eisen-Hydrogenasen um ein Ni-Fe-Zentrum, jeweils mit zusätzlich gebundenen CO und CN⁻-Liganden. Hydrogenasen kommen als membrangebundene, cytoplasmatische oder periplasmatische Enzyme vor. Cytoplasmatische Hydrogenasen reduzieren oft unmittelbar NAD(P)⁺, membrangebundene Hydrogenasen übertragen die Elektronen auf den Chinonpool der Membran und die periplasmatischen Hydrogenasen reduzieren Cytochrome (Cytochrom c₃ der sulfatreduzierenden Bakterien).

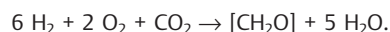
11.6.2 Aerobe wasserstoffoxidierende Mikroorganismen

Die Vertreter der anaeroben wasserstoffoxidierenden Mikroorganismen werden in Kapitel 13 näher vorgestellt. Deshalb sollen hier nur die so genannten **Knallgasbakterien** näher beschrieben werden, die Wasserstoff mit Sauerstoff als terminalem Elektronenakzeptor oxidieren. Die meisten Vertreter dieser physiologischen Gruppe verwerten außer H₂ und CO₂ auch organische Substrate, sind also **fakultativ chemolithoautotroph** (Plus 11.8).

Die bekannten Arten der aeroben wasserstoffoxidierenden Mikroorganismen finden sich in mehreren Verwandtschaftsgruppen bei den Eubakterien und Archaeobakterien. In vielen Fällen gibt es nah verwandte Arten, die nicht chemolithotroph sind. Einige der am besten untersuchten aeroben Wasserstoffoxidierer gehören zu den gramnegativen **Proteobakterien**, wie z. B. die Gattungen *Paracoccus*, *Bradyrhizobium* und *Oligotropha* aus der alpha-Gruppe, oder *Ralstonia*, *Acidovorax* und *Hydrogenophaga* aus der beta-Gruppe. Es gibt aber einige bekannte Vertreter auch unter den **grampositiven Bakterien**, wie z. B. *Bacillus schlegelii* bei den *Firmicutes*, *Rhodococcus opacus* oder *Streptomyces thermoautotrophicus* bei den *Actinobacteria*, *Aquifex pyrophilus* bei den **hyperthermophilen Eubakterien** und *Metallosphaera sedula* bei den **hyperthermophilen Archaeobakterien**.

Plus 11.8 Knallgasbakterien

Aerobe wasserstoffoxidierende Bakterien lassen sich aus Boden- und Wasserproben leicht anreichern und isolieren. Sie wachsen in Mineralsalzmedien ohne organische Komponenten, die unter einer Atmosphäre mit H₂, O₂ und CO₂ gehalten werden. Die bekannten Arten wachsen zum Teil relativ schnell mit Verdopplungszeiten von 1–3 Stunden. Da bei der Knallgasreaktion relativ viel Energie freigesetzt wird, muss nur ein relativ geringer Anteil des H₂ für den Energiestoffwechsel eingesetzt werden. Man kann aus den Umsätzen der Gaskomponenten und dem erhaltenen Zellertrag ermitteln, dass aerobe Knallgasbakterien etwa ein Drittel des H₂ zur Synthese von Zellmasse [CH₂O] nutzen. Die Bilanz ist ungefähr wie folgt:



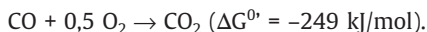
Dies ist im Vergleich zu den meisten aeroben chemoorganotrophen Bakterien, die normalerweise ca. 50 % des Substrats zu Zellmasse umsetzen, ein relativ schlechter Ertrag. Eine Erklärung ist, dass viele Knallgasbakterien keine cytoplasmatische NAD(P)H-bildende Hydrogenase besitzen, sondern die Elektronen aus der Wasserstoffoxidation in den Chinonpool einspeisen und NAD(P)H dann über rückläufigen Elektronentransport synthetisieren.

11.7 Kohlenmonoxid als Elektronendonator

Man kennt inzwischen mehrere biologische Prozesse, bei denen sowohl unter oxidischen als auch anoxischen Bedingungen CO gebildet wird. Kohlenmonoxid dient jedoch nur selten als natürliches Substrat, obwohl es aufgrund seines sehr negativen Redoxpotenzials (CO/CO_2 , $E^0 = -0,54 \text{ V}$) sehr gut als Elektronendonator für chemolithotrophe Mikroorganismen geeignet ist und sowohl von aeroben als auch von anaeroben Bakterien genutzt wird.

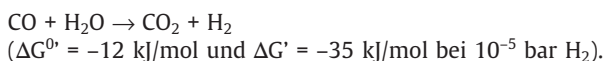
Diese so genannten **Carboxidobakterien** sind fakultativ chemolithoautotroph, viele verwerten alternativ auch Wasserstoff als Elektronendonator. Ein grundsätzlicher Unterschied besteht zwischen den schon lange bekannten **aeroben bzw. denitrifizierenden Carboxidobakterien** und einigen **strikt anaeroben kohlenmonoxidoxidierenden** Chemolithotrophen, deren Fähigkeit zur Verwertung von CO erst vor kurzem entdeckt wurde.

Das am Besten untersuchte aerobe Carboxidobakterium ist das alpha-Proteobakterium ***Oligotropha carboxidovorans***. Daneben gibt es aber noch viele weitere Arten bei den alpha-, beta- und gamma-Proteobakterien und den grampositiven Bakterien. Mittels einer speziellen „aeroben“ **CO-Dehydrogenase**, die im aktiven Zentrum einen Molybdän-Cofaktor trägt, dessen Molybdänatom über einen Sulfidliganden mit einem Kupferatom verbrückt ist, oxidieren diese Bakterien im Cytoplasma CO zu CO_2 . Das Enzym oxidiert CO an diesem ungewöhnlichen bimetalischen Zentrum und leitet die freigesetzten Elektronen auf ein Cytochrom *b* weiter, das dann über die Atmungskette oxidiert wird. Damit ergibt sich folgende Gesamtreaktion:



Einige aerobe Carboxidobakterien sind in der Lage, auf anaerobe Atmung über Denitrifikation umzuschalten und auch unter diesen Bedingungen chemolithotroph mit CO zu wachsen.

Strikt anaerobe Chemolithotrophie mit Kohlenmonoxid wurde erst vor einigen Jahren eindeutig nachgewiesen. Der am besten bekannte Modellorganismus dieser Gruppe ist das grampositive Bakterium *Carboxydotherrmus hydrogenoformans* sowie einige weitere nahe verwandte Arten. Seitdem wurde ein ähnlich ablaufender Stoffwechselweg auch bei dem anoxygenen phototrophen alpha-Proteobakterium *Rhodospirillum rubrum* gefunden. Die „anaerobe“ **CO-Dehydrogenase** dieser Bakterien ist grundsätzlich verschieden von dem Enzym der aeroben Carboxidobakterien und wird z. B. durch Sauerstoff inaktiviert. Sie bildet vermutlich einen Komplex mit einer membranständigen protonenpumpenden Hydrogenase. Die CO-Oxidation zu CO_2 wird durch ein **Nickel-Eisen-Schwefel-Zentrum** im aktiven Zentrum des Enzyms katalysiert, während die freigesetzten Elektronen zur Hydrogenase-Komponente des Komplexes geleitet und dort zur Reduktion von Protonen zu Wasserstoff verwendet werden. Wegen des stark negativen Potenzials von Kohlenmonoxid ist die Entwicklung von Wasserstoff aus CO bereits unter Standardbedingungen exergon, sodass bei niedrigem Wasserstoffpartialdruck im Lebensraum ausreichend Energie für die Translokation von bis zu 2 Protonen zur Verfügung steht. Damit ergibt sich folgende Gesamtreaktion:



Zusammenfassung

- Chemolithotrophe Mikroorganismen oxidieren reduzierte anorganische Verbindungen. Es sind typische **Gradientenorganismen**, die hohe Stoffumsatzraten haben, aber nur geringe Zellausbeuten und langsames Wachstum zeigen. Im Labor sind sie oft schwer kultivierbar. Viele von ihnen benötigen keine organischen Moleküle und sind strikt autotroph.
- Der chemolithotrophe Energiestoffwechsel beruht auf der **Oxidation anorganischer Verbindungen** und der Einspeisung der freigesetzten Elektronen in die aerobe Atmungskette. Je nach verwendetem Elektronendonator können auch anaerobe Atmungsketten mit alternativen Elektronenakzeptoren zur Energiekonservierung dienen. Die Energiegewinnung erfolgt durch **Elektronentransportphosphorylierung**.
- Die meisten anorganischen Elektronendonatoren speisen die Elektronen erst auf der Stufe der **Chinone** oder des **Cytochrom c** in die Atmungskette ein und erfordern dann die Synthese von NAD(P)H für den Baustoffwechsel über rückläufigen Elektronentransport.
- Die physiologischen Gruppen der Chemolithotrophen werden nach den **verwendeten Elektronendonatoren**, wie Methan, reduzierte Stickstoff- und Schwefelverbindungen, Metallionen, sowie Wasserstoff und Kohlenmonoxid, unterschieden. Diese Substrate sind Produkte der anaeroben Atmung anderer Bakterien. Chemolithotrophe Bakterien spielen eine wichtige Rolle im Kreislauf der Stoffe.
- **Nitrifizierende Mikroorganismen** nutzen Ammonium- oder Nitriten als Elektronendonatoren. Die ammoniumoxidierenden **Nitrosobakterien** unterscheiden sich dabei von den nitritoxidierenden **Nitrobakterien**. In der Natur sind Vertreter beider Gruppen stets vergesellschaftet. Die Nitrifikanten sind technisch wichtig bei der Stickstoffelimination in Kläranlagen, verursachen aber auch Schäden durch die Stickstofffreisetzung aus Dünger und durch die zerstörende Wirkung der gebildeten Salpetersäure. Die Nitrifikation ist in der Regel ein strikt aerober Prozess und erfordert Sauerstoff als Elektronenakzeptor und Cosubstrat der Ammoniumoxidation.
- Aerobe und anaerobe chemolithotrophe **Sulfurikanten** nutzen reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren. Unter diesen Organismen findet man einige extrem acidophile bzw. thermoacidophile Eu- und Archaeobakterien, die ihr Habitat durch die bei der Schwefeloxidation produzierte Schwefelsäure auf pH-Werte von 1–3 ansäuern. Daneben gibt es viele neutrophile **schwefeloxidierende chemolithotrophe Bakterien**. Zu ihnen gehören unter anderem die marinen Gattungen *Beggiatoa*, *Thioploca* und *Thiomargarita*, die Riesenzellen bilden. Sie oxidieren Schwefelwasserstoff und Schwefel über anaerobe Atmung mit Nitrat als Elektronenakzeptor, der von den Zellen in großen Vakuolen gespeichert wird.
- **Reduzierte Metallionen**, besonders Fe^{2+} oder Mn^{2+} , werden von einigen chemolithotrophen Mikroorganismen als Elektronendonatoren genutzt. Einige dieser Arten, z.B. *Acidithiobacillus ferrooxidans* oder *Metallosphaera sedula*, sind extrem acidophil und nutzen diese Metalle alternativ oder zusätzlich zu reduzierten Schwefelverbindungen. Zusammen mit weiteren acidophilen Schwefeloxidierern sind diese Arten am Prozess der **Erzlaugung** beteiligt, über den Edelmetalle aus niederwertigen Erzen gewonnen werden. Darüber hinaus gibt es spezialisierte **Metallionenoxidierer**, z.B. die Gattungen *Gallionella* und *Lepto-*

thrix, die auch bei neutralen pH-Werten schwerlösliche Eisenminerale oxidieren.

- **Wasserstoff** wird als Elektronendonator von vielen aeroben Chemolithotrophen, so genannten Knallgasbakterien genutzt, die zu verschiedenen phylogenetischen Gruppen der Eubakterien und Archaeobakterien gehören. Daneben gibt es in fast jeder physiologischen Gruppe anaerob atmender Bakterien wasserstoffverwertende Chemolithotrophe.
- **Kohlenmonoxid** stellt einen weiteren Elektronendonator dar, der sowohl von aeroben wie von anaeroben Mikroorganismen genutzt wird. Aerobe carboxidotrophe Bakterien, z. B. *Oligotropha*, veratmen CO mit Sauerstoff als Elektronenakzeptor. Strikt anaerobe CO-oxidierende Bakterien, z. B. *Carboxydotherrmus*, verwenden die Protonen des Wassers als Elektronenakzeptor und bilden Wasserstoff.

12

Mikrobielle Gärungen

Gärung ist eine Form des Energiestoffwechsels, die eingeschlagen wird, wenn kein externer Elektronenakzeptor für die Oxidation des organischen Substrats zur Verfügung steht. Dementsprechend finden Gärungen in der Abwesenheit von Sauerstoff statt. Die Energiekonservierung in Form von ATP ist dabei meist an die Oxidation eines Substrats gekoppelt und erfolgt unter Bildung einer energiereichen Zwischenverbindung durch Substratkettenphosphorylierung (oxidativer Teil des Gärungswegs). Die dabei freigesetzten Reduktionsäquivalente werden auf eine oxidierte Zwischenverbindung oder ein zweites Substrat übertragen (reduktiver Teil des Gärungswegs), sodass die Elektronenbilanz ausgeglichen wird. Die Gärungsenzyme sind in der Regel löslich. Die entstehenden reduzierten Verbindungen sind die charakteristischen Gärprodukte, nach denen die Gärungen in der Regel benannt sind (z.B. Milchsäure, Ethanol, organische Säuren). Nur an wenigen Gärungen ist darüber hinaus auch Energiekonservierung über Elektronentransportphosphorylierung beteiligt.

Überblick

12.1 Prinzipien der Gärung ... 349

- 12.1.1 Habitate von gärenden Mikroorganismen ... 349
- 12.1.2 Regeneration der Redox-Carrier ... 349
- 12.1.3 Gärungstypen ... 350
- 12.1.4 Substratkettenphosphorylierung ... 350
- 12.1.5 Wasserstoff als Gärprodukt ... 352
- 12.1.6 Biotechnologische Bedeutung von Gärungen ... 353

12.2 Milchsäuregärung ... 353

- 12.2.1 Homofermentative Milchsäuregärung ... 355
- 12.2.2 Heterofermentative Milchsäuregärung ... 355
- 12.2.3 *Bifidobacterium*-Gärung ... 356
- 12.2.4 Praktische Bedeutung der Milchsäurebakterien ... 357
- 12.2.5 Medizinische Bedeutung von Milchsäurebakterien ... 359

12.3 Ethanolgärung ... 359

- 12.3.1 Biochemie der Ethanolbildung ... 360
- 12.3.2 Praktische Bedeutung der alkoholischen Gärung ... 362

12.4 Gemischte Säuregärung ... 363

- 12.4.1 Biochemie der gemischten Säuregärung ... 364
- 12.4.2 Bedeutung der gemischten Säuregärung für Trinkwasser- und Labordiagnostik ... 368

12.5 Buttersäure- und Lösungsmittelgärung ... 369

- 12.5.1 Buttersäuregärende Clostridien ... 369
- 12.5.2 Biochemische Grundlagen der Buttersäuregärung ... 369
- 12.5.3 Lösungsmittelgärung (Butanolgärung) ... 371

12.6 Propionsäuregärung ... 371

- 12.6.1 Biochemische Grundlagen der Propionsäuregärung ... 372

12.7 Vergärung von Aminosäuren und Nukleotidbasen ... 374

- 12.7.1 Stickland-Gärung ... 374
- 12.7.2 Weitere Gärungswege für Aminosäuren und Purine ... 375

12.8 Sekundäre Gärungen und Homoacetatgärung ... 375

- 12.8.1 Sekundäre Gärungen ... 375
- 12.8.2 Homoacetatgärung ... 377

12.1 Prinzipien der Gärung

12.1.1 Habitate von gärenden Mikroorganismen

Gärende Mikroorganismen sind in der Natur überall dort zu finden, wo es zwar abbaubare organische Verbindungen gibt, aber **Sauerstoff oder ein Elektronenakzeptor für eine anaerobe Atmung fehlen** („Leben ohne Sauerstoff“; L. Pasteur). Sie sind entweder **obligat oder fakultativ anaerob**. Die fakultativ Anaeroben schalten dabei ihren Energiestoffwechsel je nach verfügbaren Elektronenakzeptoren zwischen aerober oder anaerober Atmung und Gärung um. Viele Gärer sekretieren **Exoenzyme**, die Biopolymere aus der Natur zunächst zu vergärbaren Monomeren hydrolysieren (Kap. 10.1). Ein wichtiges natürliches Substrat für gärende Mikroorganismen ist Cellulose. Da Cellulose (oder Lignocellulose, Kap. 10.3.1) durch aerobe Mikroorganismen nur langsam abgebaut wird, gelangen große Mengen davon in anoxische Bereiche, z. B. in Sedimente von Gewässern. Auch der anoxische Magen-Darm-Trakt von pflanzenfressenden Tieren beherbergt Celluloseabbauer, die für die Verwertung des Futters wichtig sind. Der Abbau von Naturstoffen unter Gärungsbedingungen erfordert ein komplexes Wechselspiel von mehreren Mikroorganismen. Gärende Bakterien leiten die **anaerobe Nährstoffkette** (Abb. 12.1) ein, indem sie z. B. die Cellulose hydrolysieren und zu Alkoholen, organischen Säuren, Kohlendioxid und Wasserstoff umsetzen. Diese **primären Gärprodukte** stehen dann anderen spezialisierten anaeroben Bakterien zur Verfügung, die diese Verbindungen in einer **sekundären Gärung** im wesentlichen zu Essigsäure, Kohlendioxid und Wasserstoff weitervergären. Diese Produkte dienen schließlich als Substrate für methanogene Archaeobakterien, die daraus Methan und CO_2 (Biogas) bilden (**Methanogenese**), die Endprodukte dieser anaeroben Nährstoffkette (Kap. 13.8).

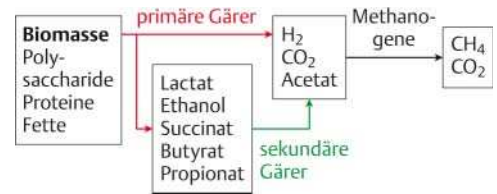


Abb. 12.1 Schema der anaeroben Nährstoffkette.

12.1.2 Regeneration der Redox-Carrier

Bei der Gärung wird Energie für die Stoffwechselvorgänge der Bakterien freigesetzt, indem energiereiche zu energiearmen Verbindungen umgesetzt werden. Die Substrate werden dabei unter ATP-Bildung zu **oxidierten Zwischenprodukten** umgesetzt; diese werden dann mit den freigesetzten Reduktionsäquivalenten (meist NADH) zu den **Gärprodukten reduziert**. Die Gärprodukte werden ausgeschieden. Es ist dabei essenziell, dass die **Redoxbilanz** zwischen Substraten und Gärprodukten ausgeglichen ist (**Gärungsbilanz**), da sonst die Gärung zum Erliegen kommt. Einige oxidierte Zwischenprodukte, die bei verschiedenen Gärungen für die Reoxidation von NADH genutzt werden, sind Pyruvat, Acetaldehyd, Acetyl-CoA, Fumarat oder Acetoacetyl-CoA. ATP wird in der Regel über **Substratkettenphosphorylierung** gebildet, die mit den oxidativen Reaktionen gekoppelt ist (Abb. 12.2). In einigen Gärungswegen ist bei den reduktiven Reaktionen des Gärungsstoffwechsels auch **Elektronentransportphosphorylierung** (ETP) an der Energiekonservierung beteiligt (z. B. Fumaratreduktase, Kap. 13.3). Die Vielgestaltigkeit der mikrobiellen Gärungen ist im wesentlichen durch die charakteristischen Gärprodukte bedingt, die durch die reduktiven Reaktionen gebildet und ins Medium ausgeschieden werden. Typische **Gärprodukte** sind Wasserstoff, Kohlendioxid, Ethanol, Milchsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Capronsäure, Bernsteinsäure, *n*-Butanol, 2,3-Butandiol, Aceton und Isopropanol.

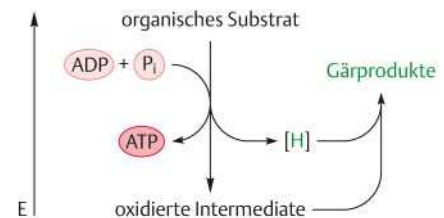


Abb. 12.2 Allgemeines Prinzip eines Gärungsstoffwechselwegs. Links der oxidative Teil des Stoffwechsels mit Substratkettenphosphorylierung. Rechts der reduktive Teil des Gärungsstoffwechsels mit Bildung der Gärprodukte. E, Energie.

12.1.3 Gärungstypen

Die wichtigsten mikrobiellen Gärungen, die dem oben beschriebenen Schema folgen, werden nach ihren typischen **Gärprodukten** benannt: Milchsäuregärung, ethanolische Gärung, gemischte Säuregärung, Buttersäuregärung, Lösungsmittelgärung oder Propionsäuregärung. In nachgeschalteten sekundären Gärungswegen werden die primären Gärprodukte, aber auch langkettige Fettsäuren zu Essigsäure vergoren. Dabei werden zur Regeneration der elektronenübertragenden Coenzyme die Protonen des Wassers zu Wasserstoff reduziert. Wasserstoffbildung ist aus thermodynamischen Gründen nur in **syntrophen Cokulturen** möglich, in denen Wasserstoff zehrende anaerobe Mikroorganismen wie methanogene Archaeabakterien oder sulfatreduzierende Bakterien für eine äußerst geringe Wasserstoffkonzentration sorgen.

Einen Sonderfall stellen Gärungen ohne Redoxreaktionen dar, z. B. die Decarboxylierung von Oxalat zu CO_2 und Formiat durch *Oxalobacter formigenes* oder die Decarboxylierung von Succinat zu Propionat durch *Propionigenium modestum*. Die Energiekonservierung erfolgt in diesem Fall dadurch, dass das zweifach negativ geladene Substrat (Oxalat^{2-}) durch elektrogenen Antiport aufgenommen wird, im Gegentausch mit dem einfach negativ geladenen Produkt (Formiat^-), das ausgeschieden wird. Das dabei gebildete Membranpotenzial (außen positiv) wird zur ATP-Synthese genutzt (Kap. 7.4.4).

12.1.4 Substratkettenphosphorylierung

Für die eigentliche Energieumwandlung stehen bei den vielen verschiedenen Gärungstypen nur einige wenige Reaktionen zur Verfügung. ATP wird gebildet, indem enzymatisch die Phosphorylgruppe einer phosphorylierten Zwischenverbindung auf ADP übertragen wird. Dafür kommen nur wenige hochenergetische Zwischenprodukte in Frage, deren freie Hydrolyseenergie mindestens so hoch ist wie diejenige von ATP ($\Delta G^\circ = -32 \text{ kJ/mol}$; unter den Konzentrationen von Substraten und Produkten in der Zelle erhöht sich der Betrag auf ca. $\Delta G' = -50 \text{ kJ/mol}$) (Plus 12.1). Diese Art von Energiekonservierung wird als Substratkettenphosphorylierung bezeichnet (Kap. 7.2.1). Die Gärungswege dienen letztlich dazu, das Substrat zu solchen energiereichen Zwischenverbindungen umzusetzen.

Die wichtigsten Enzyme der bakteriellen Substratkettenphosphorylierung sind **3-Phosphoglycerat-Kinase**, **Pyruvatkinase** und **Acetatkinase**. Dabei ist zu beachten, dass alle diese Kinasen nach der nichtphysiologischen Rückreaktion benannt werden:

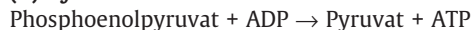
(1) 3-Phosphoglycerat-Kinase:



$$\Delta G^\circ = -20,1 \text{ kJ/mol}$$

$$(\Delta G^\circ \text{ der } 1,3\text{-Bisphosphoglycerat-Hydrolyse: } -51,9 \text{ kJ/mol})$$

(2) Pyruvatkinase:



$$\Delta G^\circ = -19,8 \text{ kJ/mol}$$

$$(\Delta G^\circ \text{ der Phosphoenolpyruvat-Hydrolyse: } -51,6 \text{ kJ/mol})$$

(3) Acetatkinase:



$$\Delta G^\circ = -13,0 \text{ kJ/mol}$$

$$(\Delta G^\circ \text{ der Acetylphosphat-Hydrolyse: } -44,8 \text{ kJ/mol})$$

1,3-Bisphosphoglycerat und **Phosphoenolpyruvat** sind die energiereichen Zwischenprodukte der Glykolyse und werden von den meisten Kohlehydrat vergärenden Mikroorganismen für Substratkettenphosphorylierung genutzt. Allerdings werden allein mit den Reaktionen (1) und (2) nur **2 Mol ATP pro Mol Glucose** gebildet. Die Einbeziehung der **Acetatkinase-Reaktion** (3) bietet einigen Mikroorganismen den Vorteil, **mehr ATP pro Mol Glucose** zu bilden. **Acetylphosphat** wird dabei entweder aus Acetyl-CoA durch Phosphotransacetylase gebildet (4) oder aus einigen Zuckerphosphaten (Xylulose-5-phosphat, Fructose-6-phosphat; Kap. 10.6.1) durch Phosphoketolasen (5):

(4) Phosphotransacetylase



$$\Delta G^{\circ} = +9,0 \text{ kJ/mol}$$

(5) Phosphoketolasen:



$$\Delta G^{\circ} = -43,9 \text{ kJ/mol}$$

Plus 12.1 ATP-Ausbeuten der Gärungen

Eine Abschätzung der Menge an gebildetem ATP bei einer gegebenen Gärung erhält man, indem man die freie Energie der Energiestoffwechselreaktion (z. B. Milchsäuregärung, -198 kJ/mol) durch -80 kJ/mol teilt. Der Betrag von 80 kJ/mol entspricht der Energie, die eine Stoffwechselreaktion zur Synthese von einem Mol ATP liefern muss; der Wert errechnet sich aus der Hydrolyseenergie von ATP unter Zellbedingungen (reversible idealisierte Bedingung, -50 kJ/mol) und einem Wirkungsgrad des Energiestoffwechsels von ca. 60% (irreversible Bedingung, d. h. ca. 60% der verfügbaren Energie kann in Form von ATP eingefangen werden, ca. 40% geht als Wärme verloren). In der Tabelle sind die ΔG° -Werte und die tatsächlichen ATP-Ausbeuten einiger Gärungen aufgeführt.

Gärungsbilanzen, ΔG° -Werte und ATP-Ausbeuten einiger bakterieller Gärungswege. Für die gemischte Säuregärung wurden die ΔG° -Werte der in Kap. 12.4.2 gezeigten Teilreaktionen aufgenommen.

Gärungsweg	ΔG° (kJ/mol)	Mol ATP/ Reaktion
Milchsäuregärung (homofermentativ) $\text{Glucose} \rightarrow 2 \text{ Lactat}^- + 2 \text{ H}^+$	-198	2
Milchsäuregärung (heterofermentativ) $\text{Glucose} \rightarrow \text{Lactat}^- + \text{Ethanol} + \text{CO}_2 + \text{H}^+$	-208	1
$\text{Ribose} \rightarrow \text{Lactat}^- + \text{Acetat}^- + 2 \text{ H}^+$	-210	2
<i>Bifidobacterium</i> -Gärung $2 \text{ Glucose} \rightarrow 2 \text{ Lactat}^- + 3 \text{ Acetat}^- + 5 \text{ H}^+$	-509	5
Alkoholische Gärung $\text{Glucose} \rightarrow 2 \text{ Ethanol} + 2 \text{ CO}_2$	-218	2
Gemischte Säuregärung $\text{Glucose} \rightarrow \text{gemischte Säuren, Ethanol, H}_2, \text{CO}_2$	-200 bis -260	2–3
Buttersäuregärung $\text{Glucose} \rightarrow \text{Butyrat}^- + \text{H}^+ + 2 \text{ CO}_2 + 2 \text{ H}_2$	-247	3
Propionsäuregärung $3 \text{ Lactat}^- \rightarrow 2 \text{ Propionat}^- + \text{Acetat}^- + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	-162	2
Crotonatvergärung $2 \text{ Crotonat}^- + 2 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{ Acetat}^- + \text{Butyrat}^- + \text{H}^+$	-102	1
Homoacetatgärung $\text{Glucose} \rightarrow 3 \text{ Acetat}^- + 3 \text{ H}^+$	-311	4
<i>Ruminococcus</i> -Gärung ($\Delta G'$ bei 10^{-5} bar Wasserstoff) $\text{Glucose} \rightarrow 2 \text{ Acetat}^- + 2 \text{ H}^+ + 4 \text{ H}_2 + 2 \text{ CO}_2$	-312	4

Plus 12.2 NAD(P)H-abhängige Hydrogenasen

Einige anaerobe Mikroorganismen können Wasserstoff tatsächlich auch mit NAD(P)H als Elektronendonator bilden. Diese Reaktion ist unter Standardbedingungen endergon und läuft deshalb nur unter Nichtstandardbedingungen, nämlich bei extrem niedrigen Wasserstoffkonzentrationen ab. An vielen anoxischen Standorten trifft man solche Bedingungen aber tatsächlich an (bis 10^{-5} bar Partialdruck), was auf die Aktivität von wasserstoffzehrenden Mikroorganismen wie Methanogene oder Sulfat reduzierende Bakterien zurückzuführen ist. Unter diesen Bedingungen wird die Entwicklung von Wasserstoff mit NADH oder NADPH als Elektronendonatoren möglich. Man spricht von **Interspecies-Wasserstoff-Transfer**, da der freigesetzte Wasserstoff der Gärer sofort von den wasserstoffzehrenden Mikroorganismen wiederverwertet wird. Diese beiden Typen von Mikroorganismen bilden eine Art von Symbiose, die als **syntrophe Assoziation** bezeichnet wird (Kap. 17.8.1).

Da bei den meisten Gärungen **keine Elektronentransportphosphorylierung** stattfindet, wird das notwendige Membranpotenzial für die Funktionsfähigkeit der Cytoplasmamembran durch eine rückwärtslaufende ATP-Synthase aufgebaut, die Protonen unter ATP-Hydrolyse aus dem Cytoplasma hinauspumpt.

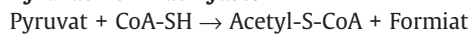
12.1.5 Wasserstoff als Gärprodukt

Bei vielen Gärungen wird Wasserstoff als Gärprodukt gebildet. Die Bildung von Wasserstoff wird von Wasserstoff entwickelnden **Hydrogenasen** katalysiert, die Reduktionsäquivalente (Elektronen) auf Protonen des Wassers übertragen und im aktiven Zentrum einen Nickel-Eisen-Cluster tragen. Die Freisetzung von Reduktionsäquivalenten als molekularem Wasserstoff erlaubt Gärern, mehr Substrat zu oxidieren und dabei mehr energiereiche Zwischenprodukte zu bilden. Dies **steigert die ATP-Ausbeute** des Gärungsstoffwechsels. Nur so ist z.B. bei der Vergärung von C₆-Zuckern die oben erwähnte zusätzliche Energiekonservierung aus Acetyl-CoA (via Acetylphosphat) möglich; ohne Wasserstofffreisetzung muss Acetyl-CoA dagegen zum Ausgleich der Redoxbilanz vollständig zu Ethanol reduziert werden. Die Bildung von Wasserstoff als Gärprodukt ist wegen des tiefen **Redoxpotenzials** ($E^{\circ} = -414$ mV) thermodynamisch ungünstig; insbesondere ist NAD(P)H ($E^{\circ} = -320$ mV) kein guter Elektronendonator für die Wasserstoffbildung (s. aber Plus 12.2). Deshalb verwenden gärende Mikroorganismen für die Wasserstoffentwicklung in der Regel Elektronendonatoren mit niedrigem Redoxpotenzial.

Es gibt zwei wichtige Varianten, die jeweils bei Pyruvat ansetzen. Anstelle des typischen NAD⁺-abhängigen Pyruvatdehydrogenase-Komplexes aus aeroben Organismen übernimmt dabei jeweils ein anderes Enzym die Umsetzung zu Acetyl-CoA unter anoxischen Verhältnissen.

Bei Enterobacteriaceen und einigen anderen Bakteriengruppen wird Pyruvat durch **Pyruvat-Formiat-Lyase** zu Ameisensäure (Formiat) und Acetyl-CoA gespalten. Das niedrige Redoxpotenzial des Formiats ($E^{\circ} = -432$ mV) erlaubt die anschließende Spaltung zu Kohlendioxid und Wasserstoff durch den Formiat-Hydrogen-Lyase-Komplex.

Pyruvat-Formiat-Lyase:



$$\Delta G^{\circ} = -17,5 \text{ kJ/mol}$$

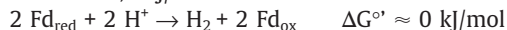


Clostridien und einige anderen Gruppen von Bakterien und Archaeobakterien oxidieren Pyruvat über eine **Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase**. Dieses Enzym überträgt die Elektronen vom Pyruvat auf ein **Ferredoxin** (Fd) mit niedrigem Redoxpotenzial ($E^{\circ} = \text{ca. } -420$ mV), das ebenfalls als thermodynamisch günstiger Elektronendonator für Wasserstoff entwickelnde Hydrogenasen dient.

Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase:



$$\Delta G^{\circ} = -12,6 \text{ kJ/mol}$$

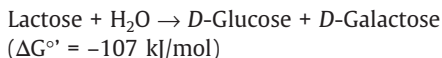


12.1.6 Biotechnologische Bedeutung von Gärungen

Gärende Mikroorganismen werden seit Jahrtausenden von Menschen zur **Veredlung und Konservierung von Nahrungsmitteln** genutzt. Einige Beispiele dafür sind die Herstellung von Bier und Wein, Joghurt, Käse und anderen Sauermilchprodukten, Brot, Sauerkraut oder Silage-Futter. Die meisten klassischen Prozesse in der Lebensmitteltechnologie werden durch gärende Mikroorganismen durchgeführt. Die wichtigsten Organismen sind dabei insbesondere Hefen und Milchsäurebakterien. Allerdings werden heute auch aerobe mikrobielle Verfahren in zunehmendem Maß biotechnologisch genutzt. Unabhängig davon, wie die mikrobiellen Umsetzungen ablaufen, hat sich dafür in der industriellen Mikrobiologie der Begriff „**Fermentation**“ durchgesetzt, der eigentlich gleichbedeutend mit Gärung ist. Ebenso werden die Rührgefäße, in denen über mikrobielle Verfahren Produkte hergestellt werden, allgemein als **Fermenter** bezeichnet.

12.2 Milchsäuregärung

Als Milchsäurebakterien werden Bakterien bezeichnet, die verschiedene Zucker zu Milchsäure als Hauptprodukt vergären. Ein für die Praxis wichtiges Beispiel ist der Milchzucker (**Lactose**), der zu 100–250 mM (4–8 %) in der Milch vorkommt. Die enzymatische Spaltung dieses Disaccharids in die zwei Zuckerbestandteile, *D*-Glucose und *D*-Galactose, wird durch die **β-Galactosidase** katalysiert, die charakteristisch für Lactose verwertende Mikroorganismen ist.



Die Galactose wird zunächst über Galactose-1-phosphat und UDP-Galactose zu den entsprechenden Glucosederivaten umgewandelt (am C4-Atom epimerisiert). Glucose-6-phosphat wird dann zu Milchsäure vergoren.

Milchsäurebakterien

Die meisten Milchsäurebakterien gehören zur Ordnung Lactobacillales. Neben den stäbchenförmigen **Lactobacillus**-Arten umfasst die Ordnung auch kokkenförmige Vertreter, u. a. die Gattungen **Enterococcus**, **Streptococcus** und **Leuconostoc**. Die Lactobacillales sind **grampositiv**, bilden keine Sporen und sind meist unbeweglich. Bakterien, die wie die Enterobacteriaceae Lactat nur als Gärungsnebenprodukt ausscheiden, werden nicht zu den Milchsäurebakterien gezählt.

Alle Milchsäurebakterien sind als obligate Gärer auf Zucker als Substrate angewiesen (Plus **12.3**). Sie enthalten in der Regel keine Hämine, damit auch keine Cytochrome, Peroxidase oder Katalase (Kap. 7.5.2). Dennoch sind die meisten Arten **aerotolerant**, d. h. sie wachsen in Gegenwart von Luftsauerstoff, können aber keine Atmung betreiben. Die Fähigkeit zum aeroben Wachstum auf Zuckern bei gleichzeitiger Abwesenheit von Katalase ist ein gutes diagnostisches Kriterium für Milchsäurebakterien. Milchsäurebakterien vergären Zucker rasch und säuern das Medium dabei an (pK_a der Milchsäure = 3,7). Dieser saure pH-Wert verhindert das Wachstum schädlicher Bakterien, die um die Zucker konkurrieren.

Plus 12.3 Wachstumsbedürfnisse und Kultivierung von Milchsäurebakterien

Im Gegensatz zu vielen anderen freilebenden Mikroorganismen wachsen Milchsäurebakterien nicht auf reinen Mineral-salzmedien mit Glucose oder anderen Zuckern als Kohlenstoff- und Energiequelle. Die **Anzuchtmedien** für die Vermehrung von Milchsäurebakterien müssen wegen der starken Säureproduktion gut gepuffert sein. Eine gebräuchliche Methode ist der Zusatz von aufgeschlämtem Kalk (Calciumcarbonat) zum Nähragar („Kreideagar“): neben seiner Pufferwirkung dient das Calciumcarbonat dabei auch als Indikator für säurebildende Bakterien, die man nach Auflösung des Calciumcarbonats an den durchsichtigen Höfen um die Kolonien erkennt.

Die meisten Arten benötigen zusätzlich **Vitamine**, einige auch Aminosäuren oder Nukleotidbasen als Supplemente im Medium. Man kultiviert sie deshalb meist auf komplexen Nährböden, die Zusätze von Hefeextrakt, Molke, Fruchtsäften oder sogar Blut enthalten. In Gegenwart von Häminen im Medium (z. B. aus dem Hämoglobin des Bluts) bilden manche Milchsäurebakterien Cytochrome und Peroxidasen, die in eingeschränktem Maß Reaktionen mit Sauerstoff erlauben. Eine *de novo* Porphyrin-Synthese ist jedoch in keiner Art bekannt. Der **Supplementbedarf** der Milchsäurebakterien ist vermut-

lich die Folge ihrer Anpassung an nährstoff- und vitaminreiche Standorte, wie Milch, Darm oder Pflanzenmaterial. Milchsäurebakterien haben im Lauf der Evolution die Fähigkeit verloren, bestimmte Zellbausteine selbst zu synthetisieren und sind zu „Stoffwechselkrüppeln“ geworden. Einige Stämme setzt man sogar zur biologischen Bestimmung von Vitaminkonzentrationen ein.

Viele Milchsäurebakterien haben **breite Zuckerabbauspektren**, verfügen also über mehrere Gen-Sätze für die jeweiligen Transportsysteme und katabolen Enzyme. Da die meisten in der Praxis relevanten Arten aus Milchprodukten stammen, ist die Fähigkeit zur Vergärung von Milchzucker (Lactose) dabei besonders wichtig.

Die **Anreicherung von Milchsäurebakterien** ist leicht, da sie sich in geeigneten Medien durch die Bildung von hohen Milchsäurekonzentrationen (bis 100 mM) und ihrer Säuretoleranz (bis pH 3–4) rasch durchsetzen. Sie dominieren in der Regel in den primären Bakterienpopulationen, die nach Einsetzen von Gärung in nährstoffreichen Habitaten auftreten. Natürliche Anreicherungen finden sich in Sauermilch und anderen Milchprodukten, Sauerteig, Sauerkraut, Silage, und in vielen ähnlichen Standorten.

Plus 12.4 Besiedlung des Menschen durch Milchsäurebakterien

Milchsäurebakterien gehören auch als meist harmlose Kommensalen zur normalen Flora von **Darm, Haut und Schleimhäuten** von Mensch und Tier (*Lactobacillus acidophilum*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *S. bovis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*). Ihre Anwesenheit auf den Schleimhäuten des Mundes oder der Geschlechtsorgane verhindert die Besiedlung oder übermäßige Zunahme von anderen, eventuell pathogenen Mikroorganismen. Die Ansäuerung infolge Milchsäurebildung hemmt das Wachstum der meisten Pathogenen. Wird dieser natürliche bakterielle „Schutzschild“ der Haut gestört, z. B. durch übermäßiges Waschen oder nach Antibiotika-Behandlung, so besteht eine erhöhte Infektionsgefahr mit pathogenen Mikroorganismen, die sonst in Schach gehalten werden (z. B. Soor durch die Hefe *Candida albicans*, Fußpilz). Die Verwertung von Lactose durch einige Arten (z. B. *Enterococcus faecalis*) ist dabei als Anpassung an die Standortbedingungen des Säugerdarms zu sehen.

Die Milchsäurebakterien werden nach ihren Gärprodukten in zwei Gruppen eingeteilt: die **homofermentativen** vergären Glucose zu zwei Molekülen Milchsäure als einzigem Produkt, während die **heterofermentativen** je ein Molekül Milchsäure, Ethanol und CO₂ pro Glucose produzieren. Diese althergebrachte Gruppierung spiegelt physiologische Unterschiede in der Biochemie der Gärungswege bei den beiden Gruppen wieder (Kap. 12.2.2).

Vorkommen der Milchsäurebakterien. Aufgrund ihrer hohen Nährstoffansprüche und der Energiegewinnung über Gärung findet man die Milchsäurebakterien in der Natur bevorzugt an Standorten mit reichem Substratangebot bei gleichzeitigem Mangel an Sauerstoff. Sie kommen üblicherweise nicht frei im Boden oder Wasser vor. Die Wachstumsbedürfnisse von Milchsäurebakterien und ihre Kultivierungsbedingungen ergeben sich aus deren natürlichen Standorten. Typische Standorte sind **Milch und Milchprodukte** mit **Lactose** als C-Quelle (*Lactobacillus lactis*, *L. acidophilum*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*). Die Milch der Säugetiere wird im Körper zunächst steril gebildet und erst sekundär von Bakterien besiedelt, die z. B. bei Kühen an den Drüsengängen der Euter vorkommen. Milchsäurebakterien wachsen auch in **mazertem Pflanzenmaterial**, z. B. Sauerkraut oder Silage (*Lactobacillus plantarum*, *L. delbrückii*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*). Dieses Substrat ist reich an verschiedenen Zuckern und weist durch die Zerstörung der sauren Vakuole der Pflanzenzellen einen sauren pH-Wert auf. Schließlich sind **Mensch und Tier** von Milchsäurebakterien besiedelt (Plus 12.4).

12.2.1 Homofermentative Milchsäuregärung

Bei der homofermentativen Milchsäuregärung wird aus Glucose und anderen C₆-Zuckern reines Lactat (> 90 %) produziert. Glucose wird über die **Glykolyse** abgebaut, das entstehende NADH aus der Reaktion der Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase wird durch die Reduktion von Pyruvat zu Lactat reoxidiert, die durch Lactatdehydrogenase katalysiert wird (Abb. 12.3). Hexosen werden unter Bildung von 2 ATP zu 2 Milchsäuren vergoren. Je nach Stereospezifität der Lactatdehydrogenase(n) bzw. der Anwesenheit einer Lactatracemase wird entweder L-(+)- oder D-(-)-Milchsäure oder eine Mischung von beiden Stereoisomeren (DL-Lactat) gebildet. Neben Lactat werden durch homofermentative Milchsäurebakterien kleine Mengen an Acetat, Diacetyl und Acetoin (Butteraroma) als Nebenprodukte gebildet.

12.2.2 Heterofermentative Milchsäuregärung

Bei den heterofermentativen Milchsäuregärern verläuft der Zuckerstoffwechsel nicht über die Glykolyse; die Schlüsselenzyme Fructose-1,6-bisphosphat-Aldolase und Triosephosphat-Isomerase fehlen. Heterofermentative Vergärung von Glucose stellt eine Anpassung an Hexosen als Substrate für solche Milchsäurebakterien dar, die eher **auf die Verwertung von Pentosen spezialisiert** sind. Pentosen stammen aus dem Abbau der Zwischenzellwände von Pflanzen (Hemicellulosen). Heterofermentative Milchsäuregärung wird deshalb selbst in vielen homofermentativen Milchsäurebakterien (z. B. *Lactobacillus plantarum* oder *Lactobacillus casei*) bei der Vergärung von Pentosen (Xylose, Ribose, Arabinose) induziert, wobei Glucose allein homofermentativ vergoren wird.

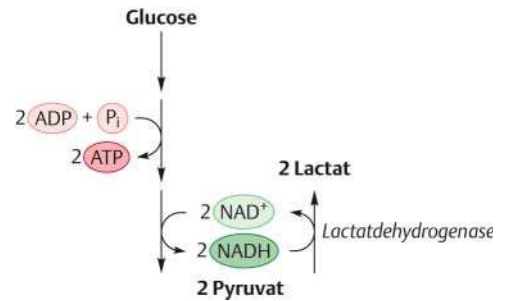


Abb. 12.3 Homofermentative Milchsäuregärung. Pyruvat als Endprodukt der Glykolyse wird durch eine Lactatdehydrogenase vollständig zu D- oder L-Lactat reduziert. Energieausbeute: 2 ATP/ Glucose.

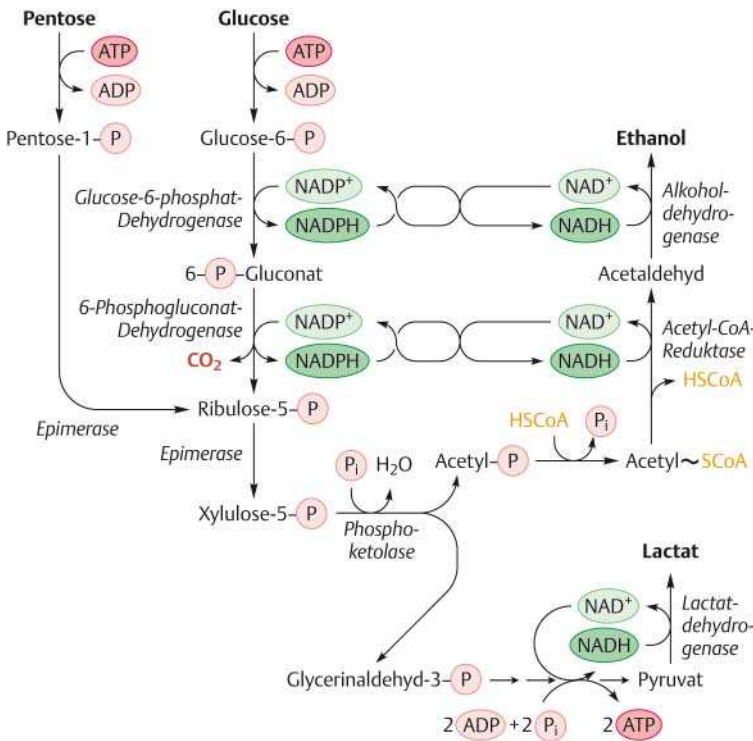


Abb. 12.4 Heterofermentative Milchsäuregärung. Bei der heterofermentativen Milchsäuregärung entstehen Lactat, Ethanol und CO₂. Energieausbeute: 1 ATP/Glucose, aber 2 ATP/Pentose.

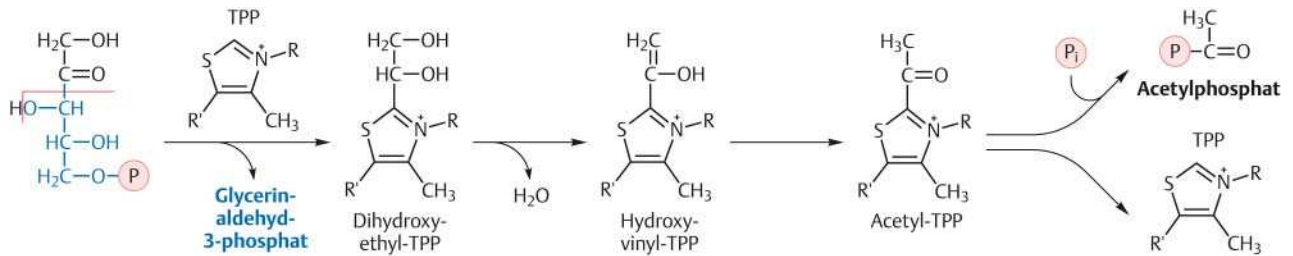


Abb. 12.5 Reaktion der Phosphoketolase. TPP Thiamindiphosphat (häufig auch als Thiaminpyrophosphat bezeichnet).

Plus 12.5 Alternative NAD⁺-regenerierende Reaktionen

Einige Arten heterofermentativer Milchsäurebakterien oxidieren einen Teil des NADH durch Reduktion von Glucose oder Fructose zu Mannit, das als weiteres Gärprodukt ausgeschieden wird, oder durch Oxidation von NADH mit Sauerstoff über Peroxidasen. Diese alternativen NAD⁺ regenerierenden Reaktionen erlauben die Konservierung von mehr Energie, da pro zwei oxidierten NADH ein Acetylphosphat eingespart wird, mit dem über die Acetatkinase-Reaktion ein ATP gebildet werden kann.

Pentosen werden über **Xylulose-5-phosphat** vergoren. Dieses wird durch **Phosphoketolase**, das Schlüsselenzym der heterofermentativen Milchsäuregärung, mit Phosphat (phosphorolytisch) zu **Acetylphosphat** und **Glycerinaldehyd-3-phosphat** gespalten (Abb. 12.4). Die Reaktion der Phosphoketolase erfolgt dabei an einem Thiamindiphosphat-Cofaktor im aktiven Zentrum des Enzyms (Abb. 12.5). Glycerinaldehyd-3-phosphat wird in der Glykolyse weiter zu Pyruvat oxidiert, das anschließend zu Lactat reduziert wird. Acetylphosphat wird durch Acetatkinase zu Acetat umgesetzt, wobei ATP gebildet wird. Pentosen werden also unter Bildung von 2 ATP zu 1 Milchsäure und 1 Essigsäure vergoren (Abb. 12.4).

Hexosen werden über die Reaktionen des **Pentosephosphatweges** zuerst zu Ribulose-5-phosphat und CO₂ oxidiert, wobei zwei NADPH gebildet werden (Kap. 7.2.2). Ribulose-5-phosphat wird durch eine Epimerase zu **Xylulose-5-phosphat** isomerisiert. Dieser C₅-Zucker wird dann – wie für Pentosen beschrieben – weiter fermentiert. Das gebildete Acetylphosphat muss jedoch hier über Acetyl-CoA und Acetaldehyd zu Ethanol reduziert werden. Dabei werden die bei der Oxidation der Hexosen zu Pentosephosphat angefallenen zusätzlichen 2 NAD(P)H reoxidiert; allerdings steht Acetylphosphat dann nicht mehr für die ATP-Synthese zur Verfügung. Hexosen werden also unter Bildung von nur 1 ATP zu 1 Milchsäure, 1 Ethanol und 1 Kohlendioxid vergoren. Es gibt allerdings auch noch andere, weniger verbreitete Möglichkeiten, um NAD⁺ zu regenerieren (Plus 12.5).

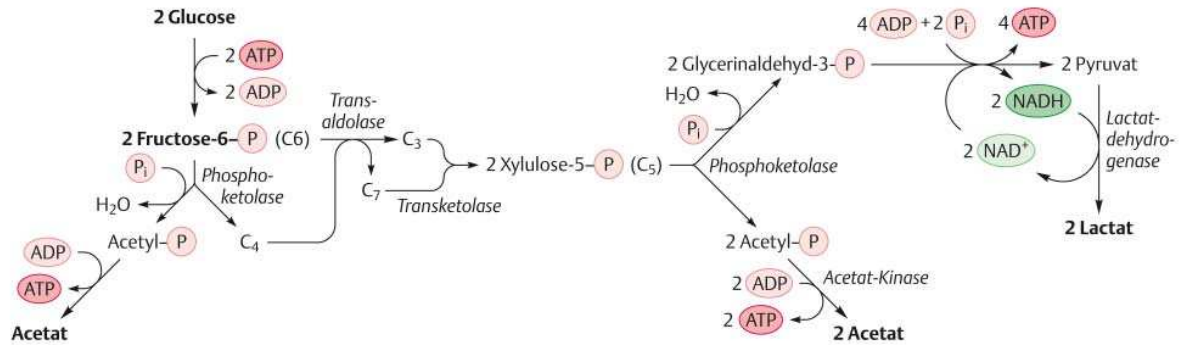
12.2.3 *Bifidobacterium*-Gärung

Bifidobacterium bifidum, das nach seiner ungewöhnlichen V- oder Y-förmigen Zellform benannt ist (lat. bifidus, zweigespalten), nimmt auch phylogenetisch eine Sonderstellung unter den Milchsäurebakterien ein. Es ist es nicht näher verwandt mit den anderen Milchsäurebakterien, sondern gehört zum anderen Ast der grampositiven Bakterien, den **Actinobakterien**, die sich durch einen hohen GC-Gehalt ihrer DNA auszeichnen. *Bifidobacterium* ist im Gegensatz zu den üblichen aerotoleranten Milchsäurebakterien **strikt anaerob** und benötigt ein mit CO₂ angereichertes Medium zum Wachstum. Diese Art ist einer der Erstbesiedler des Darms menschlicher **Säuglinge** und trägt dabei zum Schutz vor Infektionen bei. *Bifidobacterium* besitzt keine Aldolase als Schlüsselenzym der Glykolyse, aber auch keine Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, welche die übliche heterofermentative Milchsäuregärung einleitet. Stattdessen verläuft die Gärung dieser Bakterien über einen eigenständigen Stoffwechselweg, der Lactat und Acetat als Endprodukte liefert (Plus 12.6).

Plus 12.6 Biochemie der *Bifidobacterium*-Gärung

Das Schlüsselenzym der *Bifidobacterium*-Gärung ist eine **Phosphoketolase**, die im Gegensatz zum analogen Enzym der heterofermentativen Milchsäuregärung nicht nur **Xylulose-5-phosphat**, sondern auch **Fructose-6-phosphat** umsetzt. Aus letzterem entstehen dabei Acetylphosphat und Erythrose-4-phosphat (C_4). Der C_4 -Zucker wird dann durch die Enzyme des **Pentosephosphatzyklus**, Transketolase und Trans-

aldolase, mit einem weiteren Molekül Fructose-6-phosphat (C_6) zu zwei C_5 -Zuckern (Xylulose-5-phosphat) umgesetzt, die wie bei der heterofermentativen Milchsäuregärung durch die Phosphoketolase zu Acetylphosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat gespalten werden (Abb.). Insgesamt setzt *Bifidobacterium* 2 Glucose zu 2 Milchsäure und 3 Acetat um und bildet dabei 5 ATP.



***Bifidobacterium*-Gärung.** Energieausbeute: 2,5 ATP/Glucose.

12.2.4 Praktische Bedeutung der Milchsäurebakterien

Milchsäurebakterien setzen sich in der Natur als **Erstbesiedler** von zuckerhaltigen Substraten mit komplexen Stickstoffquellen und Supplementen durch, wenn Luftabschluss gegeben ist. Die Hemmung des Wachstums vieler anderer anaerober Bakterien durch die Ansäuerung durch Milchsäure ($\text{pH} < 5$) wird für die **Konservierung verderblicher Lebensmittel** ausgenutzt. Zudem ist die **Geschmacksveränderung durch die Gärung** erwünscht. Die Art der Milchsäurebakterien, die sich jeweils durchsetzt, ist unter anderem von der Ausgangsflora im Substrat und der Umgebungstemperatur (ca. 10°C bis 45°C) abhängig. Die Milchsäuregärung wird auch zur industriellen **Herstellung von enantiomerenreiner D- oder L-Milchsäure** aus zuckerhaltigen Substraten (Melasse, Glucosesirup, Sulfitaablage) eingesetzt; die Wahl des Organismus bestimmt dabei das erhaltene Enantiomer.

Milchprodukte

Hier spielen Milchsäurebakterien als Säure- und Geschmacksstoffbildner für eine Vielzahl von wichtigen Lebensmitteln eine entscheidende Rolle (Abb. 12.6). Es ist heute gängige Praxis, sterilisierte oder teilentkeimte (pasteurisierte) Milch mit definierten **Starterkulturen** zu versetzen. Über verschiedene Milchprodukte gibt Plus 12.7 Auskunft.

Käse

Bei der Herstellung von Quark bzw. Sauermilchkäse koaguliert durch die **Ansäuerung durch Milchsäuregärung** das Milcheiweiß **Casein** zum festen **Käsebruch** (Dicklegung der Milch). Für viele Schnitt- und Hartkäsearten wird beim Start der Milchsäuregärung noch zusätzlich **Labferment**



Abb. 12.6 Vergorene Milchprodukte, Butter und Frischkäsesorten (Copyright Daniel Czap/StockFood).

Plus 12.7 Starterkulturen in der Milchwirtschaft

Eine typische Starterkultur für Dickmilch oder Sauerrahmbutter enthält z.B. Stämme von *Lactococcus lactis* und *Leuconostoc cremoris*, die für die Säuerung und die Bildung des Butteraromas (Diacetyl) sorgen. Dickmilch, Sauerrahm oder Buttermilch werden mit Kulturen der oben genannten mesophilen Milchsäurebakterien hergestellt. Dagegen besteht die „klassische“ Joghurtkultur aus den thermophilen Arten *Lactobacillus bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus*, die Milchzucker bei 43–45 °C bereits nach wenigen Stunden vergären. Daneben wird heute eine Vielzahl weiterer verwandter Produkte angeboten, wie verschiedene Arten von leicht bekömmlichen Sauermilcherzeugnissen, die meist mit Kulturen von *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* oder Bifidobakterien gesäuert sind. Da alle diese Arten zur normalen menschlichen Darmflora gehören, schreibt man diesen Produkten eine gesundheitsfördernde, „probiotische“ Wirkung zu. Weitere Sauermilchspezialitäten sind Kefir und Koumiss, die aus Milch von verschiedenen Nutztieren durch eine gemischte Milchsäure- und alkoholische Gärung hergestellt werden. Typische Kefirkulturen bestehen aus Hefen und diversen Arten der Gattungen *Lactobacillus*, *Streptococcus* und *Leuconostoc*. Koumisskulturen enthalten normalerweise *Lactobacillus bulgaricus* und *Torula*-Hefen.



Abb. 12.7 Käseherstellung. Käse, der zur Reifung in Regalen gelagert wird, wird zur Konservierung immer wieder mit Salz eingerieben (copyright Maximilian Stock Ltd/science photo library).

(Chymosin, Rennin) zugesetzt, das durch proteolytische Abspaltung eines hydrophilen Fragments des Caseins zur besseren Proteinausfällung beiträgt. Je nach Käsesorte wird mit mesophilen (20–30 °C) oder thermophilen Milchsäurebakterien-Kulturen (32–45 °C) gearbeitet. Erstere enthalten z.B. *Lactococcus lactis* oder *Leuconostoc cremoris*, letztere *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* oder *Lactobacillus helveticus*. Der Käsebruch wird mit der Käseharfe in verschiedenen großen Stücke geschnitten, dann erfolgt Rühren, Erhitzen und Entwässern. Je nach Aufbereitungsmethode und den Mengen der dabei austretenden Molke bekommt man zunächst **Friskkäse** verschiedener Konsistenz (z.B. Quark oder Hüttenkäse), dann auch reife Käsesorten mit unterschiedlichem Charakter. Zur **Käseherstellung** wird Friskkäse in Formen gepresst und gesalzen und zur weiteren **Reifung** inkubiert (Abb. 12.7). Dabei sind je nach Sorte weitere Mikroorganismen beteiligt, z.B. **Propionsäurebakterien** (Schweizer Käse), **Brevibacterium**-Arten und **Hefen** („Rotschmierekulturen“, z.B. beim Limburger) oder **Schimmelpilze** (Camembert oder Roquefort), die für die großen Unterschiede der Käsesorten verantwortlich sind (Abb. 12.8).

Sauerteig

Milchsäurebakterien wie *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* oder *Lactobacillus fermentum* bilden zusammen mit **Hefen** (Gattungen *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida*) die Flora des Sauerteigs, der besonders als Triebmittel und Quellungsmittel beim Backen von Roggenteig nötig ist. Daneben bewirkt die Sauerteig-Gärung erst die Ausprägung vieler Geschmacksstoffe des Brotes.

Rohwurst

Alle Arten von Rohwurst (z.B. Salami, Cervelat) werden durch Milchsäuregärung und die dadurch erzielte Ansäuerung haltbar gemacht. Die Milchsäure wird dabei durch Vergärung des Glykogens des Fleisches gebildet. Neben Milchsäurebakterien (*Lactobacillus*-Arten) sind hier auch *Micrococcus*- und *Staphylococcus*-Arten und in einigen Fällen **Schimmelpilze** der Gattung *Penicillium* (weißer Belag der Außenseite) beteiligt.

Fermentierte Gemüse

Sauerkraut, Salzgurken, Oliven und eine Vielzahl anderer Lebensmittel werden durch Milchsäuregärung haltbar gemacht. Die Gärung erfolgt in der Regel durch die Bakterienflora, die bereits im geernteten Pflanzengemüse vorhanden ist. Um die Entwicklung von Milchsäurebakterien zu begünstigen, wird zum frischen Gemüse in der Regel Salz (meist 2–3 % NaCl) zugesetzt, das die Entwicklung von Fäulnisbakterien hemmt. In der Anfangsphase werden die Gärprozesse hierbei meist von heterofermentativen *Leuconostoc*-Arten dominiert, danach übernehmen säureresistentere homofermentative Arten wie *Lactobacillus plantarum*.

Genussmittel

Bei den komplexen Fermentationsprozessen von Kaffee- und Kakaobohnen oder der asiatischen Sojasauce tragen Milchsäurebakterien zur erwünschten Reifung der Produkte bei, wobei hier allerdings andere Bakterien und Pilze die Hauptrolle spielen.

Silage

Silage ist durch natürliche Milchsäuregärung haltbar gemachtes Viehfutter. Frisches oder angewelktes Pflanzenmaterial wie Gras, Klee, Mais, Getreide oder Rübenblätter wird gehäckselt und in Silobehälter oder in Foliensilos fest eingepresst, dann wird der Behälter verschlossen und die Gärung beginnt. Um Fehlgärungen zu vermeiden, z. B. übermäßige Entwicklung von Buttersäure durch Clostridien, werden oft Zusätze beigemischt, welche die säuretoleranten Milchsäurebakterien begünstigen (organische oder anorganische Säuren oder leicht vergärbare Melasse). Nachdem die obligat und fakultativ aeroben Keime den Sauerstoff im Silagegut rasch verbraucht haben, entstehen optimale Wachstumsbedingungen für die Milchsäurebakterien, die zunächst nur einen sehr kleinen Anteil der epiphytischen (auf der Futterpflanze natürlich vorkommenden) Mikroflora ausmachen. In der Silage finden sich nebeneinander homo- und heterofermentative Arten der Gattungen *Lactobacillus*, *Streptococcus* und *Leuconostoc*.

12.2.5 Medizinische Bedeutung von Milchsäurebakterien

Milchsäurebakterien sind ein wesentlicher Teil der **normalen Bakterienflora** von Mensch und Tier, die für die Gesunderhaltung wichtig ist (Plus 12.4, S. 354). Die Ansäuerung nach Besiedlung der **Schleimhäute** schützt vor Invasion durch pathogene Bakterien. Bekannte Beispiele sind die Besiedlung des Säuglingsdarms durch *Bifidobacterium* oder der Vagina der Frau durch *Lactobacillus acidophilus*. Einige Milchsäurebakterien, z. B. *Streptococcus mutans* oder *Streptococcus salivarius*, besiedeln als Teil eines komplexen **Biofilms** die Zähne und verursachen durch die Bildung von Milchsäure aus Zuckern Karies (Abb. 12.9). Auslöser ist der übermäßige Verzehr von Saccharose (Rohr- oder Rübenzucker). Verschiedene Karies-Streptokokken vergären jeweils nur einen der beiden Zuckerbausteine des Disaccharids Saccharose (Glucose oder Fructose); den anderen setzen sie zu polymeren Dextranen (Polyglucosen) bzw. Laevanen (Polyfructosen) um. Diese extrazellulären Polysaccharide vermitteln eine besonders gute Haftung der Zellen an den Zahnoberflächen (Plaque). Weitere **Pathogene** unter den Milchsäurebakterien sind die hämolytischen Vertreter der Gattung *Streptococcus*, z. B. *Sc. pyogenes*, die u. a. Rachenentzündungen oder Scharlach auslösen können (Abb. 12.10). Diese Arten kommen aber in der Natur wesentlich seltener vor als die apathogenen Milchsäurebakterien und werden wegen der Milch-Pasteurisierung heute praktisch nur noch von Mensch zu Mensch übertragen.

12.3 Ethanolgärung

Ethanol ist ein Gärprodukt vieler Mikroorganismen. Viele Hefen und einige Bakterien produzieren Ethanol sogar als einziges Endprodukt der Zuckervergärung. Für die Praxis am wichtigsten sind die Stämme der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* („Zuckerpilz des Biers“). Die alkoholgärenden Hefen sind fakultativ anaerob, bestreiten also ihren Energiestoffwechsel über aerobe Atmung, solange Sauerstoff vorhanden ist, und wechseln bei Luftabschluss zur Vergärung von Zuckern. Unter den Bakterien sind nur wenige Arten als reine Alkoholgärer bekannt, z. B. *Zymomonas mobilis*. Diese Arten sind in der Regel strikt anaerob. Studien zur alkoholischen Gärung haben wesentlich zum Verständnis des Stoffwechsels und der Begründung der Biochemie als Wissenschaft beigetragen (Plus 12.8).



Abb. 12.8 Verschiedene Käsesorten (copyright Digitalstock).



Abb. 12.9 Krankheitsbild der Karies. Milchsäuregärung durch Zahnbelag-Bakterien (z. B. *Streptococcus mutans*; *S. salivarius*) führt zur Bildung von Löchern im Zahnschmelz (aus Gängler et al., 2005).



Abb. 12.10 Krankheitsbild von Scharlach. Charakteristische „Erdbeerzunge“ als Symptom einer Infektion mit *Streptococcus pyogenes* (aus Sitzmann, 2002).

Plus 12.8 Ethanolgärung und Wissenschaftsgeschichte

Am Beispiel der alkoholischen Gärung wies **Pasteur** um 1860 nach, dass Hefen für die Alkoholbildung aus Zucker verantwortlich sind und erkannte, dass Zucker bei der Gärung schneller umgesetzt wird als unter aeroben Bedingungen. Dieser Befund zeigte die Regulation des Energiestoffwechsels durch Sauerstoff als terminalem Elektronenakzeptor auf und wurde als **Pasteur-Effekt** zu einem mikrobiologischen Grundprinzip (Plus 12.9). 1896 beobachteten **Buchner und Hahn**,

dass Zucker auch im zellfreien Extrakt von zerriebenen Bierhefen noch zu Alkohol und CO₂ vergoren wird; dies wird heute als Geburtsstunde der Biochemie angesehen. Ebenfalls an Hefesaft entdeckten **Harden und Young** (1906), dass für die ersten Schritte der Glucosevergärung anorganisches Phosphat notwendig ist und identifizierten Fructose-1,6-bisphosphat als frühes Zwischenprodukt der Glykolyse.

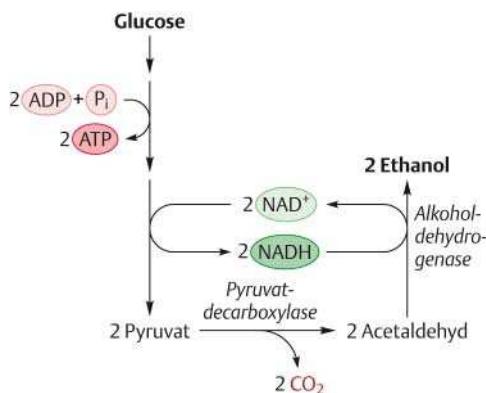


Abb. 12.11 Alkoholische Gärung bei *Saccharomyces cerevisiae*. Bei der alkoholischen Gärung entsteht Ethanol als Endprodukt. Glucose wird über die Glykolyse und anschließend durch die beiden Enzyme Pyruvatdecarboxylase und Alkoholdehydrogenase zu je zwei Molekülen Ethanol und CO₂ umgesetzt. Energieausbeute: 2 ATP/Glucose.

12.3.1 Biochemie der Ethanolbildung

Die Vergärung von Glucose zu Ethanol folgt der Gleichung:



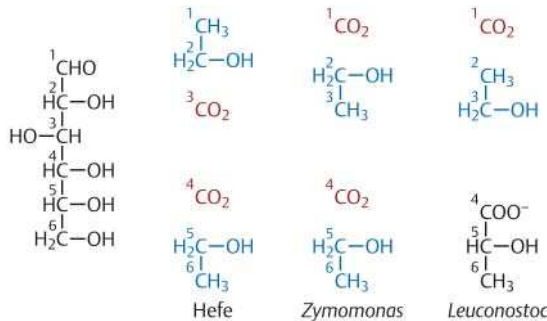
Hefen oxidieren die Glucose zunächst über die **Glykolyse** zu 2 Pyruvat. Dabei werden **pro Glucose 2 ATP** gebildet und 2 NAD⁺ zu NADH reduziert. Ethanol wird in zwei enzymatischen Schritten aus Pyruvat gebildet: die zwei Moleküle Pyruvat werden zunächst durch die **Pyruvatdecarboxylase** zu Acetaldehyd decarboxyliert. Das katalytische Zentrum dieses Enzyms ist ein Thiamindiphosphat-Cofaktor. Die zwei Moleküle Acetaldehyd werden dann durch die **Alkoholdehydrogenase** zu zwei Molekülen Ethanol reduziert. Dabei werden die zwei gebildeten NADH aus der Glykolyse reoxidiert und die Redoxbilanz ist ausgeglichen (Abb. 12.11).

Bakterien, die Ethanol als Gärprodukt bilden, tun dies auf der Grundlage eines anderen Stoffwechselweges. So ist *Zymomonas mobilis* ein bekanntes anaerobes Bakterium, das wie die Hefen Zucker komplett zu CO₂ und Ethanol vergärt. Dieses polar begeißelte stäbchenförmige Bakterium wurde in Mexiko aus Pulque (vergorenem Agavensaft) isoliert und gehört in die α-Gruppe der Proteobakterien. Die Alkoholgärung durch *Zymomonas* unterscheidet sich von der Hefegärung dadurch, dass die Glykolyse bis zum Pyruvat über den **KDPG-Weg** (Kap. 7.2.3) abläuft. Die Folgeschritte über Pyruvat-Decarboxylase und Alkoholdehydrogenase sind identisch zur Hefegärung. Da hier bis zum typischen Zwischenprodukt 2-Keto-3-desoxy-6-phosphogluconat (KDPG) netto kein ATP gebildet wird, erzielt *Zymomonas* durch die alkoholische Gärung nur eine Ausbeute von 1 ATP pro Glucose. Dieser Nachteil gegenüber den Hefen wird ausgeglichen durch einen schnelleren Zuckerumsatz und bessere Resistenz gegen hohe Alkoholkonzentrationen. *Zymomonas* produziert wegen des geringeren ATP-Ertrags weniger Zellmasse und mehr Ethanol aus der verbrauchten Glucose, was beim technischen Einsatz erwünscht ist.

Ethanol ist auch ein typisches **Nebenprodukt der Gärung** bei Enterobakterien und Clostridien. In diesen Fällen läuft der Abbau der Glucose in der Regel über die Glykolyse, das gebildete Pyruvat wird aber nicht direkt zu Acetaldehyd decarboxyliert. Stattdessen wird Pyruvat weiter zu Acetyl-CoA oxidiert, das dann über Acetaldehyd zu Ethanol reduziert wird. Der Alkohol, der durch die heterofermentative Milchsäuregärung von Hexosen gebildet wird, entsteht wiederum über einen anderen Stoffwechselweg (Kap. 12.2.3). Auf einige praktische und geschichtliche Aspekte der Alkoholgärung wird gesondert eingegangen (Plus 12.9).

Plus 12.9 Analyse der Gärungswege und Eingriffe in den Gärungsverlauf

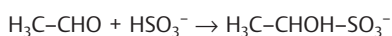
Die eingeschlagenen Stoffwechselwege der Alkoholgärung können **experimentell überprüft** werden, indem asymmetrisch markierte Glucose (z.B. ^{13}C -Glucose) vergoren und die Verteilung der markierten C-Atome in den Produkten analysiert wird. Die erwarteten Ergebnisse aus der Hefegärung, der *Zymomonas*-Gärung und der heterofermentativen Milchsäuregärung sind aus der Abbildung ersichtlich.



Herkunft der C-Atome der Gärprodukte bei der Glucosevergärung durch verschiedene Organismen.

Für viele Anwendungen sind **gezielte Eingriffe in den Gärverlauf** notwendig. Ein wichtiges Verfahren bei der Weinherstellung ist das **Schwefeln**, d. h. der Zusatz von **Hydrogensulfit** (schweflige Säure, HSO_3^-) zum Gäransatz.

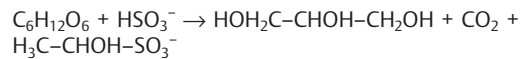
Die Kenntnis der mit dem Schwefeln verbundenen Reaktionen geht auf die Untersuchungen von **C. Neuberg** zurück, der durch Abfangen des Acetaldehyds mit schwefeliger Säure den Weg der Ethanolbildung aus Pyruvat nachwies. Hydrogensulfit, das auf Hefen weit weniger toxisch wirkt als auf viele andere Mikroorganismen, reagiert mit Acetaldehyd spontan und reversibel zu einer Additionsverbindung (Hydroxysulfonsäure), die nicht weiter umgesetzt wird.



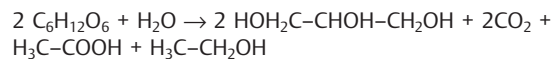
Das Abfangen des reaktiven Acetaldehyds verhindert unerwünschte Nebenreaktionen, die den Geschmack des Weins beeinträchtigen. Der Wein wird so stabilisiert und für längere Zeit lagerungsfähig.

Neuberg'sche Vergärungsformen. Da die Hefen in Gegenwart von Hydrogensulfit das Acetaldehyd nicht mehr als Elektronenakzeptor für NADH verwenden können, reduzieren sie stattdessen das Dihydroxyacetonphosphat der Glykolyse zu Glycerinphosphat und scheiden letztlich **Glycerin** als Gärprodukt aus. Die Bilanz der Hefegärung verschiebt sich damit von der normalen alkoholischen Gärung („**1. Neuberg'sche Vergärungsform**“) zu einer Glyceringärung („**2. Neu-**

berg'sche Vergärungsform“). Dieser Prozess wurde sogar zur technischen Herstellung von Glycerin angewandt, bis er von billigeren petrochemischen Verfahren abgelöst wurde. Die Gesamtreaktion erfolgt nach folgender Gleichung:



Der Gärverlauf der Hefen verschiebt sich auch durch Zusatz von alkalischen Salzen zum Gäransatz (z.B. NaHCO_3 oder Na_2HPO_4). Unter diesen Bedingungen kommt es zur teilweisen **Dismutation** des Acetaldehyds zu Acetat und Ethanol. Da Acetat unter den gegebenen Bedingungen nicht mehr reduziert werden kann, muss auch hier die Gärbilanz durch Bildung von Glycerin ausgeglichen werden. Die Gärbilanz dieser „**3. Neuberg'schen Vergärungsform**“ ist:



Bei beiden alternativen Formen der Hefegärung wird nur 1 ATP pro Glucose gebildet, da in der Glykolyse das Dihydroxyacetonphosphat verlorengeht, das normalerweise über Glycerinaldehyd-3-phosphat zum 1,3-Bisphosphoglycerat oxidiert wird.

Pasteur-Effekt. Da bei der alkoholischen Gärung pro umgesetzte Glucose nur 2 ATP, bei der Atmung aber die 20- bis 30-fache Menge ATP gebildet werden (Kap. 7.4.4), ist es verständlich, dass Mikroorganismen die Aktivitäten ihrer katabolen Enzyme strikt dem Bedarf anpassen. Pasteur entdeckte, dass Hefen unter anoxischen Bedingungen Zucker wesentlich schneller umsetzen als in aeroben Kulturen, obwohl die Wachstumsraten ähnlich waren. Diese **Unterdrückung des Gärungsstoffwechsels durch Belüftung**, die darüber hinaus allgemein bei fakultativ anaeroben Mikroorganismen und sogar bei Zellen von Tieren und Pflanzen vorkommt, ist als **Pasteur-Effekt** bekannt. Wenn die Elektronentransportphosphorylierung durch Entkoppler oder Mutagenese gehemmt wird, werden auch unter aeroben Wachstumsbedingungen ähnlich hohe Zuckerumsatzraten wie bei der Gärung beobachtet.

Die Erklärung des Pasteur-Effekts auf molekularer Ebene ist einleuchtend. Das wichtigste Zielenzym der Glykolyse, die **Phosphofructokinase**, wird durch hohe ATP-Konzentrationen allosterisch gehemmt, während hohe AMP-Konzentrationen das Enzym aktivieren. Außerdem wird auch die Pyruvatkinase durch hohe ATP-Konzentrationen gehemmt. Eine hohe ATP-Regenerierungsrate über Elektronentransportphosphorylierung bewirkt durch Hemmung der Phosphofructokinase eine Reduktion des Substratflusses durch die Glykolyse, während die Akkumulation von AMP als „Hungersignal“ die Rate der Glykolyse beschleunigt.

12.3.2 Praktische Bedeutung der alkoholischen Gärung

Der Mensch benutzt **Hefen** seit Jahrtausenden in der Lebensmittelherstellung. Aus der langen praktischen Erfahrung hat sich die Selektion vieler verschiedener Hefestämme für unterschiedliche Produkte ergeben, die jeweils optimal die erwünschten Eigenschaften zur Geltung bringen. Die heute verwendeten Reinzuchthefen gehören meist zur Gattung **Saccharomyces**. Die besonderen geschmacksbildenden Eigenschaften der Hefen beruhen auf der Produktion von kleinen Mengen an Nebenprodukten, die z.B. bei der Umsetzung von Aminosäuren entstehen. Typischerweise sind im vergorenen Produkt deshalb neben Ethanol auch so genannte Fuselalkohole wie Propanol, Isobutanol, 2-Butanol, Amylalkohol oder Isoamylalkohol enthalten, die in niedriger Konzentration als Geschmacks-träger wirken.

Wein



Abb. 12.12 Weinherstellung. Fasskeller einer Winzerei (Aufnahme John Heseltine, copyright science photo library).

Früher bereitete man Wein durch spontane Vergärung des Mosts durch Wildhefen, die sich schon im Weinberg auf den Trauben ansiedeln. Heute werden in der Regel Reinzuchthefen verwendet. Der Charakter eines Weins wird in erster Linie von der **Rebensorte** bestimmt (z. B. Riesling), aber auch vom Standort des Weinbergs und den klimatischen Faktoren der Saison; er wird aber auch durch die Art der Vergärung und Lagerung nachhaltig beeinflusst (Abb. 12.12). Weißweintruben werden **vor der Gärung** gepresst, während Rotweintruben erst **nach der Vergärung** („**Maischegärung**“) gepresst werden. Dabei werden durch die Stoffwechselaktivität der Mikroorganismen und den ansteigenden Alkoholgehalt Farb-, Duft- und Gerbstoffe aus der Beerenhaut herausgelöst. Am Ende der Gärung wird **Schweflige Säure** (oder SO_2 , das mit Wasser zu Schwefliger Säure reagiert) zugegeben. Sie sorgt für reduzierende Bedingungen (Schweflige Säure wird zu Schwefelsäure oxidiert) und verhindert die Oxidation von Geschmacksstoffen, aber auch die Ansiedlung von aeroben Essigsäurebakterien. Durch den **biologischen Säureabbau** wird Rotwein geschmacklich abgerundet. Die Decarboxylierung der unreif schmeckenden Äpfelsäure (eine zweiwertige Säure) zu Milchsäure (schwächere einwertige Säure) erfolgt dabei durch **Oenococcus** Arten. Durch die CO_2 -Bildung scheint der Wein „nachzugären“.

Sekt

Sekte werden aus sorgfältig gemischten Weinen („Bukets“) hergestellt, die nach Zusatz von Zucker und besonders alkoholtoleranten Sekthefen ein zweites Mal vergoren werden, wobei die entstehende Kohlensäure in der drucksicheren Sektflasche zurückgehalten wird („**Champagner-Verfahren**“).

Bier

Als Ausgangsstoffe für Bier dienen meist **Gerste, Hopfen und Wasser**. Die verwendeten Braugersten enthalten dabei bei viel Stärke nur wenig Eiweiß. Da Hefen keine Amylasen produzieren und deshalb Stärke nicht direkt vergären, muss zunächst die Stärke des Gerstenkorns zu Zuckern umgesetzt werden. Dazu lässt man die Gerstenkörner unter kontrollierten Bedingungen **quellen und keimen**, um die Synthese gersteneigener Amylase zu induzieren. Das entstandene **Grünmalz** wird zum Stoppen der

Keimung getrocknet („gedarrt“). Dabei entstehen Farb- und Aromastoffe des späteren Biers; durch Änderung der Temperatur und Dauer der Darre wird z. B. **Malz für helle oder dunkle Biere** erhalten. Das Malz wird geschrotet, mit Wasser zur **Maische** aufgeschlämmt und bei Temperaturen von 40 - 60°C gerührt, bis die Amylase der Gerste die **Stärke zu Maltose umgesetzt** hat. Nach dem Abfiltern (**Läutern**) der unlöslichen Bestandteile, des **Treibers**, erhält man die zuckerhaltige **Würze**. Diese wird dann zusammen mit dem **Hopfen** gekocht, um die Bitterstoffe des Hopfens zu extrahieren und die Amylase zu inaktivieren. Nachdem die Würze wieder abgekühlt wurde, wird sie mit **zugesetzter Hefe** vergoren und zur weiteren Reifung einige Wochen bei tiefen Temperaturen gelagert. Man unterscheidet je nach Biertyp zwischen **untergärigen** (z. B. Lager, Pilsener Biere) und **obergärigen Hefen** (z. B. Weißbier, Ale, Porter), deren Zellen sich am Ende der Gärung am Boden absetzen bzw. sich zusammen lagern und mit den Kohlensäurebläschen nach oben steigen. Nach der Reifung und Lagerung wird die Hefe abfiltriert, und das Bier kann abgefüllt werden (Abb. 12.13).

Backhefe

Brot und Hefeteig werden unter Zusatz von **Backhefe** (*Saccharomyces cerevisiae*) hergestellt. Die Hefen vergären dabei Maltose, die durch α -Amylase aus der Stärke des Teigs freigesetzt wird, oder zum Teig zugesetzten Zucker. Das freigesetzte CO_2 lockert dabei den Teig auf (**Aufgehen** des Hefeteigs); als Nebenprodukt entsteht immer auch Ethanol. Die Backhefe wird industriell im großen Maßstab in aeroben Kulturen hergestellt. Damit werden große Zellmengen erhalten, in denen die Enzyme des Gärungsstoffwechsels noch immer in ausreichender Menge vorhanden sind. Als Substrat dient meist Melasse, die kontinuierlich in wachstums-limitierender Menge zugefüttert wird. Damit wird sichergestellt, dass der gesamte Zucker in Biomasse umgesetzt wird und keine Gärprodukte akkumulieren. Ammoniak dient gleichzeitig als Stickstoffquelle und zur pH-Regulation.

Ethanol

Ausgangssubstrate der **technischen Ethanolherstellung** sind Melasse, Kartoffel- oder Maisstärke, Sulfita blaugen der Papierfabriken oder hydrolysierte Holzabfälle. Polymere Kohlenhydrate müssen vor der Gärung zunächst chemisch oder enzymatisch in vergärbare Zucker gespalten werden. Ziel ist es hier, durch geeignete Verfahrensführung möglichst hohe Ausbeuten bei wenig Nebenprodukten (insbesondere Fuselalkohole und Methanol) zu erhalten. Der Alkohol wird aus dem Gäransatz durch Destillation gewonnen, die danach zurückbleibende Schlempe wird als Viehfutter verwendet.



Abb. 12.13 Traditioneller Kupferbraukessel zum Bierbrauen mit diversen Sorten ober- und untergäriger Biere (copyright Digitalstock).

12.4 Gemischte Säuregärung

Die gemischte Säuregärung ist typisch für die Familie der **Enterobacteriaceae**, darunter auch viele Krankheitserreger (Plus 12.10). Ein charakteristisches Gärprodukt ist **Ameisensäure (Formiat)**, hauptsächlich werden aber andere **Säuren** (Essigsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure), **Alkohole** (Ethanol, Butandiol) und Gase (H_2 , CO_2) gebildet. Die *Enterobacteriaceae* sind fakultativ anaerobe, meist peritrich begeißelte, gramnegative Stäb-

Plus 12.10 Pathogene Arten der *Enterobacteriaceae* mit gemischter Säuregärung

Escherichia coli ist ein typischer Bewohner des Dickdarms von Säugern. Obwohl mengenmäßig im Darm andere Bakterien vorherrschen, ist *E. coli* wegen seiner leichten Nachweisbarkeit und seiner Überlebensfähigkeit außerhalb des Darms der wichtigste **Nachweiskeim** zur Kontrolle von Trinkwasser oder Badeseen auf **fäkale Verunreinigungen**. Als **coliforme** Enterobakterien werden neben *E. coli* einige Boden- oder Wasserbakterien zusammengefasst, die **Lactose zu Säuren** vergären. Zu dieser Gruppe gehören z.B. der harmlose *Enterobacter aerogenes*, der sehr ähnliche Stoffwechseleigenschaften wie *E. coli* aufweist, oder die opportunistisch pathogene *Klebsiella pneumoniae* (Lungenentzündung). Die Gattungen *Shigella* und *Salmonella* stehen phylogenetisch nahe bei *E. coli*, werden aber wegen fehlender Lactoseverwertung nicht zu den Coliformen gerechnet. Sie enthalten wichtige pathogene Arten, wie den Erreger der **Bakterien-Ruhr**,

Shigella dysenteriae, den **Typhus**-Erreger *Salmonella typhi*, oder *S. enteritidis*, einen weit verbreiteten Erreger von fieberigen **Lebensmittelvergiftungen**. *Serratia marcescens* ist nahe verwandt zu *Enterobacter* und zeichnet sich durch die Bildung von Prodigiosin aus, einem zellgebundenen roten Farbstoff. Das Bakterium ist weitverbreitet, wächst gut auf stärkehaltigen Nährböden und wird als Verursacher der „Blut-hostien“-Wunder des Mittelalters auch als Hostienpilz bezeichnet. Die Gattung *Erwinia* fasst einige bedeutende **pflanzenpathogene Arten** zusammen, die z.B. den Feuerbrand der Obstbäume oder Weichfäule von Wurzelgemüse auslösen. Ebenfalls zu den *Enterobacteriaceae* gehört *Yersinia pestis*, der Erreger der **Pest**. *Vibrio cholerae*, der Erreger der **Cholera**, ist der wichtigste Vertreter der nahe verwandten Familie **Vibrionaceae**, deren Vertreter einen ähnlichen Gärungsstoffwechsel wie die *Enterobacteriaceae* aufweisen.

chen. Sie enthalten Katalase und Cytochrome, allerdings keine Cytochrom-c-Oxidase in ihrer Atmungskette. Die Tests auf negative Cytochrom-c-Oxidase (**Oxidase-Test**) und auf **Vergärung von Glucose zu Säuren** dienen auch als wichtige diagnostische Merkmale zur **klinischen Differenzierung** der *Enterobacteriaceae* von anderen gramnegativen Bakterien. Unterschiede des Gärungsstoffwechsels der einzelnen Gattungen und Arten werden in der Praxis auch für die weitere Identifizierung ausgenutzt, wie in Plus 12.10 beschrieben.

12.4.1 Biochemie der gemischten Säuregärung

Bei der Gärung der fakultativ anaeroben *Enterobacteriaceae*, einiger verwandter Familien der gamma-Proteobakterien und der fakultativ anaeroben *Bacillus*-Arten wird ein Gemisch von **vielen verschiedenen Gärprodukten** gebildet, viele davon organische Säuren. Typischerweise findet man Ameisensäure, Essigsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Ethanol, Glycerin, Kohlendioxid und Wasserstoff in variablen Mengenverhältnissen (Abb. 12.14). Hexosen werden überwiegend über die Glykolyse, zum kleinen Teil aber auch über den Pentosephosphatweg abgebaut, während Gluconsäure die Synthese der Enzyme des KDPG-Wegs induziert und darüber umgesetzt wird.

Das Schlüsselenzym der gemischten Säuregärung ist die **Pyruvat-Formiat-Lyase**, welches die Spaltung von Pyruvat zu **Acetyl-CoA** und **Formiat** katalysiert (Plus 12.11). Das Enzym ersetzt die Pyruvatdehydrogenase unter Gärungsbedingungen, aber auch unter anaeroben Atmungsbedingungen. Anders als bei der Pyruvatoxidation durch Pyruvatdehydrogenase wird dabei kein NADH erzeugt, das im Gärungsstoffwechsel durch Reduktion eines energiereichen Zwischenprodukts wieder oxidiert werden müsste. Deshalb kann bei der gemischten Säuregärung **mehr ATP pro Glucose** gebildet werden als bei einfacheren Gärungsformen. Das entstandene Formiat wird zunächst als Ameisensäure ins Medium ausgeschieden. Solange noch eine anaerobe Atmung betrieben werden kann, wird es als Elektronendonator bei der Elektronentransportphosphorylierung genutzt. Die Formiatoxidation wird dabei durch eine respiratorische Formiatdehydrogenase katalysiert, welche die Reduktionsäquivalente in den Chinonpool der Membran einspeist. Erst wenn alle möglichen

Plus 12.11 Pyruvat-Formiat-Lyase katalysiert eine radikalische Reaktion

Dieses Enzym enthält in seiner aktiven Form ein **Glycylradikal** im aktiven Zentrum. Das Glycyl-Radikal wird unter anoxischen Bedingungen durch ein aktivierendes Enzym gebildet, das für diese Reaktion reduziertes Flavodoxin und S-Adenosylmethionin benötigt. Da die aktivierte Pyruvat-Formiat-Lyase durch Sauerstoff irreversibel inaktiviert wird, enthalten anaerob wachsende Zellen auch ein deaktivierendes Enzym, das beim Zutritt von Sauerstoff der Radikalform des Enzyms ein Elektron entzieht und es wieder in die inaktive Enzymform umsetzt.

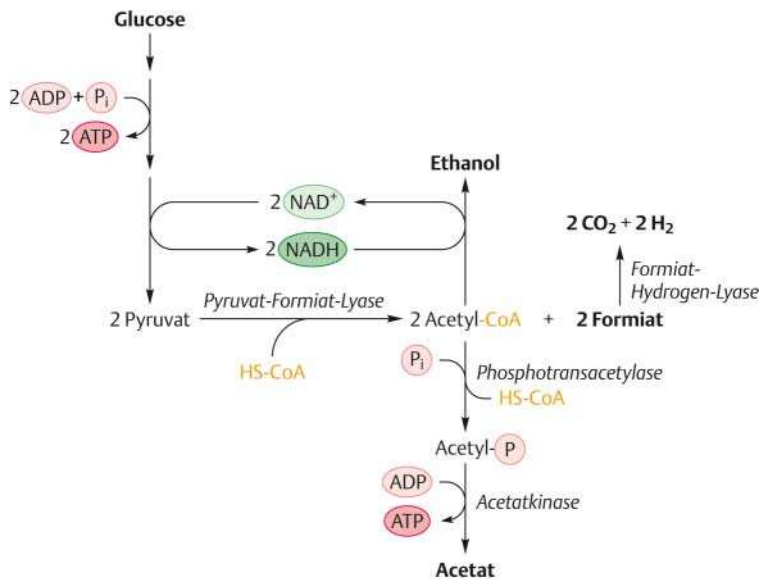


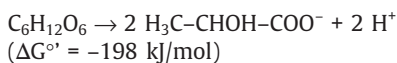
Abb. 12.14 Gemischte Säuregärung (z.B. *Escherichia coli*). Der Schritt vom Acetyl-CoA zum Ethanol wird von einer bifunktionellen Acetyl-CoA-Reduktase/Alkoholdehydrogenase katalysiert. Nicht berücksichtigt sind die Nebenwege der Pyruvat-Reduktion zu Lactat (siehe Milchsäuregärung) und der Bildung von Glycerin oder Succinat als weiteren Gärprodukten. Pro gebildetem Lactat oder Glycerin wird dabei nur ein NADH reoxidiert, während bei Bildung von Succinat zwei NADH reoxidiert werden (siehe Text). Energieausbeute: ca. 3 ATP/Glucose.

Elektronenakzeptoren verbraucht sind und der pH-Wert des Mediums durch die ausgeschiedene Ameisensäure absinkt, wird die Synthese der **Formiat-Hydrogen-Lyase** induziert. Dieses komplexe Enzym enthält ein Formiatdehydrogenase-Modul und ein Hydrogenase-Modul und katalysiert die Spaltung von Formiat zu **Wasserstoff** und **Kohlendioxid**, die beide als **gasförmige Gärprodukte** abgegeben werden. Diese Reaktion wirkt der fortschreitenden Ansäuerung des Mediums entgegen und erlaubt weiteres Wachstum der Zellen, bis der pH-Wert durch die Bildung anderer Säuren weiter absinkt.

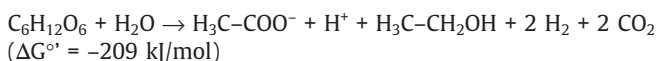
Gemischte Säuregärung

Da es bei der gemischten Säuregärung viele alternative Möglichkeiten gibt, die Redoxbilanz auszugleichen, ist die konkrete **Zusammensetzung der Gärprodukte** stark von der gegebenen Bakterienart und den Umweltbedingungen abhängig. Die wesentlichen reduktiven Teilreaktionen der gemischten Säuregärung sind folgende, ihr relativer Anteil an der Gesamtgärbilanz variiert (Plus 12.12):

Lactat wird wie bei der Milchsäuregärung durch Reduktion von Pyruvat durch Lactatdehydrogenase gebildet.



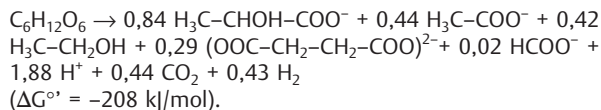
Der Weg der **Ethanol**-Bildung unterscheidet sich von dem der Hefen: Acetyl-CoA aus der Pyruvat-Formiat-Lyase-Reaktion wird durch eine **bifunktionelle Aldehyd- und Alkoholdehydrogenase** in zwei Schritten über Acetaldehyd zu Ethanol reduziert.



Die Bildung von **Succinat** geht vom Glykolysezwischenprodukt Phosphoenolpyruvat (PEP) aus. Dieses wird zunächst durch die PEP-Carboxylase zu Oxalacetat carboxyliert, das durch den reduktiven Ast des Citratzyklus

Plus 12.12 Tatsächliche Gärbilanz der gemischten Säuregärung

Eine typische reale **Gärbilanz** einer *Escherichia coli*- und einer *Enterobacter aerogenes*-Gärung ist in der Tabelle gezeigt. Die Vergärung von Glucose liefert beim Beispiel *E. coli* folgende Umsatzgleichung und Energieausbeute:



Bilanzen der produzierten Gärprodukte pro mol vergorener Glucose bei *Escherichia coli* und *Enterobacter aerogenes* (aus K. V. Thimann; The life of bacteria, Macmillan, New York 1955). Die geringen Abweichungen vom erwarteten Wert (6 mol Kohlenstoff aus 1 mol Glucose) sind durch Mess- und Rundungsfehler zu erklären.

Gärprodukte		<i>E. coli</i>		<i>E. aerogenes</i>	
			mol Kohlenstoff		mol Kohlenstoff
Essigsäure	$\text{H}_3\text{C}-\text{COOH}$	0,44 mol	0,88	0,01 mol	0,02
Milchsäure	$\text{H}_3\text{C}-\text{CO}-\text{COOH}$	0,84 mol	2,52	0,03 mol	0,09
Ameisensäure	HCOOH	0,02 mol	0,02	0,18 mol	0,18
Bernsteinsäure	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$	0,29 mol	1,16	0 mol	–
Kohlendioxid	CO_2	0,44 mol	0,44	1,72 mol	1,72
Wasserstoff	H_2	0,43 mol	–	0,36 mol	–
Ethanol	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2\text{OH}$	0,42 mol	0,84	0,70 mol	1,40
2,3-Butandiol	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CHOH})_2-\text{CH}_3$	0 mol	–	0,66 mol	2,64
Summe der Kohlenstoffe			5,86 mol		6,05 mol

über Malat zu Fumarat umgewandelt wird. Dieses wird schließlich wie bei der Fumaratatmung durch die membranständige **Fumaratreduktase** zu Succinat reduziert.



Bei der Fumarat-Reduktion wird über Elektronentransport-Phosphorylierung etwa ein ATP gebildet (Kap. 13.3). Im Unterschied zur Fumarat-atmung wird aber keine zusätzliche Energie konserviert, denn das Fumarat stammt von Phosphoenolpyruvat, aus dem ansonsten ATP gebildet wird. Pro gebildetem Succinat werden jedoch wie bei der Ethanol-Bildung beide NADH reoxidiert, die während der Glykolyse aus Glucose entstehen. Je gebildetem Ethanol bzw. Succinat kann deshalb ein Acetyl-CoA über Acetylphosphat zu **Acetat** als weiterem Gärprodukt umgesetzt werden. Diese Reaktionen werden katalysiert durch **Phosphotransacetylase** und **Acetatkinase**. Pro vergorener Glucose kann auf diese Weise maximal ein zusätzliches ATP gebildet werden.

Butandiolgärung bei *Enterobacter*

Organische Säuren als Gärprodukte treten bei einigen *Enterobacteriaceae* gegenüber der Bildung von **Acetoin** und **2,3-Butandiol** in den Hintergrund (s. auch Plus 12.13). Die Bildung von Acetoin durch Arten von *Enterobacter*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Bacillus* und einigen weiteren Gattungen geht von **zwei Molekülen Pyruvat** aus und verläuft über **2-Acetolactat**. Zunächst bindet ein Pyruvat an den Thiamindiphosphat Cofaktor der 2-Acetolactat Synthase, wo es zu einem kovalent gebundenen „aktivierten

Plus 12.13 Gärtypen und ihr Nachweis

Typische Unterscheidungsmerkmale zur Diagnose einiger Gattungen der Enterobacteriaceae. Alle Arten vergären Glucose (Positivkontrolle). Merkmale mit „+“ oder „-“ sind bei den meisten Arten und Stämmen einer Gattung zu finden, solche mit (+) sind variabel.

Gattung	Lactose- vergärung	Motilität/ Flagellen	H ₂ -Bildung	Indol-Bildung	Methylrot-Test	Acetoin-Bildung	Citrat- verwertung	Proteolyse	Harnstoff- verwertung
<i>Escherichia</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Shigella</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Salmonella</i>	-	+	+	-	+	-	+	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	-	+	-	-	+	(+)	-	+
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	-	-	+	+	(+)	(+)
<i>Serratia</i>	-	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>Erwinia</i>	+	+	-	-	-	(+)	+	(+)	-
<i>Proteus</i>	-	+	+	(+)	+	-	+	+	+
<i>Yersinia</i>	-	-	-	(+)	+	-	-	-	(+)

Bezüglich der Gärprodukte können **zwei Gärungstypen** unterschieden werden:

1. der *Escherichia*-Typ, bei dem **große Mengen an Säuren**, jedoch kein 2,3-Butandiol produziert werden;
2. der *Enterobacter*-Typ, bei dem **2,3-Butandiol** über Acetoin gebildet wird (Abb. 12.15), dafür aber weniger Säuren produziert werden.

Diese Unterschiede werden zur Differenzierung der Gattungen ausgenutzt. Die **Methylrot-Probe** zeigt die starke Säureproduktion durch Arten des *Escherichia*-Typs an, während der pH-Indikator bei Arten des *Enterobacter*-Typs noch nicht umschlägt. Komplementär dazu wird durch den **Voges-Proskauer-Test** die Bildung von Acetoin als Zwischenprodukt der Butandiolbildung durch Arten des *Enterobacter*-Typs nachgewiesen (Tab.).

Acetaldehyd“ (Hydroxyethyl-Thiamindiphosphat) decarboxyliert wird. Dieser reagiert mit einem weiteren Pyruvat zu 2-Acetylactat. Ein zweites Enzym, 2-Acetylactat-Decarboxylase, spaltet dann ein weiteres Kohlendioxid ab und setzt **Acetoin** als Produkt frei. **2,3-Butandiol** entsteht durch Reduktion des Acetoin durch Butandiol-Dehydrogenase (Abb. 12.15). Da bei der Butandiolgärung nur ein NADH pro vergärrter Glucose reoxidiert wird, muss die Redoxbilanz durch Bildung von Ethanol ausgeglichen werden. In der Gärbilanz finden sich deswegen wesentlich **weniger saure Gärprodukte** als bei der *E.-coli*-Gärung. Wegen der zwei Decarboxylierungs-Reaktionen bei der Acetoinbildung ist die Butandiol-Gärung mit starker Produktion von **Kohlendioxidgas** verbunden, der *Enterobacter aerogenes* seinen Artnamen verdankt (aerogenes, lat. luftbildend). Eine typische **Gärbilanz** einer *Enterobacter-aerogenes*-Gärung ist in der Tabelle in Plus 12.12 gezeigt.

Die Bildung von Acetoin ist auch ein wichtiger Prozess in der Lebensmitteltechnologie, da durch Oxidation daraus **Diacetyl** gebildet wird, die Hauptaromakomponente der Butter. Die Acetoin- und Diacetylbildung in Milchprodukten läuft dabei als **Nebenweg der Gärung bei einigen Milchsäurebakterien** ab.

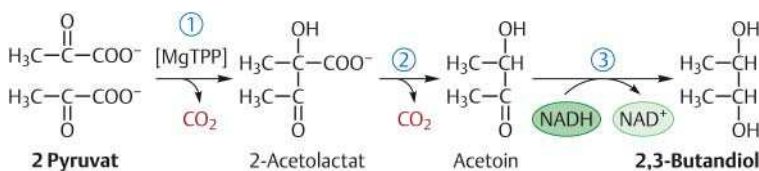


Abb. 12.15 Butandiolbildung als weitere Modifikation der gemischten Säuregärung (z. B. bei *Enterobacter*). Enzyme: ① Acetylactat-Synthase; ② Acetylactat-Decarboxylase; ③ Butandiol-Dehydrogenase.

12.4.2 Bedeutung der gemischten Säuregärung für Trinkwasser- und Labordiagnostik

Die unterschiedlichen Gärungseigenschaften der verschiedenen Bakterienarten werden in der Praxis zur schnellen **Identifizierung von potenziell pathogenen Arten** der *Enterobacteriaceae* und verwandter Familien eingesetzt (Plus 12.14). So ist *E. coli* normalerweise ein harmloser Bewohner des menschlichen Darms, obwohl es auch einige **entero- und uropathogene Stämme** (z. B. EHEC-Stämme für „enterohämorrhagische *E. coli*“) gibt, die teilweise ernsthafte durchfallartige Erkrankungen hervorrufen. Daneben können im Darm aber eine Reihe von gefährlichen Seuchenerregern vorkommen, die von kranken, aber auch von augenscheinlich gesunden Personen ausgeschieden werden (**Dauerausscheider** nach überstandener Infektion) und meist nur mit speziellen Verfahren nachzuweisen sind. Für routinemäßige Kontrollen der Wasserqualität verwendet man deshalb *E. coli* als leicht nachzuweisenden Indikatorkeim für fäkale Verschmutzung. So darf in Deutschland pro 100 ml Trinkwasser keine Zelle von *E. coli* nachweisbar sein und der Gehalt an sonstigen Keimen muss unter 100 Zellen/ml liegen.

Plus 12.14 Differenzialdiagnostik von „coliformen Bakterien“

Die **Differenzierung** von *E. coli* und „coliformen“ Keimen von anderen Umweltisolaten beruht vor allem auf der Fähigkeit zur **Lactosevergärung**. Die Verwertung der Lactose beginnt mit der Spaltung des Disaccharids durch die β -Galactosidase, die vielen normalen Boden- und Wasserbakterien fehlt. Lactosevergärung wird z. B. nachgewiesen durch Bebrüten einer Probe in einer **Lactose-Pepton-Nährlösung** mit Gäröhrchen zum Auffangen von gebildetem Gas. In der Regel wird auch ein pH-Indikator zum Medium zugesetzt, sodass die Produktion von sauren Gärprodukten sichtbar wird. Beimpft man solche Röhrchen mit *Escherichia coli* oder dem lactosevergärenden Umweltkeim *Enterobacter aerogenes*, so ist zunächst bei beiden Gasbildung zu erkennen. Allerdings bildet *E. coli* Wasserstoff und Kohlendioxid in etwa gleichen Mengen, während *E. aerogenes* bei wesentlich größerer Gasentwicklung fast nur Kohlendioxid bildet. Weitere einfache Verfahren zur Differenzierung von Coliformen von anderen lactosevergärenden Umweltkeimen sind Ausstriche von Kulturen auf speziellen **Nachweis-Agarmedien**, z. B. **Eosin-Methylenblau-Agar** (Lactose-Pepton-Eosin-Methylenblau) oder **Endo-Agar**

(Lactose-Pepton-Fuchsin-Sulfit). Wegen der starken Produktion von Säuren bzw. Acetaldehyd zeigen Kolonien von *E. coli* auf beiden Nachweismedien dunkelrote Färbung mit metallischem Glanz auf ihrer Oberfläche, der durch Lichtreflexion an ausgefallenen Farbstoffmolekülen hervorgerufen wird (Aldehyde entziehen dem Sulfit-Addukt des Fuchsin das Sulfit, der Farbstoff fällt aus); *Enterobacter*-Arten bilden dagegen jeweils hellrote Kolonien ohne metallischen Glanz. Eine weitergehende Differenzierung der *Enterobacteriaceae* wird durch die Analyse von physiologischen Parametern und vergärbaren Zuckern („bunte Reihe“) erreicht (Abb.); verschiedene Testkombinationen für routinemäßige Analysen werden von mehreren Firmen angeboten. Einige wichtige Tests aus diesen Reihen sind bekannt unter dem Kürzel **„IMViC“**, nämlich die Bildung von **Indol** aus Tryptophan, die Produktion von großen Mengen Säure aus Glucose, die mit dem Indikator **Methylrot** nachgewiesen wird, die Bildung von Acetoin aus Glucose (**Voges-Proskauer-Test**), und die Verwertung von **Citrat** als C-Quelle.

Bunte Reihe zur Identifizierung von *Enterobacteriaceae*. Säurebildung aus den jeweils vorgelegten Substraten wird durch Umschlagen eines pH-Indikators nachgewiesen (Aufnahme Felicitas Pfeifer, Darmstadt).



12.5 Buttersäure- und Lösungsmittelgärung

Die Buttersäuregärung ist der typische Gärungstyp der **grampositiven anaeroben Endosporenbildner**. Diese Bakterien wurden bis vor kurzem unter dem Gattungsnamen **Clostridium** zusammengefasst, wobei in den letzten Jahren eine Vielzahl neuer Gattungen geschaffen wurde, um die phylogenetische Heterogenität wiederzugeben. Die Clostriden umfassen sowohl kohlehydrat- (**saccharolytische**) als auch aminosäurevergärende (**peptolytische**) Buttersäuregärer. Sie werden neben anderen bekannten Gattungen (z. B. *Bacillus*, *Desulfotomaculum*, *Lactobacillus*) in das Phylum *Firmicutes* eingeordnet, das die grampositiven Bakterien mit niedrigen GC-Gehalt der genomischen DNA umfasst. Die Zellen sind stäbchenförmig und peritrich begeißelt. Neben den sporenbildenden Arten von *Clostridium* gibt es auch **asporogene Verwandte** mit sehr ähnlichen Gärungswegen, z. B. die Gattungen *Eubacterium*, *Sarcina*, *Ruminococcus*, *Peptococcus*, *Acidaminococcus* oder *Sporomusa*; die letzten beiden Gattungen gehören zu einer Gruppe von Bakterien mit einem typischen gramnegativen Zellwandaufbau, die aufgrund des 16S-rRNA-Stammbaums dennoch zu den Grampositiven gezählt werden.

12.5.1 Buttersäuregärende Clostridien

Die Bakterien wachsen als obligate Gärer nur unter anoxischen Bedingungen. Sie sind in der Regel **strikt anaerob**, können häufig auf reinem Mineralsalzmedium wachsen, und *Clostridium pasteurianum* kann sogar Stickstoff fixieren. Einige Arten ertragen kurzen Aufenthalt an Luft, werden aber noch nicht als aerotolerant eingestuft (z. B. *C. acetobutylicum*). Wie die Milchsäurebakterien synthetisieren die Clostridien keine Hämoproteine (Cytochrome, Katalase), enthalten aber anders als diese viele **Nicht-Häm-Metalloproteine**. Die meisten Arten der Gattung *Clostridium* sind mesophil (optimales Wachstum bei 30°C bis 40°C), es gibt aber auch einige thermophile Arten und verwandte Gattungen, die bei Temperaturen bis zu 75°C optimal wachsen (z. B. *C. ljungdahlii*, *Moorella*, *Thermoanaerobacter*). Buttersäuregärer sind **neutrophil bis alkaliphil** und wachsen nicht in saurem Milieu. Ihr unerwünschtes Wachstum als Lebensmittelverderber und Fäulniskeime kann deshalb durch Ansäuerung über Milchsäuregärung unterdrückt werden. Man unterscheidet zwischen Arten, die **Kohlenhydrate** (Stärke, Cellulose, Pectine, Zucker), **Aminosäuren** und Peptide oder auch **Nukleinsäurebasen** vergären. Zur Anreicherung von Clostridien macht man sich die Eigenschaften dieser Bakterien zunutze. So kann man wegen der **Thermoresistenz der Sporen** das Impfgut pasteurisieren. Das Medium sollte **anaerob** gemacht werden und gut **gepuffert** sein, um die Entwicklung von aeroben bzw. von säuretoleranten Bakterien zu unterdrücken.

12.5.2 Biochemische Grundlagen der Buttersäuregärung

Bei der Gärung der saccharolytischen Buttersäuregärer werden **Säuren** (Buttersäure, Essigsäure, Milchsäure), **Alkohole** (Butanol, Ethanol, Isopropanol), **Aceton** und **gasförmige Gärprodukte** (Wasserstoff und Kohlendioxid) in wechselnden Konzentrationen gebildet. Der Abbau der Zucker erfolgt bis zum Pyruvat über die **Glykolyse**. Die Schlüsselreaktion der Buttersäuregärung ist die daran anschließende Pyruvatoxidation zu Acetyl-CoA und CO₂ durch **Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase** (Kap. 7.2.4). Anders als bei der Pyruvatdehydrogenase werden die freigesetzten

Elektronen hier nicht von NAD^+ , sondern von **Ferredoxinen** aufgenommen. Diese elektronenübertragenden Eisen-Schwefel-Proteine haben ein wesentlich tieferes Redoxpotenzial ($E^\circ < -400 \text{ mV}$) als NADH ($E^\circ = -320 \text{ mV}$) und können deshalb – im Gegensatz zu NADH – als Elektronendonatoren für eine **Hydrogenase** dienen; sie werden unter Entwicklung von Wasserstoff reoxidiert. Wie bei der gemischten Säuregärung erlaubt dies die Konservierung von zusätzlicher Energie aus energiereichen Gärungszwischenprodukten (z. B. Acetyl-CoA, Butyryl-CoA).

Die Bildung von **Buttersäure aus zwei Molekülen Acetyl-CoA** ist bei Clostridien der hauptsächliche Weg der Reoxidation des NADH aus der Glykolyse. Die Kondensation der zwei Acetyl-CoA zu Acetoacetyl-CoA und die folgenden Reduktionsschritte zum Butyryl-CoA verlaufen dabei **analog zur β -Oxidation** der Fettsäuren (Kap. 10.6.5), allerdings in umgekehrter Richtung. Wegen der Ähnlichkeit der beteiligten Enzyme zu ihren Gegenstücken bei der β -Oxidation wurde die Biochemie des Fettsäureabbaus zunächst sogar am Modell der Buttersäuregärung aufgeklärt.

Die Synthese von Butyryl-CoA beginnt mit der Bildung von Acetoacetyl-CoA durch eine Thiolase (Abb. 12.16). Das Acetoacetyl-CoA wird NADH -abhängig durch die 3-Hydroxybutyryl-CoA-Dehydrogenase zum **(S)-3-Hydroxybutyryl-CoA** reduziert. Eine Wasserabspaltung durch Crotonase führt zu **Crotonyl-CoA**, eine weitere NADH -abhängige Reduktion durch Butyryl-CoA-Dehydrogenase zum **Butyryl-CoA**. Der CoA-Thioester des Butyryl-CoA wird dann durch eine CoA-Transferase auf Acetat übertragen, und **Butyrat** wird als Gärprodukt ausgeschieden. Das entstandene

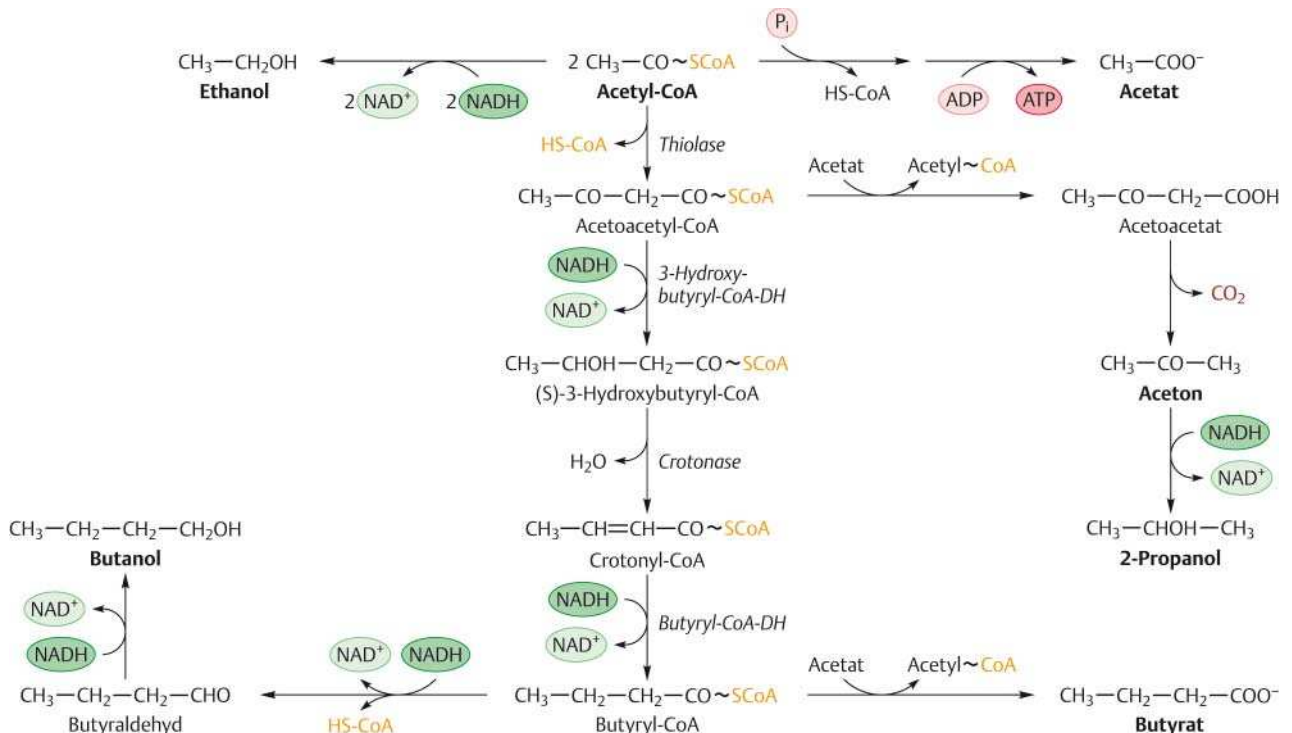
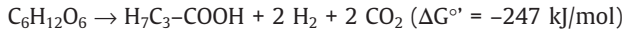


Abb. 12.16 Reduktive Teilschritte der Buttersäure- bzw. Lösungsmittelgärung. Glucose wird über die Glykolyse zu Pyruvat abgebaut, dieses wird über eine Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase zu Acetyl-CoA und CO_2 oxidiert. Da die reduzierten Ferredoxine durch Wasserstoffbildung reoxidiert werden, müssen pro Glucose nur die zwei NADH aus der Glykolyse durch die gezeigten Reaktionen regeneriert werden.

Acetyl-CoA wird über Phosphotransacetylase und Acetatkinase zur ATP-Bildung genutzt. Für diese Reaktionen sind nur katalytische Mengen von Acetat bzw. Acetyl-CoA nötig.

Geringe Mengen von Essigsäure, Milchsäure und Ethanol werden als Nebenprodukte gebildet, wie bei der gemischten Säuregärung besprochen. Eine reine Buttersäuregärung von Glucose zu Buttersäure, CO₂ und H₂ liefert gemäß der Summenformel



eine ausgeglichene Gärbilanz und erlaubt die Konservierung von 3 ATP pro Glucose.

12.5.3 Lösungsmittelgärung (Butanolgärung)

Einige Clostridien, darunter *C. acetobutylicum*, schalten von einer reinen Buttersäuregärung auf die Produktion der neutralen Gärprodukte **n-Butanol, Isopropanol und Aceton** um, wenn der pH des Mediums durch die ausgeschiedene Säure zu sehr abfällt. Die Bildung von **n-Butanol** geht dabei von der angehäuften Buttersäure aus, die zunächst wieder durch eine CoA-Transferase zum Butyryl-CoA aktiviert wird; dieses wird dann mit zwei NADH über die Aldehydstufe zum Alkohol reduziert (Abb. 12.16). **Aceton** entsteht durch Decarboxylierung von Acetoacetat, das über eine CoA-Transferase aus Acetoacetyl-CoA freigesetzt wird, **Isopropanol** wird von einigen Stämmen dann durch eine NADH-abhängige Reduktion des Acetons gebildet und ebenfalls als Gärprodukt ausgeschieden. Durch die Decarboxylierung von Acetoacetat zum Aceton geht allerdings ein Wasserstoffakzeptor verloren, der sonst bei der Reduktion zu Butyrat 2 NAD⁺ regeneriert. Die Gärbilanz muss deshalb ausgeglichen werden, indem pro gebildetem Aceton ein Butyryl-CoA weiter zu Butanol reduziert wird und nicht mehr für die Energiekonservierung genutzt werden kann. Die Lösungsmittelgärung hatte von ca. 1930 bis 1960 große Bedeutung für die Herstellung von Aceton und Butanol und diente als erstes Modell für die großtechnische Umsetzung steriler Kulturtechnik.

12.6 Propionsäuregärung

Gärungstypen, bei denen **Propionsäure** (Propionat) als Hauptprodukt gebildet wird, findet man bei den Propionibakterien, einigen Clostridienverwandten und einigen weiteren anaeroben Bakterien. Substrate der Propionsäuregärung sind diverse Zucker, einige Aminosäuren oder auch Gärprodukte anderer Bakterien wie Lactat, Succinat oder Glycerin.

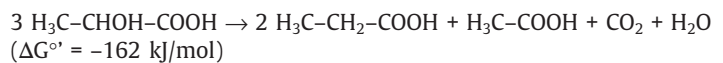
Propionibacterium

Die Gattung *Propionibacterium* gehört zum Phylum *Actinobacteria*, den grampositiven Bakterien mit hohem GC-Gehalt der chromosomalen DNA. Es sind unbewegliche Stäbchen, die keine Sporen bilden und bei schlechten Wachstumsbedingungen oft unregelmäßige Zellformen bilden. Sie wachsen nur unter Sauerstoffausschluss, ertragen aber Luft. Propionibakterien kommen im Pansen und Darm von **Wiederkäuern** vor, wo sie eine wichtige Rolle bei der mikrobiellen Umsetzung von Cellulose zu Acetat und Propionat spielen; diese kurzkettigen Fettsäuren dienen den Tieren als hauptsächliche C- und Energiequellen. Propionibakterien kommen nicht im Boden oder Wasser vor und gelangen auch nur selten in die

Milch von Wiederkäuern. In der Käserei wird die Milch deshalb vornehmlich über das **Labferment** beimpft, einem wässrigen Extrakt aus Kälbermägen, der zahlreiche lebensfähige Propionibakterien enthält. Einige Propionibakterienarten sind allerdings auch Teil der normalen **Hautflora des Menschen**. Eine dieser Arten, *P. acnes*, ist an der Ausbildung von **Akne** beteiligt, einer Entzündung der Haarfollikel der Haut. Propionibakterien werden unter anoxischen Bedingungen in Nährlösungen mit Lactat und Hefeextrakt angereichert, die z. B. mit Schweizer Käse oder natürlichem Labferment beimpft werden.

12.6.1 Biochemische Grundlagen der Propionsäuregärung

Propionsäure wird je nach Bakterienart auf zwei unterschiedlichen Wegen hauptsächlich aus Lactat gebildet, dem **Methylmalonyl-CoA-** oder dem **Acryloyl-CoA-Weg**. Ein Teil des Lactats wird dabei zu Acetat und Kohlendioxid oxidiert, zwei Teile werden zu Propionat reduziert (**Disproportionierung**). Die Gärung folgt der Umsatzgleichung:



Methylmalonyl-CoA-Weg

Die Oxidation von Lactat zu Pyruvat erfolgt zunächst durch die **Lactatdehydrogenase**; Pyruvat wird dann zu CO_2 und Acetyl-CoA weiter oxidiert. Insgesamt werden vier Reduktionsäquivalente freigesetzt. Die energiereiche Thioesterbindung des Acetyl-CoA wird durch **Phosphotransacetylase** und **Acetatkinase** zur ATP-Bildung genutzt. Die Reduktion von zwei Lactat zu zwei Propionsäuren dient zur Re-Oxidation der anfallenden Reduktionsäquivalente aus der Oxidation von Lactat.

Der **Methylmalonyl-CoA-Weg** (Abb. 12.17) wird von den Arten der Gattung *Propionibacterium* zur Reduktion von Lactat zu Propionsäure benutzt. Dabei werden zwei Lactat zunächst zu Pyruvat oxidiert, unter Freisetzung von vier weiteren Reduktionäquivalenten. Pyruvat wird dann durch eine **Biotin** enthaltende **Transcarboxylase** zu Oxalacetat carboxyliert; das charakteristische Zwischenprodukt dieses Stoffwechselwegs, **Methylmalonyl-CoA**, dient dabei als Carboxyldonor. Oxalacetat wird durch Enzyme des **reduktiven Citratzyklus** über Malat und Fumarat zu **Succinat** reduziert; die Fumaratreduktion ist mit einer Elektronentransportphosphorylierung verknüpft. Das Succinat wird über eine **CoA-Transferase** mit Propionyl-CoA als Donor zu Succinyl-CoA aktiviert. Succinyl-CoA wird dann durch **Methylmalonyl-CoA-Mutase** in einer **Coenzym-B12** (Adenosylcobalamin)-abhängigen Reaktion zu Methylmalonyl-CoA umgelagert, dessen freie Carboxy-Gruppe durch die bereits erwähnte Transcarboxylase auf Pyruvat übertragen wird. Das decarboxylierte Produkt **Propionyl-CoA** dient als CoA-Donor für die ebenfalls erwähnte CoA-Transferase und wird als Propionat freigesetzt. Dieser Prozess muss zweimal beschritten werden, um insgesamt acht Reduktionsäquivalente zu entsorgen. Die beiden Transferasen, die jeweils eine funktionelle Gruppe (Carboxygruppe bzw. CoA-Thioestergruppe) von einem späten auf ein frühes Zwischenprodukt übertragen, verwenden elegant die jeweilige Bindungsenergie für die Knüpfung einer neuen Bindung, die sonst nur unter ATP-Verbrauch möglich wäre. Die Methylmalonyl-CoA-Mutase ist auch an vielen anderen Stoffwechselwegen beteiligt, bei denen Umlagerungen von verzweigten Kohlenstoffgerüsten vorkommen, z. B. den Abbauwegen von Propionat oder verzweigten Aminosäuren.

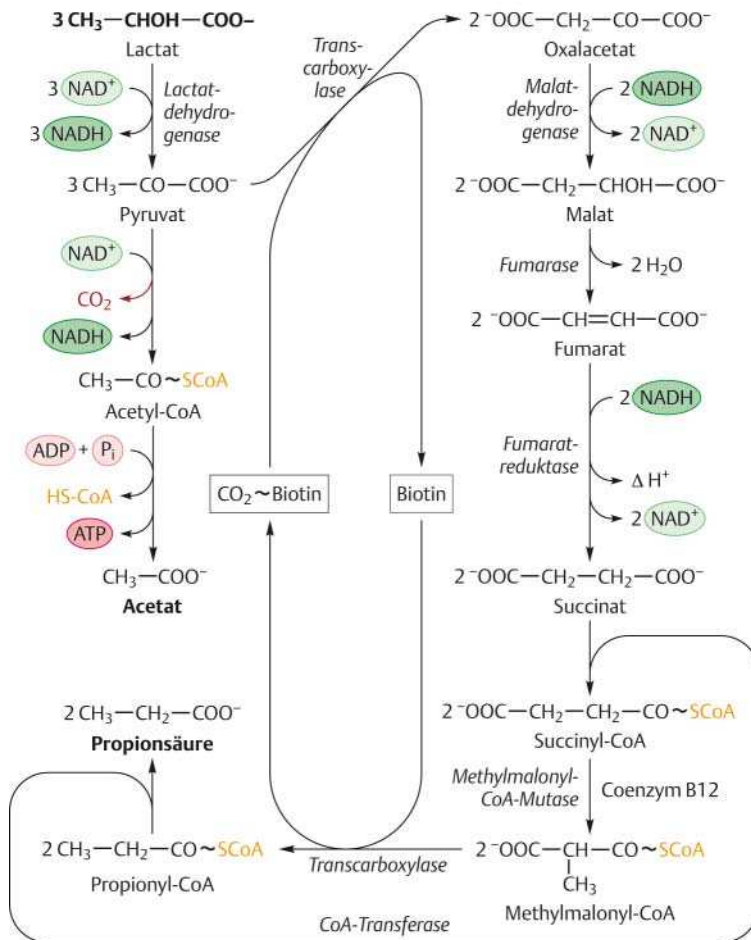


Abb. 12.17 Methylmalonyl-CoA-Weg der Propionsäuregärung. Die Fumaratreduktase reduziert Fumarat zu Succinat und konserviert dabei die Energie durch Protonentranslokation; von zwei möglichen ATP via Elektronentransportphosphorylierung kann aufgrund der Thermodynamik der Gesamtreaktion nur eines gebildet werden.

Acrylyl-CoA-Weg

Der **Acrylyl-CoA-Weg** wird z.B. von *Clostridium propionicum* oder *Megasphaera elsdenii* benutzt. Hier wird zunächst das Lactat durch eine CoA-Transferase zu **Lactyl-CoA** aktiviert, das durch Wasserabspaltung zu **Acryloyl-CoA** dehydratisiert wird. Durch Reduktion der Doppelbindung entsteht dann **Propionyl-CoA**, das wiederum als CoA-Donor für die Aktivierung des Lactats dient (Abb. 12.18).

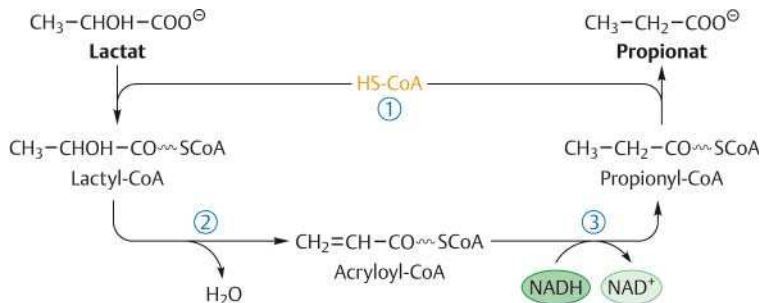


Abb. 12.18 Acrylyl-CoA-Weg der Propionsäuregärung. Enzyme: ① CoA-Transferase; ② Lactyl-CoA-Dehydratase; ③ Acrylyl-CoA-Reduktase.

12.7

Vergärung von Aminosäuren und Nukleotidbasen

Die Vergärung von Aminosäuren, Purinen oder Pyrimidinen findet man bei den peptolytischen Clostridien und einigen anderen strikt anaeroben Bakterien und Archaeobakterien. Der wichtigste Typ der Aminosäurevergärung ist nach **Stickland** benannt, der bereits 1934 erkannte, dass *Clostridium sporogenes* die Aminosäuren Alanin und Glycin nur vergärt, wenn sie als Gemisch vorliegen, sie aber einzeln nicht umsetzt.

12.7.1

Stickland-Gärung

Die Gärung der meisten peptolytischen Clostridien (z. B. *C. sporogenes*, *C. sticklandii*) verläuft über die **Stickland-Gärung**. Dabei werden jeweils Paare von Aminosäuren vergärt. Eine geeignete Aminosäure wird unter ATP-Bildung **oxidiert**, während eine andere zur Reoxidation des gebildeten NADH **reduziert** wird. So wird z. B. Alanin durch NAD⁺-abhängige Dehydrogenasen zu Pyruvat und weiter zu Acetyl-CoA und Kohlendioxid oxidiert. Die Energie der Thioesterbindung des Acetyl-CoA wird zur Substratstufenphosphorylierung eingesetzt. Für den reduktiven Ast der Stickland-Gärungen wird dagegen häufig Glycin als zweites Substrat umgesetzt. Glycin wird dabei durch den **Glycinreduktase** Komplex, der zwei katalytisch wichtige **Selenoprotein**-Komponenten enthält, zu Ammoniak und Acetylphosphat umgesetzt. Das entstandene Acetylphosphat erlaubt hier wiederum ATP-Bildung durch die Acetatkinase (Abb. 12.19). Die Glycinreduktase bildet eine Ausnahme von der Regel, wonach im reduktiven Teil des Gärungsstoffwechsels kein ATP gebildet wird.

Außer Alanin werden auch die verzweigten Aminosäuren, Serin, Methionin u. a. im oxidativen Zweig der Stickland-Gärung eingespeist, und neben Glycin sind auch andere reduzierbare Aminosäuren bekannt, z. B. D-Prolin, Leucin oder die aromatischen Aminosäuren. Während bei der Oxidation von Aminosäuren zum entsprechenden Acyl-CoA-Derivat jedoch stets ATP durch Substratkettenphosphorylierung gebildet wird, ist dies bei den reduktiven Teilreaktionen nur bei der Glycinreduktion möglich.

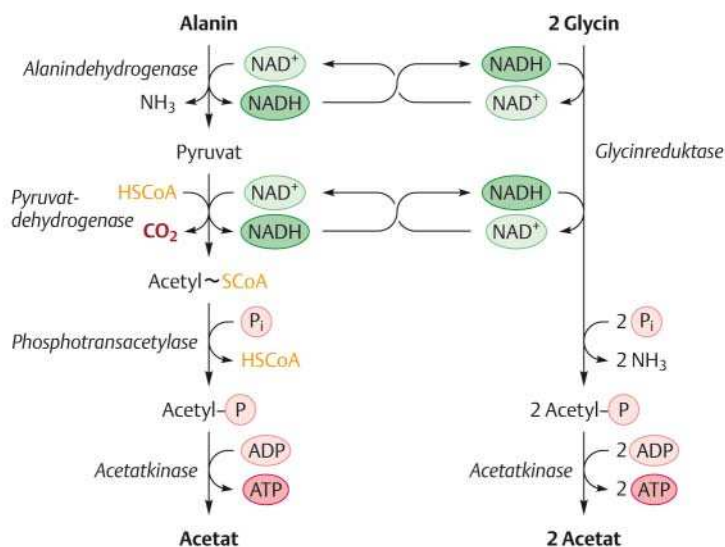


Abb. 12.19 Stickland-Gärung mit Alanin und Glycin.

12.7.2 Weitere Gärungswege für Aminosäuren und Purine

Einige peptolytische Clostridien und andere anaerobe Bakterienarten vergären auch **einzelne Aminosäuren** zu typischen Gärprodukten wie Kohlendioxid, Acetat, Butyrat und Ammoniak. Im Vergleich zur Stickland-Gärung sind diese Stoffwechselwege in der Regel komplexer, da aus derselben Verbindung oxidierte und reduzierte Gärprodukte gebildet werden müssen. Dasselbe Substrat kann in verschiedenen Bakterienarten auch über völlig unterschiedliche Gärungswege abgebaut werden. So sind allein für die Vergärung von Glutaminsäure drei verschiedene Stoffwechselwege bekannt. Von den Nukleotidbasen werden vor allem die **Purine** von einigen Clostridien (*C. purinolyticum*, *C. acidurici*) zu Kohlendioxid, Formiat, Acetat und Ammoniak vergoren.

12.8 Sekundäre Gärungen und Homoacetatgärung

12.8.1 Sekundäre Gärungen

In anoxischen Lebensräumen wird organischer Kohlenstoff in der Regel vollständig zu Kohlendioxid und Methan mineralisiert. Der Prozess verläuft in drei Stufen, an denen jeweils andere Typen von Mikroorganismen beteiligt sind: die bisher vorgestellten gärenden Mikroorganismen hydrolysieren Biopolymere und bauen die gewonnenen Bausteine zu den diversen Gärprodukten ab. In einer **zweiten Gärungsstufe** werden diese primären Gärprodukte von spezialisierten Mikroorganismen weiter zu **Acetat, Wasserstoff und Kohlendioxid** umgesetzt, die in der dritten

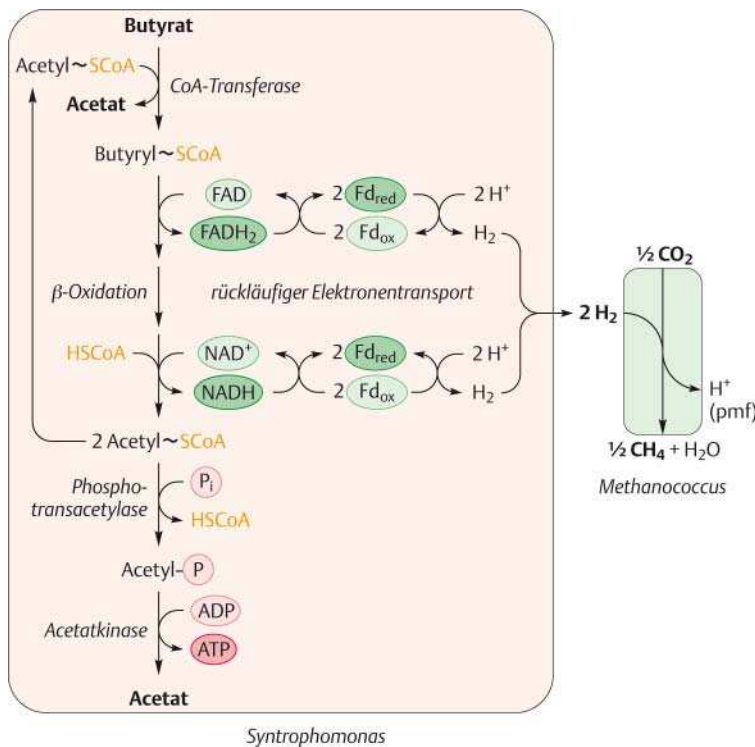
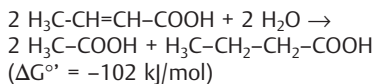


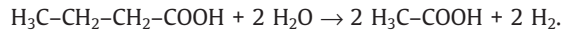
Abb. 12.20 Sekundäre Vergärung von Butyrat durch *Syntrophomonas*-Arten in Kokultur mit methanogenen Archaeobakterien.

Plus 12.15 Trick bei der Isolierung von sekundären Gärern

Obwohl diese obligat syntrophen Gärer auf ihren üblichen Substraten nicht in Reinkultur isoliert werden können, wurden durch geschickte Wahl von alternativen Substraten einige Arten isoliert und charakterisiert. So können fettsäureabbauende sekundäre Gärer mit **Crotonsäure als Substrat** in Reinkultur gebracht werden. Dabei wird ein Teil der Crotonsäure zu Essigsäure oxidiert, während der andere unter Verbrauch der freigesetzten Reduktionsäquivalente zu Buttersäure reduziert wird:



Stufe als einzige Substrate von den **methanogenen Archaeobakterien** verwertet werden (Abb. 12.1, S. 349). Die dabei freigesetzten Reduktionsäquivalente werden als **Wasserstoff** abgegeben, allerdings kann dabei unter Normalbedingungen keine Energie konserviert werden. Nur bei extrem **niedrigen Wasserstoffkonzentrationen** werden die katabolen Reaktionen der sekundären Gärer exergon und erlauben Wachstum. Deshalb sind die Organismen der sekundären Gärungsstufe typischerweise auf eine enge **syntrophe Assoziation** mit Wasserstoff-verbrauchenden Mikroorganismen angewiesen, die für die Absenkung der Wasserstoffkonzentration sorgen (Abb. 12.20). Eine typische Gärbilanz der sekundären Vergärung von Buttersäure zu Essigsäure ist:

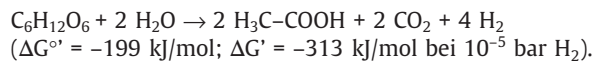


Diese Reaktion ist unter **Standardbedingungen stark endergon** ($\Delta G^{\circ'} = +48 \text{ kJ/mol}$). Unter realen Standortbedingungen ist Wachstum der sekundären Gärer nur möglich, weil die methanogenen oder sulfatreduzierenden Partnerorganismen die Konzentrationen beider Gärprodukte, Wasserstoff und Essigsäure, so weit absenken, dass die Reaktion exergon wird (z. B. $\Delta G' = -26 \text{ kJ/mol}$ bei 1 mM Butyrat, 0,1 mM Acetat und 10^{-4} bar Wasserstoff).

Eigenschaften und Isolierung der sekundären Gärer

Da sie schwierig als Reinkulturen zu isolieren sind, kennt man erst seit kurzem einige Arten der sekundären Gärer (Plus 12.15). Typische Vertreter dieser Gruppe sind z. B. die Gattungen **Syntrophus** und **Syntrophomonas**, deren Namen von der typischen syntrophen Vergesellschaftung mit Wasserstoff zehrenden Mikroorganismen abgeleitet sind. Die Gattung **Syntrophus** gehört zu den delta-Proteobakterien und umfasst Arten, die **Fettsäuren oder aromatische Verbindungen** (einschließlich aromatischer Kohlenwasserstoffe) vergären, während die bekannten grampositiven Arten der Gattung **Syntrophomonas** meist **Fettsäuren** vergären.

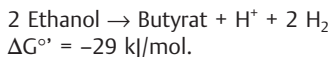
Neben den oben aufgeführten Spezialisten gehören zu den sekundären Gärern noch weitere Arten von Bakterien, die zum Teil auch andere, thermodynamisch günstigere Substrate verwerten. So vergärt das Pansenbakterium **Ruminococcus albus** Glucose komplett zu zwei Acetat, zwei CO_2 und vier H_2 und kann damit bis zu 4 ATP pro Glucose bilden. Die dafür nötige Übertragung aller gebildeter Reduktionsäquivalente auf Protonen und Freisetzung als Wasserstoff bedingt allerdings, dass unter Normalbedingungen für diese Menge ATP nicht genügend Energie zur Verfügung steht. Deshalb muss auch hier durch Syntrophie mit Wasserstoff zehrenden Mikroorganismen die Wasserstoffkonzentration in der Umgebung ausreichend erniedrigt werden:



Während Ethanol von einigen Bakterien allein weiter vergoren werden kann, ist die Umwandlung in Acetat und Wasserstoff nur in syntrophen Assoziationen von sekundären Gärern und Methanogenen möglich (Plus 12.16).

Plus 12.16 Vergärung von Ethanol

Einige *Clostridium*-Arten erschließen sich ohne syntrophe Vergesellschaftung Substrate, die üblicherweise nicht vergärt werden können, und setzen die Reduktionsäquivalente aus NADH als H_2 frei. Ein bekanntes Beispiel ist die Vergärung von Ethanol zu Butyrat und Wasserstoff durch ***Clostridium kluyveri***:



Dagegen hat sich die vermeintliche Vergärung von Ethanol zu Acetat und Methan durch „***Methanobacterium omelianskii***“ als Ergebnis einer Mischkultur herausgestellt. In dieser leben ein ethanoloxidierender sekundärer Gärer mit einem methanogenen Archaeobakterium zusammen.

12.8.2 Homoacetatgärung

Eine weitere Art der Vergärung von Glucose, bei der Acetat als einziges Produkt erzeugt wird (**Homoacetatgärung**), kann man verstehen als Kombination einer H_2/CO_2 -entwickelnden Gärung nach Gleichung (1) in Abb. 12.21 mit einer sofort anschließenden Wiederverwertung der gasförmigen Reaktionsprodukte zu einem weiteren Molekül Acetat (2; **Acetogenese**). Die Homoacetatgärung wird von einigen acetogenen Bakterien (z.B. *Moorella thermoacetica*) genutzt, wenn Zucker als Substrate zur Verfügung stehen. Vereinfacht kann man den Ablauf des Prozesses als „Syntrophie“ innerhalb einer einzigen Zelle betrachten; der acetogene Teil des Stoffwechselweges (näheres dazu in Kap. 13.8) übernimmt dabei die Funktion des wasserstoffzehrenden Partnerorganismus.

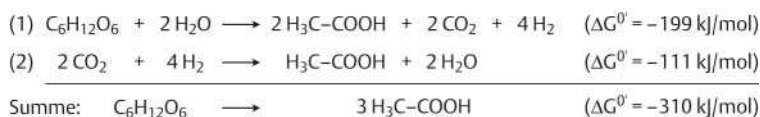


Abb. 12.21 Summengleichung der Homoacetatgärung.

Zusammenfassung

- Der Energiestoffwechsel von Mikroorganismen wird über Gärung bestritten, wenn **keine externen Elektronenakzeptoren** für aerobe oder anaerobe Atmung zur Verfügung stehen. ATP wird dabei meist durch **Substratkettenphosphorylierung** aus wenigen **energiereichen Zwischenverbindungen** gebildet.
- Bei den verschiedenen Gärungsformen werden aus den Substraten jeweils charakteristische **Gärprodukte** gebildet. Dabei stellt sich stets eine ausgewogene **Gärbilanz** zwischen oxidierten und reduzierten Produkten ein. Man unterscheidet die Gärungsformen nach den gebildeten Gärprodukten.
- Bei der **Milchsäuregärung** werden Zucker zu **Milchsäure** (Lactat) als Hauptprodukt vergärt; dabei wird je nach Art des Mikroorganismus D- oder L-Lactat gebildet. Man unterscheidet zwischen der **homo- und heterofermentativen** Milchsäuregärung. Bei ersterer wird Lactat als einziges Gärprodukt gebildet, während bei der letzteren gleiche Mengen Alkohol und CO_2 zusätzlich zum Lactat gebildet werden.
- Die wichtigsten **Milchsäurebakterien** gehören zu den grampositiven Bakterien mit niedrigen GC-Gehalt (*Firmicutes*), z.B. die Gattungen **Lactobacillus** und **Streptococcus**. Eine Ausnahme stellt die Gattung **Bifidobacterium** dar, die zu den grampositiven Bakterien mit hohem GC-Gehalt (*Actinobacteria*) gehört und die Milchsäuregärung über einen besonderen Stoffwechselweg betreibt.
- In der **alkoholischen Gärung** werden Zucker zu **Ethanol und CO_2** als Gärprodukten umgesetzt. Die wichtigsten beteiligten Mikroorganismen sind hier vor allem **Hefen**; es gibt aber auch einige alkoholgärende Bakterien, z. B. *Zymomonas mobilis*.
- Die **gemischte Säuregärung** ist die typische Gärungsform der **Enterobacteriaceae** und einiger weiterer Gruppen von Bakterien. Die Hauptprodukte sind dabei **organische Säuren** (Milchsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Bernsteinsäure), **Ethanol, H_2 und CO_2** in unterschiedlichen molaren Verhältnissen. Als Spezialform gibt es bei einigen Arten darüber hinaus auch einen abzweigenden Stoffwechselweg zu **2,3-Butandiol**.

- Die **Buttersäuregärung** ist typisch für die Gruppe der **Clostridien**, obligat anaerobe grampositive Bakterien der Gruppe *Firmicutes*. Viele Clostridien produzieren auch **polymerspaltende Enzyme** und machen in anoxischen Lebensräumen Biopolymere (z.B. Stärke, Cellulose) verfügbar. Als Buttersäuregärung bezeichnet man insbesondere die Vergärung von Zuckern durch **saccharolytische** Clostridien. Neben **Buttersäure** produzieren diese Organismen als weitere Gärprodukte **Ethanol, Essigsäure, H₂ und CO₂** (z.B. *C. butyricum*). Einige Arten (z.B. *C. acetobutylicum*) benutzen einen modifizierten Gärungsweg zur Produktion zusätzlicher Gärprodukte, v. a. Butanol, Isopropanol und Aceton. Dieser Gärungsweg wird als **Butanol- oder Lösungsmittelgärung** bezeichnet.
- Die **Propionsäuregärung** ist ein Gärungsweg, der üblicherweise nachgeschaltet an eine Milchsäuregärung erfolgt. Lactat wird dabei als Substrat verwendet und zu **Propionat bzw. Acetat und CO₂** disproportioniert. Eine wichtige Gattung ist *Propionibacterium*, das zu den Actinobacteria gehört.
- **Aminosäuren und Nukleotide** werden vor allem von *Clostridium*-Arten (**peptolytische Clostridien**) und verwandten Gattungen vergoren; Gärprodukte sind dabei **organische Säuren, Alkohole, H₂, CO₂ und NH₃**. Ein wichtiger Stoffwechselweg ist dabei die Vergärung von Aminosäurepaaren, von denen eine zu oxidierten, die andere zu reduzierten Gärprodukten umgesetzt wird (**Stickland-Gärung**), es gibt aber auch Gärungswege, bei denen einzelne Aminosäuren bzw. Nukleotidbasen zu oxidierten und reduzierten Gärprodukten umgesetzt werden.
- Schließlich gibt es noch sogenannte **sekundäre Gärungen**, die meist nur in **syntrophen Cokulturen** gärender Bakterien mit anderen Arten von stark wasserstoffzehrenden Mikroorganismen (z.B. methanogene Archaeobakterien) durchgeführt werden können. In diesen Gärungswegen werden die reduzierten Produkte anderer gärender Mikroorganismen (z.B. Alkohole, Propionsäure, Buttersäure) zu **Acetat, CO₂ und H₂** umgesetzt. Diese Gärungsprodukte dienen wiederum den syntrophen Partnerorganismen als Substrate, z.B. für die Methanbildung durch methanogene Archaeobakterien. Der kritische Punkt bei diesen sekundären Gärungswegen ist, dass durch die Aktivität der wasserstoffzehrenden Partnerorganismen die **Wasserstoffkonzentration auf sehr niedrige Werte** abgesenkt werden muss, damit auch die gärenden wasserstofffreisetzenden Organismen aus diesem Stoffwechselweg Energie für das Wachstum der Zellen konservieren können.
- Einen Spezialfall stellt die **Homoacetatgärung** dar, die es einigen anaeroben Bakterien (z.B. *Moorella thermoacetica*) erlaubt, Glucose zu **Acetat als einzigem Gärprodukt** umzusetzen. Diese Bakterien gehören zu den acetogenen Bakterien und sind ähnlich wie die methanogenen Archaeobakterien in der Lage, die Wasserstoffkonzentration weit abzusinken.

13

Anaerobe Atmung

Mikroorganismen oxidieren organische Verbindungen vollständig zu CO_2 auch dann, wenn kein molekularer Sauerstoff als Elektronenakzeptor zur Verfügung steht. Anstelle von Sauerstoff nutzen und reduzieren sie dabei andere **oxidierte anorganische oder organische Verbindungen als alternative terminale Elektronenakzeptoren**. Diese Prozesse werden „**anaerobe Atmung**“ genannt. Wie bei der aeroben Atmung wird dabei Energie freigesetzt, die zunächst als **Membranpotenzial** gespeichert wird (meist durch den Aufbau eines Protonengradienten), das dann über **Elektronentransportphosphorylierung** zur Synthese von ATP genutzt wird. Beispiele sind die anaerobe Atmung mit Nitrat, Fe(III) , Mn(IV) , Sulfat, Schwefel oder CO_2 , die zu N_2 oder NH_4^+ , Fe(II) , Mn(II) , H_2S oder CH_4 (bzw. Acetat) reduziert werden. Viele der reduzierten anorganischen Produkte aus anaeroben Atmungsprozessen dienen wieder als Elektronendonatoren für chemo- oder photolithotrophe Mikroorganismen. Die anaeroben Atmungsprozesse haben eine eminente Bedeutung für die natürlichen **Stoffkreisläufe** und den Erhalt des chemischen Gleichgewichts in der Biosphäre. Die anaerobe Atmung ist weitgehend die Domäne der Prokaryonten. In Eukaryonten findet man nur in wenigen Ausnahmefällen ähnliche Systeme, wie beispielsweise die Fumaratatmung bei Tieren, die vorübergehend oder dauernd in sauerstofffreien Bereichen leben.

Überblick

- 13.1 Energetisches Prinzip ... 381**
- 13.2 Nitrat, Nitrit, N₂O als Elektronenakzeptoren ... 382**
 - 13.2.1 Denitrifikation ... 383
 - 13.2.2 Nitratammonifikation ... 385
 - 13.2.3 Anammox-Reaktion ... 385
- 13.3 Fumarat als Elektronenakzeptor ... 387**
- 13.4 Oxidierte Metallionen als Elektronenakzeptoren ... 388**
- 13.5 Sulfat als Elektronenakzeptor ... 388**
 - 13.5.1 Unterschiede zwischen assimilatorischer und dissimilatorischer Sulfatreduktion ... 391
 - 13.5.2 Rolle der sulfatreduzierenden Mikroorganismen im Naturhaushalt ... 392
- 13.6 Schwefel als Elektronenakzeptor ... 393**
- 13.7 Methanogenese: CO₂ als Elektronenakzeptor ... 395**
 - 13.7.1 Methanbildung aus H₂ und CO₂ ... 397
 - 13.7.2 Methanbildung aus Acetat ... 398
- 13.8 Acetogenese: CO₂ als Elektronenakzeptor ... 400**
- 13.9 Reduktion weiterer Elektronenakzeptoren ... 402**
 - 13.9.1 Sulfoxide und Aminoxide ... 402
 - 13.9.2 Anorganische Oxyanionen ... 403
 - 13.9.3 Chlororganische Verbindungen ... 403

13.1 Energetisches Prinzip

Die aerobe Atmung bedeutet Oxidation von Substraten mit Hilfe von Sauerstoff (Verbrennung), mit dem Ziel der Energiegewinnung. Die anaerobe Atmung folgt dem gleichen Grundprinzip wie die aerobe Atmung: Reduktionsäquivalente aus der **Oxidation geeigneter Elektronendonatoren** werden über eine membrangebundene **Elektronentransportkette** zu einer **terminalen Reduktase** geleitet, die aber anstatt Sauerstoff einen alternativen Elektronenakzeptor reduziert. Die Trennung der elektrischen Ladungen beim **Elektronentransport** über die Membran führt zum Aufbau eines **elektrochemischen Potentials** (z. B. Protonengradient), das durch die membranständige **ATP-Synthase** zur Regeneration von ATP genutzt wird (Abb. 13.1). Atmungsprozesse mit alternativen Elektronenakzeptoren findet man bei vielen fakultativ oder strikt anaeroben Mikroorganismen.

Bei der anaeroben Atmung wird weniger Energie konserviert als bei der aeroben Atmung, aber mehr als bei Gärungsprozessen (Kap. 12). Die verfügbare Energie aus dem jeweiligen Atmungsprozess ist proportional zur **Redoxpotenzialdifferenz** zwischen dem Elektronendonator (z. B. NADH) und dem jeweiligen Elektronenakzeptor (Abb. 13.2). Man findet in anaeroben Habitaten (z. B. in Sedimenten von Seen und Meeren oder in kontaminierten Grundwasserleitern) eine strikte **Schichtung** der vorherrschenden Mikroorganismenpopulationen, je nach der Stellung der verwendeten Elektronenakzeptoren in der **Redoxpotenzialskala** (Abb. 13.3). In Sedimenten findet sich zuoberst eine dünne Schicht von wenigen

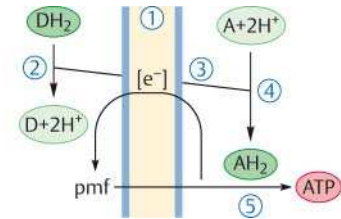


Abb. 13.1 Prinzip der anaeroben Atmung. Benötigte Komponenten: ① Membran; ② membrangebundene Dehydrogenase; ③ membrangebundene Elektronentransportkette; ④ membrangebundene terminale Reduktase; ⑤ ATP Synthase; pmf, Proton Motive Force.

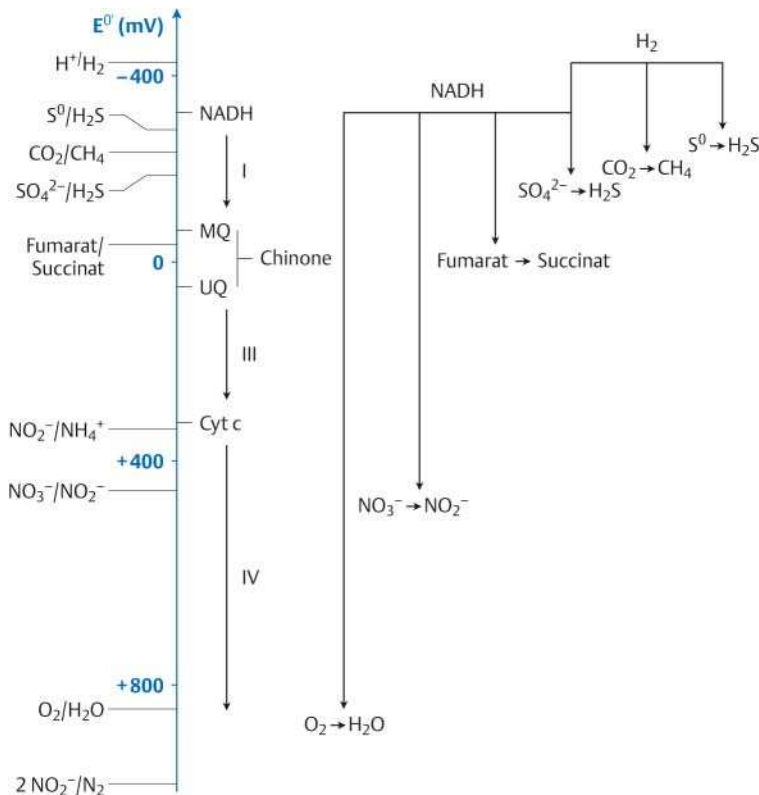


Abb. 13.2 Thermodynamische Hierarchie und Normalpotenziale einiger biologisch relevanter Elektronendonatoren und Elektronenakzeptoren. Links der Skala stehen Redoxpaare von extrazellulären Molekülen, rechts von intrazellulären Elektronenüberträgern. Die Anordnung der Elektronenakzeptoren nach ihrem Potenzial entspricht der Reihenfolge, in der sie in anaeroben Sedimenten oder bei Reinkulturen der meisten anaeroben Atmer genutzt werden („Hierarchie der Elektronenakzeptoren“). Mit I, III und IV sind die entsprechenden Atmungsketten-Komplexe bezeichnet (Kap. 7.4.2). Die verfügbaren Redoxspannen bei der Oxidation von NADH oder H_2 mit verschiedener Elektronenakzeptoren (ganz rechts) sind direkt proportional zur nutzbaren freien Energie (bei 2-Elektronen-Übergang: $\Delta E^\circ = 400 \text{ mV}$ entspricht $\Delta G^\circ = -77 \text{ kJ/mol}$, ungefähr der nötigen Energie für die Regenerierung von 1 ATP).

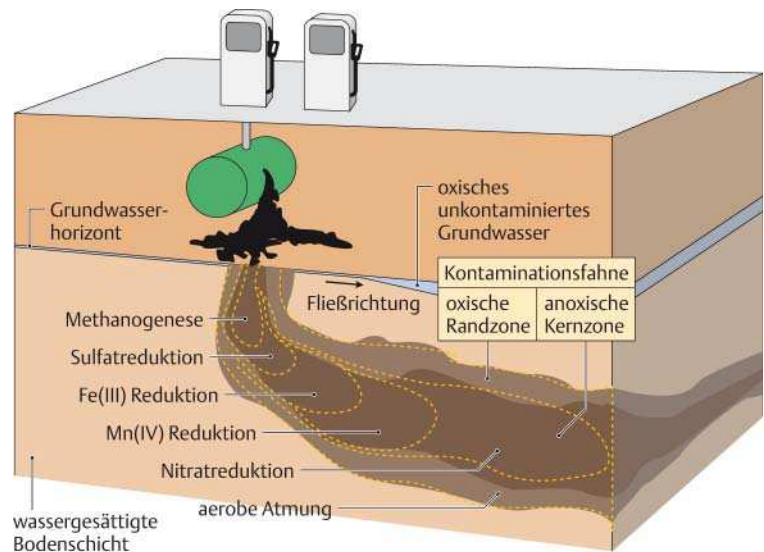


Abb. 13.3 Ausbildung von Zonen mit Bakterien unterschiedlicher Stoffwechseltypen in kontaminierten Grundwasserleitern. Je nach Menge der verfügbaren Elektronenakzeptoren bilden sich unterschiedlich große Zonen aus, deren hierarchische Abfolge sich nach der verfügbaren Energie aus der jeweiligen Form der Atmung richtet.

Plus 13.1 Vergleich assimilatorische und dissimilatorische Nitratreduktion

Man muss die Nitratatmung (dissimilatorische Nitratreduktion) strikt von der verwandten cytoplasmatischen **assimilatorischen Nitratreduktion** (siehe auch Kap. 8.4.1) unterscheiden. Letztere erfolgt in zwei Stufen und dient der Stickstoffversorgung. Zuerst wird Nitrat durch eine cytoplasmatische **assimilatorische Nitratreduktase** zu Nitrit reduziert. Dieses Enzym konserviert keine Energie. Das gebildete Nitrit wird dann durch eine ebenfalls cytoplasmatische **assimilatorische Nitritreduktase**, die einen Sirohäm-Cofaktor im aktiven Zentrum enthält, in einem 6-Elektronen-Reduktionsschritt zu Ammonium reduziert (Tab. 13.1, S. 386). Elektronendonator für beide Enzyme der assimilatorischen Nitratreduktion ist je nach Organismus entweder NAD(P)H oder reduziertes Ferredoxin. Die Synthese der assimilatorischen Enzyme wird nur bei Stickstoffmangel induziert, ist aber unabhängig von der Sauerstoffversorgung der Zellen. Dagegen werden die Enzyme der dissimilatorischen Nitratreduktion nur gebildet, wenn anaerobe Bedingungen herrschen und Nitrat zur Verfügung steht. Diese Enzyme dienen ausschließlich der Energiekonservierung und sind in der Regel membrangebunden.

mm, in der aerobe Atmer vorherrschen. Diese werden nach dem Verbrauch des Sauerstoffs mit zunehmender Tiefe von anaeroben Organismen abgelöst, die mit Nitrat, Metallionen, Sulfat oder Kohlendioxid als anaeroben Elektronenakzeptoren „atmen“.

Außerdem beobachtet man auch bei Reinkulturen von vielen fakultativen Mikroorganismen ein Umschalten des Stoffwechsels nach der **thermodynamischen Hierarchie** der möglichen Elektronenakzeptoren. Beispielsweise bestreitet *Escherichia coli* seinen Energiestoffwechsel wahlweise mit folgender Präferenz. Bevorzugt wird die aerobe Atmung; erst nach vollständigem Verbrauch des Sauerstoffs schaltet die Zelle um auf anaerobe Atmung mit Nitrat, Fumarat oder einigen weiteren oxidierten Verbindungen. Falls auch diese alternativen Elektronenakzeptoren fehlen, stellt die Zelle schließlich auf einen Gärungsstoffwechsel um.

Die Veratmung von Substraten mit Sulfat, Schwefel oder CO_2 als Elektronenakzeptoren liefert weniger Energie als viele Wege des Gärungsstoffwechsels (Abb. 13.2). Diese Elektronenakzeptoren können nicht mehr von fakultativ anaeroben Mikroorganismen verwertet werden. Vielmehr setzt ihre Nutzung besondere Anpassungen voraus, die nur obligat anaerobe Mikroorganismen erfüllen können. Diese erschließen sich so Nährstoffquellen, die ohne Sauerstoff anders nicht genutzt werden können.

Im Folgenden werden die einzelnen anaeroben Atmungstypen in der Reihenfolge dieser thermodynamischen Hierarchie besprochen. Die Redoxpotenziale unter Standardbedingungen bei neutralem pH bei den Reaktionsgleichungen beziehen sich auf die Halbpaaire der Elektronenakzeptoren, also E° (reduzierte/oxidierte Verbindung) wie z. B. $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$.

13.2 Nitrat, Nitrit, N_2O als Elektronenakzeptoren

Nitrat wird von Mikroorganismen für zwei Zwecke genutzt, nämlich

1. als Stickstoffquelle für die Synthese stickstoffhaltiger Zellbestandteile (assimilatorische Nitratreduktion, Kap. 8.4.1, Plus 13.1),
2. als alternativer Elektronenakzeptor für die sogenannte „**Nitratatmung**“ (dissimilatorische Nitratreduktion).

Die Nitratatmung verläuft dabei in verschiedenen Organismen unterschiedlich. Man unterscheidet zwei Formen: die **Denitrifikation**, bei der Nitrat zu molekularem Stickstoff reduziert wird, und die **Nitratammonifikation**, bei der Nitrat zu Ammoniak reduziert wird. Darüber hinaus gibt es einige Mikroorganismen, die Nitrat nur bis zur Stufe des Nitrits reduzieren, und die kürzlich erst entdeckte Gruppe der „**Anammox**“-Bakterien, die Ammonium-Ionen mit Nitrit als Elektronenakzeptor zu molekularem Stickstoff umsetzen.

13.2.1 Denitrifikation

Nitratatmung über Denitrifikation ist bei vielen *Pseudomonas*-Arten und anderen Proteobakteriengruppen, sowie bei einigen *Bacillus*-Arten bekannt. Der Prozess hat große praktische Bedeutung (Plus 13.2). Der Elektronendonator muss nicht immer organischer Natur sein. Zum Beispiel werden im Energiestoffwechsel des chemolithotrophen Bakteriums *Thiobacillus denitrificans* die Enzyme der Denitrifikation zur Oxidation von reduzierten Schwefelverbindungen genutzt.

Reduktion von Nitrat zu Nitrit

Bei allen Nitratatmern wird Nitrat im ersten Schritt durch eine membranständige **dissimilatorische Nitratreduktase** zu Nitrit reduziert (① in Abb. 13.4). Dieses Enzym reduziert Nitrat mit Elektronen aus dem **Chinonpool** der Membran, die über eine intramolekulare Elektronentransportkette auf den gebundenen **Molybdän-Cofaktor** geleitet werden. Dabei wird ein **Protonengradient** über der Cytoplasmamembran aufgebaut, der für die ATP-Regeneration via ATP-Synthase genutzt werden kann. Das Substrat Nitrat wird über einen **Nitrat-Nitrit-Antiporter** (②) ins Cytoplasma transportiert, der zugleich das gebildete Produkt Nitrit wieder nach außen transportiert. In einigen nitratatmenden Bakterien kommt noch ein **zweiter Typ einer dissimilatorischen Nitratreduktase** vor. Diese enthält ebenfalls einen Molybdän-Cofaktor, liegt aber löslich im Periplasma vor und verwendet als Elektronendonator entweder Cytochrome vom c-Typ oder die reduzierten Chinole der Membran. Das Enzym wird dabei über ein separates elektronenübertragendes Membranprotein an den Chinolpool angekoppelt. Die Reaktionsschritte für die anschließende weitere Reduktion des Nitrits sind bei der Denitrifikation und der Nitratammonifikation grundlegend verschieden (siehe unten).

Reduktion von Nitrit zu molekularem Stickstoff

Das Intermediat Nitrit wird nicht in einer einzigen Enzymreaktion zu Ammoniak, sondern durch drei nacheinander folgende Enzyme zu molekularem Stickstoff reduziert (Abb. 13.4, Tab. 13.1). Die Intermediate jeder Enzymreaktion werden freigesetzt und vom jeweiligen Folgeenzym wieder gebunden. Die aktiven Zentren aller drei Enzyme der Nitritreduktion liegen im Periplasma (bzw. bei grampositiven Bakterien auf der Außenseite der Membran). Zuerst wird Nitrit von einer löslichen periplasmatischen **Nitritreduktase** in einer Ein-Elektronen-Reaktion zu Stickstoffmonoxid (NO) reduziert (③). Es gibt zwei unterschiedliche Isoenzyme dieser Nitritreduktase: Enzyme mit **Cytochrom-cd₁**-Cofaktoren, oder damit nicht verwandte Enzyme mit **Kupfer** im aktiven Zentrum. Beide Enzym-Typen verwenden Cytochrom c als Elektronendonator. Die nächste Reaktion wird durch die membranständige **Stickstoffmonoxid**

Plus 13.2 Bedeutung der Denitrifikation

Die Denitrifikation ist der wichtigste Prozess in der Natur, bei dem gebundener Stickstoff (in Form von Nitrat) zu **gasförmigem molekularem Stickstoff** überführt wird. Diesem Prozess kommt deshalb große ökologische und praktische Bedeutung zu, sowohl im globalen Stickstoffkreislauf als auch im kleineren Maßstab. Auf der einen Seite sind denitrifizierende Bakterien verantwortlich für die Stickstoffentfernung bei der Abwasserbehandlung, auf der anderen Seite setzen diese Organismen aber auch ungewollt Stickstoff aus landwirtschaftlich genutzten Böden frei. Nach Nitratlüngung kann es so zu großen Stickstoffverlusten kommen, besonders wenn der Boden durch stehende Nässe anaerob wird.

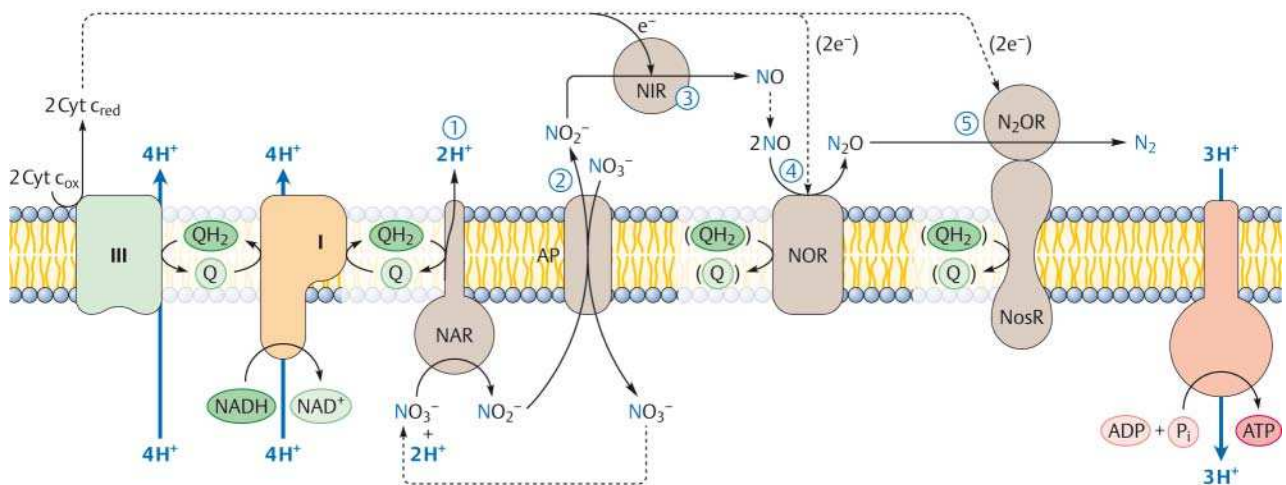
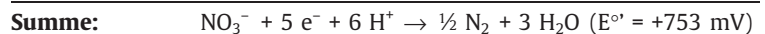
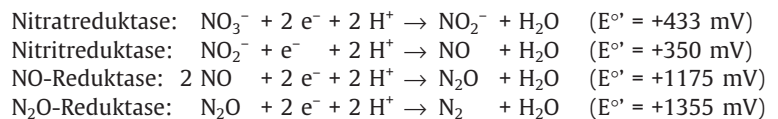


Abb. 13.4 Schema der Denitrifikation. Enzyme: Atmungskettenkomplex I (I, NADH-Ubichinon-Oxido-Reduktase); Komplex III (III, Chinol-Cytochrom-c-Oxidase); Nitratreduktase (NAR); Nitrat-Nitrit-Antiporter (AP); Nitritreduktase (NIR); NO-Reduktase (NOR); N₂O-Reduktase (N₂OR) mit elektronenübertragendem Membranprotein (NosR); Cytochrom c (Cyt c). Bis zur Bildung von Nitrit verläuft auch die Nitratammonifikation nach diesem Schema. Weitere Erklärung siehe Text.

(NO)-Reduktase katalysiert, die zwei Moleküle NO zu Distickstoffmonoxid (N₂O) reduziert und Eisen und Cytochrome als Cofaktoren enthält (④). Dieses Enzym verwendet je nach Art reduziertes Ubichinol oder Menachinol bzw. reduziertes Cytochrom c als Elektronendonator und konserviert (soweit bekannt) keine Energie in Form eines Protonengradienten. Schließlich wird das letzte Intermediat N₂O durch das periplasmatische kupferhaltige Enzym **N₂O-Reduktase** weiter zu N₂ reduziert (⑤); Elektronendonator für dieses Enzym ist entweder reduziertes Cytochrom c oder der Chinolpool, auf den das lösliche periplasmatische Enzym durch Bindung an ein getrenntes elektronenübertragendes Membranprotein zugreifen kann (Abb. 13.4). Die meisten denitrifizierenden Bakterien veratmen auch die Intermediate Nitrit und N₂O und konservieren die freigesetzte Energie als Protonengradient.

Reaktionsschema der Denitrifikation:



In vielen Fällen kann man in denitrifizierenden Kulturen mit Nitrat eine zwischenzeitliche Anhäufung der Zwischenprodukte Nitrit oder N₂O beobachten, aber kaum von NO, welches ein Radikal (Molekül mit ungepaartem Elektron) darstellt. Offensichtlich ist die Toxizität dieses Zwischenprodukte zu groß. NO wird auch als bakterizide Verbindung in den Phagolysosomen der Makrophagen gebildet. Bisher sind zwei unterschiedliche NO-entgiftende bakterielle Enzyme bekannt: ein Flavohämoglobin (**NO-Dioxygenase**), das NO zu Nitrat oxidiert, dafür allerdings Sauerstoff benötigt, und ein **Flavorubredoxin**, das NO im Cytoplasma mit NADH zu N₂O reduziert und auch unter strikt anoxischen Bedingungen aktiv ist.

13.2.2 Nitratammonifikation

Nitratammonifikation kommt bei vielen Arten der Enterobacteriaceae und bei einigen grampositiven Bakterien (z. B. *Staphylococcus aureus*) vor. Nitrat wird dabei zunächst durch eine membranständige **Nitratreduktase** zu Nitrit reduziert. Dabei wird Energie in Form eines Protonengradienten konserviert, wie oben geschildert (Abb. 13.4). Das gebildete Nitrit ist bei manchen nitratreduzierenden Mikroorganismen bereits das Endprodukt der anaeroben Atmung. Da Nitrit aber in höheren Konzentrationen toxisch wirkt, wird es meist weiter reduziert, um Nitrat effizient als Elektronenakzeptor zu nutzen. Bei der Nitratammonifikation geschieht dies durch eine 6-Elektronen-Reduktion von Nitrit zum Ammoniumion, ohne dass reduzierte Intermediate freigesetzt werden. Diese Reaktion wird durch eines von zwei verschiedenen **Nitritreduktase**-Enzymsystemen katalysiert, die sich in ihren Eigenschaften unterscheiden (Tab. 13.1 und Plus 13.3). Nur eines der beiden Enzyme koppelt die Reaktion an eine Energiekonservierung.

Reaktionsschema der Nitratammonifikation:

Nitratreduktase: $\text{NO}_3^- + 2 \text{e}^- + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$ ($E^\circ = +433 \text{ mV}$)

Nitritreduktase: $\text{NO}_2^- + 6 \text{e}^- + 8 \text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+ + 2 \text{H}_2\text{O}$ ($E^\circ = +340 \text{ mV}$)

13.2.3 Anammox-Reaktion

„Anammox“ bezeichnet die **anaerobe Ammoniumoxidation** mit Nitrit als Elektronenakzeptor. Diese Stoffwechselleistung wurde erst vor kurzem bei einigen Arten des bisher wenig erforschten Bakterienphylums der **Planctomyceten** entdeckt und bietet ein Beispiel für anaerobe Atmung bei chemolithotrophen Mikroorganismen. Der Prozess führt zur Bildung von molekularem Stickstoff mit **Ammonium als Elektronendonator und Nitrit als Elektronenakzeptor**. Da anders als bei der Denitrifikation dabei auch Ammonium direkt in molekularen Stickstoff überführt wird, ist der Prozess von großem Interesse für die Abwasserwirtschaft und wurde bereits kurz nach Entdeckung kommerziell genutzt. Beim Anammox-Prozess finden grundsätzlich andere Reaktionen statt als die bisher für die Nitratatmung beschriebenen. Zusätzlich scheint es essenziell zu sein, dass die Reaktionen in verschiedenen membranumhüllten Zellkompartimenten ablaufen, die es nur bei den Planctomyceten gibt. So wurde z. B. für die „Anammox-Bakterien“ ein spezielles intrazelluläres Organell, das „**Anammoxosom**“ beschrieben, in dem die beteiligten Enzymreaktionen ablaufen.

Man nimmt an, dass bei der Anammox-Reaktion zunächst der Elektronenakzeptor Nitrit mit einem Elektron zu Stickstoffoxid (NO) reduziert wird, das anschließend mit Ammonium (NH₄⁺) und weiteren drei Elektronen zu Hydrazin (N₂H₄) und Wasser umgesetzt wird. Schließlich wird Hydrazin zu N₂ oxidiert; die dabei freiwerdenden vier Elektronen werden für die reduktiven Teilreaktionen genutzt (Abb. 13.5). Der Mechanismus der Energiekonservierung ist dabei noch unklar. Das niedrige Redoxpotenzial des Hydrazins würde theoretisch eine direkte Kopplung der oxidativen Teilreaktion mit Protonentranslokation über die Anammoxosomenmembran erlauben. Alternativ dazu wäre auch möglich, dass die Energiekonservierung nicht über die drei Teilreaktionen des Anammox-Prozesses läuft, sondern stattdessen durch ein Komplex-III-analoges Protein in der Anammoxosomenmembran, das die Potenzialdifferenz zwi-

Plus 13.3 Nitritreduktion bei der Nitratammonifikation

Man unterscheidet zwei Enzymtypen:

1. Der erste Nitritreduktase-Typ ist ein cytoplasmatisches **sirohämhaltiges** Enzym, das Nitrit mit NADH als Elektronendonator reduziert. Bei dieser Reaktion werden zwar 6 Reduktionsäquivalente abgeleitet, aber keine Energie aus der Redoxreaktion konserviert; das Nitrit wird dabei nur effizient detoxifiziert. Dieses Enzym ist sehr ähnlich zur assimilatorischen Nitritreduktase, wird aber anders reguliert (Plus 13.1).
2. Der zweite Enzymtyp ist ein **Cytochrom-c**-haltiger membranständiger Enzymkomplex, dessen aktives Zentrum im Periplasma liegt. Dieses Enzym benutzt Elektronen aus dem Chinonpool für die Nitritreduktion und konserviert die freigesetzte Energie als Protonengradient.

Escherichia coli und andere Arten verfügen über beide Enzymsysteme und können so das toxische Nitrit als Elektronenakzeptor nutzen und entfernen. *E. coli* hat darüber hinaus keine Enzyme für assimilatorische Nitratreduktion und kann Nitrat deshalb nur unter anaeroben Wachstumsbedingungen als Stickstoffquelle nutzen, wenn die Enzyme der Nitratatmung induziert werden.

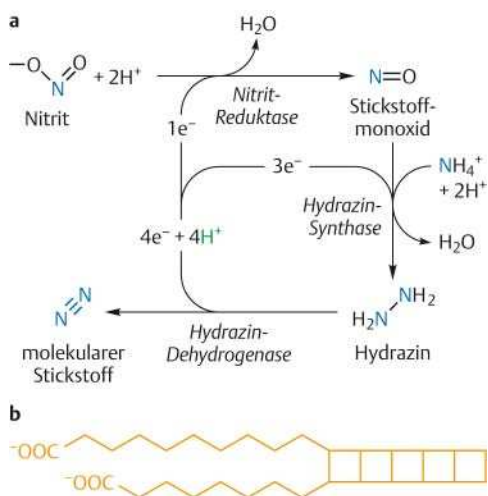
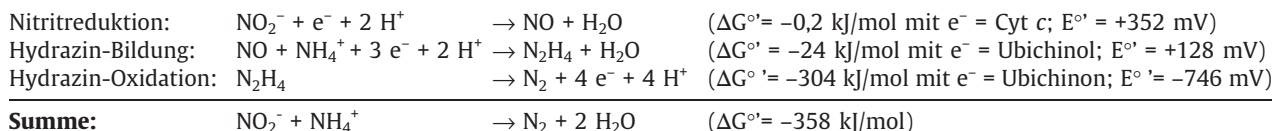


Abb. 13.5 Anaerobe Ammoniumoxidation (Anammox). **a** Reaktionsschema: Nitrit wird zunächst durch eine Nitritreduktase mit einem Elektron zu NO reduziert, das mit Ammonium und drei weiteren Elektronen zu Hydrazin und Wasser umgesetzt wird. Das Hydrazin wird zu N_2 oxidiert und die dabei frei werdenden vier Elektronen werden zur Synthese eines weiteren Hydrazinmoleküls aus Ammonium und Nitrit genutzt. Die Reaktionen finden in einem intrazellulären Organell („Anammoxosom“) statt; dabei wird ein Protonengradient aufgebaut, der über ATP-Synthase zur ATP-Regeneration genutzt wird. **b** Struktur der „Ladderan“-Fettsäuren der Anammoxosomenmembran.

schen Chinol- und Cytochrom-c-ähnlichen Elektronenüberträgern nutzt. Dafür spricht, dass die Nitritreduktion vermutlich wie bei den Denitrifizierern mit einem Cytochrom-c-ähnlichen Protein als Elektronendonator verläuft, während die Redoxpotenziale der Hydrazinsynthese und der Hydrazinoxidation eher auf chinonähnliche Elektronenüberträger für diese Prozesse hindeuten (s. Reaktionsschema). Der gebildete Protonengradient über der Membran des Anammoxosoms wird dann durch eine ATP-Synthase zur Bildung von ATP genutzt (Tab. 13.1). Die Membran dieses Organells ist offenbar durch ihren Gehalt an speziellen Fettsäuren, den „Ladderanen“, vor dem reaktiven Intermediat Hydrazin geschützt (Abb. 13.5).

Reaktionsschema der Anammox-Reaktion:



Tab. 13.1 Vergleich zwischen assimilatorischer Nitratreduktion und den Systemen der Nitrat- bzw. Nitritatmung (dissimilatorische Nitratreduktion)

	assimilatorische Nitratreduktion	Denitrifikation	Nitratammonifikation	Anammox
Endprodukt	Ammonium	Stickstoff	Ammonium	Stickstoff
Enzyme und Lokalisation	Nitratreduktase im Cytoplasma Nitritreduktase (Sirohäm-Typ) im Cytoplasma	Nitratreduktase in der Membran Nitritreduktase (Cu- oder Cyt-bd1-Typ) im Periplasma NO-Reduktase in der Membran N ₂ O-Reduktase im Periplasma	Nitratreduktase in der Membran Nitritreduktase (Sirohäm-Typ) im Cytoplasma oder Nitritreduktase (Cyt-c-Typ) in der Membran	– Nitritreduktase im Anammoxosom Hydrazin-Synthase im Anammoxosom Hydrazin-Dehydrogenase im Anammoxosom
Regulation	N-Mangel induziert	anaerob induziert bei Anwesenheit von Nitrat	Anaerob induziert bei Anwesenheit von Nitrat	unbekannt
Typische Art	Weit verbreitet	<i>Paracoccus denitrificans</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Brocadia anammoxidans</i>

13.3 Fumarat als Elektronenakzeptor

Fumarat ist eine wichtige organische Verbindung, die als Elektronenakzeptor für eine anaerobe Atmung dient. Fumaratatmung kommt in vielen Arten von Proteobacteria vor, z. B. bei *E. coli* oder *Wolinella succinogenes*, daneben aber auch in grampositiven Bakterien und Vertretern anderer Klassen. Fumarat wird in der Regel über einen **Fumarat-Succinat-Antipor-ter** aufgenommen, aber auch ein Symport mit Protonen ist bekannt.

Das Schlüsselenzym der Fumaratatmung ist die membranständige **Fumaratreduktase**, welche die Reduktion von Fumarat zu Succinat ($E_0' = +33 \text{ mV}$) katalysiert und dabei einen Protonengradienten über der Membran bildet. Das aktive Zentrum des Enzyms liegt auf der Innenseite der Cytoplasmamembran, sodass die beiden bei der Bildung von Succinat verbrauchten Protonen zum Aufbau des Protonengradienten beitragen (Abb. 13.6). Die Fumaratreduktase verwendet aufgrund des niedrigeren Redoxpotenzials **Menachinol** ($E_0' = -100 \text{ mV}$) anstelle von Ubichinol ($E_0' = +45 \text{ mV}$) als Elektronendonator. Deshalb tauscht *E. coli* ebenso wie andere fakultative Arten beim Umschalten auf Fumaratatmung auch den Chinonpool von Ubichinon zu Menachinon aus. Die beiden Elektronen, die die Fumaratreduktase zur Reduktion des Succinats benötigt, stammen aus Formiat, das durch die Formiatdehydrogenase in CO_2 , 2 H^+ und 2 e^- gespalten wird. Die Formiatdehydrogenase hat ihr aktives Zentrum im Periplasma, sodass die entstehenden Protonen direkt zum Protonengradienten beitragen (skalärer Mechanismus – im Gegensatz zum vektoriellen Mechanismus, bei dem die Protonen durch die Membran verschoben werden, wie z.B. beim Komplex I der Atmungskette).

Fumarat kann aus äußeren Quellen stammen, entsteht aber auch (in geringeren Mengen) endogen bei diversen Gärungsstoffwechselwegen. Die Fumaratreduktase ist unter anderem an der **gemischten Säuregärung** der Enterobakterien (Kap. 12.4) oder der **Propionsäuregärung** (Kap. 12.6) beteiligt. Darüber hinaus nutzen sogar einige (fakultativ) anaerobe Tiere, wie darmbewohnende Band- oder Spulwürmer, der Wattwurm *Arenicola marina* oder einige Muschel- oder Schneckenarten bei Sauerstoffmangel die Fumaratatmung zur Energiekonservierung. Gelegentlich dienen auch andere ungesättigte organische Verbindungen als Elektronenakzeptoren einer anaeroben Atmung, z. B. Crotonat oder Caffeat.

Reaktionsschema der Fumaratatmung:

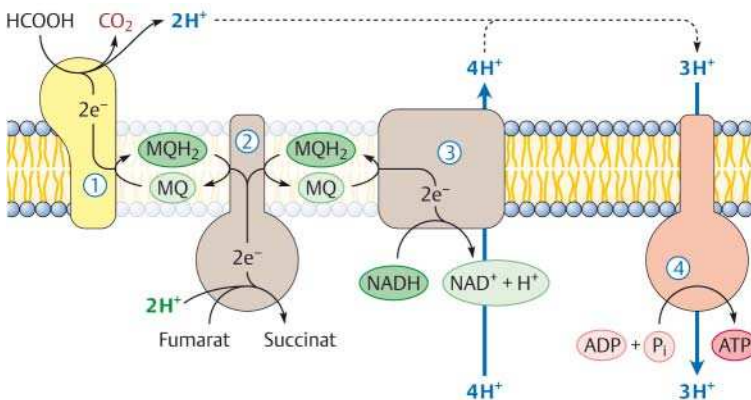
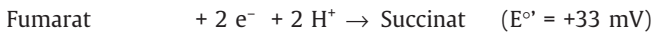


Abb. 13.6 Schema der Fumaratatmung. Durch Kopplung der Fumaratreduktase-Reaktion mit membranständigen Dehydrogenasen wird ein Protonengradient aufgebaut, der durch die ATP-Synthase (ATPase) zur Regeneration von ATP genutzt wird. ① Formiatdehydrogenase; ② Fumaratreduktase; ③ Atmungskettenkomplex I (NADH-Ubichinon-Oxidoreduktase; ④ ATP-Synthase.

13.4

Oxidisierte Metallionen als Elektronenakzeptoren

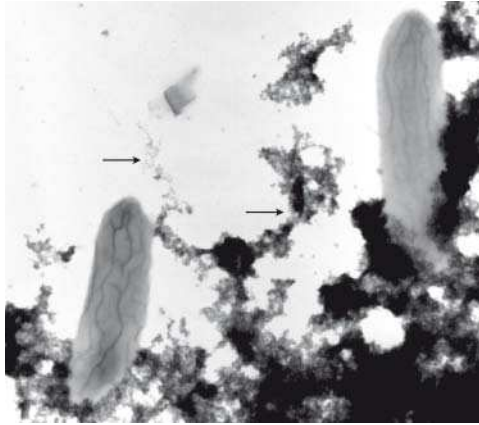
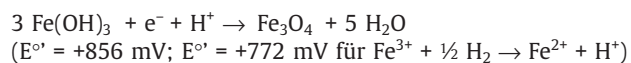


Abb. 13.7 Zellen von *Geobacter sulfurreducens* mit ausgefallenen Eisenmineralien. Neue Erkenntnisse lassen vermuten, dass die Zellen pilus-ähnliche Oberflächenstrukturen als elektrische Leiter benutzen, um Elektronen aus dem Zellstoffwechsel auf die unlöslichen Eisenminerale zu übertragen (Pfeile, Aufnahme Gemma Reguera).

Oxidisierte Metallionen wie Fe^{3+} oder Mn^{4+} werden von vielen Bakterien als terminale Elektronenakzeptoren genutzt; sie müssen wegen der **Unlöslichkeit ihrer Salze bzw. Metalloxide** außerhalb der Zelle verbleiben. Besonders bekannte Vertreter dieses Stoffwechseltyps sind die Proteobakteriengattungen *Geobacter* und *Shewanella* (Abb. 13.7). Das theoretische Redoxpotenzial von Fe^{3+} ($E_0' = +772 \text{ mV}$) ist fast so hoch wie das von Sauerstoff, jedoch liegen die realen Potenziale in den meisten Bakterienhabitaten wegen der Schwerlöslichkeit der Metalloxide wesentlich niedriger und können je nach den lokalen Gegebenheiten stark variieren. Metallionenreduzierende Bakterien reduzieren Fe^{3+} aus extrazellulären, schwerlöslichen Mineralien zu Fe^{2+} , bzw. Mn^{4+} in Form von MnO_2 in Brauneisen-Mineralien zu Mn^{2+} . Sie müssen also Reduktionsäquivalente aus dem Cytoplasma auf diese extrazellulären Elektronenakzeptoren weiterleiten. Es ist aber noch unklar, wie diese geforderten Elektronentransfersysteme beschaffen und an eine Protonenausschleusung gekoppelt sind. Vor kurzem sind bei einigen eisenreduzierenden Bakterien spezielle pilus-ähnliche Oberflächenstrukturen entdeckt worden, die als mögliche Elektronenleiter von der Zelle zum Eisenmineral in Frage kommen (Abb. 13.7). Alternativ können aber auch Thiole oder Phenole bzw. Chinone als lösliche und diffusible Redoxmediatoren dienen. Deren oxidierte Form (z. B. Cystin, Cys-S-S-Cys) wird durch eine membranständige Reduktase zum Thiol bzw. Chinol reduziert. Letzteres diffundiert dann zum Eisenmineral, reduziert chemisch das Fe(III) zu Fe(II) und wird dabei selbst wieder oxidiert, sodass der Kreislauf von neuem beginnen kann.

Als Stoffwechselendprodukt der Eisen(III) reduzierenden Bakterien wird meist das gemischte Eisen(II,III)-Oxid **Magnetit** (Fe_3O_4) gebildet, das wegen seiner geringen Wasserlöslichkeit und seines starken Ferromagnetismus leicht mit einem Magneten nachgewiesen werden kann. Jedes umgesetzte Fe^{3+} -Ion nimmt jeweils nur ein Elektron auf; zudem bleiben bei Bildung von Magnetit 2/3 des verfügbaren Fe^{3+} oxidiert. Deshalb müssen große Mengen des schwerlöslichen Elektronenakzeptors umgesetzt werden, um Energie für das Zellwachstum zu konservieren. Dies erklärt das sehr langsame und geringe Wachstum dieser Organismen. Im Labor ist es oft möglich, durch den Einsatz von Fe^{3+} in Form löslicher Chelate (Fe(III)-Citrat oder Fe(III)-EDTA) wesentlich bessere Wachstumsraten und -erträge zu erzielen.

Reaktionsschema der dissimilatorischen Eisen(III)-Reduktion:



13.5

Sulfat als Elektronenakzeptor

Die sulfatreduzierenden Mikroorganismen (auch „Desulfurikanten“ oder „Sulfidogene“ genannt) verwenden **Sulfat als Elektronenakzeptor** ihrer anaeroben Atmung. Das Sulfat wird dabei zu H_2S reduziert. Alle bekannten Arten sind **obligat anaerob** und verfügen über keine aeroben Atmungsketten (siehe aber Plus 13.4). Sie besetzen eine wichtige ökologische Nische und sind überall in anaeroben Sedimentschichten zu finden.

Wegen der hohen Sulfatkonzentration des Meerwassers (28 mM) spielt die Sulfatreduktion in **marinen Sedimenten** eine wesentlich größere Rolle als im Süßwasser. An manchen Standorten, wie im Schwarzen Meer, reicht der anaerobe Bereich sogar bis in die Wassersäule und die Sulfatreduktionszone ist nicht auf die tieferen Schichten des Sediments beschränkt.

Sulfatreduktion ist eine physiologische Eigenschaft, die man bei mehreren phylogenetischen Gruppen von anaeroben Mikroorganismen findet: die meisten bekannten Arten sulfatreduzierender Mikroorganismen findet man in der delta-Gruppe der Proteobakterien (z. B. die Gattungen *Desulfovibrio*, *Desulfococcus*, *Desulfobacterium* oder *Desulfonema*). Daneben gibt es aber auch grampositive Bakterien (Gattung *Desulfotomaculum*), einige thermophile, phylogenetisch tief abzweigende eubakterielle Gattungen (z. B. *Thermodesulfobacterium*) und sogar eine Gattung der Archaeobakterien (*Archaeoglobus*), die Sulfat als Elektronenakzeptor nutzen.

Sulfatreduzierende Mikroorganismen bevorzugen als Substrate Gärungsprodukte anderer Mikroorganismen, z. B. Milchsäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und weitere Fettsäuren, Methanol, Ethanol, Ameisensäure oder H_2/CO_2 . Einige Arten bauen auch exotischere Substanzen ab, z. B. aromatische Verbindungen oder Kohlenwasserstoffe. Bei vielen Arten findet man dabei eine „Spezialisierung“ auf wenige Substrate, die dann sehr effektiv genutzt werden können. Nach dem Typ des Kohlenstoffstoffwechsels kann man die Sulfatreduzierer dabei in mehrere physiologische Untergruppen einteilen:

Unvollständige Oxidierer. Hierzu gehört insbesondere die Gattung *Desulfovibrio*. Bevorzugte Substrate der Arten dieser Gruppe sind Lactat und andere organische Säuren, die sich zu Pyruvat transformieren lassen. Die unvollständig oxidierenden Sulfatreduzierer oxidieren diese Substrate bis zur Stufe des Acetyl-CoA, können dieses aber nicht weiter abbauen und scheiden **Acetat als Endprodukt** aus. Einige Arten verwerten Wasserstoff als Elektronendonator, brauchen dann aber zugesetztes Acetat für die Biosynthese der Zellbestandteile.

Vollständige Oxidierer. Zu dieser Gruppe gehören viele Gattungen der Familie *Desulfobacteriaceae*, einige Arten von *Desulfotomaculum* und viele andere. Diese Organismen zeichnen sich dadurch aus, dass sie auch Acetat, bzw. Acetyl-CoA-Einheiten aus dem Abbau anderer Verbindungen **vollständig zu CO_2 und Wasser** oxidieren. Deshalb findet man nur in dieser Gruppe Vertreter, die Fettsäuren, Kohlenwasserstoffe oder Aromaten als Substrate nutzen, bei deren Abbau Acetyl-CoA-Einheiten entstehen. Der Abbau von Acetyl-CoA erfolgt dabei je nach Art über den oxidativen Citratzyklus oder den oxidativen Acetyl-CoA-Weg (siehe Kap. 13.7).

Autotrophe. Einige Sulfatreduzierer können unter autotrophen Bedingungen mit H_2 und CO_2 als Substraten wachsen. Diese Eigenschaft ist in allen phylogenetischen Gruppen der Sulfatreduzierer weit verbreitet und findet sich bei verschiedenen Arten und Stämmen der Familie *Desulfobacteriaceae* (z. B. *Desulfobacterium autotrophicum*) oder der Gattungen *Desulfotomaculum* (grampositive Bakterien) und *Archaeoglobus* (Archaeobakterien). Die CO_2 -Fixierung erfolgt bei den meisten dieser Organismen über den **reduktiven Acetyl-CoA-Weg**, der bei den acetogenen und methanogenen Mikroorganismen näher erläutert wird (Kap. 13.7, 13.8). Alternativ verwenden einige autotrophe Stämme für die CO_2 -Fixierung den **reduktiven Citratzyklus** (Kap. 8.6.1).

Plus 13.4 Sulfatreduzierer und ihr Verhältnis zu Sauerstoff

In letzter Zeit sind in einigen *Desulfovibrio*-Arten **primitive Sauerstoffschutzsysteme** identifiziert worden. In diesem System reduziert eine **Rubredoxin-Oxidoreduktase** das toxische Superoxidradikal zu Wasserstoffperoxid welches dann mit Hilfe eines **Ruberythrins** mit NADH weiter zu Wasser reagiert. Diese Enzyme erlauben diesen Organismen, geringe Konzentrationen von Sauerstoff zu tolerieren, während andere Arten wesentlich sensibler auf die Anwesenheit von Sauerstoff reagieren.

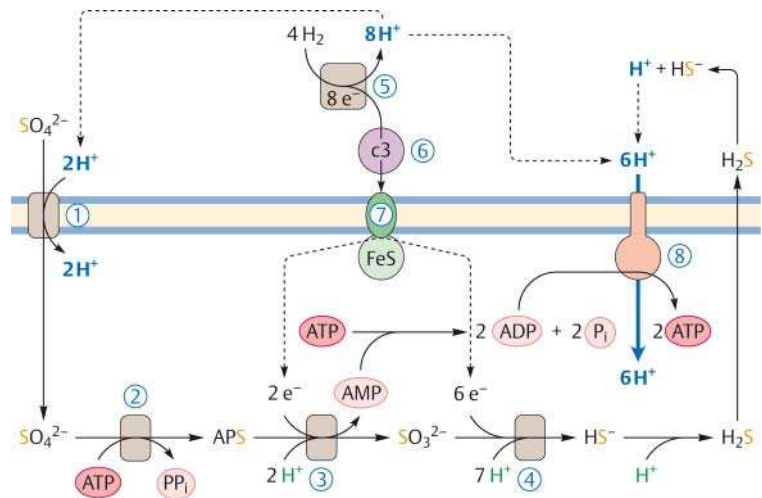


Abb. 13.8 Schema der Sulfatreduktion. Erklärung siehe Text.

Biochemie der Sulfatreduktion

Die Sulfatreduktion beginnt mit dem notwendigen **Transport von Sulfat** ins Cytoplasma unter Aufwendung von Energie über Protonen- oder Na^+ -abhängige Sulfatsymporter (1 in Abb. 13.8). Wegen der zwei negativen Ladungen des Sulfats müssen mindestens zwei Protonen (bzw. Na^+) pro Sulfat aufgenommen werden (elektroneutraler Transport); es gibt aber Arten, die drei Protonen mit Sulfat symportieren (elektrogener Transport). Die Reduktion von Sulfat zu Sulfid erfolgt wie bei der assimilatorischen Sulfatreduktion beschrieben (Kap. 8.4.2). Dabei reagiert das Sulfat mit dem AMP-Anteil von ATP zu **Adenosinphosphosulfat (APS)**, wobei Pyrophosphat abgespalten wird (2). Pyrophosphat wird in der Zelle schnell zu 2 Phosphatmolekülen hydrolysiert, was die Reaktion in Richtung APS-Synthese begünstigt. Die Sulfataktivierung kostet also 2 ATP-Äquivalente, die im Verlauf der weiteren Reaktionen wieder regeneriert werden müssen. Das gebildete APS wird zunächst durch eine dissimilatorische **APS-Reduktase** zu Sulfid und AMP reduziert (3). Schließlich wird Sulfid durch eine sirohämhaltige dissimilatorische **Sulfitreduktase** (auch Desulfoviridin, Desulforubidin oder Desulfofusicidin genannt) zu Sulfid reduziert (4). Bei der dissimilatorischen Sulfitreduktion werden auch teilweise reduzierte Intermediate wie Trithionat ($\text{S}_3\text{O}_6^{4-}$) oder Thiosulfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) freigesetzt, die letztlich ebenfalls zu Sulfid reduziert werden.

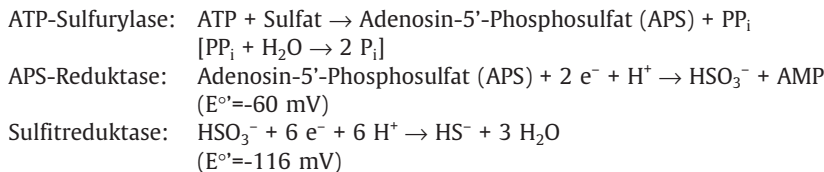
Energetik der Sulfatatmung

APS-Reduktase und Sulfitreduktase liegen löslich im Cytoplasma vor und pumpen keine Protonen über die Membran. Um überhaupt Energie zu konservieren, müssen allerdings beide Reduktionsschritte mit der Bildung von Protonengradienten gekoppelt sein. Letztlich muss die APS- und Sulfitreduktion mehr Energie liefern, als beim Transport und bei der Aktivierung von Sulfat verbraucht werden.

Nach einem aktuellen Modell für die Sulfatatmung werden die Elektronen für die APS- und die Sulfitreduktion über **membranständige Elektronentransportkomplexe** angeliefert, die in Kopplung mit Redoxenzymen

einen Protonengradienten aufbauen. In Abb. 13.8 ist als Beispiel die Koppelung an eine **periplasmatische Hydrogenase** (⑤) gezeigt, die durch ihre Reaktion auf der Außenseite der Membran (also im Periplasma bei gram-negativen Bakterien) einen Protonengradienten aufbaut. Die meisten bekannten Sulfatreduzierer verfügen neben mehreren Nickel-Eisen-Hydrogenasen über eine periplasmatische Eisenhydrogenase, der diese Funktion zugeschrieben wird. Elektronenakzeptor für diese periplasmatische Hydrogenase ist zunächst ein spezielles **periplasmatisches Multi-häm-Cytochrom** (z. B. Cyt c_3 , ⑥), dessen Redoxpotenzial so niedrig liegt ($E^{\circ'} = -205 \text{ mV}$), dass es als Elektronendonator für die Sulfatreduktion in Frage kommt. Die Elektronen werden dann von Cyt c_3 über einen **Membranproteinkomplex** (Hmc-Komplex für „hochmolekulares Cytochrom“ ⑦) auf ein cytoplasmatisches Eisen-Schwefel-Protein (FeS) übertragen, das sie an die beiden Reduktasen weiterleitet. Da für die Reduktion von Sulfat zu Sulfid 8 Elektronen nötig sind, entsteht auf diese Weise auf der periplasmatischen Seite ein Überschuss von 8 Protonen (bei elektro-neutralem Sulfattransport und vollständiger H_2S -Dissoziation), der über die membranständige ATP-Synthase zur ATP-Regeneration genutzt werden kann (⑧). Allerdings wird der größte Teil dieser Energie bereits zur Aktivierung des Sulfats benötigt. Veranschlagt man 1 regeneriertes ATP mit 3 translozierten Protonen, werden 6 der 8 Protonen bereits für die bei der Sulfataktivierung aufgewendeten 2 ATP-Äquivalente verbraucht, so dass sich pro reduziertem Sulfat nur eine **Nettoenergieausbeute** von 1–2 translozierten Protonen ergibt (abhängig von der Art des Sulfataufnahmesystems und dem Dissoziationsgrad des gebildeten extrazellulären H_2S), also weniger als ein ATP-Äquivalent.

Reaktionsschema der Sulfatatmung:



13.5.1 Unterschiede zwischen assimilatorischer und dissimilatorischer Sulfatreduktion

Die meisten Bakterien, Pilze und Pflanzen nutzen Sulfat als Schwefelquelle für die Synthese der schwefelhaltigen Zellbestandteile und reduzieren es dabei zu Sulfid (assimilatorische Sulfatreduktion). Die dabei ablaufenden Reaktionen sind ähnlich zu denen der Sulfatatmung, allerdings wird dabei keine Energie konserviert, sondern im Gegenteil Energie verbraucht (siehe auch Kap. 8.4.2). Die Sulfataufnahme erfolgt bei der Sulfatassimilation meist über einen ATP-abhängigen sog. „ABC“-Transporter. Damit können bereits geringe Sulfatkonzentration ausgenutzt werden, allerdings mit größerem Energieaufwand als beim Sulfat-Protonen-Symport der Sulfatater. Die Sulfataktivierung mit ATP zum APS und Reduktion von APS zu Sulfit ist in beiden Stoffwechselwegen analog, die assimilatorische APS-Reduktase unterscheidet sich aber in Struktur und Biochemie völlig vom dissimilatorischen Enzym. Auch die assimilatorische Sulfitreduktase unterscheidet sich von der dissimilatorischen, obwohl die beiden Enzyme strukturell ähnlich sind.



Abb. 13.9 Schwarzfärbung mariner Sedimente durch Sulfatreduktion. Meist beginnt der Bereich der Sulfatreduktion bereits knapp unter der Oberfläche des Sediments, die aufgrund des Vorherrschens aerober Mikroorganismen in den obersten Schichten noch hell gefärbt ist (Aufnahme A.-M. Schwarz).

13.5.2 Rolle der sulfatreduzierenden Mikroorganismen im Naturhaushalt

Sulfatreduzierer kommen in allen anaeroben Habitaten vor, die hinlängliche Mengen an Sulfat enthalten. In Abwesenheit anderer Elektronenakzeptoren haben sie einen Wachstumsvorteil gegenüber gärenden Bakterien und reichern sich deshalb an. Typische Habitate sind Sedimente von Seen und Meeren, Faulschlamm oder durch organische Kontaminanten verunreinigte Grundwasseradern. Die typische schwarze Farbe (ausgefallenes FeS) und der Schwefelwasserstoffgeruch insbesondere mariner Sedimente (Abb. 13.9) ist auf die Stoffwechseltätigkeit dieser Bakteriengruppe zurückzuführen. Im Meer findet eine vollständige Mineralisation organischer Moleküle unter sulfatreduzierenden Bedingungen statt, ausgenommen sind Lignin und einige Kohlenwasserstoffe (Plus 13.5). Methoden zur Isolierung dieser Organismen sind in Box 13.1 gezeigt.

Box 13.1 Anreicherung und Isolierung sulfatreduzierender Bakterien

Zur Anreicherung sulfatreduzierender Bakterien braucht man ein Mineral-salzmedium mit zugesetztem Sulfat, dem je nach Typ der gewünschten physiologischen Gruppe ein Wasserstoffdonator und eine geeignete C-Quelle (H_2/CO_2 oder organisches Substrat) zugesetzt werden. Anschließend wird das Medium mit Sediment oder Faulschlamm beimpft und einige Tage bei geeigneten Temperaturen unter anaeroben Bedingungen inkubiert (Abb.). Während des Wachstums der Sulfatreduzierer stellt sich ein Redoxpotenzial von ca. -200 mV ein. Kolonien erkennt man an der schwarzen Färbung (FeS).

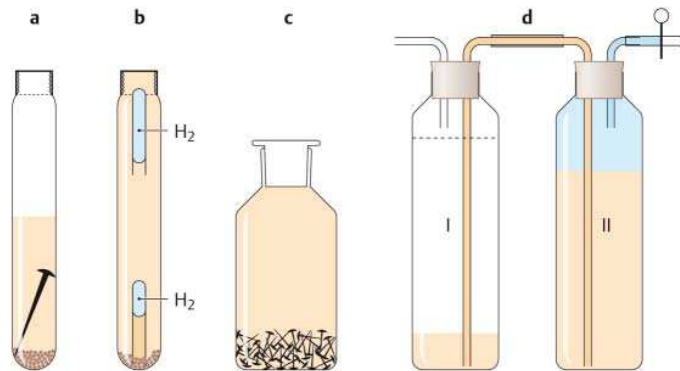


Abb. **a** zeigt eine Nährlösung mit Lactat und Sulfat. Um die notwendigen reduzierenden Bedingungen (tiefes Redoxpotenzial) zu schaffen, befindet sich in dem Röhrchen ein Eisennagel, der auch das gebildete H_2S als FeS abfängt. Bakterien, die molekularen Wasserstoff verwerten, werden mittels eines DURHAM-Röhrchens versorgt (Abb. **b**). Das DURHAM-Röhrchen ist mit H_2 gefüllt und schwimmt vor Beginn der Bebrütung oben. Nach der Bebrütung befindet es sich am Boden. Abb. **c** zeigt Bakterienwachstum mit Spuren organischer Substanz unter Sulfatreduktion und Eisenkorrosion. In der „SÖHNGENSchen Doppelflasche“ (Abb. **d**) werden sulfatreduzierende Bakterien folgendermaßen angereichert. Flasche II wird zunächst mit Nährlösung, die Lactat und Sulfat enthält, gefüllt, dann wird diese Nährlösung durch Einleiten von H_2 in Flasche I hinübergedrückt (gestrichelte Linie zeigt Flüssigkeitsniveau). Während der Bebrütung wird der Wasserstoff in Flasche II verbraucht und das Nährmedium zusammen mit den wachsenden Bakterien wieder in Flasche I zurückgezogen.

Plus 13.5 Ökologische und wirtschaftliche Bedeutung der Sulfatreduzierer

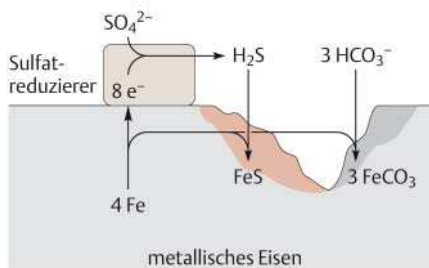
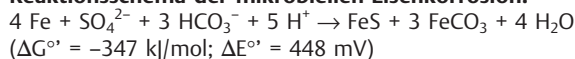
Aufgrund ihres großen Abbauspektrums tragen Sulfatreduzierer wesentlich zur **biologischen Sanierung** von Böden und Sedimenten bei, die mit Chemikalien kontaminiert wurden. Sie bauen z. B. toxische aromatische Verbindungen und sogar Erdölbestandteile ab. Vor kurzem sind sogar methanabbauende Lebensgemeinschaften von sulfatreduzierenden Bakterien und methanoxidierenden Archaeen gefunden worden, die als syntrophe Gemeinschaft unter Sauerstoffausschluss Methan zu CO_2 oxidieren.

Sulfatreduzierer sind allerdings auch verantwortlich für **Schäden** in erheblichem Ausmaß, die durch ihre Stoffwechselaktivität an unerwünschter Stelle entstehen, z. B. bei der Erdölförderung. Einige Bestandteile des Erdöls werden von Sulfatreduzierern abgebaut, sodass es oft zu erheblichen Störungen des Förderbetriebs kommt, besonders wenn das Öl bei der sog. „sekundären Förderung“ in Kontakt mit Meerwasser gelangt. Der dabei gebildete Schwefelwasserstoff stellt ein ernstes Gesundheitsrisiko für die Arbeiter an den Förderanlagen dar (besonders auf Bohrinseln), und die entstehenden Schwermetallsulfide können die Leitungen verstopfen.

Weiterhin bewirken Sulfatreduzierer auch die **anaerobe Korrosion des Eisens** und zerstören so z. B. Metallgeräte bei der Erdölförderung, aber auch Pipelines und Aufbewahrungs-

tanks. Man meint heute, dass dies zum großen Teil durch **direkte Verwertung von metallischem Eisen** als Elektronendonator durch einige besondere sulfatreduzierende Bakterien geschieht; eines der dabei freigesetzten Fe^{2+} -Ionen reagiert mit dem gebildeten H_2S zu unlöslichem FeS , der Rest präzipitiert mit gelöstem Bicarbonat als schwerlösliches FeCO_3 (Abb.).

Reaktionsschema der mikrobiellen Eisenkorrosion:



Korrosion von Eisen durch sulfatreduzierende Bakterien.

13.6 Schwefel als Elektronenakzeptor

Elementarer Schwefel wird von verschiedenen anaeroben Mikroorganismen als terminaler Elektronenakzeptor genutzt und dabei zu Schwefelwasserstoff reduziert (**Schwefelatmung**). Viele der bekannten schwefelreduzierenden Mikroorganismen gehören zu den **hyperthermophilen Archaeobakterien** mit Wachstumsoptima von 90–113 °C (z. B. Gattungen *Thermoproteus*, *Pyrodictum*; Plus 13.6), von denen viele auf diesen Stoffwechseltyp als einzige Energiequelle angewiesen sind (**S-abhängige Archaeobakterien**). Darüber hinaus ist Schwefelatmung auch bei einigen Eubakterien bekannt; am bekanntesten sind hier die Proteobakterien *Desulfuromonas acetoxidans* und *Wolinella succinogenes*. Diese **schwefelatmenden Bakterien** haben in der Regel auch andere alternative Energiestoffwechselwege und induzieren die Enzyme der Schwefelatmung je nach den Umweltgegebenheiten.

Plus 13.6 Schwefelreduktion bei Archaeobakterien

Einige der schwefelabhängigen hyperthermophilen Archaeobakterien scheinen die Schwefelreduktion nicht über die Polysulfidreduktase, sondern über ein anderes Enzymsystem zu katalysieren. Dies trifft besonders auf die **thermoacidophilen** Organismen der Gattung *Acidianus* zu, die autotroph unter aeroben oder anaeroben Bedingungen wachsen. Unter Sauerstoffausschluss betreiben sie Schwefelatmung mit H_2 als Elektronendonator, während sie unter aeroben Bedingungen Schwefel mit Sauerstoff zu Schwefelsäure oxidieren. Zum

Wachstum benötigen sie nicht nur hohe Temperaturen von >80 °C, sondern auch extrem niedrige pH-Werte von 1–2, bei denen Polysulfid nicht mehr stabil ist und zu Sulfid und elementarem Schwefel zerfällt. Die Enzyme der Schwefelreduktion bei diesen Organismen haben keine Ähnlichkeit mit der Polysulfidreduktase, vielmehr scheint ein sehr **großer und komplex aufgebauter Membranenzymkomplex** daran beteiligt zu sein.

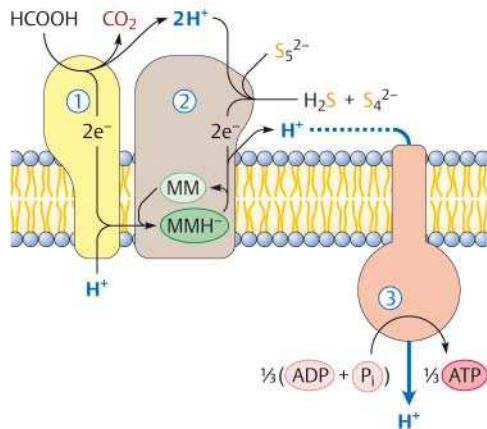
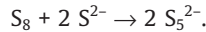


Abb. 13.10 Schema der Polysulfidatmung von *Wolinella succinogenes*. Erklärung siehe Text. ① Formiatdehydrogenase; ② Polysulfidreduktase; ③ ATP-Synthase. MM, Methylmenachinon-Cofaktor der Polysulfidreduktase; MMH⁻, reduzierte Methylmenachinol-Anionform des Cofaktors.

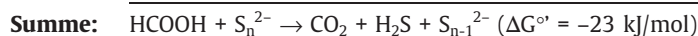
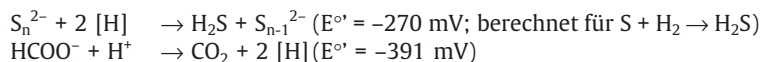
Polysulfidatmung in *Wolinella succinogenes*

Für das anaerobe Pansenbakterium *Wolinella succinogenes* wurde nachgewiesen, dass das eigentliche Substrat der anaeroben Atmung nicht elementarer Schwefel ist, sondern kurze **Polysulfidketten**, die sich aus elementarem Schwefel (ein ringförmiges Molekül mit 8 Schwefelatomen, S₈) und Sulfid in wässriger Lösung spontan bilden:



Die Schwefelatmung in *W. succinogenes* wird durch die **Polysulfidreduktase** katalysiert, einem membranständigen **Molybdänenzym**, das einen ungewöhnlichen fest gebundenen **Methylmenachinon-Cofaktor** (Mena-chinon) enthält. Eine Polysulfidkette (z. B. S₅²⁻) wird von diesem Enzym zu Schwefelwasserstoff und einem verkürzten Polysulfid (z. B. S₄²⁻) umgesetzt (② in Abb. 13.10). Der Prozess wird so lange wiederholt, bis das Polysulfid vollständig zu Sulfid reduziert ist. Als Elektronendonatoren für die Polysulfidatmung verwendet *W. succinogenes* entweder Formiat oder Wasserstoff, die jeweils durch eine membranständige Oxidoreduktase oxidiert werden (①). Die aktiven Zentren all dieser Redoxenzyme liegen auf der periplasmatischen (äußeren) Seite der Membran. Hier wird also der Protonengradient nicht wie bei der Fumaratatmung durch Freisetzung von Protonen außen und Verbrauch von Protonen innen aufgebaut. Stattdessen wird beim Transfer der Reduktionsäquivalente von der Formiatdehydrogenase bzw. der Hydrogenase zur Polysulfidreduktase über den gebundenen Methylmenachinon-Cofaktor dieses Enzyms je ein Proton nach außen transportiert (Abb. 13.10).

Reaktionsschema der Schwefel-/Polysulfidatmung:



Syntrophe Assoziation von *Desulfuromonas acetoxidans* mit grünen Schwefelbakterien

Das marine schwefelreduzierende Bakterium *Desulfuromonas acetoxidans*, das mit den sulfatreduzierenden Bakterien aus der delta-Gruppe der Proteobakterien verwandt ist, koppelt sogar die thermodynamisch wesentlich weniger effiziente Oxidation von Acetat oder Ethanol an die Schwefelreduktion. Der Acetatabbau erfolgt dabei wie bei einigen Sulfatreduzierern über einen modifizierten oxidativen Citratzyklus. Dabei wird Succinyl-CoA verwendet, um durch CoA-Transfer Acetat zu Acetyl-CoA zu aktivieren. Allerdings ist bei diesem Organismus noch unbekannt, wie eine Protonentranslokation über die Membran mit der Acetatoxidation und der Schwefelreduktion gekoppelt ist. *D. acetoxidans* kann **syntrophe Assoziationen** mit phototrophen grünen Schwefelbakterien (*Chlorobium*-Arten) bilden. Das schwefelreduzierende Bakterium versorgt dabei die Chlorobien mit H₂S als Elektronendonator für die phototrophe CO₂-Assimilation, während der phototrophe Partner seinerseits wieder den Schwefel als Elektronenakzeptor für die anaerobe Atmung von *Desulfuromonas* produziert. Das syntrophe Konsortium wird damit unabhängig von der Verfügbarkeit von Schwefel oder Sulfid, es katalysiert einen lichtgetriebenen kleinen **Schwefelkreislauf** (Abb. 13.11).

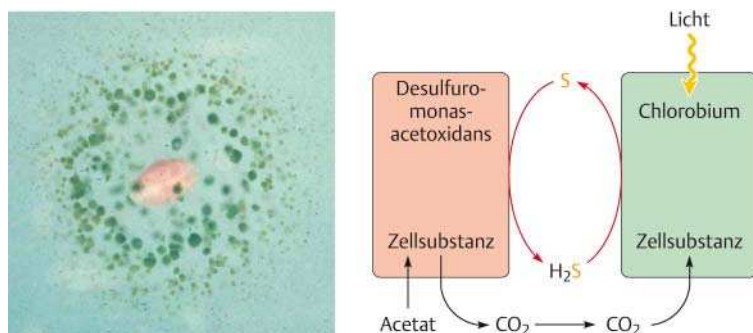


Abb. 13.11 Mischkultur eines schwefelreduzierenden Bakteriums (*Desulfuromonas acetoxidans*) und eines grünen phototrophen Bakteriums (*Chlorobium* sp.) auf einem Agar-Nährboden. In der großen zentralen Kolonie von *Desulfuromonas acetoxidans* wird Acetat oxidiert und Schwefel reduziert. Der Schwefelwasserstoff diffundiert in die Umgebung und dient den Zellen von *Chlorobium* als Wasserstoffdonator für die CO₂-Fixierung. Der ausgeschiedene Schwefel diffundiert zur zentralen Kolonie zurück (vermutlich in Form von Polysulfid) und wird wieder als Elektronenakzeptor verwendet.

13.7 Methanogenese: CO₂ als Elektronenakzeptor

Die strikt anaeroben **acetogenen und methanogenen Mikroorganismen** stehen am Ende der Kette des anaeroben Stoffabbaus. Durch die Stoffwechselaktivität anaerober Mikroorganismen (primärer und sekundärer Gärer, Kap. 12) wird organische Substanz über mehrere Zwischenstufen zu Essigsäure, Wasserstoff und CO₂ vergoren. Diese Produkte werden letztlich von den Methanogenen für ihren Energie- und Baustoffwechsel genutzt. Das natürlich gebildete Methan stammt zu etwa 70 % aus Acetat, der Rest aus H₂ und CO₂ (siehe Kapitel 1.6). Man schätzt, dass bei der Mineralisation organischer Substanz bis 1,5 % des Kohlenstoffs zunächst als Methan freigesetzt wird und erst später zu CO₂ oxidiert wird, vor allem durch abiotische Prozesse in der Atmosphäre. Große Mengen Methan stammen aus Tundren, Süßwassersedimenten und Sumpfgebieten (daher der Name „Sumpfgas“; Abb. 13.12), aber auch aus Reisfeldern, Faultürmen der Kläranlagen („Biogas-Anlagen“) und den Mägen der Wiederkäuer (Pansen) und tragen zur globalen Methanbilanz bei. Schließlich lagern riesige Mengen des Gases (auch abiogenes Methan vulkanischer Herkunft) in der Tiefsee als sog. **Methanhydrate** („Methaneis“), die sich mit Wasser unter hohem Druck und niedrigen Temperaturen bilden (Abb. 13.13). Da Methan ein ca. 20-fach stärkeres Treibhausgas ist als CO₂, wird seit kurzem versucht, die globale Ausstoßrate des Methans aufgrund menschlicher Tätigkeit zu begrenzen.



Abb. 13.12 Nachweis der Bildung von Methan in Sümpfen. Das brennbare Sumpfgas wird in einem Trichter gesammelt und kann dann abgefacelt werden (Aufnahme J. Gescher).



Abb. 13.13 Methanhydrat („Methaneis“) aus der Tiefsee. Unter hohem Druck und den tiefen Temperaturen am Meeresboden bildet sich eine Einschlussverbindung aus Wasser und Methan („Methaneis“), die bei 4 °C bereits bei 35 bar (unterhalb 350 m Wassertiefe) stabil ist. Das feste Methanhydrat zerfällt an der Oberfläche, und dabei wird Wasser und brennbares Methan freigesetzt (Quelle: IFM-GEOMAR, Leibniz-Institut für Meereswissenschaften).

Eigenschaften der Methanogenen

Alle methanogenen Mikroorganismen sind miteinander verwandt und gehören zu den **Archaeobakterien**. Zusammen mit den Halobakterien und einigen hyperthermophilen Gärern bilden sie den Zweig der **Euryarchaeota**. Man teilt die Methanogenen aufgrund einiger physiologischer Eigenschaften und der 16S-rRNA-Sequenzen in 5 Klassen ein, die jeweils nach einer typischen Gattung benannt sind: die *Methanopyrales*, *Methanococcales*, *Methanobacteriales*, *Methanomicrobiales* und *Methanosarcinales* (näheres siehe Kap. 2).

Alle Methanogenen sind strikt anaerob; sie enthalten weder Katalase noch Superoxid-Dismutase als Schutzenzyme gegen toxische Sauerstoffmetabolite (Kap. 7.5.2). Einige Arten tolerieren dennoch kurzen Kontakt mit Sauerstoff, da sie in Form der **Rubredoxin-Oxidoreduktase** (einer Superoxidreduktase) ein alternatives Sauerstoffschutzsystem enthalten, das bereits bei den sulfatreduzierenden Bakterien vorgestellt wurde.

Das **Substratspektrum** der Methanogenen ist eng begrenzt; es beschränkt sich auf **C1-Verbindungen** (z. B. Formiat, Methanol, Methylamine) und **Acetat** als einzige abbaubare C2-Verbindung (bei den *Methanosarcinales*). Viele Arten wachsen darüber hinaus auch autotroph mit H_2 und CO_2 ; das CO_2 wird dabei über den reduktiven Acetyl-CoA-Weg fixiert, der bei den acetogenen Bakterien näher dargestellt ist. Die meisten bekannten Arten verwerten H_2 als Wasserstoffdonator. Eine Sonderstellung unter allen Lebewesen nehmen die Methanogenen insbesondere aufgrund des Vorkommens von ungewöhnlichen **Coenzymen** ein. Bisher sind 7 solcher Coenzyme bekannt, die ohne Ausnahme an wichtigen Reaktionen der

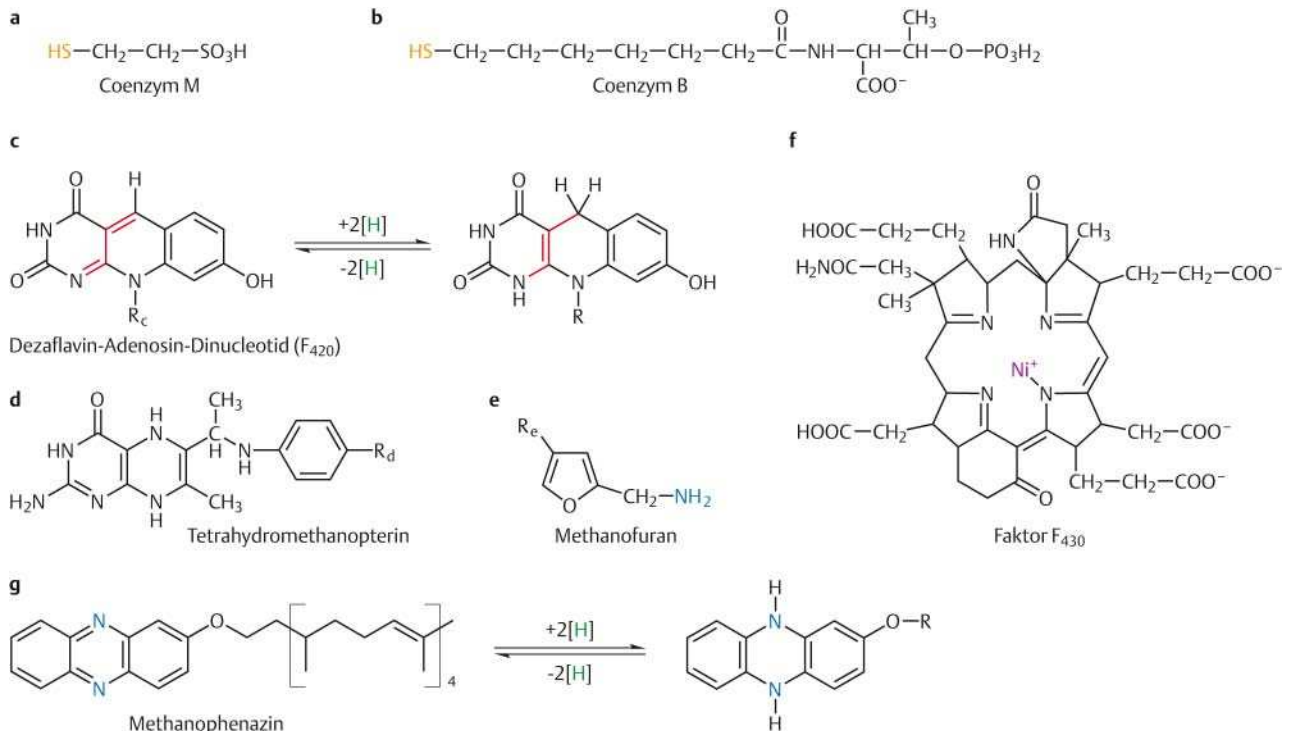


Abb. 13.14 Coenzyme und prosthetische Gruppen der methanogenen Archaeobakterien. R_{c-g} , unterschiedliche Seitenketten.

Methanbildung beteiligt sind. Ihre Namen und Strukturen sind in Abb. 13.14 gezeigt. Vereinzelt wurden einige dieser Coenzyme in letzter Zeit auch bei besonderen Stoffwechselwegen anderer Mikroorganismen entdeckt.

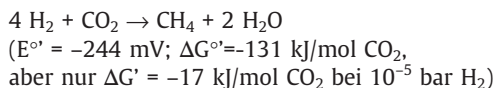
Ökologie der Methanogenen

Am natürlichen Standort sind die Methanogenen stets vergesellschaftet mit gärenden Bakterien, die sie mit Gärungsprodukten wie H₂ („Inter-species-Wasserstoff-Transfer“) oder Acetat versorgen. Sie bilden dabei zusammen mit den Acetogenen die wichtigsten **wasserstoffzehrenden** Mitglieder der Bakterienflora außerhalb des Meeres. Am Standort stellt sich aufgrund der Aktivität der Methanogenen eine extrem niedrige Wasserstoffkonzentration ein, bis zu einem Partialdruck um 10⁻⁵ bar. Einerseits ist bei dieser niedrigen Wasserstoffkonzentration eine Energiekonservierung bei der Methanbildung aus H₂ und CO₂ gerade noch thermodynamisch möglich. Andererseits erlaubt erst eine solch niedrige Wasserstoffkonzentration den sekundären Gärern, Wasserstoff als Gärungsprodukt von Reaktionen freizusetzen, die ansonsten thermodynamisch unmöglich wären (z. B. Oxidation von Fettsäuren zu Acetat und H₂, siehe Kap. 12.7). Nur in der engen Vergesellschaftung von wasserstoffbildenden sekundären Gärern und wasserstoffverbrauchenden Methanogenen können also die Gärungsprodukte, die durch die anaerobe Nahrungskette angeliefert werden, überhaupt verwertet werden.

13.7.1 Methanbildung aus H₂ und CO₂

Die Methanogenen lassen sich in zwei physiologische Untergruppen unterteilen, bei denen sich die Stoffwechselwege und die Enzyme der Methanbildung etwas unterscheiden. Die erste Gruppe umfasst die **wasserstoffoxidierenden** Methanogenen, die im wesentlichen auf H₂/CO₂ bzw. Formiat als Substrate beschränkt sind; sie können weder Acetat noch andere Verbindungen mit Methylgruppen abbauen. Gut untersuchte Vertreter dieser Gruppe sind Arten der Gattungen *Methanococcus*, *Methanobacterium* oder *Methanopyrus*. Von den ungewöhnlichen Coenzymen, die in Methanogenen gefunden werden, fehlt diesen Organismen das Methanophenazin. Die Gesamtreaktion der Methanbildung aus H₂/CO₂ lautet:

Reaktionsschema Methanbildung aus CO₂:



Der Stoffwechselweg der Methanbildung aus H₂/CO₂ ist in Abb. 13.15 gezeigt. Der Wasserstoff wird von verschiedenen Hydrogenasen verwendet, um Coenzyme zu reduzieren (①). Zuerst wird CO₂ durch eine membranständige **Formyl-Methanofuran-Dehydrogenase** an das erste der methanogenen Coenzyme, Methanofuran, gebunden und zur Formylgruppe reduziert (②). Da diese Reaktion endergon ist, muss das Enzym durch Einstrom von Na⁺-Ionen ins Cytoplasma angetrieben werden. Die Formylgruppe wird von Methanofuran auf das nächste Coenzym **Tetrahydromethanopterin** übertragen und anschließend durch reduziertes **Coenzym F₄₂₀** (ein Deazaflavin mit ähnlichen Redox-eigenschaften wie

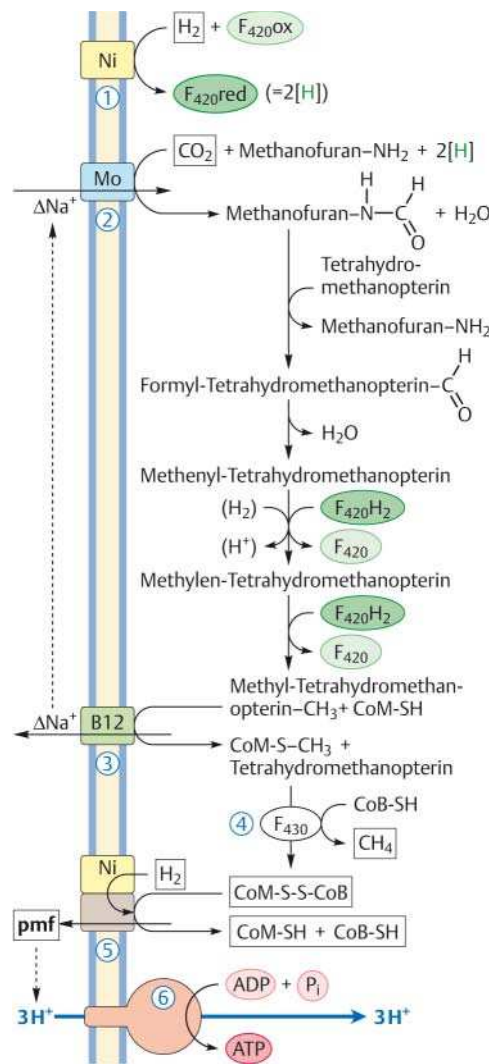


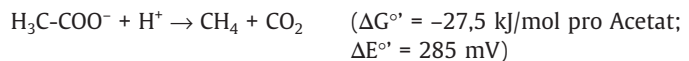
Abb. 13.15 Methanbildung aus H₂ und CO₂. ① F₄₂₀-reduzierende Hydrogenase (Ni-Cofaktor); ② Formyl-Methanofuran-Dehydrogenase (Molybdän-Cofaktor); ③ Methyltransferase (B₁₂-Cofaktor); ④ Methyl-CoM-Reduktase; ⑤ Hydrogenase/Heterodisulfid-Reduktase-Komplex; ⑥ ATP Synthase. ΔNa⁺, Na⁺-Gradient; pmf, Proton Motive Force. Für die Reduktion von Methenyl-Tetrahydromethanopterin nutzen einige Methanogene eine spezielle Hydrogenase anstelle von F₄₂₀H₂.

NADH; $E^{\circ} = -360 \text{ mV}$) auf die Stufe von Methyl-Tetrahydromethanopterin reduziert. Die Methylgruppe wird anschließend durch ein weiteres Membranenzym auf die Thiolgruppe von **Coenzym M** (CoM-SH) übertragen (③); bei dieser exergonen Reaktion wird Energie in Form eines Na^+ -Gradienten konserviert. Das Methyl-CoM wird schließlich durch die **Methyl-CoM-Reduktase** mit Hilfe eines weiteren spezifischen Coenzym (CoB-SH, ebenfalls mit einer Thiolgruppe) zu Methan und einem **gemischten Disulfid** aus CoM und CoB (CoM-S-S-CoB) umgesetzt (④). Die Methyl-CoM-Reduktase enthält einen fest gebundenen Nickel-Tetrapyrrol-Cofaktor, das **Coenzym F₄₃₀** (Absorptionsmaximum bei 430 nm). Zuletzt wird das gemischte Disulfid (CoM-S-S-CoB) durch die membranständige **Heterodisulfid-Reduktase** wieder zu den Coenzymen M und B reduziert (⑤); bei dieser Reaktion wird ebenfalls Energie in Form eines Protonengradienten konserviert. Die Energiekonservierung verläuft dann über eine ATP-Synthase; daher ist es auch berechtigt, die Methanogenese als anaerobe „CO₂-Atmung“ anzusehen. Da die Na^+ -Ionen, die durch die Methyltransferase über die Membran gepumpt werden, zum Antreiben der einleitenden Reaktion gebraucht werden, bleiben netto nur die **translozierten Protonen der Heterodisulfid-Reduktase-Reaktion** übrig. Vermutlich wird pro gebildetem Methan nur ein Proton transloziert, sodass die Reaktion drei oder vier mal ablaufen muss (je nach „Stöchiometrie“ der ATP-Synthase), um ein ATP zu regenerieren.

13.7.2 Methanbildung aus Acetat

Unter den Methanogenen verwerten nur die **Methanosarcinales** Acetat als Substrat. Darüber hinaus wachsen viele *Methanosarcina*-Arten auch mit Methanol oder anderen Substraten mit Methylgruppen. Außer den bereits vorgestellten methanogenen Coenzymen findet man bei diesen Mikroorganismen zusätzlich **Methanophenazin** (Abb. 13.14), das als Elektronenüberträger in der Membran dient; außerdem sind in den Zellen im Gegensatz zu denen der wasserstoffoxidierenden Arten **Cytochrome** enthalten. Die Gesamtreaktion der methanogenen Acetat-Spaltung lautet:

Reaktionsschema Methanbildung aus Acetat:



Man sieht, dass bei der Reaktion Acetat zu Methan und CO₂ disproportioniert wird, d. h. die Methylgruppe des Acetats wird zu Methan reduziert, während die Carboxygruppe zu CO₂ oxidiert wird. Hohe Mengen CO₂ im Biogas aus den Faultürmen von Kläranlagen und landwirtschaftlichen Betrieben zeugen von der Bedeutung der Acetatspaltung für die Methanbildung in der Natur.

Der Stoffwechselweg der Methanbildung aus Acetat ist in Abb. 13.16 gezeigt. Acetat wird in die Zelle aufgenommen und zunächst unter ATP-Hydrolyse zu Acetyl-CoA aktiviert (① und ②). Das Schlüsselenzym der acetatspaltenden Methanogenen ist eine bifunktionale **Kohlenmonoxid-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthase** (③), die in beiden funktionellen Modulen jeweils Nickel und Eisen-Schwefel-Zentren enthält. Das Acetyl-CoA-Synthasemodul dieses Enzyms spaltet Acetyl-CoA zu CoA und enzym-gebundenen CO- und Methyleinheiten. Das gebundene CO wird auf das CO-Dehydrogenasemodul übertragen und dort unter Beteiligung von Wasser mit Ferredoxin zu CO₂ oxidiert (③); die freigesetzten Elektro-

nen werden vom Ferredoxin auf den Methanophenazinpool in der Membran übertragen (⑤). Die gebundene Methylgruppe des Acetyl-CoA-Synthasemoduls wird durch membranständige Methyltransferasen zunächst auf einen Tetrahydromethanopterin-Cofaktor (④) und weiter auf CoM (⑥) übertragen. Bei beiden Methyltransferreaktionen wird Energie in Form eines Protonen- oder Na⁺-Gradienten konserviert. Die weiteren Schritte (Reaktionen der Methyl-CoM-Reduktase ⑦ und der Heterodisulfid-Reduktase ⑧) sind identisch zu den Reaktionen der Methanbildung aus H₂ und CO₂. Allerdings besitzen die *Methanosarcinales* einen anderen Typ von Heterodisulfid-Reduktase, der mit reduziertem Methanophenazin als Elektronendonator reagiert. Auch hier werden bei der Reaktion der Heterodisulfid-Reduktase Protonen über die Membran gepumpt. In diesem Stoffwechselweg werden an insgesamt drei Stellen Protonen bzw. Na⁺-Ionen gepumpt. Ein großer Teil der konservierten Energie aus dem Reaktionszyklus wird allerdings auch für die anfängliche Acetataktivierung und evt. den Transport des Acetats aufgewendet, so dass auch bei der Acetatspaltung netto nur wenig Energie konserviert wird. Potenzielle zusätzliche Energiekopplungsstellen sind die methanophenazinabhängigen Reaktionen, wobei hier noch nicht bekannt ist, ob dabei weitere Ionen über die Membran gepumpt werden.

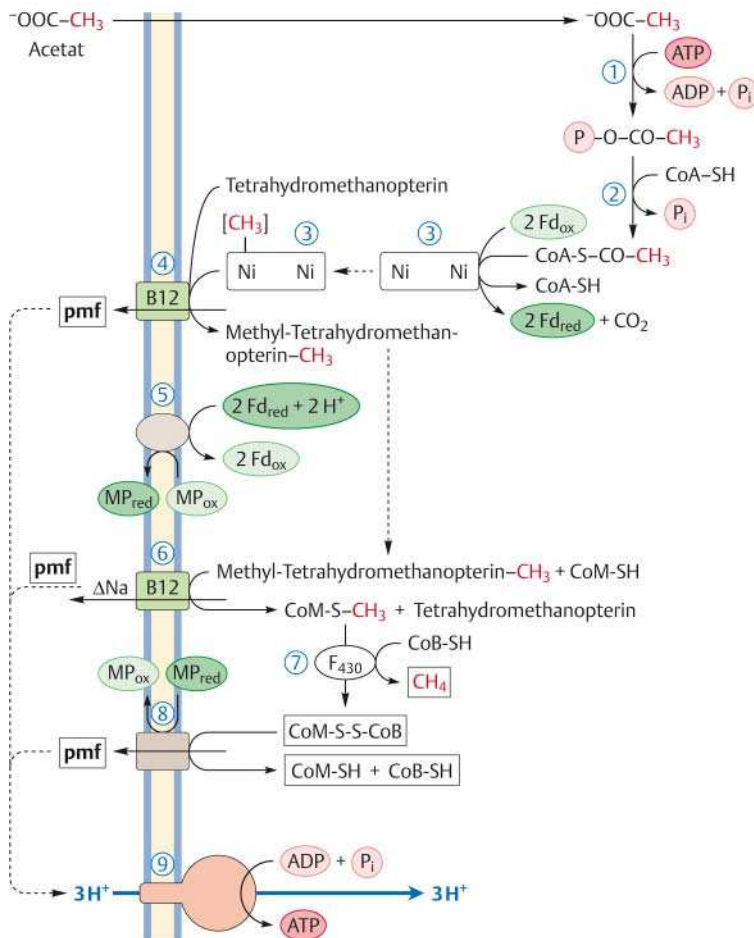


Abb. 13.16 Methanbildung aus Acetat. Enzyme: ① Acetatkinase; ② Phosphotransacetylase; ③ CO-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthasekomplex (Ni-Cofaktor); ④ Methyltransferase (B₁₂-Cofaktor); ⑤ Ferredoxin-Methanophenazin-Oxidoreduktase; ⑥ Methyltransferase (B₁₂-Cofaktor); ⑦ Methyl-CoM-Reduktase; ⑧ Methanophenazin-abhängige Heterodisulfid-Reduktase; ⑨ ATP-Synthase. ΔNa⁺, Na⁺-Gradient (wird über Na⁺-Protonen Antiporter zu Proton Motive Force, pmf, umgewandelt). Die verwendeten Wasserstoffmoleküle werden durch verschiedene Hydrogenasen oxidiert.

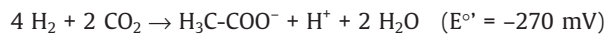
13.8

Acetogenese: CO₂ als Elektronenakzeptor

Acetogene Bakterien sind wie die methanogenen Archaeobakterien an vielen anaeroben Standorten zu finden. Obwohl die beiden Gruppen von Mikroorganismen in ihrer Physiologie und Biochemie große Ähnlichkeiten aufweisen, sind sie nicht miteinander verwandt. Alle acetogenen Mikroorganismen gehören zu den **Bakterien**; die meisten bekannten Arten gehören entweder zu den grampositiven Bakterien mit niedrigem GC-Gehalt der chromosomalen DNA (z. B. *Clostridium acetivum*, *Moorella thermoacetica*, *Acetobacterium woodii*) oder zu erst vor kurzem entdeckten anaeroben Spirochaeten, die als Symbionten im Darm von Termiten leben.

Biochemie der Acetogenese

Die acetogenen Bakterien betreiben wie die Methanogenen eine Art „CO₂-Atmung“ mit Wasserstoff als Elektronendonator, bilden dabei aber nach folgender Gleichung nicht Methan, sondern Acetat als Endprodukt.

Reaktionsschema der Acetogenese:

Der Stoffwechselweg der Acetogenese (Abb. 13.17) kann als eine Art Umkehrung der Acetatspaltung durch die *Methanosarcinales* angesehen werden. Obwohl einige wichtige Schritte durch sehr ähnliche Enzyme katalysiert werden, gibt es auch bedeutsame Unterschiede zwischen den beiden Wegen. Anstelle des typischen methanogenen C₁-Gruppenüberträgers Tetrahydromethanopterin finden wir bei den acetogenen Bakterien **Tetrahydrofolat** (THF) in dieser Funktion; dieses wird unter ATP-Hydrolyse mit Formiat beladen, das durch eine reversible **Formiat-dehydrogenase** (①) aus CO₂ gebildet wurde. Zudem fehlen bei den Acetogenen auch die weiteren typischen Enzyme der Methanogenese.

Das Schlüsselenzym des Acetyl-CoA Wegs, der **CO-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthasekomplex** (⑤), ist sowohl bei acetogenen Bakterien als auch bei methanogenen Archaeobakterien in sehr ähnlicher Form vorhanden. Das Enzym besteht aus zwei unabhängigen Modulen: Das CO-Dehydrogenasemodul reduziert an einem Ni-FeS-Zentrum reversibel CO₂ zu CO, das Acetyl-CoA-Synthasemodul katalysiert die Synthese oder die Spaltung von Acetyl-CoA an einen Ni-Ni-FeS Zentrum (Abb. 13.17). Für die Acetyl-CoA-Synthese werden dabei folgende Bausteine verwendet:

1. ein Molekül CO, das vom CO-Dehydrogenasemodul des selben Enzyms bereitgestellt wird;
2. eine gebundene Methylgruppe, die durch eine membranständige, Co-faktor-B₁₂-haltige Methyltransferase (④) von Methyl-Tetrahydrofolat auf das Acetyl-CoA-Synthasemodul übertragen wird;
3. Coenzym A.

Beim Transfer der Methylgruppe wird eine geringe Menge Energie frei, die wie bei den methanogenen Stoffwechselwegen als Protonen- oder Na⁺-Gradient konserviert wird. Zuletzt wird das gebildete Acetyl-CoA über Phosphotransacetylase und Acetatkinase (⑥) zu Acetat umgesetzt. Das dabei gewonnene ATP liefert gerade die Energie, die für die Synthese von Formyl-Tetrahydrofolat gebraucht wird, sodass lediglich der bei der Methyltransferreaktion aufgebaute Protonengradient zur Energiekonservierung genutzt werden kann. Wie bei der Methanogenese müssen auch

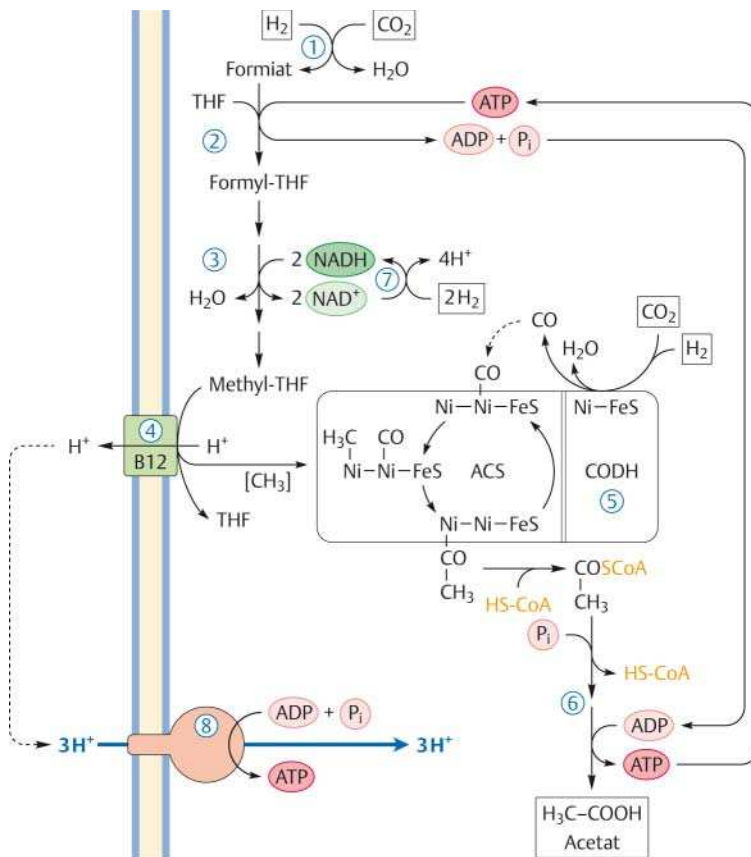


Abb. 13.17 Schema der Acetatbildung aus H₂ und CO₂. THF, Tetrahydrofolat; ① Formiat-Dehydrogenase; ② Formyl-THF-Synthetase; ③ C1-Stoffwechsel, Reduktion von Formyl-THF zu Methyl-THF; ④ Methyltransferase; ⑤ CO-Dehydrogenase (CODH)/Acetyl-CoA-Synthase(ACS)-Komplex; ⑥ Phosphotransacetylase und Acetatkinase; ⑦ Hydrogenase; ⑧ ATP-Synthase. Am Ni-Ni-FeS-Cofaktor der Acetyl-CoA-Synthase ist der vermutete Reaktionszyklus dargestellt. Anstelle des Enzyms mit zwei Ni-Atomen im aktiven Zentrum sind auch inaktive Isoformen mit Ni-Cu- oder Ni-Zn-Paaren bekannt.

hier mehrere Reaktionszyklen durchlaufen werden, um genug Protonen für die Synthese eines ATP über die ATP-Synthase (⑧) zu translozieren.

Die Acetogenen nutzen also wie die Methanogenen die gasförmigen Gärungsendprodukte anderer anaerober Mikroorganismen für ihren Energiestoffwechsel. Einige Acetogene, z. B. *Moorella*-Arten, vergären auch Zucker zu Acetat als einzigem Gärungsendprodukt („**Homoacetatgärung**“). Pro Glucose werden dabei drei Acetat gebildet. Zwei davon entstehen über den konventionellen Gärungsweg (Kap. 12.8); das dritte Acetat wird durch Acetogenese aus den bei der Glucosevergärung anfallenden 2 CO₂ und den 8 Reduktionsäquivalenten (8[H] entsprechen 4 H₂) synthetisiert. Aus dem etwas geringeren ΔG°-Wert der Acetogenese im Vergleich zur Methanbildung kann man berechnen, dass die acetogenen Bakterien im natürlichen Lebensraum auf etwa 10fach höhere Wasserstoffkonzentrationen angewiesen sind als die Methanogenen. Die größere Stoffwechselvielfalt der Acetogenen verschafft ihnen jedoch Vorteile gegenüber den hoch spezialisierten Methanogenen.

Das durch die Acetogenese produzierte Acetat kann wiederum von Methanogenen (z. B. *Methanosarcina*-Arten) als Substrat genutzt werden (vgl. Tab. 13.2). Zugleich sind die acetogenen Bakterien in der Lage, autotroph mit CO₂ als einziger C-Quelle zu wachsen. Die CO₂-Fixierung erfolgt dabei – wie in leicht abgewandelter Form auch bei den autotrophen methanogenen Archaeobakterien – über die Bildung von Acetyl-CoA aus H₂ und CO₂ (reduktiver Acetyl-CoA-Weg, Kap. 8.6.1).

Tab. 13.2 Unterschiede zwischen wasserstoffoxidierenden und acetatspaltenden methanogenen Archaeobakterien und aceto-genen Bakterien.

	H ₂ oxidierende Methanogene	acetatspaltende Methanogene	Acetogene Bakterien
Typische Gattung	<i>Methanococcus</i>	<i>Methanosarcina</i>	<i>Moorella</i>
Ur-Reich	Archaeobakterien	Archaeobakterien	Eubakterien
Reaktion	$4 \text{ H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{ H}_2\text{O}$	$\text{Acetat} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	$4 \text{ H}_2 + 2 \text{ CO}_2 \rightarrow \text{Acetat}$
Spezifische analoge Cofaktoren/Enzyme	–	Methanophenazin	Chinone
	Tetrahydromethanopterin	Tetrahydromethanopterin	Tetrahydrofolat
	B ₁₂ -haltige Methyltransferase	B ₁₂ -haltige Methyltransferasen	B ₁₂ -haltige Methyltransferase
	Methyl-CoM-Reduktase	Methyl-CoM-Reduktase	–
	H ₂ -gekoppelte Heterodisulfid-Reduktase	Methanophenazin-gekoppelte Heterodisulfid-Reduktase	–
Autotrophie	Acetyl-CoA-Biosynthese über CO-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthase (CODH/ACS)		
Weitere Funktion der CODH/ACS	–	Acetyl-CoA-Spaltung	Acetogenese

13.9 Reduktion weiterer Elektronenakzeptoren

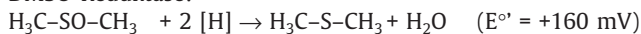
Außer den bisher genannten Elektronenakzeptoren für anaerobe Atmungsprozesse verwenden Mikroorganismen eine Vielzahl weiterer Verbindungen, oft wahlweise zu mehreren anderen. Hier kann nur eine kleine Auswahl weiterer anaerober Atmungsprozesse mit solchen Verbindungen vorgestellt werden.

13.9.1 Sulfoxide und Aminoxide

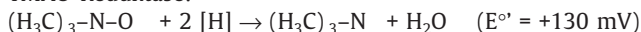
Diese Verbindung kommen in der Natur vor, vor allem im marinen Habitat, wo sie aus Ausscheidungsprodukten diverser Organismen durch biotische oder abiotische Abbauprozesse entstehen. Am bedeutendsten sind das **Dimethylsulfoxid** (DMSO) und das **Trimethylaminoxid** (TMAO). DMSO und TMAO werden von vielen Bakterien, unter anderen auch *Escherichia coli*, durch induzierbare und substratspezifische DMSO- bzw. TMAO-Reduktasen reduziert; dabei entsteht Dimethylsulfid bzw. Trimethylamin.

Reaktionsschemata der DMSO- und TMAO-Atmung:

DMSO-Reduktase:



TMAO-Reduktase:

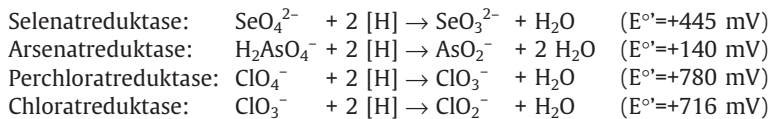


Beide Enzyme enthalten einen Molybdän-Cofaktor im aktiven Zentrum und tragen zum Aufbau eines Protonengradienten während der Reaktion bei. Die Redoxpotenziale beider Reaktionen liegen zwischen denen der Paare Fumarat/Succinat und Nitrat/Nitrit; damit dienen beide Verbindungen als effiziente Elektronenakzeptoren.

13.9.2 Anorganische Oxyanionen

Außer Nitrat und Sulfat werden die Oxyanionen vieler anderer Elemente als Elektronenakzeptoren für anaerobe Atmungsprozesse genutzt. Hier sind insbesondere **Arsenat**, **Selenat**, **Perchlorat** und **Chlorat** reduzierende Mikroorganismen zu nennen, die in den letzten Jahren intensiv erforscht wurden. Alle diese Prozesse liefern wegen der hohen Redoxpotenziale der Elektronenakzeptoren relativ viel nutzbare Energie. Die anaerobe Atmung mit diesen Verbindungen wird ebenfalls durch molybdopterinhaltige Reduktasen eingeleitet, die die Redoxreaktion zum Aufbau von Membranpotenzial nutzen (Plus 13.7):

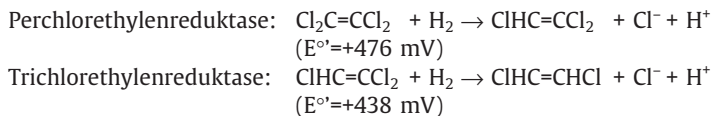
Reaktionsschemata einiger Oxyanionatmungen:



13.9.3 Chlororganische Verbindungen

Schließlich können auch einige halogenierte organische Verbindungen als Elektronenakzeptoren anaerober Atmungsketten dienen; diese Prozesse werden auch **Dehalorespiration** genannt. Hier sind insbesondere polychlorierte aromatische und aliphatische Verbindungen zu nennen, die in großem Umfang technisch eingesetzt werden und unter aeroben Bedingungen schwer abgebaut werden. Eine solche Verbindung ist z. B. **Tetrachlorethylen** (auch **Perchlorethylen**), die mit H_2 als Elektronendonator über Trichlorethylen und *cis*-Dichlorethylen reduziert wird. Einige Mikroorganismen (z. B. Arten der Gattungen *Desulfitobacterium* und *Dehalospirillum*) induzieren diese Stoffwechseleigenschaft bei Anwesenheit von Perchlorethylen im Medium; man findet aber auch spezialisierte Arten, die nur durch Dehalorespiration mit Perchlorethylen leben können (z. B. *Dehalobacter restrictus* oder *Dehalococcoides ethenogenes*). Es ist noch unbekannt, wie eine solche strikte Anpassung auf ein „unnatürliches“ Substrat entstanden ist, das erst der Mensch in die Umwelt gebracht hat. Die Chlorsubstituenten werden sequenziell durch spezielle Cofaktor- B_{12} -abhängige Reduktasen aus den Molekülen entfernt. Meist stoppt die reduktive Dehalogenierung auf der Stufe von *cis*-Dichlorethylen, aber es gibt auch einige Bakterien, die Perchlorethylen voll bis zur Stufe von Ethylen reduzieren (daher der Name *D. ethenogenes*).

Reaktionsschemata der Perchlorethylenatmung:



Weitere chlororganische Verbindungen, die durch mikrobielle Dehalorespiration umgesetzt werden, sind Tetrachlorkohlenstoff, 3-Chlorbenzoesäure oder mehrfach chlorierte Phenole und Benzole.

Plus 13.7 Anorganische Oxyanionen als anaerobe Elektronenakzeptoren

Die hier aufgeführten anorganische Oxyanionen werden nur vereinzelt bei wenigen Vertretern verschiedener phylogentischer Gruppen als Elektronenakzeptoren genutzt. So gibt es Selenatreduzierer unter den Proteobakterien (z. B. *Thauera selenatis*), aber auch unter den grampositiven Bakterien (z. B. *Bacillus arsenoselenatis*). Während die nahen Verwandten dieser Organismen in aller Regel diese Fähigkeiten nicht haben, findet man oft angereicherte Populationen von nicht näher verwandten Stämmen an natürlichen Standorten, die mit hohen Konzentrationen von Selenat oder Arsenat kontaminiert sind. Es ist also wahrscheinlich, dass die Gene der Enzyme für diese Stoffwechseleigenschaften lateral zwischen nicht näher verwandten Organismen transferiert werden.

Obwohl die aufgeführten Oxyanionen in der Natur nur selten in nutzbaren Konzentrationen vorkommen, stellen sie in Hinblick auf ihre Redoxpotenziale günstige Elektronenakzeptoren dar, die ähnliche Energieausbeuten zulassen wie die Nitratatmung. Das durch die Perchloratreduktase erzeugte Chlorat wird weiter reduziert zu Chlorit. Chlorit dismutiert spontan zu Chlorid und molekularem Sauerstoff, so dass sich Perchlorat und Chlorat atmende Bakterien auch in anaeroben Habitaten eine Quelle für molekularen Sauerstoff erschließen können (z. B. als Cosubstrat für den Aromatstoffwechsel). Eine besondere Spezialität einiger weiterer Mikroorganismen ist darüber hinaus die **Reduktion des Uranylkatons** (UO_2^{2+}) als anaerobem Elektronenakzeptor ($\text{UO}_2^{2+} + 2 \text{OH}^- + 2 [\text{H}] \rightarrow \text{U}(\text{OH})_4$). Da die meist gut löslichen Uranylsalze nach der mikrobiellen Reduktion des U(VI)-Atoms als schwerlösliche U(IV)-Salze ausfallen, werden diese Mikroorganismen bereits zur biologischen Sanierung urankontaminierter Standorte verwendet.

Zusammenfassung

- **Anaerobe Atmung** ist im Energiestoffwechsel vieler Mikroorganismen zu finden, die immer oder zeitweise in sauerstofffreien Habitaten leben. Anaerobe Atmungsprozesse erlauben die vollständige Mineralisierung organischer Verbindungen auch ohne Sauerstoff.
- Wie bei der aeroben Atmung ist dabei die Übertragung der anfallenden Reduktionsäquivalente auf den alternativen Elektronenakzeptor an die Ausschleusung von Protonen (oder Na^+ -Ionen) gekoppelt. Der entstandene **Protonengradient** wird dann durch die ATP-Synthase zur Energiekonservierung genutzt.
- Je nach verfügbarem Elektronenakzeptor können unterschiedliche Mengen Energie konserviert werden. Deshalb findet man in der Natur eine **hierarchisch geordnete Abfolge** der verschiedenen Typen von anaerober Atmung.
- Energetisch am günstigsten ist die Nitratatmung, die entweder zu molekularem Stickstoff (**Denitrifikation**) oder zu Ammonium (**Nitrat-ammonifikation**) als Endprodukten führt.
- Andere weit verbreitete Formen der anaeroben Atmung bei fakultativen Mikroorganismen sind die **Fumarat-, DMSO- oder TMAO-Atmung**.
- Anaerobe Atmung mit Sulfat oder Schwefel als Elektronenakzeptoren erlaubt die Konservierung von sehr wenig Energie und wird nur von speziell angepassten **obligat anaeroben** Mikroorganismen betrieben.
- Am Ende der Hierarchie der Elektronenakzeptoren befindet sich CO_2 . **Acetogene** und **methanogene Mikroorganismen** bestreiten ihren Energiestoffwechsel durch anaerobe Atmung mit CO_2 als Elektronenakzeptor und katalysieren so die letzten Schritte der anaeroben Mineralisierung. Sie bilden Acetat bzw. Methan.

14

Phototrophe Lebensweise

Unter **Phototrophie** versteht man die Nutzung von Licht als Energiequelle. Die Energie des eingefangenen Sonnenlichts wird zum Aufbau eines **Protonengradienten** über der Membran eingesetzt, der anschließend der ATP-Synthase zur ATP-Bildung dient (**Elektronentransportphosphorylierung**). Man nennt diesen Prozess auch Photophosphorylierung. Die phototrophen Bakterien gliedern sich in eine Gruppe von **oxygenen** Phototrophen, die **Cyanobakterien**, und mehrere Gruppen **anoxygener** Phototropher. Cyanobakterien verwenden als einzige Bakterien Wasser als Elektronendonator für ihre Biosynthesen und entwickeln Sauerstoff als Produkt der **Wasserspaltung**.

Die Phototrophie ist eine ursprüngliche Entwicklung von Bakterien. Die Plastiden der verschiedenen Algengruppen und der Pflanzen stellen die endosymbiontisch lebenden Abkömmlinge cyanobakterieller Vorläufer mit stark reduzierten Genomen dar. Die photosynthetischen Systeme aller dieser Organismen enthalten **Chlorophylle** bzw. **Bakteriochlorophylle** als wesentliche Pigmente, die für die Energiekonservierung notwendig sind. Diese Pigmente finden sich dabei sowohl in licht-einfangenden **Antennenkomplexen** als auch in den energie-konservierenden **Reaktionszentren** der Photosynthese. Photosynthetische Reaktionszentren gibt es in zwei unterschiedlichen Typen, die als **Photosystem I** bzw. **II** bezeichnet werden.

Der wesentliche Unterschied zwischen anoxygenen und oxygenen Phototrophen besteht darin, dass erstere jeweils nur *einen* Typ von Photosystem haben, während Cyanobakterien und Plastiden *beide* Photosysteme benötigen. Viele Phototrophe sind darüber hinaus auch **autotroph** und nutzen CO₂ als einzige C-Quelle; dabei werden unterschiedliche Stoffwechselwege zur CO₂-Fixierung genutzt. Parallel zur (bakterio-)chlorophyll-basierten Phototrophie gibt es bei einigen prokaryontischen Gruppen auch unabhängig evolvierte Systeme mit Retinal als Pigment; **Bakteriorhodopsin** und **Proteorhodopsin** nutzen die Lichtenergie als lichtgetriebene Protonenpumpen.

Überblick

- 14.1 Bedeutung und Prinzipien der Photosynthese ... 407**
 - 14.1.1 Licht als Energiequelle und phototrophes Wachstum ... 407
 - 14.1.2 Prinzipien der Photosynthese ... 407
- 14.2 Oxygene phototrophe Bakterien (Cyanobakterien) ... 409**
 - 14.2.1 Vorkommen und Rolle von Cyanobakterien ... 409
 - 14.2.2 Stoffwechsel und Zellstruktur ... 410
 - 14.2.3 Morphologische Gruppen ... 411
 - 14.2.4 Zelldifferenzierungen ... 413
- 14.3 Anoxygene phototrophe Bakterien ... 413**
 - 14.3.1 Vorkommen und Rolle von anoxygenen phototrophen Bakterien ... 415
 - 14.3.2 Purpurbakterien und Grüne Nicht-Schwefelbakterien (Photosysteme vom Typ II) ... 417
 - 14.3.3 Grüne Schwefelbakterien und Heliobakterien (Photosysteme vom Typ I) ... 419
- 14.4 Photosynthetische Pigmente und Thylakoide ... 420**
 - 14.4.1 Chlorophylle und Bakteriochlorophylle ... 420
 - 14.4.2 Akzessorische Pigmente ... 422
 - 14.4.3 Thylakoide ... 424
- 14.5 Antennenkomplexe ... 424**
 - 14.5.1 LH I und II ... 425
 - 14.5.2 Chlorosomen ... 425
 - 14.5.3 Phycobilisomen ... 426
- 14.6 Oxygene Photosynthese ... 426**
 - 14.6.1 Die photosynthetische Redoxkette im Überblick ... 427
 - 14.6.2 Photosystem II (Chinon-Typ) und Wasserspaltung ... 428
 - 14.6.3 Elektronentransportkette ... 429
 - 14.6.4 Photosystem I (FeS-Typ) und NADPH-Bildung ... 430
 - 14.6.5 Zyklische Photophosphorylierung ... 430
 - 14.6.6 Bilanz, Quantenbedarf und Wirkungsgrad der Lichtreaktion ... 431
- 14.7 Anoxygene Photosynthese ... 432**
 - 14.7.1 Gemeinsamkeiten und Unterschiede bei den anoxygenen Photosystemen ... 432
 - 14.7.2 Photosysteme vom Typ II (Chinon-Typ) und vom Typ I (FeS-Typ) ... 434
- 14.8 Bakteriorhodopsin- und Proteorhodopsin-abhängige Photosynthese ... 435**

14.1 Bedeutung und Prinzipien der Photosynthese

Das Licht der Sonne stellt die wichtigste Energiequelle für das Leben auf der Erde dar. Mehrere Gruppen von Organismen haben sich an die Nutzung von Licht als einziger Energiequelle angepasst, die **Phototrophen**. Sie stehen an der Basis der Nahrungsketten auf der Erde. Selbst die Mitglieder der wenigen sonnenlichtunabhängigen Lebensgemeinschaften, z.B. der erdwärmeabhängigen „Schwarze Raucher“-Systeme der Tiefsee (Kap. 17.9.2), benötigen photosynthetisch erzeugten Sauerstoff für ihre Atmung. Diese Bezüge wurden bereits in Kapitel 1.6 dargestellt.

14.1.1 Licht als Energiequelle und phototrophes Wachstum

Die Umwandlung der Lichtenergie in chemische Energie ist einer der bedeutsamsten biologischen Prozesse, der früh in der Evolution entstanden ist. Bei allen photosynthetisch aktiven Organismen sind dabei die gleichen Grundprinzipien zu finden. Auch die beteiligten Pigmente und Membranproteinkomplexe, die für die Energiekonversion notwendig sind, sind in ihrem Grundaufbau ähnlich.

Eine Unterscheidung der phototrophen Organismen wird danach getroffen, ob sie bei der Photosynthese Sauerstoff aus Wasser freisetzen (**oxygene Photosynthese**) oder nicht (**anoxygene Photosynthese**). Alle phototrophen Eukaryonten (Pflanzen und Algen) sowie die Cyanobakterien betreiben oxygene Photosynthese. Die restlichen bakteriellen Gruppen von Phototrophen sind anoxygen und stellen Relikte aus der sauerstofffreien Urzeit dar. Das spätere Zusammenführen der beiden Photosysteme und die Erfindung der Wasserspaltung gekoppelt an ein Photosystem ist eines der folgenreichsten Ereignisse der Evolution. Ihr verdanken wir den Sauerstoff der Atmosphäre (Plus 14.1). Die oxygene Photosynthese der Cyanobakterien war Grundlage der erfolgreichen Endosymbiose mit dem Vorläufer der Pflanzen. Die Symbiose von Grünalgen oder Cyanobakterien mit Pilzen hat zur Lebensform der photosynthetisierenden Flechten geführt.

14.1.2 Prinzipien der Photosynthese

Die Chloroplasten, die Organellen der Photosynthese in Algen und Pflanzen, haben ihren Ursprung in den Cyanobakterien. Deshalb ist der Photosyntheseprozess in diesen Organellen und in Cyanobakterien sehr ähnlich und vergleichbar (Plus 14.2). Photosynthese war ursprünglich definiert als lichtabhängige CO_2 -Fixierung (Assimilation in Stärke), die gekoppelt ist mit der Entwicklung von Sauerstoff. Man hat später erkannt, dass hierfür zwei getrennte Prozesse verantwortlich sind (Abb. 14.1): In einer **Lichtreaktion** wird Wasser gespalten, der Sauerstoff wird freigesetzt und der Wasserstoff auf NADP^+ übertragen. Gleichzeitig wird ATP aus ADP und P_i gebildet. Diese Lichtreaktion wird heute als Photosynthese bezeichnet. In einer **Dunkelreaktion** wird CO_2 gebunden und mit NADPH unter ATP-Verbrauch zu Kohlenhydrat reduziert. Sie ist mit der Lichtreaktion durch den Bedarf an ATP und NADPH verbunden. Wir besprechen hier die Lichtreaktion.

Der **Photosyntheseapparat** ist membrangebunden und besteht aus Lichtsammel- oder Antennenkomplexen, dem oder den Reaktionszentren, einer Protonen transduzierenden Elektronentransportkette und einer H^+ -ATP-Synthase. In den **Antennenkomplexen** wird Lichtenergie absorbiert. Die entstehenden kurzlebigen angeregten Molekülzustände wan-

Plus 14.1 Wasserspaltung: Segen und Fluch der Evolution

Die Erfindung der Wasserspaltung zur Gewinnung von Reduktionsäquivalenten für die CO_2 -Fixierung hatte zwei gewaltige Auswirkungen auf die Evolution.

1. Die oxygene Photosynthese ermöglichte die Verwendung eines universellen und in unbegrenzten Mengen vorkommenden Elektronendonators (H_2O) und entwickelte sich zum hauptsächlich primären Produktionsprozess.
2. Gleichzeitig schuf sie **Sauerstoff**, Gift für die bis dahin anoxyg lebenden Bakterien. An diese „Umweltkatastrophe“ mussten sie sich anpassen, oder sie starben aus; eine Herausforderung!

Die oxygene Photosynthese hat sich vor etwa 2,7 Milliarden Jahren entwickelt. Der dabei entstehende Sauerstoff reicherte sich allmählich in der Atmosphäre und dann auch in den Gewässern an, sodass vor etwa 550 Millionen Jahren die heutige Konzentration von 20% erreicht war, die eine explosionsartige Zunahme eukaryontischer Lebewesen und die Landbesiedlung der Pflanzen ermöglichte.

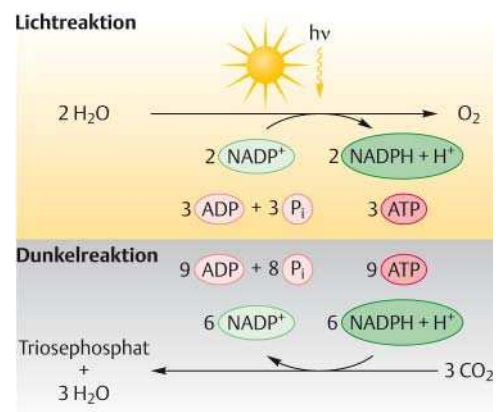
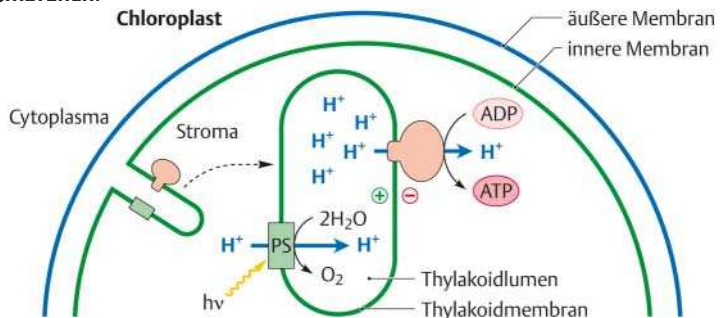


Abb. 14.1 Licht- und Dunkelreaktion der Photosynthese (aus Doenecke et al., 2005).

Plus 14.2 Chloroplasten

Chloroplasten sind die Organellen der Photosynthese grüner Pflanzen. Sie sind von einer doppelten äußeren Membran umhüllt, die sie gegen das Cytoplasma der Pflanzen- bzw. Algenzelle abgrenzt (Abb.). Die innere Membran entspricht der Membran des endosymbiontischen Cyanobakteriums. Der Innenraum wird **Stroma** genannt; hier finden wir typisch bakterielle Bestandteile und Stoffwechselleistungen: plastidäre DNA, den plastidären Proteinsyntheseapparat, die Enzyme der CO₂-Fixierung, der Stärkesynthese und der Fettsäuresynthese sowie der Sulfat- und Nitrat-Assimilation (ausgenommen die Nitrat-Reduktase). Das Stroma ist durchzogen von in sich geschlossenen sackartigen **Thylakoidmembranen**.

Aufbau eines Chloroplasten grüner Pflanzen und Algen. Während der Evolution entwickelte sich die äußere Membran aus einer Membran der Eukaryonten, die innere aus einer Membran des endosymbiontischen Cyanobakteriums, sie entspricht dessen Cytoplasmamembran. Aus ihr leiten sich die Thylakoide von Chloroplasten und Cyanobakterien ab, wie im Schema angegeben. PS, Photosystem.



dern zum **Reaktionszentrum**. Dort bewirkt die Anregungsenergie einen photochemischen Prozess. Bei dieser **Photoreaktion** wird ein Pigment oxidiert, was sich an der kurzfristigen Änderung seiner Farbe bemerkbar macht; d.h. sein Absorptionsmaximum ändert sich, was experimentell gemessen werden kann (es wird „gebleicht“). Gleichzeitig kommt es zu einer **Ladungstrennung** über die Membran:



Das Donatorsystem (P/P⁺) hat ein positives, das Akzeptorsystem (A/A⁻) ein negatives Potenzial. Das dem Pigment P im Reaktionszentrum („primärer Donator“) entzogene Elektron wird durch die Lichtenergie sehr rasch (in ps) auf einen „primären Akzeptor A“ mit sehr negativem Redoxpotenzial übertragen. Diese Ladungstrennung wird stabilisiert, indem das Elektron von dort rasch auf weitere Elektronenakzeptoren mit positiverem Redoxpotenzial gelangt. Die Rückreaktion, d. h. die Ladungsrekombination, verläuft um Größenordnungen langsamer.

Die Chloroplasten der grünen Pflanzen und Algen verwenden wie deren Vorläufer, die Cyanobakterien, **zwei Photosysteme**, die durch eine Elektronentransportkette miteinander verbunden sind. Hier dient die **Wasserspaltung** der Reduktion des durch Licht oxidierten Photosystems II, wobei Sauerstoff entsteht (**oxygene Photosynthese**). Die Elektronen fließen vom reduzierten Elektronenüberträger des Photosystems II auf ein weiteres Photosystem I. Von dort werden sie durch eine zweite Lichtreaktion schließlich auf NADP⁺ übertragen. Das Hintereinanderschalten der beiden Photosysteme sorgt also dafür, dass am System II ein sehr starkes Oxidationsmittel zur Oxidation des Wassers und am System I ein sehr starkes Reduktionsmittel zur Reduktion von NADP⁺ erzeugt wird.

Bei der **anoxygenen Photosynthese** wird nur **ein Photosystem** vom Typ II oder I verwendet. Vom reduzierten Elektronenüberträger fließen hier die Elektronen in einem zyklischen Elektronentransport wieder zurück zum oxidierten Pigment im Reaktionszentrum, das in den Ausgangszustand rückversetzt wird. Der lichtgetriebene Elektronentransport dient hier nur der Energiegewinnung. Reduktionsäquivalente für die CO₂-Fixierung werden durch Oxidation anorganischer oder organischer Verbindungen bereitgestellt.

Der Elektronentransport ist mit einem **Protonentransport** durch die Membran gekoppelt. Der so erzeugte Protonengradient dient der ATP-Synthese. Redoxkette, Protonentransport und ATP-Synthese haben große Ähnlichkeiten mit den Vorgängen in der Atmungskette.

14.2 Oxygene phototrophe Bakterien (Cyanobakterien)

Cyanobakterien repräsentieren die größte, formenreichste und am weitesten verbreitete Gruppe von phototrophen Bakterien. Sie wurden fälschlicherweise auch Blaualgen genannt, denn es sind typische Prokaryonten und keine Algen. Wie ihr Name sagt, sind sie meist blaugrün (Phycocyanine, Kap. 14.4.2), einige sind rotbraun (Phycoerythrine, Kap. 14.4.2) oder schwarzgrün. Cyanobakterien betreiben als einzige Bakteriengruppe eine **oxygene Photosynthese** und sind damit nicht an begrenzt verfügbare Elektronendonatoren für die Kohlenstoffassimilation aus CO₂ angewiesen. Diese Tatsache, aber auch ihre lange Evolution, erklären ihre weite Verbreitung.

14.2.1 Vorkommen und Rolle von Cyanobakterien

Ihre Befähigung, an extremen Standorten zu wachsen und oft auch N₂ fixieren zu können, gibt Cyanobakterien eine große Bedeutung im Naturhaushalt. Sie übernehmen an **nährstoffarmen oder extremen Standorten** oft die **Rolle von Pionieren**. Man kann sie im Fluoreszenzmikroskop leicht als rot fluoreszierende Bakterien (Chlorophyll-*a*-Fluoreszenz) von anderen Bakterien unterscheiden, neben den ebenfalls rot fluoreszierenden, aber meist größeren Algen. Unter günstigen Entwicklungsbedingungen können sie ganze Matten bilden (z.B. Stromatolithen, Kap. 1.4, s. auch Abb. 17.19, S. 563). In aeroben Bereichen des Süßwassers und in den Ozeanen sind sie, neben den Algen, die wesentlichen Primärproduzenten.

Da viele Vertreter von ihnen Stickstoff fixieren können, gewinnen sie unter **Stickstofflimitierung**, wenn Nitrat oder Ammoniak nur in kleinsten Konzentrationen vorhanden sind und deshalb das Wachstum begrenzen, im Licht sogar die Überhand. Unter diesen Bedingungen können Cyanobakterien sich in Massen vermehren und blaugüne Teppiche an der Wasseroberfläche bilden, wenn das sonst wachstumsbegrenzende Element Phosphor in Gewässer eingetragen wird oder zu bestimmten Jahreszeiten mit dem nährstoffreichen Tiefenwasser nach oben gelangt (Abb. 14.2, Abb. 14.4a) (s. auch Kap. 17.9.1). In tropischen Gebieten lässt sich *Spirulina maxima* in Massen zur Gewinnung von Tierfutter und Eiweiß züchten. Auch für die Teichwirtschaft ist eine solche Massenentwicklung („**Wasserblüte**“) erwünscht. Bei der Trinkwassergewinnung ist dagegen Wasserblüte gefürchtet, da einige Arten wie *Microcystis* sp. („**Netzblualge**“) Toxine, andere erdig schmeckende Stoffe (Geosmin) bilden.



Abb. 14.2 Wasserblüte in einem eutrophierten See. Es handelt sich um fädige Cyanobakterien, deren Zellaggregate mit der Hand „gefischt“ werden können.

Man findet Cyanobakterien auch auf und in feuchtem Boden, sie bilden Krusten auf Gestein (z. B. sog. „Tintenstriche“ an feuchten Felswänden), und sie leben selbst wenige Millimeter unter der Oberfläche von feuchten porösen Gesteinen (endolithisch, der Tau in Wüstengegenden genügt zum Leben!). Einige einzellige Cyanobakterien wie *Synechococcus lividus* sind so säure- und hitzetolerant, dass sie in sauren heißen Quellen (pH 4, 70 °C) wachsen (Abb. 14.9, S. 416, Abb. 17.18, S. 560 und Box 14.1, S. 417).

Manche Cyanobakterien gehen **Symbiosen** ein (Abb. 14.3). Sie versorgen den Wirt mit organischen Verbindungen (einige tropische Blatflechten) oder mit gebundenem Stickstoff, wie im Fall der Hornmoose, der Palmenfarne (Cycadaceae) und der Blütenpflanze *Gunnera*, sowie des tropischen Wasserfarns *Azolla*. Letzterer dient der Gründung von Reisfeldern.

14.2.2 Stoffwechsel und Zellstruktur

Cyanobakterien sind **photolithoautotroph** und ihr Stoffwechsel folgt einem Tag-Nacht-Rhythmus (**circadiane Rhythmik**). Sie besitzen Photosystem I und II und verwenden Wasser als Elektronendonator für die **autotrophe CO₂-Fixierung** über den Calvin-Zyklus (Tab. 14.1). Einige Arten können aber auch mit H₂S als Elektronendonator eine anoxygene Photosynthese (nur Photosystem I) betreiben, und nur wenige sind fakultativ chemotroph.

Die **mehrschichtige Zellwand** enthält Murein, Lipopolysaccharide, Proteine und Polysaccharide und ist oft von Schleim oder einer Kapsel überlagert. Ihre Membranlipide enthalten mehrfach **ungesättigte Fettsäuren** (vgl. Chloroplasten!), eine Besonderheit unter den Bakterien. Auffallend sind die umfangreichen **Thylakoidmembranen** mit **Phycobilisomen** als Lichtantennen (Kap. 14.5.3). Die lamellaren Thylakoidmembranen bilden ein Netzwerk, das auf den peripheren Teil der Zelle begrenzt ist. Es ist wahrscheinlich nicht mit der Cytoplasmamembran verbunden, obwohl es aus ihr ursprünglich entstanden ist. Beide Membransysteme enthalten den Photosyntheseapparat und die Atmungskette.



Abb. 14.3 Beispiele für Symbiosen von Cyanobakterien. **a** Im Thallus von Hornmoosen. **b** In den Korallenwurzeln des Palmfarns *Cycas*. **c** In den Blättern des Wasserfarns *Azolla*. **d** In der Blattbasis am Rhizom der Blütenpflanze *Gunnera* (Aufnahmen b–c G. Fuchs).

Tab. 14.1 Eigenschaften phototropher Bakterien.

	Cyanobakterien	Purpurbakterien	Grüne Schwefelbakterien	Grüne Nicht-Schwefel-Bakterien	Heliobakterien
PS-Typ	PS I + II	PS II	PS I	PS II	PS I
Pigmente	Chl <i>a</i> (<i>b</i>)	BChl <i>a,b</i>	BChl <i>a,c</i> (<i>d,e</i>)	BChl <i>a,c</i>	BChl <i>g</i>
Antennen	Phycobilisomen Thylakoide	LH I + LH II Intracytoplasmatische Membranen	Chlorosomen	Chlorosomen	??
Autotroph	+	(+)	+	+/-	- (?)
Ernährungsweise	photoautotroph lithoautotroph	photoautotroph lithoautotroph organoheterotroph	photoautotroph lithoautotroph	photoautotroph lithoautotroph organoheterotroph	photoautotroph organoheterotroph
CO₂-Fixierung	Calvin-Zyklus	Calvin-Zyklus	Reduktiver TCA-Zyklus	Hydroxypropionat- Zyklus	Keine ?
Elektronendonator	H ₂ O	H ₂ S/organische Verbindungen	H ₂ S	H ₂ /organische Verbindungen	Organische Verbindungen
Fakultativ chemotroph	(+)	+/-	-	+	-

Man findet bei Cyanobakterien häufig **Carboxysomen**, phagenkopfähnliche Einschlusskörperchen, in denen die Enzyme der CO₂-Fixierung kristallin vorliegen (Kap. 5.11). Canobakterien besitzen keine Flagellen, aber viele fadenbildende Arten können sich auf festen Oberflächen oder in Bakterienmatten gleitend fortbewegen und zeigen phototaktisches Verhalten. **Gasvakuolen** erlauben ihnen, sich an der Oberfläche oder in geeigneten Wassertiefen zu halten. Sie bilden neben Stärke und Polyphosphat häufig in großen Mengen **Cyanophycin** (Poly-(Asp-Arg)) als Speicherstoffe (Kap. 8.7.6). Der Proteinspeicher dient als Stickstoffspeicher, aber auch als bescheidener Energiespeicher: Arginin kann in Ornithin und Carbamoylphosphat gespalten werden, und letzteres ermöglicht selbst unter anoxischen Bedingungen ATP-Bildung durch Substratstufenphosphorylierung (Carbamoylphosphat + ADP → CO₂ + NH₃ + ATP).

14.2.3 Morphologische Gruppen

Cyanobakterien sind zwar hinsichtlich ihres Stoffwechsels recht einheitlich und bilden eine natürliche Gruppe; dafür ist ihre Biologie und Morphologie umso vielseitiger (Abb. 14.4). Ihre Einteilung in **fünf morphologische Gruppen** deckt sich nur bedingt mit ihrem Stammbaum.

1. Einzellige Formen (Stäbchen oder Kokken) mit gewöhnlicher Zellteilung sind phylogenetisch sehr divers. Man findet sie in den Gattungen *Synechococcus* (= "*Anacystis*"), *Gloeocapsa* („Hüllenblualge“; gloios, gr.: klebrige Masse) oder *Synechocystis*. Die Zellen bilden meist Kolonien oder tafelförmige Platten, die teilweise mit bloßem Auge sichtbar sind, sie werden durch Kapseln oder Schleimsubstanzen („Gallerte“) zusammengehalten (Abb. 14.5).

Abb. 14.4 Cyanobakterien. **a** Wasserblüte in einem eutrophierten See, die im wesentlichen aus Cyanobakterien (*Microcystis* sp.) besteht (Aufnahme J. Weekesser). **b** Mikroskopisches Bild einer Probe aus einer Wasserblüte. Man erkennt mindestens drei koloniebildende Arten. **c** Cyanobakterien in Laborkulturen. Die Farben können je nach Chromophoren von grün bis blau über rot bis gelb variieren (Quelle: www.labor-spiez.ch).



2. Cyanobakterien mit multipler Teilung innerhalb einer Zelle findet man in den Gattungen *Pleurocapsa* („Krustenalge“) und *Dermocapsa*. Es entstehen viele kleine Zellen innerhalb einer Hülle.

Die folgenden Gruppen bilden Zellfäden, **Trichome**. Die Einzelzellen sind durch Plasmodesmen miteinander verbunden. Die Zellteilung erfolgt innerhalb des Fadens und die Trichome können sich gleitend auf Oberflächen bewegen oder schwingende Bewegungen ausführen. Die Vermehrung erfolgt durch Zerbrechen der Fäden in sog. Hormogonien.

3. Recht stattliche Cyanobakterien mit teilweise auffallendem Aussehen, die Scheiden ausbilden und keine Heterocysten haben, finden sich in den Gattungen *Oscillatoria* („Schwingalge“), *Trichodesmium*, *Phormidium* („Häutchenblaualge“) und *Spirulina* („Schraubenzieheralge“). *Oscillatoria princeps* misst bis zu 60 µm im Durchmesser.

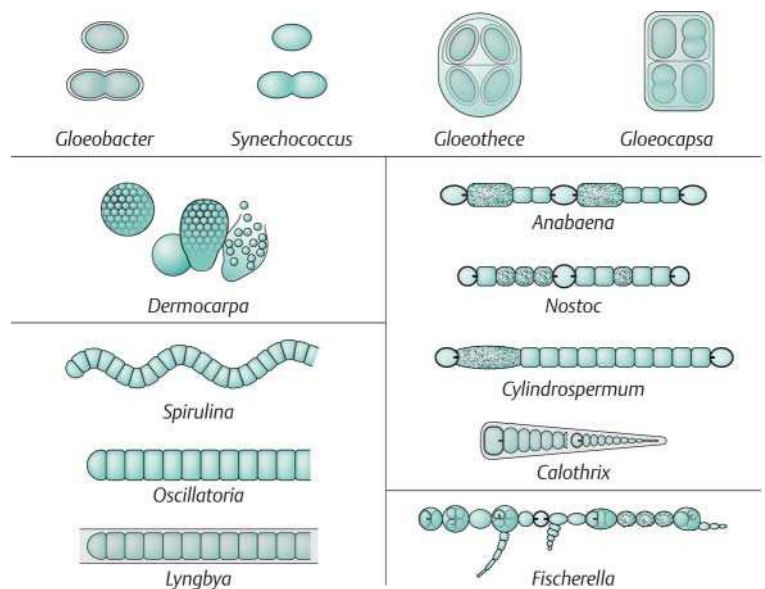


Abb. 14.5 Einige Cyanobakterien aus verschiedenen Verwandtschaftsgruppen und mit verschiedener Morphologie. Symbole: dick gezeichnete Zellwände und polare Granula kennzeichnen Heterocysten; ausgefüllte Zellen markieren Akineten (Dauerzellen); dünne Linien außerhalb der Trichome kennzeichnen Scheiden.

4. Eine große Gruppe bilden fädige Cyanobakterien ohne Scheiden, die Heterocysten ausbilden und N_2 fixieren, darunter die Gattungen *Nostoc* („Zitter- oder Gallertalge“, *Nostoc commune*, Engelsschnäutze (!) oft am Wegrand zu sehen), *Anabaena* („Ringelalge“), *Lyngbia* („Scheidenblualge“) und *Scytonema* („Tintenstrichalge“).
5. Verzweigte, filamentbildende Vertreter, teilweise mit Heterocysten, sind *Stigonema* („Lagerblualge“) und *Fischerella* sp.

Eine Besonderheit sind die „**Prochlorophyten**“, mit den fädigen *Prochlorothrix* und den kugelförmigen *Prochlorococcus* als typischen Vertretern. *Prochlorococcus* sp. stellen in den Ozeanen einen wichtigen Anteil am Phytoplankton ($10^4 - 10^5$ Zellen/ml). Es handelt sich um phototrophe Bakterien, die wie die Chloroplasten der Pflanzen Thylakoidstapel ausbilden und (ein modifiziertes) Chlorophyll *a* und Chlorophyll *b* besitzen, während verwandte Cyanobakterien nur Chlorophyll *a* besitzen. Sie besitzen auch keine Phycobilisomen. Wegen des Vorkommens von Chlorophyll *b* hat man anfangs in ihnen das „missing link“ zwischen den Cyanobakterien und den Chloroplasten gesehen; es handelt sich aber *nicht* um die direkten Vorläufer der Chloroplasten (Plus 14.3). Vielmehr haben Cyanobakterien einschließlich Prochlorophyten und Chloroplasten einen gemeinsamen Vorläufer. Ein lebender naher Cyanobakterienverwandter der Chloroplasten wurde bisher nicht gefunden.

Plus 14.3 *Prochloron* und *Cyanophora paradoxa*

Prochloron sp. wurde als erster Vertreter der Prochlorophyten als Symbiont von marinen Seescheiden entdeckt. Es ist ein recht großes phototrophes, derzeit noch nicht kultivierbares Bakterium mit ausgeprägten intracytoplasmatischen Membranen.

Cyanophora paradoxa ist eine Süßwasseralge (Glaucozystophyt), die sog. Cyanellen enthält und von deren Photosyntheseprodukten lebt. Die Cyanellen haben noch viele Eigenschaften von Cyanobakterien erhalten, wie cyanobakterienähnliche Thylakoide und Photosyntheseapparat, Reste der Peptidoglycanschicht und ein kleines Genom (etwa 10 % des Genoms verwandter Cyanobakterien). Es sind obligate Endosymbionten, die aber eine gemeinsame Wurzel mit den Chloroplasten haben.

14.2.4 Zelldifferenzierungen

In dieser großen Bakteriengruppe beobachtet man auch besondere **Zelldifferenzierungen** und Strukturen (Abb. 14.6). **Akineten** sind dickwandige, große und stark gefärbte Dauerzellen in einem Zellfaden, die der Überdauerung dienen. **Heterocysten** sind ebenfalls dickwandige, aber farblose oder gelbliche Zellen in einem ansonsten blaugrünen Zellfaden. Sie fixieren N_2 und versorgen die Nachbarzellen mit gebundenem Stickstoff (Glutamin) im Gegentausch mit Disacchariden. Sie besitzen kein Photosystem II und entwickeln deshalb auch keinen Sauerstoff (Kap. 8.4.1). **Hormogonien** sind Bruckstücke von Zellfäden, die der Verbreitung dienen. **Baeocyten** nennt man Zellpakete, die nach vielfacher Zellteilung in einer Ursprungszelle entstehen (*Pleurocapsales*).

14.3 Anoxygene phototrophe Bakterien

Es gibt mehrere nicht näher verwandte Bakteriengruppen, welche die Fähigkeit zur anoxygenen Photosynthese entwickelt haben (Abb. 14.7). Die Vertreter der verschiedenen Gruppen unterscheiden sich dabei in einigen grundlegenden Eigenschaften. Zum Beispiel kommen unter anderem zwei verschiedene Typen von photosynthetischen Reaktionszentren vor (Photosystem-I-bzw. II-Typ, Tab. 14.1). Deshalb geht man davon aus, dass die Photosynthese sich früh in getrennten Linien weiterentwickelt hat und darüber hinaus durch lateralen Gentransfer in weitere Bakteriengruppen gelangt ist.

Die anoxygenen phototrophen Bakterien sind auf einen **externen Wasserstoffdonator** angewiesen. Sie vermögen anorganische Verbindungen wie H_2 , H_2S , S, $H_2S_2O_3$ (Thiosulfat) oder Fe^{2+} sowie organische Verbindungen wie beispielweise Gärprodukte und sogar Aromaten zu verwerten. Diese Verbindungen stehen nur in begrenzter Menge und bevorzugt unter anoxischen Bedingungen zur Verfügung (deshalb auch das begrenzte



Abb. 14.6 Akineten, Heterocysten und Hormogonien von Cyanobakterien.

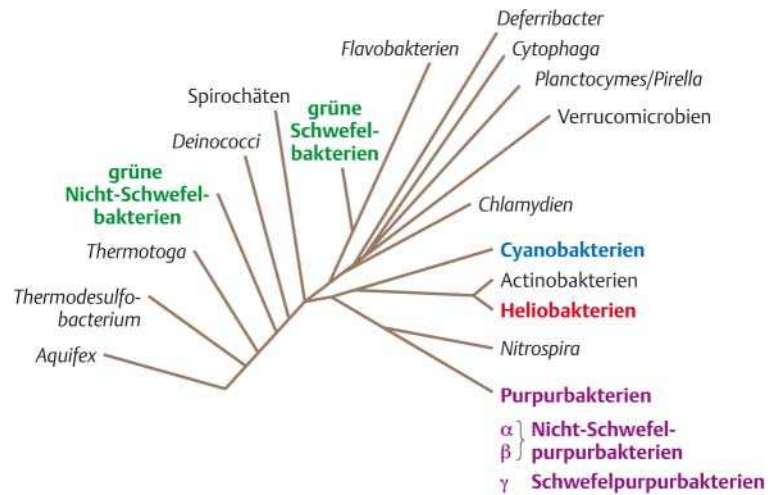


Abb. 14.7 Stammbaum der Eubakterien mit Gruppen, die phototrophe Bakterien beherbergen.

Vorkommen dieser Organismen). Nur unter anoxischen Bedingungen betreiben sie Photosynthese mit Hilfe von Bakteriochlorophyllen (Ausnahmen von der anaeroben Lebensweise, siehe aerobe Photosynthese, unten).

14.3.1 Vorkommen und Rolle von anoxygenen phototrophen Bakterien

Anoxygene phototrophe Bakterien kommen in der **anoxischen Zone vieler Gewässer** vor, sie bilden oft lachsfarbene bis dunkelweinrote Beläge über dem Schlamm oder faulendem Pflanzenmaterial (Abb. **14.8**). In solchen manchmal dezimeterdicken Schichten über dem Schlammhorizont findet man Schwefelpurpurbakterien (*Chromatiaceae*), darunter riesengroße Arten wie *Chromatium okenii* oder *Thiospirillum jenense* (s. Abb. **14.9**). Diese auffallend purpurfarbenen Chromatien oxidieren im Licht rasch H_2S zu Schwefel, den sie intrazellulär in großen Mengen als stark lichtbrechende Kügelchen ablagern. Der Schwefel dient als gespeichertes Reduktionsmittel (Weiteroxidation: $\text{S} + 4 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4 + 6 \text{H}$) und ermöglicht die Assimilation von CO_2 im Licht auch ohne äußeren Elektronendonator. Die Oxidation der reduzierten Schwefelverbindungen H_2S , $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Thiosulfat) und Schwefel wird in Kapitel 11 besprochen.

Licht und hohe Sulfidkonzentration findet man auch in flachen Meerwassertümpeln, in denen starke Sulfatreduktion stattfindet, sowie in Schwefelquellen. Die Grünen Schwefelbakterien, aber auch verschiedene Schwefelpurpurbakterien, kommen in der Natur meist streng geschichtet vor, dort wo H_2S vorhanden und noch ausreichend Licht zur Verfügung steht. Dagegen sind die fakultativ photoorganotrophen Purpurbakterien ubiquitär in oxischen und anoxischen Bereichen von Gewässern und Böden mit organischen Stoffen.

Man findet anoxygene phototrophe Bakterien auch unter Wasserlinsendecken, die sozusagen als optische Filter denjenigen Lichtanteil bereits herausgefiltert haben, der für das Algenwachstum nützlich ist (s. Abb. **17.11**, S. 547). Jahreszeitlich bedingt kommt es zur Massenentwicklung von Schwefelpurpurbakterien in der anoxischen Zone von Seen unterhalb der **Temperatur-Sprungschicht** (oder Chemokline, s. Kap. 17.9.1, Plus **17.9**, S. 545). Dort stehen H_2S , CO_2 und organische Verbindungen aus dem anaeroben Stoffwechsel anderer Bakterien zur Verfügung. In Tiefen von 10–30 m dringt kaum Infrarotlicht durch, sondern nur noch etwas Blau- und Blaugrünlicht (450–500 nm) (s. Abb. **14.13**, S. 420). Gerade in diesem Wellenlängenbereich absorbieren die tiefrotgefärbten Carotinoide der Purpurbakterien, die ihnen ihre charakteristische Farbe verleihen. Einige Arten können an solchen ihnen zusagenden Standorten nahezu in Reinkulturen vorliegen. Unter den Grünen Schwefelbakterien findet man dort entsprechend die carotinoidreichen, braungefärbten Arten.

Eine Besonderheit stellen die **anoxygenen aeroben phototrophen Bakterien** dar. Es sind meist marine, organotrophe alpha-Proteobakterien wie *Roseobacter* sp. oder *Erythrobacter* sp., die zwischen Algen leben. Sie besitzen – anders als die typischen Purpurbakterien – nur geringe Menge an Photosyntheseapparat mit Typ-II-Reaktionszentrum. Sie betreiben eine obligat aerobe Photosynthese (Photophosphorylierung) mit Bakteriochlorophyll *a* und sind deshalb streng aerob. Licht, Sauerstoff und organische Ausscheidungsprodukte der Algen geben ihnen einen Selektionsvorteil.

Weitere ökologische Zusammenhänge werden in Kapitel 17.9.1 besprochen. Für eine Anreicherung der Purpurbakterien werden deren verschiedene Absorptionsspektren ausgenutzt (Box **14.1**).

Viele anoxygene phototrophe Bakterien zeigen auch im Dunkel der Nacht bescheidenes Wachstum und überleben, wenn ihnen organische Substrate zur Verfügung stehen. Sie greifen dazu auch auf die im Licht angelegten Speicherpolymere zurück.

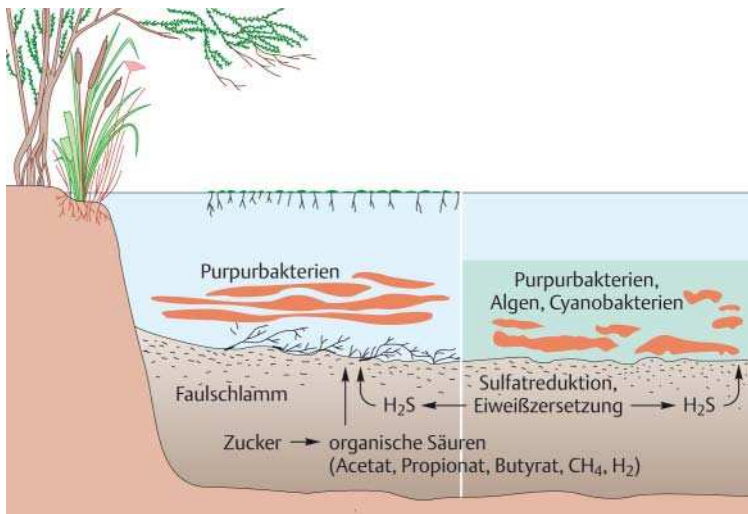


Abb. 14.8 Rand eines flachen Gewässers, in dem Schwefelpurpurbakterien zur Massentwicklung kommen. Erklärung im Text.

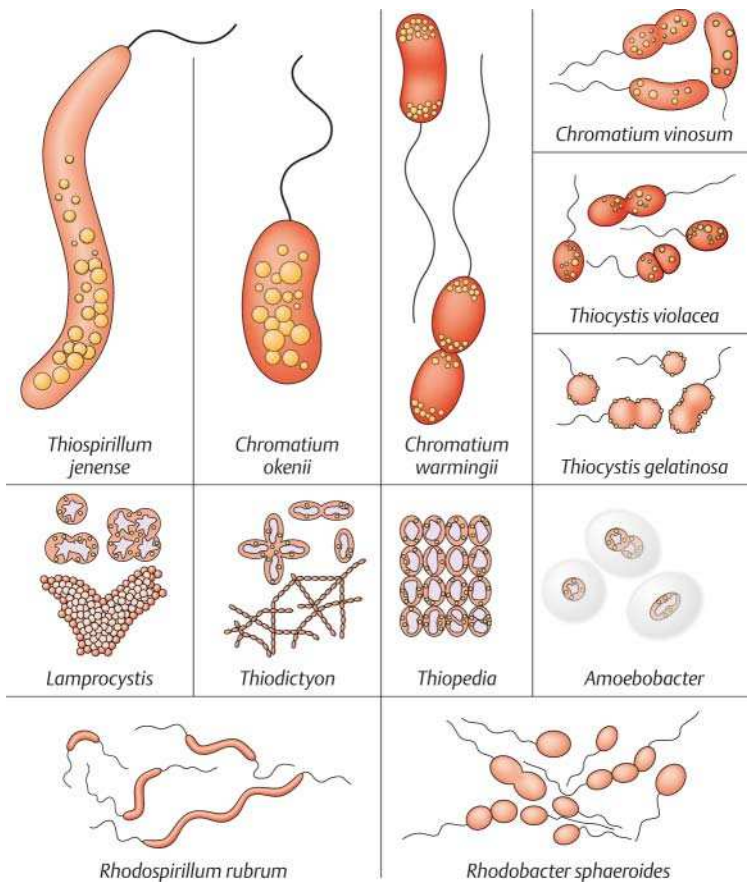


Abb. 14.9 Einige Schwefel-Purpurbakterien (Chromatiaceae) und Nicht-Schwefelpurpurbakterien (Rhodospirillaceae).

14.3.2 Purpurbakterien und Grüne Nicht-Schwefelbakterien (Photosysteme vom Typ II)

Man kennt zwei natürliche Gruppen anoxygener phototropher Bakterien, deren Vertreter ein **Photosystem II** – allerdings ohne Wasserspaltungskomplex – besitzen, die Proteobakterien (Purpurbakterien) und die Grünen Nicht-Schwefelbakterien.

Purpurbakterien

Die photosynthetisierenden Proteobakterien nennt man auch **Purpurbakterien**. Ihre Bezeichnung geht auf die purpurrote (aber auch bräunliche bis gelbliche) Färbung dichter Kulturen (Abb. 14.10) zurück, die durch den hohen Gehalt an Carotinoiden bedingt ist. Nach ihrem Stoffwechsel teilt man sie in zwei Gruppen ein, die Schwefelpurpurbakterien und die

Box 14.1 Anreicherungskultur

Die unterschiedlichen **Absorptionseigenschaften** der verschiedenen anaeroben phototrophen Bakterien ist die Voraussetzung dafür, dass sie verschiedene spektrale Anteile des Lichtes zur Photosynthese zu nutzen vermögen. Bei der Anreicherung nutzt man die Anpassung dieser Organismen an bestimmte **Lichtverhältnisse** (Intensität, Wellenlänge) aus. Hinzu kommen andere Faktoren wie der **H₂S-Gehalt**, **andere Wasserstoffdonatoren**, **pH-Wert**, **Temperatur**, **organische C-Quellen oder CO₂**, sowie das **Vorhandensein einiger Vitamine**, insbesondere Vitamin B₁₂, aber auch Biotin, Thiamin oder 4-Aminobenzoat. Als Inokulum verwendet man Teichschlamm oder Teichwasser (Abb.).

Wird ein mit Eiweiß, Erde und Sand beschichteter Zylinder mit Wasser gefüllt und mit Standortmaterial beimpft, so kommen im nahen Infrarotlicht Nicht-Schwefelpurpurbakterien zum Wachstum (Kap. 17.9.1). Das Eiweiß wird von anderen Bakterien vergoren und von den Gärprodukten und Licht leben die Purpurbakterien.

Ein Zusatz von Calciumsulfat (Gips) sorgt dafür, dass Sulfatreduzierer H₂S in hohen Konzentrationen bilden. Dadurch wird das Wachstum der Nicht-Schwefelpurpurbakterien unterdrückt (sie tolerieren nur geringe H₂S-Konzentrationen < 0.01%) und photolithoautotrophe Schwefelpurpurbakterien dominieren (sie benötigen H₂S und tolerieren hohe H₂S-Konzentrationen). In synthetischen, Vitamin B₁₂ und andere Vitamine enthaltenden Nährlösungen mit verschiedenen Wasserstoffdonatoren lassen sich durch feine Abstufungen der H₂S- und Nährsalzkonzentration, des pH-Wertes, der Temperatur und der Lichtintensität viele verschiedene Arten der Purpurbakterien sowie Arten der strikt anaeroben grünen Bakterien anreichern. Phototrophe, die am Grund tiefer Gewässer leben, haben häufig Gasvakuolen und verlangen niedrige H₂S-Konzentrationen, Kälte und Schwachlicht. Im Extremfall genügt so wenig Licht, wie durch ein Schlüsselloch in einen dunklen Raum fällt.

Anreicherungskulturen („WINOGRADSKY-Säulen“) von phototrophen Bakterien. Oben ist der spektrale Durchlässigkeitsbereich von Lichtfiltern angegeben, hinter denen sich die benannten Bakterienarten und -gruppen bevorzugt entwickeln. Einige Tage nach dem Ansetzen der Kultur und Beimpfung mit Teichschlamm und -wasser bilden sich rote bzw. grüne „Bakterienplatten“ in der Wassersäule.

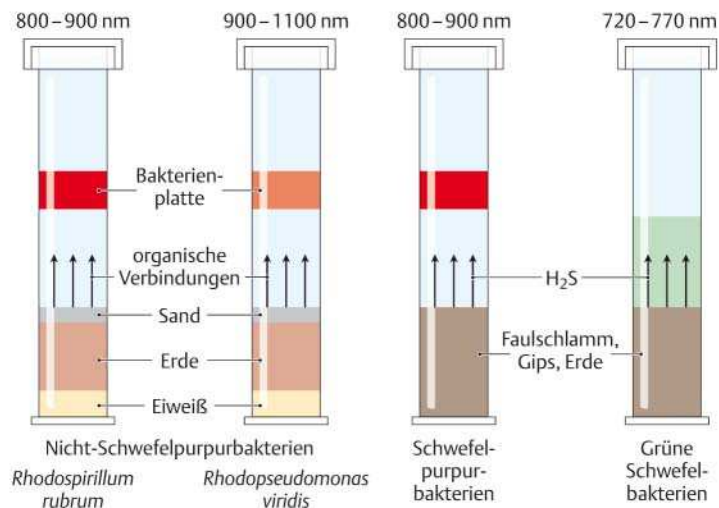




Abb. 14.10 Purpurbakterien. **a** Rand einer warmen Quelle, in der verschiedene phototrophe Bakterien zur Massenentwicklung kommen und dünne Schichten ausbilden. **b** Laborkulturen von Purpurbakterien (Aufnahmen G. Fuchs).

Nicht-Schwefelpurpurbakterien (Tab. 14.1). Der Photosyntheseapparat ist auf intracytoplasmatischen Membranen lokalisiert (Kap. 14.3.3), nur bei wenigen Arten ist er auf die Cytoplasmamembran beschränkt. Bei allen Vertretern ist das Reaktionszentrum vom Typ II und wird von einem zylindrisch geformten Antennenkomplex (LH I, Kernkomplex oder core complex) umgeben. Ein zweiter variabler Antennenkomplex (LH II) kann in Abhängigkeit von der Lichtintensität in variablen Mengen vorhanden sein (Kap. 14.5.1). Alle Vertreter besitzen Bakteriochlorophyll *a* oder *b* und können N_2 fixieren. Autotrophe Vertreter fixieren CO_2 über den Calvinzyklus. Die Purpurbakterien stehen im natürlichen Stammbaum neben nichtphototrophen Vertretern der Proteobakterien. Ob die Photosynthese eine ursprüngliche Eigenschaft des gemeinsamen Vorfahren aller Proteobakterien war, ist unentschieden.

Die Schwefelpurpurbakterien sind obligat phototroph und benötigen reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren eines **photo-lithotrophen** Stoffwechsels. Schwefelwasserstoff wird intermediär zu Schwefel oxidiert und dieser wird gespeichert. Sie gehören zur gamma-Subklasse der Proteobakterien. Typische Gattungen sind *Chromatium* mit intrazellulärer Schwefelspeicherung und *Ectothiorhodospira* mit extrazellulärer Schwefelablagerung.

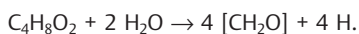
Die Nicht-Schwefelpurpurbakterien gehören zu den alpha- und beta-Subklassen der Proteobakterien. Sie benötigen organische Verbindungen anstelle von reduzierten Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren für die Photosynthese, sie sind also **photoorganotroph**. Dennoch besitzen die meisten Arten ebenfalls die Enzyme des Calvinzyklus, nutzen die CO_2 -Fixierung aber nur in Ausnahmefällen. Oft wachsen sie mixotroph, d.h. sie beziehen ihren Zellkohlenstoff sowohl aus der CO_2 -Fixierung als auch aus organischen Verbindungen, wenn solche vorhandenen sind. Bevorzugt werden Gärprodukte anderer Bakterien (Plus 14.4). Wichtige Gattungen sind *Rhodospirillum*, *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas* (alpha-Unterklasse) und *Rhodocyclus* (beta-Unterklasse). Die meisten Arten der Nicht-Schwefelpurpurbakterien sind metabolisch sehr vielseitig. Man findet bei ihnen Photosynthese, aerobe Atmung und Gärung.

Die Grünen Nicht-Schwefelbakterien

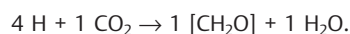
Diese Bakterien repräsentieren einen weiteren eigenen Stamm im Bakterienstammbaum. Eine typische Gattung ist **Chloroflexus** (Kap. 2.6.1). *Chloroflexus*-Arten sind **fakultativ phototroph** und wachsen auch chemotroph im Dunkeln. Sie sind meist **photoorganotroph** und verwenden organischen Verbindungen als Elektronendonatoren, können aber auch auf

Plus 14.4 Warum CO_2 -Fixierung, wenn organische Substrate vorhanden sind?

Wenn phototrophe Bakterien beispielsweise eine Fettsäure als Energiequelle oxidieren oder als Kohlenstoffquelle verwenden, so ist dieser Prozess mit der Freisetzung von Reduktionsäquivalenten verbunden. Im Fall der Verwertung des Gärproduktes Buttersäure $C_4H_8O_2$, die Zellkohlenstoff auf der Oxidationsstufe von Kohlenhydraten $[CH_2O]$ liefern soll, gilt die Gleichung:



Die Reduktionsäquivalente müssen verbraucht werden, was unter anoxischen Bedingungen ohne eine anaerobe Atmung nicht gelingt. Dagegen kann man damit CO_2 fixieren, nach der Gleichung:



Die CO_2 -Fixierung dient hier als „**Elektronenabfluss**“ bei der Verwertung von organischen Verbindungen, deren Reduktionszustand höher ist als derjenige des Zellkohlenstoffs.

photolithotrophe Bedingungen mit Wasserstoff als Elektronendonator umschalten. Sie fixieren dann CO_2 über den **3-Hydroxypropionatzyklus**, verwandte Gattungen dagegen anscheinend über den Calvinzyklus. Die Photosynthese der *Chloroflexaceae* läuft wie bei den Purpurbakterien über ein photosynthetisches Reaktionszentrum vom **Photosystem-II-Typ**. Die Lichtsammlung erfolgt wie bei den *Chlorobiaceae* über **Chlorosomen**, die auch hier Bakteriochlorophyll *c* als charakteristisches Pigment enthalten (dagegen enthält die verwandte Gattung *Heliobacter* Bakteriochlorophyll *a*) (Abb. 14.11).

14.3.3 Grüne Schwefelbakterien und Heliobakterien (Photosysteme vom Typ I)

Man kennt zwei natürliche Bakteriengruppen, von denen Vertreter ein Photosystem I besitzen, die Grünen Schwefelbakterien (Abb. 14.12) und die grampositiven Heliobakterien.

Grüne Schwefelbakterien

Die Grünen Schwefelbakterien bilden eine eigene Entwicklungslinie im Bakterienstammbaum, die *Chlorobiaceae* (s. Abb. 14.7). Diese Bakterien sind obligat photolithoautotroph; sie benötigen Schwefelwasserstoff als Elektronendonator und fixieren CO_2 über den **reduktiven Citratzyklus**. Darüber hinaus zeichnen sich die *Chlorobiaceae* durch ein photosynthetisches Reaktionszentrum vom **Typ I** und **Chlorosomen** als Lichtsammelkomplexe aus (Kap. 14.5.2). Typische Pigmente für diese Gruppe der anoxygenen Phototrophen sind Bakteriochlorophyll *c* und *d*, die in großen Mengen in den Chlorosomen angereichert sind. *Chlorobium*-Arten sind auch die phototrophen Partner in der symbiontischen Assoziation *Chloro-*



Abb. 14.11 Entwicklung von verschiedenen phototrophen Bakterien am Rande einer heißen vulkanischen Quelle. Das Photo zeigt eine Luftaufnahme der Grand Prismatic Spring aus dem Yellowstone Nationalpark; am Bildrand der befestigte Steg. Im blauen heißen Bereich wachsen keine Phototrophen. Im etwas kälteren grünen Randbereich gedeihen thermophile Cyanobakterien. Der gelbe Rand ist Schwefel. Die kälteren (55 °C) orangefarbenen Abflüsse aus der Quelle sind dominiert von Matten von *Chloroflexus aurantiacus* (Copyright Bernhard Edmaier).

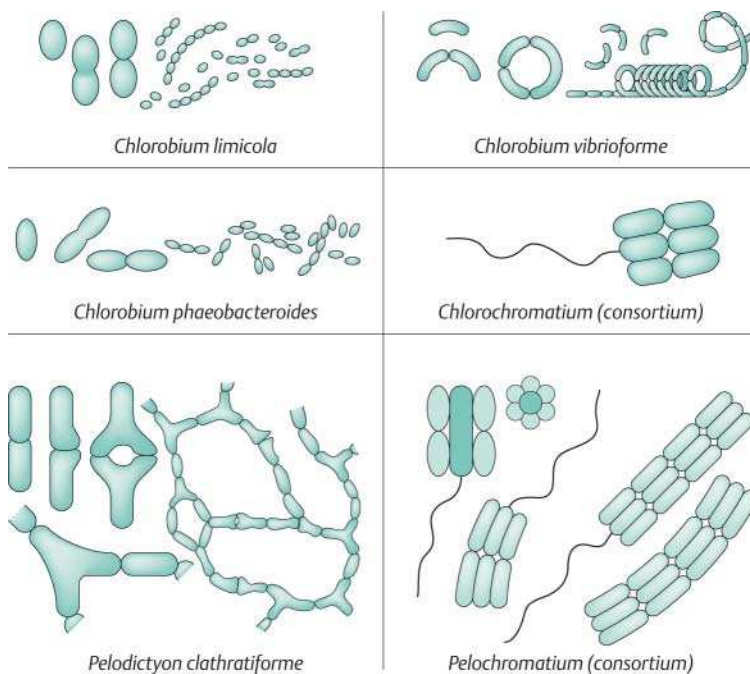


Abb. 14.12 Einige Grüne Schwefelbakterien (*Chlorobiaceae*).

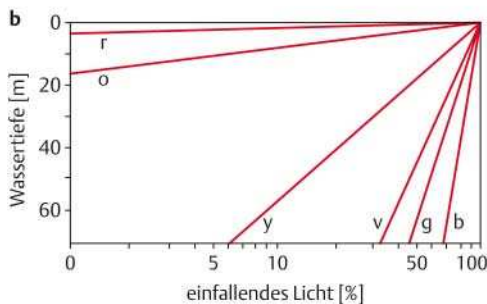
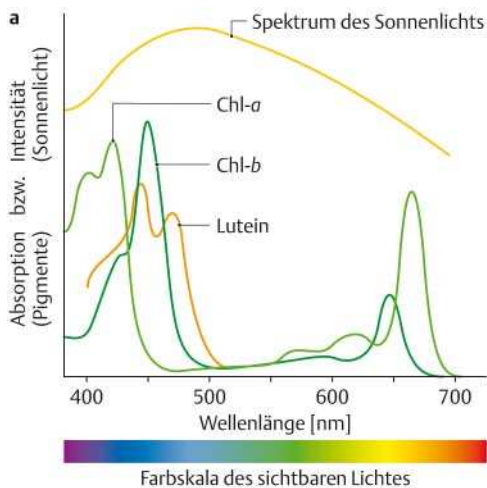


Abb. 14.13 Absorptionsspektrum von Chlorophyll a und b und dem Carotinoid Lutein (gelöst in Aceton). **a** Die obere Kurve zeigt das Spektrum des Sonnenlichtes. Man beachte die sogenannte Grünlücke der Chlorophylle im Bereich des grünen Lichtes (480–550 nm). **b** Die Abhängigkeit der Verteilung von Licht verschiedener Wellenlängen von der Wassertiefe; r = 720 nm (rot), o = 620 nm (orange), y = 560 nm (gelb), g = 510 nm (grün), b = 460 nm (blau), v = 390 nm (violett).

chromatium aggregatum und *Pelochromatium roseum*; die phototrophen Bakterien umgeben ein nichtphototrophes zentrales anaerobes Bakterium, das Sulfat oder Schwefel zu H_2S reduziert, und H_2S dient wiederum der anoxygenen Photosynthese (Kap. 17.8).

Heliobakterien

Die Heliobakterien wurden als bisher letzte Gruppe anoxygener phototropher Bakterien erst 1983 identifiziert. Sie gehören phylogenetisch zu den grampositiven Bakterien, obwohl sie eine echte gramnegative Zellwandstruktur aufweisen. Diese Bakterien sind obligat anaerob und wechseln je nach Umweltbedingungen zwischen **photoorganotropher** Lebensweise und **chemoorganotrophem Gärungsstoffwechsel**. Sie zeichnen sich wie die *Chlorobiaceae* durch ein Reaktionszentrum vom **Typ I** aus. Typische Gattungen sind *Heliobacterium* und *Heliorestis*.

14.4 Photosynthetische Pigmente und Thylakoide

Phototrophe Bakterien fallen sofort durch ihre Färbung auf, die fast alle Farben umfasst, von purpurn über rot, lachsfarben, orange, ocker und braun zu grün und blaugrün (Abb. 14.10). Für die Absorption im blauen (< 450 nm) und im roten sowie infraroten Spektralbereich (650–1100 nm) sind die Chlorophylle verantwortlich. Die Absorption im Bereich von 400–550 nm geschieht hauptsächlich durch Carotinoide und bei Cyanobakterien im Bereich 550–650 nm durch Phycobiline (Abb. 14.13). Alle Pigmente sind durch ausgeprägte konjugierte Doppelbindungssysteme ausgezeichnet.

14.4.1 Chlorophylle und Bakteriochlorophylle

Die wichtigsten photosynthetischen Pigmente sind die **Chlorophylle** der oxygenen Phototrophen bzw. die **Bakteriochlorophylle** (BChl) der anoxygenen Phototrophen. Sie sind Lichtabsorber mit hohem Absorptionsquerschnitt. (Bakterio)Chlorophylle sind sowohl in den Proteinkomplexen der photosynthetischen Reaktionszentren als auch in den Proteinen der Antennenkomplexe enthalten. Diese Farbstoffe stammen von **Protoporphyrin IX** ab und enthalten in einem Tetrapyrrolring Mg^{2+} gebunden (Abb. 14.14). Protoporphyrin IX ist der Vorläufer von Häm und (Bakterio)Chlorophyllen. Die Mg-Chelatase, welche den ersten Syntheseschritt in Richtung (Bakterio)Chlorophylle katalysiert, wird durch Sauerstoff im

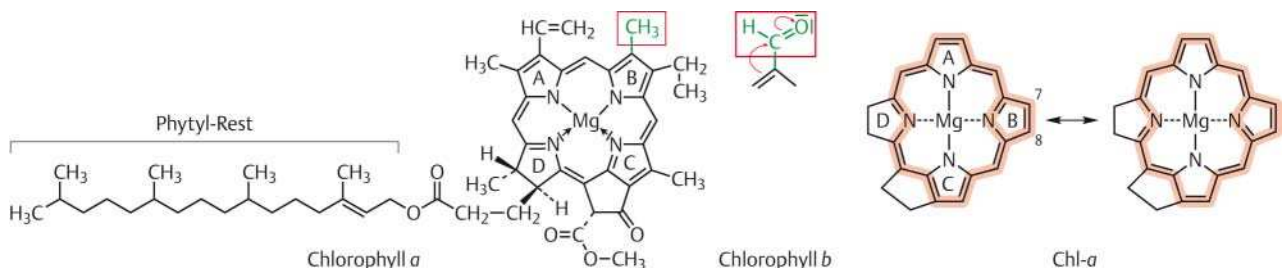


Abb. 14.14 Chlorophyll a und b. Der elektronenanziehende Formylrest von Chl-b verändert die π -Elektronenwolke und somit das Spektrum. Darunter sind 2 Resonanzstrukturen der delokalisierten π -Elektronen der konjugierten Doppelbindungen (rot) dargestellt.

Licht inaktiviert. (Bakterio)Chlorophylle unterscheiden sich hauptsächlich durch das Vorhandensein oder das Fehlen der Doppelbindung zwischen den C-Atomen 7 und 8 von Ring B (Abb. 14.14) und durch die Substituenten am Porphyringerüst voneinander (s. Abb. 14.15). Diese Unterschiede sind verantwortlich für die unterschiedlichen Absorptionsspektren, die für eine optimale Anpassung an die Lichtverhältnisse am Standort wichtig sind. Die Spektren der isolierten, in Methanol-Aceton gelösten Pigmente sind um ca. 30 nm zum Kürzerwelligen verschoben. Das zeigt, dass die Absorptionseigenschaften nicht nur durch die chemische Struktur des Pigmentes, sondern auch durch die Wechselwirkung mit dem Trägerprotein bedingt sind.

Die spektralen Eigenschaften verschiedener Bakterien und ihre ökologische Anpassung sind in Kap. 17.9.1 (s. Abb. 17.12, S. 547) dargestellt. Die Unterschiede lassen sich auch zur selektiven Anreicherung und zur Kultur einzelner phototropher Bakterien nutzen (Box 14.1) (Abb. 14.12).

Chlorophyll

Chlorophyll absorbiert hauptsächlich Rotlicht zwischen 550 und 700 nm und Blaulicht unterhalb 480 nm (Abb. 14.13). Das nicht absorbierte Grünlicht bedingt die grüne Farbe der Pflanzenblätter, Grünalgen und Cyanobakterien. Hauptmerkmale sind der teilreduzierte Ring D, ein fünfter isozyklischer Cyclopentanonring neben Ring C, der aus einer der Propionylseitenketten des Protoporphyrins hervorgeht, sowie der hydrophobe Phytolalkohol (oder ein ähnlicher Terpenalkohol), der über eine Esterbindung mit dem Tetrapyrrolring verbunden ist und das Molekül in den Proteinen verankert. In höheren Pflanzen kommen zwei nah verwandte Pigmente – Chlorophyll *a* und *b* – vor, in Cyanobakterien fehlt jedoch Chlorophyll *b* (Ausnahme Prochlorophyten). Die beiden Chlorophylle unterscheiden sich zwar nur geringfügig in der Seitenkette des Ringes B, aber deutlich in der Lichtabsorption. Ihre Spektren sowie das Spektrum eines typischen Carotinoids als Hilfspigment ist in Abb. 14.13 dargestellt. Nur Chlorophyll *a* ist Bestandteil des Reaktionszentrums, die Anwesenheit von Chlorophyll *b* in den Antennen des Photosystems (s. u.) ermöglicht eine effizientere Nutzung der Sonnenenergie.

Bakteriochlorophylle

Bei den wichtigsten **Bakteriochlorophyllen** (BChl *a*, *b* und *g*) ist im Vergleich zu den Chlorophyllen Ring B des Tetrapyrrolsystems reduziert, ansonsten unterscheiden sich die verschiedenen bekannten Pigmente lediglich in den Substituenten des Tetrapyrrolgerüsts (Abb. 14.15). Die Absorptionsmaxima der Proteinkomplexe mit Chlorophyllen liegen bei 680–685 nm, derer mit Bakteriochlorophyll *c*, *d*, und *e* (mit ungesättigtem Ring B) bei 715–755 nm. Die Absorptionsmaxima der Proteinkomplexe mit Bakteriochlorophyll *a* liegen bei 800–890 nm und mit Bakteriochlorophyll *b* bei 1020–1035 nm, also im Infrarotbereich. Der Bakteriochlorophyll-*g*-Proteinkomplex absorbiert bei 788 nm. Für die Übertragung der Anregungsenergie von den Carotinoiden auf die Bakteriochlorophylle ist die Absorptionsbande bei 590 nm (BChl *a*) bzw. 600 nm (BChl *b*) wichtig (siehe Plus 14.5).

Plus 14.5 Lichtantennen

Das effiziente Einfangen des Lichtes und die Übertragung der Energie von einem Pigment zum anderen erfordert eine bestimmte Raumstruktur: Präzise und fixierte Ausrichtung der Chromophoren in den Proteinen, sowohl zueinander als auch im richtigen Abstand voneinander. Außerdem müssen die Emissionsbanden der Donatormoleküle mit den Absorp-

tionsbanden der Akzeptormoleküle überlappen. Damit wird auch bei niedrigen Lichtintensitäten eine maximale Sammlung von Energie (bis zu 95 %) ermöglicht; andererseits wird überschüssige Energie, die nicht durch die Reaktionszentren aufgenommen werden kann, als sehr langwelliges Fluoreszenzlicht oder als Wärme wieder abgestrahlt.

14.4.2 Akzessorische Pigmente

Außer den Chlorophyllen sind noch weitere, akzessorische Pigmente am Einfangen der Lichtenergie für die Photosynthese beteiligt. Sie füllen die Lücken im Absorptionsspektrum der (Bakterio)Chlorophylle und tragen so zur besseren Nutzung des Lichts bei. Oft handelt es sich um mehrere Pigmente, die sich gegenseitig in dieser Funktion ergänzen. Die Pigmente sind an Proteine gebunden.

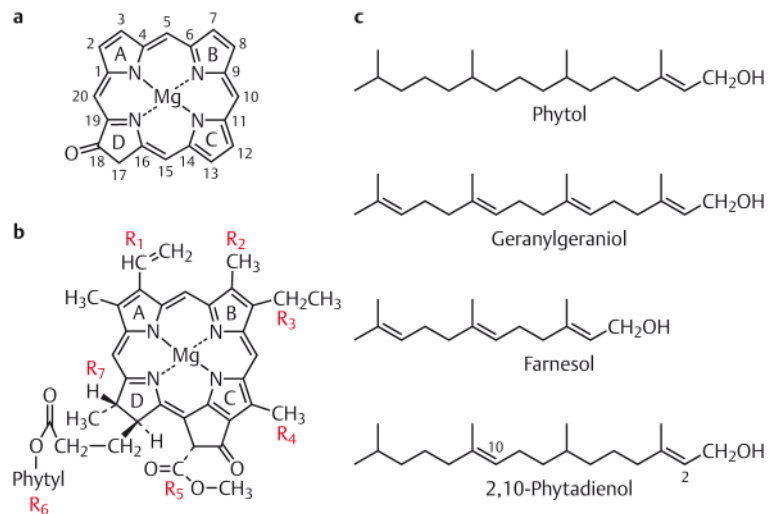


Abb. 14.15 Beziehungen zwischen Chlorophyll *a* und den Bakteriochlorophyllen *a*, *b*, *c*, *d*, *e* und *g*. **a** Nummerierung der C-Atome und Pyrrolringe des Tetrapyrrolgerüsts. **b** Chlorophyll *a* und davon abgeleitete Verbindungen. Die Unterschiede zwischen Chlorophyll *a* und Bakteriochlorophyll *a* sind rot markiert. Man beachte, dass die rot markierte Doppelbindung im Fall der Bakteriochlorophylle *a* und *b* reduziert (gesättigt) ist; bei den Chlorophyllen *a* und *b* sowie bei den Bakteriochlorophyllen *c*, *d* und *e* ist die Doppelbindung vorhanden. Dies ist durch * in Spalte R_2 angedeutet.

Pigment	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7	Absorption [nm]
BChl <i>a</i>	-CO-CH ₃	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₃	-CO-OCH ₃	Phytyl oder Geranylgeraniol	-H	800–880
BChl <i>b</i>	-CO-CH ₃	-CH ₃	=CH-CH ₃	-CH ₃	-CO-OCH ₃	Phytyl oder Phytadienyl	-H	1020
BChl <i>c</i>	-CHOH-CH ₃	-CH ₃ *	-C ₂ H ₅ bis -C ₄ H ₉	-CH ₃ bis -C ₂ H ₅	-H	Farnesyl oder Stearyl	-CH ₃	750
BChl <i>d</i>	-CHOH-CH ₃	-CHO*	-C ₂ H ₅ bis -C ₅ H ₁₁	-CH ₃ bis -C ₂ H ₅	-H	Farnesyl	-H	725–745
BChl <i>e</i>	-CHOH-CH ₃	-CHO*	-C ₂ H ₅ bis -C ₄ H ₉	-C ₂ H ₅	-H	Farnesyl	-CH ₃	715–725
BChl <i>g</i>	-CH=CH ₃	-CH ₃ *	=CH-CH ₃	-CH ₃	-CO-OCH ₃	Farnesyl oder Geranylgeraniol	-H	788

Carotinoide

Carotinoide, z.B. Lutein, sind isoprenoide Polyen-Chromophore (C_{40} -Verbindungen, Tetraterpene) mit konjugierten Doppelbindungen; sie haben variable Strukturen, und durch Oxo- und Aldehydgruppen können sie eine tiefröte Farbe annehmen (Abb. 14.16). Sie kommen in großen Mengen in den Membranen phototropher Organismen vor und erfüllen zwei Aufgaben. Sie absorbieren als **Hilfspigmente** Licht im Bereich von 400–550 nm. Ihre Färbung verrät, dass sie violetteres, blaues und blaugrünes Licht absorbieren, sie nutzen die sogenannte „Grünlücke“, die bei den Absorptionsspektren der Chlorophylle und Bakteriochlorophylle zu finden ist. Sie dienen auch als **Schutzpigmente** und können die höheren, schädlichen Anregungszustände des Chlorophylls und des Sauerstoffs (Singlet-Sauerstoff) „löschen“, die bei der Photosynthese auftreten (Schutz vor „Photooxidation“ durch Singlet-Sauerstoff). Carotinoidfreie blau-grüne Mutanten von Purpurbakterien wachsen nur im Schwachlicht und werden durch hohe Lichtintensitäten besonders in Gegenwart von Sauerstoff rasch abgetötet.

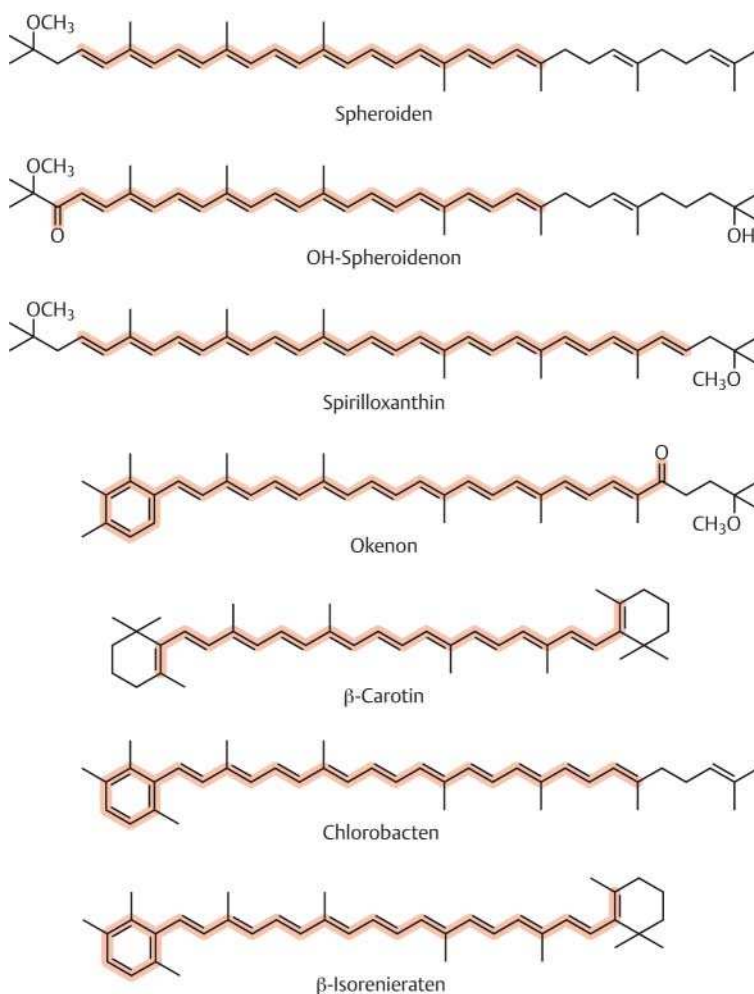


Abb. 14.16 Strukturen einiger Carotinoide. Die konjugierten Doppelbindungen sind farblich markiert.

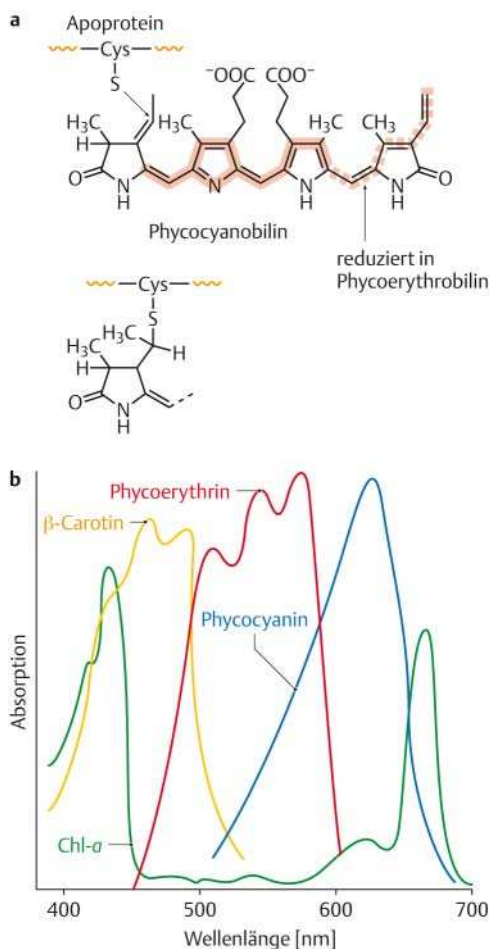


Abb. 14.17 Phycobiline. **a** Strukturen von Phycocyanobilin und Phycoerythrobilin. Die Phycobiline sind mit einer C_2 -Seitengruppe kovalent an die Thiolgruppe eines Cysteinrestes der Chromoproteine geknüpft. **b** Absorptionsspektren von Pigmentproteinen von Cyanobakterien. Chlorophyll a, β -Carotin, Phycoerythrin und Phycocyanin.

Phycobiline

Bei Rotalgen und Cyanobakterien findet man zusätzlich offenkettige, lineare Tetrapyrrolfarbstoffe, **Phycobiline** (griech. phycos, Seetang), ähnlich den Gallenfarbstoffen (lat. bilis, Galle), die Phycoerythrobiline (rot, 6 konjugierte Doppelbindungen) und Phycocyanobiline (blau-grün, 8 konjugierte Doppelbindungen). Sie entstehen aus dem zyklischen Tetrapyrrol Porphyrin, das durch Entfernen der Methinbrücke (in Form von CO!) zwischen Ring A und Ring B gespalten wird (Abb. 14.17a). Die genannten Farbstoffe sind an Chromoproteine (Phycoerythrine, Phycocyanine) gebunden, die hoch geordnete Strukturen auf der Thylakoidmembran bilden, sog. **Phycobilisomen**. Sie dienen als Lichtsammelkomplexe der Cyanobakterien und der Chloroplasten der Rotalgen. Die Phycobiline sind über Thioetherbindungen kovalent an Cysteinreste der Phycobiliproteine gebunden und absorbieren Licht im Wellenlängenbereich 480–650 nm (Abb. 14.17b). Die rotgefärbten Phycoerythrine erlauben Cyanobakterien einen Lichtstoffwechsel selbst noch in großer Wassertiefe.

14.4.3 Thylakoide

Cyanobakterien besitzen abgeflachte, allseitig geschlossene Membranvesikel, die den Thylakoiden von Chloroplasten gleichzusetzen sind und den Photosyntheseapparat beherbergen. Das Lumen dieser Vesikel entspricht funktionell dem Außenraum der Bakterien. Dies wird deutlich, wenn man die vermutete Entstehung der Thylakoide aus der Cytoplasmamembran nachvollzieht (Abb. Plus 14.2, S. 408). Das Cytoplasma der Bakterien entspricht dem Stroma der Chloroplasten. Auch die meisten Purpurbakterien haben den Photosyntheseapparat auf intracytoplasmatischen Membranen lokalisiert, die durch Einstülpungen der Cytoplasmamembran entstanden sind. Diese können artspezifisch verschiedene Formen annehmen, vesikulär, tubulär oder lamellär (s. Abb. 5.9, S. 133). Auch findet man konzentrisch angeordnete Lamellenstrukturen. Sie alle dienen der Membranvergrößerung, um Platz zu schaffen für den Photosyntheseapparat, und sie füllen oft fast das ganze Cytoplasma aus. Nach dem Aufbrechen der Zellen entstehen aus ihnen Membranfragmente, die man als „Chromatophoren“ bezeichnet. Die Anpassung der Art und Menge der Pigmente und deren Trägerproteine an die Lichtverhältnisse nennt man **Chromatische Adaptation**.

14.5 Antennenkomplexe

Für ein möglichst vollständiges Einfangen des Lichts ist eine Antenne erforderlich. **Antennen- oder Lichtsammelkomplexe** umgeben die photosynthetischen Reaktionszentren. Sie bestehen aus vielen Proteinmolekülen, die Pigmente in großer Überzahl, aber in einem stöchiometrischen Verhältnis gebunden enthalten (Plus 14.5). Ihre Pigmente gehen durch Absorption eines Lichtquants in einen angeregten Zustand über. Ein Elektron des konjugierten Doppelbindungssystems (s. Schema der Resonanzstrukturen in Abb. 14.14) wird in ein höheres Orbital angehoben. Dessen Anregungsenergie pflanzt sich als sog. **Exciton** in Picosekunden (10^{-12} s) vom primär angeregten Pigment über andere Pigmente zum Photoreaktionszentrum fort. Die Übertragung von Excitonen von den Antennen zum Reaktionszentrum ist mit Energieverlust verbunden, was den Excitonfluss zum Zentrum leitet.

14.5.1 LH I und II

Während der Evolution haben sich nur zwei Typen von Reaktionszentren entwickelt. Im Gegensatz dazu besteht bei den Antennensystemen eine große Mannigfaltigkeit in der Zusammensetzung und Architektur. Die Reaktionszentren selber können Antennenpigmente anlagern (Beispiel *Heliobacterium*). Bei den Purpurbakterien umgibt das Reaktionszentrum eine zylindrische, ringförmige Struktur (Kernantenne, zentrale Antenne oder core antenna), **LH (light-harvesting)**-System I, aus etwa 30 Proteinen, die 15 BChl- bzw. Carotinoidmoleküle binden (Abb. 14.18). Die periphere LH-II-Antenne ist auch zylindrisch in die Membran eingelagert. Viele LH-II-Antennen bilden Gruppen, deren Größe mit der Lichtintensität variiert (bei Schwachlicht groß) und die sich mit den Reaktionszentren im Energieaustausch befinden.

14.5.2 Chlorosomen

Grüne Schwefel- und Nicht-Schwefelbakterien enthalten keine intracytoplasmatischen Membranen. Obwohl phylogenetisch weit von einander entfernt und verschiedene Photosysteme verwendend, besitzen beide Gruppen ähnliche, längliche, lipidreiche Vesikel (Abb. 14.19). Diese sog. **Chlorosomen** sind mit stäbchenförmigen (Bakterio)Chlorophyll-*c(d, e)*-Aggregaten gefüllt; Proteine fehlen (Ausnahme zur Regel, dass Pigmente proteingebunden vorliegen). Auf 1 (Bakterio)Chlorophyll im Reaktionszentrum kommen etwa 1000 Pigmentmoleküle in diesen Superantennen. Die Hülle der Vesikel ist eine Lipidhalbschicht, in die Proteine eingelagert sind. Die Chlorosomen befinden sich auf der cytoplasmatischen Seite der Membran und stehen über eine kristallin erscheinende Basisplatte mit dem Reaktionszentrum in Verbindung. Diese enthält BChl *a* und vermittelt die Übertragung des angeregten Zustandes von den Chlorosomen in das Reaktionszentrum.

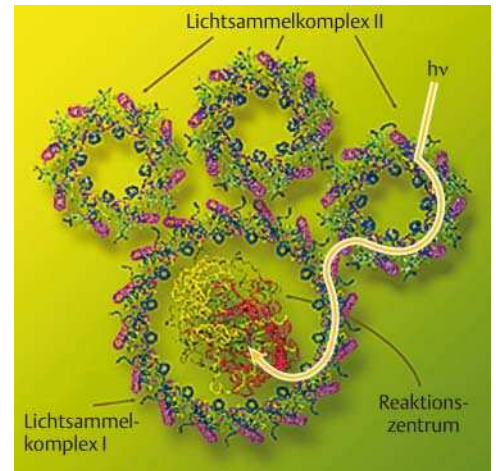


Abb. 14.18 Lichterntekomplexe (LH I und II). Struktur von LH I mit Reaktionszentrum und die sie umgebenden LH-II-Komplexe.

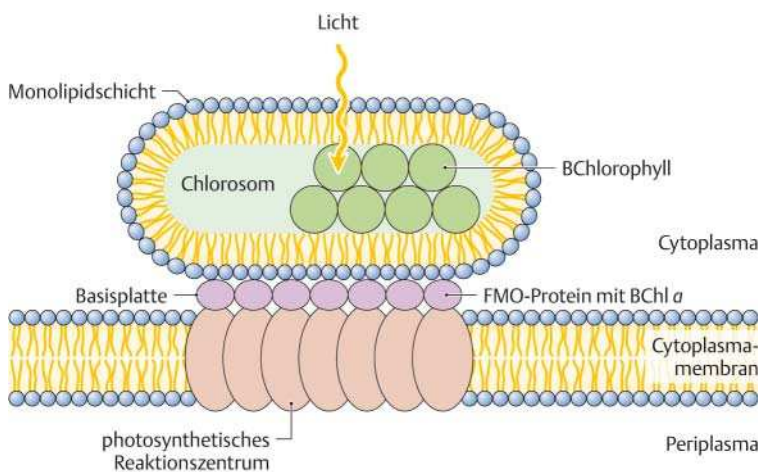


Abb. 14.19 Chlorosomen.

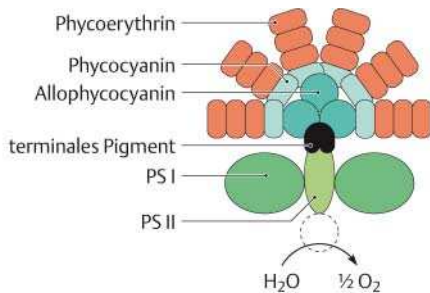


Abb. 14.20 Aufbau eines Phycobilisoms.

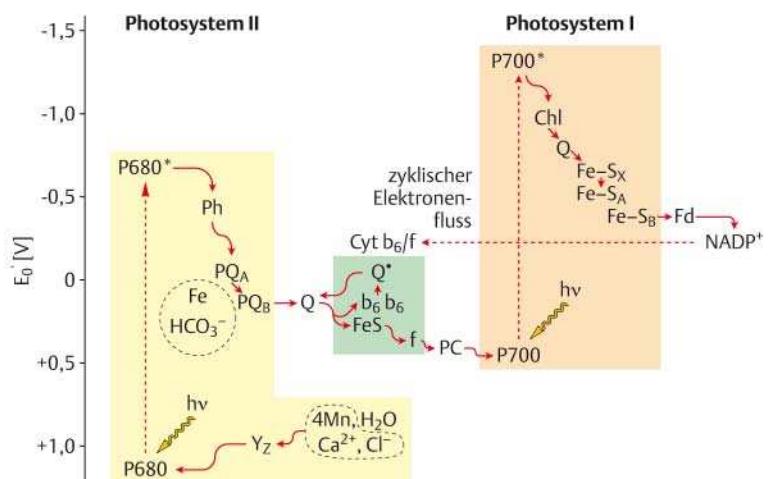
14.5.3 Phycobilisomen

Phycobilisomen in Cyanobakterien und in den Chloroplasten der Rotalgen wirken ähnlich als Superantennen (Abb. 14.20). Sie sind dem Reaktionszentrum II auf der Membrannenseite (cytoplasmatische Seite bzw. Stromaseite) aufgesetzt. Sie absorbieren besonders gut das von den Grünalgen übrig gelassene Grünlicht. Phycobilisomen bestehen aus mehreren zentralen Proteinzylindern und darauf radial angelegten Proteinstäben aus einzelnen multimeren Proteinscheiben. Diese enthalten jeweils mehrere Moleküle Phycobiline. Die Lichtenergie wird von den kürzer- zu den längerwelligen Absorptionsbanden der Phycobiline und von dort über den Chlorophyll enthaltenden LH-Komplex zum Reaktionszentrum von Photosystem II geleitet. Die Antennenstäbe werden bei Schwachlicht verlängert und die Anzahl der Phycobilisomen vergrößert; sie können bis zu 40% des Zellproteins ausmachen. Zudem kann der Phycobilintyp an das Lichtspektrum angepasst werden (Kap. 14.4.2).

14.6 Oxygene Photosynthese

Die oxygene Photosynthese der Cyanobakterien einschließlich der Prochlorophyten entspricht weitgehend derjenigen der Chloroplasten. Deshalb wird hier gelegentlich darauf verwiesen. Beide erfordern neben den Antennenkomplexen vier Membranproteinkomplexe: Photosystem II mit Wasserspaltungsenzym, Cytochrom b_6/f , Photosystem I und H^+ -ATP-Synthase. Die wesentlichen Unterschiede zu den Chloroplasten sind folgende: Der Photosyntheseapparat in Cyanobakterien ist auf den Thylakoidmembranen lokalisiert. Diese Membranen sind zwiebelschalenartig angeordnet und bilden keine Membranstapel wie in den Grana der Chloroplasten. Als Superantennen fungieren Phycobilisomen (Kap. 14.5.3); die LH-Komplexe sind kleiner. Cyanobakterien enthalten nur Chlorophyll a , mit Ausnahme der Prochlorophyta, die auch Chlorophyll b in den Antennen enthalten. Schließlich dienen die Membransysteme auch der Atmung und sie enthalten die dafür erforderlichen Proteine. Der Elektronentrans-

Abb. 14.21 Die photosynthetische Elektronentransportkette als Z-Schema. Nach oben zeigende Linien bedeuten endergone lichtgetriebene Reaktionen, nach unten zeigende Linien exergone Reaktionen. Die Redoxpotenziale sind folgende: $P_{680}/P_{680}^+ +1,15$ V; $P_{680}^*/P_{680}^+ -0,7$ V; $Ph/Ph -0,45$ V; $Q_A^-/Q_A 0$ V; $P_{700}/P_{700}^+ +0,45$ V; $P_{700}^*/P_{700}^+ -1,3$ V; $Phyllochinon^-/Phyllochinon -0,8$ V; Fe_4S_4 -Zentrum $x -0,73$ V; weitere FeS-Zentren $-0,55$ V. Das Zeichen * symbolisiert einen durch Excitonen angeregten Zustand, die farbigen Flächen deuten die Proteinkomplexe an. Ph, Pheophytin; Fd, Ferredoxin; PC, Plastocyanin; PQ_A und PQ_B , gebundene Plastochinonmoleküle (PQ) von Photosystem II; Y, Tyrosinrest; Q, Phyllochinon.



port bei Photosynthese und Atmung verwendet die gleichen Elemente und Atmung und Photosynthese stehen in Konkurrenz zu einander.

14.6.1 Die photosynthetische Redoxkette im Überblick

Die Reaktionskette wird meist in Form eines liegenden Z dargestellt (Abb. 14.21). Sie beginnt mit der Absorption der Energie eines Lichtquants aus den Antennen durch ein **spezielles Chlorophyllpaar** (Chl *a*) im **Photosystem II**, Pigment P_{680} (der Index gibt das Absorptionsmaximum *in vivo* an). Das elektronisch angeregte Pigment P_{680}^* ist ein starkes Reduktionsmittel (Redoxpotenzial wenigstens $-0,7$ V!). Es gibt ein Elektron aus dem Chlorophyll an ein Pheophytin ab, ein Mg-freies Chlorophyll. Das Chlorophyll wird dadurch in wenigen Picosekunden (ps) zu P_{680}^+ oxidiert und ausgebleicht. P_{680}^+ hat ein Redoxpotenzial E° von $+1,15$ V! Die Primärreaktion der Photosynthese ist also eine **Ladungstrennung**. Wichtig ist das Verständnis der räumlichen Anordnung der Systembestandteile. Das oxidierte Zentrum P_{680}^+ füllt seinen Elektronenbestand aus der **Wasserspaltung** auf der Lumen-Seite (die ursprünglich dem Außenraum entspricht) auf (Abb. Plus 14.2, S. 408). Dies wird durch das extrem positive Redoxpotenzial des Photosystems II ermöglicht.

Vom Pheophytin gelangt das energiereiche Elektron zu einem protein-gebundenen Chinon Q_A mit positiverem Redoxpotenzial. Von dort gelangt es über ein Fe-Atom zu einem lose gebundenen Plastochinon Q_B , das erste stabile Reduktionsmittel auf seinem Weg („Elektronenfall“). Bis hierher wurde über die Hälfte der Anregungsenergie als Wärme verloren, der Prozess dauert ca. 0,1 ms. Q_B nimmt hintereinander $2 e^-$ sowie $2 H^+$ vom

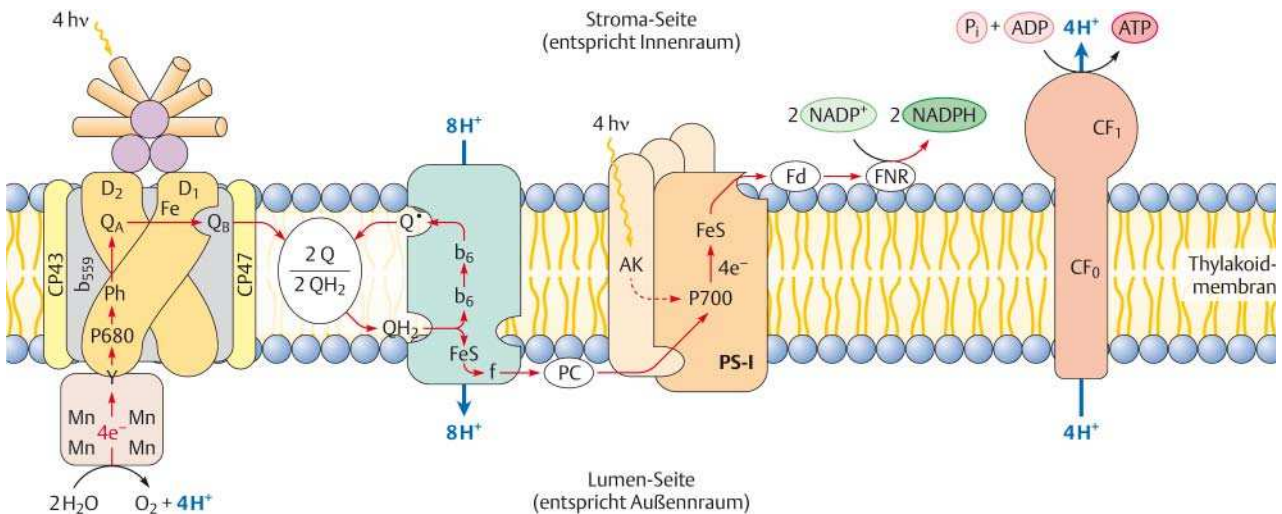


Abb. 14.22 Organisation der Komponenten des photosynthetischen Elektronentransports in der Thylakoidmembran. Das Schema zeigt den lichtgetriebenen Weg von $4 e^-$ aus $2 H_2O$ zu $2 NADP^+$. Die Photosysteme I und II sind gelb bzw. orange dargestellt, der Cytochrom- b_6f -Komplex grün. Protonen werden nur durch den Q-Zyklus transportiert bzw. durch die Wasserspaltung im Lumen freigesetzt; sie gelangen über die ATP-Synthase (rot) zurück ins Stroma. Die Standard-Potenzialdifferenz des Elektronentransports durch Photosystem I beträgt etwa $+1$ V. Ferredoxin mit einem E° von $-0,45$ V reduziert das $NADP^+$ -System ($E^{\circ} -0,32$ V). Die Ferredoxin- $NADP^+$ -Reduktase (FNR) ist ein Flavoprotein. D1 und D2 sind die beiden Hauptproteine, die von zwei Chl *a* enthaltenden Antennenproteinen umgeben sind. An der Stroma-Seite der Thylakoidmembran sind dem Reaktionszentrum von Photosystem II die Phycobilisomen aufgelagert. Die Stöchiometrie am Manganenzym ist für $1 O_2$ gezeigt. AK, Antennenkomplexe; CP, chlorophyllbindende Proteine; Ph, Pheophytin; Fd, Ferredoxin; PC, Plastocyanin; b_{559} , Cytochrom b_{559} ; CF, Kopplungsfaktor.

Plus 14.6 Woher stammt der Sauerstoff?

Bereits van Niel hatte in den 1930er Jahren erkannt, dass die Photosynthese der allgemeinen Gleichung genügt: $\text{CO}_2 + 2 \text{H}_2\text{A} \rightarrow [\text{CH}_2\text{O} = \text{Kohlenhydrat}] + 2 \text{A} + \text{H}_2\text{O}$. In dieser Gleichung ist H_2A ein beliebiger Elektronendonator. Im Fall der oxygenen Photosynthese der Pflanzen, Algen und Cyanobakterien ist $\text{H}_2\text{A} = \text{H}_2\text{O}$. Im Fall der anoxygenen Photosynthese der Bakterien ist $\text{H}_2\text{A} = \text{H}_2\text{S}$. Das Produkt A ist dann folgerichtig O bzw. S. Daraus folgt, dass der Sauerstoff ($\text{O}_2 = 2 \text{A}$) bei der Photosynthese aus H_2O ($= \text{H}_2\text{A}$) stammt, nicht aus CO_2 , wie zuvor vermutet worden war.

Stroma (das dem ursprünglichen Innenraum entspricht) auf und wird dadurch zu $\text{Q}_\text{B}\text{H}_2$ reduziert; die vollständige Reduktion von Q_B erfordert eine zweite Lichtreaktion. Photosystem II plus Wasserspaltung kann man deshalb formal als Wasser-Plastoquinon-Oxidoreduktase verstehen.

Der reduzierte Akzeptor $\text{Q}_\text{B}\text{H}_2$ tauscht mit dem Pool an oxidiertem Chinon in der Membran aus. Das Elektron durchläuft nun eine **transmembrane Elektronentransportkette** vom Chinonpool zum b_6f -Komplex (der ähnlich wie der mitochondriale und bakterielle bc_1 -Komplex aufgebaut ist, Kap. 7.4.3) und wird vom löslichen Plastocyanin (PC) oder von Cytochrom c_{553} im Lumen aufgenommen. Plastocyanin überträgt das Elektron auf das Chlorophyll-Pigmentpaar P_{700} (Absorptionsmaximum bei 700 nm) von **Photosystem I**, welches in der zweiten Lichtreaktion das Elektron erneut über mehrere Chinon- und Eisen-Schwefel-Zentren in der Membran auf Ferredoxin im Cytoplasma transportiert. Photosystem I kann formal als Plastocyanin-Ferredoxin-Oxidoreduktase verstanden werden. Vom reduzierten Ferredoxin verläuft der Elektronenfluss über das Flavinsystem der **Ferredoxin-NADP⁺-Reduktase** zu NADP^+ , das zu NADPH reduziert wird. Da für die Reduktion von NADP^+ zwei Elektronen benötigt werden, muss dieser Prozess zweimal durchlaufen werden.

Die an Photosystem II gekoppelte Wasserspaltung liefert molekularen Sauerstoff O_2 und muss deshalb als 4-Elektronen-Übertragung formuliert werden: $2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{e}^- + \text{O}_2 + 4 \text{H}^+$ (Plus 14.6). Sie führt aufgrund der Orientierung von Photosystem II in der Membran zu einer Protonenfreisetzung im Lumen der Thylakoide (was dem ursprünglichen Außenraum entspricht, vgl. Abb. in Plus 14.2). Wie unten besprochen, wird im Zuge des Elektronentransports ein Protonengradient aufgebaut, der für die ATP-Synthese am H^+ -ATP-Synthase-Komplex genutzt werden kann.

14.6.2 Photosystem II (Chinon-Typ) und Wasserspaltung

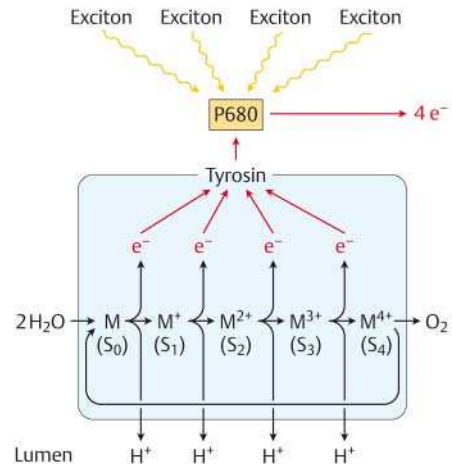
Der Gesamtkomplex (gelb in Abb. 14.22) besteht aus verschiedenen Untereinheiten, von denen zwei (D_1D_2) das eigentliche Reaktionszentrum darstellen. Diese beiden Proteine sind einander sehr ähnlich und enthalten je fünf Transmembranhelices. Sie enthalten ein **spezielles reaktives Chlorophyll-a-Paar**, das **Pigment-P₆₈₀**. Darüber hinaus sind jeweils zwei Moleküle weiteres Chlorophyll α , Pheophytin, β -Carotin (zum Quenchen des Singlet-Sauerstoffs), Plastochinon sowie ein gemeinsames Fe-Atom gebunden. Interessanterweise wird nur einer der zwei möglichen Elektronenübergangswege genutzt. D_1 ist instabil und muss ständig abgebaut und neu gebildet werden; als Grund vermutet man Schädigung durch Sauerstoffradikale, die bei der Elektronenabgabe durch das wasserspaltende System nicht ganz vermieden werden können. Ein zentraler Lichtsammelkomplex (Core-Antennen-Komplex) aus chlorophyllbindenden Proteinen (CP) und zwei kleine Cytochrome b_{559} gehören zum Gesamtkomplex. Letztere sorgen dafür, dass bei Überladung des Elektronentransportsystems Elektronen von den Chinonen zum Reaktionszentrum zurückfließen können. Auf der Lumenseite der Thylakoide (die dem Außenraum entspricht) ist dem Reaktionszentrum das Wasserspaltungs-enzym aufgelagert.

Wasserspaltungsenzym. Der Primärprozess hinterlässt im Reaktionszentrum durch Photooxidation von P_{680} eine Elektronenlücke. Sie wird mit Elektronen (über ein Tyrosinradikal) aufgefüllt, die das Wasserspaltungs-enzym (braun in Abb. 14.22) den gebundenen zwei Molekülen Wasser entzieht (Plus 14.7).

Plus 14.7 Wasserspaltungsapparat

Das Wasserspaltungsenzym enthält einen Cluster mit 4 Mn-Atomen, welche vermutlich zwischen den Oxidationszuständen (III) und (IV) wechseln. Deren Oxidation erfolgt schrittweise und erfordert die Energieaufnahme von 4 Lichtquanten, gefolgt von der Abgabe von 4 e^- an das Reaktionszentrum und von 4 H^+ in das Lumen (welches dem ursprünglichen Außenraum entspricht), vermutlich nach dem in der Abbildung gezeigten Schema. Die fünf Oxidationszustände des Wasserspaltungssystems werden als $S_0 - S_4$ bezeichnet. Erst der voll oxidierte S_4 -Zustand ist instabil und fällt unter Abgabe von O_2 und Aufnahme von 2 H_2O in den Grundzustand S_0 zurück.

Oxidationszustände des wasserspaltenden Enzyms. Während des gesamten Zyklus der photosynthetischen Wasserspaltung übernimmt das Photosystem II nacheinander alle 4 Elektronen vom Mn-Enzym. Die Einzelschritte verlaufen sehr rasch, mit Halbwertszeiten im Bereich von 20–300 ns. $S_0 - S_4$ kennzeichnet die verschiedenen Oxidationszustände. $M = (4 \text{ Mn})$ mit n positiven Ladungen, $M^+ =$ mit $n+1$ positiven Ladungen etc.



14.6.3 Elektronentransportkette

Eines der im Reaktionszentrum gebundenen Plastochinone ist stabiler Elektronenakzeptor für das Photosystem II (siehe photosynthetische Redoxkette). Dieses reduzierte Chinon tauscht gegen ein oxidiertes Chinon aus dem **Plastochinonpool** aus (in Abb. 14.21 und 14.22 als Q/QH_2 bezeichnet). Das System Plastochinon – Plastosemichinon – Plastohydrochinon führt in Verbindung mit dem b_6f -Komplex einen „Q-Zyklus“ (s. u.) zum Protonentransport durch die Membran aus.

b_6f -Komplex

Der **b_6f -Komplex** ist ein integrales Membranprotein und besteht aus mehreren Untereinheiten, mit folgenden Hauptkomponenten: Cytochrom b_6 trägt zwei Hämgruppen mit unterschiedlichem Redoxpotenzial. Es hat mehrere, die Membran durchziehende α -Helices. Zwischen zweien dieser Helices sind die Hämgruppen in analoger Weise wie im mitochondrialen Cytochrom b angeordnet (Abb. 7.20, S. 215). Cytochrom f (f für lat. folium, Blatt) ist ein peripheres Membranprotein auf der Außenseite (Lumenseite) der Membran, welches wie Cytochrom c ein kovalent gebundenes Häm c trägt. Der b_6f -Komplex trägt zwei Plastochinonbindungsstellen und überträgt 1 Elektron über ein 2Fe-2S-Protein (Rieske-Protein) mit positivem Potenzial auf das Kupferprotein Plastocyanin. Das andere Elektron wird über die Häm- b_6 -Gruppe und das andere Häm- b_6 mit etwas positiverem Potenzial auf ein Chinon Q rückübertragen unter Bildung von Q^+ (Q-Zyklus). Die Funktion des b_6f -Komplexes ist also analog zu der des bc_1 -Komplexes von Bakterien und Mitochondrien, wobei Cytochrom c durch Plastocyanin ersetzt ist.

Plastocyanin

Plastocyanin ist ein kleines peripheres Membranprotein, das ein Cu-Atom enthält und sozusagen die Rolle von Cytochrom c in der Atmungskette einnimmt (bei der anoxygenen Photosynthese übernimmt tatsächlich

Plus 14.8 Bilanz der Lichtreaktion

Die **Bilanz** der Lichtreaktion pro vier Elektronen sieht im Idealfall folgendermaßen aus (vgl. Abb. 14.22): Vier H^+ werden bei der Spaltung zweier Wassermoleküle nach außen (bzw. ins Lumen der Thylakoide) abgegeben, 8 H^+ werden durch den Cytochrom b_6f -Komplex mit Q-Zyklus ebenfalls nach außen (bzw. ins Lumen) gepumpt. Wenn die ATP-Synthase 4 H^+/ATP benötigt (Kap. 7.4.4), ergibt sich als Ausbeute 3 ATP und 2 NADPH. Pro Mol O_2 werden also 3 ATP und 2 NADPH gebildet. Zwischen den Redoxpartnern Wasser und $NADP^+$ liegt eine Potenzialdifferenz von 1,14 V. Allein für die Reduktion von 1 mol $NADP^+$ sind bei einem (nicht erreichbaren) Wirkungsgrad von 100% schon 220 kJ erforderlich. Das energetische Äquivalent von 1 mol Photonen der Wellenlänge 680 nm ist aber nur 175 kJ (Energie eines Mol Lichtquanten = $N \cdot h \cdot \nu$). Da $NADP^+$ -Reduktion und ATP-Synthese gleichzeitig ablaufen, bedarf der Gesamtvorgang zahlreicher Lichtquanten.

Quantenbedarf und Wirkungsgrad der Photosynthese. Als Quantenbedarf bezeichnet man die Anzahl von Photonen des Lichtes (Quanten), die benötigt werden, um 1 Molekül O_2 zu entwickeln. Zur Photolyse des Wassers werden 4 Photonen für 1 O_2 benötigt. Die Reduktion von 2 $NADP^+$ im Photosystem I erfordert nochmals 4 Photonen. Daraus ergibt sich ein Quantenbedarf von 8. Im Experiment werden Werte von 8–10 Quanten gefunden. Die Abschätzung von 8 Quanten ist ein Minimalwert; der wahre Wert wird immer höher ausfallen, je nach Ausmaß der zyklischen Photophosphorylierung und der Dichtigkeit der Membran. Nimmt man einen Quantenbedarf von 8, die Bildung von 2 NADPH ($2 H_2O + 2 NADP^+ \rightarrow O_2 + 2 NADPH + 2 H^+$; 2×220 kJ) und von 3 ATP ($3 ADP + 3 P_i \rightarrow 3 ATP + 3 H_2O$; 3×50 kJ) pro 1 O_2 an, so wird von der eingestrahlten Energie (8×175 kJ) etwa 40% in Form von chemischer Energie (NADPH und ATP) gespeichert.

ein Cytochrom c die Aufgabe von Plastocyanin!). Es nimmt im Elektronenfluss ein Elektron vom b_6f -Komplex auf und übergibt es an das Reaktionszentrum P_{700} . In Cyanobakterien konkurriert Cytochrom c_{553} der Atmungskette um die Elektronen.

14.6.4 Photosystem I (FeS-Typ) und NADPH-Bildung

Photosystem I (orange in Abb. 14.22) enthält das Reaktionszentrum P_{700} mit einem Redoxpotenzial von +0,45 V, also viel weniger positiv als das von Photosystem II, was wichtige Folgen hat. Es wird in ähnlicher Weise wie Photosystem II photooxidiert, das Elektron wird über die Membran letztlich auf ein FeS-Zentrum übertragen. Das Photosystem I enthält ebenfalls ein reaktives Chlorophyll- a -Paar im Reaktionszentrum; es wird nach dem Absorptionsmaximum *in vivo* auch **P₇₀₀** genannt. Daneben enthält es weiteres Chl a , ein Phyllochinon, ein spezielles Fe_4S_4 -Zentrum mit sehr negativem Redoxpotenzial als Primärakzeptor des Elektrons, sowie zwei weitere FeS-Zentren. Ähnlich wie Photosystem II besteht es aus einem heterodimeren großen Protein (AB) und mehreren kleinen Untereinheiten. A und B sind nahe verwandt und als natürliche Fusionsproteine aus den eigentlichen Reaktionszentrumproteinen (analog zu Protein D_1D_2) und den CP-Proteinen des Core-Antennen-Komplexes hervorgegangen (s. Abb. 14.22). A und B haben entsprechende Doppelfunktion als Antenne und Reaktionszentrum. Die reduzierten FeS-Zentren übertragen das Elektron auf Ferredoxin. Dessen Redoxpotenzial ist negativ genug, um $NADP^+$ im Cytoplasma (Stroma) reduzieren zu können. Auf die Methoden zur Aufklärung der Photosynthese wird in Box 14.2 eingegangen.

14.6.5 Zyklische Photophosphorylierung

Die Fixierung von 1 CO_2 und seine Reduktion auf die Stufe der Triosephosphate erfordert 3 ATP und 2 NADPH. Deshalb müssen ATP und NADPH in ungefähr diesen Mengen bei der Photosynthese bereitgestellt werden (Plus 14.8). Wenn die CO_2 -Fixierung nicht in ausreichendem Maße stattfindet (weil ATP auch für die anderen Zellprozesse benötigt wird) und somit zu wenig $NADP^+$ zur Verfügung steht, können die Elektronen von Photosystem I auf den Cytochrom b_6f -Komplex zurück übertragen werden und auf einem niedrigeren Energieniveau wieder auf Photosystem I zurückfließen (zyklischer Elektronenfluss in Abb. 14.21). Möglicherweise ist dafür der NADH-Dehydrogenase-Komplex verantwortlich, den man in Thylakoidmembranen findet. Dieser Kreisprozess schließt die Funktion eines Q-Zyklus ein und wirkt als Protonenpumpe, so dass auch ohne Netto- $NADP^+$ -Reduktion Lichtenergie direkt in chemische Energie in Form von ATP umgewandelt werden kann. Man nimmt an, dass auf diese Weise Cyanobakterien und Chloroplasten – dem jeweiligen Bedarf entsprechend – die Synthese von ATP und NADPH steuern.

Box 14.2 Methoden zur Aufklärung der Photosynthese

Aktionsspektrum. Die Summe der vorhandenen Pigmente erklärt das photochemische Aktionsspektrum der Photosynthese. Beispielsweise kann man zeigen, dass in Cyanobakterien die Menge an gebildetem Sauerstoff oder angehäufter Stärke (= Aktion) in Abhängigkeit von der Wellenlänge des eingestrahlichten Lichtes dem Absorptionsspektrum der Zellen entspricht.

Elektrochrome Änderungen des Carotinoidspektrums (bedingt durch Änderung der Ladungsverteilung in der Umgebung) können experimentell genutzt werden, um die Änderungen des Membranpotenzials von Thylakoidmembranen im μs -Bereich direkt zu messen.

Hill-Reaktion. Durch Zusatz von künstlichen Elektronendonatoren und -akzeptoren kann man die photochemische Redoxkette modifizieren. Bei der nach ihrem Entdecker benannten „Hill-Reaktion“ werden unphysiologische Elektronenakzeptoren (Hill-Oxidantien) wie z. B. Ferricyanid-Ion oder Benzochinon zugesetzt. Man beobachtet dann die Entwicklung von Sauerstoff unter Reduktion des zugesetzten Stoffes, ohne dass CO_2 fixiert wird: dies ist ein Beweis dafür, dass der Sauerstoff nicht aus CO_2 stammt, wie zuerst vermutet wurde (s. auch van Niel's Theorie, Plus 14.6).

Hemmstoffe. Wie für die Atmungskette kennt man auch einige Hemmstoffe des photosynthetischen Elektronentransports (Abb.). Manche dieser Verbindungen sind als solche oder in chemisch derivatisierter Form als *Herbizide* im Gebrauch. Ihr Angriffsort ist unterschiedlich. Meist ist das Photosystem II betroffen: es handelt sich oft um Plastochinonanaloga, welche die PQ_8 -Bindestelle am D_1 -Protein besetzen. Andere Herbizide hemmen den Elektronenfluss zwischen PS II und dem Plastochinonpool; so z. B. DCMU [N^1 -(3,4-Dichlorphenyl)- N^2 -dimethylharnstoff] und S-Triazine. Andere hemmen den b_6f -Komplex direkt, wie DBMIB [2,5-Dibrom-3-methyl-5-isopropyl-1,4-benzochinon], ein Plastochinonanaloges. Methylviologen (= Paraquat) wirkt als künstlicher Elektronenakzeptor in Photosystem I und ist selbstoxidierend.

Hemmstoffe der Photosynthese (aus Doenecke et al., 2005).

Andere Reagenzien führen zu einer Art „Kurzschluss“ im wasserspaltenden Enzym und stören die Abfolge der S_0 - S_3 -Zustände.

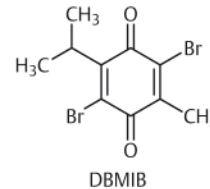
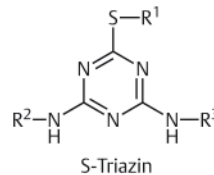
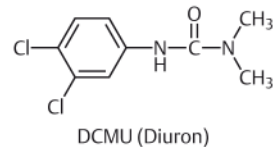
Außer den bekannten Entkopplern der Elektronentransportphosphorylierung (Kap. 7.4.3) wirken auch schwache Ammoniumbasen entkoppelnd, wie z. B. Methylamin.

Blitzlichtspektroskopie. Belichtung im Bereich von Femtosekunden (10^{-15} s) und zeitlich hochauflösende Absorptionsmessung gestatten Rückschlüsse auf die Redoxpotenziale der Pigmente und Elektronenüberträger und auf die Reihenfolge der Ereignisse. Schnelle Wiederholung der Lichtblitze und Signalmittelung führt zu einem guten Signal-Rausch-Verhältnis.

Antikörper gegen einzelne gereinigte Proteinkomponenten. Mit Antikörpern gegen gereinigte Proteine kann man elektronenmikroskopisch deren Zellort lokalisieren.

Reinigung von Komplexen mit Detergenzien und Röntgenstrukturanalyse. Entscheidende Einsichten in die Proteinkomplexe hat man erhalten, als diese mit Hilfe von Detergenzien aus ihrer Membrenumgebung gelöst und gereinigt wurden. Die Kristallisation des Reaktionszentrums und die Aufklärung seiner Struktur am Beispiel von *Rhodospseudomonas viridis* wurde mit dem Nobelpreis gewürdigt.

Mutanten. Nicht zuletzt haben Mutanten entscheidend zur Aufklärung der Photosynthese beigetragen.



14.6.6 Bilanz, Quantenbedarf und Wirkungsgrad der Lichtreaktion

Wie eingangs erwähnt, bewirkt die Lichtabsorption neben der Reduktion von NADP^+ auch die Speicherung von Energie als ATP. Intermediär wird die Energie wie in der Zellatmung durch das elektrochemische Potenzial eines H^+ -Gradienten über die Thylakoidmembran gespeichert. Die Phosphorylierung von ADP wird durch einen vierten Proteinkomplex in der Membran, die ATP-Synthase, katalysiert. Die Aktivität dieses Enzyms wird in phototrophen Organismen in der Regel im Licht aktiviert. Zur Bilanz der Photosynthese siehe Plus 14.8.

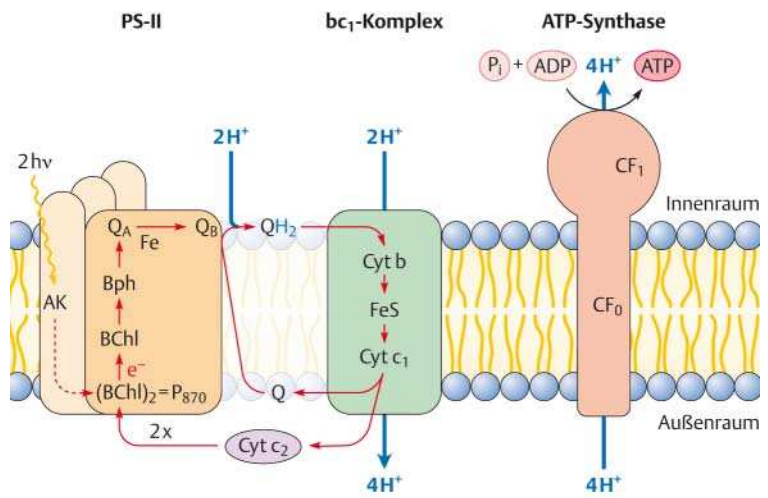
14.7 Anoxygen Photosynthese

Die Photosysteme der anoxygenen phototrophen Bakterien funktionieren nur bei niedrigem Partialdruck von Sauerstoff und ihre Bildung erfordert Licht und ebenfalls niedrigen Sauerstoffpartialdruck. Die Wasserspaltung, welche Elektronen aus einem unerschöpflich vorhandenen Molekül bezieht und welche das Hintereinanderschalten der beiden Photosysteme und damit die Reduktion von NAD(P)^+ ermöglicht, fehlt. Im Übrigen sind die Unterschiede zum bisher Besprochenen gering.

14.7.1 Gemeinsamkeiten und Unterschiede bei den anoxygenen Photosystemen

Die anoxygen Photosynthese findet nur mit jeweils **einem Photosystem** statt, welches **Bakteriochlorophyll** statt Chlorophyll enthält. Die Reaktionszentrumstypen I und II sind einfacher gebaut als die bei Pflanzen, sie sind aber evolutionär gesehen deren Vorläufer. Nach der lichtgetriebenen Ladungstrennung führt ein **zyklischer Elektronentransport** das Elektron zurück in das oxidierte Reaktionszentrum. Die Elektronentransportkette ist vergleichbar mit derjenigen der oxygenen Photosynthese; ihr Herzstück ist ein Cytochrom bc_1 -Komplex – analog zum Cytochrom b_6f -Komplex der Chloroplasten und Cyanobakterien. Er koppelt den Durchgang eines Elektrons an die Ausschleußung von 2H^+ nach außen. Das so erzeugte Protonenpotenzial wird von der H^+ -ATP-Synthase für die Synthese von ATP genutzt. Plastocyanin wird durch ein kleines lösliches **Cytochrom c** (z. B. $\text{Cyt } c_2$) im periplasmatischen Raum ersetzt (Abb. 14.23).

Abb. 14.23 Prinzip eines anoxygenen bakteriellen Photosystems. Die Abbildung zeigt die Anordnung der Pigmente und Redoxkomponenten im photosynthetischen Reaktionszentrum von *Rhodospseudomonas viridis* (Photosystem II). Die Protonenstöchiometrie ist für 2 Lichtquanten und 2 Elektronen gezeichnet. Die Vierecke symbolisieren Bakteriochlorophyll (BChl) und Bakteriopheophytin (BPh). Q, Chinon; $\text{Cyt } c_2$, Cytochrom c_2 .



Die zwei Photosysteme unterscheiden sich – energetisch betrachtet – hauptsächlich darin, dass ihre Komponenten in verschiedenen Bereichen der **Redoxpotenzialskala** angesiedelt sind (Abb. 14.24). Die Redoxpotenziale der Reaktionszentren, $\text{BChl}/\text{oxidiertes BChl}^+$, sind bei Photosystem II nach der positiven Seite (aber nicht so positiv wie bei Cyanobakterien und Chloroplasten), bei Photosystem I nach der negativen Seite hin verscho-

ben. Das gleiche gilt sinngemäß für die **Elektronenakzeptoren** nach der Ladungstrennung. Dies ist ein **Chinon** bei Photosystem II, das mit dem Chinonpool der Membran austauscht, und ein **FeS-Protein** bei Photosystem I, das in Verbindung mit Ferredoxin steht. Auch andere Glieder der Elektronentransportkette wie die Chinone und die periplasmatischen Cytochrome werden diesem unterschiedlichen Redoxpotenzialbereich angepasst.

Um bei einem zyklischen Elektronentransport netto NAD(P)H als Reduktionsmittel für die CO₂-Fixierung zu bilden, müssen **externe Elektronendonatoren** verwendet werden. Hier besteht ein wesentlicher Unterschied zur oxygenen Photosynthese der Cyanobakterien. Anoxygen phototrophe Bakterien sind abhängig von reduzierten (meist anorganischen) Verbindungen. Die Verbindungen werden von gewöhnlichen Enzymen – Dehydrogenasen, wie man sie z. B. vom Stoffwechsel von chemolithotrophen Bakterien her kennt – oxidiert und die Elektronen werden in der Regel auf der Stufe der Chinone, in manchen Fällen auf der Stufe von Cytochrom c in die Elektronentransportkette eingeschleust.

Bakterien mit Photosystem II nutzen den lichtgetriebenen Protonengradienten, um Pyridinnukleotide mit reduziertem Chinon zu reduzieren. Das viel negativere Redoxpotenzial der Pyridinnukleotide erfordert einen **rückläufigen (revertierten) Elektronentransport**, bei dem die Reaktion der NADH-Chinon-Oxidoreduktase (Komplex I der Atmungskette, Kap. 7.4.3) unter Verwendung des Protonengradienten umgekehrt wird.

Auch Bakterien mit Photosystem I müssen NAD(P)⁺ mit reduzierten Chinonen oder mit Cytochrom c reduzieren. Hier gibt es aber einen wesentlichen Unterschied. Elektronen fließen von diesen Elektronenüberträgern zum Reaktionszentrum und werden dann lichtabhängig auf die Stufe von Ferredoxin angehoben. Von dort aus kann leicht NAD(P)⁺ direkt reduziert werden, es braucht keinen rückläufigen Elektronentransport.

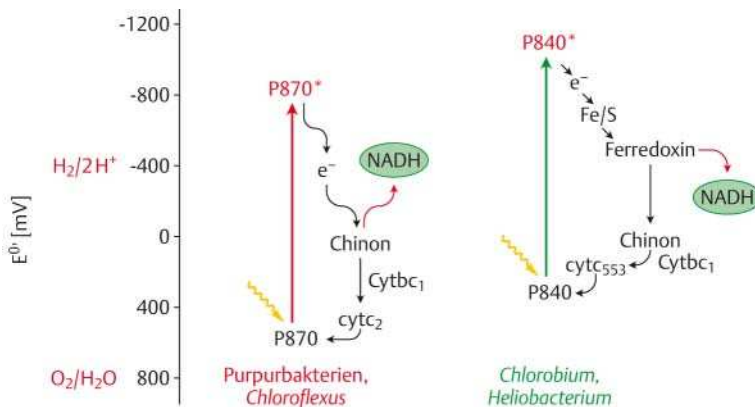


Abb. 14.24 Schematische Gegenüberstellung der Photosysteme II und I der anoxygen phototrophen Bakterien.

14.7.2 Photosysteme vom Typ II (Chinon-Typ) und vom Typ I (FeS-Typ)

Photosystem II

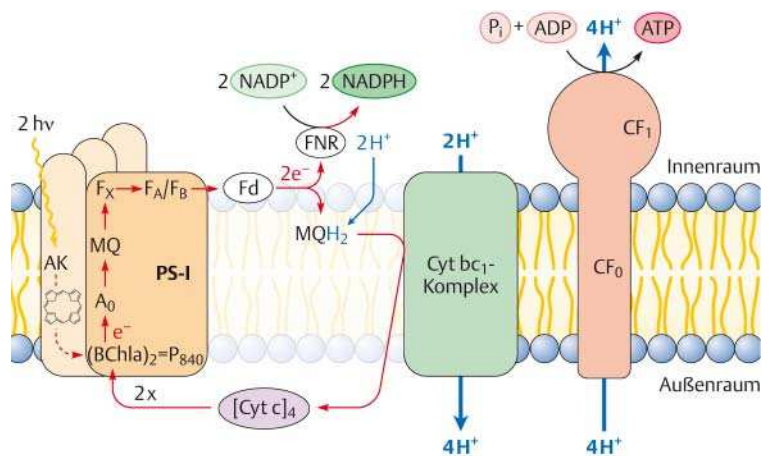
Das Photosystem II der anoxygen phototrophen Bakterien entspricht im Aufbau dem pflanzlichen und cyanobakteriellen System II. Die zentralen Proteine D1 und D2 werden hier L und M genannt (Abb. 14.23). Das Absorptionsmaximum von Bakteriochlorophyll ist gegen 870 nm in den Infrarotbereich verschoben. Das spezielle Chlorophyllpaar im Reaktionszentrum besteht aus BChl *a* oder *b*. Die Energie eines Lichtquants der Wellenlänge 870 nm kann immerhin noch ein Elektron um maximal 1,4 V auf ein negativeres Potenzial anheben. Auch hier wird bei der nahezu symmetrischen Anordnung der Proteine und der gebundenen Pigmente und Elektronenüberträger nur die eine Seite (L-Seite) verwendet. Der zyklische, lichtgetriebene Elektronentransport konkurriert mit dem respiratorischen Elektronentransport, jedoch findet Photosynthese in der Regel nur in Abwesenheit von Sauerstoff statt.

Photosystem I

Das bakterielle Photosystem I entspricht prinzipiell dem pflanzlichen Photosystem I. Das spezielle Chlorophyllpaar der Grünen Schwefelbakterien [BChl *a*]₂, P₈₄₀ ($E_0 = +1,2$ V) liefert das Elektron über ein weiteres Bakteriochlorophyll, Menachinon, Eisen-Schwefelzentrum Fx an die Eisen-Schwefel-Zentren F_A/F_B ($E_0 = -0,54$ V) und über Ferredoxin ($E_0 = -0,41$ V) an NAD(P)⁺ (Abb. 14.25). NADH wird durch die NADH-Menachinon-Oxidoreduktase oxidiert und Menachinon (ein Naphthochinon) übernimmt die Rolle der Benzochinone in der Elektronentransportkette. Direkter Elektronendonator für das Reaktionszentrum ist Cytochrom *c*₅₅₃.

Eine Abwandlung des Prinzips findet man bei den Heliobakterien. Hier ist BChl *g* als Antenne dem Reaktionszentrum angegliedert. Die Anregungsenergie gelangt über verschiedene Bakteriochlorophyll-Derivate zum speziellen Paar [BChl *g*]₂, P₇₉₈, und von dort über ein anderes Chlorophyll auf ein Eisen-Schwefel-Zentrum. NADH-Bildung und Elektronentransport zurück zum Reaktionszentrum sind vergleichbar mit dem System in dem Grünen Schwefelbakterium *Chlorobium*.

Abb. 14.25 Aufbau von Photosystem I in Grünen Schwefelbakterien. AK, Antennenkomplex; A₀, primärer Akzeptor (ein Bakteriochlorophyll); MQ, Menachinon; F, Eisen-Schwefel-Komplex; Fd, Ferredoxin; FNR, Ferredoxin-NADP⁺-Reduktase; [Cyt *c*]₄, Tetracytochromeinheit; CF, Kopplungsfaktor.



14.8 Bakteriorhodopsin- und Proteorhodopsin-abhängige Photosynthese

Es ist bemerkenswert, dass bisher in Archaeobakterien keine echte Photosynthese gefunden wurde. Jedoch nutzen die zu den Archaeobakterien zählenden **Halobakterien** das Licht auf vielfältige Weise. Diese hoch angepassten heterotroph lebenden Organismen kommen in extrem salzhaltigen Gewässern wie z. B. Salinen vor, in denen Meersalz gewonnen wird. Sie tolerieren nicht nur, sondern benötigen 3,5–5 M NaCl zum Wachstum. Ihr Cytoplasma hat eine ähnlich hohe Ionenkonzentration, jedoch überwiegt hier K^+ . Auch ihre Proteine benötigen 2 M Salz zur Aufrechterhaltung ihrer Struktur. Sie lassen sich leicht aus frischem Meersalz isolieren. Halobakterien verfügen über Pigmente, die mit dem Rhodopsin des Sehpurpurs verwandt sind und die Lichtenergie in dreierlei Weise umwandeln.

Einerseits wird durch **Bakteriorhodopsin** in einer lichtabhängigen Reaktion ein Protonengradient erzeugt. Bakteriorhodopsin besteht aus einem Membranprotein mit sieben transmembranen α -Helices, an das in der Mitte ein Pigment kovalent gebunden ist. Es wird bei niedriger Sauerstoffkonzentration gebildet und ist in der Plasmamembran in schollenartigen Arealen als sog. **Purpurmembra**n organisiert. Es handelt sich um dunkelrote Flecken von ca. 0,5 μm Durchmesser, welche die Hälfte der Cytoplasmamembran bedecken. Die rote Farbe ist auch verantwortlich für die oftmals sichtbare Rotfärbung der Standorte (Abb. 1.8, S. 15), an denen Halobakterien sich massenhaft vermehren.

Die Primärstruktur von Bakteriorhodopsin ist vollständig aufgeklärt. Der Photorezeptor ist Retinal (ein Aldehyd), das als Schiff-Base an die ϵ -Aminogruppe eines Lysins des Proteins gebunden ist. Der Stickstoff des Lysinrestes ist vom Zellinneren her für Protonen zugänglich und liegt protoniert vor. Das Retinal erfährt durch Absorption von Lichtquanten eine *all-trans*-13-*cis*-Umlagerung (Abb. 14.26). Der Prozess entspricht demjenigen des Sehvorgangs, bei dem aber durch Licht das 11-*cis*-Isomere des Retinals in das *all-trans*-Isomere umgelagert wird. Die lichtgetriebene Umlagerung in die energiereichere *cis*-Konfiguration führt im Protein zu Konformationsänderungen, bei denen die Seitenkette des Lysinrestes Zugang zur Außenseite bekommt. Gleichzeitig wird der pK_a -Wert des Lysinrestes erhöht, sodass dessen protonierte Form das Proton nach außen abgibt. Beide Effekte zusammen bewirken, dass eine Protonentranslokation über die Plasmamembran von innen nach außen erfolgt. Die Rückkehr in den Ausgangszustand erfolgt langsamer und spontan und die Schiff-Base nimmt von der Cytoplasmaseite erneut ein Proton auf. Ein neuer Zyklus kann beginnen. Der Protonengradient wird von der ATP-Synthase zur Synthese von ATP genutzt. Er kann aber auch für den Export von Na^+ -Ionen via Na^+/H^+ -Antiport in die salzreiche Umgebung genutzt werden. Ein bemerkenswerter Unterschied zu anderen Photosystemen besteht darin, dass hier eine **lichtgetriebene Protonenpumpe ohne Beteiligung eines Redoxprozesses** funktioniert.

Andererseits ist an die Funktion von **Halorhodopsin** eine Anionenpumpe gekoppelt, die Chloridionen durch die Plasmamembran nach innen pumpt; Cl^- wirkt als ein Gegenanion für die K^+ - und Na^+ -Kationen, die in hohen Konzentrationen vorliegen. Darüber hinaus kann ein weiteres **sensorisches Bakteriorhodopsin** Lichtenergie in ein Signal umsetzen, das die Bewegungsrichtung steuert. Auch der Flagellenmotor wird durch den lichtgetriebenen Protonengradienten angetrieben. Dies ermög-

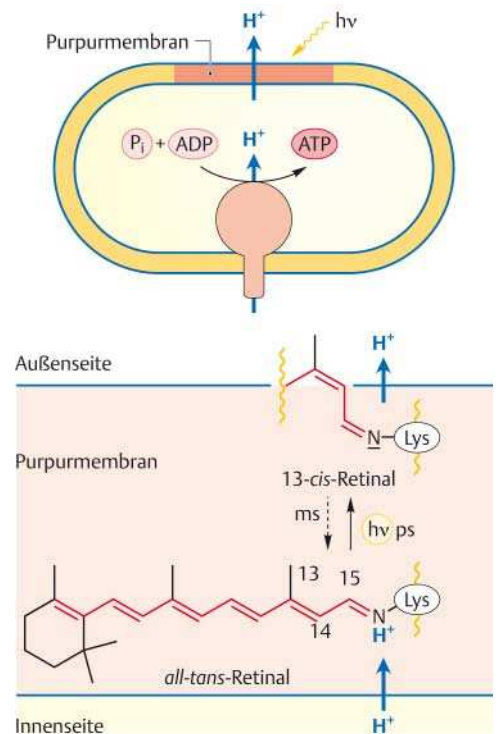


Abb. 14.26 Nutzung von Lichtenergie durch Halobakterien. In den purpurnen Membranflecken befindet sich das Bakteriorhodopsin. Das Pigment ist Retinal, das durch Licht isomerisiert wird (ps = Picosekunden, ms = Millisekunden).

licht den Bakterien das phototaktische Auffinden der Regionen optimaler Lichtbedingungen. Hierzu verhelfen auch linsenförmige Gasvesikel, mit deren Hilfe sie die Schwebdichte der Zelle einstellen können.

Proteorhodopsin ist ein dem Bakteriorhodopsin ähnliches retinalbindendes Membranprotein, das ebenfalls als lichtgetriebene Protonenpumpe funktioniert. Es wurde in verschiedenen planktonischen Proteobakterien im Oberflächenwasser der Ozeane gefunden. Man schätzt, dass mehrere Prozent des Bakterienplanktons diese Energiequelle nutzen. Der bekannteste Vertreter ist *Pelagibacter ubique*, das betreffende Proteorhodopsin wurde aber auch auf Vertreter von Archaeobakterien (*Thermoproteales*) übertragen. Es gibt verwandte Proteorhodopsine mit unterschiedlichem Absorptionsmaximum.

Zusammenfassung

- Die **Photosynthese** ist ein lichtgetriebener Redoxprozess und nutzt Lichtenergie, um an Membranen primär einen Protonengradienten aufzubauen. Durch Lichtenergie angeregtes Chlorophyll im Reaktionszentrum spaltet ein Elektron ab, das auf ein Akzeptormolekül mit negativerem Redoxpotenzial angehoben wird.
- Nach der Ladungstrennung kehrt das Elektron über eine Elektronentransportkette unter Beteiligung des Cytochrom-*bc₁*-Komplexes oder des homologen Cytochrom-*b₆f*-Komplexes in das oxidierte Reaktionszentrum zurück. Dabei wird – wie bei der Atmung – ein **Protonengradient** aufgebaut. Dieser wird für die Synthese von ATP genutzt.
- Phototrophe Bakterien findet man in fünf verschiedenen Bakterienstämmen. Unter oxischen Bedingungen überwiegen die Cyanobakterien. Sie betreiben eine **oxygene Photosynthese** und beziehen die Elektronen für die CO₂-Fixierung aus dem Wasser. Unter anoxischen Bedingungen leben Vertreter der Proteobakterien (Purpurbakterien), der Grünen Schwefelbakterien, der Grünen Nicht-Schwefelbakterien und der grampositiven Heliobakterien. Sie betreiben eine **anoxigene Photosynthese** und verwenden reduzierte anorganische oder organische Verbindungen als Elektronendonatoren für die CO₂-Fixierung.
- Die **photosynthetischen Pigmente** sind Chlorophyll (Cyanobakterien) und verschiedene Bakteriochlorophylle. Hinzu kommen Carotinoide und (bei Cyanobakterien) Phycobiline als akzessorische Pigmente.
- Der **Photosyntheseapparat** besteht aus Antennen, Reaktionszentrum, Elektronentransportkomponenten und H⁺-ATP-Synthase. Er ist in vielen Fällen auf intracytoplasmatischen Membranen lokalisiert.
- Die Lichtenergie wird durch Antennen gesammelt und den (Bakterio) Chlorophyllmolekülen der Reaktionszentren als **Excitonen** zugeleitet. Häufig übernehmen ringförmige Lichterntekomplexe in der Membran die Form von Antennen. Grüne Schwefel- und Grüne Nicht-Schwefelbakterien besitzen Chlorosomen, Cyanobakterien besitzen Phycobiosomen.
- In Cyanobakterien, wie in grünen Pflanzen und Algen, ist der Photosyntheseapparat in der Thylakoidmembran lokalisiert. Ihre **oxygene Photosynthese** verwendet **zwei Photosysteme**. Bei Photosystem II wird das abgeführte Elektron durch Oxidation von Wasser unter O₂-Freisetzung ersetzt. Wasserspaltung und Elektronentransport zwischen Photosystem II und I werden zur Erzeugung eines Protonengradienten benutzt. Photosystem I hebt das Elektron dann auf ein noch negativeres Potenzial und ermöglicht die NADP⁺-Reduktion.

- Die **anoxygene Photosynthese** verwendet nur **ein Photosystem**. Es arbeitet ohne Wasserspaltung und benutzt einen zyklischen Elektronenfluss, um den für die Energiekonservierung notwendigen pH-Gradienten zu erzeugen. Vertreter mit Typ II (Chinon-Typ) sind die photosynthetisierenden Proteobakterien (Purpurbakterien) sowie die Grünen Nicht-Schwefelbakterien. Zur Reduktion von NAD(P)^+ oxidieren sie anorganische oder organische Substrate und verwenden einen rückläufigen (revertierten) Elektronentransport. Daneben gibt es Photosysteme vom Typ I (FeS-Typ) bei Grünen Schwefelbakterien und Heliobakterien.
- Ein besonders einfaches, chlorophyllfreies Photosystem stellt das **Bakteriorhodopsin der Halobakterien** dar. Ein ähnliches System, Proteorhodopsin, findet sich in marinen Proteobakterien. Diese einfachen Systeme mit Retinal als Pigment wirken als lichtgetriebene Protonenpumpen, der erzeugte Protonengradient kann zur ATP-Synthese genutzt werden.

15

Prokaryontische Genetik und Molekularbiologie

Voraussetzung für die Erhaltung spezifischer Eigenschaften von Organismen über Generationen hinweg ist die identische Vervielfachung der Erbinformation (**Replikation**) und ihre gleichmäßige Verteilung bei der Zellteilung. Dieses Kapitel widmet sich zunächst der Struktur und Replikation der Desoxyribonukleinsäure (DNA), der Trägerin der genetischen Information in allen Lebewesen. Die Replikation der DNA ist ein weitgehend fehlerfreier Prozess, doch können verschiedene chemische Reaktionen an der DNA, die spontan auftreten oder durch äußere Einflüsse induziert werden, zu Mutationen führen. Die Anzahl dauerhafter Veränderungen in der Nukleotidsequenz wird jedoch durch eine Vielzahl von Reparaturmechanismen minimiert. Genetische Information kann durch einen natürlichen Prozess (**Rekombination**) neu kombiniert werden. Dies findet entweder innerhalb eines Genoms oder – nach Aufnahme von Fremd-DNA – zwischen den Genomen verschiedener Organismen statt. Prokaryonten sind in der Lage, freie DNA aus der Umgebung aufzunehmen, Bakteriophagen als DNA-Vehikel zu nutzen und DNA durch direkten Zell-Zell-Kontakt zu übertragen. Der Mensch macht sich diese natürlichen Transferprozesse in der **Gentechnologie** zu Nutze. Die Expression genetischer Information erfolgt durch **Transkription** und **Translation**. Durch Transkription wird die in der Basenfolge der DNA gespeicherte Information in messenger-RNA umgeschrieben, die bei der Translation an Ribosomen als Vorlage für die Proteinsynthese dient. Die Kenntnis der vollständigen **Genomsequenzen** vieler Mikroorganismen dient als Ausgangspunkt für neue biotechnologische Produktionsverfahren und die Identifizierung von Angriffsorten in pathogenen Organismen.

Überblick

15.1 Organisation prokaryontischer DNA...441

15.1.1 Struktur der DNA...441

15.1.2 Chromosomen...441

15.1.3 Plasmide...443

15.2 Weitergabe genetischer Information: DNA-Replikation...444

15.2.1 DNA-Polymerasen...444

15.2.2 Reaktionen an der Replikationsgabel...444

15.3 Mutationen und DNA-Reparatur...446

15.3.1 Arten von Mutationen...446

15.3.2 Entstehung von Mutationen...447

15.3.3 Selektion von Mutanten...451

15.3.4 DNA-Reparatur...451

15.4 Genetische Rekombination...454

15.4.1 Homologe Rekombination...454

15.4.2 Nichthomologe Rekombination...455

15.5 Mobile genetische Elemente...457

15.6 Mechanismen der Genübertragung...459

15.6.1 Transformation...460

15.6.2 Konjugation...462

15.6.3 Transduktion...466

15.7 Restriktion und Modifikation...467

15.8 Expression genetischer Information: Transkription und Translation...468

15.8.1 Transkription...469

15.8.2 Translation...471

15.9 DNA-Klonierung...476

15.9.1 Plasmide als Vektoren...477

15.9.2 Phagen als Vektoren...478

15.9.3 Cosmide...480

15.9.4 YACs, BACs und PACs:
Vektoren für sehr große DNA-Fragmente...480

15.9.5 cDNA-Banken und Ligationsverfahren...480

15.9.6 Identifizierung rekombinanter Klone...481

15.10 DNA-Sequenzierung und Genomsequenzen...482

15.10.1 Genomsequenzierung...482

15.10.2 Genomgrößen und Genomorganisation...485

15.10.3 Genomvergleiche...485

15.11 Postgenomik...486

15.1 Organisation prokaryontischer DNA

15.1.1 Struktur der DNA

Die **Grundbausteine** der DNA wurden bereits in Kapitel 2 beschrieben. Es handelt sich um die vier 2'-Desoxynukleosid-5'-monophosphate dAMP, dCMP, dGMP und dTMP (Abb. 2.13, S. 40). Diese Grundbausteine sind durch Esterbindungen zwischen der jeweiligen 5'-Phosphatgruppe eines Nukleotids und der 3'-OH-Gruppe des nächsten Nukleotids zu einer langen Kette verknüpft. In manchen Viren, einschließlich bestimmter Bakteriophagen, liegt die DNA als einzelsträngiges Makromolekül vor. Andere Viren haben RNA-Genome (Kap. 4.7.4). Viele Viren und alle Organismen besitzen hingegen **doppelsträngige DNA** als Träger ihrer Erbinformation (Plus 15.1).

Der weitaus größte Teil der zellulären DNA liegt als Doppelhelix in der so genannten B-Form vor. Es handelt sich um eine rechtsgängige Doppelhelix bei der eine vollständige Windung (Ganghöhe) über etwa 3,4 nm verläuft. Die Einzelstränge werden durch Wasserstoffbrücken zwischen den Basen zusammen gehalten, wobei Adenin immer mit Thymin und Cytosin immer mit Guanin gepaart ist. Die Basenpaare sind senkrecht zur Helixachse angeordnet. Adenin und Thymin sind durch zwei, Cytosin und Guanin durch drei Wasserstoffbrücken verknüpft. Weiterhin tragen hydrophobe Wechselwirkungen zwischen aufeinanderfolgenden Basenpaaren zur Stabilität der Doppelhelix bei. Innerhalb gewisser Grenzen ist die Geometrie der B-DNA flexibel. Zu den Abweichungen von der idealen B-Form zählen beispielsweise die Kippung der Ebenen der beiden Basen gegeneinander (engl. propeller twist) und die Neigung der von den Wasserstoffbrücken zwischen den Basen gebildeten Ebenen gegen die Längsachse der Doppelhelix (Basenrollwinkel).

Schmelzpunkt. Durch Erhitzen lösen sich die Wasserstoffbrücken zwischen den komplementären Basen, man spricht vom Schmelzen der DNA. Je höher der molare GC-Gehalt eines DNA-Moleküls ist, desto höher liegt auch die Schmelztemperatur. Im Umkehrschluss kann über den mittleren Schmelzpunkt (T_m) der GC-Gehalt der DNA abgeschätzt werden. Schmelzpunktanalysen können als ein taxonomisches Kriterium für die grobe Eingruppierung von Prokaryonten herangezogen werden, da der Anteil an Guanin und Cytosin in der DNA eines Organismus eine feste Größe darstellt. Er kann jedoch bei unterschiedlichen Prokaryontengruppen weniger als 25 % oder auch bis über 75 % ausmachen. Die experimentelle Bestimmung von T_m beruht auf dem hyperchromen Effekt: Geschmolzene DNA absorbiert ultraviolettes Licht (260 nm) um ca. 40 % stärker als doppelsträngige DNA. Erhitzen einer DNA-Probe führt deshalb bei Erreichen des Schmelzpunktes zu einem sprunghaften Anstieg der UV-Absorption.

15.1.2 Chromosomen

Die meisten Prokaryonten besitzen ein einzelnes, kovalent geschlossenes, ringförmiges Chromosom. Allerdings gibt es Ausnahmen von dieser Regel, die sowohl die Anzahl der Chromosomen als auch ihre Geometrie betreffen. Diese Variationen werden in Kapitel 15.10 näher beleuchtet.

Obwohl die prokaryontische DNA nicht von einer Kernmembran umgeben ist, bildet sie dennoch eine räumlich begrenzte Struktur im Cytoplasma, die als Nukleoid bezeichnet wird (Abb. 15.1). Es handelt sich dabei

Plus 15.1 DNA als Träger der Erbinformation

Seit Anfang der 1950er Jahre ist erwiesen, dass die Desoxyribonukleinsäure (DNS, oder gebräuchlicher: DNA, für engl. deoxyribonucleic acid) der Träger der genetischen Information ist. Der Nachweis wurde in den klassischen Experimenten von **Avery, MacLeod und McCarty** (1944) mit Pneumokokken (*Streptococcus pneumoniae*) und von **Hershey und Chase** (1952) mit Bakteriophagen erbracht. Ein avirulenter Stamm von *S. pneumoniae* wurde mit dem zellfreien Extrakt eines virulenten Stamms gemischt. Es traten vereinzelt Zellen auf, die nach Infektion von Mäusen das Krankheitsbild hervorrufen konnten. Als transformierendes Prinzip im zellfreien Extrakt wurde DNA und nicht etwa Protein identifiziert.

Wurden in einem anderen Experiment *Escherichia coli*-Zellen mit T2-Phagen infiziert, bei denen zuvor entweder die Proteinhülle oder die DNA radioaktiv markiert worden war, dann führte nur die DNA-Markierung zu signifikanter Radioaktivität in den Bakterien und den Phagennachkommen. Demnach musste die DNA die Information zur Produktion neuer Viruspartikel enthalten.

Die Sekundär- und Tertiärstruktur der DNA wurde 1953 aufgeklärt. Basierend auf den Beobachtungen von **Chargaff**, dass in der DNA aus unterschiedlichsten Organismen der Anteil von Adenin dem von Thymin und der von Cytosin dem von Guanin entspricht, und den Röntgenbeugungsexperimenten von **Franklin und Wilkins**, die eine helikale Struktur der DNA ergaben, entwickelten **Watson und Crick** das Doppelhelixmodell (Abb. 2.14, S. 41).

Plus 15.2 Typ-II-DNA-Topoisomerasen als Angriffsort in der antibakteriellen Therapie

Die Wirkung zahlreicher antibakterieller Therapeutika beruht auf der Hemmung der beiden Typ-II-Topoisomerasen DNA-Gyrase und Topoisomerase IV. Beide Enzyme erzeugen einen Doppelstrangbruch in einem von zwei durch Verdrillen benachbarten DNA-Strängen, ziehen den intakten durch den geöffneten Strang und verschließen den offenen Strang anschließend wieder. Dieser Prozess ist abhängig von ATP. Während die Gyrase für viele Reaktionen an der DNA erforderlich ist, spielt Topoisomerase IV eine besondere Rolle bei der Decatenierung, d.h. der Trennung der Tochterchromosomen nach der DNA-Replikation. Verschiedene Wirkstoffe verhindern, dass die Doppelstrangbrüche wieder verschlossen werden. Chinolone (z. B. Nalidixinsäure) und Fluorochinolone (z. B. Ciprofloxacin) binden an die DNA-Topoisomerase-Komplexe während Coumarine (z. B. Novobiocin) die ATP-spaltende Aktivität der Topoisomerasen hemmen. In der Folge werden die Bakterien abgetötet.

um ein dichtes Knäuel, in dem die DNA als überspiralisierte Superhelix vorliegt. Ohne diese Überspiralisierung könnten Chromosomen mit etwa 4 Millionen Basenpaaren und einer Länge im Millimeterbereich in prokaryontischen Zellen mit einer Größe im unteren Mikrometerbereich nicht verpackt werden.

Eine wesentliche Rolle bei der Bildung superhelikaler Strukturen spielt das Enzym **DNA-Gyrase**, eine so genannte Typ-II-Topoisomerase. DNA-Gyrase verdreht DNA-Moleküle, führt einen Doppelstrangbruch an einer Stelle ein, an der zwei Doppelstränge zusammentreffen, zieht den intakten durch den geöffneten Doppelstrang und verschließt die Öffnung anschließend wieder. Das Ergebnis ist eine negative Überspiralisierung der DNA, d.h. eine Verdrillung entgegen der rechtsgängigen Helixdrehrichtung. Zur Veranschaulichung stelle man sich zwei Fäden vor, die an einem Ende fixiert sind und am anderen Ende immer weiter in einer Richtung gegeneinander verdreht werden. Bei einer bestimmten Torsionsspannung bildet sich ein Knäuel. Eine besondere Form von DNA-Gyrase – reverse Gyrase – existiert in allen bisher untersuchten hyperthermophilen Eubakterien und Archaeobakterien. Reverse Gyrase produziert positiv überspiralisierte DNA, die eine erhöhte Hitzestabilität besitzt.

Topoisomerasen sind für die Replikation der DNA, die Transkription von Genen und für Rekombinationsvorgänge essenziell, da bei diesen Prozessen die Superhelixstrukturen entwunden und anschließend wieder erzeugt werden müssen. Bakterielle Typ-II-Topoisomerasen sind der Angriffsort zahlreicher Antibiotika und Chemotherapeutika (Plus 15.2). Eine weitere Topoisomerase, die Topoisomerase I, entspannt negativ superhelikale DNA. Diese Auflockerung der superhelikalen Struktur ist eine Voraussetzung für Prozesse wie die Transkription durch RNA-Polymerase (Kap. 15.8.2) und die DNA-Replikation (Kap. 15.2). Nach Isolierung des Nukleoids sind geordnete Domänen der Superhelix erkennbar (Abb. 15.1), von denen es in *E. coli* etwa 50 Stück gibt. Diese Strukturen werden durch histonähnliche Proteine stabilisiert. In *E. coli* sind dies hauptsächlich die Proteine HU (engl. heat-unstable nucleoid protein), IHF (engl. integration host factor), FIS (engl. factor of inversion stimulation) und H-NS (engl. histone-like nucleoid structuring protein) sowie ein Komplex aus MUK-Proteinen (von jap. mukaku, kernlos), der die Kondensation des Chromosoms aufrechterhält und deshalb auch als Kondensin bezeichnet wird. Eine Vielzahl weiterer Proteine ist daran beteiligt, das Nukleoid in der Mitte der Zelle zu verankern und die Tochterchromosomen nach der Replikation zu den Zellpolen zu bewegen. Letzteres ist für die verlässliche Chromosomensegregation bei der Zellteilung erforderlich,

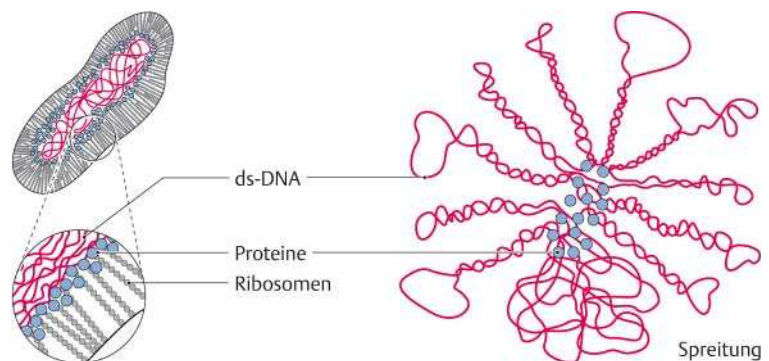


Abb. 15.1 Struktur des Nukleoids *in situ* und nach Spreitung.

da die Septumbildung durch FtsZ und mindestens neun weitere Fts-Proteine in der Mitte der Zelle erfolgt.

Histonähnliche Proteine wurden auch in hyperthermophilen Archaeobakterien gefunden. *Crenarchaeota*-Arten produzieren ein DNA-bindendes Protein, das den Schmelzpunkt der DNA um 40°C erhöht. In *Euryarchaeota* wurden basische Proteine mit ausgeprägter Ähnlichkeit zu eukaryontischen *core*-Histonen gefunden. Diese archaebakteriellen Histone spulen die DNA auf und verhindern das Schmelzen bei hohen Temperaturen.

15.1.3 Plasmide

Plasmide sind extrachromosomale, zirkuläre oder lineare, fast immer doppelsträngige DNA-Moleküle, die in superspiralisierter Form in der Zelle vorliegen. Die Größe natürlicher Plasmide liegt zwischen etwa 1 und weit mehr als 1000 kb. Auch die Kopienzahl in der Zelle ist plasmidspezifisch stark variabel und kann zwischen 1 und 100 Kopien liegen. Die Differenzierung sehr großer Plasmide von Chromosomen ist manchmal schwierig. Üblicherweise werden derartige DNA-Moleküle als Plasmide bezeichnet, wenn sie keine Gene enthalten, die unter allen Umständen für das Überleben des Organismus notwendig sind. Trotz essenzieller Gene werden große Replikons (replizierende DNA-Moleküle) aber von manchen Wissenschaftlern als Plasmide klassifiziert, wenn die Initiation ihrer Replikation auf spezielle, plasmidcodierte Replikationsproteine angewiesen ist. Plasmide, die in geringer Kopienzahl in der Zelle vorliegen, steuern durch plasmidcodierte Proteine neben der Initiation ihrer Replikation auch ihre gleichmäßige Verteilung während der Zellteilung, sodass sie stabil in einer Zellpopulation erhalten bleiben. Es gibt Plasmide, die nicht gleichzeitig mit anderen Plasmiden in einer Zelle existieren können. Die Unfähigkeit dieser Plasmide zur Koexistenz bezeichnet man als **Inkompatibilität**. Sie beruht auf Plasmidgenen (*inc*, für engl. incompatible), die an der Kontrolle der Kopienzahl beteiligt sind. Plasmide, die sich gegenseitig ausschließen, sind verwandt und zählen zur selben Inkompatibilitätsgruppe.

Plasmide können ihren Wirtszellen sehr unterschiedliche Eigenschaften verleihen. Konjugative Plasmide veranlassen ihren Wirt, die Plasmid-DNA durch direkten Zell-zu-Zell-Kontakt auf eine Empfängerzelle zu übertragen. Dieser mit dem Begriff **Konjugation** bezeichnete DNA-Transfer (Kap. 15.6.2) ist replikativ, d.h. beide Zellen besitzen am Ende eine Kopie desselben Plasmids. In Prokaryonten sind **fakultative Stoffwechselleistungen** häufig plasmidcodiert. Dazu zählen beispielsweise die Nutzung anorganischer Substanzen (Lithotrophie) als alternative Energiequellen oder der Abbau schwer verdaulicher organischer Metabolite, wie aliphatische Kohlenwasserstoffe oder aromatische Verbindungen. Der Verlust des entsprechenden Plasmids bedeutet demnach für den Wirt den Verlust der Fähigkeit, lithotroph zu wachsen oder – im Falle der organischen Metabolite – die jeweiligen Verbindungen als Kohlenstoff- und Energiequelle zu nutzen. Viele Plasmide enthalten **Resistenzgene**, die Resistenz gegen Antibiotika oder Schwermetalle vermitteln. Die von diesen Genen codierten Resistenzproteine können Antibiotika chemisch modifizieren (z. B. durch Acetylierung, Adenylylierung, Phosphorylierung von Aminoglykosiden oder Spaltung des β -Lactamrings von Penicillinen) oder antibiotisch oder toxisch wirkende Substanzen (z. B. Tetracyclin, Schwermetalle) exportieren.

Plasmide spielen eine wesentliche Rolle bei **symbiontischen und pathogenen Interaktionen** zwischen Bakterien und Eukaryonten. Dazu

zählen die symbiontische Stickstofffixierung, an der Rhizobien und Leguminosen beteiligt sind, die Induktion von Tumoren in Pflanzen durch *Agrobacterium*-Arten und zahlreiche virulente Interaktionen zwischen Bakterien und Säugetieren. Viele human- und tierpathogene Bakterien produzieren plasmidcodierte Enterotoxine, z.B. Adhäsine zur Anheftung an Gewebe, oder Hämolysine, die Erythrocyten auflösen. *Yersinia*-Arten, zu denen auch der Erreger der Pest (*Y. pestis*) zählt, synthetisieren ein plasmidcodiertes Proteinexportsystem, das zur Injektion von Proteinen in Phagozyten und deren Inaktivierung bzw. Abtötung dient (Kap. 9.5.3).

Bacteriocine sind von Bakterien produzierte, antibiotisch wirksame Peptide, deren Biosynthese häufig plasmidcodiert ist. Die Col-Plasmide von *E. coli* codieren verschiedene Bacteriocine (Colicine), die verwandte Bakterien durch unterschiedliche Mechanismen abtöten. Manche Colicine bilden Kanäle in der Zellmembran, andere spalten DNA oder ribosomale RNA.

15.2 Weitergabe genetischer Information: DNA-Replikation

Die Aufgabe der DNA-Replikation besteht darin, die Reihenfolge der Nukleotidbausteine in DNA-Molekülen nach dem Prinzip der komplementären Basenpaarung exakt zu kopieren. Diese Aufgabe wird von speziellen Enzymen, den DNA-Polymerasen, erledigt. Der Mechanismus der DNA-Replikation ist semikonservativ, d.h. die Elternstränge eines DNA-Moleküls werden voneinander getrennt und jeweils wieder zum Doppelstrang vervollständigt. Jedes der beiden doppelsträngigen Tochtermoleküle enthält je einen Strang der Eltern-DNA und einen neusynthetisierten Strang. Der Beweis für diesen semikonservativen Replikationsmechanismus wurde 1957 von **Meselson** und **Stahl** durch Isotopenmarkierungsexperimente erbracht.

15.2.1 DNA-Polymerasen

In *E. coli* existieren mindestens fünf DNA-Polymerasen, von denen jedoch unter normalen Bedingungen nur die DNA-Polymerase III, und in geringerem Maß die DNA-Polymerase I, an der Replikation beteiligt sind. Die DNA-Polymerasen II, IV und V werden für die Reparatur beschädigter DNA benötigt und in Kapitel 15.3 kurz besprochen. Alle bisher bekannten DNA-Polymerasen arbeiten ausschließlich in einer Richtung. Sie knüpfen Esterbindungen zwischen dem α -Phosphatrest eines Nukleosid-5'-triphosphats und der 3'-OH-Gruppe des zuvor angefügten Nukleotids, wobei Pyrophosphat abgespalten wird. DNA-Polymerasen verlängern DNA-Stränge demnach immer in 5'-3'-Richtung und sind auf einen Primer angewiesen, an den das erste Nukleotid angeheftet werden kann. In den meisten Fällen handelt es sich dabei um ein kurzes Stück RNA, das im späteren Verlauf wieder entfernt wird. Bei der Replikation mancher linearer, prokaryontischer DNA-Moleküle werden Proteinprimer verwendet, die kovalent an die 5'-Enden der DNA gebunden werden.

15.2.2 Reaktionen an der Replikationsgabel

Die Replikation des zirkulären Chromosoms von *E. coli* beginnt durch Bindung eines Initiatorproteins (DnaA) an einen spezifischen Ort auf dem DNA-Molekül, dem **Replikationsursprung** (engl. origin of replication, **oriC**). Der **oriC** umfasst einen Bereich von etwa 250 bp. Mit Hilfe des Pro-

teins DnaC wird eine spezifische Helikase (DnaB) angelagert, die unter ATP-Verbrauch die Wasserstoffbrücken zwischen den beiden Strängen löst. Nun beginnt die Replikation mit der Synthese der RNA-Primer. Mit fortschreitender Replikation wandert die so genannte Replikationsgabel am Chromosom entlang. Man spricht von θ -förmiger Replikation, da Replikation ausgehend vom *oriC* in beide Richtungen erfolgt. Sie endet gegenüberliegend am **Terminator** (*terC*). Deshalb gibt es zwei Replikationsgabeln.

Die einzelnen Reaktionen an einer Replikationsgabel sind in Abbildung 15.2 schematisch gezeigt. Nach der Entwindung der DNA durch die Helikase werden die einzelsträngigen Bereiche durch Einzelstrangbindepoteine (SSB) stabilisiert. Die Primase (DnaG) synthetisiert die RNA-Primer, die meist kürzer als 10 Nukleotide sind. Diese Primer werden durch die **DNA-Polymerase III**, das Enzym, das die Hauptarbeit bei der Replikation verrichtet und deshalb auch als **Replikase** bezeichnet wird, verlängert. Die Primer werden schließlich durch RNaseH oder DNA-Polymerase I entfernt und die entstehenden Lücken durch letztere aufgefüllt. Die DNA-Ligase schließt das Zuckerphosphatrückgrat der DNA. DNA-Topoisomerasen entspannen die negativ überspiralisierte DNA vor der Replikationsgabel (Topoisomerase I) und stellen die negative Überspiralisierung dahinter wieder her (DNA-Gyrase).

Die Replikation des gesamten Chromosoms dauert in *E. coli* etwa 40 min. Noch bevor die Replikation eines Chromosoms vollständig ist, beginnt bereits die nächste Replikationsrunde. Dieser Befund erklärt, warum sich *E. coli*-Zellen unter optimalen Bedingungen alle 20 – 30 Minuten teilen können, obwohl eine Replikationsrunde der chromosomalen DNA fast doppelt so lange dauert.

Ein wesentliches Problem der DNA-Replikation ist in Abbildung 15.2 angedeutet. Beim Fortschreiten der Replikationsgabel kann die DNA-Polymerase III nur einen der beiden Stränge kontinuierlich replizieren, nämlich den Strang, bei dem die Neusynthese von 5' nach 3' erfolgen kann. Dieser kontinuierlich neusynthetisierte Strang wird als Vorwärts- oder leading-Strang bezeichnet. Die Replikation des zweiten, gegenläufigen Strangs wird von demselben Replikasekomplex katalysiert. Da die Polymerisation nur in 5'-3'-Richtung erfolgen kann, muss der Rückwärts- oder lagging-Strang diskontinuierlich synthetisiert werden. Die dabei entstehenden Stücke werden nach ihrem Erstbeschreiber als **Okazaki-Fragmente** bezeichnet und bestehen bei Bakterien aus 1000–2000 Nukleotiden. In Folgeaktionen werden die einzelnen Okazaki-Fragmente durch DNA-Ligase zu einer langen Kette verknüpft. Aufbau und Funktionsweise der DNA-Polymerase III werden in Plus 15.3 näher erläutert.

Wesentlich einfacher aufgebaut ist die DNA-Polymerase I. Sie besteht aus einer einzelnen Unterheit, die drei funktionelle Domänen enthält: DNA-Polymerase, 5'-3'-Exonuklease und 3'-5'-Exonuklease. Die 5'-3'-Exonukleaseaktivität ist an der Entfernung der RNA-Primer während der DNA-Replikation beteiligt. Die 3'-5'-Exonukleaseaktivität stellt eine Korrekturlesefunktion (engl. proofreading) dar, die eventuell falsch eingebaute, also nichtkomplementäre Nukleotide, sofort wieder entfernt.

Fehlerkorrektur. Proofreading-Aktivität ist ein Kennzeichen vieler DNA-Polymerasen und ein entscheidender Grund für die außerordentlich niedrige Fehlerrate (10^{-8} – 10^{-11} Fehler pro Basenpaar) bei der DNA-Replikation. Im DNA-Polymerase-III-Komplex sind die ϵ -Untereinheiten für das Korrekturlesen verantwortlich.

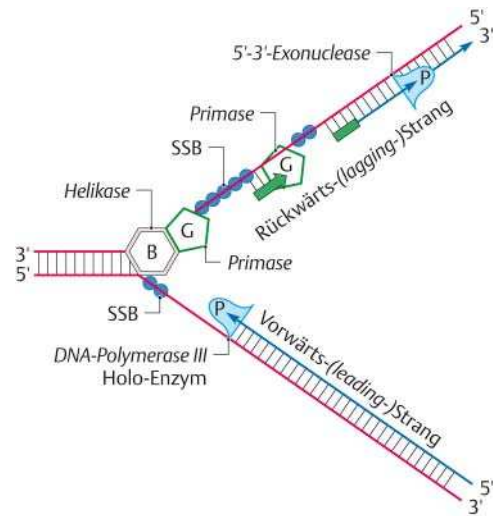
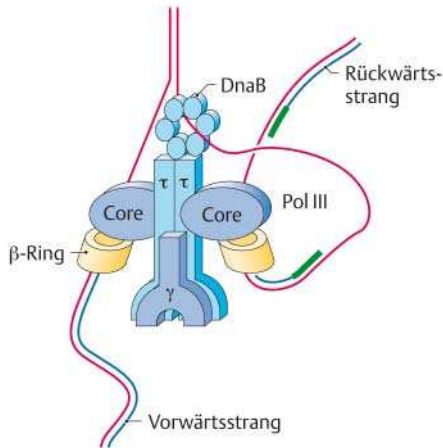


Abb. 15.2 Reaktionen an der Replikationsgabel. Primer sind als dicke grüne Linien gezeichnet. SSB, Single Strand binding Protein (aus Knippers, 2006).

Plus 15.3 Replikation durch DNA-Polymerase III



Struktur der DNA-Polymerase III und Aktivität der beiden Pol-III-Enzyme. Die DNA-Polymerase III synthetisiert zugleich am Vorwärts- und am Rückwärtsstrang der DNA.

Wie alle zellulären DNA-Replikasen in Prokaryonten und Eukaryonten ist die DNA-Polymerase III aus den drei Komponenten DNA-Polymerase, β -Ringklemme und einem Beladungskomplex ($\gamma\tau$ -Komplex) für die Klemme (engl. clamp loader complex) zusammengesetzt (Abb.).

Der Polymeraseanteil (Pol III) besteht aus je einer Kopie der Untereinheiten α , ϵ , und θ und ist im Holoenzym in zwei Exemplaren enthalten, eines für die Synthese des Vorwärts- und eines für die Synthese des Rückwärtsstrangs. Homodimere β -Ringklemmen werden vom $\gamma\tau$ -Komplex am 3'-Ende der Primer aufgeladen und stehen dann in direktem räumlichen Kontakt mit dem Pol-III-Anteil. Die Ringklemme ist für die hohe Prozessivität der DNA-Polymerase III verantwortlich. Der $\gamma\tau$ -Komplex besteht im wesentlichen aus den Untereinheiten $\gamma\tau_2\delta\delta'$. Interessanterweise sind γ und τ in *E. coli* das Produkt eines einzigen Gens (*dnaX*). Das kleinere Protein (γ) entsteht durch vorzeitigen Abbruch der Translation. Molekularbiologische Experimente haben gezeigt, dass auch ohne γ funktionelle Clamp-Loader-Komplexe gebildet werden. τ ist jedoch essenziell, da es den Kontakt zu Pol III und der DnaB-Helikase herstellt.

Für die Synthese des Vorwärtsstrangs ist nur ein RNA-Primer und die einmalige Beladung der DNA mit einer Ringklemme erforderlich. Die Ringklemme bewegt sich mit der Pol III in die gleiche Richtung, wie die Replikationsgabel. Die Synthese des Rückwärtsstrangs verläuft komplizierter. Die Matrize legt sich schleifenförmig so um das Enzym, dass das zu verlängernde Ende der DNA in das aktive Zentrum der zweiten Pol III gelangt. Nach Vervollständigung des jeweiligen Okazaki-Fragments verlassen Pol III und Ringklemme die DNA und Pol III nimmt Kontakt mit der nächsten Ringklemme auf. An diesem Strang müssen ständig neue Primer synthetisiert und Ringklemmen aufgeladen werden.

Plus 15.4 Zufällige oder adaptive Mutationen?

Die Frage, ob Mutationen in Bakterien zufällig im Genom auftreten oder als Folge des Anpassungsprozesses an veränderte Umweltbedingungen bestimmte Gene betreffen, wird seit Mitte des letzten Jahrhunderts experimentell untersucht. Dabei zeigte sich, dass bakterielle Resistenzmutanten, die resistent gegen das Antibiotikum Streptomycin (**Luria und Delbrück, 1943**) oder gegen Bakteriophagen (**Lederberg und Lederberg, 1952**) sind, unabhängig von der Anwesenheit des selektierenden Agens auftreten und demnach also zufällig und ungerichtet sind. Seit Ende der 1980er Jahre mehren sich jedoch auch experimentelle Befunde über adaptive Mutationen in bestimmten Genen. Dabei handelt es sich um Veränderungen, die unter Selektionsdruck überproportional häufiger auftreten als ohne Selektion, und die den Mutanten einen Wachstumsvorteil verleihen. Die zu Grunde liegenden Mechanismen werden gegenwärtig untersucht.

15.3 Mutationen und DNA-Reparatur

15.3.1 Arten von Mutationen

Mutationen sind erbliche Veränderungen in der Basensequenz des Genoms. Zellen, bei denen im Vergleich zu Elternzellen Veränderungen der DNA-Sequenz aufgetreten sind, werden als Mutanten bezeichnet. Mutanten unterscheiden sich deshalb definitionsgemäß in ihrem Genotyp von den Elternzellen. Mutationen können die äußeren Eigenschaften, den Phänotyp, von Mutanten verändern. Phänotypisch nicht erkennbare Mutationen werden als stumme Mutationen bezeichnet. Bei der überwiegenden Mehrzahl spontaner Mutationen (Plus 15.4) handelt es sich um den Austausch einzelner Nukleotide, der mit einer Häufigkeit von 10^{-9} – 10^{-10} pro Basenpaar und Generation auftreten kann. Ursachen hierfür sind nicht-reparierte Replikationsfehler und chemische oder photochemische Reaktionen an Basen, die Fehlpaarungen erleichtern oder erzwingen. Ein geringerer Anteil von Mutationen, die ebenfalls bei der DNA-Replikation entstehen, beruht auf der Deletion oder Insertion mehrerer Nukleotide. Ein einzelner Nukleotidaustausch kann den „Sinn“ (engl. sense) eines Codons in „Unsinn“ (engl. missense) umwandeln, d. h. dazu führen, dass bei der Translation (Kap. 15.8.2) eine falsche Aminosäure in die wachsende Peptidkette eingebaut wird. Entsteht durch den Nukleotidaustausch eines der drei Stoppcodons TAA, TAG oder TGA, spricht man von Nonsense-Mutationen. Stumme Mutationen sind beispielsweise solche, bei denen ein verändertes Codon für dieselbe Aminosäure codiert, wie

das Basentriplett in der Wildtypsequenz. Durch Insertionen und Deletionen können Leseraster-(engl. frame shift-)Veränderungen entstehen, wenn dabei eine nicht durch drei teilbare Anzahl von Nukleotiden eingefügt oder entfernt wird. Insertionen mobiler genetischer Elemente (Kap. 15.5) verursachen einen weiteren, kleinen Anteil spontaner Mutationen.

15.3.2 Entstehung von Mutationen

Beispiele für chemische Veränderungen von Basen, die unter natürlichen Bedingungen stattfinden und zu Mutationen führen können, sind in Abbildung 15.3 gezeigt. Cytosin kann spontan hydrolytisch zu Uracil desaminieren. Da Uracil, wie Thymin, mit Adenin eine Basenpaarung eingeht, wird bei der übernächsten Replikationsrunde das ursprüngliche Cytosin durch Thymin ersetzt. Ein derartiger Austausch einer Pyrimidinbase gegen eine andere Pyrimidinbase wird, genauso wie der Austausch Purin gegen Purin, als **Transition** bezeichnet. Dagegen handelt es sich bei einer **Transversion** um einen Austausch eines Purins gegen ein Pyrimidin oder umgekehrt.

Die Rate der Desaminierung von Cytosin in DNA wurde experimentell bei verschiedenen pH-Werten und Temperaturen untersucht. Man hat festgestellt, dass die Halbwertszeit einer Cytosinbase unter physiologischen Bedingungen 30 000 Jahre in doppelsträngiger DNA bzw. 200 Jahre in einzelsträngiger DNA beträgt. Diese Zeitdimensionen mögen lang erscheinen. Berücksichtigt man jedoch, dass schon das Genom einer einzelnen Zelle Cytosinbasen im Millionenmaßstab enthält, dann wird offensichtlich, dass in der spontanen Desaminierung von Cytosin ein beträchtliches mutagenes Potenzial liegt (Plus 15.5).

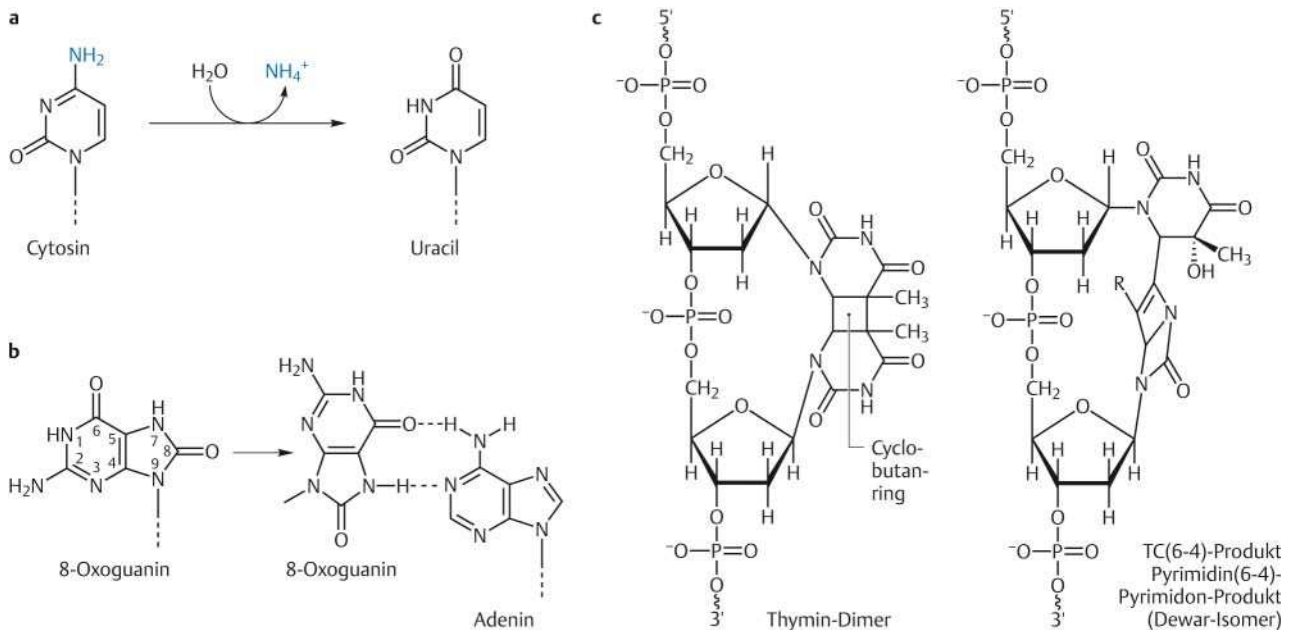


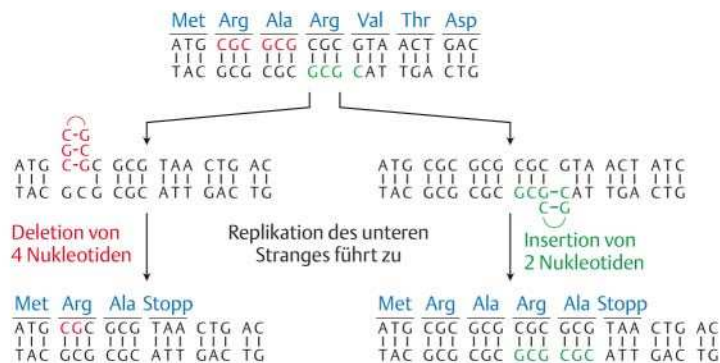
Abb. 15.3 Beispiele für natürlich auftretende Basenveränderungen. **a** Hydrolytische Desaminierung von Cytosin. **b** Durch Oxidation von Guanin entsteht 8-Oxoguanin, das mit Adenin paaren kann. **c** UV-induzierte Verknüpfung von Pyrimidinbasen. Das Thymin-Dimer, das am häufigsten entsteht, enthält einen Cyclobutanring.

Plus 15.5 Hot Spots für Punkt- und Leserastermutationen

Man nimmt an, dass die Gefahr von Mutationen durch Desaminierung von Cytosin der Grund ist, warum in der DNA – im Gegensatz zur RNA – Thymin, und nicht Uracil, verwendet wird. Wäre Uracil ein DNA-Baustein, könnten Reparaturmechanismen kaum zwischen richtigen Uracilbasen und solchen, die durch Desaminierung von Cytosin entstanden sind, unterscheiden.

Problematisch ist deshalb die Desaminierung von 5-Methylcytosin, die drei- bis vierfach häufiger als die von Cytosin erfolgt, und in deren Folge Thymin entsteht. Thymin ist ein normaler DNA-Baustein und wird deshalb nicht als falsche Base erkannt. In Prokaryonten existieren verschiedene Mechanismen, die zur Methylierung bestimmter Cytosinbasen führen. Beispiele sind die Methyltransferasen von Restriktions- und Modifikationssystemen (Kap. 15.7) und die *Dcm*-Methyltransferase in *E. coli*, die den zweiten Cytosinrest in CC(A oder

T)GG-Folgen methyliert. Tatsächlich hat man gefunden, dass an solchen Positionen, die als Hot Spots bezeichnet werden, überproportional häufig C → T-Transitionen auftraten. Hot Spots für spontane Leseraster-(Frame Shift-)Mutationen sind Bereiche mit Sequenzwiederholungen. Die Abbildung zeigt einen kurzen Abschnitt doppelsträngiger DNA, der für die Aminosäurefolge Met-Arg-Ala-Arg-Val-Thr-Asp codiert und fünf direkte Wiederholungen der Basen C und G enthält. Weist einer der beiden DNA-Stränge in einem solchen Abschnitt Lücken auf, beispielsweise im Bereich der Replikationsgabel oder bei Reparaturprozessen, dann können nach einem Modell von **Streisinger** und anderen (1966) einzelne Nukleotide verrutschen und kurze, extrahelikale Bereiche entstehen. Bei der Replikation und durch Auffüllen von Lücken kann das zur Deletion oder Insertion von Nukleotiden führen, wodurch Missense- und Nonsense-Mutationen entstehen.



Frame shift-Mutationen in der Nähe von Sequenzwiederholungen. Durch kurze, extrahelikale, doppelsträngige Bereiche werden bei der Replikation einzelne Basen inseriert oder auch deletiert.

Prokaryonten und Eukaryonten besitzen jedoch einen wirkungsvollen Reparaturmechanismus. Uracil wird als falscher Baustein erkannt und durch Uracil-DNA-Glykosylase aus der DNA entfernt, wobei eine so genannte AP-Stelle entsteht. Mit „AP“ ist in diesem Fall Apyrimidin gemeint, „AP“ wird aber auch für Apurin benutzt. Anschließend wird der Desoxyribosephosphat-Rest entfernt, sodass eine Lücke von einem Nukleotid entsteht. Diese Lücke wird durch DNA-Polymerase I und DNA-Ligase wieder geschlossen.

Oxidative Schäden an der DNA werden hauptsächlich durch Hydroxylradikale hervorgerufen. Der wichtigste oxidative Schaden ist die Umwandlung von Guanin in 8-Oxoguanin (genauer: 8-Oxo-7,8-dihydroguanin, 8-OxoG). Davon betroffen sind Guaninbasen in der DNA aber auch im zellulären Nukleotidpool. 8-Oxoguanin kann mit Adenin Basenpaarung eingehen (Abb. 15.3) und verursacht deshalb G → T-Transversionen. Wir werden später sehen (Kap. 15.3.4), dass Reparaturmechanismen existieren, die 8-OxoG aus der DNA ausschneiden oder, alternativ, bereits im Vorfeld 8-Oxo-dGTP aus dem Nukleotidpool entfernen, sodass das beschädigte Nukleotid nicht in die DNA eingebaut werden kann.

Ultraviolettes Licht kann eine Reihe von Veränderungen an der DNA verursachen. Am häufigsten treten Reaktionen zwischen direkt benachbarten Pyrimidinen auf (Abb. 15.3). Charakteristische UV-Schäden sind die kovalente Verknüpfung von zwei Thyminresten über einen Cyclo-

butanring und seltener, die Verknüpfung zweier Pyrimidine zu einem Pyrimidin-(6-4)-Pyrimidon-Photoprodukt, z.B. dem TC(6-4)-Produkt. Beide Veränderungen verzerren die DNA-Struktur und verhindern die Replikation. Auch für diese Basenveränderungen gibt es Reparaturmechanismen, die die Schäden beheben können. Durch fehlerhafte Reparatur entstehen dabei in seltenen Fällen Mutationen.

Mutagene Verbindungen

Die Häufigkeit von Mutationseignissen kann durch die Behandlung der Zellen mit mutagenen Agenzien erhöht werden. Als Mutagene können chemische und physikalische Mittel eingesetzt werden. Einige Beispiele für solche Mittel sind in Tabelle 15.1 zusammengefasst und werden nachfolgend kurz erläutert. Ein klassisches Verfahren zur Prüfung von Chemikalien auf ihre Mutagenität ist der von **Ames** entwickelte Test (Box 15.1).

Basenanaloga sind strukturell mit normalen Purin- und Pyrimidinbasen verwandte Verbindungen, die von den Zellen aufgenommen und bei der Replikation in die DNA eingebaut werden. **5-Bromuracil** (5-BU) ist ein Thyminanalogon. Das Bromatom anstelle einer Methylgruppe verschiebt das Keto-Enol-Tautomerie-Gleichgewicht, weshalb 5-BU häufiger als Thymin zur Enolform tautomerisiert. Die Enolform paart mit Guanin, sodass bei der DNA-Replikation A $\rightarrow$ G-Transitionen entstehen. Der Einbau des Adeninanalogs **2-Aminopurin** in die DNA bewirkt T $\rightarrow$ C-Transitionen.

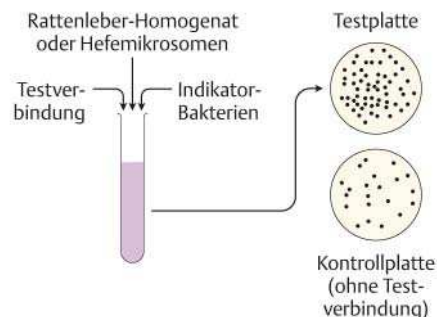
Die chemische Modifikation von Basen in der DNA kann ebenfalls zu veränderten Paarungseigenschaften und damit zum Nukleotidaustausch führen. A $\rightarrow$ G- und C $\rightarrow$ T-Transitionen entstehen als Folge der Desaminierung von Adenin und Cytosin durch **Nitrit** in saurem Milieu. Die Hydroxylierung von Cytosin durch **Hydroxylamin** führt ebenfalls zu Transitionen (G $\rightarrow$ A).

Alkylierende Agenzien wie EMS und MNNG können Ethyl- oder Methylgruppen an unterschiedlichen Positionen in Nukleotiden anheften und deren Basenpaarungseigenschaften ändern. Beispielsweise paaren

Box 15.1 Ames-Test

Bei diesem von **Bruce Ames** entwickelten Mutagenitätstest werden histidinbedürftige Mutanten von *Salmonella typhimurium*, die Punkt- oder Leserastermutationen tragen, mit der zu prüfenden Substanz gemischt und auf Mineralagar ausplattiert, der nur Spuren der Aminosäure Histidin enthält. Mutagene können Rückmutationen in den Histidin-Biosynthesegenen und damit Prototrophie bewirken. Die Anzahl der Revertanten in Abhängigkeit von der Konzentration der Testverbindung gibt Aufschluss über deren mutagene Wirkung.

Viele für Säuger mutagene Verbindungen entstehen erst im Organismus (häufig in der Leber) durch oxidative Umwandlungen von so genannten Promutagenen, die selbst kein oder nur geringes mutagenes Potenzial besitzen. Durch Vorbehandlung der zu testenden Substanzen mit der Mikrosomenfraktion aus Rattenleber oder Hefezellen, in der oxidierende Enzyme enthalten sind, werden viele promutagene Substanzen zu Mutagenen oxidiert. Erst durch die Vorbehandlung gibt sich das mutagene Potenzial von Promutagenen im Ames-Test zu erkennen.

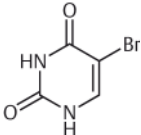
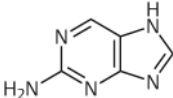
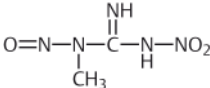
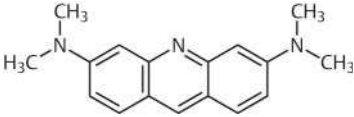
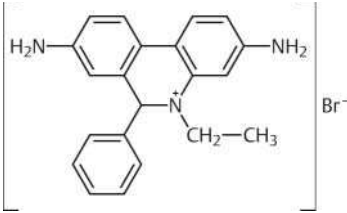


Ames-Test. Nach einer Inkubationszeit sind auf der Testplatte mehr Kolonien der Indikatorbakterien gewachsen, als auf der Kontrollplatte. Das weist auf mutagene Eigenschaften der Testsubstanz hin, die zu Rückmutationen geführt haben.

O⁶-Methylguanin und Thymin, sowie O⁴-Methylthymin und Guanin. In beiden Fällen entstehen bei der DNA-Replikation Transitionen.

Akridinorange, Ethidiumbromid und **Actinomycin D** sind makrozyklische Verbindungen, die sich zwischen einzelne Basenpaare in den DNA-Doppelstrang schieben (interkalieren) und Prozesse wie die Replikation und die Transkription behindern.

Tab. 15.1 Beispiele für Mutagene und ihre Wirkung.

Mutagen	Struktur	Wirkung
Basenanaloga		
5-Bromuracil (5-BU)		Thyminanalogon paart mit Guanin Transitionen
2-Aminopurin (2-AP)		Adeninanalogon paart mit Cytosin Transitionen
Basenveränderung		
salpetrige Säure	HNO ₂	Desaminierung von Cytosin und Adenin Transitionen
Hydroxylamin	NH ₂ OH	Hydroxylierung von Cytosin Transitionen
Ethylmethansulfonat (EMS)	CH ₃ SO ₃ CH ₂ CH ₃	Alkylierung von Basen Transitionen
N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG)		Alkylierung von Basen Transitionen
Interkalierende Agenzien		
Akridinorange		Fehler bei der Replikation Insertion oder Deletion einzelner Nukleotide Leserastermutationen
Ethidiumbromid		
Strahlung		
Ultraviolette-(UV-)Strahlung	UV-B (280–320 nm) UV-C (100–280 nm)	Pyrimidindimere Fehler bei der Reparatur
Röntgen-/γ-Strahlung		Fehler bei der Reparatur von Einzelstrangbrüchen Doppelstrangbrüche

15.3.3 Selektion von Mutanten

Mutanten mit definierten Genveränderungen waren und sind ein wichtiges Werkzeug der Genetik, um beispielsweise die Funktion von Genprodukten im Stoffwechsel aufzuklären. Die Erzeugung von Mutanten mit modernen molekularbiologischen Verfahren (Kap. 15.11) und die Charakterisierung dieser Mutanten sind selbst bei einem so gut untersuchten Bakterium wie *Escherichia coli* weiterhin erforderlich, da die Funktion von etwa einem Viertel seiner Gene nach wie vor unbekannt ist.

Prinzipiell können alle Eigenschaften eines Bakteriums durch Mutationen geändert werden. Die Veränderungen können für die Mutanten gegenüber den Wildtypzellen von Vorteil, nachteilig oder sogar letal sein. In der Praxis werden mutagene Agenzien in einer Dosis eingesetzt, die ca. 90 % aller Zellen abtötet. So ist gewährleistet, dass viele der überlebenden Zellen auch eine Mutation tragen.

Vorteilhaft können beispielsweise Mutationen sein, die zu Resistenzen gegenüber Antibiotika oder Phagen führen. Solche Mutanten können durch **positive Selektion** isoliert werden. In Gegenwart des Antibiotikums oder Bakteriophagen können sich innerhalb der Population nur die resistenten Mutanten vermehren, während die Wildtypzellen inhibiert oder abgetötet werden. Die Selektion auxotropher Mutanten, die bedürftig für bestimmte Nährstoffe geworden sind, ist schwieriger. Für die Anreicherung derartiger Mutanten werden häufig **negative Selektionsverfahren** eingesetzt. Diese beruhen darauf, dass viele Antibiotika (z. B. Penicilline) zwar wachsende Zellen abtöten, ruhende Zellen aber nur wenig oder überhaupt nicht beeinträchtigen. Unter Bedingungen, die dem Wildtyp, aber nicht den Auxotrophen, Wachstum ermöglichen, führt das Antibiotikum zur Anreicherung der auxotrophen Mutanten, da viele Wildtypzellen abgetötet werden. Nach mehrmaliger Wiederholung dieses Verfahrens wird das Antibiotikum aus der Zellsuspension ausgewaschen und geeignete Verdünnungen werden auf Vollmedium ausplattiert. Nach Übertragung einzelner Kolonien auf Voll- und Mineralmedium (Replica Plating) können auxotrophe Mutanten identifiziert werden.

Mutationen in essenziellen Genen lassen sich nicht ohne weiteres isolieren, da sie letal sind. Oft ist es jedoch möglich Mutationen zu erzeugen, die nur unter bestimmten Bedingungen zum Ausfall eines unerlässlichen Genprodukts führen; man spricht von **konditional letalen Mutationen**. Meistens handelt es sich dabei um Mutationen, die zu einem temperatursensitiven Genprodukt führen, das z.B. bei niedriger Temperatur aktiv, bei höherer Temperatur jedoch instabil und damit inaktiv ist.

Auf ortsspezifische Mutagenese, ein Verfahren, durch das einzelne Mutationen an definierten chromosomalen Positionen erzeugt werden können, wird in Kapitel 15.11 eingegangen.

15.3.4 DNA-Reparatur

Im vorherigen Abschnitt wurden verschiedene Mechanismen beschrieben, die zur Entstehung von Mutationen führen können. Einerseits sind Mutationen die Grundlage der Evolution, andererseits würden unkontrollierte Veränderungen in genomischer DNA die Weitergabe von Merkmalen über Generationen hinweg nahezu unmöglich machen. In Tabelle 15.2 sind am Beispiel von *E. coli* einige wichtige DNA-Reparaturmechanismen zusammengefasst, die wesentlich zur Genomstabilität beitragen. Für viele dieser Enzyme gibt es entsprechende Gegenstücke in anderen Prokaryonten und auch in Eukaryonten.

Reparatur von Fehlpaarungen

Zur Reparatur von Fehlpaarungen existieren verschiedene Mechanismen. Auf die Bedeutung der Korrekturlesefunktion von DNA-Polymerasen zur Vermeidung von Fehlern bei der Replikation wurde in Kapitel 15.3 bereits hingewiesen. Dennoch ist dieser Prozess nicht völlig fehlerfrei und erfordert deshalb postreplikative Korrektur. In *E. coli* und anderen Bakterien existiert ein Methyltransferase-abhängiges Reparatursystem, dessen wesentliche Komponenten die Proteine **Dam** (DNA-Adenin-Methyltransferase), **MutH**, **MutL** und **MutS** sind. Dam methyliert in GATC-Folgen im DNA-Strang die 6-Aminogruppe der Adeninreste. Unmittelbar nach der Replikation liegen GATC-Sequenzen hemimethyliert vor, d. h. der Aus-

Tab. 15.2 Reparaturenzyme für beschädigte DNA in *Escherichia coli*.

Enzym	Typ/Funktion	Reaktion an der DNA
Behebung von Fehlpaarungen		
DnaQ	ε-Untereinheit der DNA-Polymerase III	entfernt fehlgepaarte Nukleotide während der Replikation durch 3'-5'-Exonuklease-(proofreading-)Aktivität
MutH, MutS, MutL	Mismatch-Reparatur	erkennt und entfernt bei der Replikation entstandene Fehlpaarungen
Dam	DNA-Adenin-Methyltransferase	methyliert nach der Replikation Adenin in GATC-Folgen an der N ⁶ -Position
Vsr	Endonuklease	entfernt T aus G/T-Paaren, die durch spontane Desaminierung von 5-Methylcytosin in CC(A/T)GG-Folgen entstehen
Ung	Uracil-DNA-Glykosylase	entfernt Uracil aus G/U-Paaren, die durch spontane Desaminierung von Cytosin entstehen
MutY	Adenin-DNA-Glykosylase	entfernt Adenin aus A/G- und A/C-Paarungen
Entfernung alkylierter Basen		
Ada	O ⁶ -Methylguanin-/O ⁴ -Methylthymidin-DNA-Methyltransferase	entfernt Methylgruppen von alkyltierten Guanin- und Thyminbasen
AlkA	3-Methyladenin-DNA-Glykosylase	entfernt 3-Methyladenin und andere methylierte Basen aus der DNA
AlkB	1-Methyladenin-/3-Methylcytosin-Demethylase	demethyliert oxidativ zu Adenin bzw. Cytosin
Beseitigung oxidativer Schäden		
MutT	Nukleosidtriphosphatase	entfernt 8-Oxo-dGTP aus dem Nukleotidpool
MutM	DNA-Glykosylase, Lyase	entfernt 8-Oxo-dGMP aus der DNA
Reparatur von Strahlenschäden und unförmigen Basenmodifikationen		
PhrB	DNA-Photolyase	spaltet den Cyclobutanring in Thymindimeren
UvrA, UvrB, UvrC, UvrD	Exzisionsreparatur	entfernt beschädigtes Nukleotid sowie 8 Nukleotide 5'-wärts und 5 Nukleotide 3'-wärts
Pol II	DNA-Polymerase II	SOS-Reparatur (Plus 15.6)
DinB	DNA-Polymerase IV	
UmuC, UmuD	DNA-Polymerase V	

gangsstrang ist methyliert, der neu synthetisierte Strang jedoch nicht. Bei Fehlpaarungen in der Nachbarschaft erkennt das MutHLS-System den nichtmethylierten als den neuen und damit fehlerhaften Strang. MutS bindet an den Mismatch und im Zusammenspiel mit MutL spaltet die MutH-Endonuklease das Zuckerphosphatrückgrat des nichtmethylierten Stranges auf beiden Seiten der Fehlpaarung. Durch verschiedene Exonukleasen und anschließende Neusynthese wird der Fehler repariert.

Wie bereits weiter oben erwähnt, werden in *E. coli* die beiden inneren Cytosinreste in CC(A/T)GG-Folgen durch die Dcm-Methyltransferase zu 5-Methylcytosin alkyliert, wodurch Hot Spots für C → T-Transitionen entstehen. Im Zusammenspiel mit MutS und MutL entfernt die Endonuklease Vsr (engl. very short patch repair) das fehlgepaarte T. Ung und MutY sind DNA-Glykosylasen, die Uracil- und Adeninnukleotide aus G/U- bzw. G/A- und C/A-Paarungen abspalten.

Reparatur alkylierter Nukleotide

Zur Reparatur alkylierter Nukleotide in der DNA existieren verschiedene Mechanismen. Dazu zählen das Herausschneiden der veränderten Base durch Glykosylaseaktivität (AlkA) und die Abspaltung der Alkylgruppen durch unterschiedliche enzymatische Mechanismen (Ada, AlkB).

MutT und **MutM** verhindern das Auftreten von Punktmutationen als Ergebnis der Oxidation von Guanin zu **8-Oxoguanin**. MutT spaltet Pyrophosphat von 8-Oxo-dGTP ab und entfernt damit das modifizierte Nukleotid aus dem Pool. MutM und ähnliche Proteine in Prokaryonten und in Eukaryonten entfernen 8-OxoG aus der DNA. Im ersten Schritt wird die modifizierte Base beseitigt, sodass eine AP-Stelle entsteht (Kap. 15.3.2). Anschließend wird die Zuckerphosphatbindung geöffnet und das 2'-Desoxy-5'-monophosphat entfernt. Durch Reparatursynthese wird die Lücke schließlich wieder aufgefüllt.

Reparatur von Schäden durch UV-Licht

UV-lichtinduzierte Schäden (Abb. 15.3, Tab. 15.1) können durch Photolyaseaktivität („Lichtreparatur“) und durch Exzision („Dunkelreparatur“) korrigiert werden. **DNA-Photolyasen** katalysieren die lichtabhängige Spaltung von Thymindimeren, wofür UV-A-Licht (320–400 nm) oder Blaulicht (400–500 nm) zur Aktivierung erforderlich ist. Diese Enzyme haben einen komplizierten radikalischen Mechanismus und besitzen zwei Cofaktoren: reduziertes Flavinadeninindinukleotid (FADH⁻) und entweder 5,10-Methenyl-Tetrahydrofolylpolyglutamat (MTHF) oder 8-Hydroxy-7,8-dimethyl-5-desazariboflavin (8-HDF). FADH⁻ ist für die reduktive Erzeugung des Radikalzustands im Thymindimer essenziell. MTHF bzw. 8-HDF dienen der Lichtabsorption und Aktivierung des Flavinadeninindinukleotids. Bei der **Nukleotid-Exzisionsreparatur** werden die durch Strahlung modifizierten sowie benachbarte Nukleotide aus der DNA entfernt und durch Neusynthese ersetzt. Dieser Mechanismus greift auch bei der Beseitigung von Schäden, die durch unförmige Basenmodifikationen (z. B. durch polyzyklische Kohlenwasserstoffe) entstehen.

Plus 15.6 SOS-Antwort

Eine besondere Reaktion von Bakterien auf Strahlenschäden und unförmige Basenaddukte, die die DNA-Replikation behindern und dadurch längere Einzelstrangbereiche entstehen lassen, ist die so genannte SOS-Antwort. Einzelsträngige Bereiche sind das Substrat für **RecA**, ein Protein, das eine wesentliche Rolle bei der homologen Rekombination (Kap. 15.4.1) spielt. RecA besitzt jedoch weitere Funktionen: In Gegenwart von einzelsträngiger DNA aktiviert es die proteolytische Spaltung mehrerer Proteine, wozu auch der LexA-Repressor zählt. In *E. coli* wird die durch LexA vermittelte Repression von mindestens 43 Genen, u. a. der Gene für die DNA-Polymerasen II, IV und V, dadurch aufgehoben. Diese DNA-Polymerasen replizieren auch beschädigte DNA, allerdings um den Preis häufiger Fehlpaarungen (engl. error-prone repair).

15.4 Genetische Rekombination

Unter dem Begriff Rekombination versteht man im weitesten Sinne die Verknüpfung von DNA-Molekülen. Dazu zählen die homologe Rekombination, die nichthomologe oder ortsspezifische Rekombination und die Transposition. Im Folgenden werden wir homologe und nichthomologe Rekombinationsmechanismen betrachten. Transpositionsereignisse werden bei der Beschreibung mobiler genetischer Elemente in Kapitel 15.5 erläutert.

15.4.1 Homologe Rekombination

Homologe Rekombination ist ein natürlicher, komplexer Prozess in Prokaryonten und Eukaryonten, bei dem DNA-Abschnitte gegen weitgehend ähnliche oder identische Abschnitte ausgetauscht werden. Diese homologe DNA kann endogenen oder exogenen Ursprungs sein. In Prokaryonten entsteht homologe endogene DNA beispielsweise bei der Replikation, wenn neue Replikationsrunden bereits starten, bevor die vorangegangene Replikation des Chromosoms abgeschlossen ist (Kap. 15.2). Rekombination zwischen homologen chromosomalen Abschnitten ist ein Mechanismus der Reparatur von DNA-Schäden (z. B. Doppelstrangbrüche oder Einzelstranglücken), die mit den in Kapitel 15.3 beschriebenen Mechanismen nicht repariert werden können. Homologe Rekombination mit exogener DNA spielt eine wesentliche Rolle für den horizontalen Gentransfer, d. h.

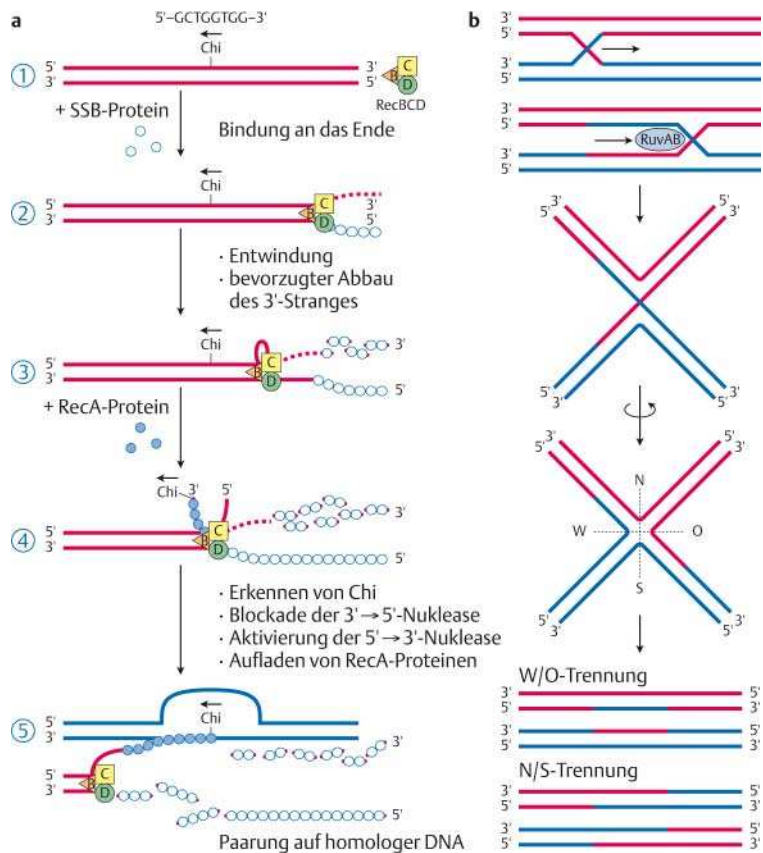


Abb. 15.4 Modell der homologen Rekombination. **a** Die Funktionen des RecBCD-Multienzymkomplexes. **b** Branch Migration, Holliday-Struktur und Spaltung der gekreuzten Stränge. Weitere Erklärung siehe Text.

den stabilen Einbau von DNA, die durch Transformation, Transduktion oder Konjugation von der Zelle aufgenommen worden ist.

In *E. coli* existieren mehrere Wege (z. B. RecBCD-Weg, RecF-Weg) der homologen Rekombination, die allerdings nicht völlig unabhängig voneinander sind. Für viele der daran beteiligten Enzyme gibt es homologe oder funktionell analoge Proteine in anderen Eubakterien, in Archaeobakterien und in Eukaryonten. Zur Einleitung der Rekombination wird im Regelfall einzelsträngige DNA benötigt. Im folgenden werden wir den Hauptweg der allgemeinen Rekombination in *E. coli* betrachten, der auf die Aktivität des **RecBCD-Multienzymkomplexes** angewiesen ist (Abb. 15.4a).

Der RecBCD-Komplex hat mehrere Aktivitäten: Er bindet an die Enden doppelsträngiger DNA (①), wandert an doppelsträngiger DNA entlang und entwindet den Doppelstrang unter ATP-Verbrauch durch Helikase-Aktivität. Der entstehende 3'-Einzelstrang wird abgebaut, der 5'-Einzelstrang wird durch so genannte Einzelstrangbindepoteine (SSB) besetzt (② und ③). Immer wenn der Komplex auf eine so genannte **Chi-Sequenz** (Chi, für engl. cross over hot spot instigator) trifft (④), spaltet er den 3'-Einzelstrang kurz vor der Chi-Sequenz und wandert als Helikase weiter. Dabei wird der 5'-Einzelstrang abgebaut (④). Chi-Sequenzen haben die Basenfolge 5'-GCTGGTGG-3' und sind in etwa 1000 Kopien auf den Chromosomen von *E. coli* und verwandten Bakterien vorhanden. Der nun entstehende 3'-Einzelstrang wird durch **RecA-Proteine** besetzt. Es entsteht ein Nukleoproteinfilament, das Kontakt mit einem homologen Doppelstrang aufnimmt (⑤). Dabei entstehen durch Überkreuzungen so genannte **Holliday-Strukturen**. Der Überkreuzungspunkt wandert nun an der DNA entlang (**Branch Migration**) (Abb. 15.4b). Dieser Vorgang wird durch die Proteine RuvA und RuvB vorangetrieben. Die Holliday-Strukturen werden schließlich durch die RuvC-Endonuklease aufgelöst. Je nachdem in welcher Richtung die Trennung erfolgt, sind in den beiden DNA-Molekülen Einzelstrangabschnitte ausgetauscht oder es entstehen reziprok verknüpfte DNA-Moleküle.

15.4.2 Nichthomologe Rekombination

Nichthomologe Rekombination wird auch als integrative oder ortsspezifische Rekombination bezeichnet. Im Gegensatz zur homologen Rekombination ist diese Art der Rekombination nicht auf längere Sequenzübereinstimmungen zwischen zwei DNA-Molekülen angewiesen und verläuft nach anderen Mechanismen. Mithilfe von **Integrasen** werden DNA-Moleküle an definierten Positionen miteinander verknüpft. Ein gut untersuchtes Beispiel ist die Integration der DNA des temperenten Bakteriophagen Lambda in das Chromosom von *E. coli* (Plus 15.7). Nichthomologe Rekombination spielt jedoch nicht nur bei der Integration lambdoider Phagen, sondern auch bei anderen Prozessen eine wesentliche Rolle. Dazu zählen:

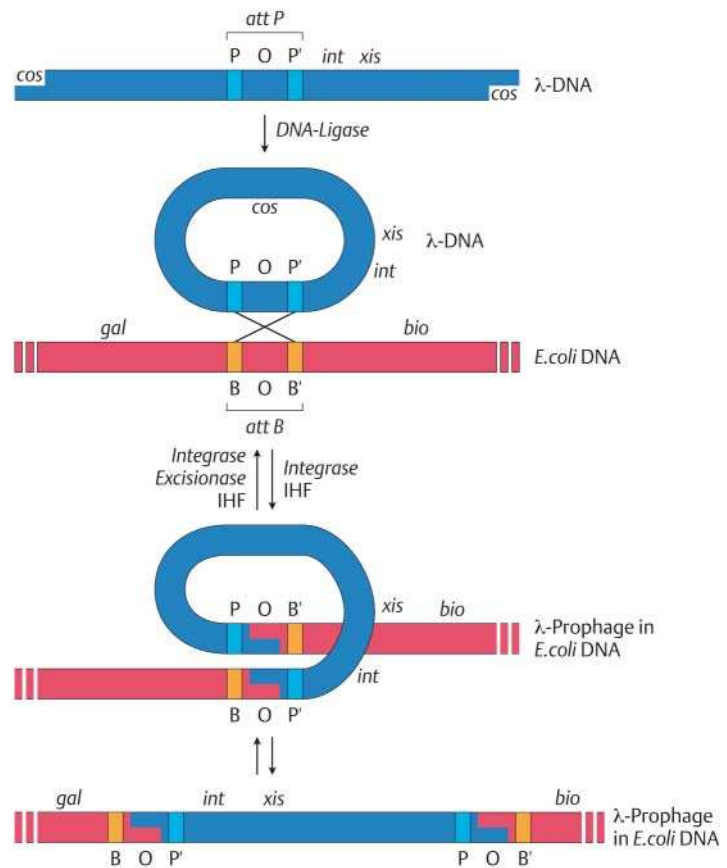
1. die Eigenschaft von *Salmonella*, zwei unterschiedliche Typen von Flagellen produzieren zu können (**Phasenvariation**),
2. die Inversion des G-Segments in der DNA des **Bakteriophagen Mu**, sodass unterschiedliche Schwanzproteine gebildet werden, die die Wirtsspezifität beeinflussen,
3. die Umorganisation der Gene für das stickstofffixierende System in Heterocysten des fädigen Cyanobakteriums *Anabaena*,
4. die Zusammensetzung des Gens für einen für die Mutterzellen spezifischen σ -Faktor, der an der Steuerung der Sporulation in *Bacillus* beteiligt ist,

5. die Aufnahme zusätzlicher Genkassetten durch **Integrans**. Integrans sind häufig auf mobilen genetischen Elementen lokalisiert. Sie enthalten u.a. das Gen für eine Integrase und eine Attachment Site, über die sie durch Rekombination neue Genkassetten integrieren können. Da es sich bei solchen Kassetten oft um Resistenzgene gegen Antibiotika handelt, spielen Integrans eine wichtige Rolle bei der Verbreitung von Resistenzen.

Plus 15.7 Nichthomologe Rekombination und der Phage Lambda

Nach der Injektion der linearen Lambda-DNA in eine *E. coli*-Zelle wird die DNA zirkularisiert und kann in das bakterielle Chromosom integriert werden. In diesem Zustand – man spricht von einem Prophagen – wird die Lambda-DNA als Bestandteil des Chromosoms bei der Replikation kopiert. Die Integration ist unabhängig vom zellulären Rekombinationssystem und erfolgt im Regelfall an einer definierten Position, der Attachment Site (*attB*). *attB* umfasst etwa 30 bp und liegt in einer Region zwischen dem Galactose (*gal*/MKE)-Operon und den Biotin (*bio*ABFDE)-Genen etwa 600 bp von *bioA* und etwa 15 kb von *galE* entfernt. *attB* besteht aus den Teilbereichen BOB', wobei O (15 bp) in identischer Kopie auch in *attP*, der auf der Lambda-DNA lokalisierten

Attachment Site, vorhanden ist. Die Struktur von *attP*, das aus den Bereichen POP' besteht, ist komplexer als die von *attB*. Der P-Arm umfasst etwa 150 bp, der P'-Arm etwa 90 bp. Mithilfe einer phagencodierten Integrase und des bakteriellen Proteins IHF (engl. integration host factor) integriert die Lambda-DNA durch Rekombination zwischen *attB* und *attP* in das Chromosom. In *E. coli*-Mutanten, denen *attB* fehlt, kann die Lambda-DNA auch an anderen Stellen integrieren, allerdings mit geringerer Effizienz. Beim Übergang in den lytischen Vermehrungszyklus, der zur Phagenproduktion und Zelllyse führt, wird der Prophage aus dem bakteriellen Chromosom ausgeschnitten. Dafür wird neben der Integrase auch eine phagencodierte Excisionase benötigt.



Schema der Integration von Lambda-DNA in das *E. coli*-Genom. Die Integration erfolgt an einer Attachment Site (*att*). *int* und *xis* bezeichnen Gene des Lambda-Phagen und codieren für die Integrase und die Excisionase.

15.5 Mobile genetische Elemente

Mobile genetische Elemente sind DNA-Abschnitte, die durch eine besondere Form der Rekombination innerhalb eines Replicons (z. B. einem Chromosom) oder von einem auf ein anderes Replicon (z. B. vom Chromosom auf ein Plasmid) übertragen werden können. Transponierbare Elemente sind in Eubakterien, Archaeobakterien und Eukaryonten verbreitet und tragen zur Umorganisation in Genomen durch Insertionen, Deletionen und Inversionen bei. Durch Insertionen können Mutationen entstehen, da der Leserahmen eines Gens durch die Insertion verändert wird.

In Tabelle 15.3 sind verschiedene prokaryontische mobile genetische Elemente zusammengefasst. Insertionselemente und Transposons sind unter Prokaryonten weit verbreitet. Der Aufbau dieser transponierbaren Elemente ist in Abbildung 15.5 schematisch dargestellt.

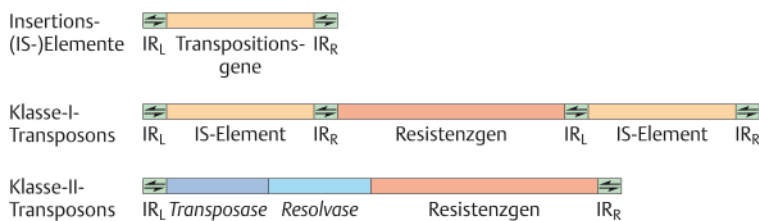


Abb. 15.5 Aufbau von Insertionselementen und Transposons. IR, Inverted Repeat.

Insertions-(IS-)Elemente

Insertions-(IS-)Elemente bestehen meist aus weniger als 2000 bp und enthalten nur die für die Transposition notwendige genetische Information. Charakteristisch sind gegenläufige Wiederholungen sehr ähnlicher, aber nicht identischer Nukleotidfolgen an beiden Enden (engl. inverted repeats, ca. 9–40 bp). Der zentrale Bereich codiert für die Transposase, die für die Mobilität des IS-Elements verantwortlich ist, und oft für mindestens ein weiteres Protein, das die Transpositionsfrequenz reguliert.

Transposons

Transposons besitzen eine komplexere Struktur und werden in verschiedene Klassen eingeteilt. **Klasse-I- (oder zusammengesetzte) Transposons** enthalten je eine vollständige Kopie weitgehend identischer IS-Elemente an beiden Enden. Der zentrale Bereich enthält ein oder mehrere Gene, die Resistenz gegen Antibiotika oder Schwermetalle vermitteln oder für spezielle Stoffwechselprozesse – z. B. den Abbau von Xenobiotika – codieren. **Klasse-II-Transposons** werden von Inverted Repeats an ihren Enden begrenzt. Der zentrale Teil trägt das Transposase- und ein **Resolvasegen** sowie Resistenzgene oder katabole Determinanten. Resolvaseaktivität ist für den replikativen Transpositionsmechanismus (s. u.) erforderlich.

Der temperente **Bakteriophage Mu** (für Mutator) ist ein Beispiel für ein Riesentransposon. Nach der Infektion von Bakterienzellen kann die Mu-DNA durch die Mu-codierte Transposase weitgehend zufällig in beliebige Orte des *E. coli*-Chromosoms inserieren, wodurch Mutationen entstehen. Der Prophage wird dann bei der Replikation des bakteriellen Chromosoms mitrepliziert. Beim Übergang in den lytischen Zyklus transponiert die Phagen-DNA zunächst mehrfach innerhalb des Chromosoms.

Tab. 15.3 Mobile genetische Elemente in Prokaryonten.

Typen	Eigenschaften	Beispiel
Insertions-(IS-)Elemente	Transposase-Gen	IS10 (1329 bp)
Transposons	Klasse I	zusammengesetzt aus IS-Elementen, Transposition durch cut and paste-Mechanismus
	Klasse II	replikative Transposition
	konjugative	konjugativ übertragbar, Transposition mithilfe einer transposoncodierten Integrase
Bakteriophagen-DNA	Transposase-Gen, Erzeugung von Insertionsmutationen	Bakteriophage Mu (36 717 bp)
Introns	Gruppe I	sequenzspezifische Insertion (Homing) mithilfe einer introncodierten Endonuklease
	Gruppe II	Retrohoming und Retrotransposition mithilfe eines multifunktionalen, introncodierten Proteins
	archaebakterielle	Mobilität vergleichbar mit Gruppe-I-Introns

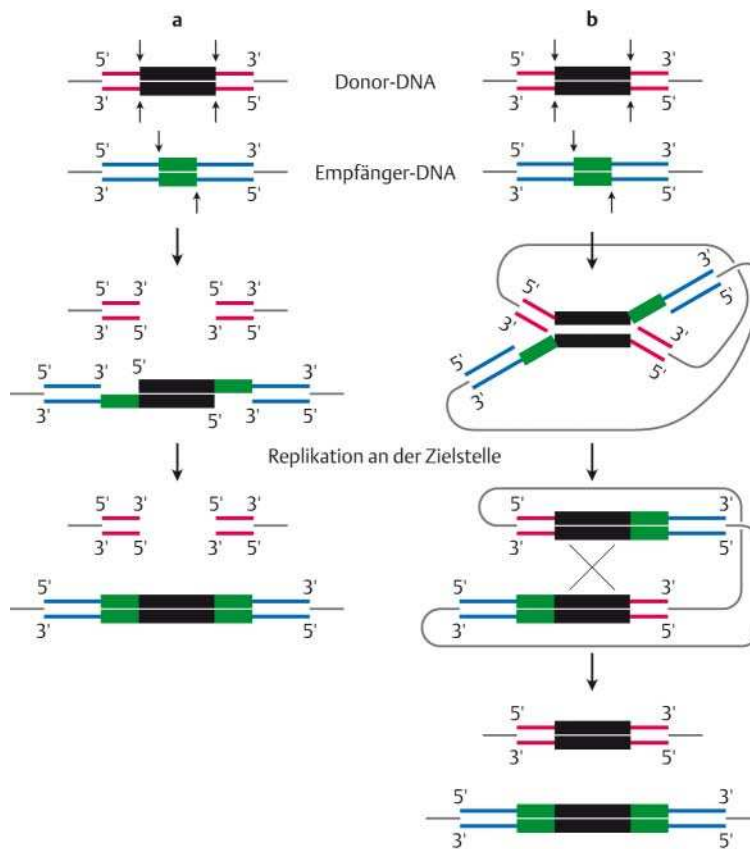


Abb. 15.6 Mechanismen der Transposition bei Bakterien. **a** Beim cut and paste-Mechanismus ist das Schicksal der Donor-DNA ungewiss, nachdem das mobile Element durch vier Schnitte aus der Donor-DNA gelöst wurde. **b** Beim relikativen Mechanismus erfolgen nur zwei Schnitte. Das mobile Element bleibt an seiner ursprünglichen Position in der Donor-DNA erhalten. Die freien 3'-OH-Enden dienen als Primer für die Replikation an der Zielstelle. Dabei entsteht ein sog. Cointegrat, das durch eine Resolvase wieder aufgelöst wird.

Replikative Transposition oder cut and paste? Die Transposition von IS-Elementen, Klasse-I- und Klasse-II-Transposons erfolgt durch einen dieser beiden Wege. Ein cut and paste-Mechanismus (Abb. 15.6) ist für die meisten IS-Elemente und Klasse-I-Transposons charakteristisch. Dabei werden die Inverted Repeats des mobilen Elements durch seine eigene Transposase erkannt; das mobile Element wird durch vier Schnitte aus der Donor-DNA herausgeschnitten. Die Zielsequenz wird ebenfalls durch die Transposase durch zwei, um wenige Nukleotide versetzte Schnitte geöffnet und das mobile Element dort eingefügt. Hinsichtlich der Präferenz für bestimmte Nukleotidfolgen in der Zielsequenz gibt es große Unterschiede zwischen verschiedenen Transposasen. Das Klasse-I-Transposon Tn5 zeigt beispielsweise geringe Spezifität und transponiert in unterschiedlichste chromosomale Regionen. Tn7 dagegen, ein Transposon, das keiner der zuvor genannten Gruppen zugerechnet werden kann, besitzt ausgeprägte Spezifität und transponiert mit hoher Frequenz nur in einen einzigen Ort auf dem *E.-coli*-Chromosom.

Mobile Elemente der Tn3-Familie und der Phage Mu transponieren über den replikativen Weg (Abb. 15.6). Die Transposase setzt hier nur zwei Schnitte im Donormolekül. Die Zielsequenzen werden wie beim cut and paste-Weg durch versetzte Schnitte geöffnet. Im Unterschied zu cut and paste entsteht bei der replikativen Transposition ein Kointegrat zwischen Donor- und Ziel-DNA. Nach Replikation des mobilen Elements wird das Kointegrat durch eine vom Element codierte Resolvase aufgelöst. Das Resultat ist eine Verdopplung des IS-Elements oder Transposons. Als Konsequenz des versetzten Öffnens der Ziel-DNA wird bei beiden Transpositionsmechanismen eine kurze Sequenzwiederholung (Direct Repeats) an den Enden des mobilen Elements erzeugt.

Konjugative Transposons

Konjugative Transposons grampositiver und gramnegativer Bakterien besitzen Eigenschaften von Transposons, konjugativen Plasmiden und integrierenden Bakteriophagen und stellen einen Sonderfall dar. Sie enthalten Resistenzgene gegen Antibiotika oder Gene für spezielle katabole Stoffwechselleistungen. Sie können innerhalb eines Genoms transponieren, aber auch ihren eigenen Transfer in eine Empfängerzelle durch Zell-zu-Zell-Kontakt auslösen (Konjugation, Kap. 15.6.2) und dort durch eine transposoncodierte Integrase in das Genom zu inserieren.

15.6 Mechanismen der Genübertragung

Die Übertragung von DNA zwischen Organismen, die nicht Eltern und Nachkommen sind, bezeichnet man als horizontalen Gentransfer. Dieser Austausch von Erbinformation ist in der Natur weit verbreitet und findet zwischen nah und weniger verwandten Organismen, und (seltener) selbst zwischen Prokaryonten und Eukaryonten statt. Horizontaler Gentransfer spielt eine wichtige Rolle für die Dynamik prokaryontischer Genome, insofern dass DNA-Abschnitte zwischen wenig verwandten, aber am selben Standort angesiedelten Organismen ausgetauscht werden können. Zu den Mechanismen des Genaustausches zählen die Aufnahme von freier DNA aus der Umgebung und ihre Integration in das Genom (**Transformation**), die Übertragung von DNA von einer Donor- in eine Empfängerzelle durch einen komplexen Prozess, der direkten Zellkontakt erfordert (**Konjugation**), und der Transfer von DNA durch Phagen (**Transduktion**).

Plus 15.8 Introns in Prokaryonten

Introns unterbrechen codierende Abschnitte in Genen und werden nach dem Umschreiben in RNA aus den Transkripten entfernt. Diesen Vorgang, der in Eukaryonten im Zellkern stattfindet, bezeichnet man als Spleißen. Spezielle Introns (Gruppe-I- und Gruppe-II-Introns) sind in den Genomen von Pilz- und Pflanzenorganellen vorhanden. Seit Mitte der 1980er-Jahre wurden solche Introns auch in vielen Eubakterien (Gruppe I; Gruppe II), in Archaeobakterien (spezielle Introns mit ähnlichem Spleißmechanismus wie Gruppe I; Gruppe II) und in Phagengenomen (Gruppe I) gefunden. Unter diesen Introns gibt es Vertreter, die sich wie mobile genetische Elemente verhalten. Die Beweglichkeit von Gruppe-I- und archaeobakteriellen Introns wird durch introncodierte Endonukleasen gesteuert. Diese Enzyme erkennen definierte kurze DNA-Sequenzen in intronfreien Allelen und führen im Regelfall einen Doppelstrangbruch ein. Bei dessen Reparatur wird eine Kopie der Intron-DNA in die zuvor intronfreie Stelle eingefügt. Diesen Vorgang bezeichnet man als **Homing**. Homing mithilfe eines introncodierten Proteins ist auch eine Eigenschaft mobiler Gruppe-II-Introns. Hier ist der Homing-Mechanismus jedoch ein anderer und benötigt die gespleißte Intron-RNA. Das introncodierte Protein besitzt Reverse-Transkriptase-Aktivität und stellt eine DNA-Kopie (cDNA) der Intron-RNA her. Die cDNA wird im Regelfall in eine intronfreie Basenfolge im Genom inseriert, die identisch mit der Sequenz des ursprünglichen Insertionsorts ist. Diese Form des Homing wird als **Retrohoming** bezeichnet. Weichen die Sequenzen des ursprünglichen und des neuen Insertionsorts voneinander ab, spricht man von **Retrotransposition**.

Box 15.2 Künstlich induzierte Kompetenz

Nicht alle Prokaryonten – das gilt auch für *E. coli* – werden auf natürliche Weise kompetent. Durch geeignete Labormethoden kann Kompetenz jedoch künstlich erzwungen werden. *E.-coli*-Zellen werden beispielsweise kompetent, wenn sie in der exponentiellen Wachstumsphase geerntet und anschließend für einige Zeit in eiskalter CaCl_2 -Lösung inkubiert werden. Diese Zellen sind anschließend in der Lage, nach einem kurzen Hitzeschock, zirkuläre, doppelsträngige DNA aufzunehmen. Die molekulare Grundlage für die Wirkung von CaCl_2 oder alternativer Salzlösungen ist weitgehend unverständlich. Ein alternatives Verfahren, das ursprünglich für die Transformation eukaryontischer Zellen entwickelt wurde, ist die **Elektroporation**. Die Zellen werden für Sekundenbruchteile einer elektrischen Gleichspannung ausgesetzt, die die Lipidanordnung in der Membran verändert, sodass DNA in das Cytoplasma gelangen kann.

15.6.1 Transformation

Diese natürliche Form der DNA-Aufnahme wurde ursprünglich bei *Streptococcus pneumoniae* entdeckt und mittlerweile bei verschiedenen grampositiven und gramnegativen Bakterien beobachtet. Voraussetzung ist ein physiologischer Zustand, der als **Kompetenz** bezeichnet wird. Natürlich kompetente Organismen, wie das grampositive Bakterium *Bacillus subtilis*, erreichen diesen Zustand in Perioden der Nährstofflimitation. Innerhalb einer Population von *B. subtilis* werden dann etwa 10% der Zellen kompetent und können beliebige, doppelsträngige DNA-Moleküle aus der Umgebung an der Zelloberfläche binden. Bei gramnegativen Bakterien kann der Anteil kompetenter Zellen erheblich höher liegen und beträgt bei Kulturen von *Haemophilus influenzae* in der stationären Phase annähernd 100%. *H. influenzae* und *Neisseria gonorrhoeae*, ebenfalls ein gramnegatives Bakterium, diskriminieren zwischen homologer und heterologer DNA. Sie nehmen nur homologe DNA auf und erkennen diese an bestimmten Nukleotidfolgen. Im Falle von *H. influenzae* handelt es sich dabei um eine Sequenz von etwa 29 Nukleotiden, die im Genom erheblich häufiger auftritt als das statistisch zu erwarten ist. Ein weiteres gramnegatives Bakterium, *Acinetobacter baylyi*, kann jedwede Fremd-DNA aufnehmen. Im Labor lassen sich Organismen auch durch Chemikalien oder das Anlegen einer Spannung kompetent machen (Box 15.2).

Natürlich kompetente Bakterien produzieren verschiedene **Kompetenzproteine**, die an der Bindung der DNA und dem anschließenden Transport durch die Zellhülle beteiligt sind. In grampositiven Bakterien spielt die Dichte der Zellpopulation eine wichtige Rolle bei der Regulation von Kompetenzgenen. Die Zellen produzieren und exportieren Peptide (Pheromone), für die sie selbst spezifische Rezeptoren besitzen. Bei Überschreitung einer Schwellenkonzentration wird die Expression von Kompetenzoperons aktiviert. Derartige Zelldichteabhängige Regulationsprozesse bezeichnet man als Quorum Sensing (Kap. 16.10). Der Prozess der Transformation beginnt mit der Bindung der DNA an die Zelloberfläche, wobei es notwendigerweise Unterschiede zwischen gramnegativen und grampositiven Bakterien gibt.

Gegenwärtige Modelle der wesentlichen Schritte der DNA-Aufnahme werden in Plus 15.9 besprochen. In grampositiven Bakterien bindet DNA an ein Kompetenzprotein, das in der Zellhülle verankert ist. Sie wird anschließend durch Endonukleaseaktivität in doppelsträngige Fragmente mit einer mittleren Länge von (in *B. subtilis*) etwa 18 kb gespalten. Nach einer kurzen Verzögerung ist die fragmentierte DNA geschützt vor dem Angriff nukleolytischer Enzyme. Weitere essenzielle und in der Zellwand verankerte Kompetenzproteine zeigen auffällige Ähnlichkeit zu Proteinen gramnegativer Bakterien, die dort für die Assemblierung und für kontraktile Bewegungen von Typ-IV-Pili notwendig sind (Kap. 5.9.2). Nach Bindung und Fragmentierung folgt der DNA-Transport in die Zelle. Bei der natürlichen Transformation wird nur einer der beiden DNA-Stränge durch die Cytoplasmamembran transportiert. Der zweite Strang wird durch Nukleaseaktivität abgebaut.

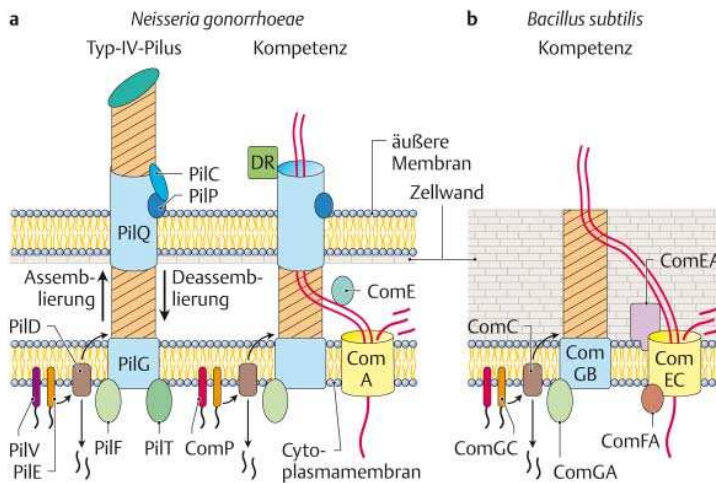
In gramnegativen Bakterien gelangt die DNA durch ein **Secretin** durch die äußere Membran. Dabei handelt es sich um einen Kanal, der auch für den Export von Typ-IV-Pilinuntereinheiten bei der Pilussynthese genutzt wird. Proteine des Typ-IV-Pilussynthesystems, eine Nuklease, die einen der beiden DNA-Stränge abbaut, und ein DNA-Transporter, der den verbleibenden Strang in das Cytoplasma transportiert, sind weitere am Transformationsprozess beteiligte Komponenten.

Plus 15.9 Pilussynthese und Transformation

Typ-IV-Pili dienen gramnegativen Bakterien zur Anheftung an Oberflächen und zu einer als Twitching bezeichneten Form der Beweglichkeit. Zur Pilussynthese werden in *Neisseria gonorrhoeae* (gramnegativ) das Hauptpilin (PilE) und das Nebopilin (PilV) durch die Präpilin-Peptidase (PilD) prozessiert und mithilfe des Membranproteins PilG und der Nukleosidtriphosphatase PilF polymerisiert (Abb. a). Durch das Secretin PilQ und unter Beteiligung des Hilfsproteins PilP kann der Pilus die äußere Membran durchdringen. Das an die äußere Membran gebundene Protein PilC stabilisiert das Filament. Die Nukleosidtriphosphatase PilT depolymerisiert den Pilus in die Pilinuntereinheiten, was zum Einziehen des Pilus führt. Derselbe Assemblierungsapparat wird zur Synthese des Kompetenzpseudopilus aus dem Hauptpilin PilE und dem Neben-

pilin ComP benutzt. Die DNA bindet an einen postulierten Rezeptor (DR) und gelangt durch das Secretin PilQ in das Periplasma. Unter Beteiligung von ComE wird einzelsträngige DNA durch den Transporter ComA in das Cytoplasma transportiert. Der zweite Strang wird abgebaut.

In *Bacillus subtilis* (grampositiv) besteht der Pseudopilus aus dem Hauptpseudopilin ComGC und Nebempseudopilinen (ComGD, GE und GG), die durch ComC prozessiert und mithilfe von ComGB und ComGA assembliert werden (Abb. b). Der membrangebundene Rezeptor ComEA leitet die DNA zum Transporter ComEC. Am Transport einzelsträngiger DNA in das Cytoplasma ist das ATP-bindende Protein ComFA beteiligt.



Vergleich zwischen Typ-IV-Pilussynthese und Transformation in den natürlich kompetenten Bakterien *Neisseria gonorrhoeae* (gramnegativ, a) und *Bacillus subtilis* (grampositiv, b).

In den gramnegativen Bakterien *Helicobacter pylori* und *Campylobacter jejuni* wird ein anderes System zur DNA-Aufnahme genutzt – ein Komplex von Proteinen, die deutliche Ähnlichkeit zu Typ-IV-Sekretionssystemen zeigen (Kap. 9.5.3). Derartige Systeme vermitteln auch den Transport der DNA bei der Konjugation (Kap. 15.6.2).

Rekombination stellt den letzten Schritt der Transformation dar. Die einzelsträngige DNA paart sich mit homologen DNA-Abschnitten in der Zelle unter Ausbildung einer Tripelhelix. Unter Beteiligung des RecA-Proteins (Kap. 15.4.1) können DNA-Stränge ausgetauscht werden. Voraussetzung hierfür ist, dass Abschnitte mit weitgehend identischer Sequenz vorhanden sind. Zwischen diesen Abschnitten können sich die beiden Stränge jedoch unterscheiden, sodass durch den Austausch auch veränderte Sequenzen, Deletionen und Insertionen eingeführt werden können. Bei der Replikation der DNA entstehen dann Doppelstränge, die sich in ihrer Basenfolge unterscheiden. Die Aufnahme von DNA-Fragmenten ohne homologe Abschnitte ist in den meisten Fällen nicht produktiv, da ohne stabile Integration in das Genom keine Vererbung erfolgt.

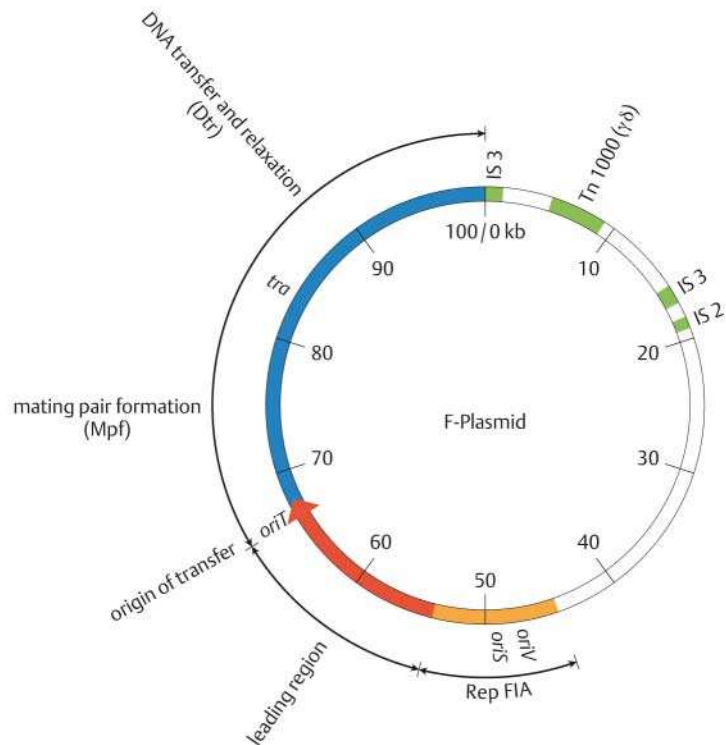
15.6.2 Konjugation

Die gerichtete Übertragung von DNA durch Zellkontakt zwischen einer Donor- und einer Rezipientenzelle wird als Konjugation bezeichnet. Es handelt sich dabei um einen sehr komplexen Prozess, sodass wir hier nur einige mechanistische Prinzipien anhand gut charakterisierter Beispiele betrachten können. Bakterielle Konjugation wurde in den 1940er-Jahren durch **Lederberg** und **Tatum** bei *E. coli* entdeckt. Spätere Untersuchungen haben gezeigt, dass Konjugation innerhalb der gramnegativen und grampositiven Bakterien einen wesentlichen Beitrag zum horizontalen Gentransfer leistet, und dass Konjugation auch zwischen diesen beiden Gruppen möglich ist. Konjugativ übertragbare Plasmide wurden auch in Archaeobakterien entdeckt. Die Übertragung von DNA durch Zellkontakt ist nicht auf Prokaryonten beschränkt, sie findet auch zwischen prokaryontischen Zellen als Spendern und eukaryontischen Zellen als Empfängern statt. *Agrobacterium*-Stämme besitzen z. B. konjugative Plasmide und injizieren unter natürlichen Bedingungen einen Teil davon, die T-DNA, in verwundetes Gewebe zweikeimblättriger Pflanzen (Plus 15.13, Kap. 18.6). Die Übertragung bestimmter Plasmide durch Konjugation aus *E.-coli*-Donorzellen in die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* und sogar in Ovarienzellen von Hamstern wurde experimentell nachgewiesen.

Plus 15.10 F-Plasmid

Ursprünglich wurde Konjugation als Übertragung eines als **Fertilitätsfaktor** (F-Faktor, F-Plasmid) bezeichneten Plasmids zwischen *E. coli*-Zellen beschrieben (Abb.). Dieser Transfer erfolgt gerichtet, von Donorzellen (F⁺) in Rezipientenzellen (F⁻). Nach der Übertragung enthalten sowohl Donor als auch Rezipient das F-Plasmid, es handelt sich demnach um einen replikativen Vorgang.

Das F-Plasmid besteht aus ca. 100 kb. Es trägt zwei benachbarte, funktionelle Replikationsursprünge (*oriS*, *oriV*) zur vegetativen Replikation, die in der RepFIA-Region lokalisiert sind. Die Kopienzahl von F (1–2 im Verhältnis zu Chromosomen) und die gleichmäßige Verteilung bei der Zellteilung wird durch F-codierte Proteine gesteuert. Das F-Plasmid trägt mehrere mobile genetische Elemente (IS2, IS3, Tn1000 = $\gamma\delta$). Etwa 35 Proteine, deren Gene in der *tra*-Region enthalten sind, sind am konjugativen Transfer beteiligt. Diese Genprodukte werden in zwei Klassen eingeteilt: Mpf-Proteine (Mpf, für engl. mating pair formation) vermitteln den Zellkontakt und den DNA-Transport durch die Zellhülle. Die anderen Funktionen (Dtr, für engl. DNA transfer and relaxation) haben u. a. die Aufgaben, einen Einzelstrangbruch im Bereich des konjugativen Replikationsursprungs (*oriT*) zu erzeugen und anschließend die DNA zum Exportsystem in der Membran zu geleiten. Die Leading Region wird beim Transfer zuerst in die Empfängerzelle übertragen.



Physikalische Karte eines F-Plasmids. Nur ein kleiner Teil der Gene ist eingezeichnet.

Enger Zellkontakt ist eine Voraussetzung für die Konjugation. Beim konjugativen Transfer zwischen gramnegativen Bakterien produzieren die Donorzellen spezielle Pili (Sexpili oder F-Pili, wenn ein F-Plasmid vorhanden ist, Plus 15.10, vgl. Abb. 5.28 S. 142), die sich mit ihrer Spitze an der Oberfläche der Rezipienten anheften. Die F-Pili, von denen eine Zelle 1–3 Stück synthetisiert, bestehen aus vielen Einheiten eines einzigen Proteins, dem Pilin. Das *traA*-Gen codiert einen Pilinvorläufer, der posttranslational beträchtlich verkürzt wird. Nach der Kontaktaufnahme durch den Pilus bildet sich ein stabiles Aggregat aus Donor und Rezipient, falls der Rezipient die für *E. coli* typische Struktur der Lipopolysaccharidschicht und das OmpA-Protein in der äußeren Membran besitzt. Der Pilus wird depolymerisiert und die Zellen werden in enger Nachbarschaft angeordnet. Zellen, die bereits ein F-Plasmid (F⁺) besitzen, verhindern durch zwei Tra-Proteine die Ausbildung stabiler Aggregate und den DNA-Transfer, sodass kein zweites F-Plasmid aufgenommen werden kann. Dieses Phänomen wird als Surface Exclusion bezeichnet. Ähnliche Ausschlussmechanismen existieren auch bei anderen konjugativen Plasmiden.

Die weiteren Schritte der konjugativen DNA-Übertragung sind in Abbildung 15.7 schematisch dargestellt. Zunächst werden mehrere Tra-Proteine am *oriT*, der Stelle auf dem F-Plasmid, an der der Transfer eingeleitet wird, gebunden. Der entstehende Nukleoproteinkomplex wird als Relaxosom bezeichnet. Eines dieser Proteine, die Relaxase, führt einen Einzelstrangbruch am *oriT* ein und wird dabei selbst über einen Tyrosinrest mit dem freien 5'-Phosphatende der DNA kovalent verknüpft. Der Nukleoproteinkomplex wird zum Exportsystem in der Membran, einem aus Mpf-Proteinen bestehenden, so genannten **Typ-IV-Sekretionssystem** (Plus 15.11), geleitet und durch die Zellhülle in den Empfänger transportiert. Die genaue Anordnung und Funktion der einzelnen Mpf-Proteine bei diesem Prozess sind nicht bekannt.

Der nächste Schritt während der konjugativen Übertragung ist die **DNA-Replikation**. Im Donor beginnt am 3'-Ende oder in der Nähe des 3'-Endes der einzelsträngigen DNA die Verlängerung zum Doppelstrang. Wegen der Drehbewegung, die durch den Transfer des einen Stranges in die Empfängerzelle und die Neusynthese in entgegengesetzter Richtung entsteht, bezeichnet man diese Art der Replikation auch als **Rolling-Circle-**

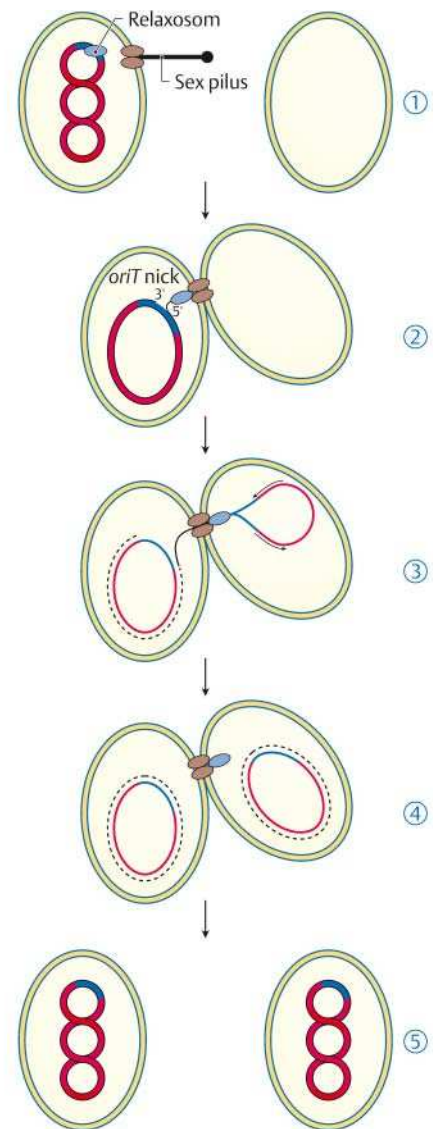


Abb. 15.7 Teilreaktionen beim konjugativen DNA-Transfer. ① Anheften des Pilus und anschließende Depolymerisation. ② Anlagern verschiedener Tra-Proteine und Einzelstrangbruch (engl. nick) im Bereich des *oriT*. ③ Transfer des Relaxase/ssDNA-Komplexes, „Rolling-Circle“-Replikation im Donor, diskontinuierliche Replikation im Rezipient. ④ Rezipikularisieren der dsDNA. ⑤ Überspiralisieren der DNA und Trennen der Zellen. ssDNA, einzelsträngige DNA; dsDNA, doppelsträngige DNA.

Plus 15.11 Typ-IV-Sekretionssysteme

Gene der Mating-Pair-Formation-(Mpf)-Region codieren für Produkte, die ähnlich zu den Produkten von Pathogenitätsinseln in humanpathogenen Krankheitserregern sind. Dies sind die Produkte der *Dot/Icm*-Genregion von *Legionella pneumophila* (dem Erreger der Legionärskrankheit), der *ptl*-Gene von *Bordetella pertussis* (dem Keuchhustenerreger) und der *cag*-Region von *Helicobacter pylori* (dem Erreger von Magengeschwüren). Ptl-Proteine sorgen für den Export des aus mehreren Untereinheiten bestehenden Pertussistoxins durch die äußere Membran, Dot/Icm steht in Zusammenhang mit dem Export eines Inhibitors von Makrophagen und *cag*-Produkte bilden ein Proteinexportsystem für CagA, das die Funktion von vielen regulatorischen Proteinen in der eukaryontischen Wirtszelle beeinflusst. Bereits bei der Betrachtung des Transfers der Ti-DNA von *Agrobacterium tumefaciens* in die Pflanzenzelle (Plus 15.13) wird offensichtlich, dass Mpf-Proteine nicht nur den Nukleoproteinkomplex, sondern auch bestimmte Proteine exportieren können. Die konjugativen Exporter und die genannten Proteinexporter werden deshalb als eine verwandte Klasse von Membrantransportern zusammengefasst und als Typ-IV-Sekretionssysteme (Kap. 9.5.3) bezeichnet.

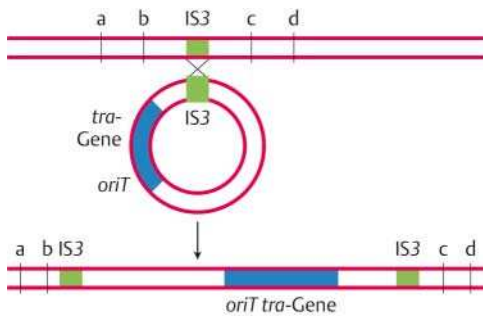


Abb. 15.8 Schema der Integration eines F-Plasmids (aus Knippers, 2006).

Replikation. Im Rezipienten erfolgt die Replikation diskontinuierlich. An der Termination des Transfers ist wiederum die Relaxase entscheidend beteiligt, da sie die *oriT*-Region in der übertragenen DNA erkennt und die Lücke im Zuckerphosphatrückgrat verschließt.

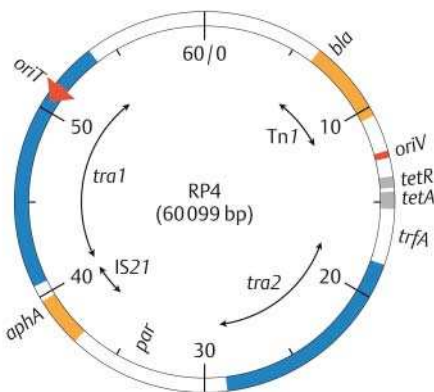
Hfr-Stämme

Eine besondere Form des konjugativen DNA-Transfers wird in Abbildung 15.8 am Beispiel des F-Plasmids beleuchtet. Wie bereits erwähnt, sind auf dem F-Plasmid mobile genetische Elemente lokalisiert, die auch im *E.-coli*-Chromosom vorhanden sind. Durch Rekombination kann dieses F-Plasmid in das bakterielle Chromosom integrieren. Das Resultat ist ein Bakterienstamm, der bei der Konjugation das gesamte Chromosom und damit prinzipiell alle Gene in Empfängerzellen übertragen kann. Derartige Stämme werden als Hfr-Stämme (für engl. high frequency of recombination) bezeichnet. Je nach Insertionsort und Orientierung des Plasmids, übertragen unterschiedliche Hfr-Stämme chromosomale Gene in unterschiedlicher Reihenfolge. Einzelne Fragmente können mit homologen Abschnitten des Chromosoms der Empfängerzelle rekombinieren. Man hat festgestellt, dass die Übertragung des gesamten Chromosoms etwa 100 Minuten dauert. Dabei zerbricht das einzelsträngige DNA-Molekül. Mithilfe verschiedener Hfr-Stämme und vieler Konjugationsexperimente, bei denen der DNA-Transfer durch starkes Schütteln der Zellen zu verschiedenen Zeitpunkten unterbrochen wurde, konnte die Reihenfolge vieler Gene auf dem *E.-coli*-Chromosom lange vor der Bestimmung der Basensequenz in der DNA ermittelt werden. Die grobe Genkarte verzeichnete die Position der Gene auf einem "Zifferblatt von 0–100 Minuten", je nach der Zeitspanne, die benötigt wurde, bis die betreffenden Gene relativ zueinander bei der Konjugation übertragen wurden.

Mobilisierbare Plasmide

Im Gegensatz zu konjugativen Plasmiden, wie dem F-Faktor (Plus 15.10) oder vielen Resistenzplasmiden (Plus 15.12), die selbst alle für die Konjugation notwendigen Gene tragen, sind manche natürliche, kleine Plasmide nicht selbsttransmissibel, können aber in Gegenwart eines konjugativen

Plus 15.12 Resistenzplasmid RP4



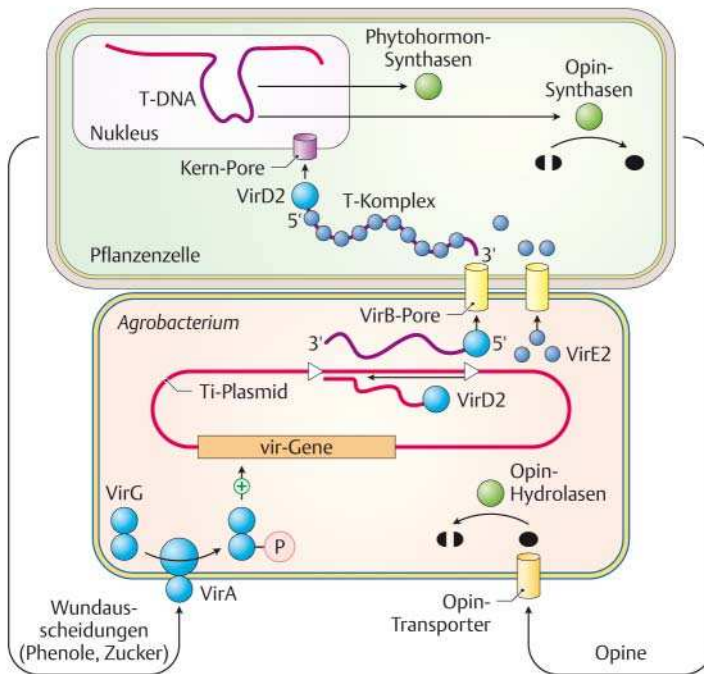
Physikalische Karte von RP4.

RP4 zählt zu einer Gruppe konjugativer Plasmide, die als **Resistenztransferfaktoren** oder **R-Plasmide** bezeichnet werden und für die schnelle Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen unter gramnegativen Bakterien verantwortlich sind. An RP4, einem Vertreter der IncP-1 α -Gruppe, wurden viele molekulare Details der Konjugation aufgeklärt. RP4-codierte Sexpili unterscheiden sich von F-Pili. Im Gegensatz zu diesen langen, flexiblen Strukturen sind RP4-codierte Pili kurz und starr. RP4 enthält Gene für Resistenzen gegen drei Klassen von Antibiotika (Abb.): β -Lactame, zu denen die Penicilline zählen (*bla*-Gen auf dem Transposon Tn1), Aminoglykoside vom Kanamycintyp (*aphA*-Gen, direkt benachbart zu IS21) und Tetracykline (*tetRA*-Gene). Die 20 essenziellen Transferelemente sind in den Regionen Tra1 und Tra2 angeordnet. Die vegetative Replikation beginnt am *oriV* unter Beteiligung des Proteins TrfA. Die Produkte des *par*-Locus sorgen für die gleichmäßige Verteilung der Plasmidkopien während der Zellteilung. Die konjugative Übertragung startet am *oriT*.

Plus 15.13 Modell der Interaktionen zwischen Pflanze und *Agrobacterium tumefaciens*

Ti-Plasmide von *Agrobacterium tumefaciens* stellen besondere konjugative Plasmide dar und besitzen die genetische Ausstattung für zwei vollständige DNA-Transfersysteme, eines für den Transfer innerhalb gramnegativer Bakterien, und das zweite für die Transkingdom-Übertragung der Transfer-(T-)DNA in Zellen zweikeimblättriger Pflanzen (s. Plus 18.8, S. 594 und Kapitel 18.6.1). Das Bakterium nimmt Wundauscheidungen der Pflanze (z. B. Acetosyringon) mithilfe des membranständigen Sensors VirA wahr, was zur Phosphorylierung des Regulators VirG führt und in der Folge die Expression der *vir*-Gene aktiviert. Nach Einführung des Einzelstrangbruchs am Ende der T-DNA wird die Relaxase VirD2 kovalent mit dem 5'-Ende verknüpft (Abb.). Das Typ-IV-Exportsystem aus VirB-Proteinen transportiert den T-Komplex und parallel VirE2 in die Pflanze. Dort bindet VirE2 an die T-DNA. Nach

Transport in den Zellkern (unter Beteiligung pflanzlicher Proteine) integriert die T-DNA in chromosomale DNA des Wirtes und wird exprimiert. Phytohormon-Synthasen werden synthetisiert und sorgen durch Produktion der Hormone Indoleessigsäure und Cytokinin für Kalluswachstum. Opinsynthasen vermitteln die Produktion von Opinen. Opine sind modifizierte Aminosäuren. Sie werden von *A. tumefaciens* durch spezielle Transporter aufgenommen, durch Hydrolasen in verwertbare Produkte gespalten und diese als C-, Energie- und N-Quellen verwertet. Agrobakterien spielen auch eine wichtige Rolle in der Grünen Gentechnik. Zur stabilen Verankerung von Fremdgenen in Pflanzengenomen werden rekombinante Stämme mit modifizierten Ti-Plasmiden verwendet, in denen die tumorinduzierenden Funktionen in der T-DNA durch Fremdgene ersetzt sind.



Gentransfer zwischen Agrobakterien und Pflanzen.

tiven Helferplasmids mobilisiert werden. Mobilisierbare Plasmide besitzen einen *oriT* und codieren für die Proteine, die das Relaxosom bilden. Die Mpf-Funktionen werden durch das Helferplasmid bereitgestellt.

Konjugation zwischen grampositiven Bakterien

Dieser Prozess ist im Vergleich zu dem der gramnegativen Bakterien weniger gut verstanden. Grampositive Donorzellen produzieren keine Sexpili. Interessanterweise scheiden plasmidfreie Zellen von *Enterococcus faecalis* Sexpheromone aus, die plasmidhaltige Donorzellen zur Produktion eines so genannten Aggregationsproteins veranlassen. Dadurch wird die Zellaggregation als Grundlage für die anschließende DNA-Übertragung ausgelöst.

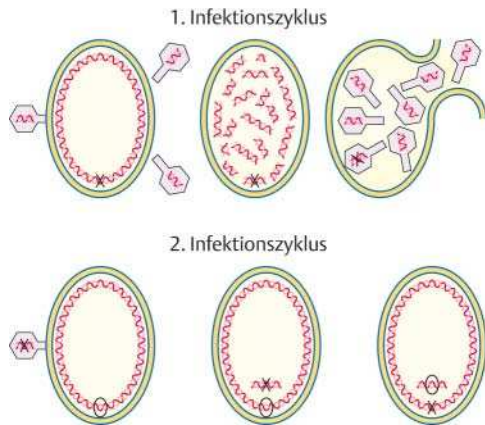


Abb. 15.9 Transduktion. Im 1. Infektionszyklus infiziert ein transduzierender Phage eine Bakterienkultur. Im Anschluss wird die bakterielle DNA zerstückt. Bei der Verpackung der DNA in neue Viruspartikel entstehen auch solche Phagen, die Wirts-DNA (mit Marker X) anstelle von Phagen-DNA enthalten. Im 2. Infektionszyklus kann Wirts-DNA mit dem Marker X in befallene Zellen übertragen und durch homologe Rekombination integriert werden. Dadurch kann z.B. ein defektes Gen (0) durch das intakte Allel ersetzt werden.

15.6.3 Transduktion

Diese Form der DNA-Übertragung zwischen Bakterien wird durch temperente Bakteriophagen (Kap. 4.2.2) vermittelt (Abb. 15.9). Transduktion durch Phagen wurde auch in Archaeobakterien beschrieben. Grundsätzlich unterscheidet man allgemeine (generelle) und (orts-)spezifische Transduktion und wir wollen diese beiden Prozesse an je einem Beispiel betrachten.

Allgemeine Transduktion

Der *E.-coli*-Phage **P1** ist ein temperenter, **allgemein transduzierender Phage**. Im Prophagenzustand liegt sein etwa 100 kb umfassendes Genom in Form eines doppelsträngigen, zirkulären DNA-Moleküls in der Zelle vor, das sich wie ein Plasmid mit niedriger Kopienzahl verhält. Nach Eintritt in den lytischen Zyklus wird die P1-DNA nach einem Rolling-Circle-Mechanismus repliziert, sodass Concatemere, also linear aneinander gereihete Kopien entstehen. Die Verpackungsmaschinerie schneidet Stücke von etwas mehr als 100 kb Länge von diesen Concatemeren ab, die die Phagenköpfe vollständig ausfüllen (Headful-Mechanismus). In Ausnahmefällen werden anstelle der concatemeren Phagen-DNA Bruchstücke des bakteriellen Chromosoms zur Verpackung verwendet. Da die Länge des eingepackten Stücks Bakterien-genom der Länge der Virus-DNA entspricht, entstehen Phagenpartikel, die ausschließlich bakterielle DNA mit einer Länge von etwa 100 kb enthalten. Innerhalb einer Population transduzierender Phagen können prinzipiell alle Gene des Wirts enthalten sein. Nach Injektion in eine Bakterienzelle kann der homologe DNA-Bereich durch Rekombination gegen die transduzierte DNA ausgetauscht werden.

Spezifische Transduktion

Der **Phage Lambda** ist im Gegensatz zu P1 ein Beispiel für einen **ortsspezifisch transduzierenden Phagen**. Wie bereits in Kapitel 15.4 erläutert wurde, ist die Lambda-DNA im Prophagenzustand im *E.-coli*-Chromosom integriert. Dem Insertionsort benachbart sind auf einer Seite ein Gen unbekannter Funktion und fünf Biotinsynthesegene (*bio*), auf der anderen Seite sieben Gene unbekannter Funktion, fünf Gene (*mod*), die ein ABC-Transportsystem für Molybdat codieren und anschließend das Operon für die Galactoseverwertung (*gal*) lokalisiert. Beim Übergang in den lytischen Zyklus schert die DNA aus dem Chromosom aus. Fehlerhaftes Ausschneiden führt zu spezifisch transduzierenden Phagen. Solchen Phagen fehlen an einem Ende Lambda-spezifische Gene. Dafür enthalten sie an ihrem anderen Ende bakterielle DNA. λbio^+ - und λgal^+ -transduzierende Phagen, die in entsprechenden *E. coli*-Mutanten Biotinauxotrophie oder die Unfähigkeit zur Galactoseverwertung durch Rekombination aufheben können, sind seit langem bekannt.

Andere Transduktionsformen

Besondere Formen der Transduktion wurden in einigen Eubakterien und in dem methanogenen Archaeobakterium *Methanococcus voltae* beobachtet. Diese Organismen produzieren ein so genanntes **Gentransferagens** (GTA). Dabei handelt es sich um phagenähnliche Partikel, durch die chromosomale DNA von einer Donor- in eine Empfängerzelle übertragen werden kann. Das am besten untersuchte Beispiel ist das GTA aus dem

phototrophen Bakterium *Rhodobacter capsulatus*. Verschiedene Stämme dieses Organismus enthalten die Gene für die Produktion von GTA. In dem GTA können beliebige chromosomale Abschnitte mit einer Länge von etwa 4,5 kb verpackt und in Empfängerzellen übertragen werden. Es ist anzunehmen, dass GTA und ähnliche Elemente in anderen Prokaryonten aus temperenten Phagen entstanden sind, die die Fähigkeit verloren haben, spezifisch ihr eigenes Genom zu verpacken.

15.7 Restriktion und Modifikation

Die Aufnahme exogener DNA ist eine unter Prokaryonten verbreitete Eigenschaft. Die Zellen schützen sich vor den möglichen fatalen Folgen des Eindringens von fremder DNA, z. B. bei einer Phageninfektion, indem sie zwischen DNA ihrer Art und fremder DNA unterscheiden und letztere abbauen. Diesen Prozess bezeichnet man als Restriktion, die abbauenden Enzyme als Restriktionsendonukleasen. Der Schutz ist allerdings nicht absolut, da Phagen und konjugative Plasmide auch Gene für Antirestriktionsenzyme enthalten können. Prokaryonten schützen ihre eigene DNA durch Methylierung bestimmter Cytosin- oder Adeninreste vor dem Abbau. Der Methyl donor für diese Methyltransferasen ist S-Adenosylmethionin (Kap. 8.5.1). Die Kombination aus einer Restriktionsendonuklease und einer Methyltransferase nennt man Restriktions-/Modifikationssystem. Restriktions-/Modifikations-(R/M-)systeme werden anhand verschiedener Kriterien in mehrere Gruppen eingeteilt (Abb. 15.10).

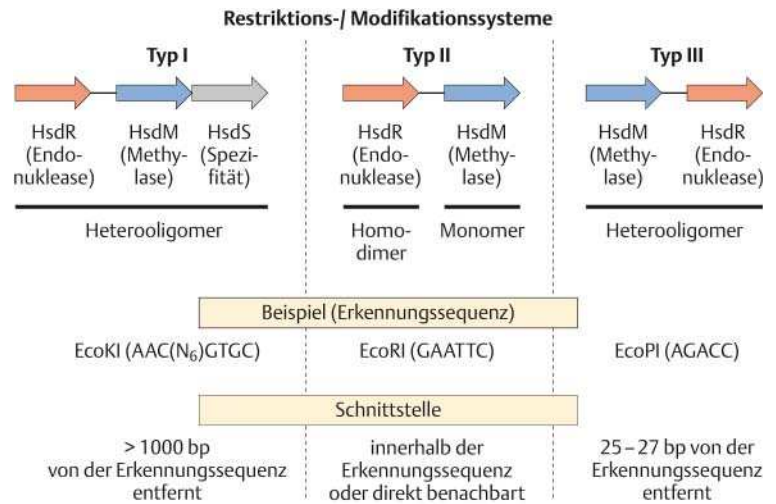
Typ-I-R/M-Systeme

Diese Systeme sind heterooligomere Enzyme, die Endonuklease- und Methyltransferaseaktivität in einem Komplex enthalten. Die enzymatische Aktivität ist abhängig von ATP und S-Adenosylmethionin. Typ-I-R/M-Systeme erkennen zweiteilige, asymmetrische Nukleotidfolgen in der DNA, zwei spezifische Folgen von 3–4 und 4–5 Nukleotiden, die durch 6–8 bp voneinander getrennt sind. Fremd-DNA, die aufgenommen wird und die Erkennungssequenz enthält, wird durch die Endonukleaseaktivität gespalten, da die Erkennungssequenz in nichtmethylierter Form vorliegt. Die Spaltstelle ist nicht exakt definiert und kann mehr als 1000 bp von der Erkennungssequenz entfernt liegen. Hemimethylierte Erkennungssequenzen, die unmittelbar nach der Replikation vorliegen, sind das Substrat für die Methyltransferaseaktivität.

Typ-II-R/M-Systeme

Typ-II-R/M-Systeme sind seit den 1970er Jahren bekannt. Die Entdeckung solcher Systeme mit unterschiedlichen Erkennungssequenzen in vielen Prokaryonten hatte großen Einfluss auf die Entwicklung der Gentechnologie (Kap. 15.9). Bei den Typ-II-R/M-Systemen sind die Endonuklease (Mg^{2+} -abhängig) und die Methyltransferase getrennte, nicht miteinander verwandte Enzyme, die jedoch identische Erkennungssequenzen besitzen. Die Erkennungssequenzen bestehen aus 4–8 bp und sind häufig gegenläufig gleich aufgebaut, man spricht von palindromischen Strukturen. Je nach der Struktur der Enzyme, der Anzahl und Struktur der Erkennungsstellen sowie der Anzahl und Struktur der Schnittstellen werden Typ-II-R/M-Systeme in 11 Subgruppen (A – C, E – H, M, P, S, T) eingeteilt. Die

Abb. 15.10 Eigenschaften prokaryontischer Restriktions-/Modifikationssysteme. Hsd steht für engl. host specificity for DNA. Typ-I-Restriktionsendonukleasen sind Heterooligomere aus drei Untereinheiten (HsdR, HsdM und HsdS). Typ-II-Restriktionsendonukleasen sind Homodimere und wirken unabhängig von den zugehörigen Methylasen. Typ-III-Restriktionsendonukleasen sind Heterooligomere aus zwei Untereinheiten, einer Methylase und einer Endonuklease. N in der Erkennungssequenz steht für ein beliebiges Nukleotid.



Spaltstellen der Typ-II-Restriktionsendonukleasen liegen meistens innerhalb der Erkennungssequenz. Viele Typ-II-Restriktionsenzyme spalten die beiden Stränge innerhalb ihrer Erkennungssequenz versetzt und erzeugen deshalb DNA-Fragmente mit überhängenden Einzelstrangenden. Solche DNA-Fragmente können sich mit den komplementären Enden von Vektormolekülen, die mit demselben Restriktionsenzym behandelt wurden, zusammenlagern. Durch DNA-Ligase können Vektor und Fragment kovalent miteinander verknüpft werden.

Typ-III-R/M-Systeme

Typ-III-R/M-Systeme sind ebenfalls heterooligomere Enzymkomplexe mit Endonuklease- und Methyltransferaseaktivität; sie benötigen MgATP wie die Typ-I-Systeme. Definierte asymmetrische Folgen von 5–7 bp dienen als Erkennungssequenzen. Im Gegensatz zu den Typ-I-Systemen spalten Typ-III-R/M-Systeme die DNA an definierten Positionen, die 25–27 bp von der Erkennungssequenz entfernt liegen.

Typ-IV-Restriktionsenzyme

Diese Restriktionsendonukleasen vom Typ IV sind methylierungsabhängig. In *E. coli* sind das die Enzyme McrA, McrBC und Mrr. Im Gegensatz zu den R/M-Systemen, deren Nukleaseaktivität durch Methylierung von Basen innerhalb der Erkennungssequenz gehemmt wird, spalten McrA, McrBC und Mrr nur methylierte DNA. Im Falle von McrBC dienen zwei RmC-Folgen in variablem Abstand (40 bis mehrere hundert Nukleotide) als Erkennungssequenzen. R steht dabei für Purin und mC für 4- oder 5-Methylcytosin.

15.8 Expression genetischer Information: Transkription und Translation

Die Expression der genetischen Information erfolgt durch die Prozesse **Transkription** und **Translation**. Beide Vorgänge unterliegen Kontrollmechanismen, die die Genexpression regulieren. Diese Aspekte werden

in Kapitel 16 behandelt. Im vorliegenden Abschnitt werden wir uns mit den grundlegenden Mechanismen der prokaryontischen Genexpression beschäftigen.

15.8.1 Transkription

Der Fluss der genetischen Information ist im Normalfall unidirektional: von der DNA über RNA zum Protein. Ausnahmen von dieser Regel kommen u. a. bei RNA-Viren vor, die RNA als genetisches Material enthalten und replizieren oder revers in DNA transkribieren (Kap. 4.7). Weitere Ausnahmen finden sich bei – auch unter Bakterien verbreiteten – Retroelementen, bei denen durch reverse Transkription RNA in cDNA (c für engl. copy oder complementary) umgeschrieben wird. Im Regelfall ist jedoch doppelsträngige DNA der Ausgangspunkt für die Genexpression. Durch **Transkription** wird eine einzelsträngige RNA-Kopie hergestellt. Die RNA kann entweder selbst das Endprodukt sein (als rRNA, tRNA sowie als kleine, stabile RNA-Moleküle mit unterschiedlichen Funktionen) oder als Vorlage bei der Proteinbiosynthese (mRNA) dienen. Auf die spezielle Funktion der so genannten Transfer-Messenger-RNA (tmRNA) bei der Kontrolle der Translation wird weiter unten kurz eingegangen. Im Gegensatz zu Eukaryonten werden in Prokaryonten häufig mehrere benachbarte Gene in eine mRNA transkribiert, man spricht dann von einem **Operon**, das in eine **polycistronische mRNA** umgeschrieben wird.

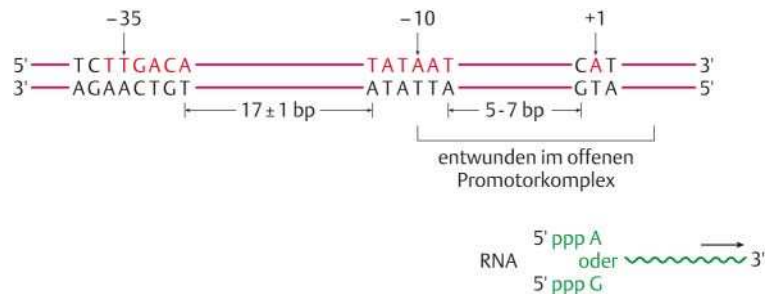
RNA-Polymerasen

Zentrale Enzyme der Transkription sind die RNA-Polymerasen, die spezifische Startpunkte (**Promotoren**) auf der DNA erkennen und die Polymerisation der Ribonukleotidkette katalysieren. Beim Vergleich des Transkriptionsapparats von Archaeobakterien und Eubakterien fallen Gemeinsamkeiten, aber auch wesentliche Unterschiede auf. Beide Gruppen besitzen, im Gegensatz zu Eukaryonten, die drei unterschiedliche RNA-Polymerasen in ihrem Zellkern enthalten, nur *eine* RNA-Polymerase. Die **eubakterielle RNA-Polymerase** besteht aus den Untereinheiten $\alpha_2\beta\beta'\omega$. Zur Erkennung spezifischer Promotoren, also zur Initiation der Transkription, muss diese so genannte core-RNA-Polymerase eine weitere Untereinheit, den **σ -Faktor** enthalten. Diese vollständige Form des Enzyms wird als Holo-RNA-Polymerase bezeichnet. In einer Bakterienzelle gibt es mehrere verschiedene σ -Faktoren, die jeweils spezifisch bestimmte Promotorsequenzen erkennen (Kap. 16.4.1). **RNA-Polymerasen in Archaeobakterien** sind anders strukturiert. Die Transkriptionsmaschinerie ähnelt dem eukaryontischen RNA-Polymerase-II-Apparat, der für die Transkription von proteincodierenden Genen zuständig ist. Archaeobakterielle RNA-Polymerasen enthalten mindestens 10 Untereinheiten und sind wie die eukaryontischen Enzyme nicht in der Lage, Promotorsequenzen effektiv zu erkennen. Dazu werden mindestens zwei weitere Komponenten, das TATA-Box-Bindeprotein (TBP) und der Transkriptionsfaktor B (TFB) benötigt, die an die TATA-Box und ein stromaufwärts benachbartes TFB-Recognition Element in archaeobakteriellen Promotoren binden.

Initiation und Elongation

Die Struktur eines typischen bakteriellen Promotors ist in Abbildung 15.11 gezeigt. Charakteristisch sind konservierte Nukleotidfolgen um die Positionen –35 und –10 (Pribnow-Box) und eine meist AT-reiche Region um

Abb. 15.11 Struktur eines Musterpromotors in *E. coli*. Die -35- und -10-Regionen werden von der σ^{70} -Untereinheit der RNA-Polymerase erkannt. Zur Initiation der Transkription entwindet die RNA-Polymerase etwa 10 bp im Bereich des Startpunkts (+1). Die RNA-Kette beginnt in den meisten Fällen mit 5'-pppA oder 5'-pppG. Der untere der beiden DNA-Stränge ist der transkribierte (codogene) Strang.



-43 relativ zu dem als +1 bezeichneten Startpunkt der Transkription. Die -35 und -10-Regionen werden von σ^{70} -beladener Holo-RNA-Polymerase erkannt. σ^{70} (Gen: *rpoD*) ist der Standard-Sigmafaktor. Die beiden α -Untereinheiten der RNA-Polymerase kommen in Kontakt mit der -43-Region. Die spezifische Erkennung von Promotoren stellt den ersten Schritt während der **Initiation der Transkription** dar. Der zweite Schritt beinhaltet eine Isomerisierung zum so genannten offenen Komplex. Dabei werden etwa 10 bp um den Startpunkt herum aufgeschmolzen und die erste Phosphodiesterbindung zwischen zwei Ribonukleotiden geknüpft. Der dritte, als Promoter Clearance bezeichnete Schritt stellt den Übergang zur **Elongation** (Abb. 15.12) dar. In dieser Phase dissoziiert der σ -Faktor ab und das core-Enzym setzt die Polymerisation mit einer Geschwindigkeit von etwa 50–100 Kettenverlängerungen pro Sekunde fort. Allerdings können Haarnadelschleifen in der entstehenden RNA-Kette oder an die DNA gebundene Proteine zu Verzögerungen oder sogar zum zwischenzeitlichen Anhalten der RNA-Polymerase führen.

Termination

Zur Termination der Transkription existieren in den meisten Bakterien zwei unterschiedliche Mechanismen. Typ-I-Terminatoren sind GC-reiche Abschnitte auf der mRNA, die als umgekehrte Wiederholungen nach Stoppcodons (s. u.) angeordnet sind und Haarnadelschleifen mit einem Stamm von etwa 4–10 GC-Paaren und einer Schleife von 3–8 Nukleotiden ausbilden können, gefolgt von mehreren Uracilnukleotiden. Der doppelsträngige RNA-Abschnitt führt zum Zerfall des stabilen Dreierkomplexes aus Enzym, DNA und RNA und somit zum Abstoppen der Transkription. Diese Terminatoren benötigen keine weiteren Faktoren. Typ-II-Terminatoren sind nicht an Signaturen der DNA-Sequenz oder an RNA-Strukturen zu erkennen. Zur Termination ist das hexamere Protein Rho erforderlich. Rho ist ein RNA-bindendes Protein, das die Transkription durch Kontakt mit pausierenden RNA-Polymerasen terminiert.

Wie bereits erwähnt, haben RNA-Moleküle sehr unterschiedliche Funktionen. Ribosomale RNA (rRNA) bildet den Hauptteil der zellulären RNA (etwa 80 %) und erfüllt als Bestandteil der Ribosomen (s. Abb. 15.16) wesentliche katalytische Aufgaben bei der Proteinbiosynthese. Transfer-RNA-Moleküle (tRNAs) machen etwa 10–15 % der Gesamt-RNA aus. Nur etwa 5–10 % der RNA sind Transkripte, die als Messenger-RNA (mRNA) an den Ribosomen als Matrize für die Translation dienen. Ein Kennzeichen von bakteriellen mRNA-Molekülen ist die geringe Halbwertszeit, die typischerweise im Minutenbereich oder darunter liegt. Es gibt allerdings auch bakterielle mRNA mit Halbwertszeiten von mehr als einer Stunde. Die Mechanismen der Stabilisierung dieser Transkripte sind nicht völlig

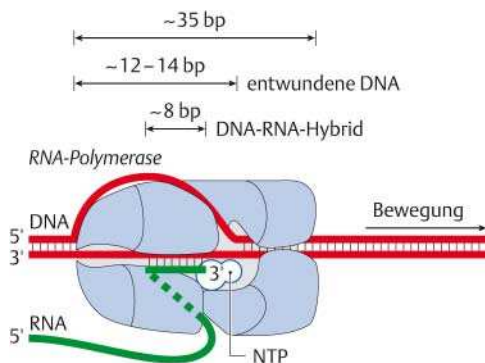


Abb. 15.12 Elongation der RNA-Kette. Gezeigt ist der stabile Dreierkomplex aus DNA, RNA und RNA-Polymerase. Das Enzym gleitet an der DNA entlang und entwindet den Doppelstrang. Die RNA-Kette wird am 3'-Ende durch Anheften von Nukleosidtriphosphaten (NTP) verlängert, wobei Pyrophosphat abgespalten wird.

geklärt. Der Abbau erfolgt durch endonukleolytischen und anschließend exonukleolytischen Angriff durch verschiedene RNasen. Die geringen Halbwertszeiten erlauben flexible Reaktionen auf sich ändernde Umweltbedingungen durch Regulation der Transkription (Kap. 16.4.1). Zur Stabilität von archaebakterieller mRNA gibt es noch zu wenige Daten, um verallgemeinernde Aussagen treffen zu können.

15.8.2 Translation

Im Gegensatz zu Eukaryonten, bei denen Transkription und Translation räumlich und zeitlich voneinander getrennt sind, sind die Prozesse bei Prokaryonten miteinander gekoppelt, d.h. das 5'-Ende der mRNA dient dem Ribosom bereits als Matrize für die **Translation** noch bevor die Transkription beendet ist. An der noch wachsenden mRNA können gleichzeitig mehrere Ribosomen (Polysomen) angelagert sein, an denen die Translation stattfindet.

Aminoacyl-tRNA-Synthese

Eine wesentliche Rolle bei der Übersetzung des in der mRNA gespeicherten Codes in die Aminosäuresequenz des Proteins spielen die **tRNAs**. tRNAs bestehen aus 70–93 Nukleotiden und besitzen gemeinsame Strukturmerkmale (Abb. **2.16** S. 42). Die Sekundärstruktur von tRNA hat die Form eines Kleeblatts, räumlich betrachtet ist dieses Molekül L-förmig. Das aus drei Nukleotiden bestehende Anticodon bindet am Ribosom an das komplementäre Codon der mRNA. tRNAs sind weiterhin durch das zahlreiche Vorkommen von modifizierten Nukleotiden und die CCA-Folge am 3'-Ende charakterisiert. An diesem Ende, genauer gesagt an der Ribose des letzten Adeninnukleotids, werden die tRNAs durch **Aminoacyl-tRNA-Synthetasen** unter ATP-Verbrauch mit Aminosäuren verknüpft. Diese Enzyme sind wesentlich für die Genauigkeit der Translation verantwortlich; sie müssen eine Aminosäure und die passende tRNA erkennen und verknüpfen.

Aminoacyl-tRNA-Synthetasen werden in zwei Klassen eingeteilt, die sich strukturell voneinander unterscheiden. **Klasse-I-Enzyme** knüpfen eine Esterbindung zwischen der Carboxylgruppe der Aminosäure und der 2'-OH-Position der Ribose, während die meisten **Klasse-II-Enzyme** diese Bindung an der 3'-OH-Gruppe herstellen. Nicht alle Prokaryonten enthalten die gleiche Anzahl von tRNA-Spezies. Die Zahlen liegen zwischen etwa 30 und 100 tRNAs pro Organismus.

Da der genetische Code aus Folgen von je drei Nukleotiden (Triplets) besteht und vier verschiedene Nukleotide vorkommen, ergeben sich 4^3 , also 64 Codons. Abzüglich der drei Stoppcodons UAA, UAG und UGA, die das Ende der Translation signalisieren, bleiben 61 Sinncodons übrig; man könnte also erwarten, dass 61 tRNAs mit jeweils komplementärem Anticodon benötigt werden. Können 61 Codons translatiert werden, wenn weniger als 61 tRNAs vorhanden sind? Die Antwort ist „ja“! Eine Erklärung liefern die so genannten Wobble-Paarungen zwischen Codon und Anticodon. Damit ist gemeint, dass die Paarung der dritten Base des Codons mit der ersten Base des Anticodons nicht unbedingt den Watson-Crick-Regeln entsprechen muss. Neben Standardbasenpaarungen sind hier auch GU-, UG-, AI-, CI- und UI-Paare möglich. I steht für das Purinnukleosid Inosin, das in manchen Anticodons vorkommt. Eine tRNA mit Inosin an der Wobble-Position des Anticodons kann demzufolge bis zu drei Codons ablesen.

Abb. 15.13 Spezifität der Translation. Aminoacyl-tRNA-Synthetasen beladen spezifisch tRNAs mit der zugehörigen Aminosäure. Im gezeigten Beispiel wird durch Tryptophanyl-tRNA-Synthetase die tryptophanspezifische tRNA aminoacyliert. Mit Hilfe des Elongationsfaktors EF-Tu wird die beladene tRNA unter GTP-Verbrauch zum Ribosom transferiert und bindet dort mit ihrem Anticodon (5'-CCA-3') an das Trp-Codon (5'-UGG-3') auf der mRNA.

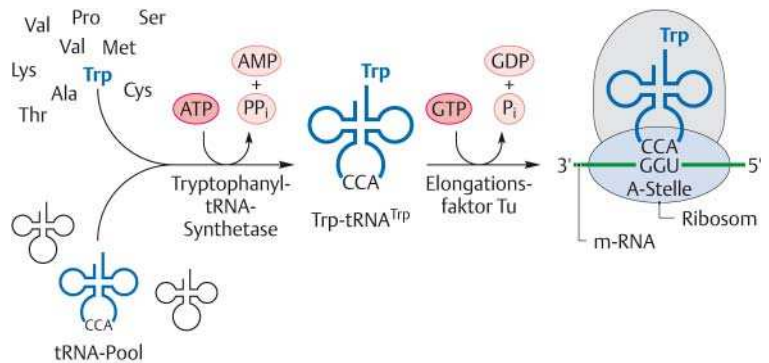


Abbildung 15.13 gibt einen Überblick über die Translation am Beispiel des Einbaus der Aminosäure Tryptophan. Wie bereits erläutert, besteht der genetische Code aus 64 Basentriplets, die für den Einbau der 20 proteinogenen Aminosäuren codieren.

Der genetische Code

Abbildung 15.14 zeigt den Zusammenhang zwischen Codon und Aminosäure. Es wird deutlich, dass bis zu sechs Codons für dieselbe Aminosäure spezifizieren können. Mittlerweile sind in eukaryontischen Organellen und in Prokaryonten allerdings seltene Abweichungen von diesem universellen Code bekannt. In Mykoplasmen fungiert das Triplet UGA beispielsweise nicht als Stoppcodon, sondern spezifiziert für Tryptophan. Abweichungen von der üblichen Übersetzung des genetischen Codes können auch durch Mutationen entstehen, die die Sequenz des Anticodons einer tRNA verändern. Eine solche tRNA wird zwar mit der korrekten Aminosäure beladen, bindet aber am Ribosom an ein anderes Codon als die Wildtyp-tRNA. Veränderte tRNAs, die mit Stoppcodons paaren und dadurch in der Lage sind, Nonsense-Mutationen zu komplementieren, werden als Suppressor-tRNAs bezeichnet. Eine Besonderheit in den meisten Prokaryonten ist der Einbau der Aminosäuren Asparagin und Glutamin. Die tRNA^{Asn} und tRNA^{Gln} werden zunächst mit Asparaginsäure bzw. Glutaminsäure beladen, die dann zu Asparagin- bzw. Glutaminresten amidiert werden. Zwei weitere Sonderfälle, den cotranslationalen Einbau der seltenen Aminosäuren Selenocystein und Pyrrolysin, werden wir weiter unten besprechen.

	U	C	A	G	
U	UUU } Phe UUC UUA } Leu UUG	UCU } Ser UCC UCA } UCG	UAU } Phe UAC UAA } Stop UAG	UGU } Cys UGC UGA } Stop UGG	U C A G
C	CUU } Leu CUC CUA } CUG	CCU } Pro CCC CCA } CCG	CAU } His CAC CAA } Gln CAG	CGU } Arg CGC CGA } CGG	U C A G
A	AUU } Phe AUC AUA } Met AUG	ACU } Thr ACC ACA } ACG	AAU } Asn AAC AAA } Lys AAG	AGU } Ser AGC AGA } Arg AGG	U C A G
G	GUU } Val GUC GUA } GUG	GCU } Ala GCC GCA } GCG	GAU } Asp GAC GAA } Glu GAG	GGU } Gly GGC GGA } GGG	U C A G

Abb. 15.14 Der genetische Code.

Initiation

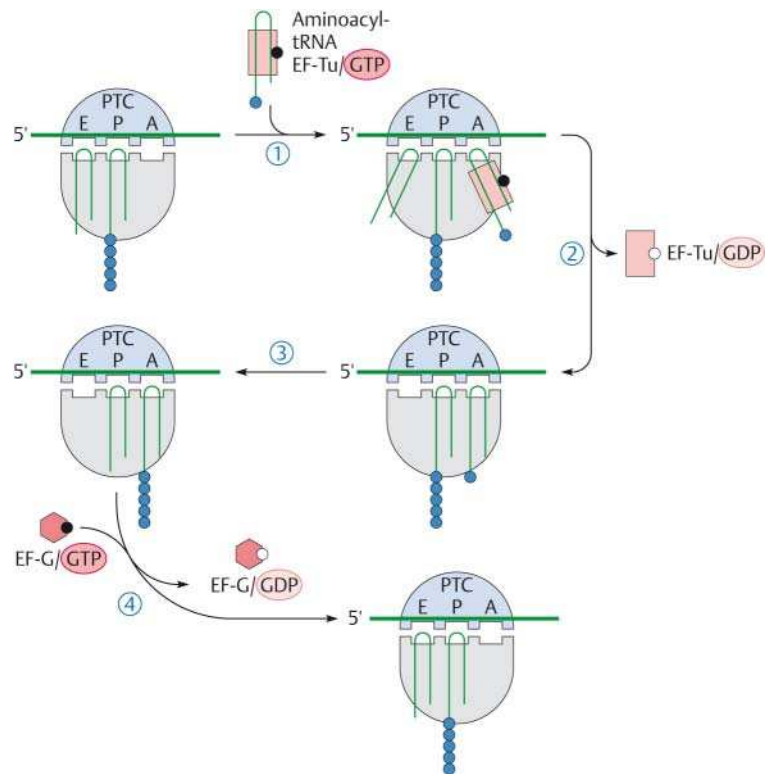
Ähnlich wie bei der Transkription sind Initiation, Elongation und Termination auch Teilprozesse bei der Translation. Für die **Initiation** werden die drei Initiationsfaktoren IF1, IF2 und IF3, eine mRNA, die 30S-Untereinheit des Ribosoms und eine mit N-Formylmethionin beladene Initiator-tRNA benötigt, die als fMet-tRNA_f^{Met} oder fMet-tRNA_i bezeichnet wird. tRNA_i ist eine von zwei tRNAs, die von der Methionyl-tRNA-Synthetase mit einem Methionylrest beladen werden. Im Gegensatz zur Met-tRNA^{Met} wird die Met-tRNA_i in Bakterien anschließend durch Methionyl-tRNA-Formyltransferase zu fMet-tRNA_i formyliert. Das weitere Schicksal der fMet-tRNA_i unterscheidet sich in vielerlei Hinsicht von allen anderen beladenen tRNAs, die während der Elongation am Ribosom angeliefert werden. Die beladene Initiator-tRNA wird von IF2 gebunden und unter GTP-Verbrauch zum Peptidyl-Ort (P-Ort) des Ribosoms geleitet. Dort bindet sie mit ihrem CAU-Anticodon an ein Startcodon auf der mRNA. Als Startcodon wird im Regelfall AUG erkannt, in selteneren Fällen GUG und noch seltener UUG. Die Erkennung des Startcodons wird in Bakterien durch Basenpaarungen zwischen dem 5'-Nichtcodierungsbereich der mRNA und dem konservierten 3'-Ende der 16S-rRNA stark beeinflusst. Dieser Abschnitt der mRNA, der in *E. coli* im Optimalfall die Sequenz 5'-AAGGAGG-3' besitzt und auf den im Abstand von 4–14 Nukleotiden das Startcodon folgt, wird als **Ribosomenbindungsstelle** oder nach den Erstbeschreibern als **Shine-Dalgarno-Sequenz** bezeichnet. Shine-Dalgarno-Sequenzen kommen auch in Archaeobakterien vor, jedoch gibt es dort auch viele mRNAs ohne 5'-Nichtcodierungsbereich. Die Rollen von IF1 und IF3 bei der Bildung des Initiationskomplexes bestehen darin, die vorzeitige Anlagerung der 50S-Untereinheit des Ribosoms zu verhindern (IF1) und die Anlagerung von Nichtinitiator-tRNAs zu vermeiden (IF3). Nach Ausbildung eines stabilen Komplexes zwischen dem Anticodon der fMet-tRNA_i und dem Startcodon dissoziieren die Initiationsfaktoren ab und die 50S-ribosomale Untereinheit lagert sich an.

Elongation

Die einzelnen Schritte während der **Elongation** sind in Abbildung 15.15 zusammengefasst. Die zweite und die folgenden beladenen tRNAs werden als ternärer Komplex aus der aminoacylierten tRNA, dem Elongationsfaktor EF-Tu und GTP an das Ribosom geliefert (①); das Anticodon der tRNA paart mit dem Codon der mRNA, das sich im Aminoacyl-Ort (A-Ort) des Ribosoms befindet. Nach GTP-Hydrolyse verlässt EF-TU/GDP das Ribosom (②) und wird anschließend durch ein weiteres Protein (EF-Ts) wieder in die aktive Form (EF-Tu/GTP) überführt (nicht dargestellt). Die Peptidyltransferaseaktivität des Ribosoms überträgt nun die Aminosäure(kette) aus dem P-Ort auf die neu hinzugekommene beladene tRNA im A-Ort (③). Für den folgenden Translokationsschritt, die Bewegung des Ribosoms an der mRNA um die Länge eines Triplets wird der Elongationsfaktor EF-G und GTP benötigt (④). Die entladene tRNA wird aus dem P-Ort verdrängt und verlässt über einen Ausgangskanal das Ribosom. Der A-Ort ist jetzt in der Lage, die nächste beladene tRNA aufzunehmen.

Die Wirkung zahlreicher **Antibiotika** beruht auf der Hemmung der Translation an 70S-Ribosomen. **Tetrazykline** blockieren den A-Ort des Ribosoms durch Bindung an die 30S-Untereinheit und verhindern die Anlagerung der beladenen tRNAs. **Aminoglykoside** (z. B. **Streptomycin**) binden an die 16S-rRNA in der 30S-Untereinheit und beeinflussen die

Abb. 15.15 Elongationszyklus. Ein Komplex aus aminoacylierter tRNA, Elongationsfaktor Tu (EF-Tu) und GTP bindet an das Ribosom (① und ②). Die mit der Aminosäure (blau) beladene tRNA (grün) gelangt in den Aminoacyl-Ort (A) der kleinen Untereinheit (hellblau). Das Peptidyltransferasezentrum der großen Untereinheit (grau) (PTC) überträgt die an die tRNA gebundene Peptidkette aus dem Peptidyl-Ort (P) auf die Aminogruppe der neuen Aminosäure (③). Die Translokation der um eine Aminosäure verlängerten Peptidkette wird durch den Elongationsfaktor G (EF-G) unter GTP-Hydrolyse gesteuert (④). Die entladene tRNA verlässt über den Ausgangskanal das Ribosom.



Genauigkeit der Codon/Anticodon-Paarung. **Chloramphenicol** und **Macrolide** (z. B. **Erythromycin**) dagegen hemmen die Peptidyltransferaseaktivität des Ribosoms durch Bindung an die 23S-rRNA in der 50S-Untereinheit im Bereich des Ausgangsorts.

Termination

Termination der Translation (Abb. 15.16) tritt im Regelfall ein, wenn sich eines der drei Stoppcodons UAA, UAG oder UGA im A-Ort befindet. Mithilfe der Terminationsfaktoren RF1 und RF2, die UAA und UAG bzw. UAA und UGA erkennen, sowie RF3 und des Ribosomen-Recycling-Faktors werden die Untereinheiten des Ribosoms voneinander getrennt und die Peptidkette wird freigesetzt. Auf polycistronischen mRNAs können das

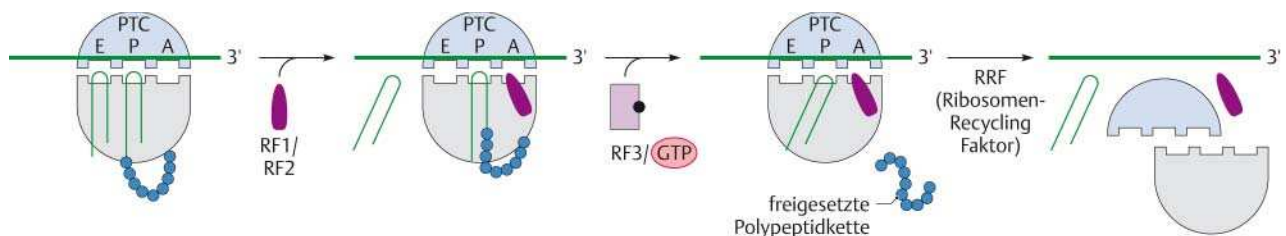


Abb. 15.16 Termination der Translation. Ein Stoppcodon auf der mRNA führt zur Bindung eines der beiden Terminationsfaktoren RF1 oder RF2 im Aminoacyl-Ort (A) des Ribosoms. Mithilfe von RF3 wird unter GTP-Verbrauch das fertige Protein freigesetzt. Ein Ribosomen-Recycling-Faktor sorgt für die Trennung der ribosomalen Untereinheiten und die Freisetzung der leeren tRNA und der mRNA.

Plus 15.14 Ein Mechanismus zur Entfernung beschädigter mRNA von Ribosomen

Eine besondere Form der Translationskontrolle in Bakterien bewirkt die **Transfer-Messenger-RNA (tmRNA)**, die auch als SsrA-RNA bezeichnet wird. Diese RNA ist einzigartig, da sie die Eigenschaften einer tRNA und einer mRNA in einem Molekül vereinigt. Die zweidimensionale Struktur der tmRNA enthält Bereiche, die dem Akzeptorstamm und dem TΨC-Stamm (Ψ steht für Pseudouridin, ein modifiziertes Uridinnukleosid) der tRNA^{Ala} ähneln, und tatsächlich wird tmRNA mit Alanin beladen. Eine der Aufgaben dieses Systems besteht darin, pausierende Ribosomen und mRNA zu trennen, wenn die Translation durch Schäden an der mRNA nicht fort-

gesetzt werden kann. In diesem Fall gelangt Ala-tmRNA unter Beteiligung von EF-Tu und weiteren Hilfsproteinen in den A-Ort des Ribosoms. Der Alaninrest wird mit der Peptidkette verknüpft und gleichzeitig wird die ursprüngliche mRNA verdrängt. Die Funktion der Matrice übernimmt nun die tmRNA und es werden einige weitere (organismusspezifisch etwa 10–25) Aminosäurereste an die wachsende Peptidkette angehängt, bevor die Translation an einem Stoppcodon auf der tmRNA endet. Interessanterweise enthalten diese C-terminalen Anhängsel Erkennungsstellen für zelluläre Proteasen.

Stoppcodon eines Gens und das Startcodon des nächsten Gens direkt benachbart sein oder sogar überlappen. In diesem Fall kann die Translation reinitiiert, ohne dass der Komplex aus 30S- und 50S-Untereinheit sowie der mRNA zerfällt. Die Knüpfung einer Peptidbindung kostet die Energie von vier Phosphorsäureanhydridbindungen: je ein GTP wird von den Elongationsfaktoren EF-Tu und EF-G verbraucht. Zusätzlich werden zwei energiereiche Bindungen bei der Beladung der tRNA verbraucht.

Die Translation wird durch verschiedene Mechanismen reguliert, die in Kapitel 16 besprochen werden. Ein allgemeiner Kontrollmechanismus, der die Blockade von Ribosomen durch beschädigte mRNA verhindert, wird in Plus 15.14 erläutert.

Co- und posttranslationale Modifikationen

Bereits während der Translation werden Proteine am Aminoterminal prozessiert. Das Enzym Peptiddeformylase spaltet die Formylgruppe von dem N-terminalen Methionylrest ab und häufig wird – wie auch in Archaeobakterien und Eukaryonten – das Methionin durch eine Methioninaminopeptidase entfernt. Obwohl seltener als in Eukaryonten, finden **posttranslationale Modifikationen** wie Glykosylierungen auch in Prokaryonten statt. Typische Beispiele sind Glykoproteine in der S-Schicht (engl. surface-layer, S-layer) von Archaeobakterien und Bakterien.

Man kennt zwei modifizierte Aminosäuren, die cotranslational in einige wenige Proteine eingebaut werden und in diesen wichtige katalytische Funktionen übernehmen, **Selenocystein** und **Pyrrolysin**, die auch als 21. und 22. Aminosäuren bezeichnet werden. In beiden Fällen spezialisiert ein Stoppcodon auf der mRNA für den Einbau (UGA für Selenocystein, UAG für Pyrrolysin), das jeweils von einer spezifischen tRNA abgelesen wird. Der Mechanismus, durch den zwischen Stopp- und Selenocysteinocodon unterschieden wird, wird in Plus 15.15 erläutert. Die Mechanismen des Einbaus von Pyrrolysin, das bisher nur in einer Gruppe von Methyltransferasen in methanogenen Archaeobakterien gefunden wurde, bedürfen noch der Klärung.

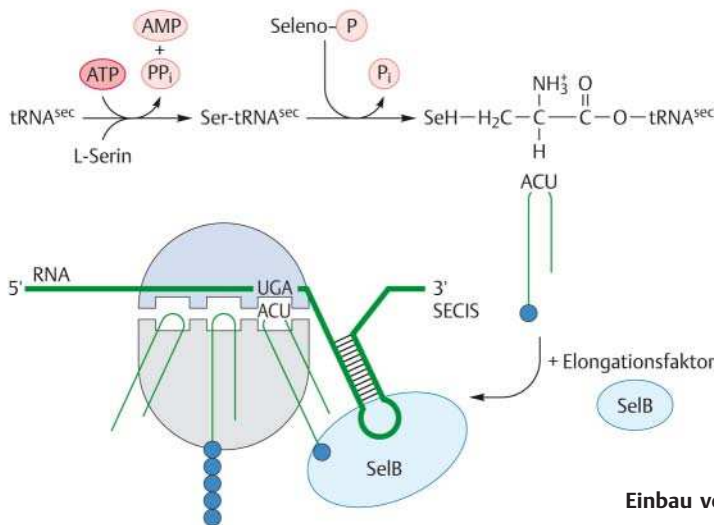
Archaeobakterielle Translation

Die archaeobakterielle Translation weist einige Besonderheiten auf, die an die eukaryontische Proteinbiosynthese erinnern: Die Methionyl-tRNA_i wird nicht formyliert und sowohl Initiationsfaktoren, Elongationsfaktoren wie auch der Releasing-Faktor ähneln den eukaryontischen Pendanten.

Plus 15.15 Selenocystein, die 21. Aminosäure

Der Einbau von Selenocystein während der Translation ist ein Sonderfall. Selenocystein wird auch als die 21. Aminosäure bezeichnet und ist in allen drei Reichen von Organismen vorhanden. In dieser Aminosäure ist das Schwefelatom des Cysteins durch ein Selenatom ersetzt. Im Gegensatz zur Thiolgruppe des Cysteins ist die Selenolgruppe des Selenocysteins bereits bei neutralem pH-Wert deprotoniert, wodurch eine höhere Reaktivität der entsprechenden Enzyme erzielt wird. Der Einbau von Selenocystein erfolgt mit Hilfe einer speziellen tRNA ($tRNA^{Sec}$), die zunächst mit Serin beladen wird. Der Serinrest wird dann zum Selenocysteinrest umgewandelt. $Sec-tRNA^{Sec}$ wird mithilfe des speziellen Elongationsfaktors SelB zum Ribosom geleitet. Das Anticodon der $tRNA^{Sec}$

(UCA) paart mit UGA. Zur Unterscheidung zwischen UGA als Stopp- bzw. Selenocysteincodon bedarf es weiterer Information, die sich in der Struktur der mRNA verbirgt. In Bakterien folgt unmittelbar hinter dem Selenocysteincodon eine Sequenz der mRNA, die eine Haarnadelschleife ausbildet und als **Selenocysteininsertionssequenz** (SECIS) bezeichnet wird. Diese wird von SelB erkannt. Derartige Sequenzen dirigieren auch in Archaeobakterien und Eukaryonten den ribosomalen Einbau von Selenocystein. Im Gegensatz zu Eubakterien folgen sie dort allerdings nicht unmittelbar auf das UGA-Codon, sondern sind im Nichttranslationsbereich, im Regelfall 3' hinter dem echten Stoppcodon auf der mRNA angeordnet.



Einbau von Selenocystein in die wachsende RNA-Kette.

Andererseits können archaebakterielle Gene in polycistronische mRNAs transkribiert werden und viele mRNAs in einigen Archaeobakterien enthalten Ribosomenbindungsstellen vor dem Startcodon, beides eubakterientypische Eigenschaften.

15.9 DNA-Klonierung

Seit Mitte der 1970er-Jahre stehen molekularbiologische Arbeitsmethoden zur Verfügung, die es erlauben, spezifische DNA-Fragmente zu klonieren. Darunter versteht man die Verknüpfung gewonnener Fragmente mit einem Vektor und die Vermehrung der Konstrukte in einem geeigneten Wirt. Klonieren ist eine der wesentlichen Methoden der **Gentechnik**. Die Grundlagen dieses Verfahrens sind in Abbildung 15.17 und Box 15.3 dargestellt. Auf die Bedeutung von Typ-II-Restriktionsendonukleasen für die Entwicklung der Gentechnik wurde bereits in Kapitel 15.7 hingewiesen. Mithilfe dieser Enzyme kann genomische DNA in Fragmente gespalten werden, die alle die gleichen Enden besitzen. Im folgenden Abschnitt werden Verfahren erläutert, mit deren Hilfe

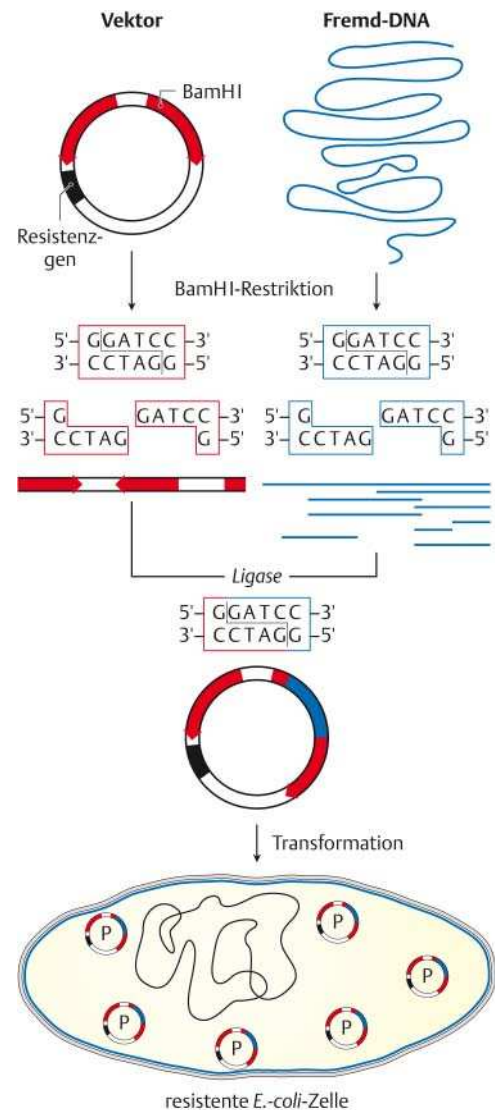
Abb. 15.17 Prinzip der DNA-Klonierung. Vektor und zu klonierende Fremd-DNA werden mit einer Restriktionsendonuklease (z. B. BamHI) behandelt und anschließend gemischt. Passende Enden lagern sich zusammen und werden durch DNA-Ligase kovalent verknüpft. Nach Transformation werden resistente, also plasmidtragende *E.-coli*-Kolonien selektiert. P, Plasmid.

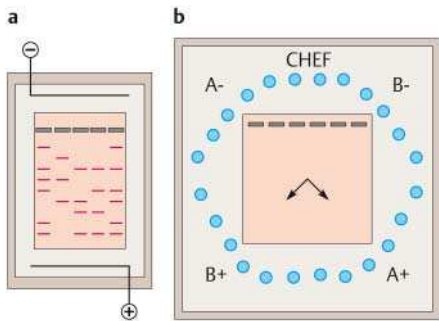
Gemische von DNA-Fragmenten getrennt werden können. Außerdem werden einige gebräuchliche Vektoren (genetische Elemente, die fremde DNA aufnehmen und die Replikation gewährleisten) zur Klonierung vorgestellt und schließlich wird darauf eingegangen, wie aus einer Vielzahl von Klonen in einer Genombibliothek diejenigen Klone selektiert werden können, die ein spezifisches DNA-Fragment tragen.

15.9.1 Plasmide als Vektoren

Je nach Zielsetzung des Klonierungsexperiments und der Größe der zu klonierenden DNA kommen unterschiedliche Vektoren zum Einsatz. Plasmide werden häufig als Vektoren verwendet, besonders dann, wenn kleinere DNA-Fragmente (etwa 2 kb) kloniert werden sollen. Generell können in Plasmide auch erheblich größere Fremd-DNA-Abschnitte eingebaut werden. Es gibt allerdings effizientere Methoden, um größere DNA-Moleküle zu klonieren. Wie wir weiter unten sehen werden, eignen sich für die Konstruktion von Genombibliotheken u.a. Vektoren, die von Phagen abgeleitet sind.

Plasmidvektoren sind Abkömmlinge von natürlichen Resistenzplasmiden. Natürliche Plasmide sind für die Gentechnik aus mehreren Gründen ungeeignet: Sie kommen meist nur in geringer Kopienzahl in der Zelle vor, sind wegen ihrer Größe von z. T. mehr als 100 kb zerbrechlich und sind häufig konjugativ, d. h. sie können durch Zellkontakt von Zelle zu Zelle übertragen werden. Letzteres ist auch aus Sicherheitsgründen in vielen Fällen unerwünscht. In Abbildung 15.18 ist ein Beispiel für einen etwa 3 kb großen Plasmidvektor gezeigt, der in etwa 30–40 Kopien in einer *E.-coli*-Zelle vorkommt und ein einfaches Verfahren zum Nachweis von eingebauter DNA erlaubt. Dieses Plasmid enthält den Replikationsursprung (*oriV*) des natürlichen Plasmids ColE1, ein Resistenzgen (*bla*), das Resistenz gegen Ampicillin vermittelt, und eine multiple Klonierungsstelle (engl. multiple cloning site, MCS). Dabei handelt es sich um etwa 100 bp, die in einem Abschnitt des *lacZ*-Gens (*lacZa*) angeordnet sind und mehrere Erkennungsstellen für verschiedene Typ-II-Restriktionsendonukleasen enthalten. Der Vektor wird in dem Bereich der MCS geöffnet und mit der Fremd-DNA verknüpft. Anschließend wird der Ansatz in *E.-coli*-Zellen transformiert. Die Zellen werden auf Nähragar mit Ampicillin und der chromogenen (d. h. noch farblosen) Substanz XGal ausplattiert. Nur diejenigen Zellen überleben und bilden Kolonien, die das Plasmid aufgenommen haben. Um zu prüfen, welche Vektoren auch tatsächlich die Fremd-DNA in der MCS tragen, ist das Genprodukt des *lacZ*-Gens, die β -Galactosidase behilflich. Leere Vektoren haben intaktes *lacZa*, da keine Fremd-DNA eingebaut wurde, die β -Galactosidase ist aktiv, spaltet XGal und die Kolonien färben sich blau. Eingebaute Fremd-DNA dagegen zerstört das *lacZa*-Gen, das Genprodukt ist nicht aktiv und kann XGal nicht spalten. Die Kolonien sind daher farblos. Das Selektionsverfahren wird aus diesem Grund auch als **Blau/Weiß-Selektion** bezeichnet.



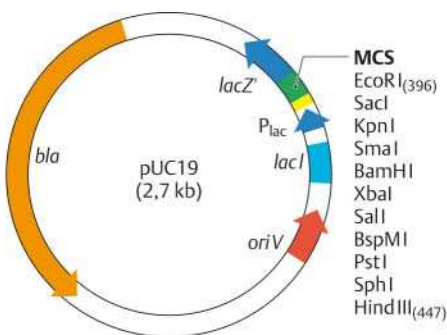
Box 15.3 Auftrennung von DNA-Fragmenten in Agarosegelen

Methoden zur Auftrennung von DNA in Agarosegelen. **a** Standardverfahren **b** Pulsfeldgelelektrophorese. Über die punktförmig angeordneten Elektroden A-, B-, A+ und B+ werden der „Winkel“ der Spannung und die Pulsdauer gesteuert.

Nach der Präparation der genomischen DNA eines Organismus und Spaltung mit einer Restriktionsendonuklease ist es oft sinnvoll, das Fragmentgemisch nach Größe aufzutrennen und Fragmente eines bestimmten Größenbereichs zu isolieren. Dafür existieren mehrere Methoden. Häufig werden die Fragmentgemische durch Agarosegelelektrophorese getrennt. Agarose, ein Bestandteil des aus Rotalgen gewonnenen Agars, ist ein lineares Polysaccharid aus D-Galactose und 3,6-Anhydro-L-Galactose. Agarose wird durch Kochen gelöst und bildet beim Abkühlen eine Gelmatrix, deren Porengröße je nach Konzentration der Agarose variiert. Da es sich bei DNA-Molekülen um Polyanionen handelt, wandern sie im elektrischen Feld zum Pluspol. Die Wanderungsgeschwindigkeit nimmt dabei mit zunehmender Größe ab. In Standardgelen können Fragmente bis zu einer Größe von etwa 20 kb aufgetrennt werden. Für größere Fragmente müssen Pulsfeldgelelektrophoreseverfahren angewendet werden. Nach der Elektrophorese werden Agaroseblöckchen ausgeschnitten und die DNA-Fragmente daraus isoliert.

Abbildung **a** zeigt das Standardverfahren. Agarosegele (0,5–2 %ig) werden in Kunststoffkammern vollständig in Puffer eingetaucht. Gemische zu trennender DNA-Stücke (100 bp – ca. 20 kb) werden in Vertiefungen des Gels aufgetragen und im elektrischen Feld getrennt. Als Polyanion wandert DNA zum Pluspol. DNA-Banden werden durch anschließende Markierung mit Ethidiumbromid und Bestrahlung mit UV-Licht sichtbar.

Abbildung **b** zeigt die Pulsfeldgelelektrophorese. Bedingt durch die Porengröße des Gels werden Fragmente mit Größen oberhalb von 20 kb im Standardverfahren nicht aufgetrennt. Durch Pulsfeldgelelektrophorese können DNA-Stücke mit mehreren Megabasen getrennt werden. Beim CHEF-Verfahren (engl. contour-clamped homogenous electric field) wird ein Elektrodenarray so gesteuert, dass sich die Richtung des elektrischen Feldes (Pfeile) in zeitlichen Abständen ändert.

**MCS-Sequenz**

396	410	420		440	450
EcoRI	KpnI	BamHI	HincII SalI	PstI	HindIII
GAATTCGAGCTCGGTACCGGGGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGGCATCAAGCTTGG					
SacI	XmaI SmaI	XbaI	BspMI	SphI	

15.9.2 Phagen als Vektoren

Populäre Vektoren zur Klonierung größerer Fragmente leiten sich von dem Bakteriophagen Lambda ab. Diese Vektoren eignen sich zur Klonierung von Fragmenten zwischen etwa 9 und 23 kb (Lambda-Vektoren) bzw. bis zu mehr als 40 kb (Cosmide). Ein Beispiel für einen **Lambda-Vektor** ist EMBL4. EMBL4 ist einer von vielen so genannten Replacement-Vektoren. Damit diese Bezeichnung verständlich wird, müssen wir zunächst die stark vereinfachte Genkarte von Lambda (Abb. 15.19) betrachten. Die DNA liegt im Phagenkopf als lineares Molekül vor. Nach der Infektion einer *E.-coli*-Zelle lagern sich die *cos*-Enden (überhängende Einzelstrangbereiche aus 12 Nukleotiden) zusammen und das Molekül wird kovalent geschlossen. Im linken Teil der linearen Lambda-DNA befinden sich Gene, deren Produkte den Phagenkopf und -schwanz bilden. Gene des rechten Teils sind für Replikation und Rekombination und die Regulation dieser Prozesse notwendig und ganz rechts liegen die Gene für ein Holin und

Abb. 15.18 Plasmidvektor pUC19 zur Blau/Weiß-Selektion. *lacZ'*, Gen für das α-Peptid der β-Galactosidase; *P_{lac}*, Promotor des *lacZ*-Gens; *oriV*, Replikationsursprung; *bla*, Gen für β-Lactamase (Resistenz gegen Penicilline); *lacI*, Repressor des *lac*-Operons; MCS, Multiple Cloning Site. Die MCS-Sequenz mit den verschiedenen Restriktionsschnittstellen ist unten genauer dargestellt. Die Ziffern geben die Nukleotidpositionen innerhalb des Vektors an.

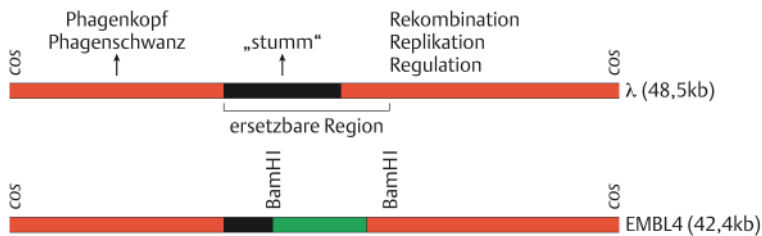
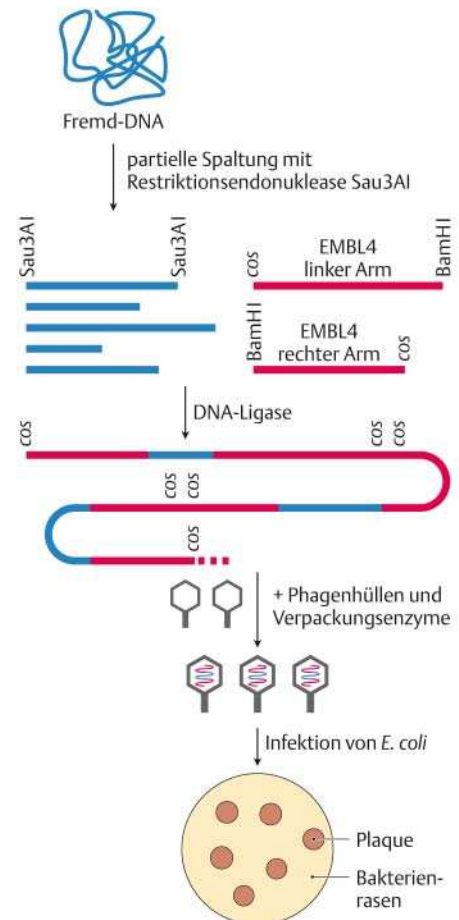


Abb. 15.19 Lambda-DNA als Vektor.

ein Endolysin, die für die Zelllysis verantwortlich sind. Etwa ein Drittel der Lambda-DNA ist für die lytische Vermehrung unter Laborbedingungen entbehrlich, eine Tatsache, die für die Konstruktion von Vektoren für gentechnische Zwecke ausgenutzt wird. In Replacement-Vektoren wurden geeignete Schnittstellen für Typ-II-Restriktionsendonukleasen eingeführt. Anschließend wurde die ersetzbare Region herausgeschnitten und durch ein Stuffer-Fragment (grün in Abb. 15.19) ersetzt. Diese Vektoren enthalten die notwendige genetische Information zur Produktion neuer Lamb-

Plus 15.16 Klonierungsstrategie am Beispiel von EMBL4

Genomische DNA wird mit der Restriktionsendonuklease Sau3AI partiell gespalten. Dieses Enzym hat die Erkennungssequenz 5'-GATC-3' und spaltet DNA-Stränge vor dem G. Die Erkennungssequenz ist palindromisch, sodass bei der Spaltung DNA-Fragmente mit 5'-überhängenden GATC-Enden entstehen. Gereinigte EMBL4-DNA wird mit dem Enzym BamHI verdaut und anschließend werden die beiden Vektorarme isoliert. BamHI hat eine hexamere Erkennungssequenz (5'-GGATCC-3') und spaltet zwischen den beiden Guaninnukleotiden. Die EMBL4-Arme besitzen demnach zwei einzelsträngige Überhänge: 12 Nukleotide (cos) auf der einen Seite und 4 Nukleotide (GATC) auf der anderen Seite. Vektorarme und Fremd-DNA werden nun gemischt. Die Fragmentenden können sich durch Basenpaarungen der Überhänge zusammenlagern, was die Effizienz der Verknüpfung durch DNA-Ligase erhöht. Man beachte, dass Sau3AI und BamHI identische und daher kompatible Überhänge produzieren, obwohl sich die Erkennungssequenzen unterscheiden. Anschließend werden unreife Lambda-Hüllen und Verpackungsenzyme zugegeben, die mithilfe von Lambda-Mutanten gewonnen wurden. In vitro entstehen nun rekombinante Lambda-Partikel, die sich als infektiöse Phagen verhalten. Wichtig ist auch hier, dass nur solche Abschnitte verpackt werden, die cos-Stellen im Abstand von 38–52 kb besitzen. Nach Infektion von *E.-coli*-Zellen werden die rekombinanten Zellen lysiert und es bilden sich Phagenplaques auf dem Zellrasen. Jeder Plaque enthält mehr als 10^6 Kopien eines Phagen und jeder Plaque enthält ein anderes Stück der genomischen DNA des Spenderorganismus. Man spricht bei einer solchen Phagenpopulation von einer genomischen DNA-Bank, die die gesamte genomische DNA des Spenderorganismus in kleinen Stücken enthalten kann.



Klonierungsstrategie mit dem Lambda-Vektor EMBL4. Erklärung siehe Text.

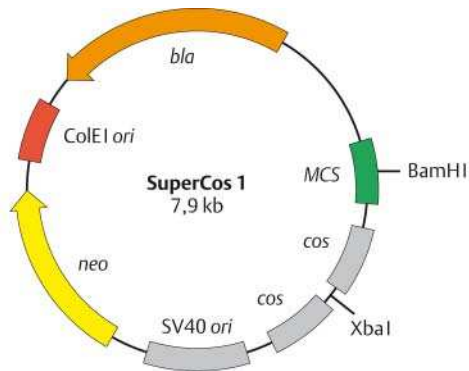


Abb. 15.20 SuperCos1, ein Beispiel für einen Cosmid-Vektor. Nach Einbau von Fremd-DNA werden rekombinante SuperCos1-Vektoren in Lambda-Partikel verpackt und in *E. coli*-Zellen transduziert. Sie replizieren dann mithilfe des ColE1-Replikationsursprungs (*ori*). Zur Selektion dient das *bla*-Gen, das Resistenz gegen Penicilline vermittelt. Durch den viralen Replikationsursprung (*SV40 ori*) kann SuperCos1 auch in Säugerzellen replizieren. Zur Selektion dient dann das Neomycinresistenzgen (*neo*). MCS, Multiple Cloning Site.

da-Partikel. Der Stuffer (in EMBL4 etwa 14 kb) ist erforderlich, weil die Verpackung der DNA in Viruspartikel zwei *cos*-Stellen im Abstand von etwa 38–52 kb erfordert. Die Effizienz der Verpackung nimmt bei kleinerem oder größerem Abstand stark ab. Plus **15.16** erläutert die Vorgehensweise bei einem Klonierungsexperiment mit einem Replacement-Vektor.

15.9.3 Cosmide

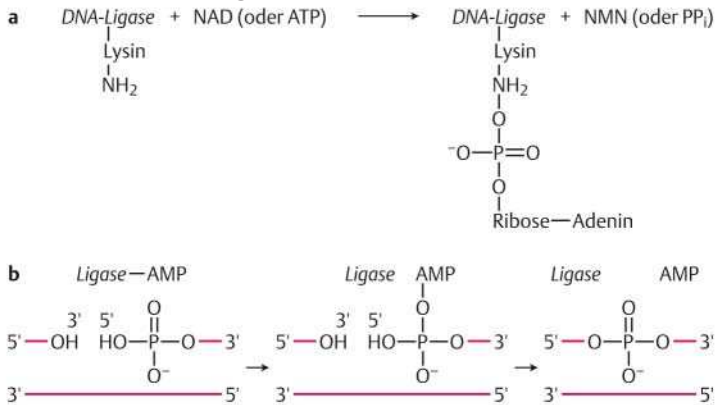
Cosmide sind Plasmide, die eine Lambda *cos*-site enthalten. Diese Vektoren erlauben die Klonierung von Fragmenten > 40 kb. Geschnittene Cosmid-DNA wird mit der ebenfalls geschnittenen Fremd-DNA, wie bei der Verwendung von Lambda-Vektoren, zu langen Concatemeren verknüpft. Da für die Verpackung in Lambda-Partikel nur der Abstand zwischen zwei *cos*-Stellen, nicht aber die Herkunft der DNA wichtig ist, können im Reagenzglas infektiöse Phagenpartikel erzeugt werden. Nach Infektion von *E. coli* entstehen nun aber keine Plaques, da die Phagenpartikel zwar rekombinante Cosmide, aber keine Lambda-Gene enthalten. Rekombinante Klone besitzen eine plasmidcodierte Resistenz und können daher leicht als Kolonien auf Agarplatten selektiert werden, die das entsprechende Antibiotikum enthalten. Ein Beispiel für ein so genanntes Shuttle-Cosmid ist in Abbildung **15.20** gezeigt. Dieses Cosmid kann sowohl in *E. coli* wie auch in Säugerzellen replizieren.

15.9.4 YACs, BACs und PACs: Vektoren für sehr große DNA-Fragmente

Zur Aufklärung der Struktur großer Genome ist es hilfreich, noch erheblich größere DNA-Bereiche zu klonieren als das mit Phagen- oder Cosmidvektoren möglich ist. Für diese Zwecke werden **YAC** (engl. yeast artificial chromosome), **PAC** (P1-derived artificial chromosome) oder **BAC** (bacterial artificial chromosome) Vektoren verwendet. In diesen Vektoren können Fragmente mit ca. 200 kb (PACs), > 300 kb (BACs) und sogar 1000 kb (YACs) kloniert werden. YACs enthalten die wesentlichen Bereiche eines eukaryontischen Chromosoms, nämlich einen Replikationsstartpunkt ARS (engl. autonomous replication sequence), ein Centromer und Telomerebereiche. YACs erlauben die Klonierung sehr großer genomischer Abschnitte, haben aber den Nachteil, dass in Hefezellen häufig Rekombinationsereignisse stattfinden, die zu Inversionen, Duplikationen und Deletionen in der klonierten DNA führen. PACs basieren auf dem temperenten Bakteriophagen P1 und enthalten den Replikationsursprung für die plasmidartige Replikation der Phagen-DNA. BACs sind Abkömmlinge des F-Plasmids von *E. coli* (Kap. 15.6). Zur stabilen Replikation in *E. coli* enthalten BACs den Replikationsursprung *oriS* sowie Gene für Replikationsproteine. In BACs klonierte DNA ist im Vergleich zum YAC-System erheblich stabiler, weshalb sich die künstlichen Bakterienchromosomen großer Beliebtheit erfreuen.

15.9.5 cDNA-Banken und Ligationsverfahren

Neben den genomischen DNA-Banken existieren auch so genannte cDNA-Banken. Ausgangsmaterial für die Klonierung muss nicht notwendigerweise DNA, sondern kann auch RNA sein. Die isolierte RNA wird zunächst unter Beteiligung von Reverser Transkriptase in eine einzelsträngige cDNA umgeschrieben, sodass RNA/cDNA-Hybride entstehen. Es gibt mehrere Methoden, um daraus doppelsträngige cDNA zu gewinnen. cDNA-

Plus 15.17 DNA-Ligase

Der Reaktionsmechanismus von DNA-Ligasen startet mit der Bildung eines kovalenten Intermediats des Enzyms mit AMP (**a**). Bakterielle DNA-Ligase braucht für diese Aktivierung NAD, eukaryontische Enzyme und die in der Gentechnik benutzte DNA-Ligase des Bakteriophagen T4 nutzen ATP. Der Adenylatrest wird anschließend auf ein freies 5'-Phosphatende eines DNA-Moleküls übertragen (**b**). Im letzten Schritt wird das Zuckerphosphatrückgrat durch Knüpfung einer Esterbindung geschlossen und AMP wird freigesetzt.

Reaktionsmechanismus der DNA-Ligase.
Erklärung siehe Text.

Banken geben Aufschluss über die Expression von Genen unter bestimmten Wachstumsbedingungen, da nur solche Gene kloniert werden, von denen Transkripte (mRNA) in der Zelle vorhanden sind.

Bei allen hier vorgestellten Klonierungstechniken ist es nötig, Vektormoleküle mit Fremd-DNA kovalent zu verknüpfen. Dazu wird im Regelfall **DNA-Ligase** verwendet (Plus 15.17). Ein alternatives Verfahren zur Verknüpfung von Vektor und Fremd-DNA ist das von der Firma Invitrogen entwickelte **“Topo-Cloning“**. An Stelle von DNA-Ligase wird hier Typ-I-DNA-Topoisomerase verwendet, die kovalent an die 5'-Enden des linearisierten Vektors gebunden ist. In Gegenwart von linearer Fremd-DNA wird diese mit dem Vektor verknüpft und die Topoisomerase löst sich anschließend von der DNA.

15.9.6 Identifizierung rekombinanter Klone

Ein häufiges Ziel der Klonierung genomischer DNA ist das Aufspüren von Klonen, die ein definiertes DNA-Fragment enthalten.

Wenn bestimmte Nukleotidsequenzen als Oligonukleotide zur Verfügung stehen, können die entsprechenden Klone in einer Genombank (auch Genombibliothek genannt) (Plus 15.18) identifiziert werden. Die Vorgehensweise ist in Abbildung 15.21 illustriert. Zunächst wird die geschnittene genomische DNA mit einem Cosmid- oder Phagenvektor verknüpft. Anschließend werden die Ansätze durch Transduktion in

Plus 15.18 Genombibliotheken

Wie groß muss eine Genombibliothek sein oder, anschaulicher, wieviele Einzelklone muss sie enthalten, damit jedes Gen des zu untersuchenden Organismus wenigstens einmal darin enthalten ist? Bei dieser Frage handelt es sich um ein statistisches Problem, das mit folgender Beziehung gelöst werden kann:

$$N = \ln(1 - p) / \ln(1 - f)$$

p ist die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Gen in der Genbank vorkommt, f ist das Verhältnis zwischen der durchschnitt-

lichen Größe der Fremd-DNA im Vektor zur Größe des Genoms des Spenderorganismus, und N ist die Anzahl der notwendigen Klone. Betrachten wir ein konkretes Beispiel, eine Lambda-Genbank von *E. coli* K12 mit einer durchschnittlichen Fragmentgröße von 20 kb. Das Chromosom von *E. coli* K12 hat eine Größe von 4,63 Mb. Wenn eine Wahrscheinlichkeit von 99% für das Vorkommen eines bestimmten Gens erwünscht ist, dann muss die Bibliothek rein statistisch mindestens 1064 Klone umfassen.

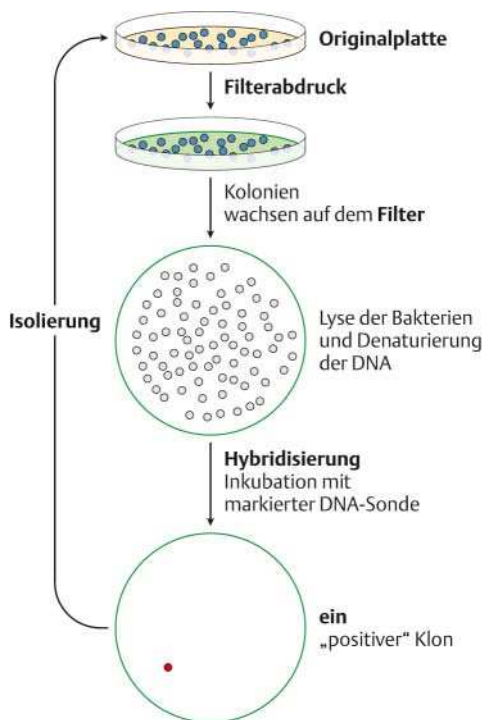


Abb. 15.21 Identifizierung klonierter DNA-Fragmente durch Koloniehybridisierung. Bakterien werden zunächst mit Vektoren transformiert, die unterschiedliche Fragmente des Genoms enthalten. Die Bakterien werden dann auf Agarplatten dünn ausplattiert, sodass sie zu einzelnen Kolonien wachsen. Von einer solchen Originalplatte wird dann mit einem Nitrocellulosefilter ein Abdruck genommen, die am Filter haftenden Bakterien lysiert, die DNA auf dem Filter fixiert und der Filter dann mit einer markierten Sonde hybridisiert. Überschüssige Sonde wird dann unter so genannten stringenten Bedingungen abgewaschen, sodass nur komplementär gebundene Sondenmoleküle haften bleiben. Diese können dann auf dem Filter sichtbar gemacht werden. Die positiven Kolonien werden von der Originalplatte isoliert.

E. coli eingebracht. Abdrücke der Bakterienkolonien oder Plaques auf Membranfiltern werden mit markierten Sonden untersucht. Bei der Sonde kann es sich um ein einzelsträngiges Oligonukleotid handeln, dessen Sequenz z. B. aus der Aminosäuresequenz des relevanten Proteins abgeleitet worden ist. Da der genetische Code degeneriert ist, d. h. den meisten Aminosäuren mehr als ein Codon zugeordnet werden kann, werden meistens Gemische von Oligonukleotiden eingesetzt. Zum Nachweis der Sonden werden diese z. B. mit einem Fluoreszenzfarbstoff oder mit radioaktivem Phosphor markiert. Die Sonde bindet an komplementäre DNA positiver Klone, man spricht von Hybridisierung, und wird anschließend sichtbar gemacht.

15.10 DNA-Sequenzierung und Genomsequenzen

Seit Mitte der 1970er-Jahre ist es möglich, die Sequenz der Nukleotide in DNA-Molekülen experimentell zu bestimmen. Etwa 20 Jahre später wurde damit begonnen, die vollständigen Genomsequenzen vieler Prokaryonten und einiger Eukaryonten zu ermitteln und die Anzahl vollständig sequenzierter Genome wächst rasant. Wir wollen uns in diesem Abschnitt zunächst mit der Technik der DNA-Sequenzierung beschäftigen, anschließend einen Überblick über die Vorgehensweise zur Bestimmung kompletter Genomsequenzen gewinnen und schließlich einige mikrobielle Genome miteinander vergleichen.

15.10.1 Genomsequenzierung

Wie Tabelle 15.4, S. 484 entnommen werden kann, liegen die Größen prokaryontischer Genome zwischen weniger als etwa 0,5 Mb und mehr als 10 Mb; die größten eukaryontischen Genome können noch etwa 1000fach größer sein. Der haploide Chromosomensatz des Menschen enthält z. B. knapp 3 Milliarden Basenpaare, aber mit vermutlich weniger als 25 000 Genen nicht einmal 10fach mehr Gene als ein typisches Bakterium. Vergleicht man diese Dimensionen mit der Leseweite einer einzigen Sequenzierungsreaktion (Box 15.4), dann wird offensichtlich, wie viele Einzelreaktionen (engl. **reads**) für die Sequenzierung eines vollständigen Genoms notwendig sind. Zur Absicherung der Daten ist es zudem erforderlich, dass jedes einzelne Nukleotid mehrfach in unabhängigen Sequenzierungsreaktionen erfasst wird, man spricht von mehrfacher Abdeckung (engl. **coverage**). Für die Entzifferung eukaryontischer Genome ist es günstig, ein geordnetes Gerüst in Form von überlappenden BAC-Klonen (Bacterial Artificial Chromosome, Kap. 15.9.4) zu konstruieren. Die DNA isolierter BACs wird dann in kleine Fragmente zerlegt, subkloniert und sequenziert. Anschließend werden überlappende Sequenzen einzelner Reads zu zusammenhängenden Sequenzen (so genannten **Contigs**) assembliert und es wird versucht, die verbliebenen Lücken durch weiteres Sequenzieren zu schließen, bis die Sequenz eines BAC-Klons vollständig ist. Dieses Verfahren wird Klon für Klon durchgeführt. Die Verfügbarkeit geordneter Banken ist hilfreich, ihre Konstruktion aber aufwändig.

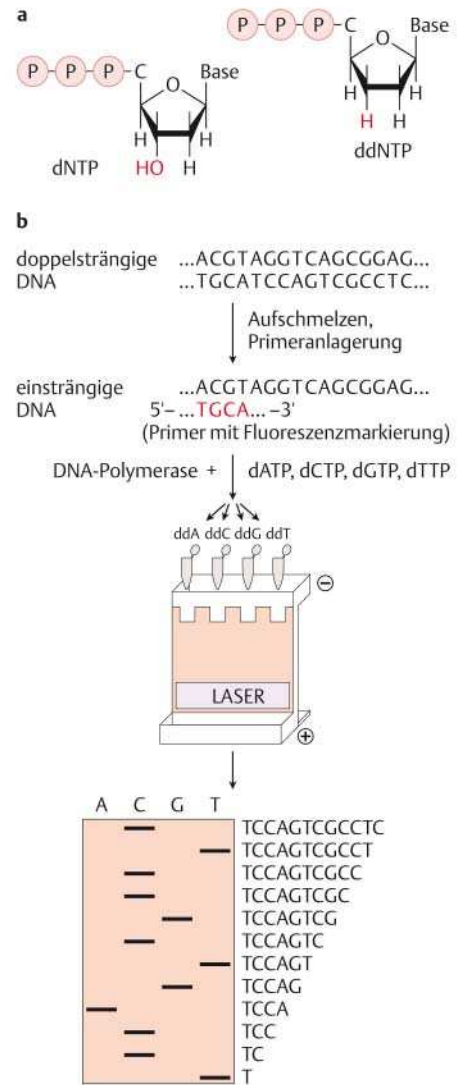
Besonders für die Analyse kleiner, prokaryontischer Genome hat sich ein als **Shotgun-Sequenzierung** bezeichnetes Verfahren durchgesetzt, das auf geordnete Banken aus BAC- und Cosmidklonen weitgehend verzichtet. Bei diesem Schrotschussverfahren wird genomische DNA in einer Nebelkammer mechanisch fragmentiert. Anschließend werden die vielen Bruchstücke chromatografisch nach ihrer Größe getrennt. Für die

Box 15.4 DNA-Sequenzierung nach der Kettenabbruch- oder Didesoxymethode

Die Sequenzanalyse von DNA erfolgt heute nahezu ausschließlich durch Weiterentwicklungen der von **Sanger** und anderen in den 1970er-Jahren entwickelten Methode. Bei diesem Verfahren wird die zu analysierende DNA im Reaktionsgefäß in Gegenwart von dATP, dCTP, dGTP und dTTP sowie geringer Mengen der vier Kettenabbruchreagenzien ddATP, ddCTP, ddGTP und ddTTP neu synthetisiert. Es handelt es sich dabei um 2',3'-Dideoxynukleosid-5'-triphosphate (ddNTPs) (Abb. a), nach deren Einbau die Neusynthese stoppt, da keine weitere Phosphodiesterbindung geknüpft werden kann. Zur Markierung der neu synthetisierten DNA werden Fluoreszenzfarbstoffe eingesetzt, die entweder an den Primer oder an die ddNTPs gekoppelt sind. Die Neusynthesen werden in Gegenwart einer thermostabilen DNA-Polymerase in einem zyklischen Prozess mehrfach wiederholt, man spricht deshalb von Cycle Sequencing. In jedem Zyklus wird die DNA für wenige Sekunden auf 94–98°C erhitzt und dabei aufgeschmolzen. Nach Abkühlen auf etwa 50°C lagert sich der Primer, ein Oligonukleotid aus etwa 20 Nukleotiden, an einen komplementären Einzelstrang an. Die Neusynthese wird bei 72°C durchgeführt. Bei Verwendung eines markierten Primers (wie in der Abbildung b angedeutet) werden vier Reaktionen parallel mit je einem ddNTP durchgeführt und anschließend in vier Bahnen eines Polyacrylamidgels aufgetrennt (Abb.). Je kürzer die neu synthetisierten Oligonukleotide sind, desto schneller wandern sie zum Pluspol (Anode). Nach Anregung mithilfe eines Lasers werden die Fluoreszenzsignale im Computer registriert. Werden an Stelle eines markierten Primers vier unterschiedlich markierte ddNTPs verwendet, dann kann sowohl die Sequenzierreaktion mit allen vier ddNTPs in einem Ansatz als auch die Auftrennung aller Oligonukleotide in einer einzigen gelgefüllten Kapillare erfolgen, da jedes der vier ddNTPs ein anderes Fluoreszenzsignal ergibt. Im optimalen Fall können nach einer Sequenzierreaktion mehr als 1000 Nukleotide gelesen werden, im Durchschnitt liegt dieser Wert aber meist darunter.

Manche **Neuentwicklungen der Sequenziertechnologie** weichen von dem Sanger-Verfahren ab und kommen ohne Elektrophorese aus. Gegenwärtig werden verschiedene automatisierte Techniken entwickelt und verfeinert mit dem Ziel, die Leseweite und Genauigkeit einzelner Reads sowie den Probendurchsatz zu erhöhen und damit die Kosten von Genomsequenzierungen deutlich zu senken.

Prinzip der Sequenzierung mit markierten Primern. Die Zumischung der ddNTP-Moleküle führt statistisch zu einem Abbruch der Oligonukleotidsynthese. Die unterschiedlich langen Oligonukleotide tragen an ihren Enden jeweils ein ddNukleotid.



Shotgun-Sequenzierung wird der Größenbereich von etwa 2 kb ausgewählt und in einem Plasmidvektor kloniert. In der nächsten Phase werden die Einzelsequenzen unabhängiger Klone in vielen zehntausend Reads bestimmt, so dass statistisch betrachtet das gesamte Genom mehrfach abgedeckt ist. Mithilfe von so genannten **Basecalling**-Programmen wird jedem einzelnen Nukleotid in jedem Read ein Qualitätswert zugeordnet, damit offensichtliche Sequenzfehler sofort auffallen und am Ende die Gesamtfehlerhäufigkeit abgeschätzt werden kann. In großen Sequenzierungszentren dauert diese Phase nur wenige Tage. Erheblich aufwändiger ist dann allerdings die Assemblierungsphase, in der am Computer aus der riesigen Anzahl von Einzelsequenzen unter Ausnutzung von Überlappun-

Tab. 15.4 Organisation einiger mikrobieller Genome.

Organismus	Chromosom(en)		Plasmid(e)	
	Anzahl	Größe	Anzahl	Größe
Eubakterien				
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58	2	2,84 Mb, zirkulär 2,07 Mb linear	2	542 kb, zirkulär; 214 kb, zirkulär (Ti-Plasmid)
<i>Aquifex aeolicus</i> VF5	1	1,55 Mb, zirkulär	1	39 kb
<i>Bacillus subtilis</i> 168	1	4,21 Mb, zirkulär		
<i>Borrelia burgdorferi</i> B31	1	910 kb, linear	21	9 zirkuläre, 30–9 kb; 12 lineare, 53–5 kb
<i>Escherichia coli</i> K-12	1	4,63 Mb, zirkulär		
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1	5,49 Mb, zirkulär	2	92 kb, zirkulär; 3 kb, zirkulär
<i>Mycoplasma genitalium</i> G-37	1	580 kb, zirkulär		
<i>Myxococcus xanthus</i>	1	ca. 9,45 Mb		
<i>Ralstonia solanacearum</i> GMI1000	1	3,71 Mb, zirkulär	1	2,09 Mb, zirkulär
<i>Sorangium cellulosum</i> So ce56	1	ca. 12,2 Mb		
<i>Sinorhizobium meliloti</i> 1021	1	3,65 Mb, zirkulär	2	1,68 Mb, zirkulär; 1,35 Mb, zirkulär
<i>Streptomyces avermitilis</i> MA-4680	1	9,02 Mb, linear	1	94 kb, linear
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	1	8,66 Mb, linear	2	365 kb, linear; 31 kb, zirkulär
<i>Vibrio cholerae</i> El Tor	2	2,96 Mb, zirkulär; 1,07 Mb, zirkulär		
Archaeobakterien				
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	1	2,17 Mb, zirkulär		
<i>Halobacterium</i> sp. NRC-1	3	2,01 Mb, 365 kb, 191 kb; alle zirkulär		
<i>Methanocaldococcus jannaschii</i>	1	1,66 Mb; zirkulär	2	58 kb, zirkulär; 16 kb, zirkulär
<i>Nanoarchaeum equitans</i> Kin4-M	1	491 kb; zirkulär		
<i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3	1	1,73 Mb; zirkulär		
<i>Sulfolobus solfataricus</i> P2	1	2,99 Mb; zirkulär	mehrere	
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	1	1,56 Mb; zirkulär		
Eukaryonten (haploides Stadium)				
<i>Ashbya gossypii</i>	7	2 Mb – 670 kb, insgesamt 9,2 Mb		
<i>Neurospora crassa</i> OR74A	7	10,9 Mb – 4 Mb, insgesamt ca. 40 Mb		
<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7	14	3,29 Mb – 643 kb, insgesamt 22,9 Mb		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16	1,52 Mb – 230 kb ; insgesamt 13,47 Mb		
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	3	5,8 Mb, 4,6 Mb, 3,5 Mb		

gen eine einzige zusammenhängende Sequenz erstellt wird. Im Regelfall bleiben allerdings Lücken zwischen den Contigs, die ohne weitere Sequenzierungsreaktionen oder/und Vergleiche mit BAC-, Cosmid- oder Plasmidklonen nicht geschlossen werden können. Mithilfe von Computerprogrammen und Vergleichen mit den Einträgen in mittlerweile äußerst umfangreichen Datenbanken wird in der letzten Phase eines Genomprojekts versucht, die Anzahl der Gene eines Organismus und deren Funktion zu ermitteln (**Annotation**). Bei prokaryontischen Genomen werden in der Mehrzahl der Fälle bereits Datenbankeinträge über sehr ähnliche Gene existieren, die Informationen über die experimentell ermittelte oder postulierte Funktion des Produkts enthalten. Wie bereits an anderer Stelle in diesem Kapitel erwähnt wurde, sind allerdings selbst bei *E. coli* K12 die Funktionen von etwa einem Viertel aller postulierten Gene unbekannt.

15.10.2 Genomgrößen und Genomorganisation

In Tabelle 15.4 sind Informationen über Organisation und Größe einiger prokaryontischer Genome aufgelistet und zum Vergleich ist die Genomorganisation der vier Pilze *Ashbya gossypii*, *Neurospora crassa*, *Saccharomyces cerevisiae* (Bäckerhefe) und *Schizosaccharomyces pombe* (Spaltheife) sowie des Malariaerregers *Plasmodium falciparum* angegeben.

Die kleinsten Genome enthalten 0,5–0,6 Mb. Man nimmt an, dass diese Werte nahe an der minimalen Ausstattung einer lebenden Zelle liegen. Tatsächlich fehlen dem humanpathogenen Krankheitserreger *Mycoplasma genitalium* (0,58 Mb) viele Eigenschaften, die unter Prokaryonten verbreitet sind. Mykoplasmen bilden keinerlei Zellwand und sind nicht in der Lage, Aminosäuren, Fettsäuren und Purine/Pyrimidine herzustellen. Diese Substanzen müssen in parasitischer Lebensweise vom Wirt aufgenommen werden. Noch etwas kleiner (0,49 Mb) ist das Genom des hyperthermophilen Archaeobakteriums *Nanoarchaeum equitans*. Auch dieser Organismus scheint zum Wachstum auf einen Partner angewiesen zu sein. Er kann nur symbiontisch zusammen mit dem Crenarchaeon *Ignicoccus* kultiviert werden. Die kleinsten Genome freilebender (d. h. nichtsymbiontischer und nichtparasitärer) Bakterien enthalten etwa 1,3 Mb. Die größten prokaryontischen Genome wurden in Streptomyceten und Myxobakterien gefunden. Das Genom des Myxobakteriums *Sorangium cellulosum* hat eine Größe von etwa 12,2 Mb, die Genomgrößen von Streptomyceten liegen bei etwa 9 Mb. Diese Genomgrößen korrelieren mit der Produktion vielfältiger Sekundärmetabolite (z. B. Antibiotika und Cytostatika) und mit der Fähigkeit zu komplexen Zelldifferenzierungen. Nicht alle Bakterien besitzen ein einzelnes, zirkuläres Chromosom. Sowohl lineare wie auch multiple Chromosomen sind verbreitet. Auffällig ist die Genomstruktur von *Borrelia burgdorferi*, dem Erreger der durch Zeckenbiss übertragbaren Lyme-Krankheit. Dieses Bakterium enthält ein einzelnes, lineares Chromosom mit 910 kb, aber zusätzlich 21 Plasmide, die zusammen mehr als 610 kb umfassen.

15.10.3 Genomvergleiche

Der Vergleich von Gensequenzen für ähnliche, funktionsgleiche Proteine zwischen phylogenetisch nur entfernt verwandten Organismen bestätigt, dass horizontaler Gentransfer unter Prokaryonten weit verbreitet ist. Als Beispiele können das Crenarchaeon *Sulfolobus solfataricus* und das Euryarchaeon *Thermoplasma acidophilum* dienen, beides thermoacidophile Archaeobakterien, die u. a. in heißen, schwefelreichen Umgebungen (Solfa-

Plus 15.19 Horizontale Genübertragung

Fast ein Fünftel der vorhergesagten Proteine von *Thermoplasma acidophilum* zeigt größte Ähnlichkeit nicht zu Proteinen phylogenetischer Nachbarn, sondern zu Proteinen von *Sulfolobus solfataricus*. Da die entsprechenden Gene nicht zufällig im Chromosom verteilt sind, sondern in Gruppen vorkommen, geht man davon aus, dass wenige Gentransferereignisse zur Integration von *S.-solfataricus*-DNA in das Genom von *T. acidophilum* stattgefunden haben.

Der Vergleich der beiden *E.-coli*-Stämme K12 und O157:H7 zeigt umgekehrt, dass sich die Genome phylogenetisch eng verwandter Organismen erheblich unterscheiden können. K12 ist ein nichtpathogener Stamm, der in vielen Labors für biochemische und molekularbiologische Untersuchungen benutzt wird und dessen zahlreiche Abkömmlinge für die Gentechnik unersetzlich sind. O157:H7 dagegen zählt zu den enterohämorrhagischen *E.-coli*-Stämmen (**EHEC**) und ist einer von vielen humanpathogenen Stämmen dieser Spezies. Er produziert Shiga-Toxine und andere Virulenzfaktoren. Die Folgen einer Infektion reichen von einer Diarrhö bis zu schwerwiegenden Krankheitsformen, wie dem hämolytisch-urämischem Syndrom (**HUS**), die vor allem bei Kleinkindern u. a. durch akutes Nierenversagen tödlich enden können. Die

Genome von K12 (4,63 Mb) und O157:H7 (5,58 Mb) haben deutlich unterschiedliche Größen. Die zirkulären Chromosomen beider Stämme besitzen ein gemeinsames Rückgrat (4,1 Mb) mit sehr ähnlicher Sequenz. Dieses Rückgrat ist durch viele stammspezifische Sequenzen unterbrochen. Im pathogenen Stamm O157:H7 handelt es sich dabei um 177 Inseln mit einer Größe von bis zu 88 kb (insgesamt etwa 1,34 Mb), in denen bekannte oder vermutete Pathogenitätsfaktoren codiert sind. Im nichtpathogenen Stamm K12 sind es 234 Inseln (insgesamt etwa 0,53 Mb). Bisher ist nur ein einziger Pathogenitätsfaktor, ein Hämolysin, in K12 bekannt. Unter normalen Umständen wird das entsprechende Gen jedoch nicht exprimiert. Es wird vermutet, dass horizontaler Gentransfer eine wesentliche Rolle für die nach Schätzungen vor etwa 4,5 Millionen Jahren begonnene, unterschiedliche Entwicklung der beiden *E.-coli*-Stämme aus einem gemeinsamen Vorfahren gespielt hat. Dafür spricht unter anderem die große Anzahl von Prophagen und Prophagenrelikten in beiden Genomen (mindestens 18 in O157:H7 und 8 in K12). Zwei dieser Prophagen in O157:H7 tragen die Gene für die Shiga-Toxine.

taren) vorkommen. Ein gut untersuchtes Beispiel ist auch die Entstehung der verschiedenen *Escherichia coli*-Stämme, so wie es die Auswertung der Genomsequenzen nahelegt (Plus 15.19).

15.11 Postgenomik

Viele prokaryontische Genomsequenzen sind mittlerweile bekannt und öffentlich in Datenbanken verfügbar und die Zahl mit öffentlichen Projektmitteln vollständig oder fast vollständig bestimmter Genomsequenzen nimmt rapide zu. Weitere Genome wurden und werden in industriellen Einrichtungen zur kommerziellen Nutzung entschlüsselt. Die Daten stehen der Öffentlichkeit dann nicht oder erst zu einem späteren Zeitpunkt zur Verfügung. Welcher Nutzen kann aus den Daten prokaryontischer Genomprojekte gezogen werden?

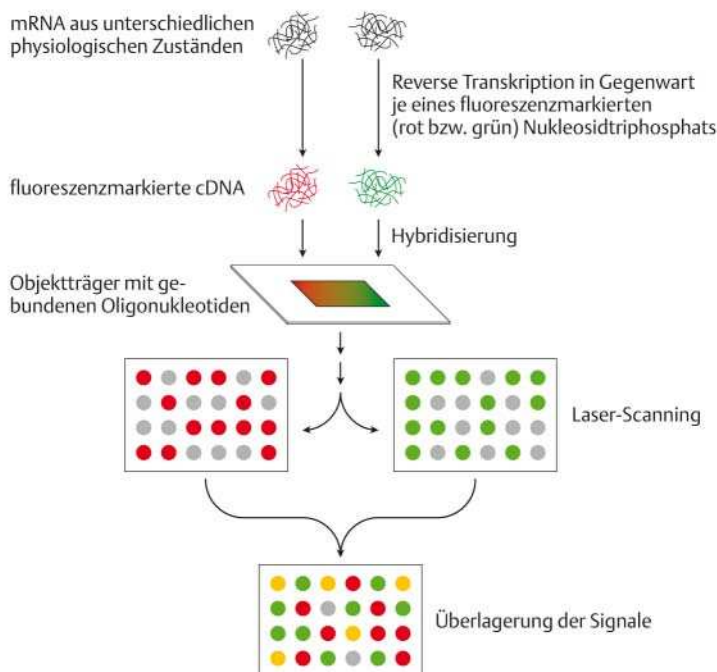
Wir haben bereits weiter oben gesehen, dass durch Vergleiche der DNA- und abgeleiteten Aminosäuresequenzen grundlegende Erkenntnisse über Verwandtschaft und Gentransferprozesse gezogen werden können. Weiterhin erlaubt die Analyse der postulierten Genprodukte eines Organismus Vorhersagen über Stoffwechselwege und spezielle Stoffwechselleistungen mit biotechnologischem Potenzial. Mögliche Pathogenitätsfaktoren und damit Angriffspunkte für die antimikrobielle Therapie können durch vergleichende Genomanalyse pathogener Bakterien und nah verwandter Nichtpathogener identifiziert werden. Trotz dieser vielfältigen Möglichkeiten handelt es sich dabei allerdings immer um statische Betrachtungen, die keine Aussagen über die Expression von Genen in bestimmten Umweltsituationen zulassen. Solche Untersuchungen können aber mit Methoden der **Transkriptomik** und **Proteomik** durchgeführt werden. Unter Transkriptom versteht man die Gesamtheit aller Transkripte, die zu einem definierten Zeitpunkt und unter einer bestimm-

ten Umweltbedingung in einer Zelle vorhanden sind. Gleichmaßen repräsentiert das Proteom alle unter diesen Bedingungen vorhandenen Proteine. Ein Verfahren, mit dem die **Transkriptome** von Zellen verglichen werden können, die unter verschiedenen Umweltbedingungen kultiviert worden sind, ist in der Box **15.5** gezeigt. Diese Vorgehensweise beruht auf der **DNA-Chip-Technologie** (Synonym: **DNA-Microarray-Technologie**), einer Methode, die im Zeitalter der Postgenomik zunehmend an Bedeutung gewinnt.

Box 15.5 DNA-Microarrays

Ein DNA-Chip ist ein speziell beschichtetes Trägermaterial (Quartz Wafer) in der Größe eines mikroskopischen Objektträgers oder etwas größer. Durch festphasenchemische Methoden werden auf dem Chip spezifische Oligonukleotide synthetisiert, die in geordneter Reihung gebunden sind und alle Gene des relevanten Organismus repräsentieren. Alternativ werden PCR-Produkte (vgl. Box **15.6**), die das gesamte Genom repräsentieren, immobilisiert. Um das Transkriptom des Organismus in bestimmten physiologischen Situationen zu untersuchen, wird RNA aus Zellen, die unter entsprechenden Bedingungen kultiviert wurden, isoliert und unter Verwendung von Reverser Transkriptase, einem Gemisch aus zufällig generierten kurzen Oligonukleotiden als Primern und in Gegenwart eines fluoreszenzmarkierten Nukleosidtriphosphats (grün für Situation 1, rot für Situation 2 in der Abb.) in cDNA umgeschrieben. Die cDNAs werden gemischt und mit den auf dem Chip immobilisierten Oligonukleotiden hybridisiert. Diese repräsentieren ein definiertes Set von Genen oder das ganze Genom eines Organismus und sind

in geordneter Reihenfolge aufgetragen. Gebundene cDNA wird anschließend mit einem Laserscanner durch Fluoreszenz sichtbar gemacht. Mithilfe des Computers wird die Fluoreszenzintensität der beiden Fluoreszenzfarbstoffe an den verschiedenen Positionen des Trägers detektiert. Durch Überlagerung der Signale kann dann ermittelt werden, welche Gene unter den gegebenen physiologischen Bedingungen verstärkt exprimiert (grün bzw. rot), welche unter beiden Bedingungen (orange) oder überhaupt nicht bzw. unterhalb der Nachweisgrenze (grau) exprimiert werden. Die cDNA wird anschließend von dem Chip abgewaschen, sodass er wiederverwendet werden kann. Durch diese Vorgehensweise können globale Veränderungen des Transkriptoms einer Zelle erkannt werden, beispielsweise als Antwort auf osmotischen, Temperatur- oder Hitzestress, oder den Kontakt eines pflanzen-, tier-, humanpathogenen oder symbiontischen Bakteriums mit seinem Wirt. Diese Daten können als Anhaltspunkte z. B. für die Bedeutung bestimmter bakterieller Gene für pathogene oder symbiontische Interaktionen dienen.



DNA-Chip- oder Microarray-Technologie.

Proteom. Das Transkriptom spiegelt nicht unbedingt das endgültige Bild über die Expression von Genen und den Gehalt und Zustand der Proteine einer Zelle wider, da die Translationseffizienz verschiedener mRNAs unterschiedlich ist und Proteine posttranslationalen Modifikationen und proteolytischem Abbau unterworfen sind. Deshalb gibt das Proteom noch besseren Aufschluss über globale Veränderungen in einer Zelle als Antwort auf veränderte Umweltbedingungen. Viele Proteomanalysen basieren auf der zweidimensionalen Trennung der gesamten Proteine einer Zelle in Polyacrylamidgelen, gefolgt von der massenspektroskopischen Bestimmung der einzelnen *spots* mit sensitiven Methoden wie **MALDI-TOF-Massenspektroskopie** (MALDI-TOF, engl. matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight) oder – ebenfalls mit einem Massendetektor gekoppelte – **ESI** (engl. electrospray ionization). Bei beiden Methoden werden geringste Mengen von Proteinen aus dem Gel isoliert, in Peptide gespalten, verflüchtigt und ionisiert. Anschließend wird ihre Masse bestimmt. Bei bekanntem Genom kann aus der Masse die Peptidsequenz errechnet werden und selbst posttranslationale Modifikationen geben sich zu erkennen. Moderne massenspektrometrische Verfahren erlauben sogar die direkte Sequenzierung der Peptide.

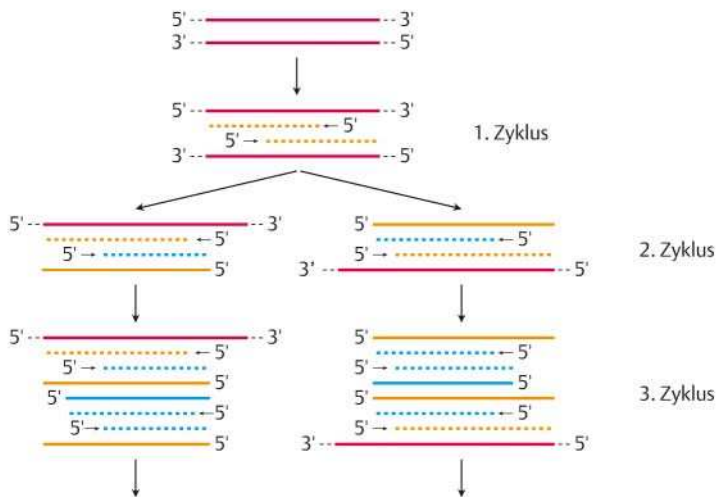
Knockout-Mutanten. Weitere Ziele der Postgenomik beinhalten die Aufklärung der Funktion vieler Gene, über deren Bedeutung nur vage oder gar keine Vorstellungen bestehen. Eine geeignete Vorgehensweise ist die Konstruktion von knockout-Mutanten in Organismen, die für Genaustauschexperimente im Labor leicht zugänglich sind. Durch Analyse der Phänotypen derartiger Mutanten, in denen definierte Gene durch Entfernung eines Segments oder durch Insertion von Fremd-DNA inaktiviert worden sind, können Rückschlüsse auf die Funktionen der entsprechenden Proteine gezogen werden.

Ein wichtiges Werkzeug für solche und viele andere molekularbiologische Experimente ist die **Polymerasekettenreaktion** (engl. **polymerase chain reaction, PCR**) (Box 15.6). Mit dieser Methode können im Reaktionsgefäß beliebige Abschnitte genomischer DNA in kurzer Zeit zu großen Kopienzahlen vervielfältigt werden. Die amplifizierte DNA wird kloniert, Deletionen oder Insertionen werden eingeführt und anschließend wird das modifizierte Allel durch geeignete Methoden an Stelle des Wildtypallels in den zu untersuchenden Organismus eingebracht.

Systembiologische Ansätze. Noch in der Anfangsphase befinden sich Bestrebungen, die Gesamtheit der dynamischen Prozesse lebender Zellen in quantitativer Form zu erfassen. Dieses Forschungsgebiet wird als **Systembiologie** bezeichnet. Wegen der im Vergleich zu multizellulären Systemen geringeren Komplexität sind hier einzellige Mikroorganismen besonders gut geeignete Untersuchungsobjekte. Es soll versucht werden, Daten aus dem Studium von **Transkriptom**, **Proteom**, **Metabolom** (Gesamtheit aller Metabolite und ihrer Konzentration) und **Fluxom** (Gesamtheit aller enzymkatalysierten Stoffumsetzungen sowie ihrer Geschwindigkeiten und Flüsse) zu integrieren und mathematisch zu modellieren, sodass das System Zelle in seiner ganzen Komplexität verständlich und Reaktionen auf äußere Einflüsse vorhersagbar werden.

Insgesamt betrachtet stecken in der Entschlüsselung prokaryontischer Genome und in der Postgenomik riesige Potenziale für biotechnologische Produktionsprozesse im weitesten Sinne, zur Bekämpfung von Krankheitserregern und für die gezielte Verbesserung der Abbauleistungen solcher Organismen, die zur Entgiftung von Schadstoffen eingesetzt werden.

Box 15.6 Polymerasekettenreaktion



Die zu amplifizierende DNA wird durch Erhitzen auf 94° – 98°C in die Einzelstränge aufgeschmolzen (denaturiert). Die beiden Primer (Pfeile) hybridisieren durch Abkühlen – je nach Länge und molarem GC-Gehalt bei Temperaturen zwischen etwa 42 und 65°C mit der DNA (Annealing) und werden durch eine thermostabile DNA-Polymerase bei 68–72°C verlängert (Extension). Diese Schritte werden 25–40-mal wiederholt.

Während die Menge der zu amplifizierenden DNA (rot) gleich bleibt, nimmt die Menge des so genannten Long Products (orange) linear zu. Dagegen steigt die Menge des so genannten Short Products, die Region zwischen den beiden Primern (blau), exponentiell an.

Die ersten drei Zyklen der PCR.

Zusammenfassung

- Die Desoxyribonukleinsäure ist in allen Lebewesen der Träger der genetischen Information. Prokaryonten besitzen in der Regel 1–2 **Chromosomen**, die meist zirkulär geschlossen, in manchen Fällen aber linear vorliegen. Weitere genetische Information ist auf extrachromosomalen Elementen, den **Plasmiden**, lokalisiert.
- Die **Replikation** der DNA erfolgt nach einem semikonservativen Mechanismus. Einer der beiden Stränge wird kontinuierlich, der andere diskontinuierlich repliziert. Der gesamte Prozess verläuft mit einer außerordentlich geringen Fehlerhäufigkeit.
- **Mutationen** sind erbliche Veränderungen in der DNA, die natürlichen Ursprungs oder exogen induziert sein können. Vielfältige zelluläre **Reparaturprozesse** sorgen dafür, dass nur wenige der chemischen Veränderungen in der DNA zu stabilen Mutationen führen.
- Unter genetischer **Rekombination** versteht man die Neukombination von Nukleinsäureabschnitten. Homologe Rekombination setzt Bereiche mit Sequenzidentität in den rekombinierenden DNA-Strängen voraus. Nichthomologe Rekombination ist unabhängig von identischen Sequenzen in den Ausgangsmolekülen. Durch spezielle Rekombinationsenzyme können dabei Insertionen, Deletionen oder Inversionen an spezifischen genomischen Positionen entstehen.
- Transformation, Transduktion und Konjugation sind natürliche Mechanismen des **Gentransfers** zwischen Prokaryonten. Konjugativer DNA-Transfer ist auch von prokaryontischen in eukaryontische Zellen möglich.
- Viele bakterielle Restriktionsendonukleasen sind Bestandteil von **Restriktions-/Modifikationssystemen**, die eingedrungene Fremd-DNA abbauen. Vor allem die Typ-II-Restriktionsenzyme sind ein unerlässliches Werkzeug in der Gentechnologie.
- **Transkription** und **Translation** sind Teilprozesse der Expression genetischer Information und in Prokaryonten räumlich und zeitlich

gekoppelt. Bei beiden Teilprozessen existieren signifikante Unterschiede zwischen Eubakterien und Archaeobakterien.

- Unter **DNA-Klonierung** versteht man die Verknüpfung von DNA aus einem Spenderorganismus mit einem geeigneten Vektor und die anschließende Vermehrung in einem geeigneten Wirt. Es stehen verschiedene **Vektoren** zur Verfügung, die sich beispielsweise im Wirtsbereich, in der Kopienzahl, der Größenpräferenz für Fremd-DNA und hinsichtlich der Möglichkeit, die Expression von Fremdgenen zu dirigieren, unterscheiden.
- Seit Mitte der 1990er Jahre wurden die **Genomsequenzen** zahlreicher prokaryontischer und später auch eukaryontischer Organismen entschlüsselt. Die Anzahl identifizierter Sequenzen nimmt rasant zu. Diese Datenvielfalt bildet eine Grundlage für neue biotechnologische Produktionsverfahren sowie die Identifizierung antimikrobieller Angriffsorte.
- Mit den Methoden der **Postgenomik** werden auf der Basis vorhandener Genomsequenzen globale Untersuchungen der Reaktion von Transkriptom und **Proteom** auf veränderte Umweltbedingungen möglich.

16

Regulation des Stoffwechsels und des Zellaufbaus von Bakterien

Bezogen auf ihr Zellvolumen besitzen Bakterien eine große Oberfläche. Sie sind damit ihrer Umwelt intensiv ausgesetzt (Kap. 1). Außerdem haben sie kaum Möglichkeiten, das extrazelluläre Milieu konstant zu halten und müssen deshalb Zellaufbau und -funktionen schnell an veränderte Verhältnisse anpassen. Die Fähigkeit zur Regulation des Stoffwechsels, der Homöostase und der Zellzusammensetzung ist deshalb eine wichtige Voraussetzung für Überleben und optimales Wachstum.

Viele Bakterien besitzen einen vielseitigen Stoffwechsel. Fakultativ anaerobe Bakterien können durch aerobe Respiration, anaerobe Respiration oder Gärung Energie für das Wachstum gewinnen und stellen sich so auf das Sauerstoff- und Nährstoffangebot ein. Änderungen der Temperatur, des pH-Wertes, der Osmolarität, der Art der Stickstoffquelle und anderer Parameter erfordern weitere Anpassungen. Die Bakterien registrieren diese Parameter und adaptieren an neue Bedingungen. Dazu ist eine aufwändige Ausstattung an sensorischen und regulatorischen Proteinen notwendig.

Viele Enzyme des Bau- und Energiestoffwechsels werden nur bei Bedarf gebildet. Dies ist nicht nur ökonomisch, sondern stellt auch sicher, dass keine konkurrierenden und sich gegenseitig schädigenden Reaktionen ablaufen. Außerdem können Bakterien aus Platzgründen nicht die Proteine für alle alternativen Wege gleichzeitig in optimaler Konzentration enthalten. Nur wenige Gene werden nicht über ihre Expression reguliert, wie z. B. die Gene der Glykolyse, die konstitutiv exprimiert werden (Haushaltsgene). Viele Bakterien, wie *E. coli*, besitzen mehrere hundert Gene, das sind 5–10% aller Gene, deren Produkte regulatorische oder sensorische Funktion haben.

Neben klassischen Mechanismen der posttranslationalen Regulation von Enzymaktivitäten werden Transkriptions- und Translationskontrolle und viele weitere Mechanismen zur Steuerung von Genfunktionen eingesetzt. Um die Aktivität von Genen und Proteinen zu regulieren, wird die DNA-Struktur durch Rekombination oder chemische Modifikation verändert, regulatorische RNA synthetisiert und Proteine gezielt abgebaut. Die Regulationsmechanismen der verschiedenen Organismen sind umso unterschiedlicher, je weiter die betreffenden Organismen systematisch voneinander entfernt sind.

Überblick

16.1 Regulation der Genexpression in Bakterien ... 493

- 16.1.1 Veränderung der DNA-Struktur ... 493
- 16.1.2 Kontrolle der Transkription und Translation ... 494
- 16.1.3 Posttranslationale Regulation ... 494

16.2 Kontrolle der Enzymaktivität durch posttranslationale Regulation ... 495

- 16.2.1 Allosterische Regulation ... 495
- 16.2.2 Kovalente Modifikation von Proteinen ... 496

16.3 Reizaufnahme und Reizverarbeitung ... 497

- 16.3.1 Membranständige und cytoplasmatische Sensoren ... 497
- 16.3.2 Regulons, Stimulons und Netzwerke ... 497
- 16.3.3 Aufbau und Funktion von Zweikomponentensystemen ... 499

16.4 Regulation von Transkription und Translation ... 499

- 16.4.1 Regulation der Transkription durch DNA-bindende Proteine ... 500
- 16.4.2 Kontrolle durch regulatorische RNA und Attenuation ... 502

16.5 Regulation von Katabolismus und Energiestoffwechsel ... 504

- 16.5.1 Übergeordnete Regulation des Kohlenstoffkatabolismus ... 505
- 16.5.2 Regulation des Stoffwechsels durch Elektronenakzeptoren ... 507

16.6 Stringente Kontrolle und genereller Stress ... 509

- 16.6.1 Stringente Kontrolle und Kopplung von Anabolismus und Katabolismus ... 509
- 16.6.2 Generelle Stressantwort und Regulation der stationären Phase in *E. coli* ... 510

16.7 Spezifische Stressreaktionen ... 512

- 16.7.1 Oxidativer Stress ... 512
- 16.7.2 Hitzeschockreaktion ... 513
- 16.7.3 Osmoregulation ... 515

16.8 Regulation der Stickstoffassimilierung ... 516

16.9 Chemotaxis ... 518

16.10 Interzelluläre Kommunikation und Zelldichteregulation (Quorum Sensing) ... 520

16.11 Differenzierung bei Bakterien ... 521

16.1 Regulation der Genexpression in Bakterien

Die Bildung funktionsfähiger Proteine kann auf mehreren Ebenen reguliert werden: auf der Ebene der DNA-Struktur, Transkription, Stabilität der mRNA, Translation und nicht zuletzt auf der Ebene der Proteine selbst. Nur Spezialisten, die in einer sich wenig verändernden Umwelt leben, können weitgehend auf umfangreiche Kontrollmechanismen verzichten (Plus 16.1). Abbildung 16.1 gibt eine Übersicht über wichtige Mechanismen und Ebenen der Expressionskontrolle in Bakterien.

16.1.1 Veränderung der DNA-Struktur

Bereits auf der DNA-Ebene kann die Genexpression durch Veränderung der DNA-Struktur grundlegend beeinflusst werden. Dieses wird bei langfristigen Prozessen eingesetzt. Durch **Vergrößerung der Kopienzahl** der Gene kann die Expression von Genen auf Dauer erhöht werden. Ein Beispiel sind die rRNA-(*rrn*-)Gene, die in *E. coli* in 7 Kopien vorliegen. **Methylierung von DNA** wird in Bakterien, anders als bei Eukaryonten, selten zur Regulation eingesetzt. Ein wichtiges Beispiel dafür (auch wenn es sich nicht um Expressionskontrolle handelt) ist die Regulation der DNA-Replikation durch Methylierung des Replikationsursprungs *oriC* (Plus 16.2).

Durch ortsspezifische Rekombination kann die **Orientierung eines Promotors** vor einem regulierten Gen invertiert und die Transkription des nachfolgenden Gens an- oder abgeschaltet werden. Dieser Mechanismus steuert die Expression alternativer Flagellen (Phasenvariation) oder bestimmter Oberflächenproteine. Durch einen Wechsel dieser Oberflächenproteine können Enterobakterien der Immunantwort des Wirtes oder einer Phageninfektion entkommen. Der gleiche Mechanismus wird zur Kontrolle von Differenzierungsprozessen genutzt. Die Verdrillung oder **Superhelikalität** der DNA beeinflusst die Zugänglichkeit einzelner Promotoren und damit die Expression von Genen.

Plus 16.1 Bedeutung der Regulation in vielseitigen Bakterien und in Spezialisten

In vielzelligen Organismen befinden sich Zellen in einer weitgehend konstanten Umgebung. Es gibt daher wenig Regulationsbedarf. Auch unter den Bakterien gibt es Spezialisten, die in speziellen Biotopen unter konstanten Bedingungen wachsen. Sie zeigen eine geringere Stoffwechselvielfalt und sind auf spezifische Biotope begrenzt. In diesen Organismen wird ein großer Teil der Gene konstitutiv exprimiert. Beispiele für solche Spezialisten sind endosymbiontische Bakterien, die unter definierten Bedingungen in Wirtszellen wachsen. Endosymbionten, wie *Buchnera*, oder parasitische Bakterien, wie *Mycoplasma genitalium*, besitzen nur wenige (oft < 10) regulatorische Gene. Ein anderer Spezialist ist das autotrophe methanogene Archaeobakterium *Methanococcus jannaschii*, das nahe bei heißen Quellen im Meer lebt. Es nutzt CO₂ und H₂, das aus diesen Quellen austritt, für den Energie- und Baustoffwechsel. Dagegen besitzen vielseitige Bakterien eine Vielzahl regulatorischer und sensorischer Proteine, die bis zu 10% aller Proteine ausmachen können.

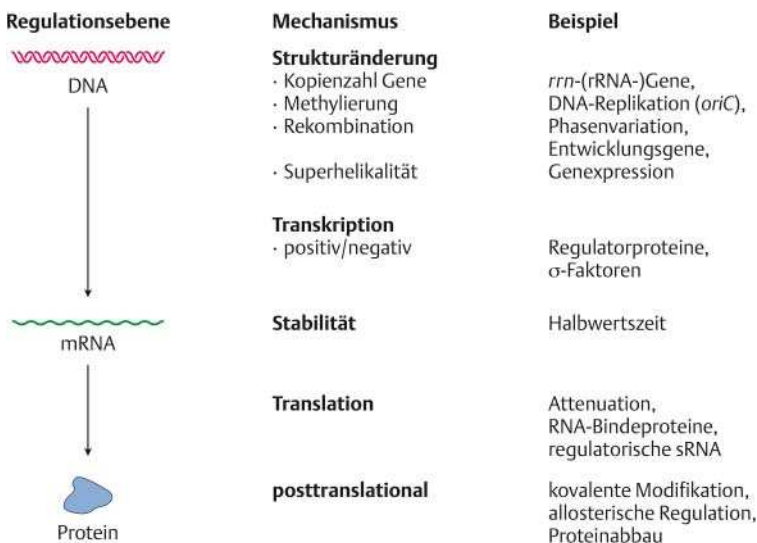


Abb. 16.1 Mechanismen und Ebenen der Expressionskontrolle in Bakterien.

Plus 16.2 Initiation der DNA-Replikation

Die DNA-Replikation ist an die Zellteilung gekoppelt und hängt damit von der Wachstumsgeschwindigkeit ab. Eine neue Replikationsrunde wird erst initiiert, wenn nach der letzten Zellteilung wieder eine bestimmte Zellgröße oder -masse erreicht ist. Diese Regulation erfolgt in *E. coli* und anderen Bakterien über die zelluläre Konzentration des DnaA-Proteins. Dieser Initiator der Replikation liegt erst eine gewisse Zeit nach der letzten Replikation wieder in ausreichender Konzentration vor. DnaA bindet, assoziiert mit ATP (DnaA-ATP), spezifisch an so genannte DnaA-Boxen, von denen 5 im Replikationsstartpunkt *oriC* des Chromosoms vorkommen. Danach wird weiteres DnaA-Protein in der Nachbarregion gebunden

und die DNA in *oriC* entwunden. Zur Einleitung der bidirektionalen Replikation wird die einzelsträngige DNA dann mit Helikase, DNA-Polymerase III und weiteren Enzymen beladen. Zur zeitlichen Regulation der Replikation trägt auch die Methylierung der DNA in der *oriC*-Region bei. Die DNA-Methylase Dam methyliert eine Sequenz (GATC/CTAG), die in *oriC* mehrfach vorkommt. Nach der Replikation ist zunächst nur der alte DNA-Strang methyliert. Die halbmethylierte *oriC*-Region wird über ein Protein an die Cytoplasmamembran gebunden. Dadurch wird die schnelle Methylierung des neuen Strangs und ein neuer Replikationsstart an *oriC* verzögert.

16.1.2 Kontrolle der Transkription und Translation

Die Transkriptionskontrolle stellt die wichtigste Form der Expressionskontrolle zur Anpassung an aktuelle Umweltbedingungen und Substratangebote dar. Die **Genregulatoren** oder DNA-bindenden Proteine werden durch niedermolekulare Effektoren gesteuert, andere durch Signaltransduktionsketten oder Sensoren, die auf Umwelt-, Stoffwechsel- oder zelluläre Signale ansprechen. Durch die Verwendung alternativer **σ -Faktoren** kann die RNA-Polymerase bestimmte Promotorklassen zur Transkription erkennen und auswählen.

Die **Stabilität** bzw. Lebensdauer von mRNA oder regulatorischen Proteinen kann durch Abbau der Moleküle gesteuert werden.

Translationsregulation erfolgt oft durch RNA-bindende Proteine, kleine RNAs (sRNA) oder Sekundärstrukturen der mRNA, die sich unter bestimmten Bedingungen ausbilden und so die Translation verhindern.

16.1.3 Posttranslationale Regulation

Die **posttranslationale Regulation** spielt eine große Rolle bei der Kontrolle von Enzymen des Stoffwechsels. Sie kann auf kovalenter Modifikation, allosterischer Regulation oder gezieltem Abbau von Proteinen beruhen (Abb. 16.2). Acetylierung wird oft zur Kontrolle des Funktionszustandes von Enzymen eingesetzt, wie z. B. bei der Regulation der Isocitrat-Lyase. Der Funktionszustand regulatorischer Proteine in Signalübertragungsketten wird dagegen häufig durch Phosphorylierung, Adenylierung oder Uridylierung kontrolliert. Von dieser Regulation ist die Phosphorylierung von Proteinen in Transferketten zu unterscheiden, bei der ein Phosphatrest in energiereicher Form kovalent gebunden wird, um ihn auf weitere Proteine zu übertragen.

Enzyme, die Proteine in Transferketten phosphorylieren, sind z.B. die Proteinkinasen der Zweikomponentensysteme (Kap. 16.3.3) oder des Phosphotransferasesystems (Kap. 16.5). Die Aktivitätsregulation allosterischer Enzyme durch Effektoren ermöglicht eine sehr schnelle Anpassung an aktuelle Stoffwechselsituationen in der Zelle. Der zeitlich geordnete Abbau von Regulatoren durch Proteasen spielt eine wichtige Rolle bei der Kontrolle der Stressantwort (z. B. Hitzeschock), des Zellzyklus und der Differenzierung. Durch die Proteolyse können Regulatoren entfernt werden, wenn sie nicht mehr benötigt werden. Die Proteolyse erfolgt durch komplexe ATP-hydrolysierende Proteasen, z. B. die Proteasen Lon oder Clp in *E. coli*. Die Proteolyse kann auch zu einer sequenzspezifischen

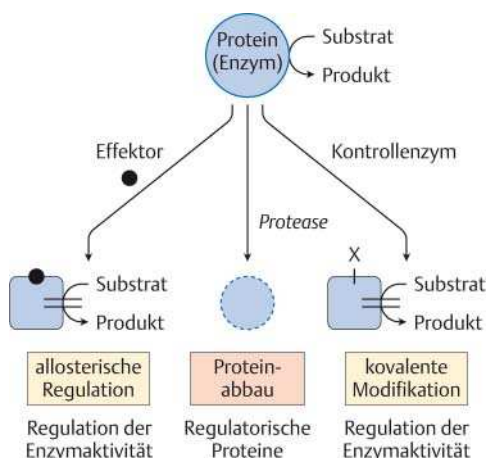


Abb. 16.2 Posttranslationale Regulation von Enzymen oder Regulatoren durch allosterische Regulation, kovalente Modifikation oder Proteinabbau. Die inaktive Form ist durch die Hemmung (Doppelstrich) gekennzeichnet.

Spaltung oder Reifung eines Regulators führen. Ein Beispiel dafür ist die Reifung der σ -Faktoren σ^E und σ^K in der Mutterzelle von *B. subtilis* auf einer bestimmten Entwicklungsstufe der Endosporenbildung.

16.2 Kontrolle der Enzymaktivität durch posttranslationale Regulation

Die Etablierung des neuen Stoffwechsels ist ein Prozess, der durch die Regulation der Enzymsynthese mehrere Minuten bis Stunden benötigt. Die Steuerung des Stoffwechsels erfordert jedoch auch Kontrollmechanismen, die augenblicklich, d. h. im Bereich von Millisekunden, greifen und Enzymaktivitäten regulieren. Manche Wege des Zentralstoffwechsels wie die Glykolyse werden bevorzugt durch allosterische Regulation kontrolliert (Kap. 7.6.3). Auf diese Weise werden Einzelschritte aus linearen oder verzweigten Stoffwechselwegen koordiniert und Engpässe oder überschießende Reaktionen vermieden.

16.2.1 Allosterische Regulation

Bei der allosterischen Regulation bindet ein Metabolit, meist aus dem gleichen oder einem assoziierten Stoffwechselweg, an eine Stelle des Enzyms, dem allosterischen Zentrum, das vom aktiven Zentrum verschieden ist. Dadurch verändert sich der K_M -Wert des Enzyms für sein Substrat, während die maximale Reaktionsgeschwindigkeit $V_{\max}$ gleich bleibt (Tab. 16.1). Als Folge ändern sich Enzymaktivität und Stofffluss durch den Stoffwechselweg. Die allosterische Hemmung oder Aktivierung ist bei veränderter Stoffwechselsituation schnell wieder aufgehoben. Allosterische Regulation ist in katabolen und anabolen Stoffwechselwegen weit verbreitet. In Biosynthesewegen, meist an Verzweigungen, hemmen die Endprodukte irreversible frühe Schritte (**Endproduktthemmung**, Abb. 16.3). Ein Beispiel ist die Biosynthese der Glutamatfamilie (Kap. 8.7.1).

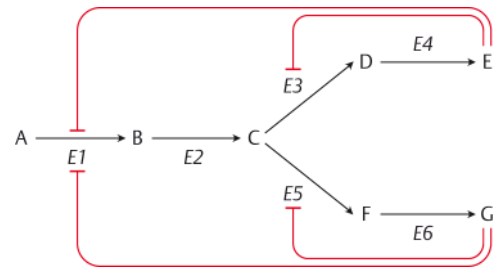
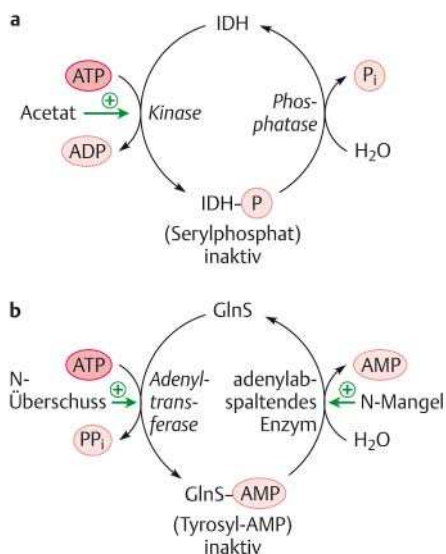


Abb. 16.3 Endproduktthemmung von Biosynthesewegen. In mehrstufigen Synthesewegen können Endprodukte (E, G) den gesamten Weg oder einzelne Abschnitte durch allosterische Hemmung der Enzyme (E1 – E6) hemmen. Betroffen sind meist der erste Schritt eines Syntheseweges und Verzweigungsstellen. Die regulierten Enzyme katalysieren oft irreversible Schritte.

Tab. 16.1 Vergleich der allosterischen Regulation und der Proteinmodifikation bei der Aktivitätsregulation von Enzymen.

	Allosterische Regulation	Kovalente Modifizierung
Änderung der Enzymaktivität	+ bis +++	+++
regulatorisches Agens	Stoffwechselmetabolit	Kontrollenzym Donor für aktive Gruppe
Kontrollenzym	–	z. B. Proteinkinase und Phosphatase
reversibel geänderter Parameter des Enzyms	K_M (Affinität)	$V_{\max}$

Plus 16.3 Regulation durch kovalente Modifikation



Die **Isocitrat-Dehydrogenase** von *E. coli* steht an einem wichtigen Verzweigungspunkt des Stoffwechsels. Bei Wachstum auf Glucose ist Isocitrat ein Zwischenprodukt des Citratzyklus und wird durch die Isocitrat-Dehydrogenase decarboxyliert. Mit Acetat als Substrat ist dagegen der Glyoxylatzyklus aktiv und Isocitrat wird durch die Isocitrat-Lyase zu Succinat und Glyoxylat gespalten (Kap. 7.6.2). In diesem Fall wird die Isocitrat-Dehydrogenase an einem Serinrest **phosphoryliert** und inaktiviert (Abb. **a**). Bei Acetatmangel spaltet eine Phosphatase den Phosphatrest ab und sowohl Isocitrat-Dehydrogenase als auch Citratzyklus werden reaktiviert.

Ein Beispiel für eine Regulation durch **Adenylierung** (d. h. Übertragung eines AMP-Rests) ist die Kontrolle der **Glutaminsynthetase** (Abb. **b** und Kap. 8.4.1). Das Enzym spielt eine Schlüsselrolle bei der Stickstoffassimilierung (Kap. 16.8). Die Adenylierung wird durch die Stickstoffversorgung der Zelle gesteuert. Bei guter Versorgung wird das Enzym durch eine Adenyltransferase an einem Tyrosinrest adenyliert und inaktiviert, bei Mangel an fixiertem Stickstoff durch Deadenylierung wieder aktiviert (Abb. **b**).

Regulation der Enzymaktivität durch kovalente Modifizierung in *E. coli*.

a Die Isocitrat-Dehydrogenase (IDH) wird bei Wachstum auf Acetat phosphoryliert. **b** Die Glutaminsynthetase (GlnS) wird bei Stickstoffüberschuss adenyliert. Beide Modifikationen sind unter entsprechenden Bedingungen reversibel.

16.2.2 Kovalente Modifikation von Proteinen

Bei der kovalenten Modifizierung von Enzymen wird die Seitengruppe einer spezifischen Aminosäure, die sich in der Regel nicht im aktiven Zentrum befindet, durch ein Kontrollenzym modifiziert. Dadurch ändert sich die Konformation und das Enzym wird stark oder auch vollständig inaktiviert. Durch ein weiteres Kontrollenzym, das die modifizierende Gruppe wieder abspaltet, wird das Enzym reaktiviert. Bei der **Phosphorylierung** dienen ATP oder Phosphoenolpyruvat als Phosphatdonoren. Dabei werden meist Serin-, Threonin- oder Tyrosinreste phosphoryliert. Die Phosphorylierung erfolgt durch Proteinkinasen, die Abspaltung des Phosphatrests durch Phosphatasen (Tab. **16.2**). Die Kontrollenzyme (Proteinkinasen und Phosphatasen) werden in ihrer Aktivität allosterisch durch Metabolite reguliert (Plus **16.3**).

Tab. 16.2 Kovalente Modifikation von Enzymen oder Regulatoren. Mit diesem Mechanismus wird die Funktion der Proteine, z.B. die Enzymaktivität oder regulatorische Aktivität, kontrolliert. Die Beispiele sind im Text erläutert. HPK~P, phosphorylierte Histidinproteinkinase aus Zweikomponentensystem; S-Ade-Met, S-Adenosylmethionin.

Modifizierende Gruppe	Modifizierbare Aminosäure	Donor	Beispiel
Phosphat	Ser, Thr, Tyr	ATP	Isocitrat-Dehydrogenase <i>E. coli</i> (Abb. Plus 16.3) HPr (Glucoserepression <i>B. subtilis</i>) (Abb. Plus 16.5)
	Asp	HPK-P	Response-Regulator aus Zweikomponentensystem (Abb. 16.6)
Adenylat (AMP)	Tyr	ATP	Glutaminsynthetase (Abb. 16.25 und Plus 16.3)
Methyl	Glu	S-Ade-Met	Chemorezeptoren der Chemotaxis (Abb. 16.27)
Phosphat	His	ATP, PEP, Acetyl-P	Histidin-Proteinkinasen u. a. (Abb. 16.6)

16.3 Reizaufnahme und Reizverarbeitung

16.3.1 Membranständige und cytoplasmatische Sensoren

Bakterien können auf fast alle denkbaren Umweltreize reagieren. Sie besitzen dazu spezifische **Sensoren** (oder **Rezeptoren**), die das Reizmolekül binden oder chemisch mit ihm reagieren bzw. eine Wechselwirkung mit dem physikalischen Reiz eingehen. Sensoren für **äußere chemische Reize** erkennen das Reizmolekül in der Regel auf der Außenseite der Cytoplasmamembran. Sie übermitteln den Reiz über die Membran (ohne das Reizmolekül aufzunehmen) und generieren ein intrazelluläres Signal (Abb. 16.4). Solche Reizmoleküle, die nicht durch Diffusion in das Zellinnere gelangen, sind häufig kohlenstoff- und stickstoff-haltige Substrate, Elektronenakzeptoren, wie Nitrat, oder andere ionische Nährstoffe. Viele der membranständigen Sensoren kommen aus den Familien der Zweikomponentensysteme oder sind Chemorezeptoren für die Chemotaxis (Kap. 16.3.3, 16.9). Bei einigen Wachstumssubstraten, wie z. B. Glucose, hat dagegen der Carrier für die Aufnahme des Substrats eine zusätzliche sensorische Funktion und liefert das Signal. Die Kopplung des Transports mit einer Signalbildung ist naheliegend, weil der Carrier den ersten spezifischen Kontakt mit dem Substrat eingeht. Das intrazelluläre Signal entsteht dann in Form eines kleinen Moleküls oder einer Proteinphosphorylierung.

Reizmoleküle, die leicht in die Zelle diffundieren, sowie **physikalische Reize**, wie Licht und Temperatur, werden oft erst im Cytoplasma von cytoplasmatischen Sensoren registriert. Zu den diffusiblen Reizmolekülen gehören Gase (O_2 , H_2 , NO), aber auch bakterielle Botenstoffe (**Pheromone**). Signalmoleküle können auch aus dem Stoffwechsel der Zelle stammen und geben häufig den Entwicklungs- oder Versorgungszustand der Zelle an. Zu diesen Signalmolekülen gehören auch die **Alarmone**, wie z. B. cAMP oder ppGpp, die nur regulatorische Funktion besitzen und eigens zu diesem Zweck von der Zelle synthetisiert werden (Kap. 16.5, 16.6).

Das zelluläre Signal kann auch in der chemischen Modifizierung eines Signalproteins bestehen. Häufig sind es Phosphorylierungskaskaden, die nur aus zwei Proteinen, dem Sensor und dem Antwortregulator, bestehen. Der **Antwortregulator** (Response-Regulator) steuert dann die Genexpression, in einigen Fällen auch die Aktivität von Enzymen oder den Flagellenmotor. Wichtiges Beispiel für eine solche Regulation sind die Zweikomponentensysteme (Kap. 16.3.3).

16.3.2 Regulons, Stimulons und Netzwerke

Umweltsignale können die Expression einer Vielzahl von Genen steuern. So kontrolliert Sauerstoff in dem fakultativ anaeroben Bakterium *E. coli* die Expression mehrerer hundert Gene, die über das Genom verstreut sind. Diese Gene oder Operons besitzen Promotoren, die jeweils von einem entsprechenden Regulatorprotein kontrolliert werden. Dadurch können alle Gene, die für eine bestimmte Stoffwechselsituation, wie O_2 -Mangel, benötigt werden, gemeinsam reguliert werden. Unabhängige Gene oder Operons, die durch das gleiche Regulatorprotein reguliert werden, bezeichnet man als **Regulon** (Abb. 16.5). Wichtige Umweltreize, z. B. Sauerstoff, werden oft über mehrere unabhängige Sensoren erkannt, die eigene Regulons kontrollieren. Operons, die durch den gleichen Reiz (z. B. Sauerstoff), aber möglicherweise mittels verschiedener Regulatorproteine kontrolliert werden, werden dagegen als **Stimulon** bezeichnet (Abb. 16.5).

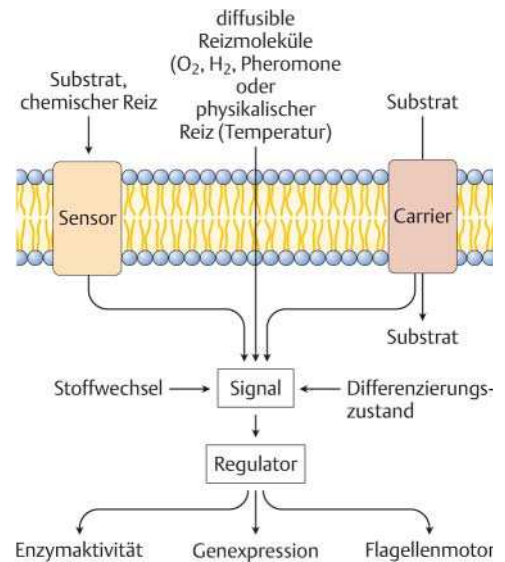


Abb. 16.4 Reizerkennung durch Bakterienzellen. Die Reizerkennung erfolgt meist durch spezifische membrangebundene Sensoren oder Carrier (z. B. Glucosetransporter). Diffusible Reizmoleküle oder physikalische Reize (Temperatur) werden oft im Cytoplasma registriert. Intrazelluläre Signale können den Stoffwechsel- oder Differenzierungszustand der Zelle wiedergeben.

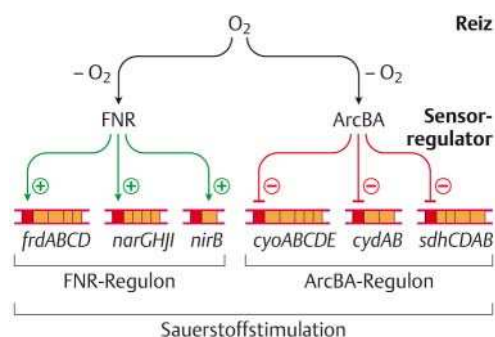


Abb. 16.5 Sauerstoffstimulon in *E. coli*. Das Stimulon umfasst zwei Regulons. Die Gene eines Regulons werden jeweils von einem gemeinsamen Regulator (hier den Sauerstoffsensoren FNR bzw. ArcBA) kontrolliert. FNR aktiviert unter Anaerobie die Expression vieler Gene des anaeroben Stoffwechsels, vor allem des anaeroben Elektronentransports. Dazu gehören die Strukturgene der Fumaratreduktase *frdABCD*, der Nitratreduktase *narGHJI* und der löslichen Nitritreduktase *nirB*. Das Zweikomponentensystem ArcBA reprimiert unter Anaerobie viele Gene des aeroben Stoffwechsels, z. B. aus dem Citratzyklus und der aeroben Atmung, wie die Strukturgene der Chinoloxidasen *cyoABCD* und *cydAB* und der Succinatdehydrogenase *sdhCDAB*.

Einzelne Umweltsignale steuern eine Vielzahl von Genen, die für die Anpassung an den Reiz erforderlich sind. So kontrolliert die Verfügbarkeit von Sauerstoff in *E. coli* nicht nur den aeroben und anaeroben Energie-stoffwechsel, sondern auch die Synthese der zugehörigen Cofaktoren, z. B. der Chinone oder Häm-Moleküle. In Tabelle 16.3 sind einige **übergeordnete Regelkreise** von Bakterien zusammengestellt. Sie steuern wichtige übergeordnete Funktionen verschiedener Systeme, wie Stoffwechsel, Stressantwort, Differenzierung und Interaktion mit anderen Bakterien.

Tab. 16.3 Wichtige übergeordnete Regelkreise von Bakterien. Soweit nicht anders angegeben, stammen die Beispiele aus *E. coli*.

System	Reiz	Sensor/Regulator
Stoffwechsel		
Glucoserepression	Glucose im Medium	Glucosetransport/CRP mit cAMP
stringente Kontrolle	Aminosäuremangel, unbeladene tRNA	Ribosom/RNA-Polymerasen mit ppGpp
aerober Stoffwechsel	Verfügbarkeit von O_2	Zweikomponentensystem ArcB/ArcA
anaerobe Atmung, Gärung	Fehlen von O_2	FNR (Sauerstoffsensor und Regulator)
N-Assimilierung	Mangel an NH_3	Zweikomponentensystem NtrB/NtrC mit σ^{54}
Stressantwort		
Osmoregulation	osmotischer Druck, K^+ -Konzentration	Zweikomponentensysteme EnvZ/OmpR und KdpD/KdpE
oxidativer Stress	reaktive O_2 -Produkte (H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$)	OxyR und SoxRS
genereller Stress	Wachstumsrate, C-Mangel, T, u. a.	Regulatoren: RssB, σ^{38} (σ^S) und Proteasen
Hitzeschock	Temperatur, Proteindenaturierung	Regulatoren: <i>rpoH</i> -mRNA, σ^{32} und Proteasen
Differenzierung		
Sporulation (<i>Bacillus</i>)	Umweltreize, Stoffwechsel, Zellzyklus	Zweikomponentensysteme und σ -Faktoren
asymmetrische Zellteilung (<i>Caulobacter</i> , <i>Myxococcus</i>)	Differenzierung	Zweikomponentensysteme Ser/Thr-Proteinkinasen, Proteasen
Interaktion mit Wirt, anderen Bakterien oder Umwelt		
Chemotaxis	Lock- und Schreckstoffe (Aminosäuren, Zucker, O_2)	Methyl-Chemotaxisproteine CheAY-Zweikomponentensystem
Quorum Sensing	Pheromone (Homoserinlactone, Peptide)	Zweikomponentensystem und Lux-Proteine

16.3.3 Aufbau und Funktion von Zweikomponentensystemen

Zweikomponentensysteme sind die wichtigsten Systeme, mit denen Bakterien Umweltreize erkennen und verarbeiten. *E. coli* besitzt mehr als 30 verschiedene Zweikomponentensysteme. Diese sind in geringer Zahl auch in Pflanzen und Pilzen zu finden, nicht aber in Tieren. Wie der Name andeutet, bestehen sie aus zwei Proteinen, der Sensorkinase und dem Antwortregulator (Abb. 16.6). Die **Sensorkinase** ist im typischen Fall in der Cytoplasmamembran lokalisiert und überspannt die Membran. Sie erkennt mit einer Sensordomäne den Umweltreiz auf der Außenseite (bei gramnegativen Bakterien im Periplasma). Daraufhin wird eine Kinasedomäne auf der cytoplasmatischen Seite aktiviert, indem diese sich selbst an einem Histidinrest mit ATP phosphoryliert. Der Phosphatrest wird autokatalytisch auf einen Aspartatrest des zugehörigen **Antwortregulators (Response-Regulator)** übertragen, der dadurch aktiviert wird. Der Regulator bindet an den Zielpromotor und steuert die Transkription der Zielgene. Die Reaktion der Zelle kann in einer veränderten Stoffwechselaktivität, einer Stressantwort oder einer Differenzierungsreaktion bestehen. Nach Abklingen des Reizes wird der Antwortregulator durch eine Phosphatase dephosphoryliert (inaktiviert). Die Phosphatase kann ein weiteres Protein sein, doch in vielen Fällen besitzen Antwortregulator oder Sensor diese Phosphataseaktivität.

Diese Sensoren sind aus verschiedenen Domänen aufgebaut. Sie werden als Histidin-Proteinkinase bezeichnet, weil sie ATP-abhängig an einem Histidinrest in einer konservierten Kinasedomäne phosphoryliert werden. Die Sensordomäne des Proteins ist spezifisch für den Reiz und kann deshalb sehr unterschiedlich aufgebaut sein. Auch der Antwortregulator ist aus unterschiedlichen Domänen aufgebaut. Die regulatorische Domäne ist in vielen Fällen eine DNA-Bindedomäne mit einem Helix-Turn-Helix-Motiv. Ihre Fähigkeit DNA zu binden, wird durch die Phosphorylierung verändert. Weitere bakterielle Sensoren gehören zu den methy-lakzeptierenden Chemotaxisproteinen (MCPs) (Kap. 16.9) und den Serin/Threonin-Proteinkinasen, bei denen der Sensor in Abhängigkeit vom Umweltreiz an einem Serin- oder Threoninrest phosphoryliert wird.

16.4 Regulation von Transkription und Translation

Umweltfaktoren regulieren oft bereits auf der Transkriptionsebene, weil dadurch eine grundlegende Änderung des Stoffwechsels erreicht wird. Die ersten neu synthetisierten Enzyme sind unter Umständen bereits nach wenigen Minuten nachweisbar, die Etablierung des neuen Stoffwechselweges dauert wesentlich länger, da große Mengen an Enzym gebildet werden müssen. Die alten Enzyme werden teilweise abgebaut oder, wie es meistens der Fall ist, bei der Zellvermehrung ausverdünt. Bei der posttranslationalen Regulation dagegen kann der Stoffwechsel in Millisekunden (allosterische Regulation) bzw. Sekunden bis wenigen Minuten (Proteinmodifikation) umgestellt werden.

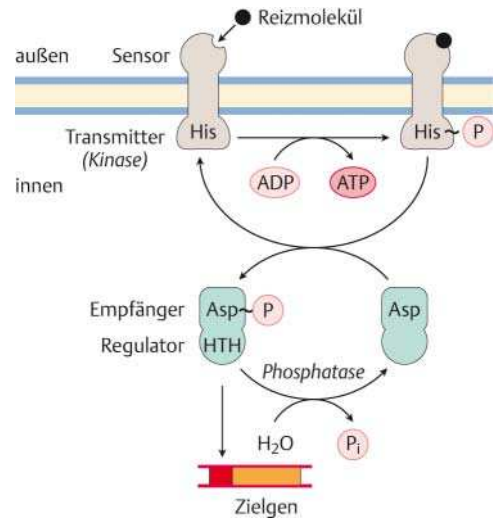


Abb. 16.6 Aufbau und Funktion eines Zweikomponentensystems zur Regulation. Der Sensor (Histidin-Proteinkinase) ist ein Homodimer aus einer Sensor- und einer Kinase- (oder Transmitter-) Domäne. Der Phosphatrest wird von ATP auf die Kinasedomäne übertragen, energiereich als Histidinphosphat gebunden und auf den Aspartatrest des korrespondierenden Response-Regulators transferiert. Der Response-Regulator besteht aus einer Empfängerdomäne für das Phosphat und einer regulatorischen DNA-Bindedomäne (Helix-Turn-Helix, HTH). Der Regulator wird entweder durch seine eigene kontinuierliche Phosphataseaktivität, oder eine Aktivität der Sensorkinase bei Fehlen des Reizes, oder eine unabhängige Phosphatase dephosphoryliert.

16.4.1 Regulation der Transkription durch DNA-bindende Proteine

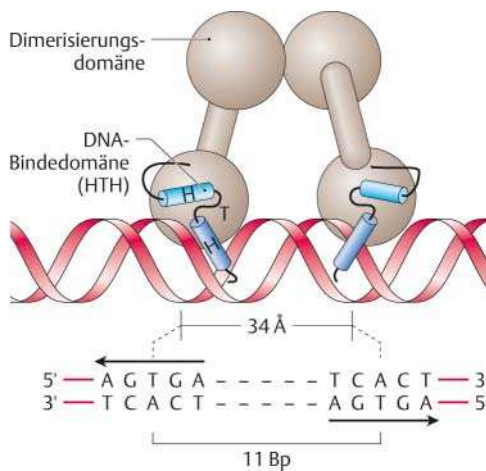


Abb. 16.7 DNA-Bindung durch Transkriptionsregulatoren. Transkriptionsregulatoren haben in Bakterien oft ein Helix-Turn-Helix-(HTH-)Motiv und sind dimere oder tetramere Proteine. Die beiden Monomere binden mit der großen Helix des HTH-Motivs sequenzspezifisch an zwei aufeinander folgende großen Furchen der DNA. Diese Bindungsstelle auf der DNA besteht aus invertierten (palindromen) Sequenzen.

Die Initiation der Transkription umfasst die Bindung der RNA-Polymerase an den Promotor, die Bildung des offenen Transkriptionskomplexes und das Freisetzen des Promotors, d. h. den Start der Elongation (Kap. 15.8.1). Transkriptionskontrolle setzt meist an einem der beiden ersten Schritte an. Die Wechselwirkung der RNA-Polymerase mit dem Promotor kann durch DNA-bindende Proteine verstärkt oder geschwächt werden. Sehr viele bakterielle DNA-bindende Proteine besitzen eine **sequenzspezifische DNA-Bindedomäne** mit einem **Helix-Turn-Helix-Motiv** (Abb. 16.7). Die erste Helix bindet als Erkennungshelix sequenzspezifisch in der großen Furche der DNA. Die zweite Helix stabilisiert die Bindung durch Wechselwirkung mit dem Rückgrat der DNA. DNA-bindende Proteine dieser Art sind Homodimere oder Tetramere mit spiegelbildlich symmetrischer Anordnung der DNA-Bindedomäne. Die Zentren der beiden Bindedomänen besitzen einen Abstand von 34 Å. Diese Länge entspricht der Ganghöhe der DNA, sodass die beiden Erkennungssequenzen in zwei aufeinander folgende Furchen der DNA passen. Dieses Konstruktionsprinzip spiegelt sich auch in der Nukleotidsequenz der DNA wider. Die **Bindungssequenzen** sind Palindrome, d. h. sie sind aus zwei invertierten, spiegelbildlich angeordneten Sequenzen mit einem Abstand von 11 Basenpaaren aufgebaut, der ebenfalls der Ganghöhe der DNA entspricht. Dadurch liegen die beiden Erkennungssequenzen passgenau in aufeinander folgenden Furchen der DNA und werden so von den beiden Erkennungshelices eines dimeren Bindeproteins erkannt.

Negative Regulation durch Repressorproteine

Bei der negativen Kontrolle verhindert ein Repressorprotein am Promotor die Transkription des Operons. Zwei Fälle lassen sich unterscheiden: Repression und Induktion.

Repression. Die Expression der Enzyme für Biosynthesewege wird oft reprimiert, wenn das Endprodukt des Stoffwechsels vorliegt. So wird die Expression des *trpEDCBA*-Operons, das für die Enzyme der Tryptophansynthese codiert, in Anwesenheit von Tryptophan durch den Trp-Repressor (TrpR) reprimiert (Abb. 16.8). TrpR ist ein allosterischer Repressor, der nach Bindung des Corepressors Tryptophan in die aktive Konformation gelangt und an den Operator bindet. Der Operator überlappt mit dem Promotor und blockiert so Zutritt und Bindung der RNA-Polymerase. Dieser Transkriptionsregulation ist eine Feinregulation durch **Attenuation** (Kap. 16.4.2) überlagert, bei der das *trpL*-Gen für das Leitpeptid TrpL codiert und Angriffspunkt für die Regulation durch Attenuation ist.

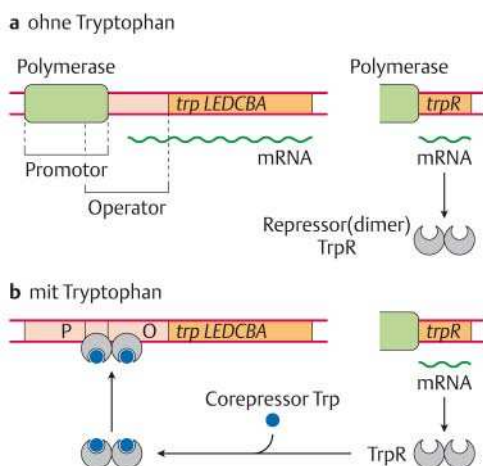


Abb. 16.8 Negative Regulation eines Biosyntheseoperons. Das *trpLEDCBA* Operon kodiert für die Enzyme der Tryptophanbiosynthese aus Chorismat. **a** Wenn Tryptophan fehlt, werden die Strukturgene abgelesen und die Enzyme synthetisiert. **b** Ist genügend Tryptophan vorhanden, bindet dieses an den TrpR-Trp-Repressorkomplex, der dann den Promotor und damit die Synthese der Enzyme blockiert.

Induktion. Negative Regulation ist auch bei vielen katabolen Operons zu finden, deren Gene für Abbaupfade codieren. Das *lac*-Operon wird erst in Anwesenheit des Substrats Lactose induziert (Abb. 16.9). Der tetramere Lac-Repressor LacI bindet an den Operator und verhindert die Bindung der RNA-Polymerase. Im Unterschied zur negativen Regulation von Biosynthesewegen ist hier der Repressor zunächst aktiv und inhibiert die Expression der Strukturgene. Der Induktor Allolactose, der aus Lactose gebildet wird (Kap. 16.5), inaktiviert den Repressor. Der Promotor ist nicht länger blockiert und die Transkription wird möglich.

Positive Regulation durch Aktivatorproteine

Bei der positiven Kontrolle stimuliert ein Genaktivatorprotein am oder nahe am Promotor die Transkription des Operons. Die positive Kontrolle unterscheidet sich von der repressorabhängigen Induktion, wie sie für das *lac*-Operon dargestellt wurde. Bei der Induktion wird die verstärkte Expression durch Inaktivierung des Repressorproteins erreicht. Bei der Genaktivierung dagegen verursacht die Bindung des Aktivatorproteins an den Promotor die verstärkte Expression. Beide Mechanismen können durch genetische Methoden unterschieden werden. Der Verlust eines Genaktivators, z. B. durch Deletion, führt dazu, dass seine Zielgene selbst unter induzierenden Bedingungen nicht mehr exprimiert werden. Wird dagegen das Gen für den Repressor eines induzierbaren Promotors deletiert, hat das die permanente Induktion der Gene zur Folge.

Bei der Genaktivierung bindet das Aktivatorprotein am Promotorbereich (Abb. 16.10). Promotoren von aktivierbaren Genen sind oft schwache Promotoren mit niedriger Affinität für die RNA-Polymerase. Durch Wechselwirkung mit dem Enzym verbessert der Genaktivator die Bindung oder Positionierung der RNA-Polymerase und die Transkription. In anderen Fällen wird durch diese Wechselwirkung auch der Übergang in den offenen Transkriptionskomplex erleichtert. Beide Effekte haben eine erhöhte Transkription zur Folge.

Für die Wirkung des Aktivators ist eine spezifische Wechselwirkung mit der RNA-Polymerase nötig. Ein gut untersuchter Genaktivator ist das **CRP** (engl. **cAMP receptor protein**), auch **CAP** (Catabolite Activator Protein) genannt. CRP ist, wie viele Repressoren, ein Dimer, das über eine Helix-Turn-Helix-Domäne an die DNA bindet. CRP wird erst durch seinen Coaktivator cAMP (zyklisches AMP) in eine bindungskompetente Form gebracht. Die Bindungsstelle von CRP oder anderen Genaktivatorproteinen liegt meist stromaufwärts des Promotors (Kap. 15.8). In vielen Fällen führt der Genaktivator dabei eine Krümmung in die DNA ein, welche die Bildung des geschlossenen und offenen Komplexes fördert.

Regulation durch komplexe Promotoren

Die Expression vieler Gene wird durch mehrere Reize und Regulatoren kontrolliert. Die Promotoren besitzen dementsprechend Bindungsstellen für verschiedene Regulatorproteine und werden durch diese einzeln oder in Kombination reguliert. Aktivatoren können an Stellen binden, die bis zu 200 Basenpaare stromaufwärts vom Promotor liegen. Zur Wechselwirkung mit der RNA-Polymerase, die am Promotor bindet, kann der dazwischen liegende DNA-Bereich eine Schleife ausbilden. Damit können mehrere und entfernt an die DNA bindende Regulatoren die RNA-Polymerase am Promotor beeinflussen (Abb. 16.11a). Die Schleife

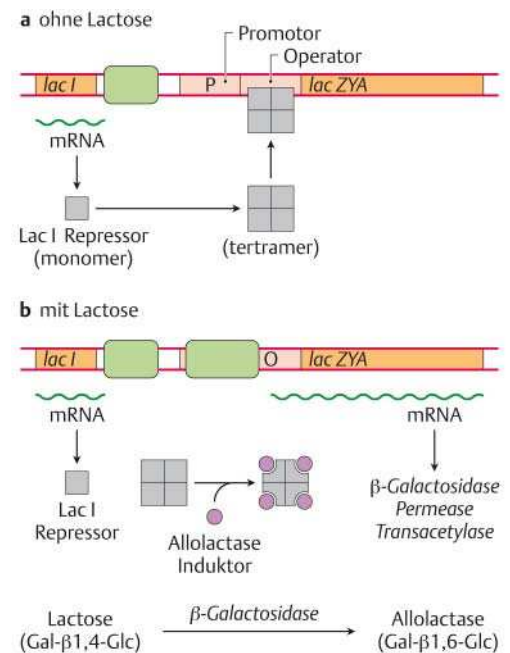


Abb. 16.9 Induktion eines katabolen Operons. Das *lacZYA*-Operon codiert für die Gene des Lactosestoffwechsels von *E. coli*, die β -Galactosidase (*lacZ*), die Lactosepermease (*lacY*) und eine Thiogalactosid-Acetyltransferase (*lacA*). Der Lac-Repressor LacI blockiert am Operator O die Transkriptionsinitiation. Allolactose (Gal- β 1,6-Glc) inaktiviert den Repressor LacI und induziert die Genexpression (Induktion).

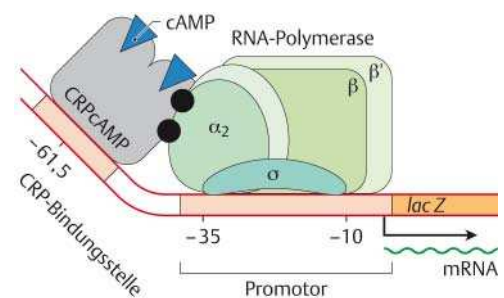


Abb. 16.10 Aktivierung der Transkription durch ein Genaktivatorprotein. Jedes Monomer des dimeren Proteins CRP (*cAMP receptor protein*) bindet ein Molekül cAMP. CRP-cAMP interagiert über spezifische Kontaktstellen mit der RNA-Polymerase und stimuliert deren Bindung. Dadurch wird die DNA gebogen und es bildet sich ein offener Transkriptionskomplex.

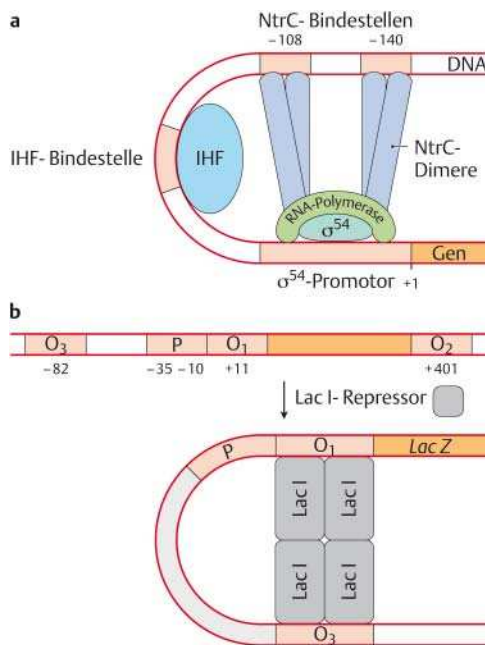


Abb. 16.11 Schleifenbildung in der Promotor-DNA. Genregulatoren können Schleifen in der DNA induzieren und so die Transkription beeinflussen. **a** Bindung von Genregulatoren an einem Gen, das durch den Stickstoffregulator NtrC (Abb. 16.26) und den alternativen σ -Faktor σ^{54} reguliert wird. Das IHF-Protein führt eine DNA-Krümmung ein. **b** Der lacZ-Promotor enthält drei Operatoren (O₁, O₂, O₃), von denen eine (O₂) innerhalb der Codierungssequenz für die β -Galactosidase liegt. Kooperative Bindung des Repressors LacI an mehrere Operatoren (z. B. O₁ und O₃) verstärkt die Repression.

fenbildung wird durch DNA-strukturierende Proteine unterstützt. Eines dieser Proteine ist IHF (engl. integration host factor), das an viele komplex aufgebaute Promotoren bindet. Viele Promotoren besitzen auch mehrfache Bindungsstellen für Repressoren der gleichen Art. Beispiele hierfür sind das lacZYA-Operon, das drei Bindungsstellen für den Lac-Repressor trägt (Abb. 16.11b), oder das ara-Operon mit dem Regulator AraC für den Arabinosestoffwechsel von *E. coli*. AraC wirkt in Abwesenheit von Arabinose als Repressor. Unter stark reprimierenden Bedingungen sind mehrere der Operatoren besetzt. Durch Ausbildung einer DNA-Schleife treten die Repressoren in Kontakt und stabilisieren ihre Bindung und Repression kooperativ. Der Promotor liegt dann innerhalb der Schleife und kann nicht abgelesen werden.

Alternative σ -Faktoren

Eubakterien besitzen im Gegensatz zu Eukaryonten nur eine RNA-Polymerase, die aus vier Untereinheiten aufgebaut ist ($\alpha_2\beta\beta'$, auch **core-Enzym** genannt). Das core-Enzym benötigt zum Transkriptionsstart, nicht aber zur Elongation, die **σ -Untereinheit**, die zusammen mit den anderen Untereinheiten das Holoenzym bildet. Die σ -Untereinheit ist für die Erkennung des Promotors und die spezifische Bindung der RNA-Polymerase erforderlich. Durch Verwendung alternativer σ -Faktoren unterscheiden RNA-Polymerasen verschiedene Promotorklassen. Die Bakterien haben so die Möglichkeit, je nach Umweltbedingungen, Wuchs- und Differenzierungsphase einzelne Promotorklassen auszuwählen und entsprechende Gene zu transkribieren. *E. coli* besitzt z. B. neben dem **Standard- σ -Faktor** σ^{70} , der für die Transkription der Gene des allgemeinen Stoffwechsels nötig ist, **6 alternative σ -Faktoren**. Diese sind für die Expression von Genen bestimmter Funktionen, oft eine Stressantwort, nötig, wie für Operons der Stickstoffassimilierung (σ^{54}), der generellen Stressantwort (σ^{38} , auch σ^S genannt), des Hitzeschocks (σ^{32} und σ^{24}), der Flagellensynthese (σ^{28}) und einiger Gene der Eisenaufnahme (σ^{19}). Die Benennung der σ -Faktoren folgt der relativen Molmasse (σ^{70} hat z. B. eine Masse von 70 kDa). *B. subtilis* verwendet σ -Faktoren ebenfalls zur Regulation der Stressantwort und zur Kontrolle der Differenzierungsprozesse in der Endosporenbildung. Unter entsprechenden Bedingungen nimmt die Konzentration der zugehörigen σ -Faktoren oder ihrer aktiven Form zu oder es findet eine Hemmung störender σ -Faktoren statt. Dadurch werden entsprechende Gengruppen in einer festgelegten zeitlichen Reihenfolge exprimiert.

16.4.2 Kontrolle durch regulatorische RNA und Attenuation

Eine Regulation ist auch auf der Ebene der RNA möglich. Bakterien besitzen neben der codierenden mRNA und der nichtcodierenden RNA (tRNA, rRNA) eine beträchtliche Zahl von Genen für regulatorische (nichtcodierende) RNAs, die eine Größe von 50–250 Nukleotiden aufweisen. Sie werden als kleine regulatorische RNA oder **sRNA (small RNA)** bezeichnet. Die regulatorische RNA kann die Genfunktion oder Expression auf vielfältige Weise beeinflussen.

Eine Klasse von sRNAs verschiedener Bakterien ist für die Regulation der **Translation** verantwortlich. Dazu gehören die oxyS- und die micF-RNA. Die oxyS-RNA bildet mit dem RNA-bindenden Protein Hfq einen Komplex. Dieser kann an die Ribosomenbindungsstelle des rpoS-Gens binden, das für σ^{38} codiert, und behindert dessen Translation (Kap. 16.6). Die

micF-RNA blockiert als *antisense*-RNA die Ribosomenbindung und Translation des *ompF*-Gens, das für ein Porin codiert.

Eine zweite Klasse von sRNA beeinflusst die **Funktion von Proteinen**. So akkumuliert in der Stationärphase von *E. coli* 6S-RNA, die an den σ^{70} -RNA-Polymerasekomplex bindet. Dadurch wird die Transkription der Standardpromotoren behindert und σ^{38} -abhängige Promotoren mit den zugehörigen Genen der Stationärphase und der Stressantwort werden verstärkt exprimiert (Kap. 16.6).

Eine dritte Klasse regulatorischer RNAs sind mRNA-Moleküle, die am **5'-Ende Strukturen** ausbilden, welche die Translation behindern. Diese Strukturen sprechen auf Umweltsignale an. So wird die Faltung des 5'-Endes der *rpoH*-mRNA, die für den Hitzeschockregulator σ^{32} von *E. coli* codiert, thermisch kontrolliert (Kap. 16.7). Eine Sekundärstruktur des 5'-Bereichs schmilzt bei 42°C und kann dann translatiert werden. In anderen Fällen, wie z. B. bei einigen Genen der Vitaminsynthese (Vitamin B₁₂, Thiamin) oder Flavinmononukleotid-(FMN)-Biosynthese, wird die Struktur der mRNA direkt durch die Bindung des Effektors verändert, ohne dass Proteine beteiligt sind. Dies ändert die Translation oder die mRNA-Stabilität. Domänen der mRNA, die ein Signalmolekül direkt erkennen und die Translation der eigenen mRNA kontrollieren, werden als **Riboswitch** oder **RNA-Schalter** bezeichnet.

Die **Attenuation** besitzt Merkmale der transkriptionellen, aber auch der posttranskriptionellen Regulation und erfordert die direkte Kopplung zwischen Transkription und Translation, wie sie in Bakterien zu finden ist. Gene, die einer Attenuation unterliegen, enthalten eine Leitsequenz deren mRNA sich in zwei alternativen Sekundärstrukturen falten kann. Eine dieser Strukturen erlaubt Transkription, die andere führt zu vorzeitiger Termination (Abb. 16.12a).

Attenuation ist häufig bei der Regulation der Gene der Aminosäurebiosynthese zu finden. Im Fall der **Tryptophanbiosynthese** überlagert sie die

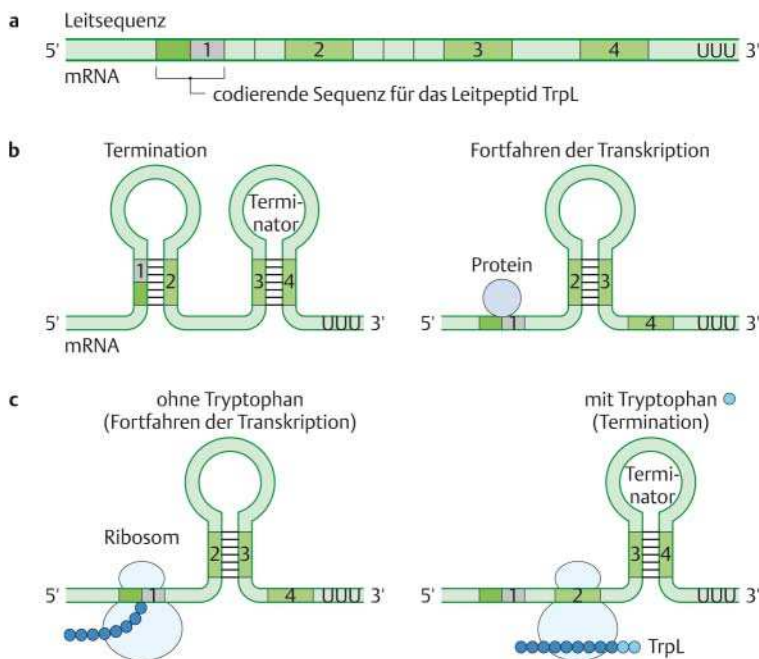


Abb. 16.12 Regulation des Tryptophan- (*trp*-) Operons durch Attenuation. **a** Die Leitsequenz (5'-Ende des *trpLEDCBA*-Operons) enthält die Abschnitte 1–4, die Basenpaarungen eingehen können. Die codierende Sequenz für das TrpL-Leitpeptid überlappt mit Abschnitt 1. **b** Alternative Sekundär-(Haarnadel-)Strukturen der Leitsequenz, die in Abwesenheit (links) und in Gegenwart (rechts) eines RNA-bindenden Proteins (z. B. Ribosomen) ausgebildet werden. Das Bindeprotein besetzt den Abschnitt 1. **c** Attenuation des *trp*-Operons. Ohne Tryptophan (die tRNA^{Trp} ist nicht mit Trp beladen) stoppt das Ribosom an Abschnitt 1 und das Leitpeptid wird nicht vollständig synthetisiert. Abschnitt 2 und 3 bilden eine Haarnadelstruktur und die Strukturgene für die Synthese von Tryptophan werden abgelesen (links). In Anwesenheit von Trp wird das Leitpeptid fertiggestellt, das Ribosom wandert zu Abschnitt 2, und Abschnitt 3 und 4 bilden eine Haarnadelstruktur, die die Termination der Transkription verursacht.

Plus 16.4 Die Transkription archaebakterieller Gene

Die Strukturgene der Archaeobakterien sind vielfach in Operons organisiert und werden wie bei Eubakterien gemeinsam transkribiert. Der Transkriptionsapparat der Archaeobakterien besteht aus einer RNA-Polymerase mit etwa 12 Untereinheiten und Transkriptionsfaktoren, die der eukaryontischen RNA-Polymerase II, dem eukaryontischen TATA-Box-bindenden Protein und dem TFIIB-Protein ähnlich sind. Dieser Komplex ist für die basale Transkription vieler Operons nötig, ist jedoch einfacher aufgebaut als der eukaryontische, der mindestens 25 Polypeptide umfasst. Trotz der Ähnlichkeit zum eukaryontischen Transkriptionskomplex enthalten die Archaeobakterien eubakterientypische Genregulatoren. Die Transkriptionskontrolle erfolgt nach einem ähnlichen Prinzip wie in Eubakterien, indem die Regulatorproteine die Bindung der RNA-Polymerase an den Promotor kontrollieren. So enthalten die Archaeobakterien Regulatoren, die wie Repressoren der Eubakterien funktionieren und den Zutritt der Polymerase zum Promotor und ihre Bindung kontrollieren. Eukaryonten verwenden dagegen zur Ausbildung des Transkriptionskomplexes und zum Start der Transkription spezifische Transkriptionsfaktoren.

Regulation des *trp*-Operons durch den Trp-Repressor (Abb. 16.8). Die Leitsequenz des *trp*-Operons enthält vier Abschnitte (1–4), deren mRNA alternative Sekundärstrukturen ausbildet (Abb. 16.12a). Ohne äußere Beeinflussung paaren die Abschnitte 1/2 und 3/4. Dadurch entstehen zwei haarnadelartige Strukturen, wobei der zweiten eine Poly-UUU-Sequenz folgt. Die zweite Haarnadel stört die Elongation und wirkt als Terminator der Transkription, weil die Poly-UUU-Sequenz die Auflösung des Transkriptionskomplexes fördert. Wird jedoch Abschnitt 1 durch ein Protein besetzt, erfolgt die alternative Paarung zwischen 2 und 3, deren Haarnadelstruktur nicht als Terminator wirkt.

Wie erfolgt die Regulation am *trp*-Operon? Die Leitsequenz des *trp*-Operons codiert für ein Leitpeptid von 14 Aminosäuren, das zwei aufeinanderfolgende Codons für Tryptophan enthält. Ist Tryptophan und daher auch beladene Trp-tRNA vorhanden, wird die Leitsequenz, die mit Abschnitt 1 und 2 der Attenuatorregion überlappt, vollständig translatiert (Abb. 16.12b). Dadurch bildet sich die Haarnadelstruktur zwischen 3 und 4 aus und die Transkription bricht ab. Fehlt dagegen Trp und auch entsprechend beladene tRNA, stoppt die Translation bereits bei den *trp*-Codons in Abschnitt 1. Als Folge bildet sich die Haarnadel zwischen Abschnitt 2 und 3 und die Transkription wird nicht terminiert. Die Strukturgene werden also nur bei niedriger Tryptophankonzentration abgelesen.

In ähnlicher Form wird die Transkription der Operons für die Histidin-, Phenylalanin- und Threoninbiosynthese reguliert. Alle diese Operons codieren kurze Leitpeptide mit bis zu 21 Aminosäuren, die 7 His-, 7 Phe-Reste bzw. 11 Aminosäuren aus der Threoninfamilie enthalten.

In Archaeobakterien folgt die Transkriptionskontrolle der Gene ähnlichen Prinzipien wie bei Eubakterien (Plus 16.4).

16.5 Regulation von Katabolismus und Energiestoffwechsel

Bakterien nutzen ein breites Spektrum an Energiesubstraten. Die Stoffwechselwege, die dafür erforderlich sind, werden meist nur bei Bedarf induziert. So wird in *E. coli* der Lactose- oder der Glycerinstoffwechsel durch Lactose und den Lac-Repressor, bzw. Glycerin und den Regulator GlpR induziert. Viele Bakterien bevorzugen bestimmte Substrate. Solche Substrate, wie Glucose, stehen oft dem Zentralstoffwechsel sehr nahe. Jedoch können auch andere Substrate, die am Standort des Bakteriums eine besondere Bedeutung haben, bevorzugt genutzt werden. Die Bakterien sind an diese Substrate adaptiert; dies gilt z.B. für die Nutzung von Kohlenwasserstoffen oder Fettsäuren durch *Pseudomonas*-Arten.

Die Regulation des Kohlenstoffkatabolismus durch übergeordnete oder bevorzugte Substrate wird als **Katabolitregulation** oder **Glucoserepression** bezeichnet. Transkriptionsregulatoren stellen sicher, dass z. B. bei gleichzeitiger Anwesenheit von Glucose und Lactose zunächst Glucose umgesetzt wird. Bei Anwesenheit von zwei Substraten ist zweiphasiges Wachstum zu beobachten, das durch die sequenzielle Verwertung der Substrate verursacht wird (**Diauxie**). Von ähnlicher Bedeutung ist die Wahl der Elektronenakzeptoren und der zugehörigen Stoffwechselwege bei fakultativ anaeroben Bakterien. Viele dieser Bakterien können durch aerobe oder anaerobe Atmung oder Gärung wachsen und nutzen die **Elektronenakzeptoren** gemäß einer **Hierarchie** (Kap. 13.1). Hier soll die übergeordnete katabole Regulation durch Glucose in gramnegativen (*E. coli*)

und grampositiven (*B. subtilis*) Bakterien und die Regulation des Energiestoffwechsels fakultativ anaerober Bakterien durch Sauerstoff besprochen werden.

16.5.1 Übergeordnete Regulation des Kohlenstoffkatabolismus

In vielen Bakterien ist Glucose das bevorzugte Kohlenstoff- und Energie-substrat. In *E. coli* ist **CRP (cAMP Receptor Protein)** (Abb. 16.10) für die Glucoserepression verantwortlich. Dieser Regulator steuert die Expression einer Vielzahl von Genen, die für die Verwertung alternativer Substrate benötigt werden. Als Sensor für Glucose dient der Glucosetransport, der die Bildung des intrazellulären Signals oder Alarmons cAMP (Abb. 16.13) steuert. Die Glucoseaufnahme erfolgt durch das **Phosphotransferase-system (PTS)**. Dabei wird über eine Enzymkaskade der Phosphatrest des Phosphoenolpyruvats (PEP) in energiereicher Form auf das Enzym EIIA übertragen, das dann den **Glucose-Carrier (EIIBC)** phosphoryliert (Abb. 16.14). Die Glucose wird bei der Aufnahme phosphoryliert. Dabei wird der Phosphatrest verbraucht und das Enzym EIIA liegt in der dephosphorylierten Form vor. Ist dagegen keine Glucose im Medium vorhanden, ist EIIA zum größten Teil phosphoryliert. EIIA~Phosphat interagiert mit der **Adenylatcyclase**, stimuliert deren Aktivität und es entsteht cAMP. Der cAMP-Spiegel ist also ein Maß für die Verfügbarkeit von Glucose – ist er niedrig, ist viel Glucose vorhanden, ist er hoch, herrscht ein Mangel.

Die Wirkung von cAMP und die Glucoserepression soll am Beispiel der **Lactoseverwertung** erläutert werden (Abb. 16.15). Das *lac*-Operon codiert für drei Proteine des Lactoseabbaus, darunter eine β -Galactosidase (LacZ), die das Disaccharid Lactose (Glc- β -1,4-Gal) spaltet. Der Lac-Repressor LacI bindet bei Lactosemangel an den Operator und verhindert die Bindung der RNA-Polymerase. Ändern sich die Bedingungen und Lactose ist vorhanden, bildet die β -Galactosidase als Nebenreaktion durch Transglykosylierung aus Lactose Allolactose (Glc- β -1,6-Gal), die Induktor des LacI-Repressors ist. Der LacI/Allolactose-Komplex fällt vom Operator ab und gibt den Promotor frei (Abb. 16.9, S. 501). Eine effektive Transkription des *lac*-Operons erfordert zusätzlich jedoch eine Genaktivierung durch den CRPcAMP-Komplex. Bei Glucosemangel ist der Gehalt an cAMP hoch. CRPcAMP bindet stromaufwärts des Promotors und stimuliert die Expression des *lac*-Operons durch Bildung eines Transkriptionskomplexes mit der RNA-Polymerase. Damit sind erst in Anwesenheit von Lactose (Lactoseinduktion) und gleichzeitigem Fehlen von Glucose (Wegfall der Glucoserepression und Genaktivierung durch CRPcAMP)

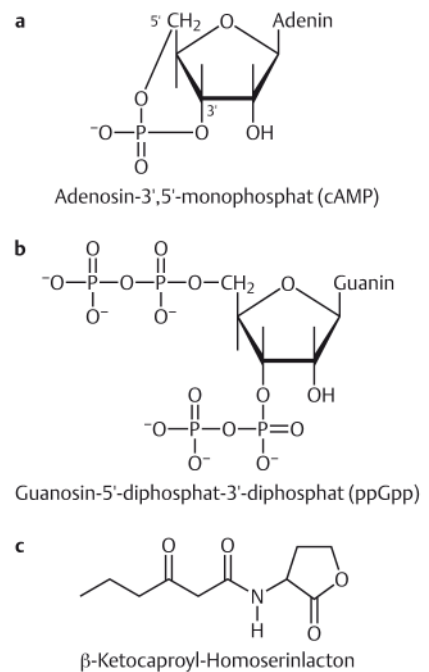


Abb. 16.13 Einige wichtige Alarmone und Signalstoffe aus Bakterien. a CycloAMP, (cAMP), beteiligt an der Glucoserepression der Enterobakterien. b Guanosintetraphosphat, beteiligt an der stringenten Kontrolle in *E. coli*. c Homoserinlacton, das Pheromon (oder Autoinduktor) von *Vibrio fischeri*.

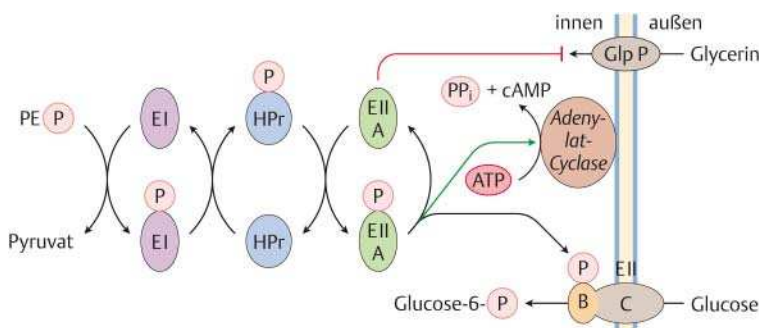
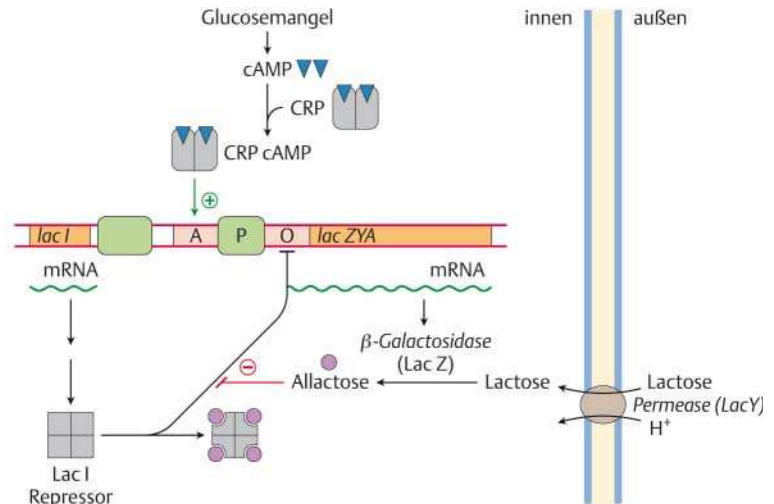


Abb. 16.14 Glucoserepression in *E. coli*. Das Glucose-Phosphotransferasesystem (PTS) ist ein Glucosensor. Der Glucose-Carrier EIIBC wird über die Proteine EI, HPr und EIIA phosphoryliert. Der Phosphorylierungsgrad von EIIA hängt vom Glucosegehalt ab. Bei Glucosemangel (EIIA~P-Gehalt hoch) wird die Adenylatcyclase stimuliert. In Anwesenheit von Glucose hemmt EIIA die Carrier für alternative Substrate, z. B. Glycerin (Induktorausschluss). EI, HPr, EIIA werden an Histidinresten phosphoryliert, EIIBC an einem Cysteinrest.

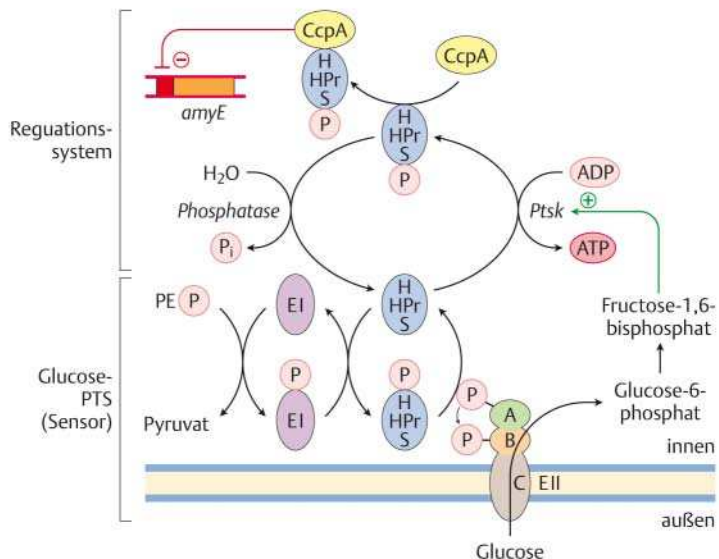
die Bedingungen für die effektive Expression des *lac*-Operons erfüllt. Die Katabolitregulation in grampositiven Bakterien ist etwas verschieden von diesem Beispiel (Plus 16.5).

Abb. 16.15 Transkriptionelle Regulation des *lacZYA*-Operons durch Glucoserepression und Lactoseinduktion. Die lactosespezifische Induktion (Derepression) erfolgt durch den Repressor LacI und Allolactose als Induktor, die Glucoserepression (Katabolitregulation) durch CRP. Der CRP-cAMP-Komplex bindet an die Aktivatorbindestelle A und stimuliert den Transkriptionsstart. Eine effektive Transkription findet nur in Anwesenheit von Lactose und bei fehlender Glucose statt.



Plus 16.5 Katabolitregulation in grampositiven Bakterien

Grampositive Bakterien wie *B. subtilis* oder *Staphylococcus* sp. reprimieren die Verwertung anderer Kohlenstoffquellen, wenn Glucose oder Fructose als leicht verwertbare C-Quellen vorliegen. Diese Bakterien besitzen ein Glucose-Phosphotransferasesystem (PTS), das dem von *E. coli* ähnlich ist (Kap. 9.3.1 und Abb. 9.8). Das EIIA-Protein ist jedoch Teil des membranständigen EIICarriers. Die Bakterien verwenden anstelle des CRP-Proteins den **Repressor CcpA** (Catabolite control Protein A), dessen Funktionszustand durch das HPr-Protein, einem Histidinprotein, kontrolliert wird. Das HPr-Protein wird dazu zusätzlich an einem Serinrest phosphoryliert und reprimiert dann im Komplex mit CcpA die Expression von Genen alternativer Stoffwechselwege. Das Schlüssel-signal ist Fructose-1,6-bisphosphat, dessen Konzentration bei hoher glykolytischer Aktivität steigt und die ein Indikator für die Anwesenheit der leicht verwertbaren glykolytischen Substrate Glucose und Fructose ist.



Glucose-Phosphotransferasesystem und Glucoserepression in grampositiven Bakterien. In grampositiven Bakterien ist EIIA eine Domäne des Glucose-Carriers. Der Repressor CcpA (*catabolite control protein A*) reprimiert zusammen mit HPr die Gene alternativer Abbauwege (z. B. *amyE* für eine α -Amylase). HPr wird durch die Kinase PtsK in Anwesenheit von Fructose-1,6-bisphosphat an einem Serinrest phosphoryliert (regulatorische Phosphorylierung).

16.5.2 Regulation des Stoffwechsels durch Elektronenakzeptoren

In fakultativ anaeroben Bakterien wie *E. coli* hat molekularer Sauerstoff Auswirkungen auf viele Zell- und Stoffwechselfunktionen. Dazu gehören der aerobe und anaerobe Energiestoffwechsel, Schutzmechanismen gegen toxische O_2 -Produkte und die Regulation der Aerotaxis. Wir besprechen hier die **Regulation des Energiestoffwechsels durch O_2** . Die Reaktion auf den O_2 -Stress wird in Kapitel 16.7 behandelt. *E. coli* verwendet verschiedene Wege des Energiestoffwechsels in Abhängigkeit vom O_2 -Angebot: aerobe Atmung, anaerobe Atmung sowie Gärung (Abb. 16.16). Die Reihenfolge entspricht der abnehmenden ATP-Ausbeute (Plus 16.6).

Es wird stets der Stoffwechselweg gewählt, der unter den gegebenen Bedingungen die höchste ATP-Ausbeute ermöglicht. Das Umschalten zwischen den Stoffwechselwegen erfolgt auf der Transkriptionsebene durch Regulatoren, die Elektronenakzeptoren (O_2 , Nitrat, Nitrit, Fumarat) erkennen. Beim Übergang vom aeroben zum anaeroben Wachstum wird die Expression sehr vieler (in *E. coli* mehrerer hundert) Gene verändert. Deshalb stellt O_2 in fakultativen Bakterien wahrscheinlich den wichtigsten regulatorischen Reiz dar.

In dieser hierarchischen Regulation unterdrückt O_2 den anaeroben Energiestoffwechsel und induziert den Citratzyklus und den aeroben Elektronentransport. Unter Anaerobiose reprimiert Nitrat alle anderen Atmungssysteme (z. B. Fumarat- und DMSO-Respiration) und die Gärung. Freie Energie und ATP-Ausbeute nehmen beim Übergang vom aeroben Stoffwechsel zur anaeroben Nitrat- und Fumaratatmung oder Gärung jeweils deutlich ab. Durch diese Regulation wird immer der Stoffwechsel mit der höchsten ATP-Ausbeute genutzt (Plus 16.7, Abb. 16.16).

Plus 16.6 Glucosestoffwechsel in *E. coli* unter Aerobiose und Anaerobiose (vgl. Abb. 16.16)

Glucose wird unter allen Bedingungen zum Pyruvat abgebaut. Bei aerobem Wachstum ($\geq 0,5\%$ Luftsättigung) und Glucoselimitierung wird Pyruvat zu CO_2 oxidiert. Die Reduktionsäquivalente werden in der aeroben Atmung verbraucht. Wenn kein O_2 sondern andere Elektronenakzeptoren (Nitrat, Nitrit, Fumarat, Trimethylamin-N-oxid TMAO, oder Dimethylsulfoxid DMSO) vorliegen, wird Pyruvat unter Beteiligung von Pyruvatdehydrogenase und Pyruvat-Formiat-Lyase nur bis zum Acetat oxidiert (Kap. 7.5.1). Der Citratzyklus ist unter Anaerobiose reprimiert, da die 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase fehlt. Die überschüssigen Reduktionsäquivalente ($8[H]$), die bei der Oxidation der Glucose zu 2 Acetat und 2 CO_2 freigesetzt werden, werden in der anaeroben Respiration zur ATP-Bildung genutzt. Liegt kein externer Elektronenakzeptor vor, wird Pyruvat in einer gemischten Säuregärung fermentiert (Kap. 12.4), wobei Pyruvat durch die Pyruvat-Formiat-Lyase gespalten wird.

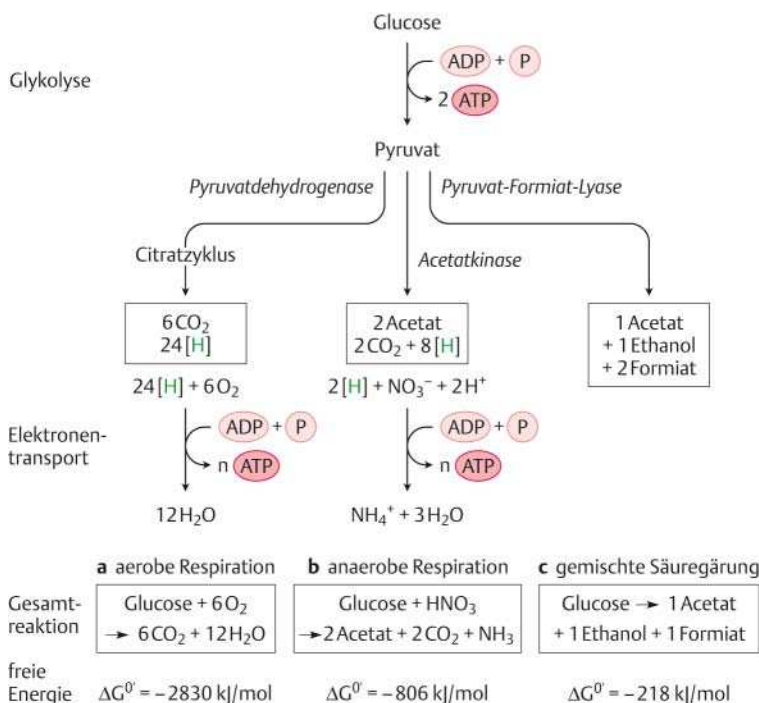


Abb. 16.16 Aerobes und anaerobes Wachstum fakultativ anaerober Bakterien mit Glucose. **a** Aerober Stoffwechsel. **b** In der anaeroben Atmung mit Nitrat, Nitrit, Fumarat, Trimethylamin-N-Oxid (TMAO) oder Dimethylsulfoxid (DMSO) ist der Citratzyklus reprimiert, Pyruvat wird nur zum Acetat oxidiert. **c** Gemischte Säuregärung. Die Werte für die freie Energie ΔG^0 gelten für die Stoffwechselreaktionen von a, b und c.

Plus 16.7 Nutzung alternativer Atmungsketten

Viele Bakterien besitzen verzweigte Atmungsketten, die alternative Redoxenzyme für das gleiche Substrat verwenden (Kap. 7.4.3). So sind in *E. coli* zwei NADH-Dehydrogenasen (NADH-Chinon-Oxidoreduktasen) zu finden. Die NADH-Dehydrogenase I, nicht aber die NADH-Dehydrogenase II, koppelt die Oxidation von NADH an die Translokation von H^+ über die Membran und damit an den Aufbau eines Potenzials (Kap. 7.4.4). Das Enzym katalysiert in der NADH-Fumarat-Atmung den einzigen energiekonservierenden Schritt und ist deshalb unter diesen Bedingungen essenziell. In der aeroben Atmung dagegen gibt es weitere Schritte, bei denen Energie konserviert wird. Deshalb spielt dort die NADH-Dehydrogenase II wegen ihrer höheren Aktivität, trotz der

fehlenden Kopplung von NADH-Oxidation an die Translokation von Protonen die größere Rolle. Sie erlaubt hohe Atmungsraten.

In ähnlicher Weise besitzt *E. coli*, wie viele andere Bakterien, mehr als eine terminale Oxidase. So nutzt *E. coli* bei aerobem Wachstum die Chinoloxidase Cyt *o*, die insgesamt 4 H^+ pro $1/2 O_2$ transloziert (Kap. 7.4.3). Bei Sauerstofflimitierung (mikroaerobe Verhältnisse) wird diese durch die Oxidase Cyt *d* ersetzt, die eine höhere Affinität für Sauerstoff aufweist, aber nur 2 H^+ pro $1/2 O_2$ transloziert. Auf diese Weise können Bakterien die Stoffwechseleigenschaften durch Verwendung geeigneter **Isoenzyme** an ihre Bedürfnisse anpassen.

Regulatorsysteme

Drei Regulatorsysteme sind für die Ausbildung dieser Hierarchie der Stoffwechselsysteme verantwortlich, die Sauerstoffregulatoren ArcBA und FNR, und der Nitratreceptor NarXL. Das **Zweikomponentensystem ArcBA** (Aerobic respiratory Control) ist der hauptsächliche Regulator der Gene des aeroben Stoffwechsels (Chinoloxidase Cyt *bo*₃, Gene des Citratzyklus, Pyruvatdehydrogenase). ArcB, die membrangebundene Sensor kinase, registriert die Anwesenheit von O_2 indirekt: In Anwesenheit von O_2 oxidieren die Chinoloxidasen Cyt *bo*₃ und Cyt *bd*₃ das Ubichinol (Abb. 16.17). Oxidiertes Ubichinol oxidiert seinerseits ein reaktives Paar von Cysteinresten in ArcB zum Disulfid (inaktives ArcB). Fehlt Sauerstoff, sind die Chinone reduziert und die beiden Cysteinreste liegen als Dithiol vor. In dieser Form ist ArcB aktiv und phosphoryliert den Response-Regulator ArcA, der die Expression von Genen des aeroben Stoffwechsels reprimiert und die Expression einiger Gene des anaeroben Stoffwechsels aktiviert (Abb. 16.17, 16.18).

FNR (Fumarat-Nitrat-Reduktaseregulator), ein cytoplasmatischer Genaktivator und dimeres DNA-bindendes Protein, ist der hauptsächliche Regulator der Gene des anaeroben Stoffwechsels (Abb. 16.18). FNR besitzt eine Sensordomäne mit einem Fe_4S_4 -Zentrum, das in Anwesenheit von O_2 in ein Fe_2S_2 -Zentrum zerfällt (Abb. 16.19). Dabei monomerisiert FNR und verliert seine Funktion als Genaktivator. Im intakten (anaeroben) Zustand stimuliert FNR die Expression von Genen des anaeroben Elektronentransports und der Gärung. Bereits wenig O_2 (0,5% Luft sättigung oder 1 μM gelöstes O_2) reicht aus, damit genügend O_2 in die Zelle diffundiert und FNR inaktiviert wird.

Nitrat und Nitrit werden unabhängig von Sauerstoff durch ein **Nitrat/Nitrit-Zweikomponentensystem** detektiert. Das System besteht aus der membrangebundenen Nitratsensorkinase NarX, die Nitrat und Nitrit erkennt, und dem Response-Regulator NarL. Phosphoryliertes NarL aktiviert die Gene der Nitratatmung, wie Nitrat- und Nitritreduktase, Formiatdehydrogenase, Nitrat-Carrier. Dagegen werden die Gene der anderen anaeroben Atmungssysteme und der Fermentation reprimiert (Abb. 16.18).

Diese Regulatoren wirken häufig zusammen auf die Expression von Operons. Entsprechend sind deren Promotoren komplex aufgebaut und enthalten Bindungsstellen für mehrere Genregulatoren. Durch das Zusammenwirken verschiedener Regulatoren wird mit wenigen Elementen eine komplexe Antwort generiert.

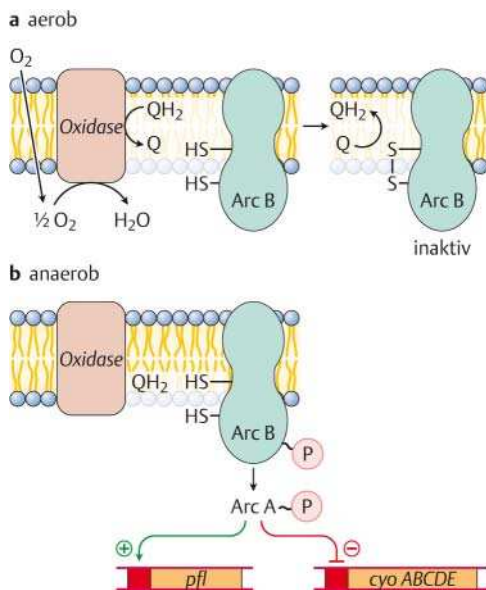


Abb. 16.17 Der Sauerstoffsensor ArcBA von *E. coli*. **a** Die Histidinproteinkinase ArcB erkennt O_2 indirekt über den aeroben Elektronentransport. In Anwesenheit von O_2 liegt oxidiertes Ubichinol (Q) vor, das ein Cysteinpaar an ArcB zum Disulfid oxidiert und ArcB inaktiviert. **b** Bei anaeroben Verhältnissen liegen die Cysteinreste als Dithiol vor. ArcB ist aktiv, phosphoryliert ArcA und inhibiert so die Expression von Genen des aeroben Stoffwechsels, während einige Gene des anaeroben Stoffwechsels aktiviert werden. *cyoABCDE*, Strukturgene Chinoloxidase Cyt *o*; *pfl*, Strukturgen der Pyruvat-Formiat-Lyase.

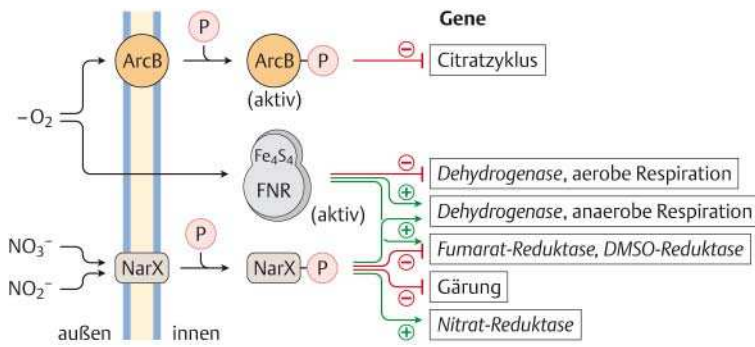


Abb. 16.18 Regulation des Energiestoffwechsels von *E. coli* durch O_2 und Nitrat. Die Übersicht zeigt wichtige Stoffwechselsysteme und die Expressionskontrolle der zugehörigen Strukturgene durch die Sauerstoffregulatoren FNR und ArcBA und den Nitratregulator NarXL. Unterschiedliche Kombinationen und positive oder negative Effekte der Regulatoren führen zur Expression der Gene entsprechend einer Hierarchie.

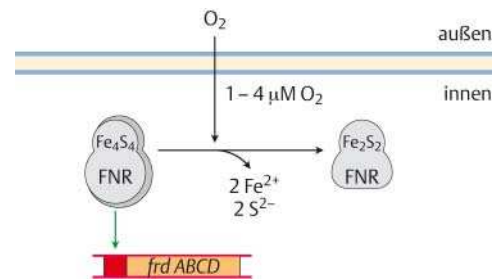


Abb. 16.19 Der Sauerstoffsensor FNR in *E. coli*. Der Sauerstoffpartialdruck wird im Cytoplasma und an der Cytoplasmamembran gemessen. O_2 diffundiert bereits bei geringer Konzentration in die Zelle und reagiert mit dem Fe_4S_4 -Zentrum von FNR. Das Dimer zerfällt und verliert seinen Einfluss auf die Genexpression.

16.6 Stringente Kontrolle und genereller Stress

Für Bakterien sind Mangelsituationen und schnelle Änderungen der Lebensbedingungen alltäglich. Unter Mangel adaptieren die Organismen Katabolismus, Anabolismus und den umfangreichen Proteinsynthesenapparat koordiniert an ein langsames Wachstum. Gleichzeitig bilden sie Schutz- und Resistenzmechanismen aus, die ein Überleben unter Mangel ermöglichen. Zwei wichtige Mechanismen regulieren die komplexen Veränderungen – die stringente Kontrolle und die generelle Stressantwort. Beide Mechanismen funktionieren bei Mangel einzelner Substrate (z. B. Aminosäuren) aber auch bei anderen wachstumshemmenden Situationen, wie der Erschöpfung der Kohlenstoff- oder Energiequelle und der Anhäufung von Endprodukten.

16.6.1 Stringente Kontrolle und Kopplung von Anabolismus und Katabolismus

In schnell wachsenden Zellen machen Ribosomen bis zu einem Drittel der Zellmasse aus. Bei langsamem Wachstum wird der umfangreiche Translations- und Transkriptionsapparat durch stringente Kontrolle verkleinert. Ausgelöst wird diese Reaktion durch fehlende Bausteine, besonders Aminosäuren. Ein weiterer Auslöser scheint das Fehlen einer Kohlenstoffquelle zu sein. Unter diesen Bedingungen wird die **Synthese von ribosomaler RNA und transfer-RNA (stabile RNA)** verringert und in der Folge die Synthese des Proteinsynthesenapparats gedrosselt.

Fehlt eine Aminosäure, kann die zugehörige tRNA nicht beladen werden und häuft sich an (Abb. 16.20). Unbeladene tRNA bindet codonspezifisch an der Eingangsstelle der Ribosomen (A-Position). Translatierende Ribosomen, die unbeladene tRNA gebunden haben, synthetisieren zusammen mit dem **RelA-Protein** (Rel steht für relaxierte Kontrolle) an der 50S-Untereinheit das Alarmon **ppGpp**: RelA (ppGpp-Synthetase) überträgt eine Diphosphatgruppe von ATP auf die 3'-OH-Gruppe der Ribose von GTP. Dadurch entsteht Guanosinpentaphosphat (pppGpp), welches durch eine Phosphohydrolase schnell zu Guanosintetraphosphat (ppGpp, Abb. 16.13, S. 505) dephosphoryliert wird. Dieses Alarmon stellt das zel-

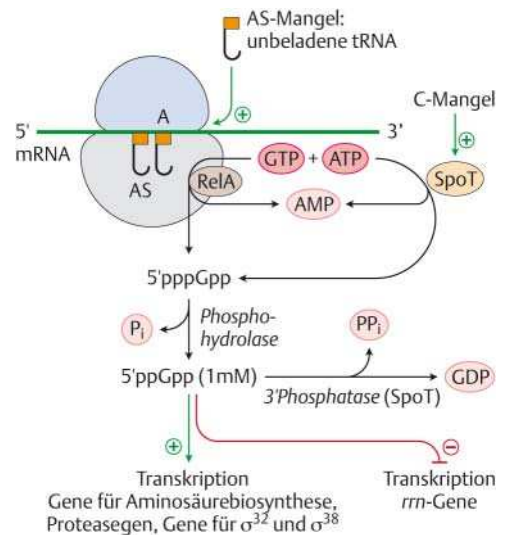


Abb. 16.20 Bildung von Guanosintetraphosphat (ppGpp) als Alarmon der stringenten Kontrolle. Aminosäure-(AS-)mangel und unbeladene tRNAs am Ribosom stimulieren das RelA-Protein (pppGpp-Synthetase), der Mangel einer C-Quelle aktiviert das Protein SpoT. RelA oder SpoT synthetisieren pppGpp, das zu dem Alarmon ppGpp, hydrolysiert wird. ppGpp signalisiert den Mangel an Bausteinen. Es bindet an die RNA-Polymerase und wirkt so inhibierend bzw. aktivierend auf die Transkription bestimmter Gene.

luläre Signal für Bausteinmangel dar. Es wird durch eine 3'-Phosphatase (SpoT) in GDP und PP_i gespalten und damit unwirksam.

Neben Aminosäuremangel löst auch genereller Mangel an C-Substraten (Hunger), wahrscheinlich durch eine Aktivität des **Spot**-Proteins, die Bildung von ppGpp und damit die stringente Kontrolle aus.

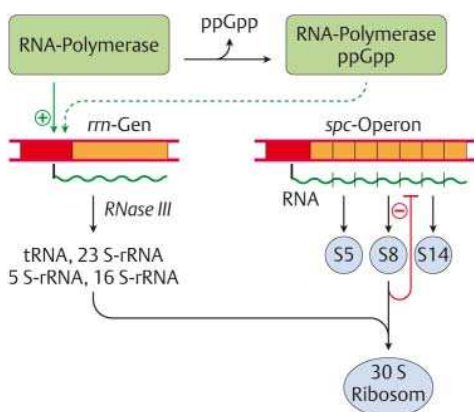
Wegen der großen Menge an erforderlicher rRNA besitzen viele Bakterien mehrere *rrn*-Gene (*rrn* für ribosomale RNA). So sind es bei *E. coli* z. B. 7 Gene, die für die ribosomale RNA codieren. Die *rrn*-Transkripte werden durch RNA-Prozessierung in die 16S-, 23S- und 5S-rRNA, sowie in zwei tRNAs gespalten.

ppGpp bindet am aktiven Zentrum der RNA-Polymerase, das aus den Untereinheiten β' gebildet wird. Dadurch werden der Zutritt der dNTPs zum aktiven Zentrum und die Katalyse behindert. Außerdem stört das gebundene ppGpp die Wechselwirkung der Polymerase mit den Basen (genauer: Cytosin) des Sense-Strangs der geschmolzenen DNA am *rrn*-Promotor. Auf diese Weise schwächt gebundenes ppGpp die Aktivität der RNA-Polymerase. Diese Effekte wirken sich vor allem auf Promotoren besonders stark transkribierter Gene, wie es z. B. die *rrn*-Gene sind, aus. Wegen der fehlenden rRNA ist auch die Biogenese der Ribosomen gedrosselt (Plus 16.8).

16.6.2 Generelle Stressantwort und Regulation der stationären Phase in *E. coli*

Verbrauchen Bakterien beim Übergang in die stationäre Phase ihr Substrat und häufen sich Endprodukte an, herrschen ebenfalls ungünstige Wachstumsbedingungen. Die Zelle muss diese Situation bis zum Eintritt günstigerer Verhältnisse überdauern. Bakterien zeigen in der stationären Phase einen stark reduzierten Stoffwechsel und sind wesentlich resistenter gegen schädigende Umwelteinflüsse, wie extreme pH-Werte oder Temperaturen, osmotischen und oxidativen Stress. Diese Reaktion wird als ge-

Plus 16.8 Kopplung zwischen der Synthese von rRNA und ribosomalen Proteinen



Die überschüssigen ribosomalen Proteine, die nach Einsetzen der stringenter Kontrolle nicht mehr für die Synthese von Ribosomen verbraucht werden, wie z. B. das Protein S8 der kleinen ribosomalen Untereinheit, binden teilweise an eine spezielle Struktur der eigenen mRNA. Diese Struktur hat Ähnlichkeit zu genau der Struktur der rRNA, an die das Protein im Ribosom bindet. Durch diese Interaktion stoppt die Translation der mRNA des *spc*-Operons.

Die Operons für die ribosomalen Proteine codieren auch für Untereinheiten der RNA-Polymerase und für Translationsfaktoren. Durch die Autoregulation wird gleichzeitig auch die Synthese dieser Proteine reprimiert. Die Folge ist die verminderte Synthese des gesamten Transkriptions- und Translationsapparates. Im Gegenzug werden Operons für die Biosynthese von Aminosäuren und für Proteasen stärker exprimiert. Die Proteasen erhöhen den Abbau vorhandener Proteine und erleichtern so die Umorganisation des Zellaufbaus und die Bereitstellung von Aminosäuren.

Kontrolle des Proteinsyntheseapparates durch ppGpp am *spc*-Operon. Das *spc*-Operon codiert u. a. für die Proteine S5, S8 und S16 der 30S-Ribosomenuntereinheit. Durch die reduzierte Transkription der *rrn*-Gene in der stringenten Kontrolle wird weniger 16S-rRNA gebildet. Fehlt 16S-rRNA bindet das S8-Protein an eine Erkennungssequenz der *spc*-mRNA, die eine Ähnlichkeit zur 16S-rRNA besitzt (negative Autoregulation).

nerelle Stressantwort oder Regulation der stationären Phase bezeichnet. In *E. coli* werden mehr als 70 Gene durch die generelle Stressantwort reguliert. Diese Gene spielen eine Rolle im Energiestoffwechsel, bei der Verwertung alternativer Substrate, der Abwehr von Stressfaktoren und der Regulation der Zellteilung.

In *E. coli* und *B. subtilis* wird die generelle Stressantwort auf unterschiedliche Weise umgesetzt. In *E. coli* hängt sie von der Konzentration des alternativen σ -Faktors σ^{38} (auch σ^S genannt) ab, der vom *rpoS*-Gen codiert wird. Dieser σ -Faktor ist verantwortlich für die Transkription der Gene der allgemeinen Stressantwort. Gleichzeitig ist er Sensor für die Erkennung der einzelnen Reize und verantwortlich für die Signalintegration. Die Synthese von σ^{38} wird auf der Ebene der Transkription, Translation und der Proteinstabilität reguliert. Damit kann die Zelle, wie im folgenden Kapitel beschrieben wird, eine Vielzahl verschiedener Reize detektieren.

Regulation durch den alternativen σ -Faktor σ^{38}

Durch alternative σ -Faktoren hat die Zelle die Möglichkeit, auf verschiedenste Reize und Umweltbedingungen gezielt und angemessen zu reagieren. Die Faktoren sind jeweils an der Expression unterschiedlicher Sets von Genen beteiligt. In *E. coli* hängt die generelle Stressantwort von der Konzentration des alternativen σ -Faktors σ^{38} ab. Bei schnellem Wachstum in Vollmedium ist der Gehalt an σ^{38} sehr niedrig, steigt jedoch bei Wachstum in Mineralmedium deutlich an. Mangel an Kohlenstoffquellen oder Aminosäuren induziert über CRP-cAMP oder ppGpp die Transkription des σ^{38} -codierenden *rpoS*-Gens. Unter Stress, z. B. plötzlichem Hunger, hoher Osmolarität oder saurem pH-Wert, steigt der Gehalt an σ^{38} auf das bis zu 20fache. Entsprechend transkribiert die RNA-Polymerase häufiger σ^{38} -abhängige Gene (Abb. 16.21).

Stressfaktoren greifen auch auf der Translationsebene ein. Die mRNA des *rpoS*-Gens neigt dazu, eine Sekundärstruktur auszubilden, die sich über die Ribosomenbindungsstelle der *rpoS*-RNA ausdehnt. Dadurch wird die Bindung der Ribosomen und die Translation behindert. Unter allgemeinen Stressbedingungen werden kleine RNA-Moleküle (sRNA) (Kap. 16.4.2) gebildet, die diese Sekundärstruktur stören und so die Translation ermöglichen. Unter oxidativem Stress dagegen bilden die regulato-

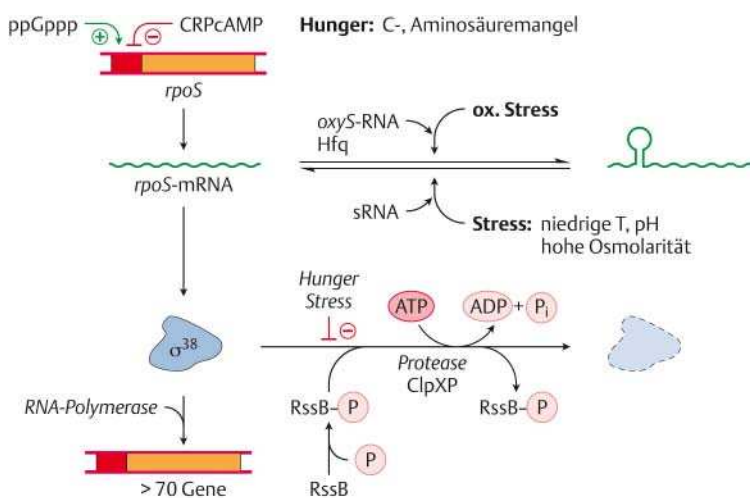


Abb. 16.21 Regulation von σ^{38} in *E. coli*. Die Konzentration von σ^{38} wird durch das Nährstoffangebot und durch Stressfaktoren bestimmt und auf der Transkriptions-, Translations- und Proteinebene geregelt. Die Expression des σ^{38} -codierenden *rpoS*-Gens wird reguliert, die *rpoS*-RNA kann Sekundärstrukturen ausbilden oder die Halbwertszeit des σ^{38} -Proteins wird kontrolliert. Der Antwortregulator RssB steuert die Proteolyse von σ^{38} . Der Komplex aus phosphoryliertem RssB und σ^{38} destabilisiert σ^{38} , das dann von der ATP-abhängigen ClpXP-Protease erkannt und abgebaut wird.

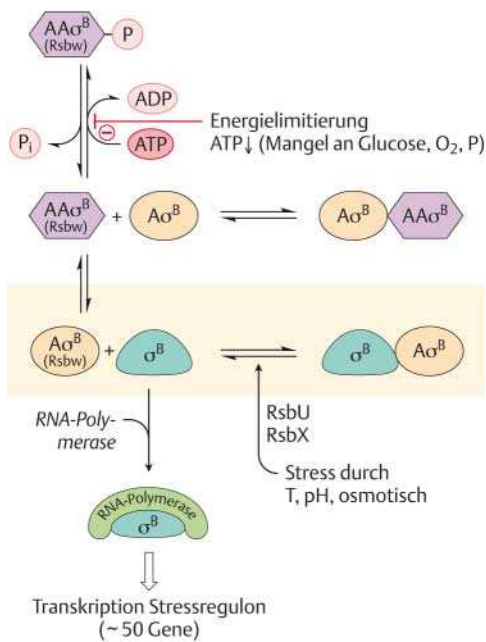


Abb. 16.22 Generelle Stressregulation in *B. subtilis*. Zentraler Regulator ist der alternative σ -Faktor σ^B . Die Konzentration an freiem σ^B wird durch Energielimitierung und Stressfaktoren reguliert. Der Sensor der Signalkette ist der Anti-Anti- σ^B -Faktor ($AA\sigma^B$). Ist der ATP-Gehalt der Zelle niedrig, wird $AA\sigma^B$ nicht phosphoryliert und bildet mit dem Anti- σ^B -Faktor ($A\sigma^B$) einen Komplex. Infolgedessen bindet der Anti- σ^B -Faktor nicht an σ^B . Stressfaktoren steuern über einen anderen Signalweg mit den Proteinen RsbX und RsbU das Verhältnis von freiem und gebundenem σ^B .

rische *oxyS*-RNA (Kap. 16.7), *rpoS*-mRNA und das RNA-bindende Protein Hfq einen Komplex, der die Translation erschwert (Abb. 16.21).

Die Regulation des proteolytischen Abbaus von σ^{38} ist ebenfalls ein wichtiger Kontrollpunkt. Die Halbwertszeit von σ^{38} wird durch Stress und Substratmangel reguliert. Der Faktor kann durch die Protease ClpXP schnell abgebaut werden. In exponentiell wachsenden Bakterien beträgt die Halbwertszeit wenige Minuten. Unter diesen Bedingungen wird ein Regulatorprotein (RssB) phosphoryliert, das an σ^{38} bindet und dieses so für den Abbau durch die Protease ClpXP markiert oder destabilisiert. Die Phosphorylierung von RssB und der Abbau von σ^{38} kommen sofort zum Stillstand, wenn die Zellen Stress oder einem Mangel an Kohlenstoffverbindungen ausgesetzt werden.

Regulation durch den alternativen σ -Faktor σ^B in *Bacillus*

Auch der grampositive *Bacillus subtilis* kann sich auf generellen Stress und Energielimitierung einstellen. Die Gene der generellen Stressantwort werden mithilfe des **alternativen σ^B -Faktors** transkribiert, dessen Konzentration und Funktion durch mehrere Regulatorproteine (Regulatorproteine von **SigmaB**, oder Rsb-Proteine) kontrolliert wird. Dazu gehört ein **Anti- σ -Faktor** (RsbW), der mit σ^B einen Komplex bildet und so die Konzentration an freiem σ^B verringert (Abb. 16.22).

Ein Anti-Anti- σ -Faktor ist der eigentliche Sensor der Signalkette. Sein Funktionszustand wird durch Phosphorylierung kontrolliert. Bei Energielimitierung, z. B. aufgrund von Glucose-, Sauerstoff- oder Phosphatmangel, wird der Anti-Anti- σ^B -Faktor ($AA\sigma^B$ oder RsbV-Protein), wahrscheinlich wegen des niedrigen ATP-Gehalts der Zelle, nicht phosphoryliert. Der nichtphosphorylierte Anti-Anti- σ^B -Faktor bindet den Anti- σ^B -Faktor ($A\sigma^B$ oder RsbW-Protein). Als Folge ist der Gehalt an freiem σ^B -Faktor hoch und die Gene des Stressregulons werden transkribiert. Eine Reihe genereller Stressbedingungen verursacht ebenfalls eine reduzierte Phosphorylierung des Anti-Anti- σ^B -Faktors, sodass Energielimitierung und Stressbedingungen eine erhöhte Konzentration an σ^B und erhöhte Transkription der Stressgene zur Folge haben (Abb. 16.22).

16.7 Spezifische Stressreaktionen

Bakterien sind häufig spezifischen Stressbedingungen ausgesetzt, die eine gezielte zelluläre Schutzreaktion erfordern. Solche Faktoren sind der oxidative Stress, Hitzeschock, osmotischer Stress, ungünstiger pH-Wert oder auch Membranschädigung durch Lösungsmittel und Detergenzien. Hier soll die Erkennung von Hitzeschock, von oxidativem und osmotischem Stress und die entsprechende Zellantwort, besprochen werden.

16.7.1 Oxidativer Stress

Eine Nebenreaktion des aeroben Stoffwechsels ist die **Bildung reaktiver O_2 -Spezies**, welche die Zelle schädigen können. Die wichtigsten reaktiven Spezies sind H_2O_2 (Wasserstoffperoxid), das Superoxidanionradikal ($O_2^{\cdot-}$) und das Hydroxylradikal ($\cdot OH$). Viele Bakterien enthalten hohe Konzentrationen des Reduktionsmittels Glutathion oder andere Thiolverbindungen, die $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 und $\cdot OH$ enzymatisch oder chemisch zu H_2O reduzieren. Wichtiger ist die enzymatische Entgiftung durch Katalase, Superoxiddismutase (SOD) und Peroxidase. Da das Hydroxylradikal sehr schnell mit

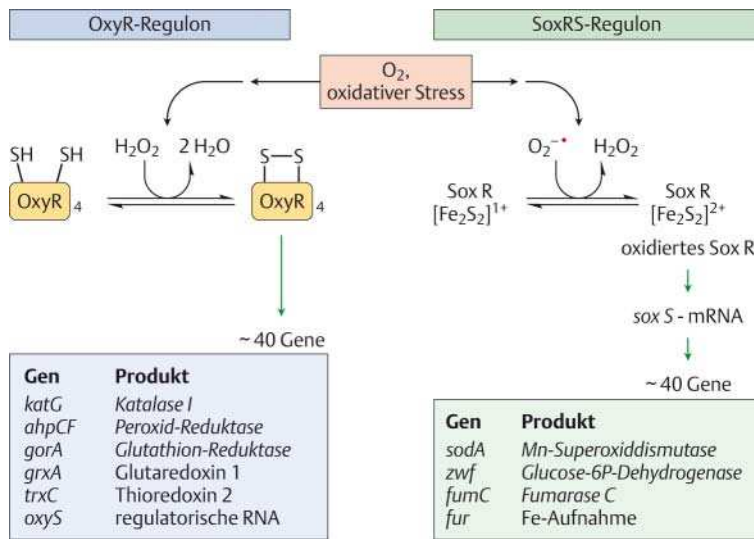


Abb. 16.23 Oxidativer Stress in *E. coli*. Erkennung der reaktiven O₂-Produkte H₂O₂ und O₂^{•-} durch die Regulons OxyR und SoxRS. Bei oxidativem Stress werden Schutzenzyme, Reduktionsmittel oder O₂^{•-}-resistente Enzyme synthetisiert. GSH, Glutathion. OxyR ist ein Tetramer, SoxR enthält ein [Fe₂S₂]-Zentrum.

organischen Verbindungen reagiert, ist kein geeignetes Schutzenzym vorhanden. Die Zelle kann jedoch die Bildung von [•]OH vermeiden, indem sie H₂O₂ und schädliche Elektronendonatoren, wie z. B. Fe²⁺, beseitigt.

Die Antwort auf oxidativen Stress erfolgt in *E. coli* und vielen anderen Bakterien durch die zwei Regulons OxyR und SoxRS (Abb. 16.23). Das **OxyR-Regulon** wird durch den Transkriptionsregulator OxyR kontrolliert. OxyR enthält zwei Cysteinreste, die durch H₂O₂ zum Disulfid oxidiert werden. Die oxidierte Form von OxyR induziert zahlreiche Enzyme, die Oxidanzien zerstören (Katalase, Alkylhydroperoxidase) oder den Redoxzustand von Thiolen steuern (Glutathionreduktase, Glutaredoxin und Thioredoxin). Zusätzlich wird eine regulatorische RNA exprimiert (*oxyS*), welche die Translation der *rpoS*-mRNA (Kap. 16.6.2) beeinflusst und so die Verbindung zur allgemeinen Stressantwort herstellt.

Das **SoxRS-Regulon** erkennt O₂^{•-} als Reiz. Der Transkriptionsregulator SoxR ist ein Dimer mit zwei [Fe₂S₂]-Zentren, die durch O₂^{•-} oxidiert werden. Die Regulation des SoxR-Regulons ist ein zweistufiger Prozess. Nach Umwandlung in die aktive (oxidierte) Form induziert SoxR eine regulatorische RNA (*soxS*). Die *soxS*-RNA aktiviert die Gene des Regulons. Diese codieren Superoxid-Dismutase, Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase als Lieferant für Reduktionsäquivalente (NADPH), einige O₂^{•-}-resistente Enzyme (Fumarase C und Aconitase A) und den Eisenrepressor Fur, um die Aufnahme von Fe²⁺ und damit die Produktion von [•]OH zu verringern.

16.7.2 Hitzeschockreaktion

E. coli wächst als mesophiles Bakterium am besten in einem Temperaturbereich von 30–37°C. Thermophile oder psychrophile Bakterien können bei deutlich höheren bzw. niedrigeren Temperaturen wachsen – bei ihnen sind Proteine, Membranen und die DNA an diese Temperaturen angepasst und stabilisiert. Wenn ein Bakterium an die oberen oder unteren Grenzen seines Wachstumsbereichs gelangt, wird eine Reaktion ausgelöst, die als Hitze- bzw. Kälteschock bezeichnet wird. Hitzeschock kann in *E. coli* durch eine schnelle Änderung der Wachstumstemperatur von 30

auf 42°C ausgelöst werden. Als Folge wird das Wachstum zunächst stark verlangsamt. Das langsame Wachstum wird durch denaturierte Proteine verursacht, die die Zellfunktionen stören und unter ATP-Bedarf neu gefaltet oder abgebaut werden. Gleichzeitig werden viele Proteine, so genannte **Hitzeschockproteine**, vermehrt gebildet und erlauben eine Adaptation an die erhöhte Temperatur.

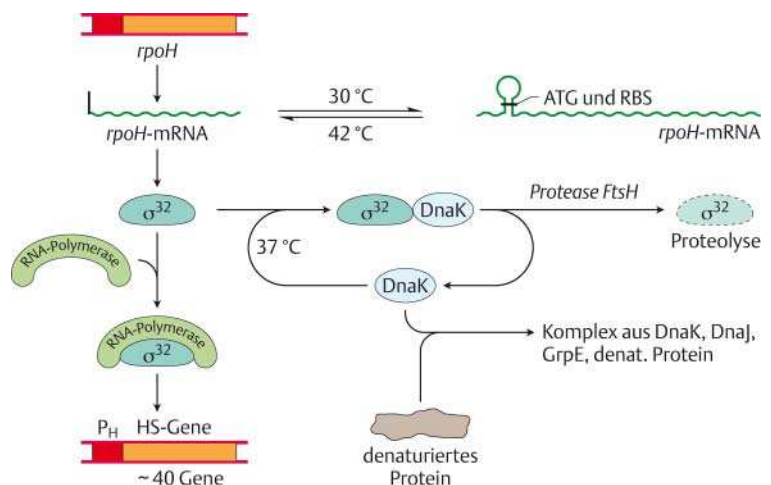
Mehr als 35 Proteine gehören zu dem Hitzeschockregulon, darunter die Lon-Protease, die unter ATP-Verbrauch denaturiertes Protein abbaut, und die **Chaperone-Proteine** DnaK, DnaJ, GrpE, GroEL und GroES. Ein weiteres Hitzeschockprotein ist der Standard- σ -Faktor σ^{70} , der für die Neusynthese der Haushaltsproteine nach Ende des Hitzeschocks benötigt wird. Die Chaperone binden an Proteine, die durch die hohe Temperatur partiell denaturiert wurden. Dadurch verhindern sie ein Fortschreiten der Denaturierung und stimulieren eine Rückfaltung in die native Form. Eine ähnliche Aufgabe besitzen die Chaperone auch bei der Neusynthese mancher Proteine unter physiologischen Bedingungen. Sie fungieren als Faltungshelfer großer Proteine, die nicht spontan die richtige Sekundärstruktur einnehmen. Im Hitzeschock ist der Bedarf an diesen Proteinen stark erhöht. Proteine, die nicht mehr rückgefaltet werden können, werden abgebaut. Der Hitzeschock beruht damit hauptsächlich auf der Denaturierung von Proteinen und den erforderlichen Schutzmaßnahmen. Denaturierende Agenzien, wie Ethanol oder alkalischer pH-Wert, lösen ähnliche Reaktionen aus.

Regulation der Hitzeschockantwort

Der Ablauf der Hitzeschockreaktion und ihrer Regulation ist in Abbildung 16.24 dargestellt. Die Bakterien erkennen erhöhte Temperatur mithilfe eines molekularen Thermometers. Der alternative σ -Faktor σ^{32} , der vom *rpoH*-Gen codiert wird, spielt bei der Etablierung der Hitzeschockantwort die zentrale Rolle.

Die *rpoH*-mRNA bildet bei niedrigen Temperaturen ausgeprägte Sekundärstrukturen aus, in denen das Startcodon und die Ribosomenbindungs-

Abb. 16.24 Synthese des Hitzeschockregulators σ^{32} und Expression der Hitzeschock-(HS-)Gene in *E. coli*. Die Transkription des σ^{32} -codierenden *rpoH*-Gens erfolgt entweder mit dem Standard- σ -Faktor σ^{70} oder, bei starkem Hitzestress, mit σ^{24} . Die Translationskontrolle beruht auf Sekundärstrukturen der *rpoH*-mRNA, die bei niedrigen Temperaturen die Ribosomenbindungsstelle (RBS) und das Startcodon (ATG) blockieren. Bei höheren Temperaturen lösen sich die Sekundärstrukturen und die *rpoH*-mRNA wird translatiert. Am Abbau von σ^{32} sind die Proteine der Chaperone-Maschinerie (DnaK, DnaJ, GrpE) als Sensoren und die Protease FtsH beteiligt.



stelle nicht zugänglich sind. Die Ribosomen können nicht binden, es findet keine Translation statt. Bei hohen Temperaturen löst sich die Sekundärstruktur auf, die Ribosomenbindestelle wird für die Translation zugänglich und der Gehalt an σ^{32} -Protein steigt an. Zusätzlich beeinflusst ein Protein, das an den 5'-Bereich der *rpoH*-mRNA bindet, das Auflösen der Sekundärstruktur. Unter Hitzeschock steigt also die Konzentration von σ^{32} wegen der erhöhten Stabilität von σ^{32} und der erhöhten Translationsrate der *rpoH*-mRNA etwa um einen Faktor > 15 an. Dadurch bildet sich bevorzugt der σ^{32} -RNA-Polymerase-Komplex und die Transkription der Hitzeschockgene setzt ein.

Die Stabilisierung des σ^{32} -Proteins ist im Hitzeschock besonders wichtig. Der Schlüssel dazu ist das DnaK-Chaperon, das zwei Funktionen erfüllt. Es ist an der Renaturierung denaturierter Proteine beteiligt. Im Hitzeschock bindet DnaK denaturiertes Protein und bildet zusammen mit DnaJ und GrpE die Chaperone-Maschinerie. DnaK wird auf diese Weise abgefangen, bindet nicht an σ^{32} , und kann es so nicht in den Proteolysezyklus zu schleusen. Dieses ist der Fall, wenn kein Hitzeschock vorliegt. Dann bindet DnaK an σ^{32} und destabilisiert das Protein. σ^{32} dient dann als Substrat der Protease FtsH und wird abgebaut (Abb. 16.24).

Nach Ende des Hitzeschocks und wenn das denaturierte Protein renaturiert oder abgebaut ist, wird die Hitzeschockreaktion wieder abgeschaltet. σ^{32} wird abgebaut und aufgrund des erhöhten Gehalts an σ^{70} beginnt wieder die Expression der Standardproteine.

Wird *E. coli* schnell auf tiefe Temperaturen (10 –15°C) abgekühlt, stellen die Zellen das Wachstum ein. Sie bilden aber eine Reihe von Proteinen, die für die Anpassung und das Überleben unter diesen Bedingungen erforderlich sind. Dieser **Kälteschock** wird durch das Kälteschockregulatorprotein CspA (Cold Shock Protein) induziert. Die Reaktion ist zum Teil identisch mit der stringenten Kontrolle (Kap. 16.6), die auf einer verlangsamten Funktion der Ribosomen beruht.

16.7.3 Osmoregulation

Bakterien müssen den **osmotischen Druck** ihrer Zelle bei Austrocknung oder starker Durchfeuchtung der Umgebung den osmotischen Verhältnissen der Umwelt anpassen, um übermäßiges Anschwellen oder Schrumpfen zu vermeiden. *E. coli* reagiert auf einen Anstieg des osmotischen Drucks zunächst in einer schnellen Aufnahme von K^+ -Ionen durch ein induzierbares, hochaffines **K^+ -Aufnahmesystem (KdpFABC)**. Dieser Carrier wird bei K^+ -Mangel der Zelle und hoher Osmolarität durch das Zweikomponentensystem KdpDE mit dem Sensor KdpD und dem Response-Regulator KdpE induziert. Da hohe K^+ -Konzentrationen für viele Proteine schädlich sind, werden zur längerfristigen Adaptation in der Zelle **kompatible Solute** angehäuft. Dabei handelt es sich um Verbindungen, die osmotisch aktiv sind und gleichzeitig die Proteine schützen. Viele kompatible Solute sind Kohlenhydrate (z. B. das Disaccharid Trehalose, eine Glucose- α 1- α 1-Glucose), Polyole (z. B. Glycerin) oder Aminosäuren, wie Glycin-Betain (N-Trimethyl-Glycin), Prolin, das Aminosäurederivat Ectoin und Glutamat. Häufig sind es Zwitterionen, wie z. B. Betain, Cholin, Ectoin und Prolin, die eine positive und eine negative Ladung haben. *E. coli* synthetisiert von diesen Verbindungen nur Trehalose selber. Aufgenommen werden dagegen Ectoin, Prolin und Glycin-Betain, bzw. dessen Alkoholvorstufe Cholin, die durch Oxidation leicht in Glycin-Betain überführt werden kann. Die Gene der Trehalosebiosynthese (*ots BA*) und der meisten Permeaseproteine (*betT*, *proP*) für die Aufnahme der kompatiblen So-

lute werden durch den σ -Faktor der generellen Stressantwort σ^{38} induziert. Die Faktoren der osmospezifischen Induktion sind nicht bekannt.

In Abhängigkeit von der Osmolarität ändert sich auch die Permeabilität der äußeren Membran. Es werden die **Porine** OmpC und OmpF, die in *E. coli* alternativ gebildet werden, eingebaut. OmpC besitzt geringere Permeabilität für gelöste Stoffe und wird bei hohem osmotischem Druck und höherer Temperatur gebildet, d. h. bei Wachstum im Darm. Dadurch werden viele toxische Verbindungen aus dem Intestinaltrakt an der Passage gehindert. OmpF, das höhere Permeabilität zeigt, wird dagegen bei Wachstum unter niedrigem osmotischen Druck, d. h. außerhalb des Darms, synthetisiert. Es erleichtert den Durchtritt niedrig konzentrierter Substratmoleküle. Die Expression der *ompC*- und *ompF*-Gene wird durch das osmosensitive Zweikomponentensystem EnvZ/OmpR reguliert.

Bei der Adaptation an niederosmolare Verhältnisse spielen mechanosensitive, zugaktivierte Kanäle (MscL und MscS) eine wichtige Rolle, die sich bei lateraler Membranspannung öffnen und den schnellen Austritt von Ionen und Soluten ermöglichen. Werden diese Komponenten nicht aus der Zelle hinausgeschleust, droht die Cytoplasmamembran infolge des einströmenden Wassers zu platzen. Zusätzlich sind an allen osmotischen Reaktionen der Membran Aquaporine beteiligt. Das sind Protein-kanäle, die einen Wasserfluss über die Membran ermöglichen.

16.8 Regulation der Stickstoffassimilierung

Stickstoff macht etwa 15 % des Trockengewichts von Bakterien aus. Wie in Kapitel 7 dargelegt, kostet die Bindung jedes NH_3 -Moleküls in seine Trägermoleküle (Glutamat, Glutamin) jeweils 1 ATP. Schlüsselenzym für die Assimilierung ist die **Glutaminsynthetase** (Kap. 8.4.1). Die Glutaminsynthetase wird auf der Ebene der Enzymaktivität reguliert, um die N-Assimilierung schnell an den aktuellen Bedarf anzupassen. Zusätzlich wird die Expression transkriptionell reguliert, um die Aktivität an eine längerfristige Situation anzupassen. Durch die komplexe Regulation wird einerseits die Versorgung mit einem wichtigen Element sichergestellt und andererseits eine aufwändige Synthese auf das notwendige Maß beschränkt.

Regulation der Glutaminsynthetase auf der Ebene der Enzymaktivität.

Die Aktivität der Glutaminsynthetase wird **allosterisch** und durch **kovalente Modifikation** kontrolliert. AMP als Signalmolekül für Energiehunger sowie verschiedene N-haltige Verbindungen, die aus Glutamin gebildet werden, wie die Endprodukte CTP, Tryptophan, Histidin und Carbamoylphosphat und andere Aminosäuren, hemmen die Glutaminsynthetase allosterisch. Bei längerfristiger guter Versorgung mit fixiertem Stickstoff wird das Enzym zusätzlich durch kovalente Modifikation inaktiviert (Abb. 16.25). Die Glutaminsynthetase besteht aus 12 identischen Untereinheiten, von denen jede an einem Tyrosinrest adenyliert werden kann.

Die Adenylierung und Deadenylierung wird durch die Versorgung der Zelle mit fixiertem Stickstoff (N-Status) und ATP (Energienstatus) kontrolliert. An der Reaktion sind zwei Enzyme und ein **regulatorisches Protein (PII)** beteiligt. Die Uridyltransferase (UTase) ist der primäre Sensor des N- und Energienstatus. Bei niedrigem N- und hohem ATP-Gehalt uridyliert das Enzym den Regulator PII. Bei guter N-Versorgung arbeitet das gleiche Enzym dagegen als uridylabspaltendes Enzym und bildet freies PII-Protein zurück. Das PII-Protein bindet an die Adenylyltransferase, die im Komplex mit PII als Adenylyltransferase, mit PII-UMP dagegen als adenylylabspal-

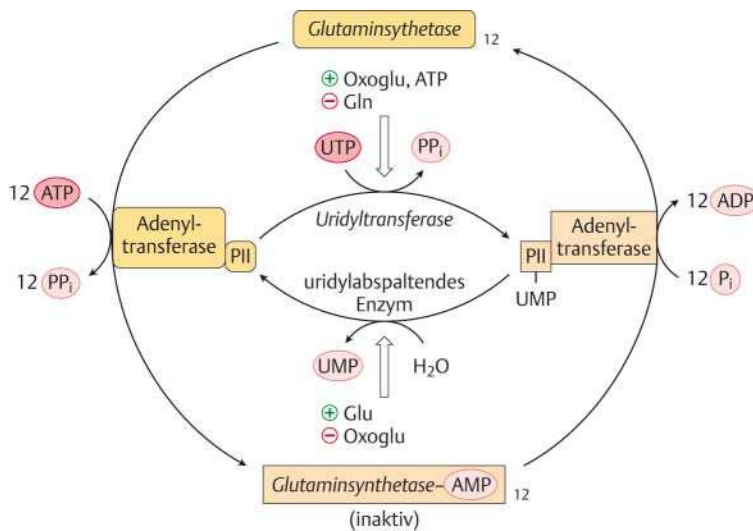


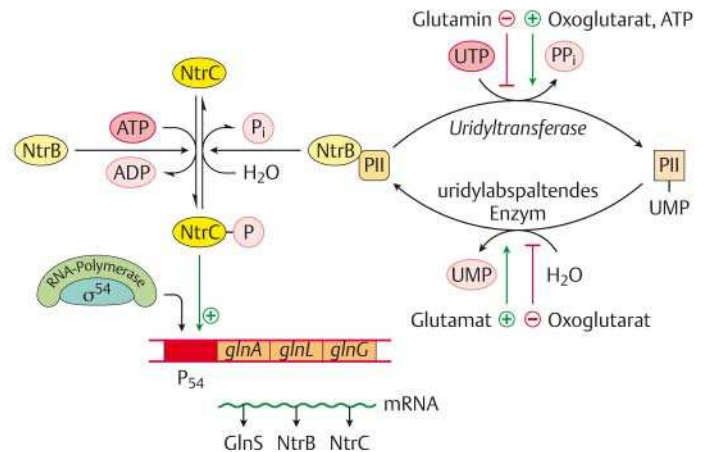
Abb. 16.25 Regulation der Glutaminsynthetase durch kovalente Modifikation. Die 12 Untereinheiten der Glutaminsynthetase können an einem Tyrosinrest adenyliert werden (GlnS-AMP). Die Modifikation wird durch das Angebot an assimiliertem Stickstoff (Verhältnis Glutamin + Glutamat/Oxoglutarat) und dem Energiestatus (ATP-Gehalt) reguliert (Kap. 8.4). Sensor ist die Uridyltransferase, die einen Uridylrest übertragen und auch abspalten kann (uridylabspaltendes Enzym). Das PII-Protein (PII-Form oder PII-UMP) kontrolliert die Aktivität der Adenyltransferase.

tendes Enzym arbeitet. Die Adenyltransferase-Form adenyliert die Glutaminsynthetase und inaktiviert sie dadurch, während die adenyliabspaltende Enzymform wieder aktive Glutaminsynthetase bildet. Durch diese Regulationskaskade ist die Glutaminsynthetase bei Mangel an fixiertem Stickstoff und hohem ATP-Gehalt im aktiven Zustand, während sie bei ausreichender N-Versorgung und/oder ATP-Mangel adenyliert und inaktiv ist. Eine Besonderheit der regulatorischen Kaskade ist die Beteiligung von allosterisch kontrollierten Kontrollenzymen, die in Abhängigkeit vom Reizmolekül unterschiedliche Reaktionen katalysieren.

Expressionskontrolle der Glutaminsynthetase. Durch die Expressionskontrolle des Gens für Glutaminsynthetase *glnA* wird eine tiefgreifende Änderung der N-Assimilierung erreicht. Das *glnALG*-Operon wird durch das **NtrBC-(Nitrogen-Regulator-)Zweikomponentensystem** reguliert (Abb. 16.26). Der Antwortregulator NtrC stimuliert in der phosphorylierten Form die Expression des *glnALG* Operons. Bei Mangel an fixiertem Stickstoff wird NtrC durch die Sensorkinase NtrB phosphoryliert. NtrB erkennt, wie die Glutaminsynthetase (Abb. 16.25), die Anwesenheit von fixiertem Stickstoff über das **PII-Protein**. Das Protein arbeitet auch hier mit der Uridyltransferase zusammen, die auf den N- und Energiestatus anspricht. Liegt PII bei guter N-Versorgung deuridyliert vor, bindet es an die Sensorkinase NtrB, die dadurch in eine Phosphatase transformiert wird und NtrC-Phosphat dephosphoryliert. Damit wird die Transkription des *glnALG*-Operons durch den Komplex aus RNA-Polymerase und σ^{54} inhibiert und die Assimilierung von NH_4^+ wird stark gedrosselt. Vor dem Operon befindet sich zusätzlich ein schwacher Promotor (σ^{70}). Dieser stellt eine geringe konstitutive Expression des *glnALG*-Operons sicher, um eine Grundversorgung der Zelle mit dem Sensor/Regulator-System NtrBC und der Glutaminsynthetase zu gewährleisten. Eine ähnliche Regulation durch das NtrBC-System ist auch bei einigen Genen zu finden, die für Enzyme der Mineralisierung von Aminosäuren und der damit verbundenen NH_4^+ -Bildung codieren.

Die Verwendung von **molekularem Stickstoff** als N-Quelle ist noch energieaufwändiger und besonders streng reguliert. Die Regulation ist

Abb. 16.26 Transkriptionelle Kontrolle des Glutaminsynthetase-Operons (*glnALG*) von *E. coli* durch das NtrBC-Zweikomponentensystem. Das *glnALG*-Operon codiert für die Glutaminsynthetase (GlnS) und das Zweikomponentensystem NtrBC mit der Sensorkinase NtrB und den Response-Regulator NtrC. Die Uridyltransferase (Abb. 16.25) erkennt den N- und Energiestatus und kontrolliert die Uridylierung von PII.



in *Rhizobium*, Cyanobakterien und *Klebsiella* unterschiedlich und berücksichtigt den Energiezustand und die Versorgung mit N-haltigen Verbindungen, Sauerstoff und Reduktionsmitteln. In Symbionten, z. B. *Bradyrhizobium* (Knöllchenbakterien), wird die Regulation durch den Wirt beeinflusst und ist besonders komplex.

16.9 Chemotaxis

Bewegliche Bakterien können sich entlang von Stoffgradienten bewegen und sich damit in eine günstigere Umgebung begeben (Kap. 5.9.1). Sie benutzen dazu Sensorsysteme für Lock- oder Schreckstoffe. Bei Bakterien, die sich mithilfe von Flagellen bewegen, ist die Chemotaxis und ihre Regulation gut untersucht. Die Chemotaxis wird von einem Sensor- und Signaltransduktionssystem kontrolliert. Dieses kontrolliert aber nicht die Transkription bestimmter Gene, sondern die Drehrichtung des Flagellenmotors. Bei peritrich begeißelten Bakterien, wie z. B. *E. coli*, dreht sich der Flagellenmotor im unbeeinflussten Zustand gegen den Uhrzeigersinn und bewirkt dann eine Vorwärtsbewegung (Schwimmen). Eine Wechselwirkung mit dem Signaltransduktionssystem kehrt die Drehrichtung des Motors für kurze Zeit um. Dies hat zunächst den Verlust der gerichteten Bewegung (Taumeln) zur Folge und führt dadurch zu einer neuen Schwimmrichtung. Durch die Kontrolle der Taumelhäufigkeit in Abhängigkeit von dem Konzentrationsgradienten führen die Bakterien positive oder negative Chemotaxis aus, d. h. sie wandern in dem Stoff- oder Reizgradienten auf- oder abwärts. Bei anderen peritrich begeißelten Bakterien, wie z. B. *Sinorhizobium*, steuert die Chemotaxis nicht die Drehrichtung, sondern die Drehgeschwindigkeit des Flagellenmotors. Durch unterschiedlich schnelle Rotation der Flagellen einer Zelle dreht sich diese Zelle und ändert die Schwimmrichtung (Abb. 5.24, S. 140).

Regulation der Chemotaxis. Die Regulation erfolgt durch ein **cytoplasmatisches Zweikomponentensystem** (Che-Proteine) und vorgeschaltete **membranständige Chemorezeptoren** (Abb. 16.27). Die Chemorezeptoren werden auch als methylakzeptierende Chemotaxisproteine (MCP) bezeichnet. In *E. coli* gibt es fünf verschiedene Chemorezeptoren dieser Art. Sie können meist mehr als einen Reiz erkennen, entweder direkt oder

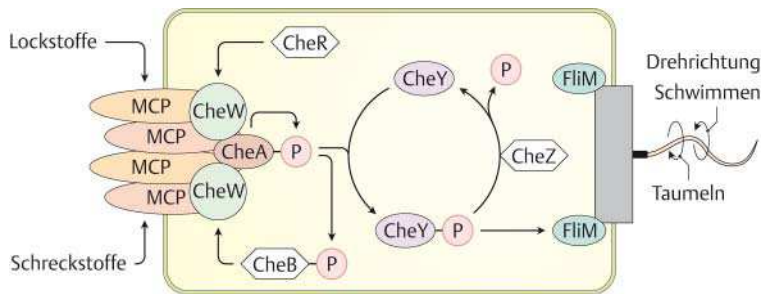


Abb. 16.27 Signaltransduktionsweg der Chemotaxis in *E. coli* und Kontrolle der Drehrichtung des Flagellenmotors. CheA (Chemotaxisprotein A) und CheY sind cytoplasmatische Histidin-Proteinkinasen und Antwortregulatoren aus einem Zweikomponentensystem. CheY~Phosphat tritt mit dem Motorprotein FlIM in Wechselwirkung und induziert Drehung des Motors im Uhrzeigersinn (Taumeln), der sonst gegen den Uhrzeigersinn (Schwimmen) dreht. CheW ist ein Adapter für die Wechselwirkung zwischen dem Rezeptor (methylakzeptierendes Chemotaxisprotein, MCP) und CheA. CheR ist eine Methyltransferase und methyliert MCP kontinuierlich an Glutamatresten (Desensibilisierung). Die Methylesterase CheB, ein Response-Regulator, ist nach Phosphorylierung aktiv und spaltet den Methylrest am MCP wieder ab.

über Bindungsproteine. Die MCP-Proteine bilden auf der cytoplasmatischen Seite einen Komplex mit CheA, der Sensorkinase eines Zweikomponentensystems. Bindung des Reizmoleküls führt zu einer Konformationsänderung des Chemorezeptors auf der cytoplasmatischen Seite, die die Autokinaseaktivität von CheA steuert: Die Aktivität wird von Lockstoffen gehemmt, von Schreckstoffen stimuliert. CheA phosphoryliert den Antwortregulator CheY, der in der phosphorylierten Form (CheY~Phosphat) an den Flagellenmotor bindet und seine Drehrichtung ändert. Die Drehung im Uhrzeigersinn verursacht ein Taumeln der Bakterien. Die Phosphatase CheZ dephosphoryliert CheY~Phosphat kontinuierlich und setzt den Regulator damit in den Ausgangszustand zurück. Da Schreckstoffe die Phosphorylierung von CheA und damit von CheY stimulieren, erhöhen sie die Taumelhäufigkeit, während der Lockstoff durch Hemmung der Phosphorylierung dem entgegenwirkt. Alle Chemorezeptoren beeinflussen die Phosphorylierung von CheA gemeinsam. So findet eine Signalintegration statt, die in eine gemeinsame Antwort (Regulation des Flagellenmotors) mündet.

Adaptation. Zur gerichteten Bewegung in einem Stoffgradienten ist die Erkennung von Konzentrationsänderungen nötig. Zu diesem Zweck wird die Empfindlichkeit der Rezeptoren gegenüber Reizen verändert. Die Chemorezeptoren werden an Glutamatresten kontinuierlich durch CheR methyliert (daher die Bezeichnung methylakzeptierendes Chemotaxisprotein, MCP). Die Methylierung ändert Konformation und Sensitivität des Rezeptors.

In Gegenwart eines Schreckstoffs (d. h. bei dessen gleichbleibender Konzentration) wird MCP stetig durch CheR methyliert, es wird ein schwächeres Signal an CheA weitergegeben, die Phosphorylierung von CheA und CheY nimmt ab und die Taumelhäufigkeit sinkt. CheA~Phosphat phosphoryliert zusätzlich CheB, eine Demethylase (Methylesterase), die dann die Chemorezeptoren demethyliert und so ihre ursprüngliche Sensitivität gegenüber dem Schreckstoff wieder herstellt. Damit kontrolliert CheA nicht nur den Signaltransfer zum Motor, sondern auch die Adaptation der Rezeptoren.

In Gegenwart eines Lockstoffs sind die Verhältnisse umgekehrt, CheA, CheY und CheB werden nicht phosphoryliert, die Bakterien schwimmen geradeaus. CheR methyliert dann die Rezeptoren, die gegenüber dem Lockstoff unempfindlicher werden. Dadurch werden CheA und CheY trotz Anwesenheit des Lockstoffs phosphoryliert, die Bakterien taumeln. Durch die Aktivierung der Methylesterase (CheB~Phosphat) wird die Sensitivität gegenüber dem Lockstoff langsam wieder hergestellt.

In Archaeobakterien finden sich konvergent entwickelte Flagellenmotor- und Chemotaxissysteme, die wahrscheinlich analog zu den hier beschrie-

benen Systemen funktionieren. Cyanobakterien, *Mycoplasma*-Arten und Myxobakterien können sich auf Oberflächen gleitend fortbewegen (Kap. 5.9.2). Die gleitende Bewegung wird durch verschiedene Mechanismen erreicht. Einer beruht auf der Verlängerung, Anheftung und Retraktion einer speziellen Form von Pili (Typ-IV-Pili), wodurch eine ruckhafte unregelmäßige Bewegung zustande kommt (Twitching Motility). Gleitende Bewegung kann auch durch Absondern von Polysaccharidschleim aus einer Düse an einem Zellpol hervorgerufen werden. Die Regulation der gleitenden Bewegung ist noch wenig verstanden.

16.10 Interzelluläre Kommunikation und Zelldichteregulation (Quorum Sensing)

Unter **Quorum Sensing** versteht man die Fähigkeit von Bakterien, miteinander zu kommunizieren. Die Zellen einer Population können so die Zelldichte messen und mit einem bestimmten Verhalten, wie z.B. symbiontischen Leistungen, Bildung von Biofilmen, Virulenz oder Abbau von Polymeren, darauf reagieren. Zur **Biofilmbildung** bilden die Bakterien Pili und Flagellen aus, mit deren Hilfe sie an Oberflächen haften. Zusätzlich synthetisieren sie als Matrix der Biofilme Exopolysaccharide. Gleichzeitig wird der C-Stoffwechsel verändert und wegen der Substratlimitierung, ähnlich wie bei der generellen Stressantwort, auf langsames Wachstum umgestellt. Auch zur Besiedlung eines Wirtes durch Pathogene (**Virulenz**) sind neue Gemeinschaftsleistungen erforderlich. So bilden pflanzenpathogene Bakterien, wie *Erwinia*, Adhäsine und lytische Enzyme (Pektinasen und Proteasen), um in das Pflanzengewebe einzudringen und pflanzliche Polymere abzubauen. Nur bei hohen Zelldichten werden ausreichende Mengen der Enzyme gebildet. Die **Biolumineszenz** von Bakterien wie *Vibrio fischeri* oder *Photobacterium* erfordert eine hohe Zelldichte, andernfalls ist das erzeugte Licht nicht wahrnehmbar. Eine dichte Zellmasse wird in den Leuchtorganen von Tintenfischen oder Fischen erreicht. Die Induktion der **Kompetenz** von *Bacillus subtilis* und die Ausbildung des **konjugativen Apparates** durch *Enterococcus faecalis* findet ebenfalls bei hoher Zelldichte statt, wenn ausreichend Bakterien als DNA-Spender oder Empfänger verfügbar sind.

Die Kommunikation der Bakterien untereinander erfolgt durch **Botenstoffe** oder **Pheromone**, die von den Zellen in das Medium abgegeben werden. Um wirksam zu werden, muß die Pheromonkonzentration einen Schwellenwert übersteigen. Dazu ist eine ausreichende Dichte an pheromonbildenden Bakterien nötig. Viele Bakterien wachsen deshalb bevorzugt in Assoziation und an Oberflächen.

Die Pheromone (auch Autoinduktoren genannt) gramnegativer Bakterien sind oft **Homoserinlactone** (Abb. 16.13, S. 505), die aus Fettsäuren und Aminosäuren gebildet werden. Grampositive Bakterien verwenden oft kurze **modifizierte Peptide** als Pheromone. Viele Pheromone sind spezifisch für die Kommunikation innerhalb der gleichen Art. Universellere Pheromone werden für die Kommunikation zwischen verschiedenen Spezies, z. B. in Biofilmen, verwendet.

Wie funktioniert diese Kommunikation? Die Bakterien besitzen Gene bzw. Enzyme für die Pheromonsynthese aus zellulären Vorläufern (Pheromonsynthase LuxI, Abb. 16.28). Das Pheromon ist lipophil und diffundiert deshalb durch die Zellhüllen in das Medium (Abb. 16.28). Bei hoher Zelldichte erreicht das Pheromon eine kritische extra- und intrazelluläre Konzentration von 10^{-6} – 10^{-9} M. Das Molekül bindet im Zielorganismus an

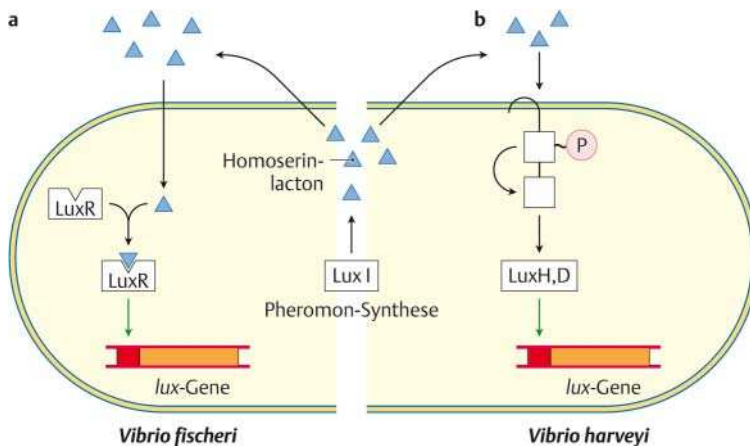


Abb. 16.28 Regulation der Biolumineszenz bei gramnegativen Bakterien. Die Biolumineszenz wird in *Vibrio fischeri* und *Vibrio harveyi* durch ein diffusibles Pheromon (Homoserinlacton) reguliert. **a** Reaktion des Pheromons mit dem zellulären Rezeptor LuxR nach Diffusion in die Zelle (*V. fischeri*). **b** Bei *V. harveyi* bindet das Pheromon im Periplasma an den Rezeptor LuxN eines modifizierten Zweikomponentensystems. Lux I, Phormonsynthese; LuxH,D, Response-Regulator.

den Regulator, der die zelldichteregulierten Gene induziert, z. B. Gene für die Biofilmbildung oder Biolumineszenz. Diese einfache Form des Quorum Sensing, die *Vibrio fischeri* zur Induktion der Biolumineszenz verwendet, ist in vielen Bakterien modifiziert. *Vibrio harveyi* z. B. muss das Pheromon nicht in die Zelle aufnehmen. Ein membranständiger Sensor erkennt das Molekül und überträgt das Signal über ein Zweikomponentensystem auf die Zielgene.

Die Peptidpheromone der grampositiven Bakterien werden ribosomal synthetisiert und durch einen ABC-Transporter exportiert. Bei ausreichender Konzentration erkennen Empfängerzellen das extrazelluläre Pheromon durch ein Zweikomponentensystem und regulieren so die Expression der zugehörigen Funktionen, z. B. die Kompetenz oder den konjugativen Gentransfer. Die **Fruchtkörperbildung** bei *Myxococcus xanthus* hängt ebenfalls von der Zelldichte ab. Sie wird aber durch direkten Zell-Zell-Kontakt gesteuert. Pheromone spielen dabei keine Rolle.

16.11 Differenzierung bei Bakterien

Einige Bakterien durchlaufen im Wachstum obligat einen **Entwicklungszyklus**, bei anderen können sich einzelne **Zellen differenzieren**. Beispiele dafür sind der Lebenszyklus von *Caulobacter crescentus* und die **Endosporenbildung** grampositiver Bakterien. Der Lebenszyklus des aquatischen *Caulobacter crescentus* umfasst eine asymmetrische Zellteilung und Differenzierung (Abb. 16.29). Bei der Zellteilung trennt sich eine bewegliche, zunächst nicht vermehrungsfähige Schwärmerzelle von einer gestielten Zelle. Die gestielte Zelle heftet sich an eine Oberfläche an und startet eine neue DNA-Replikation und Zellteilung. Die Schwärmerzelle bleibt für einen Teil des Zellzyklus beweglich, bevor sie sich zu einer gestielten Zelle entwickelt. Dabei verliert sie die Flagellen und synthetisiert den Stiel. Nach Anheftung initiiert sie ebenfalls eine DNA-Replikation und Zellteilung. Das Entwicklungsprogramm, das die Asymmetrie und Zelldifferenzierung reguliert, ist mit der Kontrolle des Zellzyklus verknüpft. Es wird durch ein Zweikomponentensystem gesteuert. Der Response-Regulator CtrA spielt eine zentrale Rolle und kontrolliert DNA-Methylierung und Replikation, Zellteilung und Flagellenbiosynthese. Seine Aktivität in der Zelle wird zeitlich und räumlich durch Transkription, Phosphorylie-

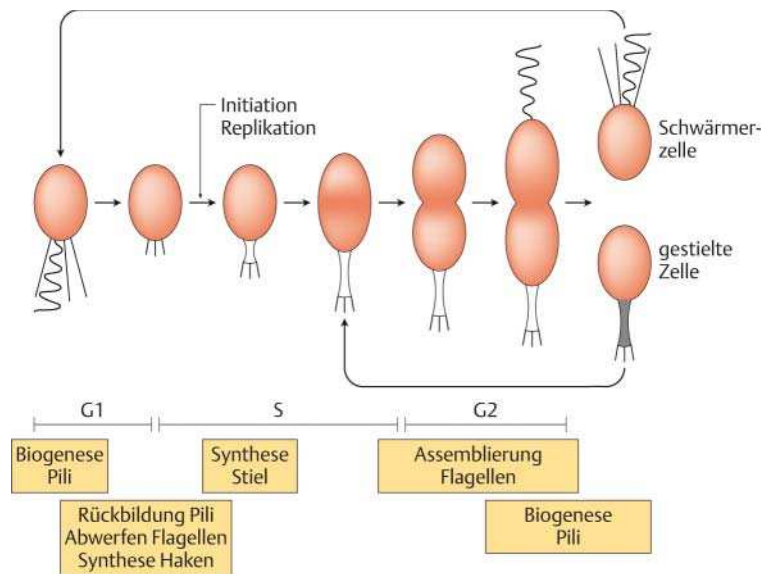


Abb. 16.29 Entwicklungszyklus und asymmetrische Zellteilung von *Caulobacter crescentus*. Die Entwicklung von der Schwärmerzelle zur fertig differenzierten, gestielten Zelle stellt einen kompletten Zellzyklus dar und umfasst die G1-(Motilitäts-)Phase mit der Biogenese der Pili, die Ausbildung der gestielten Zelle (S-Phase), und die asymmetrische Zellteilung (G2-Phase).

rung und Abbau reguliert. Somit spielen die Zweikomponentensysteme hier die zentrale Rolle bei der Aufnahme zellulärer Reize und bei der internen Kontrolle.

Fruchtkörperbildende Myxobakterien (z. B. *Myxococcus xanthus*) weisen einen ausgeprägten Lebenszyklus auf, in dem sich vegetative Zellen bei Nährstofflimitierung zu einem vielzelligen Fruchtkörper assemblieren. Die Mehrzahl der Zellen im Kopf des Fruchtkörpers entwickelt sich zu Myxosporen, die nach Freisetzung zu vegetativen Zellen auswachsen. Auch in der Entwicklung von *M. xanthus* spielen Zweikomponentensysteme eine wichtige Rolle.

Die **Endosporenbildung** grampositiver Bakterien ist ein vielstufiger Differenzierungsprozess, der bei Nahrungsmangel und durch Stress ausgelöst wird. Auch die Sporulation wird durch extrazelluläre und zellinterne Signale gesteuert. Die primären Reize, die die Sporulation auslösen, werden hauptsächlich durch Zweikomponentensysteme registriert und weiter gegeben (Phosphorelay). Spätere Stufen der Differenzierung in der Tochter- und der Mutterzelle (Morphogenese) werden dagegen vor allem durch alternative σ -Faktoren reguliert.

Zusammenfassung

- Bakterien können Zellaufbau, Stoffwechsel, Zellteilung und Differenzierung in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen und zellulären Verhältnissen (Wuchsphase, Stoffwechsel, Zellzyklus) steuern.
- Die Regulation kann durch **Strukturänderungen der DNA** (z. B. Rekombination, Superhelikalität), Transkriptionskontrolle, Translationskontrolle, Kontrolle der Proteinfunktion oder -stabilität erzielt werden.
- Die **Transkriptionskontrolle** ist von besonderer Bedeutung. Sie beruht meist auf Genregulatoren mit einer DNA-Bindungsdomäne mit einem Helix-Turn-Helix-Motiv, welche die Expression aktivieren oder reprimieren. Ihre Funktion wird direkt durch Effektoren oder durch Phosphorylierung kontrolliert.

- **Regulatorische RNA-Moleküle** (sRNA) kontrollieren die Expression vieler Gene, besonders auf der Translationsebene. In der Hitzeschockreaktion wird die temperaturabhängige Expression durch Kontrolle der Faltung der mRNA eines Regulators gesteuert (molekulares Thermometer).
- **Prozessierung von Regulatorproteinen** spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation von Differenzierungs- und Adaptationsprozessen. Sie erfolgt durch Abbau oder Modifikation der Proteine.
- Umweltreize werden oft durch membranständige Sensoren oder Transmembran-Carrier erkannt. Die **Zweikomponentensysteme** bestehen aus einer sensorischen Histidin-Proteinkinase und einem Antwortregulator, der die Genexpression, Enzymaktivität oder den Flagellenmotor steuert. Signaltransfer zwischen Sensor und Regulator erfolgt durch Proteinphosphorylierung.
- Diffusible Reize (z. B. die Gase O_2 , H_2) und die Temperatur werden durch **cytoplasmatische Sensoren** registriert.
- Die **Sensorsysteme** steuern die Antwort der Zelle auf die Nährstoffversorgung (C-, N-Versorgung, Elektronenakzeptoren wie O_2), Stressfaktoren (oxidativer Stress, Temperatur, osmotischer Druck, pH-Wert), Zellentwicklung oder Differenzierung (Sporulation, asymmetrische Zellteilung), Chemotaxis (Bewegung im Stoffgradienten) oder Kommunikation der Mikroorganismen (Quorum sensing).
- **Alternative σ -Faktoren** werden in Bakterien genutzt, um Promotorklassen koordiniert anzuschalten. Regulation durch σ -Faktoren wird eingesetzt, um spezielle Leistungen oder Programme abzurufen (Hitzeschock, Differenzierung, u. a.).

17

Die Rolle von Mikroorganismen im Stoffkreislauf und in der Natur

In den vorhergehenden Kapiteln wurden die Eigenschaften und Leistungen von Mikroorganismen fast immer auf der Basis von Reinkulturen untersucht. In diesem Kapitel soll dagegen die Ökologie der Mikroorganismen behandelt werden. Im umfassenden Sinn versteht man darunter die Wechselwirkungen von Mikroorganismen miteinander und mit der sie umgebenden Umwelt (**Synökologie**). Dabei wird deutlich, dass Mikroorganismen wichtige Funktionen beim Stoffumsatz in der Natur erfüllen und wesentlich zur Gestaltung der physikalischen, chemischen und biologischen Gegebenheiten beitragen, die das höhere Leben ermöglichen. In Reinkulturen unter Laborbedingungen kann lediglich das ökologische Potenzial eines Stammes, wie Substratspektrum, Temperatur-optimum usw., untersucht werden (**Autoökologie**). Im Vergleich zu den auf schnelles Wachstum optimierten Laborbedingungen sind Mikroorganismen in der Natur jedoch grundsätzlich anderen Bedingungen ausgesetzt. Während Substrate im Labor meist im Überschuss angeboten werden, sind sie am natürlichen Standort fast immer limitierend. Meist wird, abhängig von der metabolischen Leistungsfähigkeit des jeweiligen Organismus, nicht nur ein Substrat verwertet, sondern mehrere gleichzeitig. Auch begegnet man in der Natur keinen Reinkulturen, sondern jeder Einzelorganismus steht in Konkurrenz zu anderen oder kooperiert mit ihnen. Mikroorganismen stehen im natürlichen System auch in Wechselwirkung mit höheren Organismen, mit denen sie zum Teil kooperieren, von denen sie jedoch auch abgeweidet werden oder denen sie ihrerseits Schaden zufügen (Pathogenität). Der jeweilige Lebensraum ist, im Gegensatz zur homogenen Schüttelkultur des Labors, heterogen strukturiert. Darüber hinaus wechseln die Randbedingungen in natürlichen Lebensräumen mit wenigen Ausnahmen (Tiefsee) häufig dramatisch – in Tages- oder Jahreszyklen, aber auch durch plötzliche Wetterwechsel.

Überblick

- 17.1 Ökosystem, Standort und ökologische Nische ... 527**
- 17.2 Limitierung von Substraten und Energiequellen ... 528**
 - 17.2.1 Logistisches Wachstum ... 528
 - 17.2.2 Begrenzung der Abbaurate ... 529
- 17.3 Fließsysteme, Substrataffinität und Schwellenwerte ... 529**
- 17.4 Hunger, Stress, Abweidung und Populationskontrolle durch Phagen ... 530**
- 17.5 Transport von Substraten und Produkten ... 533**
 - 17.5.1 Diffusionskontrollierte Lebensräume und Gradientenorganismen ... 533
- 17.6 Methoden zur Analyse mikrobieller Populationen und ihrer Aktivitäten in der Natur ... 535**
 - 17.6.1 Färbetechniken und Mikroautoradiografie ... 535
 - 17.6.2 Chemische Methoden ... 536
 - 17.6.3 Kultivierungsmethoden ... 536
 - 17.6.4 Molekularbiologische Methoden ... 537
 - 17.6.5 Analyse von Organismengemeinschaften ... 539
- 17.7 Oberflächenanheftung, Biofilme und interzelluläre Kommunikation ... 539**
- 17.8 Kooperation zwischen Mikroorganismen ... 541**
- 17.9 Seen und Ozeane ... 544**
 - 17.9.1 Süßgewässer ... 545
 - 17.9.2 Ozean ... 550
- 17.10 Boden und tiefer Untergrund ... 553**
 - 17.10.1 Boden als Standort für Mikroorganismen ... 553
 - 17.10.2 Bodenbestandteile ... 555
 - 17.10.3 Mikroorganismen im Boden ... 556
 - 17.10.4 Stickstoffhaushalt ... 556
 - 17.10.5 Methankreislauf ... 556
 - 17.10.6 Schichtung des Bodens ... 557
 - 17.10.7 Tiefer Untergrund ... 557
- 17.11 Extreme Standorte und ihre Bewohner ... 557**
 - 17.11.1 Heiße Standorte und thermophile Organismen ... 558
 - 17.11.2 Kalte Standorte, psychrophile Organismen und Kältekonservierung ... 561
 - 17.11.3 Saure und basische Standorte und daran angepasste Organismen ... 561
 - 17.11.4 Salzreiche Standorte und halophile Organismen ... 562
- 17.12 Mikrobielle Umsetzungen von Mineralien in der Erdkruste ... 563**
- 17.13 Tierische Verdauungssysteme ... 565**

17.1 Ökosystem, Standort und ökologische Nische

17.1.1 Ökosystem

Die Grundeinheit der Ökologie ist das Ökosystem. Es umfasst sowohl biotische als auch abiotische Komponenten. Die biotische Komponente ist die **Lebensgemeinschaft** der Organismen, die **Biozönose** oder die **Biota**. Diese umfasst alle tierischen (**Fauna**), pflanzlichen (**Flora**) und mikrobiellen Vertreter (**Mikrobiota**, früher auch **Mikroflora** genannt). Die Mikrobiota sind in der Regel Gemeinschaften von Mikroorganismen, die sich aus einzelnen **Populationen** zusammensetzen, wobei eine Population aus Klonen einer Art oder verschiedener Arten bestehen kann. Unter den abiotischen Komponenten sind die physikalischen und chemischen Bedingungen des Ökosystems, in dem die Organismen leben, zu verstehen. Die Ökosysteme der Mikroorganismen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Größe sehr. Streng genommen umfasst ein Ökosystem alle funktionellen Gruppierungen, d. h. **Produzenten, Konsumenten** und **Destruenten**. Vermehrt werden aber auch „unvollständige“ Ökosysteme als Ökosystem bezeichnet. So sind beispielsweise ein Teich, ein See oder die Wurzelregion einer Pflanze ebenfalls Ökosysteme. Die Ökosysteme können aber auch so klein sein wie die Mundhöhle des Menschen oder ein Abschnitt des Termitendarms. Die Gesamtheit der Lebensräume unseres Planeten, die **Biosphäre**, lässt sich als ein riesiges Ökosystem verstehen. Im Zusammenhang mit dem Begriff Ökosystem wird häufig auch der Begriff **Umwelt** (engl. **environment**) gebraucht. Umwelt hebt auf die Beziehungen eines bestimmten Organismus (oder einer Population) zu den biotischen oder abiotischen Komponenten des Ökosystems ab.

17.1.2 Standort

Innerhalb der Ökosysteme kann man für jede Art einen Standort (**Habitat**) beschreiben. Der ökologische Standort ist der Platz oder **Lebensraum** (die Lokalität), den ein bestimmter Organismus (**Individuum** oder **Population**) normalerweise bewohnt. Man kann jedem Organismus mindestens einen Standort zuordnen, an dem er wächst und gedeiht und wo man ihn mit hoher Wahrscheinlichkeit auffinden und isolieren kann.

Dies kann z. B. das Sediment eines Sees, fruchtbarer Humusboden, die Nasenhöhle oder der Darm des Menschen sein. Innerhalb eines bestimmten Ökosystems hat ein Mikroorganismus im Allgemeinen nur einen einzigen Standort. Er kann jedoch auch mehrere Standorte haben, jeden in einem anderen Ökosystem. Beispielsweise wächst *Rhizobium* sowohl im Boden als auch in der Pflanze, methanogene Archaeobakterien können ihren Standort im Sediment eines Sees, im Pansen eines Wiederkäuers und im Faulturm einer Kläranlage haben. Mit anderen Worten: Der Standort gibt die **Adresse** eines Organismus an; fast alle Organismen können mehrere Adressen haben.

17.1.3 Ökologische Nische

Im Gegensatz zum Standort bezieht sich der Begriff der ökologischen Nische nicht auf eine räumliche Lokalität, sondern auf die **Funktion** einer Art oder Population in der Lebensgemeinschaft, sozusagen ihren Beruf. Jede Population erfüllt eine bestimmte Funktion, die durch ihre ernährungsphysiologischen Ansprüche, kinetischen Eigenschaften, biochemischen Fähigkeiten, strukturellen Besonderheiten und durch die

Plus 17.1 Adaptation an einen Lebensraum

Die Adaptation an einen Lebensraum soll an einem Beispiel verdeutlicht werden. Im Pansen werden sich nur diejenigen cellulolytischen Bakterien behaupten und die Funktion des Celluloseabbaus wahrnehmen, die in der Lage sind, Cellulose anaerob abzubauen und Energie durch Gärung zu gewinnen. Weiterhin müssen die Mikroorganismen die Temperatur im Pansen, Fettsäuren, Enzyme, Ammonium und andere Produkte tolerieren. Außerdem müssen bestimmte Gärprodukte, z. B. Wasserstoff, kontinuierlich entfernt werden und das Bakterium muss genügend schnell wachsen, um nicht mit dem normalen Nahrungsfluss aus dem Pansen ausgewaschen zu werden. Die Funktion in einem bestimmten Ökosystem zu erfüllen, setzt also eine Fülle von Fähigkeiten und Toleranzen voraus.

Toleranz gegenüber Umweltbedingungen bestimmt ist. Von der Summe der Eigenschaften ist es abhängig, ob eine Art eine bestimmte Funktion in einem distinkten Ökosystem erfüllen kann oder nicht. Die Verbreitung einer Art oder Population ist in Wirklichkeit oft geringer als aufgrund ihrer Eigenschaften anzunehmen wäre. Mit anderen Worten: Die realen Nischen sind kleiner als die potenziellen Nischen. Es sind oft sekundäre Faktoren, die darüber entscheiden, ob eine Art die Funktion wirklich erfüllt, die sie potenziell wahrnehmen könnte (Plus 17.1).

17.1.4 Bewohner eines Ökosystems

Nach der Vorstellung von S. N. Winogradsky (1925) unterscheidet man bei den Mikroorganismen eines Ökosystems zwei Kategorien: autochthone und allochthone. **Autochthone** Mikroorganismen sind in einem bestimmten Ökosystem (Boden, Darm) heimisch und dort immer vorhanden. So sind die autochthonen Bakterien im Boden immer anzutreffen, unabhängig davon, ob bestimmte Nährstoffe von außen zugeführt werden oder nicht. Ihr Vorkommen beruht auf der mehr oder weniger konstanten Zufuhr von Nährstoffen, die für das Ökosystem typisch sind. Sie wachsen langsam, vermögen aber auch lange Hungerphasen ohne größere Einbußen zu überleben. Unter **allochthonen** (oder **zymogenen**) Mikroorganismen versteht man solche, deren Vorkommen von der gelegentlichen Zunahme der Nährstoffkonzentration oder von bestimmten Nährstoffen abhängig ist. Sie wachsen bei guter Versorgung schnell, sterben aber bei Mangel rasch wieder ab. Manche überdauern in Form von Ruhestadien.

17.2 Limitierung von Substraten und Energiequellen

In natürlichen Ökosystemen ist extremer **Nährstoffmangel** die Regel. In Gewässern beträgt die Konzentration eines einzelnen Substrats meist weniger als 10 µg pro Liter. Diese Konzentration entspricht der des Zuckers, wenn ein Zuckerwürfel in einem Schwimmbad aufgelöst wird. Für die meisten Mikroorganismen bedeutet daher Hunger die normale Lebenssituation. Äußerst langsames Wachstum oder periodische Wechsel zwischen schnellem Wachstum und Wachstumsstillstand sind die Regel. An vielen Standorten beträgt die Generationszeit 100–200 Tage, es sind aber auch Jahre möglich. Selbst *Escherichia coli* muss sich im Dickdarm des Menschen mit einer Verdopplungszeit von ca. 20 Stunden begnügen. Beim Studium des mikrobiellen Wachstums betrachtet man die Fähigkeiten eines Organismus in erster Linie hinsichtlich optimaler Wachstumsbedingungen und hoher Wachstumsraten. Die Reaktionsnorm der Organismen unter naturnahen Mangelbedingungen ist hingegen noch weitgehend unerforscht.

17.2.1 Logistisches Wachstum

Ist das Substrat limitierend, wird das Wachstum von Mikroorganismen von der Substratverfügbarkeit bestimmt. Wachstum bei maximaler Rate, wie dies zunächst in der exponentiellen Phase einer Kultur (Abb. 6.8, S. 172) gewährleistet ist, ist nur so lange möglich, wie das Substrat unbegrenzt zur Verfügung steht. Auch bei der Laborkultur krümmt die Wachstumskurve bald in die stationäre Phase ab. Um diese Kinetik beschreiben

zu können, muss die **exponentielle Wachstumsgleichung** durch einen Kapazitätsterm ergänzt werden, was zur so genannten **logistischen Wachstumsgleichung** führt.

Zellmassezunahme bei **exponentiellem Wachstum**:

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x \quad (17.1)$$

Zellmassezunahme bei **logistischem Wachstum**:

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x \cdot \frac{C - x}{C} \quad (17.2)$$

Hier ist μ die exponentielle Wachstumsrate, x die Zelldichte und C die **Kapazität** (maximale Zellzahl), bis zu der Wachstum unter den gegebenen Versorgungsbedingungen maximal möglich ist. Solange x klein ist gegenüber C , ist der Bruch rechts in Gleichung 17.1 nahe 1. Wenn jedoch x eine ähnliche Größe erreicht wie C , wird das exponentielle Wachstum durch den Kapazitätsterm kompensiert und der Zellmassezuwachs (dx/dt) geht gegen Null.

Der Kapazitätsterm C kann sich auf irgendein begrenzendes Substrat beziehen, z. B. die Kohlenstoffquelle, den Elektronendonator, die Stickstoff- oder Schwefelquelle usw. Entsprechend dem Liebig-Prinzip wird das Wachstum durch das Substrat begrenzt, das als erstes begrenzend wirkt, selbst wenn andere noch ausreichend zur Verfügung stehen. Allerdings können Bakterienzellen ihre Zusammensetzung in gewissen Grenzen den Versorgungsbedingungen anpassen und in Zeiten guter Versorgung z. B. Speicherstoffe anlegen, von denen sie unter Mangelbedingungen zehren.

17.2.2 Begrenzung der Abbaurrate

Der Anteil der polymeren Biomasse am natürlichen Substratangebot ist relativ hoch. Der Abbau der Polymere in leicht verfügbare Monomere ist für den überwiegenden Teil des natürlichen Substratangebots der **ratenbegrenzende Schritt** im Abbau (Plus 17.2). Um die entstehenden Mono- und Oligomere entbrennt dann ein Konkurrenzkampf, der im Wesentlichen durch die Substrataffinität bestimmt wird.

17.3 Fließsysteme, Substrataffinität und Schwellenwerte

Die Effizienz, mit der die Kapazitätsgrenze C erreicht wird, wird durch die Substrataffinität (K_s) des jeweiligen Organismus bestimmt. Sie ist definiert als die Substratkonzentration, die Wachstum bei halbmaximaler Rate erlaubt ($\mu_{\max}/2$); wir sind diesem Begriff bei der kontinuierlichen Kultur bereits begegnet (Kap. 6.8.4). Tatsächlich ist die kontinuierliche Kultur, genauer der Chemostat, ein gutes Modellsystem, um Wachstum bei Substratlimitierung im Labor zu untersuchen. Dabei wird die Substratversorgung und damit die Wachstumsrate der Mikroorganismen von *einem* begrenzenden Faktor bestimmt. Unter solchen Bedingungen konkurrieren verschiedene Organismen um begrenzende Substrate, wobei die Effizienz der Substrataufnahme von der Substrataffinität bestimmt wird. In Analogie zur Wachstumsrate lässt sich die Substrataufnahmerate

Plus 17.2 Verwertung von polymeren Substraten

Organische Substrate in natürlichen Systemen werden in erster Linie in Form von **Polymeren** angeboten (Kap. 10.3). **Polysaccharide** (Cellulose, Hemicellulosen, Pectin, Stärke, Glykogen, Chitin), **Lignin**, **Proteine** (Strukturproteine einschließlich Kollagen, verhornte tierische Epidermiszellen, Keratin, ebenso wie lösliche Proteine), sowie **Nukleinsäuren** und **Lipide** machen den weit überwiegenden Teil des organischen Substratangebots aus. Der geringe Anteil niedermolekularer Substrate wird nach dem Absterben von pflanzlichen oder tierischen Zellen rasch abgebaut. Anschließend wird der Substratumsatz von der Rate der **Depolymerisierung** der Polymere bestimmt. Diese vollzieht sich, abhängig von der Chemie der jeweiligen Bindungsform und der Sekundärstruktur, verschieden schnell (Kap. 10.9). Wasserlösliche Proteine und Stärke werden in wenigen Stunden bis Tagen abgebaut. Wasserunlösliche Strukturpolymere, wie Cellulose, überdauern mehrere Monate oder sogar hunderte von Jahren, wenn sie in Form von Holz in kovalenter Verbindung mit dem besonders stabilen Lignin vorliegen. Auch manche Strukturproteine, wie Keratin, können dem mikrobiellen Abbau unter bestimmten Bedingungen (schwach saures Milieu im Moor oder extrem trockene Verhältnisse bei Mumien) über viele Jahrhunderte und Jahrtausende widerstehen.

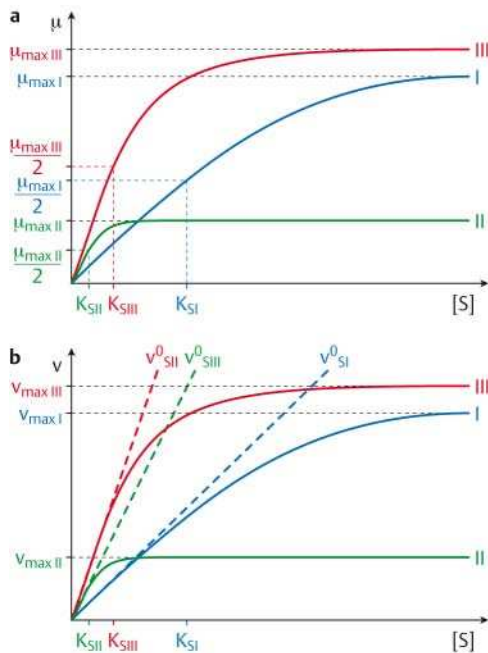


Abb. 17.1 Abhängigkeit der Wachstumsrate μ (a) und der Substratumsatzrate v (b) von der verfügbaren Substratkonzentration. Die Raten sind für drei verschiedene Mikroorganismen (I, II, III) dargestellt. Organismus I: relativ hohe K_S , v_S und μ , Organismus II: niedrige K_S , v_S und μ . Organismus III: optimale kinetische Eigenschaften und den beiden anderen bei geringer und hoher Substratkonzentration überlegen. $\mu_{\max}$, maximale Wachstumsrate; $\mu_{\max}/2$, halbmaximale Wachstumsrate, $v_{\max}$, maximale Substratumsatzrate; K_S , Halbsättigungskonstante; v_S , Substrataufnahmerate; v_S^0 , Steigung der Sättigungskurve bei einer Substratkonzentration von 0.

v_S als Funktion der Affinitätskonstante K_S , der Substratkonzentration S und der maximalen Substratumsatzrate $v_{\max}$ wie folgt darstellen:

$$v_S = \frac{d[S]}{dt} = \frac{v_{\max} \times [S]}{K_S + [S]} \quad (17.3)$$

Verschiedene Organismen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer kinetischen Parameter. Ein Organismus mit relativ hoher Substrataufnahmerate und vergleichsweise hoher Halbsättigungskonstante K_S (Organismus I, Abb. 17.1b) wird gegenüber einem anderen mit gegenteiligen Eigenschaften (Organismus II, Abb. 17.1b) bei hoher Substratkonzentration im Vorteil sein. Letzterer ist jedoch gegenüber dem ersten bei geringer Substratversorgung begünstigt. Organismus II repräsentiert den **autochthonen** Typ, während Organismus I der **zymogenen** Biota zuzurechnen ist. Der in Abbildung 17.1 dargestellte Typ III ist aufgrund seiner kinetischen Eigenschaften sowohl bei geringer als auch bei unbegrenzter Substratverfügbarkeit beiden Konkurrenten überlegen.

Dieser Vergleich macht deutlich, dass neben der Affinitätskonstante K_S auch die maximale Substratumsatzrate $v_{\max}$ erforderlich ist, um eine solche Konkurrenzsituation beschreiben zu können. Tatsächlich gibt der Quotient aus $v_{\max}$ und K_S an, welcher der drei Organismen unter den jeweiligen Bedingungen bei Substratlimitierung gewinnen wird:

$$v_S^0 = \frac{v_{\max}}{K_S} \quad (17.4)$$

Dieser Quotient v_S^0 entspricht der Steigung der Substratsättigungskurve, wenn die Substratkonzentration S gleich null ist (Abb. 17.1b). Dies ist allerdings nur eine theoretische Annahme, da kein Bakterium sein Substrat absolut vollständig verwerten kann (Plus 17.3).

Plus 17.3 Schwellenkonzentrationen

Auch bei beliebig effizientem Substratabbau wird niemals eine Substratkonzentration von null erreicht. Es verbleibt immer eine Restkonzentration, die zu bestimmen nur eine Frage hinreichend empfindlicher Analytik ist. Diese Restkonzentration bezeichnet man als **Schwellenkonzentration** (engl. threshold concentration) des jeweiligen Abbauprozesses. Bei energieliefernden Substraten ist sie eine Funktion der Energiemenge, die bei der jeweils zugrunde liegenden Abbaureaktion freigesetzt wird: Schwach exergone Reaktionen liefern hohe Schwellenkonzentrationen, stark exergone Reaktionen entsprechend niedrige. Durch Zugabe von Cosubstraten kann die Restkonzentration eines gegebenen Substrats noch weiter abgesenkt werden. Daraus wird ersichtlich, dass die Höhe dieser Schwellenwerte durch energetische Faktoren bestimmt wird.

17.4

Hunger, Stress, Abweidung und Populationskontrolle durch Phagen

Der Umgang mit niedrigen Substratkonzentrationen ist bei den Mikroorganismen unterschiedlich effizient entwickelt. Bereits die Gegenüberstellung von autochthonen und zymogenen Bakterien und die Substratsättigungskurven (Abb. 17.1) machen die Unterschiede in der Effizienz der Substratnutzung bei limitierendem Substratangebot deutlich. Man unterscheidet zwischen **oligotrophen** Organismen, die an ein sehr gerin-

ges Substratangebot angepasst sind, und **copiotrophen** Organismen, die im Labor leicht in reichen Nährlösungen zu kultivieren sind. Erstere werden durch zu hohe Substratangebote häufig gehemmt oder sogar abgetötet. Die Mehrheit der Mikroorganismen natürlicher Standorte lässt sich, wenn überhaupt, nur in sehr substratarmen Nährlösungen kultivieren.

17.4.1 Hunger

Bei dem Begriff Hunger denkt man zuerst an eine begrenzte Verfügbarkeit des **Energiesubstrats**, das meist auch **Kohlenstoffquelle** für den Aufbau der Zellsubstanz ist. Es gibt aber auch Mangelsituationen, bei denen eine geeignete Stickstoff-, Schwefel- oder Phosphorquelle fehlt und die in der Zelle jeweils eine grundsätzlich andere Stoffwechselregulation zur Folge haben. Auch der Mangel an einem geeigneten Elektronenakzeptor stellt eine Form des Hungerns dar, z. B. wenn ein obligat aerober Organismus in anoxische Verhältnisse gerät.

Spezialisten, die Hungersituationen gut überdauern können, bilden häufig spezifische Zellanhänge, so genannte **Prosthecan** aus. Zu solchen Mikroorganismen zählen Vertreter der Gattungen *Stella*, *Prosthecochloris* und *Caulobacter*. Man nimmt an, dass die Zellanhänge die Zelloberfläche vergrößern und auf diese Weise die Versorgung der Zellen mit Substrat verbessern.

Andere Organismen begegnen Mangelsituationen, indem sie spezifische Dauerformen, z. B. **Sporen**, ausbilden. Diese stellen eine besonders effiziente Möglichkeit dar, in einem metabolisch inaktiven Zustand, der über viele Jahre anhalten kann, zu überdauern. Andere Organismen können **Cysten**, **Myxosporen** oder **Akineten** bilden (Kap. 5.12). Zahlreiche gramnegative Bakterien bilden unter Hungerbedingungen **Zwergformen** aus (engl. **dwarfing**), die bei stark herabgesetzter Stoffwechselaktivität ihre Lebensfähigkeit behalten (Plus 17.4).

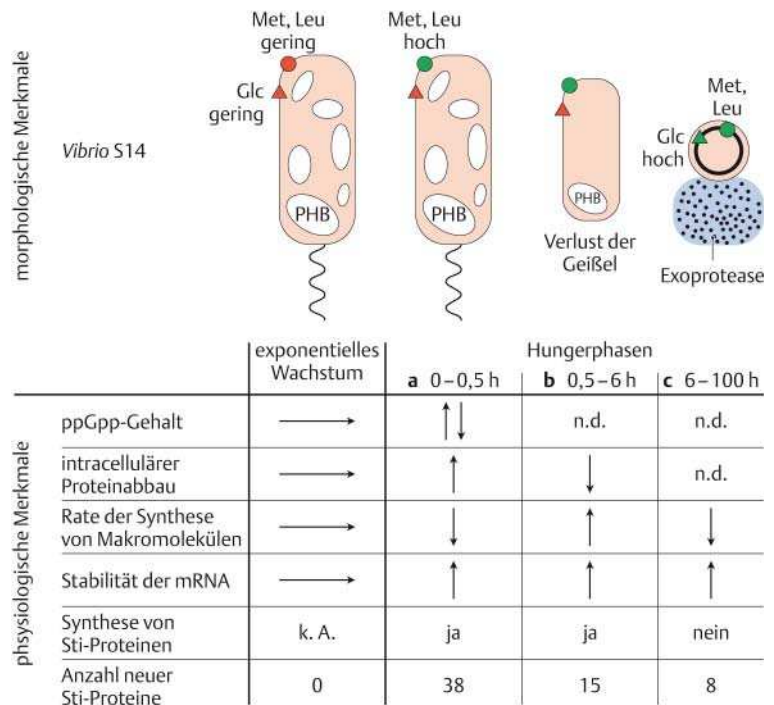
17.4.2 Stress

Unter **Stress**, hervorgerufen durch Hunger, erhöhte Salzkonzentrationen, erhöhte Temperatur oder toxische Substanzen, wird in den Zellen ein spezifisches Programm induziert, das mit einer verstärkten Bildung einer großen Zahl neuer Proteine und anderen Reaktionen einhergeht. Die allgemeine Stressantwort wird durch die Bildung von so genannten **Alarmonen** (z. B. Guanosintetraphosphat, ppGpp) eingeleitet, der die Induktion spezifischer Proteine, z. B. des **Sigma-Faktors** σ^{38} , folgt. Physiologisch antwortet die Zelle auf Substratmangel durch die Induktion hoch affiner Aufnahmesysteme, die Nutzung intrazellulärer Speicherstoffe, den Abbau von Ribosomen und die Verringerung der Zellgröße. Am Ende steht die Ausbildung von Zwergzellen bzw. der bereits genannten Dauerformen. Der Ablauf dieser Reaktionsfolge ist in Abbildung 17.2 schematisch dargestellt. Ein Nebeneffekt der zellulären Hungerantwort ist, dass die Zellen eine allgemeine Resistenz gegenüber anderen Stressfaktoren, wie Wärme, UV-Strahlung oder Zellgifte (z. B. Schwermetalle oder H_2O_2) entwickeln. Wird wieder Substrat zugeführt, ist in der Regel ein schnelles Anwachsen möglich.

Plus 17.4 Der VBNC-Zustand

Unter Hungerbedingungen treten viele Bakterien in einen Zustand, der **VBNC** (engl. viable but non-culturable, lebend aber nicht kultivierbar)-Zustand genannt wird. Die Zellen bleiben morphologisch intakt und metabolisch aktiv, was sich z. B. durch Reduktion eines Redoxfarbstoffs (p-Jodonitrotetrazoliumviolett) nachweisen lässt, doch sie teilen und vermehren sich nicht mehr. Die durch Plattierung erfassbare Anzahl vermehrungsfähiger Einheiten (engl. colony forming units, cfu) nimmt während des weiteren Aus Hungerns dramatisch ab. Bisher ist es nicht gelungen, solche Zellen im Labor wieder in einen vermehrungsfähigen Zustand zu bringen. Der VBNC-Zustand verdient, vor allem vor dem Hintergrund des möglichen Überlebens pathogener Organismen in der Umwelt, Beachtung. Die konventionelle, auf Wachstumstests gegründete hygienische Diagnostik erfasst solche geschwächten Zellen nicht, doch können diese möglicherweise unter geeigneten Umweltbedingungen wieder in einen vermehrungsfähigen Zustand übergehen.

Abb. 17.2 Physiologische und morphologische Adaptation an Hungersituationen bei *Vibrio* Stamm S14. Das Experiment wurde in drei Hungerphasen (a, b und c) aufgeteilt und verschiedene physiologische und morphologische Merkmale untersucht. Pfeile deuten eine Zunahme ↑ oder Abnahme ↓ in der jeweiligen Reaktion im Vergleich zu exponentiell wachsenden Zellen → an. Bei exponentiellem Wachstum ist die Affinität der Aufnahmesysteme für Glucose (Glc), Leucin (Leu) und Methionin (Met) gering (rote Symbole). Zu Beginn der Hungerphase steigt die Affinität der Systeme für die Aminosäuren Methionin und Leucin an (Phase a, grünes Symbol). Bei längerem Hungern verbraucht die Zelle ihren Speicherstoff Polyhydroxybuttersäure (PHB) und verliert ihre Geißel (Phase b). Schließlich wird eine Exoprotease sezerniert und die Affinität des Aufnahmesystems für Glucose steigt an, um die aus den Polymeren der Umgebung freigesetzten monomeren Bausteine aufzunehmen (Phase c). n.d., nicht bestimmt; n.a. nicht anwendbar; sti-Proteine, hungerinduzierte Proteine (nach Östling et al.; 1993).



Plus 17.5 Abweidung und Sauerstoff

Die Abweidung funktioniert nur in Gegenwart von molekularem Sauerstoff effizient, also dort, wo höhere Organismen sich vermehren können, bzw. unter Sauerstofflimitierung in Grenzzonen, z. B. durch Nematoden und Borstenwürmer im anoxischen Oberflächensediment eines Gewässers. Unter strikt anoxischen Verhältnissen ist die Abweidung minimal. Es sind zwar **anaerobe Ciliaten** und **Flagellaten** bekannt, doch scheint ihre Bedeutung für die Erneuerung der Biomasse an anoxischen Standorten nur begrenzt zu sein. Die mittlere Lebensdauer von Mikroorganismen an strikt anoxischen Standorten ist daher wahrscheinlich deutlich länger als in sauerstoffversorgten Lebensräumen. Daher ist strikten Anaerobiern bei deutlich langsamerem Wachstum eine Bestandssicherung möglich.

17.4.3 Abweidung

Auch bei guter Versorgungslage steigt die Anzahl von Prokaryonten in der Natur nicht unbegrenzt. Die Organismen unterliegen der **Abweidung** (engl. grazing). **Ciliaten**, **Flagellaten** und **Copepoden** ernähren sich durch Einstudeln von frei suspendierten Bakterienzellen und eukaryontischen Einzellern. Dagegen grasen **Amöben**, **Rotatorien**, **Nematoden** und **Schnecken** aggregierte und oberflächenassoziierte Mikroorganismen ab. Die Abweidung und die damit einhergehende Rückführung der Nährstoffe stellen sicher, dass die Biomasse ständig erneuert wird, und stellen daher nicht nur einen Nachteil für Mikroorganismen dar (Plus 17.5). Bei der aeroben Oxidation von mikrobieller Zellmasse wird maximal 50%, meist aber nur 20–30% des gebundenen organischen Kohlenstoffs in die Zellmasse des Weidegängers eingebaut. Der Rest wird mineralisiert und stellt die erforderlichen Elemente für den Neuaufbau von Biomasse.

17.4.4 Phagen

Auch **Bacteriophagen** greifen als Parasiten in die Populationsbestände von Prokaryonten ein. Tatsächlich werden z. B. in Oberflächengewässern beeindruckende Zahlen von virusähnlichen Partikeln gefunden. Da Phagen ebenso wie andere Viren jedoch zumeist eine hohe **Wirtsspezifität** aufweisen, kann man aus der Zahl der vorhandenen virusähnlichen Partikel nicht direkt auf ihre Bedeutung für die Populationskontrolle in einer Mikrobengemeinschaft schließen. Man schätzt ihre Bedeutung derzeit auf höchstens 10% der Populationskontrolle, die durch Abweidung erfolgt.

17.5 Transport von Substraten und Produkten

Die Versorgung von Mikroorganismen mit Substraten und der Abtransport von Reaktionsprodukten wird in Laborkulturen durch intensives Schütteln oder Rühren gesichert, vor allem, wenn z. B. die Versorgung mit Sauerstoff aus der Gasphase über eine **Phasengrenzfläche** gewährleistet werden muss. Innerhalb eines Wasserkörpers werden Substrate durch **Konvektion** transportiert, die auf der thermisch oder mechanisch induzierten, internen Bewegung des Wasserkörpers beruht (fälschlich auch Wirbeldiffusion oder *eddy diffusion* genannt). Tatsächlich handelt es sich um einen konvektiven Transport von Wassermassen, der in großen Wasserkörpern (Seen, Ozeane) vom Wind induziert wird und wesentlich für den Transport von Nährstoffen, Sauerstoff, CO_2 usw. verantwortlich ist. Dieser Transport setzt die freie Beweglichkeit des Wassers in Form von Wirbeln voraus. Wo eine solche Bewegung nicht möglich ist, z. B. im Sediment, in tierischen oder pflanzlichen Geweben oder in mit Agar verfestigten Labornährlösungen, kann ein Transport nur über molekulare **Diffusion** erfolgen (Box 17.1).

Die räumliche Verteilung von Substraten ist vor allem für solche Organismen die Grundvoraussetzung ihrer Existenz, die mit ihrem Stoffwechsel in Konkurrenz zu einer sonst spontan ablaufenden chemischen Reaktion stehen, wie z. B. bei der Oxidation von Schwefelwasserstoff oder Fe^{2+} -Ionen mit molekularem Sauerstoff bei neutralem pH-Wert. Solche Organismen können nicht in homogen durchmischten Kulturen gezüchtet werden, da die jeweiligen Substrate unter solchen Bedingungen spontan miteinander reagieren. Simuliert man jedoch im Kultursystem die Verteilung der Substrate so, wie sie in der Natur gegeben sind, baut sich ein **diffusionskontrollierter Lebensraum** auf, in dem die jeweiligen Bakterien ihre Nische finden.

17.5.1 Diffusionskontrollierte Lebensräume und Gradientenorganismen

Im Gewässersediment diffundiert Schwefelwasserstoff aus der Tiefe nach oben und begegnet dem Sauerstoff der oxischen Wassersäule in den Oberflächenschichten des Sediments. Diese Situation lässt sich in einer agarverfestigten Nährlösung im Reagenzglas simulieren (Abb. 17.3). Während in einem unbeimpften Kontrollansatz die Bereiche mit Sauer-

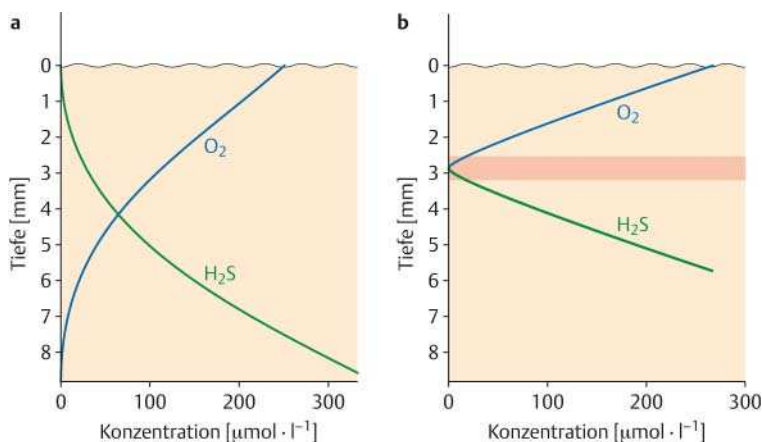


Abb. 17.3 Oxidation von Sulfid durch *Beggiatoa* sp. in gegenläufigen Gradienten von Sauerstoff und Schwefelwasserstoff in halbfestem Agar. **a** Sterile Kontrolle nach 4 Tagen Inkubationszeit. **b** Vergleichskultur, die mit *Beggiatoa* beimpft und für 3 Tage inkubiert wurde. *Beggiatoa*-Zellen haben sich in der roten Zone angereichert (modifiziert nach Nelson et al., 1986).

stoff und Schwefelwasserstoff überlappen und die Gase dabei chemisch miteinander reagieren (Abb. 17.3a), haben sich in einem beimpften Ansatz **aerobe Sulfidoxidierer**, z. B. *Beggiatoa* sp., in der Grenzzone angereichert und katalysieren nun die Reaktion der beiden Reaktanden H_2S und O_2 bei minimaler Substratkonzentration und maximaler Umsatzrate (Abb. 17.3b). Die erhöhte Umsatzrate wird aus der größeren Steigung

Box 17.1 Transport durch Diffusion

Die molekulare Diffusion folgt dem ersten Fickschen Gesetz:

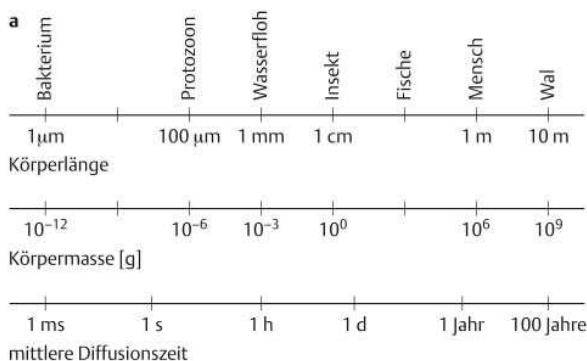
$$J = -D \times \frac{dc}{dx} \quad (17.5)$$

wobei J der diffusive Flux, d.h. die Menge eines Stoffes ist, die sich über eine Flächeneinheit pro Zeiteinheit bewegt, D der Diffusionskoeffizient (temperaturabhängig und für jede Substanz und jedes Transportmedium verschieden) und dc/dx die Konzentrationsänderung über die Strecke x . Für gelösten Sauerstoff in Wasser bei 20°C beträgt $D = 2,12 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Die Zeit, die für ein einzelnes Molekül für die Diffusion über die Distanz l erforderlich ist, lässt sich mit der Formel

$$t = \frac{l^2}{2D} \quad (17.6)$$

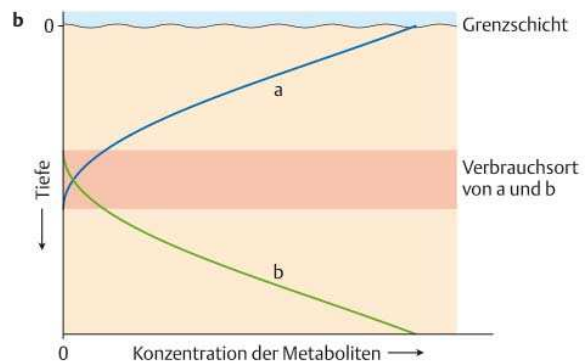
beschreiben. Bei gegebenem Diffusionskoeffizient D wächst die Diffusionszeit proportional zum Quadrat der Entfernung. Transport durch Diffusion ist daher nur über kurze Entfernungen, im Bereich von wenigen Mikrometern, ein effizientes Transportsystem und spielt in der Dimension der Bakterien eine wichtige Rolle. Schon eukaryontische Zellen sind für den intrazellulären Stofftransport auf spezifische Transportsysteme angewiesen. Höhere Organismen benutzen geeignete Kreislaufsysteme. Die Abbildung a zeigt die Beziehung zwischen Transportstrecken und der für die Diffusion eines Sauerstoffmoleküls über diese Strecke erforderlichen Zeit.



a Größenspektrum von Lebewesen und zugehörige mittlere Zeiten für einen diffusiven Transport eines kleinen Moleküls (z. B. O_2) (nach einem Vorschlag von B. B. Jørgensen). **b** zeigt die Verteilungskurven von Metaboliten in einem strukturierten stabilen Medium (Agar, Sediment) im dynamischen Gleichgewicht. Im Bereich der linearen Kurven erfolgt für die Metaboliten a und b ausschließlich ein Transport durch Diffusion von einer Quelle (Bildungsort) zu einer Senke (Verbrauchsort). Beide Metaboliten werden im roten Bereich verbraucht, wo die Kurven gekrümmt sind.

Die Gesetzmäßigkeiten des Transports durch Diffusion kann man zur quantitativen Beschreibung von Transportvorgängen und damit assoziierten mikrobiellen Aktivitäten nutzen. So lässt sich nach Gleichung 17.4 der Fluss eines Substrats über eine Grenzfläche, z. B. des Sauerstoffs vom sauerstoffversorgten Wasserkörper in ein anoxisches Sediment, unmittelbar berechnen, wenn der spezifische Diffusionskoeffizient und der Konzentrationsunterschied über eine Diffusionsstrecke bekannt sind. Mithilfe von **Mikroelektroden** kann man die Verteilung von Metaboliten, wie Sauerstoff, Nitrat, Ammonium, Wasserstoff oder Protonen, innerhalb weniger Mikrometer analysieren. Aus diesen Verteilungskurven lassen sich Metabolitflüsse errechnen, die unmittelbar in **Aktivitäten** der am Standort vorhandenen Mikroorganismengemeinschaften umgerechnet werden können.

Ein Verteilungsgradient zeigt grundsätzlich ein Ungleichgewicht zwischen zwei verschiedenen räumlich getrennten Kompartimenten an. Bleibt dieses Ungleichgewicht über längere Zeit konstant, stellt sich ein **Fließgleichgewicht** mit einem linearen Verlauf des Verteilungsgradienten ein, das exakte quantitative Schlüsse zulässt (Abb. b). Ein gekrümmter Kurvenverlauf im Fließgleichgewicht deutet unmittelbar auf Aktivitäten in der betrachteten Zone hin, entweder auf eine Zehrung oder eine Produktion des gemessenen Metaboliten. Auf diese Weise lassen sich metabolische Aktivitäten in strukturierten Lebensräumen lokalisieren.



im linearen Teil der beiden Kurven im Vergleich zu Abbildung **a** ersichtlich. Auf diese Weise vermeidet *Beggiatoa*, dass ein nennenswerter Anteil der Substrate chemisch miteinander reagiert. Die nichtkatalysierte chemische Reaktion spielt bei den geringen Überlappungskonzentrationen praktisch keine Rolle mehr.

In ähnlicher Weise tragen die Stiele und Scheiden der **aeroben eisen-oxidierenden Bakterien** *Gallionella ferruginea* und *Leptothrix ochracea* an den Austritten schwach saurer Quellen durch die Ausbildung fädig-gallertiger Verbünde zur Stabilisierung des Lebensraums bei. Dieser ist durch den kontinuierlichen Zustrom von Fe^{2+} -Ionen von der einen Seite und einen ausschließlich diffusiven Transport von Sauerstoff von der anderen Seite charakterisiert.

Auch die **aeroben methanoxidierenden Bakterien** sind mikroaerob und in der Natur in gegenläufige Verteilungsgradienten von Sauerstoff und Methan eingebettet. Obwohl sie nicht in Konkurrenz zu einer spontanen chemischen Reaktion ihrer Substrate stehen, scheinen viele von ihnen auf eine Kultivierung in diffusionskontrollierten Kultursystemen angewiesen zu sein. Dies ist wahrscheinlich die Folge einer unkontrollierten Bildung von toxischen Zwischenprodukten der Methanoxidation (Methanol, Formaldehyd), die bei Exposition an zu hohe Substratkonzentrationen akkumulieren.

Die **magnetischen** oder **magnetotaktischen Bakterien** sind typische Bewohner der Redoxdiskontinuitätszone von Süßgewässersedimenten. Die Bakterien zeigen keine Taxis im engeren Sinne, sondern die Zellen werden passiv im Magnetfeld ausgerichtet. Sie enthalten zellinterne "Kompassnadeln", die aus Ketten von membranumgebenen Elementarmagneten aus zumeist **Magnetit** (Fe_3O_4), seltener aus **Greigit** (Fe_3S_4) bestehen (Kap. 5.11). Diese Magneten richten die Zellen entlang den Magnetfeldlinien schräg zur Erdoberfläche aus (außer am Äquator), sodass sie ihren Standort im horizontal geschichteten Redoxgradienten schneller wiederfinden können als dies durch das übliche „Versuch- und Irrtum“-Verfahren (Schwimmen und Taumeln, Kap. 5.9 und 16.9) möglich wäre.

17.6 Methoden zur Analyse mikrobieller Populationen und ihrer Aktivitäten in der Natur

Die **Quantifizierung** von Mikroorganismen in natürlichem Probenmaterial ist sehr viel schwieriger als in Laborkulturen. Bakterien leben oft in Aggregaten oder assoziiert mit unbelebtem Material, vor allem in partikelreichem Standortmaterial, wie Sedimenten und Böden. Sie sind daher unter dem Mikroskop häufig nicht zu sehen und von unbelebten Partikeln nur schwer zu unterscheiden. Um die Mikroorganismen an ihrem natürlichen Standort identifizieren und quantifizieren zu können, mussten daher zahlreiche neue Techniken entwickelt werden.

17.6.1 Färbetechniken und Mikroautoradiografie

Es gibt mittlerweile verschiedene Verfahren, mit denen man Zellen darstellen kann. So können sie z. B. mit fluoreszierenden Farbstoffen, wie **4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI)**, das sich an die DNA anlagert, spezifisch gefärbt und anschließend gezählt werden. DAPI differenziert allerdings nicht zwischen lebenden und toten Zellen. Daher nutzt man für den

Nachweis metabolisch aktiver Zellen andere Farbstoffe, z. B. **redoxaktive Tetrazoliumsalze**. In beiden Fällen erschwert jedoch die Hintergrundfluoreszenz von mineralischen Bestandteilen in Sedimenten und Böden die Analyse. Aktivitäten einzelner Zellen werden gelegentlich auch nach Fütterung mit radioaktiven Substraten durch **Mikroautoradiografie** nachgewiesen. ^{14}C -markiertes **Leucin** wird erfolgreich als Marker für mikrobielle Proteinsynthese eingesetzt, tritiummarkiertes **Thymidin** als Marker für DNA-Synthese und Zellvermehrung. Diese Techniken erlauben jedoch keine Identifizierung der betreffenden Organismen oder eine Zuordnung zu spezifischen metabolischen Aktivitäten.

17.6.2 Chemische Methoden

Man kann die **Gesamtbiomasse** in Standortmaterial auch anhand von chemischen Indikatoren bestimmen. So lässt der **Gesamtgehalt an ATP oder DNA** Rückschlüsse auf die lebensfähige Biomasse zu. Auch die Messung der gesamten **Dehydrogenaseaktivität** durch Reduktion von Farbstoffen ist ein Maß für die metabolisch aktive Biomasse, dessen Aussagekraft aber sehr begrenzt ist. Mikrobielle Gruppierungen eines Lebensraums können auch durch die Analyse der chemisch vergleichsweise stabilen **Lipide** in ihren Zellmembranen spezifiziert werden. Der Gehalt an **Ergosterol** gilt als Maß für das Vorkommen von höheren Pilzen. **Etherlipide** sind kennzeichnend für Archaeobakterien, **Hopanoide** für Cyanobakterien und methanoxidierende Bakterien. Die Analyse von **Fettsäuremustern** nach alkalischer Hydrolyse (Verseifung) der Lipide lässt auf spezifische Organismengruppen und teilweise auf bestimmte metabolische Gruppierungen schließen (Tab. 17.1).

17.6.3 Kultivierungsmethoden

Ziel jeder mikrobiologischen Arbeit am natürlichen Standortmaterial sollte es sein, die dort aktiven Organismen in Kultur zu nehmen, ihre metabolische Leistungsfähigkeit zu prüfen und auf diese Weise Rückschlüsse auf ihre Aktivitäten vor Ort zu gewinnen. Leider ist bisher nur ein kleiner

Tab. 17.1 Beispiele von Biomarkern, die in der mikrobiellen Ökologie genutzt werden. Die Abkürzungen spezifizieren die Struktur der Fettsäuren. a, *anteiso*; i, *iso*; erste Zahl, Anzahl der C-Atome; danach folgen Anzahl und Position von Doppelbindungen; ω gibt an, dass vom Ende her gezählt wird; Me, Methyl-; cy, cyclo-; c, *cis* (Kap. 8.7.4). Modifiziert nach: Boschker and Middelburg (2002) Stable isotopes and biomarkers in microbial ecology. FEMS Microbiol Ecol 40: 85–95.

Klasse des Biomarkers	Organismen	Beispiele
Phospholipidfettsäuren (PLFA)	Bakterien und Eukaryonten	Bakterien (i14:0, i15:0, a15:0, 18:1 ω 7c, cy19:0) Algen (20:5 ω 3, 18:3 ω 3) Pilze (18:2 ω 6) Actinomyceten (10Me17:0, 10Me18:0) Sulfatreduzierer (i17:1, 10Me16:0) Methanotrophe (16:1 ω 8c, 18:1 ω 8c)
Sterole	Eukaryonten	höhere Pilze (Ergosterol)
Hopanoide	Bakterien	Cyanobakterien, Methanotrophe
Etherlipide	Archaeobakterien	Methanogene (Hydroxyarcheole) Crenarchaeota (cyclische Tetraetherlipide)
D-Aminosäuren	Bakterien	D-Alanin

Plus 17.6 Kultivierungserfolge bei Mikroorganismen

Bisher wurde nur ein Bruchteil der Mikroorganismen kultiviert. Der **Erfolg der Kultivierung** variiert abhängig von der Versorgung mit Substrat, d. h. das Verhältnis von kultivierten Organismen zur Gesamtzahl aller vorhandenen Organismen liegt an nährstoffarmen Standorten bei ca. 0,1 % und an nährstoffreichen Standorten bei wenigen Prozent. Die Kultivierungstechniken wurden in der jüngsten Vergangenheit vor allem durch die Verwendung nährstoffarmer, standortangepasster Nährlösungen, die Versorgung mit Substraten in Gradientensystemen und den Einsatz von Partnerorganismen als

Hilfskomponenten deutlich verbessert. Daher ist es heute in manchen Fällen möglich, bis zu 30 % der per Direktzählung erfassbaren Populationen durch Kultivierung zu erschließen. Ein großer Teil der am Standort vorhandenen Organismen bleibt den Kultivierungstechniken verschlossen. Dies liegt zum Teil daran, dass jedes Kultivierungsmedium selektiv ist und immer nur bestimmten Gruppierungen der Mikroorganismen eine Vermehrung erlaubt. So wird man schwerlich aerobe und strikt anaerobe Organismen in einem einzigen Kultivierungsansatz quantitativ erfassen können.

Teil der per Direktzählung erkennbaren Mikroorganismen per **Kultivierung** zugänglich (Plus 17.6).

Eine quantifizierende Kultivierung ist entweder auf der Oberfläche von **agarverfestigten Medien** oder, vor allem für anaerobe Organismen, innerhalb eines Agarmediums möglich. Alternativ kann Standortmaterial auch in Flüssigmedium verdünnt und nach hinreichend langer Inkubation geprüft werden, bei welcher Verdünnungsstufe noch Bakterien gewachsen sind. Werden solche Verdünnungen in mehreren Parallelen angelegt (**most-probable-number-Technik**), lässt sich aus dem Muster der bewachsenen gegenüber den nichtbewachsenen Gefäßen mithilfe eines statistischen Programms die ursprünglich vorhandene Anzahl (engl. most-probable-number) abschätzen. Die Methode leidet an einer recht großen statistischen Unsicherheit, bietet aber den Vorteil, dass in den höchsten Verdünnungsstufen die dominierenden Organismen unmittelbar für weitere Untersuchungen zugänglich sind. Alle Quantifizierungsmethoden durch Kultivierung werden durch den Umstand eingeschränkt, dass Mikroorganismen an natürlichen Standorten dazu neigen, **Aggregate** zu bilden, die nicht vollständig aufgelöst werden können, ohne die einzelnen Zellen mechanisch zu schädigen. Hierzu haben sich verschiedene Homogenisierungsverfahren (Beschallung, Einsatz von Pyrophosphat, polaren oder oberflächenaktiven Substanzen) bewährt, doch sind alle diese Techniken Gratwanderungen zwischen unzureichendem Ablösen und partiellem Abtöten der vorhandenen Organismen.

17.6.4 Molekularbiologische Methoden

Die 16S-rRNA-Gene der kleinen Ribosomenuntereinheit sind von fast allen kultivierten Mikroorganismen sequenziert worden. Durch Sequenzvergleiche hat man anschließend einen komplexen Stammbaum der Prokaryonten entworfen (Kap. 1.3.2). Außerdem war es durch die Sequenzierung möglich, innerhalb des rRNA-Moleküls spezifische, für eine bestimmte phylogenetische Gruppierung typische Sequenzen zu identifizieren. Von diesen Sequenzen wurden komplementäre **rRNA-Sonden** abgeleitet, die mit der rRNA spezifisch hybridisieren. Diese Sonden sind ihrerseits mit fluoreszierenden Farbstoffen gekoppelt. Mit deren Hilfe kann man eine Bindung an die zugehörige RNA der entsprechenden Mikroorganismen im Standortmaterial nach geeigneter Vorbehandlung unmittelbar nachweisen (**Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung, FISH**; Abb. 17.4). Solche rRNA-Sonden bestehen aus 18–25 Nukleotiden. Mit ihnen können insbesondere solche Organismen, die metabolisch aktiv sind und deshalb viel rRNA enthalten, angefärbt werden. Diese Technik wurde daher bisher in

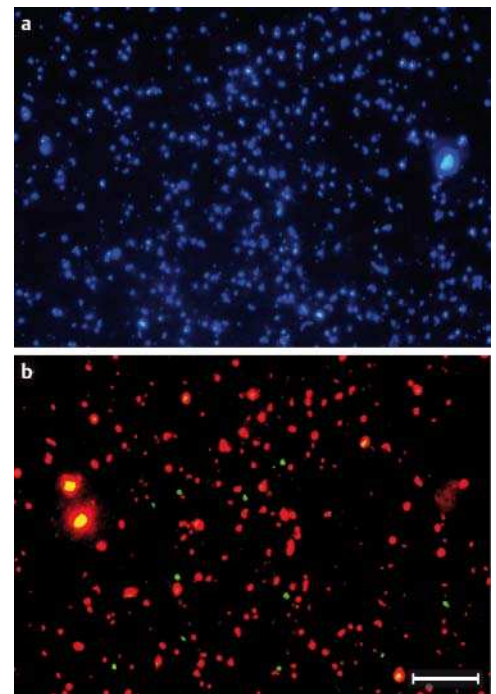


Abb. 17.4 Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zur Identifizierung verschiedener Bakterien. Untersucht wurde eine Meerwasserprobe aus dem Nordatlantik (5 m Tiefe). Der Balken entspricht 10 μm . **a** Färbung mit DAPI, das lebende und tote Zellen unspezifisch anfärbt. **b** Verwendung zweier spezifischer Sonden, die mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind: rot: Eubakterien, grün: Archaeobakterien, gelb: autofluoreszierende Cyanobakterien. (Aufnahme: Annelie Pernthaler, Bremen).

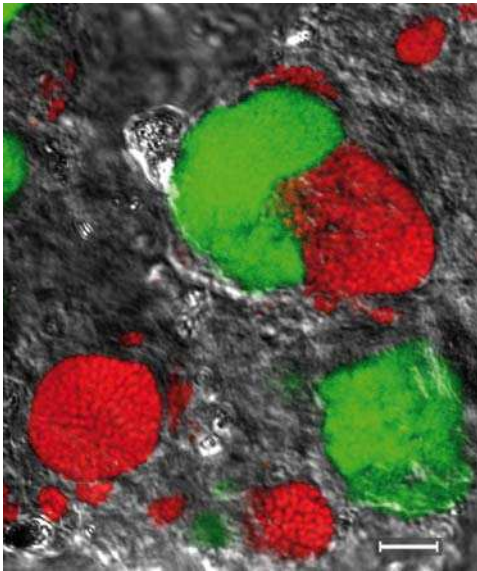


Abb. 17.5 Nachweis von ammonium- und nitritoxidierenden Bakterien in einer Belebtschlammflocke mittels **Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH)** und **konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie**. Für FISH wurden zwei unterschiedlich markierte Sonden verwendet, die mit 16S-rRNA hybridisieren. Rot: ammoniumoxidierende Bakterien der Gattung *Nitrosomonas*, grün: Bakterien der Gattung *Nitrospira*. Der Balken entspricht 10 µm. Die enge räumliche Vergesellschaftung beider Bakterientypen legt eine unmittelbare metabolische Kooperation nahe (Aufnahme Kilian Stöcker und Michael Wagner, Wien).

Box 17.2 Nachweis nichtkultivierter Bakterien

Die neuen Techniken erlauben auch, nichtkultivierte Mikroorganismen phylogenetisch zuzuordnen und am Standort nachzuweisen. Zu diesem Zweck wird DNA aus der Standortprobe extrahiert und das Gen für 16S-rRNA durch PCR mithilfe von geeigneten Primern vermehrt. Das Gemisch von rRNA-Genen wird in einen Vektor kloniert und *E. coli* anschließend mit dem Konstrukt transformiert. Nach Isolierung der *E. coli*-Klone und Sequenzierung der klonierten rRNA-Gene erhält man so eine Klonbibliothek. Nach Synthese geeigneter komplementärer rRNA-Sonden können dann die unbekannten Organismen im Standortmaterial durch FISH nachgewiesen werden.

erster Linie an Standorten mit guter Nährstoffversorgung, z. B. Belebtschlamm von Kläranlagen, mit Erfolg eingesetzt. Schwieriger ist die Anwendung bei nährstoffarmen Standorten mit geringem Substratumsatz. In Sedimenten und Böden verhindert der hohe Gehalt an mineralischen Partikeln und Huminstoffen und deren Hintergrundfluoreszenz die Anwendung von FISH weitgehend.

Wird die FISH-Technik mit der **Laser-Scanning-Mikroskopie** gekoppelt, lassen sich die Mikroorganismen in dreidimensionalen Bildern lokalisieren. In manchen Fällen, etwa nach Markierung verschiedener Organismen mit verschiedenfarbig fluoreszierenden Sonden, kann man deren räumliche Anordnung und damit eventuell vorhandene funktionelle Kooperationen zwischen ihnen erkennen (Abb. 17.5).

Solange solche molekularen Analysen auf rRNA-Sequenzen aufbauen, geben sie nur Auskunft über die Identität und phylogenetische Position des jeweiligen Organismus. In wenigen Fällen metabolisch homogener phylogenetischer Gruppen (z. B. Methanogene) wird mit dieser Zuordnung auch eine Aussage über die metabolische Funktion, ihre ökologische Nische, getroffen. Dies ist z. B. bei den Proteobakterien nicht möglich, da deren Stammbaum noch bis in die feinsten Verästelungen hinein mit metabolisch sehr verschiedenartigen Organismen besetzt ist. Diesem Problem versucht man mit der Entwicklung von **funktionsbezogenen RNA-Sonden** zu begegnen. Diese hybridisieren mit den mRNA-Molekülen, die für spezifische Enzyme, z. B. für die Enzyme der Methanbildung, codieren. In einigen Fällen ist es gelungen, die FISH-Technik mit einer Mikroautoradiografie zu koppeln (**FISH-MAR**) und so neben der Aussage über die phylogenetische Zugehörigkeit auch Informationen über die metabolische

Box 17.3 Markierung mit stabilen, nichtradioaktiven Isotopen

Um spezifisch solche Organismen zu erfassen, die ein bestimmtes Substrat abbauen, kann man das Impfmateriel zuvor mit dem jeweiligen Substrat markieren (engl. **stable isotope probing**). So markiert man z. B. Methanoxidierer, indem man das Standortmaterial mit $^{13}\text{CH}_4$ inkubiert. Die von den Methanoxidierern während der Inkubation produzierte DNA ist spezifisch schwerer als die nichtmarkierte und lässt sich durch Dichtegradientenzentrifugation von der DNA anderer Organismen abtrennen. Anschließend lässt sich die markierte DNA, z. B. über Klonierung der 16S-rRNA-Gene, weiter analysieren. Auf diese Weise kann man die Suche spezifisch auf die Organismen einengen, die das jeweils interessierende Substrat umsetzen und in ihre Zellsubstanz einbauen.

Aktivität zu gewinnen. Bei der Mikroautoradiografie wird radioaktives Substrat gegeben, das von den Zellen aufgenommen und verwertet wird (Abb. 17.6). Alternativ können Bakterien auch mit nicht-radioaktiven Isotopen markiert werden (Stable-Isotope probing; Box 17.3).

17.6.5 Analyse von Organismengemeinschaften

Zur Untersuchung der Zusammensetzung komplexer mikrobieller Gemeinschaften sind verschiedene Techniken erprobt worden, bei denen die DNA aus dem Standortmaterial extrahiert und die 16S-rRNA-codierende DNA durch Polymerasekettenreaktion (PCR) vermehrt wird. Diese DNA-Gemische werden anschließend in einem Harnstoff- oder Formamidgradienten (**denaturierende Gradientengelelektrophorese, DGGE**) oder in einem Wärmegradienten (**thermische Gradientengelelektrophorese, TGGE**) aufgetrennt. Alternativ wird bereits bei der PCR-Reaktion die extrahierte DNA endständig markiert, durch Restriktionsendonukleasen spezifisch in Stücke geschnitten und die Fragmente anschließend elektrophoretisch aufgetrennt (**terminaler Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus, TRFLP**). In jedem Fall entstehen Bandenmuster, deren einzelne Banden jeweils einzelnen Organismen zuzuordnen sind. Diese Techniken erlauben allerdings keine quantitativen Aussagen über die Zusammensetzung der Population, da die DNA in verschiedenen Zellen nicht gleich gut zugänglich ist und die Polymerasekettenreaktion manche DNA-Sequenzen gegenüber anderen bevorzugt.

17.7 Oberflächenanheftung, Biofilme und interzelluläre Kommunikation

Die mikrobiologische Forschung hat sich bevorzugt mit frei suspendierten Bakterien befasst. Sie sind leicht zu vereinzeln und ihre Stoffwechselleistungen sind leicht zu erfassen. In der Natur, speziell im Erdboden und in Sedimenten, aber auch in der Auseinandersetzung mit höheren Organismen, begegnen Mikroorganismen in großem Umfang Grenzflächen, die für sie Chancen und Herausforderungen darstellen. Tatsächlich ist in der Natur und in technischen Systemen jede Grenzfläche, die ausreichend mit Wasser versorgt ist, durch Mikroorganismen besiedelt. Auch die Wasseroberfläche beherbergt eine spezifische Gemeinschaft von Mikroorganismen, und selbst innerhalb eines Wasserkörpers findet man den überwiegenden Teil der dort vorhandenen Mikroorganismen mit kleinen Partikeln assoziiert oder in Aggregaten miteinander verbunden. Das Leben als frei suspendierte Zelle ist in der Natur eher die Ausnahme als die Regel, und der weitaus größte Teil der natürlichen Mikrobiota ist mit Oberflächen assoziiert.

17.7.1 Oberflächenanheftung

In der Natur gibt es keine inerten Oberflächen. Auch eine mineralische Oberfläche, z. B. die eines Sandkorns oder einer eingetauchten Glasscheibe, reichert nieder- und hochmolekulare Verbindungen durch **elektrostatische Wechselwirkungen** und **van-der-Waals-Kräfte** aus der flüssigen Phase an. An Wasser/Gas-Grenzflächen akkumulieren in erster Linie apolare und amphiphile Verbindungen. Auf diese Weise kommt es in diesen Bereichen zu einer verbesserten Nährstoffversorgung, die vor allem an substratarmen Standorten für Mikroorganismen von Bedeutung ist.

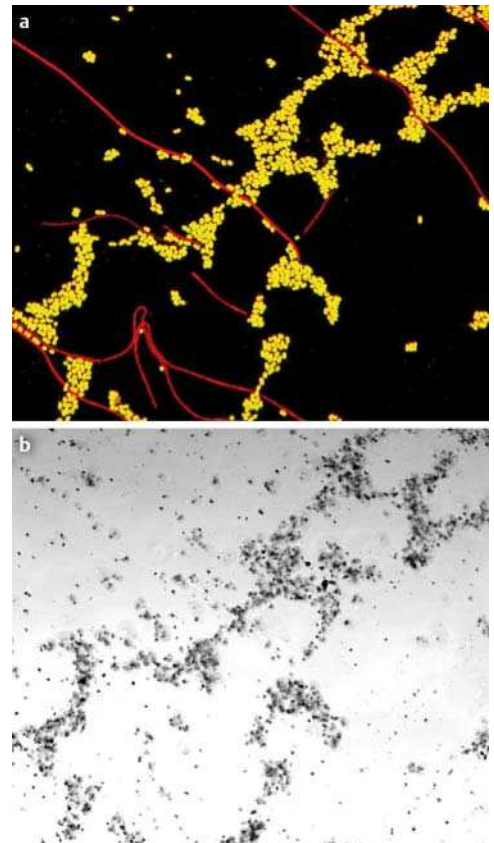


Abb. 17.6 Kombination von Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) mit Mikroautoradiografie. **a** Für FISH wurden zwei unterschiedlich markierte Sonden verwendet, die mit 16S-rRNA hybridisieren. gelb: *Acinetobacter* sp., rot: *Herpetosiphon aurantiacus*. **b** Schwarzfärbung eines Röntgenfilms durch Zellen, die radioaktives Acetat aufgenommen haben: Nur *Acinetobacter* hat radioaktives Acetat aufgenommen (Aufnahmen Natuschka Lee und Karl-Heinz Schleifer, München).

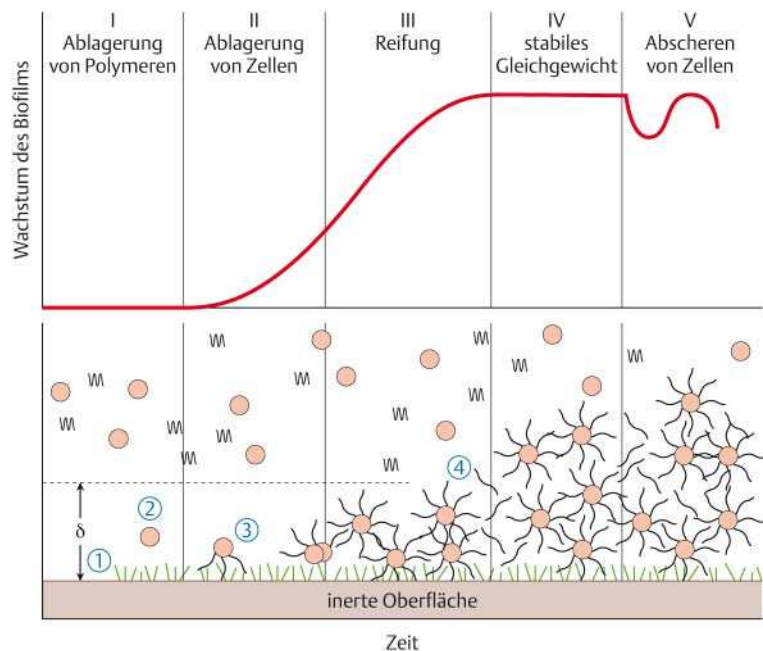


Abb. 17.7 Entwicklung von Biofilmen. Phasen I–V des Aufbaus eines Biofilms. δ , diffusive Grenzschicht.

Der Prozess der Anheftung läuft in aufeinanderfolgenden Phasen ab. Voraussetzung für die mikrobielle Besiedlung ist eine Beschichtung durch in geringer Konzentration im Wasser vorhandene Polysaccharide, Huminstoffe und Proteine (**Konditionierung**) (① in Abb. 17.7). In der ersten, reversiblen Phase binden Bakterienzellen z. B. durch elektrostatische Wechselwirkungen und zum Teil mithilfe von Flagellen an diese Substanzen (②). In der zweiten, meist irreversiblen Phase wird der Kontakt aktiv intensiviert, z. B. durch Veränderung der Zelloberflächenstruktur oder die Ausbildung von spezifischen Adhäsionsproteinen, Polysacchariden oder Fimbrien bzw. Pili (③). In der weiteren Entwicklung binden weitere Zellen an die Oberfläche (④). Zusätzlich entsteht durch Wachstum sukzessive ein dichter Bakterienrasen. Es werden reichlich **extrazelluläre polymere Substanzen** (Polysaccharide, Proteine, auch Nukleinsäuren) freigesetzt, die den Bakterienrasen stabilisieren und die bis zu 85 % des Volumens des entstehenden Biofilms ausmachen können. Abhängig von den wirksamen Scherkräften können so entstandene **Biofilme** eine Dicke von wenigen Mikrometern bis zu Millimetern erreichen (Abb. 17.7). Nur die Oberfläche solcher Filme ist weitgehend homogen. In der Tiefe können sich Gräben und Kanäle bilden, die bei der Substratversorgung eine Rolle spielen. Das Bild erinnert an einen Wald, der vom Flugzeug aus geschlossen wirkt, im Inneren aber durchaus durchgängig ist.

17.7.2 Funktionelle Differenzierung im Biofilm

Infolge der Stoffwechselaktivität der Organismen verändern sich die Lebensbedingungen für die Zellen im Biofilm dramatisch: Der anfängliche Vorteil der verbesserten Substratversorgung an der Grenzfläche wird schnell durch den Nachteil kompensiert, dass z. B. der Sauerstoff nur noch vertikal zur Filmoberfläche nachdiffundiert. Infolgedessen werden die tiefer liegenden Schichten eines Biofilms schnell anoxisch, wie es Abbildung 6.3 (s. S. 165) für eine Bakterienkolonie zeigt. Sofern die film-

Plus 17.7 Einige wichtige Beispiele von Biofilmen

Die Ausbildung von Biofilmen ist nicht nur an nährstoffarmen natürlichen Standorten von Bedeutung. In der Abwasserreinigung nutzt man spezifisch oberflächenassoziierte Organismen, um gelöste Verbindungen zu beseitigen (Kap. 19.14.1). Auch im Freiwasser von Seen und Ozeanen ist der Großteil der Bakterien in Aggregaten assoziiert, die man wegen ihrer Ähnlichkeit zu Schneeflocken als **marine snow** oder **lake snow** bezeichnet. An vorübergehend trockenfallenden Standorten und auch im Boden schützen Biofilme vor dem Austrocknen; darüber hinaus bieten sie für Mikroorganismen, die auf wechselseitige Übertragung von Metaboliten angewiesen sind (Kap. 17.8), stabile räumliche Assoziationen. In der Wechselwirkung mit Pflanzen und Tieren sind nachteilige (Pathogenese, Zahnbelag) ebenso wie vorteilhafte (Besiedlung der Hautoberfläche und der Darmschleimhaut) Assoziationen etabliert. Bei der Trinkwasserversorgung sind Biofilme ein Problem, da sie Wasserverteilungssysteme besiedeln und ein kontinuierliches Reservoir, u. a. für fakultativ pathogene Organismen, wie *Legionella pneumophila*, bieten. Die

bakterielle Besiedlung von Kathetern und Dauerimplantaten in der Chirurgie sind gefürchtete Probleme in der klinischen Mikrobiologie, zumal die Organismen in den Filmen sehr wirksam gegenüber Antibiotika geschützt sind.

Die Bildung von Biofilmen unterliegt oft einer komplizierten Regulation. Gut untersucht ist die Entstehung des **Zahnbelags**, die durch Konditionierung der mineralischen Oberfläche durch mit dem Speichel angelieferte organische Moleküle eingeleitet wird. An diesen Film heften sich verschiedene Bakterien in einer geordneten Abfolge an (Abb. 18.6, s.S. 580). Die spezifischen Verknüpfungen der Zellen untereinander werden durch Lectine und andere Oberflächenproteine vermittelt.

Die **cystische Fibrose** ist eine Lungenerkrankung, die auf einer genetisch bedingten mangelhaften Ausbildung einer oberflächenaktiven Schutzsubstanz im Lungengewebe beruht. Als Folge kommt es zu einer massiven Besiedlung der Alveolen durch *Pseudomonas aeruginosa* und andere Pseudomonaden.

bildenden Mikroorganismen hierzu in der Lage sind, kommt es innerhalb einer solchen Gemeinschaft schnell zu einer **funktionellen Differenzierung**: Während in der Tiefe vor allem anaerobe Stoffwechselprozesse dominieren, findet an der Oberfläche u. a. eine Reoxidation der reduzierten Produkte aus den darunter liegenden Schichten statt (Abb. 17.8). Bei genügend großer Dicke werden Teile des Biofilms durch Scherkräfte von der Oberfläche abgetragen (engl. sloughing) (⑤ in Abb. 17.7). Einige wichtige Beispiele von Biofilmen werden in Plus 17.7 vorgestellt. Die Ausbildung von Biofilmen ist eines von vielen Beispielen, bei denen Mikroorganismen Leistungen vollbringen, zu denen eine einzelne Zelle nicht in der Lage wäre und die eine Koordination zwischen den Einzelzellen erfordern. Die Regulation durch Quorum Sensing, die auch hier eine Rolle spielen kann, wird in Kapitel 16 besprochen.

17.8 Kooperation zwischen Mikroorganismen

Mikroorganismen können in verschiedener Weise miteinander wechselwirken. Im Lauf der Evolution haben sich gegenseitige oder einseitige Abhängigkeiten herausgebildet, die oft weit über die durch Nahrungsketten bedingten Beziehungen hinausgehen. Als sich die höheren Lebensformen entwickelten, wurden auch diese als potenzieller Lebensraum erschlossen. Tiere und Pflanzen haben sich in einer Umwelt entwickelt, in der nahezu alle prokaryontischen Stoffwechseltypen schon vorhanden waren. Es ist daher verständlich, dass sich zahlreiche partnerschaftliche Verhältnisse auch zwischen Mikroorganismen und den höheren Lebensformen entwickelt haben. Die Lebensgemeinschaft von zwei verschiedenen Organismen wird als **Symbiose** im weiteren Sinne bezeichnet. Den größeren Partner bezeichnet man im Allgemeinen als Wirt.

Hinsichtlich des relativen Nutzens, den die Partner aus der Symbiose ziehen, kann man zwischen mehreren Kategorien unterscheiden. Hat die Lebensgemeinschaft auf beide Partner einen günstigen oder positiven Effekt, so spricht man von Symbiose im engeren Sinne oder einer **mutua-**

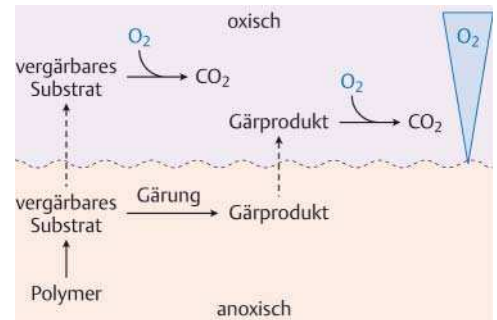


Abb. 17.8 Trennung von metabolischen Funktionen in einem Biofilm. In den oberen und unteren Schichten des Films, der sich z. B. auf der Oberfläche eines Polymers gebildet hat, ist die Versorgung mit Substrat und Sauerstoff unterschiedlich. Daher trifft man verschiedene Stoffwechselvorgänge, wie Atmung und Gärung, parallel und in Abhängigkeit von der Versorgung mit Sauerstoff bzw. mit den entsprechenden Substraten an.

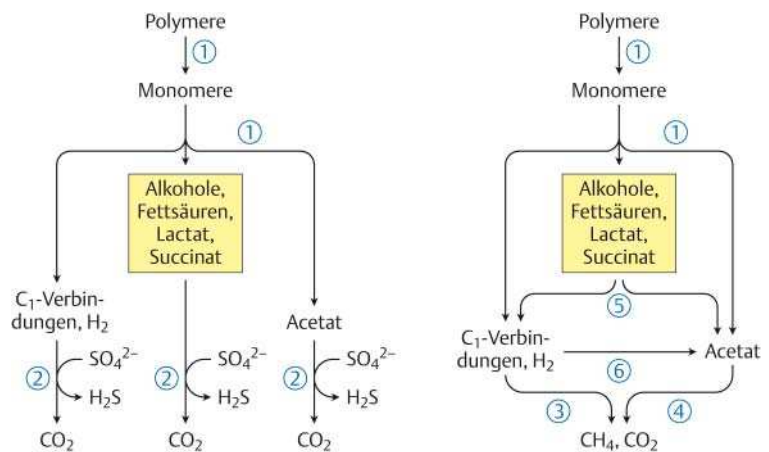
listischen Symbiose (Mutualismus). Erleidet ein Partner durch das Zusammenleben Schaden, liegt **Parasitismus** vor. In vielen Fällen können Partner aber auch ohne gegenseitige Beeinflussung zusammenleben (**Neutralismus**). Das Zusammenleben kann unterschiedliche Ausmaße der räumlichen Verbundenheit erreichen: lebt der eine Partner außerhalb der Zellen des anderen Partners, spricht man von **Ektosymbiose**. Die intrazelluläre Ansiedlung des Partners bezeichnet man als **Endosymbiose**.

Hinsichtlich der Art des Nutzens, den ein oder beide Partner aus der Lebensgemeinschaft ziehen, kann man verschiedenartige Funktionen erkennen: die Assoziation kann der **Ernährung** dienen, beispielsweise durch Fixierung von molekularem Stickstoff, **Abbau von Polymeren** oder Lieferung von **Grundnährstoffen** oder **Supplinen**. Sie kann Erkennungsfunktionen dienen, wie im Fall der Symbiose von Fischen mit Leuchtbakterien (Kap. 18.3). Sie kann aber auch auf einfachen Schutzfunktionen beruhen, die der Wirt den ekto- und endosymbiontischen Mikroorganismen gewähren kann, die aber umgekehrt auch in einem Schutz des Wirts vor anderen, parasitischen oder pathogenen Mikroorganismen, z. B. im Darmkanal, im Genitalbereich oder auf der Haut, bestehen kann.

17.8.1 Die anaerobe Fütterungskette

Kooperationen zwischen metabolisch verschiedenen Mikroorganismen sind insbesondere unter anaeroben Bakterien verbreitet. Während aerobe Bakterien komplexe Substrate, z. B. Polymere wie Cellulose oder Proteine, in Reinkultur vollständig zu CO_2 oxidieren können, wird eine solche Aufgabe in der anoxischen Welt unter strikt reduzierenden Bedingungen auf mehrere Funktionsträger aufgeteilt (Abb. 17.9). Polymere werden durch Exoenzyme zu Oligo- und Monomeren zerlegt, die unmittelbar weiter vergoren werden. An sulfatreichen Standorten, z. B. in marinen Sedimenten, können alle Produkte der **primären Gärungen** unmittelbar von **Sulfat-reduzierern** vollständig oxidiert werden. Die sulfatabhängige Oxidation der Biomasse an solchen Standorten ist daher ein **zweistufiger Prozess** (Abb. 17.9a). Da **methanogene Archaeobakterien** im Wesentlichen nur C_1 -Verbindungen, Wasserstoff und Acetat verwerten können, müssen andere Produkte der primären Gärungen, z. B. Succinat, Lactat, Ethanol und länger-kettige Alkohole, Fettsäuren mit mehr als 2 C-Atomen, aromatische Reste usw. für ihre weitere Umsetzung zu Methan durch so genannte **sekundäre Gärer**, auch obligate Protonenreduzierer genannt, nachver-

Abb. 17.9 Elektronenfluss im Zusammenspiel von gärenden, sulfatreduzierenden und methanogenen Anaerobiern. a sulfatreicher Standort. **b** Sulfatarmer Standort. Die verschiedenen beteiligten Gruppen von Prokaryonten sind ① gärende Bakterien, ② verschiedene Sulfatreduzierer, ③ wasserstoffverwertende Methanogene, ④ acetat-verwertende Methanogene, ⑤ sekundäre (syntrophe) Gärer, ⑥ homoacetogene Bakterien.



goren werden. Die Umsetzung von Biomasse zu Methan an sulfatarmen Standorten, z. B. in Süßgewässersedimenten oder Faultürmen der Kläranlagen, ist daher ein **dreistufiger Prozess** (Abb. 17.9b). Die **sekundären Gärer** bilden mit den methanogenen Archaeobakterien besonders intensive Kooperationen aus, die mit dem Begriff **Syntrophie** bezeichnet werden. Hierbei verwerten die methanogenen Partner die Gärprodukte der sekundären Gärer, zumeist Wasserstoff, Formiat oder Acetat, bei sehr geringer Konzentration und machen damit diese Gärungen energetisch erst möglich (Kap. 12.8). Beide Partner teilen sich dabei den geringen aus der Gesamtreaktion verfügbaren Energiebetrag, wobei für den einzelnen Partner zumeist nur Bruchteile eines ATP pro Reaktionsumsatz zu gewinnen sind.

Die Rolle der primären Gärer können anstelle von Bakterien auch **Protozoen** übernehmen. Insbesondere an nährstoffreichen Standorten trifft man zahlreiche strikt anaerobe Ciliaten und Flagellaten an, die einen Teil der heranwachsenden Bakteriengemeinschaft abweiden. Diese Protozoen enthalten keine Mitochondrien, besitzen jedoch spezielle Organellen, die **Hydrogenosomen**. In diesen wird durch Oxidation von Pyruvat entstandenes Acetyl-CoA via Acetylphosphat zur Synthese von ATP umgewandelt. Die aus der Pyruvatoxidation frei werdenden Elektronen werden als molekularer Wasserstoff entweder an außen angeheftete (epibiontische) oder endosymbiontische methanogene Partner abgegeben, die auf diese Weise die ATP-Ausbeute der Protozoen optimieren (vgl. Box Plus 2.1, S. 34). Andere Formen hochorganisierter bakterieller Symbiosen sind in Form von phototrophen „Konsortien“ verwirklicht (Plus 17.8).

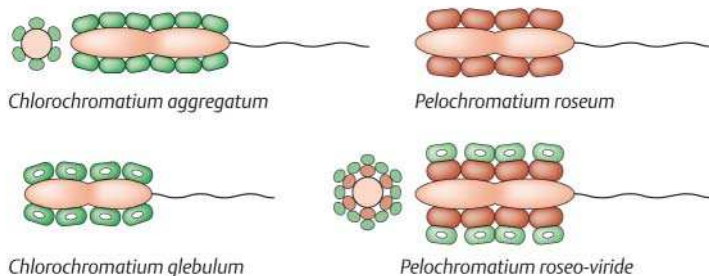
17.8.2 Andere Typen von Symbiosen

Flechten sind Beispiele hoch entwickelter Ektosymbiosen zwischen Mikroorganismen. In einer Flechte sind ein Pilz und eine Alge derart miteinander assoziiert, dass sie einen einzigen einheitlichen Vegetationskörper bilden (vgl. Box Plus 3.4, S. 77). Aus der Lebensgemeinschaft

Plus 17.8 Phototrophe bakterielle Symbiosen

Um **syntrophe Assoziationen** handelt es sich auch bei der Interaktion zwischen *Desulfuromonas acetoxidans* und *Chlorobium* oder zwischen *Desulfovibrio* und *Chromatium*. In beiden Fällen stellt der erstgenannte dem zweiten Partner den Elektronendonator zur Verfügung (vgl. Abb. 13.11, S. 395). Auch für die strukturell hoch organisierten **phototropen Konsortien** aus *Pelochromatium* und *Chlorochromatium* (Abb.) hat man lange angenommen, dass die beiden Partner, ein farbloses,

bewegliches Zentralbakterium mit aufgelagerten phototropen grünen oder braunen Bakterien, über einen Zyklus von Schwefeloxidation und Schwefelreduktion miteinander kooperieren. Dieses Konzept ist wahrscheinlich nicht zutreffend, doch ist die Art der Kooperation nicht bekannt. Immerhin teilen sich beide Partner synchron und sind als Gesamtheit phototaktisch aktiv, so dass man auf eine intensive Kommunikation zwischen ihnen schließen kann.



Konsortien phototropher Bakterien mit chemotrophen Partnerorganismen. Quer- und Längsschnitte durch verschiedene Konsortien.

ziehen beide Partner Nutzen. In der Regel ist der pilzliche Bestandteil der Flechte, der **Mykobiont**, formgebend. Der Pilz bezieht von den Algenzellen organische Nährstoffe, die CO₂-Fixierungsprodukte. Im Gegenzug versorgt er die Algen mit Mineralien und schützt sie vor ungünstigen Einflüssen, insbesondere vor Austrocknung. Als **Phycobionten** können in den Flechten Grünalgen und Cyanobakterien auftreten. Es ist möglich, die beiden Partner zu trennen und isoliert zu kultivieren, sowie künstliche Flechten herzustellen. Die Flechten besiedeln extreme Ökosysteme, in denen keiner der Partner für sich allein existieren könnte.

Eine Symbiose kann auch die Bereitstellung von **Vitaminen** oder **Vitaminvorstufen** betreffen. Der Pilz *Mucor ramannianus* und die Hefe *Rhodotorula rubra* sind beide auf Vitamin B₁ (Thiamin) in der Nährlösung angewiesen. *Mucor* vermag die Pyrimidinkomponente zu synthetisieren, nicht aber das Thiazol. *Rhodotorula* synthetisiert die Thiazol-, nicht aber Pyrimidin-Komponente. Zieht man beide in Mischkultur, stellt der eine Partner die Pyrimidin- und der zweite die Thiazolkomponente als Ausscheidungsprodukt zur Verfügung.

Zieht aus der Lebensgemeinschaft nur ein Partner einen Nutzen, ohne dass der andere Schaden erleidet, spricht man von **Kommensalismus**. So sind an der Bereitung von Harzer Käse ein Pilz und ein Bakterium beteiligt. Aus der Assoziation zieht nur das Bakterium einen Nutzen. Der Pilz oxidiert die im Quark enthaltene Milchsäure und macht den Standort dadurch für das Bakterium bewohnbar. Hier sind auch die zahlreichen Assoziationen von Aerobiern und Anaerobiern zu nennen, in denen die Aerobier durch rasche Reduktion des Sauerstoffs den Standort sauerstofffrei und somit für Anaerobier bewohnbar machen. Andere Beispiele betreffen die Produktion von **Exoenzymen** durch Mikroorganismen, die für sich und andere Mikroorganismen Polysaccharide, Proteine oder Nukleinsäuren erschließen.

Das Zusammenspiel zwischen Bakterien verschiedener Arten mag mehr oder weniger intensiv ausgeprägt sein. Oft wird solche gegenseitige Zusammenarbeit sichtbar, wenn man versucht, Bakterien in Reinkultur zu bringen. **Methanoxidierende aerobe Bakterien** werden häufig von methanoloxidierenden Bakterien, z. B. *Hyphomicrobium* spp., begleitet, die im Übermaß produziertes Methanol abfangen und so einer Selbstvergiftung des Methanoxidierers vorbeugen. Die **Heterocysten** von fädigen, stickstofffixierenden Cyanobakterien sind häufig von großen „Bärten“ angehefteter heterotropher Bakterien umgeben, die durch intensiven Sauerstoffverbrauch zum Schutz des Nitrogenasesystems beitragen. Möglicherweise spielt für diese Bakterien auch der von den Heterocysten ausgeschiedene Wasserstoff als Elektronendonator eine Rolle.

17.9 Seen und Ozeane

In allen Ökosystemen unseres Planeten spielen Mikroorganismen eine zentrale Rolle im Stoffumsatz. An einigen so genannten „extremen“ Standorten sind sie sogar die einzigen nachweisbaren Lebensformen. Aquatische Standorte, wie Ozeane, Seen, Teiche und Fließgewässer, zeichnen sich gegenüber den terrestrischen durch größere Homogenität der Wärme- und Substratverteilung aus und sind für Experimente leicht zugänglich. Tatsächlich hat sich die Wissenschaft von den Gewässern, die Limnologie, als erste ökologische Disziplin eigenständig entwickelt und wir wissen heute über die Ökologie der Gewässer weit mehr als z. B. über die des Bodens.

17.9.1 Süßgewässer

Seen

Seen, Teiche und Tümpel sind relativ leicht beschreibbare **aquatische Ökosysteme**. Sie enthalten durchweg sauerstoffversorgte und anoxische Zonen (Plus 17.9).

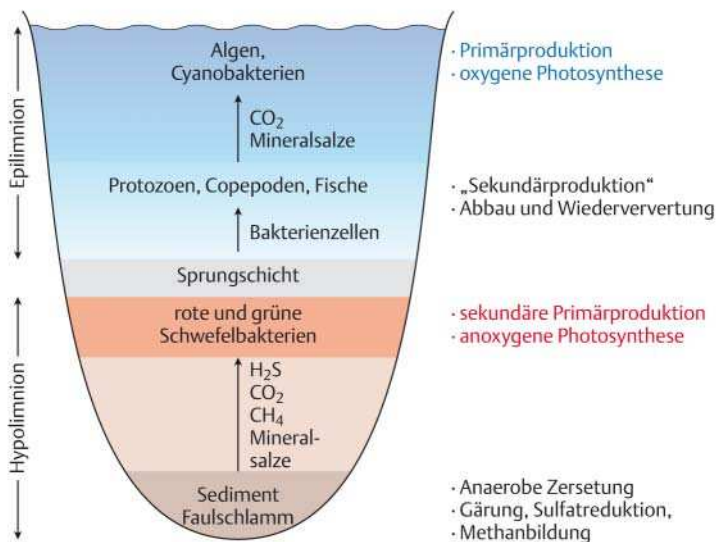
Plus 17.9 Begriffe der Gewässerkunde (Limnologie)

Auf die biologischen Abläufe in Seen und Teichen haben die physikalischen Eigenheiten des Wassers großen Einfluss. Wasser hat seine größte Dichte bei 4 °C. Mit zunehmender Tiefe ändert sich die Temperatur des Gewässers und es kann zu einer mehr oder weniger stabilen, von der Jahreszeit abhängigen **Schichtung (Stratifikation)** des Wasserkörpers kommen (Abb.). Im Frühling wird das kalte Wasser des Sees durch die Sonne erwärmt. Die warme Oberflächenschicht mit verminderter Dichte (**Epilimnion**) schwimmt auf der kälteren Tiefenwasserschicht, dem **Hypolimnion**. Eine Übergangszone, die **Thermokline**, oder **Metalimnion**, trennt die Wassersäule in zwei weitgehend isolierte Wasserkörper. Während das Epilimnion mit dem Luftsauerstoff in Berührung bleibt und dort auch die sauerstoffliefernde photosynthetische Primärproduktion stattfindet, kommt es im Hypolimnion durch sauerstoffzehrende Abbauprozesse im Sediment zum Verbrauch von Sauerstoff, in kleineren, nährstoffreichen Seen sogar zur vollständigen **Anoxie**. In solchen Fällen nennt man die Thermokline auch **Chemokline** oder Redoxdiskontinuitätsschicht. Im Herbst kühlt das Epilimnion ab und der Wasserkörper wird, unterstützt durch herbstliche Stürme,

vollständig durchmischt (Vollzirkulation). Nährstoffe aus der Tiefe und der Sauerstoff aus dem Oberflächenwasser werden wieder gleichmäßig verteilt. Im Winter kann sich infolge der **Dichteanomalie des Wassers** eine inverse Schichtung ausbilden, bei der auf dichtem Tiefenwasser bei 4 °C sich eine Schicht kälteren Wassers (0–4 °C) mit geringerer Dichte aufлагert, die ihrerseits durch eine oberflächliche Eisdecke geschützt wird.

Seen, die 1- bis 2-mal im Jahr vollständig gemischt werden, bezeichnet man als **holomiktische** Seen. Von ihnen unterscheidet man **meromiktische** Seen, bei denen morphologische (Oberflächen/Tiefen-Verhältnis, Windexposition) oder chemische (z. B. Salzeintritte) Gegebenheiten eine vollständige Mischung verhindern und sich ein über viele Jahre stabiles anoxisches Hypolimnion (**Monimolimnion**) einstellt. Dies gilt auch für viele Fjorde, in denen salzarmes Flusswasser auf marinem Tiefenwasser schwimmt.

Das Ausmaß des Stoffumsatzes und der Primärproduktion ist vom Trophiegrad (Gehalt an Nährstoffen) des Gewässers abhängig. In **eutrophen** Seen ist der genannte Umsatz stark ausgeprägt, in **oligotrophen** Seen ist er nur angedeutet.



Vertikalschnitt durch einen eutrophen See als Beispiel für ein aquatisches Ökosystem. Die Sprungschicht (Thermokline) trennt das wärmere, leichtere Oberflächenwasser vom kalten, dichteren Tiefenwasserkörper. In einem intensiv nährstoffversorgten See wird das Tiefenwasser während der sommerlichen Schichtungsphase aufgrund der dort stattfindenden Abbauprozesse häufig völlig anoxisch.

Freiwasser

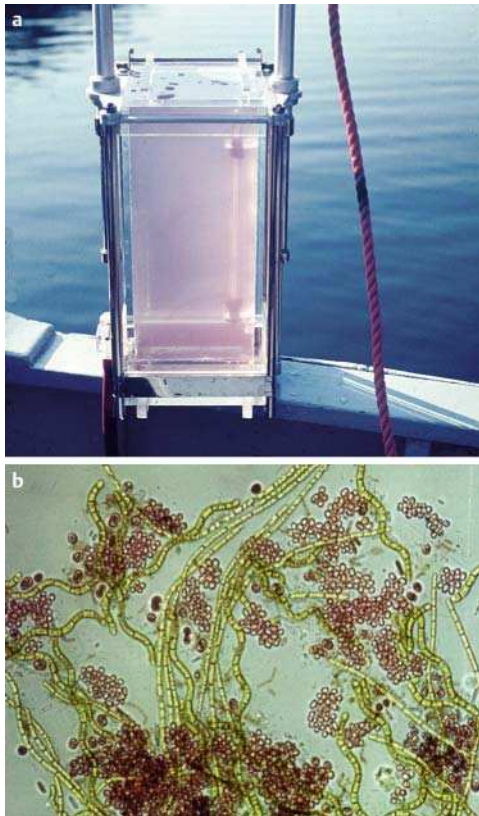


Abb. 17.10 Anoxygene phototrophe Bakterien im oberen Hypolimnion eutropher Seen. **a** Wasserprobe aus dem Kolksee, Schleswig-Holstein, aus ca. 4 m Wassertiefe (Aufnahme: N. Pfennig). **b** Mikroskopische Aufnahme verschiedener roter und grüner phototropher Bakterien aus der Sprungschicht eines kleinen eutrophen Sees (Schleinsee; Aufnahme: J. Overmann).

Im lichtdurchstrahlten Epilimnion wird durch das Phytoplankton (Diatomeen, mixotrophe Flagellaten, Grünalgen, Cyanobakterien) Biomasse produziert. Gewöhnlich gelangt aus der Umgebung weiteres organisches Material in den See. Bei hoher Nährstoffversorgung kommt es zur Massenvermehrung von Cyanobakterien und Grünalgen (Wasserblüte).

Die gelöste organische Substanz im Freiwasser besteht fast ausschließlich aus polymeren Verbindungen mit einem Molekulargewicht von 10 000 g/mol und mehr (sog. **Gelbstoffe**). Diese Verbindungen gleichen strukturell den Huminstoffen und unterscheiden sich von terrestrischen Huminstoffen (Kap. 17.10.2) nur durch einen geringeren Anteil an aromatischen Bausteinen und ein geringeres Molekulargewicht. Sie werden daher auch **aquatische Huminstoffe** genannt. Die Verbindungen werden durch photochemisch und enzymatisch katalysierte, radikalische Polymerisation aus aromatischen und aliphatischen Bestandteilen der Biomasse gebildet und wahrscheinlich auf denselben Wegen langsam wieder abgebaut, wobei ihre mittlere Lebensdauer im Wasser mehrere Jahre bis Jahrzehnte beträgt.

Die im Freiwasser dominierenden Bakterien können zu einem großen Teil der *Cytophaga/Flavobacterium*-Gruppe, sowie den Gattungen *Pseudomonas* und *Alcaligenes* zugeordnet werden. Ihnen kommt eine wichtige Rolle bei der Mineralisierung im so genannten Microbial Loop zu (Plus 17.10). Kultiviert auf Casein-Pepton-Stärke-Platten kann man auf Zellzahlen von $10^2 - 10^4$ pro ml Wasser schließen, der Nachweis durch Direktzählung nach Färbung mit DAPI ergibt $10^4 - 10^6$ Zellen pro ml. Durch Verwendung besser angepasster, magerer Kultivierungsmedien hat man den Anteil der kultivierten Mikroorganismen deutlich erhöhen können.

Ein Teil der organischen Substanz sinkt zum Grund des Sees ab und wird dort zersetzt. Der Abbau im Sediment verbraucht Sauerstoff und führt zur Bildung von H_2S , CH_4 und CO_2 (s.u.). Bei hoher Produktivität eines Sees kann die durch die Abbauprozesse bedingte Sauerstoffzehrung zu völlig anoxischen Verhältnissen im Hypolimnion führen, in deren Folge H_2S und CH_4 bis in das Metalimnion vorstoßen. Methan wird erst in Gegenwart von molekularem Sauerstoff, also unmittelbar an der Untergrenze des Epilimnions, wieder oxidiert. Die methanoxidierenden Bakterien erfüllen damit als „Methanfilter“ eine wichtige Rolle in der Elimination dieses potenten Treibhausgases, bevor es in die Atmosphäre eintreten kann. Schwefelwasserstoff hingegen kann bereits im anoxischen Hypolimnion durch Nitratreduzierer oder durch anoxygen phototrophe Bakterien reoxidiert werden, sofern Licht hinreichender Qualität und Intensität in diese Schichten vordringt. Mit dieser Aktivität bilden die Schwefelpurpurbakterien und Grünen Schwefelbakterien eine zweite Schicht primärer Biomasseproduktion (**sekundäre Primärproduktion**; Abb. 17.10a).

Plus 17.10 Mikrobielle Aktivitäten im Freiwasser

Die Limnologie hat sich anfangs fast ausschließlich mit der Bildung von Algenbiomasse, ihrer Abweidung und weiteren Verwertung durch das Zooplankton und durch Fische beschäftigt. Erst spät ist deutlich geworden, dass Algen neben ihrer Zellmasse auch beträchtliche Mengen gelöster organischer Substanz produzieren und ausscheiden. Diese wird ausschließlich von Bakterien genutzt, die ihrerseits wiederum von Protozoen, v. a. Flagellaten, abgeweidet werden (Micro-

bial Loop). Auch verschiedene partikuläre Nebenprodukte der Nahrungskette (Detritus) unterliegen nach enzymatischer Hydrolyse dem Abbau durch Bakterien. **Detritusnahrungskette** und **Microbial Loop** sind erst in den letzten 20 Jahren in ihrer Bedeutung erkannt worden. Immerhin kann bis zu 50% des Elektronenflusses in einem Gewässer über diese beiden Kanäle erfolgen.

In dieser Zone trifft man mit Gasvakuolen ausgestattete Arten wie *Lamprocystis*, *Amoebobacter*, *Thiodictyon*, *Thiopedia*, *Pelodictyon*, *Ancalochloris* und die durch Geißeln beweglichen Arten der Gattungen *Chromatium* und *Thiospirillum* an, ebenso wie die phototrophen Konsortien *Pelochromatium* und *Chlorochromatium* (Abb. 17.10b). Häufig beobachtet man Massenentwicklungen von Purpurbakterien auch in flachen, nährstoffreichen Gewässern, z. B. unter einer Decke von Wasserlinsen (*Lemnaceae*; Abb. 17.11).

Die Purpurbakterien und grünen phototrophen Bakterien (Sulfidoxidierer) haben Absorptionseigenschaften (Abb. 17.12b, c), die sich von denen

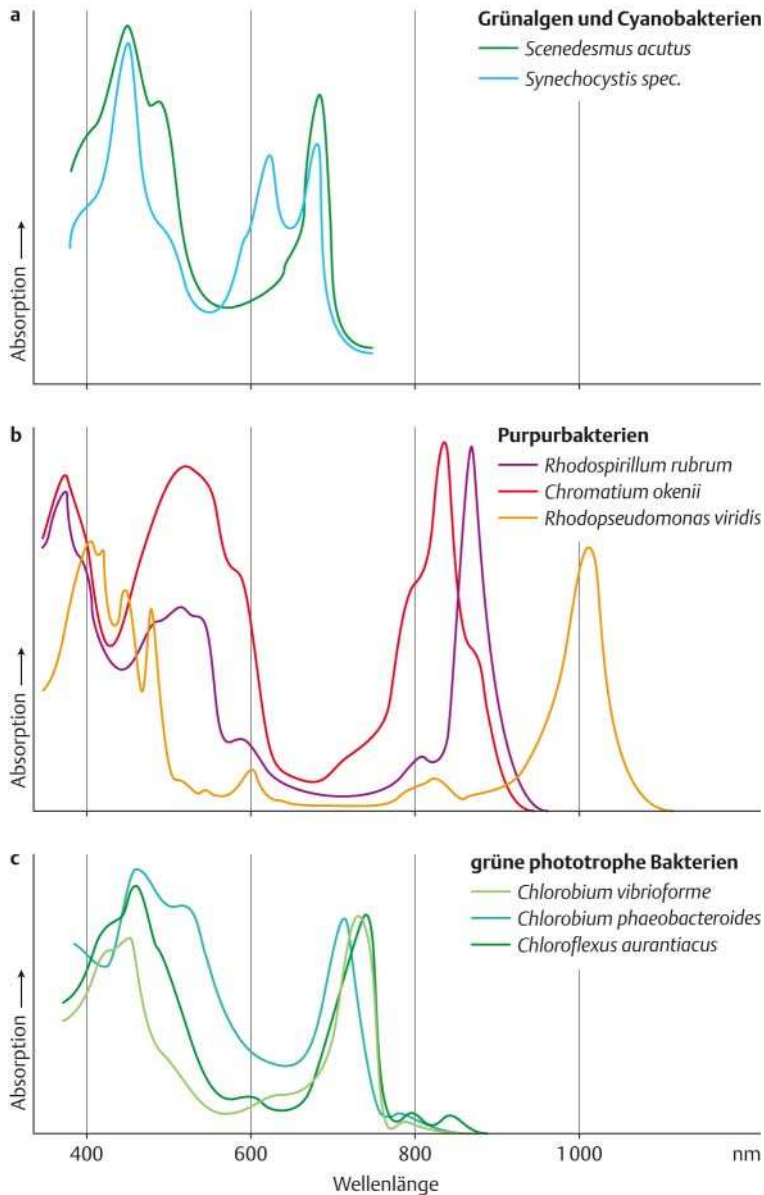


Abb. 17.11 Massenentwicklung von anoxygenen phototrophen Purpurbakterien in einem mit grünen Wasserlinsen bedeckten Tümpel (Aufnahme N. Pfennig).

Abb. 17.12 Spektrale Absorptionskurven von Grünalgen, Cyanobakterien und anoxygenen phototrophen Bakterien. a In den oberen Schichten des Gewässers nutzen Grünalgen und Cyanobakterien das Licht. In tieferen Schichten sind es Purpurbakterien (b), darunter grüne phototrophe Bakterien (c), die das restliche, langwelligere Licht für Photosynthese verwenden (Nach Pfennig, 1967).

der Chlorophyll-*a*-haltigen Grünalgen und Cyanobakterien (Abb. 17.12a) deutlich unterscheiden. Die Hauptabsorptionsbanden der Bakteriochlorophylle oberhalb von 800 nm spielen im Gewässer in größerer Tiefe kaum eine Rolle, da Licht dieser Wellenlänge vom Wasser selbst stark absorbiert wird und nicht in diese Tiefen vordringt. Für die photosynthetische Leistung der Purpurbakterien sind daher in erster Linie die **Carotinoide** verantwortlich, die im Wellenlängenbereich von 450–600 nm genau das Licht ausnutzen, das schon aus physikalischen Gründen am tiefsten in das Gewässer eindringt und das von den Chlorophyll-*a*-haltigen Primärproduzenten im Oberflächenwasser nicht genutzt wird (Abb. 17.12c). Entwickelt sich unter einer Schicht von Purpurbakterien noch eine aus grünen phototrophen Bakterien (Abb. 17.12c), so nutzen diese nur das Restlicht, das von den darüber liegenden Organismen nicht genutzt wird. Grüne phototrophe Bakterien unterhalb der Purpurbakterien sind an besonders **geringe Lichtintensitäten** und einen **höheren Gehalt an Schwefelwasserstoff** angepasst. Sie haben vor allem dann eine Chance, wenn das Wasser durch einen hohen Gehalt an Gelb- oder Huminstoffen das Licht im Wellenlängenbereich unterhalb von 600 nm weitgehend absorbiert und damit den Purpurbakterien keine Möglichkeit zu ausgedehnter Photosynthese gibt (**Braunwasserseen**).

Seesediment

Das Sediment ist das Sammelbecken all dessen, was aus der Primärproduktion über die Umwandlung durch verschiedene Konsumenten an organischen Resten anfällt, einschließlich mineralischer Nebenprodukte, wie **Seekreide** (Calcit, CaCO_3), Eisen- und Calciumphosphat, sowie silikathaltiger Schalenreste von Diatomeen und Chrysophyceen. Die Eintragsrate ist vom Ausmaß der Primärproduktion und der Sedimentationsstrecke, die das Material von der Produktion im Epilimnion bis zum Sediment zurücklegt, abhängig. In nährstoffreichen, flachen Seen kann die jährliche Sedimentauflage mehrere Millimeter erreichen, in den kargen Tiefseesedimenten sind es nur wenige zehntel Millimeter. Für die meisten Seen repräsentiert das Sediment das **Verdaungsorgan** des Gewässers. Die bereits während der Sedimentation begonnenen Abbauprozesse (Hydrolyse von Chitin, Cellulose und anderen Polymeren) werden im dichter gepackten Sediment intensiviert.

Während der Sauerstoff häufig durch die gesamte Wassersäule per Wirbelkonvektion nachgeliefert wird, beschränkt sich der Transport in das Sediment auf molekulare Diffusion. Als Folge der intensivierten Abbauprozesse im Oberflächensediment wird der eindiffundierende Sauerstoff sehr schnell verbraucht. Deshalb herrschen im Allgemeinen wenige Millimeter unter der Sedimentoberfläche vollkommen anoxische Verhältnisse. Der Verlauf der Sauerstoffverteilungskurve gibt über die Intensität des Sauerstoffflusses Auskunft (Kap. 17.5). Ist der Sauerstoff verbraucht, werden alternative Elektronenakzeptoren genutzt. Diese Rolle übernehmen zunächst das **Nitrat**, später **Mangan(IV)**-Salze, z. B. Braunstein (MnO_2), dann die **Eisen(III)oxide**, z. B. Ferrihydrit, Goethit usw., schließlich **Sulfat**, neutraler **Schwefel** und am Ende CO_2 , das zu **Methan** reduziert wird (Abb. 17.13). Die Abfolge der alternativ genutzten Elektronenakzeptoren folgt der **elektrochemischen Spannungsreihe** der jeweils zugrunde liegenden Redoxprozesse (Kap. 11.1.4). Die Reduktion von Mangan- und Eisenoxiden stellt noch ein ungelöstes Problem dar, da diese faktisch nicht löslich sind und die Zelle daher ihre Elektronen außerhalb auf einen mineralischen Akzeptor übertragen muss. Als extrazelluläre Elek-

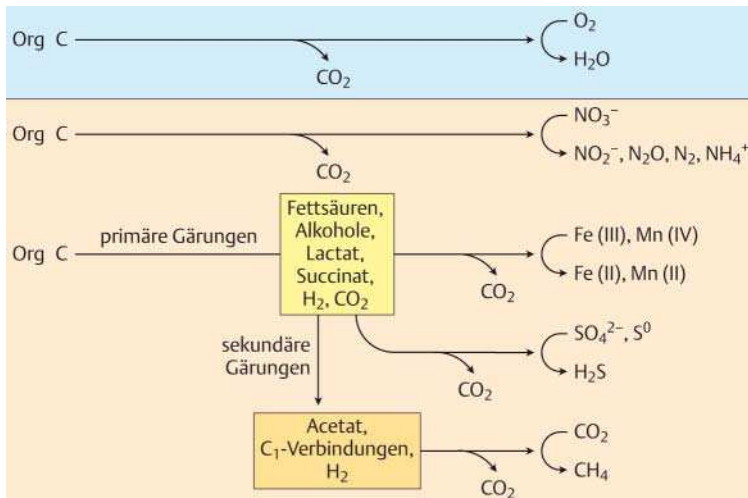


Abb. 17.13 Sequenz von Redoxprozessen im Zuge der sauerstoffbegrenzten Mineralisation von organischer Substanz, z. B. in einem Gewässersediment.

tronenüberträger könnten z. B. die ubiquitär vorhandenen Huminstoffe mit ihren zahlreichen chinoiden Strukturbausteinen (Plus 17.13, S. 555) wirksam werden, aber auch eigens zu diesem Zweck ausgeschiedene organische Elektronencarrier oder Schwefelverbindungen.

Lithotrophe Oxidation

Die reduzierten Endprodukte der alternativen anaeroben Oxidationsprozesse (NH_4^+ , Mn^{2+} , Fe^{2+} , H_2S) gelangen durch **Diffusion** wiederum in höhere Sedimentschichten, wo sie erneut Elektronenakzeptoren mit höherem Redoxpotenzial begegnen, und werden dort reoxidiert (Kap. 13). Gleiches gilt für das Methan, das jedoch erst in Gegenwart von molekularem Sauerstoff mit hoher Rate wieder oxidiert wird, da für den Primärangriff auf das Methanmolekül der Sauerstoff als Cosubstrat erforderlich ist (Kap. 10.6.4). Eine Ausnahme stellt die anaerobe Methanoxidation (s. unten) dar.

Die Diffusion der alternativen Elektronenakzeptoren in das Sediment, ihre Reduktion zu den jeweiligen Derivaten und deren Reoxidation durch **lithotrophe Oxidationsprozesse** (Kap. 11.2) halten sich in einem langfristig stabilen, tiefen Sediment die Waage und führen zu einer Zonierung des Sediments, deren Dimension durch die Rate des Substrateintrags und die Intensität der ablaufenden Redoxprozesse bestimmt wird. In einem eutrophen Seesediment sind die Redoxmetabolite über einige Zentimeter verteilt, bis die Methanbildung nach Reduktion aller alternativen Akzeptoren als terminaler Prozess dominiert. Das aus solchen Sedimenten austretende Gas (Sumpfgas) enthält neben N_2 zu etwa 65–70% CH_4 , 30% CO_2 und Spuren von H_2S . Die Freisetzung von CO_2 im Sediment löst das im Zuge der Primärproduktion ausgefällte Calcit auf. Durch Reduktion des Eisens und seine Fixierung zu Eisensulfiden mithilfe von H_2S wird das Phosphat aus FePO_4 und organischen Addukten wieder freigesetzt und tritt wieder in die Wassersäule ein (**Phosphatrücklösung**), sofern es nicht an der Sedimentoberfläche durch Fe(III) -Salze wieder gebunden wird.

Fließgewässer

In natürlichen, unverschmutzten Fließgewässern ist der Gehalt an Einzellern oft so niedrig, dass das Wasser kristallklar erscheint. Es sei jedoch daran erinnert, dass eine Suspension von 10^6 Bakterien pro ml noch nicht sichtlich getrübt ist. Als die Bevölkerungsdichte noch gering war, reichte ein mehrere Kilometer langer Bach- oder Flusslauf aus, um das aus den Siedlungen eingeleitete, leicht abbaubare organische Material zu mineralisieren. Die Zusammensetzung der Mikroflora und -fauna ist ein guter Indikator für den Verschmutzungsgrad eines Fließgewässers. Solange man Wasserflöhe findet, ist das Wasser weitgehend sauber. Der „Abwasserpilz“ *Sphaerotilus natans*, ein heterotrophes fädiges Bakterium, zeigt starke organische Verunreinigung an und Schwefelwasserstoffgeruch zeugt von anaerober Sulfatreduktion.

17.9.2 Ozean

Ozeane bedecken 70 % der Erdoberfläche. Sie sind Ökosysteme von enormer Stabilität hinsichtlich Temperatur und osmotischem Wert. Die küstennahen Schelfgebiete mit Tiefen bis zu 200 m machen rund 8 % der Meeresoberfläche aus, 15 % der Oberfläche umfassen die Kontinentalhänge zwischen 200 und 2000 m Tiefe und der weitaus größte Teil der Ozeane sind die Tiefseebecken mit einer Tiefe von 3000–6000 m. Nur an wenigen Stellen, etwa im Bereich der Tiefseegräben, erreichen die Ozeane Tiefen bis maximal 11 000 m. Die Temperaturen im Oberflächenwasser liegen im Durchschnitt bei 8 °C, unterhalb von 200 m Tiefe ist das Wasser weltweit 2–4 °C kalt.

Primärproduktion

Die Primärproduzenten im Meer sind nicht nur einzellige Algen, sondern im küstenfernen Ozean, wo die Primärproduktion durch Stickstoff begrenzt ist, auch **Cyanobakterien**, z. B. der Gattung *Synechococcus*. Noch größere Bedeutung hat ein mit den Cyanobakterien eng verwandter Vertreter der Gattung *Prochlorococcus*, der über ungewöhnliche Photosynthesepigmente verfügt.

Diese Organismen wurden wegen ihrer geringen Größe lange übersehen. Es mehren sich Hinweise, dass aerob atmende, anoxygene phototrophe Bakterien aus der Gruppe der alpha-Proteobakterien (*Roseobacter* usw.) wesentlich zur Lichtausnutzung in den oberflächennahen Wasserschichten beitragen. Die Produktivität ist sehr ungleichmäßig verteilt und in den Küstenzonen und den natürlichen Auftriebsgebieten höher als im offenen Ozean.

Wegen der geringen Primärproduktion und der daraus resultierenden geringen Sauerstoffzehrung in der Tiefe sind die Ozeane bis auf den Grund sauerstoffgesättigt. Ausnahmen bilden manche Küstenbereiche, sowie der Golf von Mexiko, das Schwarze Meer und Teile der Ostsee. Heterotrophe Bakterien finden sich im Oberflächenwasser mit 10^4 – 10^6 Zellen pro ml, und nur ein kleiner Teil davon ist bisher der Kultivierung zugänglich. Die marinen Bakterien bilden keine für sich geschlossene, separate Einheit, sondern umfassen nahezu alle großen taxonomischen Gruppierungen und sind auf allen Ebenen mit Prokaryonten terrestrischer Standorte verwandt.

Tiefsee

Die Abbauprodukte der marinen Prokaryonten werden in größerer Tiefe durch den vorherrschenden hohen Druck stark eingeschränkt. Mit Inkubationsexperimenten konnte man zeigen, dass die Rate des Abbaus eingetragener Substrate in Wassertiefen von mehr als 1000 m auf ca. 1 % der Aktivität im Oberflächenwasser zurückgeht. Der **erhöhte Druck** hemmt die Abbauprodukte in allen darauf untersuchten Bakterien. In Tiefen von mehr als 3000 m dominiert in den Ozeanen eine druckangepasste, **obligat barophile Organismengemeinschaft**, die wiederum bei Normaldruck keine Aktivität zeigt. In welcher Weise der hydrostatische Druck biochemische Aktivitäten beeinflusst, ist noch weitgehend unklar. Offensichtlich wird die Struktur der Membranlipide und der Proteine direkt durch den Druck verändert.

Marschen

Marschen sind flache Küstengebiete, die im Zuge des Gezeitenwechsels periodisch mit Meerwasser überflutet werden und wieder trocken fallen. Da sie auf diese Weise ständig mit neuen Nährstoffen versorgt werden, zählen sie zu den produktivsten Standorten der Erde. Unter 1–2 mm dicken Auflagen von Diatomeen und Cyanobakterien (*Microcoleus chthonoplastes*) finden sich auffallende, leuchtend rote Lagen von Purpurbakterien, die den durch Sulfatreduktion reichlich angebotenen Schwefelwasserstoff oxidieren (Abb. 17.14). Diese mikrobiellen Matten erreichen Dicken von einigen Millimetern. Da der Stoffwechsel der Mikroorganismen wesentlich vom Umsatz verschiedener Schwefelverbindungen bestimmt wird, wird ein solcher Standort **Sulfuretum** genannt. In weniger ausgeprägter Form kann man die Gliederung der Sedimentschichten mit ihren verschiedenen Schwefelumsetzungen und den an ihrem Umsatz beteiligten Organismen auch am sandigen Meeresstrand beobachten. Dort bildet sich ein so genanntes Farbstreifensandwatt (Abb. 17.15).

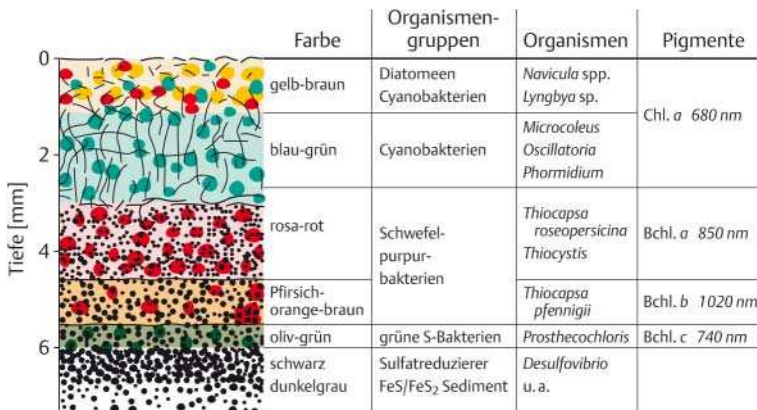


Abb. 17.14 „Mikrobielle Matte“ in einem Marschgebiet (Sippewissett Marsh, Massachusetts, USA), die von einer dicken Schicht von Cyanobakterien dominiert wird. Verschiedene Gruppierungen phototropher Bakterien gliedern sich entsprechend ihren Eigenschaften der Lichtabsorption und ihrem Verhältnis zum Schwefelwasserstoff in die darunterliegenden Schichten. Chl., Chlorophyll; Bchl., Bakteriochlorophyll, jeweils mit den relevanten Lichtabsorptionsmaxima (Zeichnung nach Norbert Pfennig).



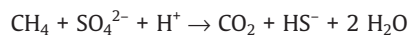
Abb. 17.15 Schichtung von phototrophen Bakterien im sandigen Küstenbereich. Unter einer Deckschicht, die überwiegend von Diatomeen und Cyanobakterien dunkelgrün gefärbt ist, ist deutlich eine rosafarbene Schicht phototropher Schwefeloxidierer erkennbar. Darunter findet sich die schwarze Zone der Sulfidausfällung. Balken: 5 cm (Aufnahme Andreas Brune).

Marine Sedimente

Während Süßwasser gemeinhin nur 50–200 µM Sulfat enthalten, liegt der Sulfatgehalt des Meerwassers bei 28 mM, ist also gut 200-mal höher. Entsprechend hat die **Sulfatreduktion** in marinen Sedimenten wesentlich größere Bedeutung als im Süßwassersediment. Abhängig vom Substrateintrag kann sich dort die Schichtung der verschiedenen Redoxprozesse (Abb. 17.13, S. 549) über viele Dezimeter, gelegentlich mehrere Meter, erstrecken, bevor sich, wenn überhaupt, in der Tiefe Methan bildet. Im Bereich der großen, sehr gut mit Nährstoffen versorgten **Auftriebsgebiete** vor den Küsten Chiles und Südwestafrikas ist als Folge der hohen Primärproduktion auch die sulfatabhängige Mineralisationsaktivität im Sediment enorm hoch. Die gesteigerte Bildung von H₂S erlaubt das Wachstum besonderer Bakterien (Plus 17.11).

Anaerobe Methanoxidation

Über Gashydraten im Bereich der Schelfmeere weisen dicke Beläge von *Beggiatoa* und *Thioploca* auf eine intensive Produktion von Schwefelwasserstoff hin, die jedoch an diesen Standorten nur schwerlich von der Primärproduktion gespeist werden kann. Es zeigte sich, dass dieser Schwefelwasserstoff aus einer sauerstoffunabhängigen Oxidation des Methans resultiert, das langsam aus den Gashydraten frei wird. Das Methan wird bei einem Druck von 40–100 bar zu CO₂ oxidiert, entsprechend der Reaktionsgleichung

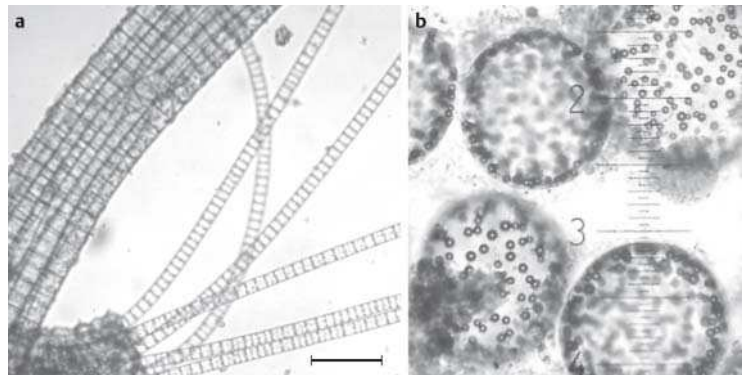


Plus 17.11 Riesenbakterien mit Vakuolen

Der aufwärts diffundierende Schwefelwasserstoff in den Auftriebsgebieten führt auf der Sedimentoberfläche zur Ausbildung von großen Matten aus *Beggiatoa* und *Thioploca* (Abb. a), die den Schwefelwasserstoff entweder mit Sauerstoff oder mit Nitrat oxidieren. *Thioploca* bildet hierzu vernetzte Gemeinschaften, die das Oberflächensediment auf eine Tiefe von bis zu 10 cm durchwuchern. Dies ist nur möglich, weil *Thioploca* den Neutralschwefel als Elektronendonator in den Zellen akkumulieren und über größere Strecken transportieren kann. Außerdem speichert das Bakterium Nitrat in großen internen Vakuolen und reichert es dort um einen Faktor von 1000–10 000 gegenüber dem umgebenden Meer-

wasser an. Ohne diese Nitratspeicher wäre *Thioploca* ebenso wie *Beggiatoa* auf ein Leben in dünnen Filmen zwischen Schwefelwasserstoff und Sauerstoff angewiesen. Vor der Küste von Namibia wurde ein sehr großes schwefelwasserstoffoxidierendes Bakterium gefunden, *Thiomargarita namibiensis*, das mit einem Durchmesser von 300–400 µm, in seltenen Fällen bis zu 700 µm, Dimensionen erreicht, die eine Wahrnehmung mit unbewaffnetem Auge erlauben (Abb. b). Die ungewöhnliche Größe der internen Vakuole bei geringem Protoplasmavolumen befähigt dieses Bakterium, mit gespeichertem Schwefel und Nitrat über mehrere Monate unabhängig von externer Nährstoffzufuhr zu überleben.

Große schwefeloxidierende chemotrophe Bakterien. a Fäden von *Thioploca* spp. b Zellen von *Thiomargarita* sp. in verschiedenen Fokusebenen, die die Anordnung der Schwefelkugeln ausschließlich unter der Zelloberfläche erkennen lassen (Aufnahmen Heide Schulz, Hannover).



Diese anaerobe, sulfatabhängige Oxidation von Methan (Kap. 10.6.4) wurde immer wieder postuliert, doch gab es keinen Nachweis dieser Reaktion im Labor. Die Reaktion ist schwach exergon ($\Delta G_0' = -18 \text{ kJ/mol}$). Unter dem über den Gashydraten herrschenden hohen Methandruck verschiebt sich der Energiebetrag auf -35 bis -40 kJ/mol . Untersuchungen mithilfe spezifisch markierter rRNA-Sonden legen nahe (Abb. 17.16), dass der Prozess von einer Gemeinschaft aus einem **Sulfatreduzierer** und einem den **Methanosarcinales** zuzurechnenden Organismus katalysiert wird, der offensichtlich die Methanoxidation in der Gegenrichtung zur üblichen Methanbildung katalysiert. Es handelt sich hierbei wiederum um eine **syntrophe Assoziation** (Kap. 17.8), bei der beide Partner optimal kooperieren müssen, um aus den jeweils katalysierten Reaktionen ein Minimum an Energie für die eigene ATP-Synthese abzweigen zu können. Offen bleibt, welcher Metabolit zwischen den beiden Partnern als Elektronenüberträger dient. Der Prozess der anaeroben Methanoxidation lässt sich inzwischen unter hohem Druck auch im Labor nachvollziehen. In der Tiefe des unterhalb von 60 m Wassertiefe völlig sauerstofffreien Schwarzen Meeres sind gewaltige Ablagerungen von mikrobieller Biomasse und Calciumcarbonat gefunden worden, die auf anaerobe Methanoxidation zurückgehen.

An tektonisch aktiven Zonen des Meeresbodens bilden sich komplexe Lebensgemeinschaften, die auf bakterieller Chemolithoautotrophie aufbauen (Plus 17.12).

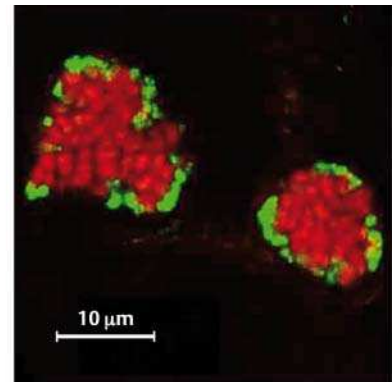


Abb. 17.16 Aggregat (Konsortium) einer anaeroben, methanoxidierenden Lebensgemeinschaft aus dem Schwarzen Meer. Mithilfe von molekularen Sonden für 16S-rRNA wurden den *Methanosarcinales* verwandte Organismen (rot) und sulfatreduzierende Bakterien (grün) nachgewiesen (Balken: 10 µm; Aufnahme Katrin Knittel und Antje Boetius, Bremen).

Anaerobe Ammoniumoxidation

Die in den letzten Jahren in verschiedenen Kläranlagen beobachtete anaerobe, nitritabhängige Ammoniumoxidation (Kap. 13.2.3) läuft auch im Freiwasser des Schwarzen Meeres und in den anoxischen Oberflächensedimenten von Süßgewässern und Ozeanen ab. Sie ist dort für einen wesentlichen Teil der Ammoniumoxidation verantwortlich. Die anaerobe Ammoniumoxidation spielt daher neben ihrer Anwendung zur Stickstoffelimination in der Kläranlage (Anammoxprozess) offensichtlich auch im globalen Stickstoffkreislauf eine wichtige Rolle.

17.10 Boden und tiefer Untergrund

17.10.1 Boden als Standort für Mikroorganismen

Im Gegensatz zu den aquatischen Standorten ist der Boden durch extreme **Heterogenität** in Raum und Zeit gekennzeichnet. Wasser (**Bodenfeuchte**), gelöste Salze, Sauerstoff, CO_2 , organische und anorganische Substrate variieren in ihrer Verteilung und ihrer Assoziation mit den mineralischen Bestandteilen des Bodens auf kleinstem Raum, über wenige Mikrometer bis Millimeter. Sie variieren außerdem in der Zeit, in der sie verfügbar sind. In Trockenphasen geht das vorhandene Wasser bis auf Restmengen zurück, entsprechend steigen die Salzkonzentrationen bis über die Sättigungsgrenze. Diese Situation ändert sich mit einem Regenguss dramatisch. Außerdem verhindert Wasser weitgehend den Transport von Gasen, wie Sauerstoff und CO_2 . Die Bodenfeuchte bestimmt damit die relative Ausdehnung von **anoxischen Mikrostandorten** im Boden. Böden unterliegen auch extremen Veränderungen hinsichtlich der Wärme. Während im Winter ein Boden unserer Breiten Temperaturen bis -25 °C ausgesetzt ist, heizt sich der Oberflächenboden an heißen

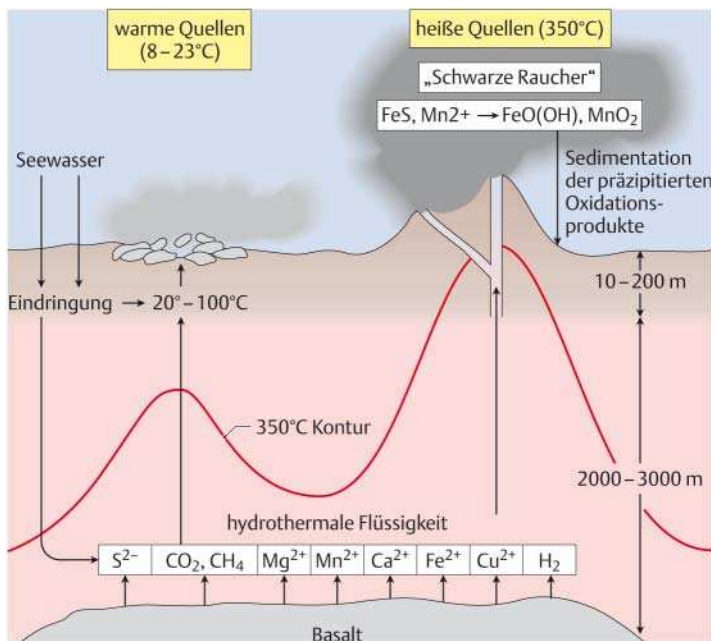
Sommertagen bis auf 50–60 °C auf. Vor diesem Hintergrund ist es nicht überraschend, dass die im Boden lebenden Mikroorganismen eine enorme Diversität aufweisen. Während in einer Wasserprobe aus einem Fischteich 80 verschiedene Genome von Mikroorganismen gefunden wurden, waren es in einem marinen Küstensediment ca. 1000 und in einer Bodenprobe etwa 10000. Die Vielfalt der Mikrostandorte im Boden und ihre Variabilität unter dem Einfluss von Wärme- und Wasserverfügbarkeit selektieren für eine enorme Vielfalt von Mikroorganismen, die an diesem Standort miteinander und in der Konkurrenz zueinander leben.

Plus 17.12 Primärproduktion von Biomasse in der Tiefsee

Das Leben aller heterotrophen Organismen in unserem Lebensraum beruht auf der Biomasse, die durch die Photosynthese der Pflanzen und Bakterien zur Verfügung gestellt wird. Mengenmäßig erscheint im Vergleich dazu die durch chemolithoautotrophe Bakterien erzeugte Biomasse vernachlässigbar gering. Eine Ausnahme macht die Primärproduktion in der lichtlosen Tiefsee. In den Spreizungs- oder Konvergenzonen der Erdkruste, an denen die Kontinentalplatten auseinanderweichen oder zusammenprallen, dringt von unten Magma und von oben Seewasser in die sich bildenden Spalten. Das aus dem Meeresboden austretende, erhitzte Wasser enthält gelöste reduzierte Gase (NH_3 , H_2S , H_2 , CH_4) und Mineralien (Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+}) (Abb.). Diese Ionen bilden bei Kontakt mit dem sulfat- und sauerstoffhaltigen Tiefenwasser Präzipitate, die den austretenden Wasserstrahl mit einem Mantel umgeben. Diese Austrittsschlote sind als sogenannte Schwarze Raucher bekannt. Diese Bezeichnung

nimmt auf die „Rauch“-Fahne Bezug, die dort entsteht, wo 350 °C heißes Wasser austritt und sich mit dem kalten, sauerstoffreichen Meerwasser vermischt.

In der Nachbarschaft dieser heißen Quellen dringt aus dem zerklüfteten Basaltgestein warmes, ebenfalls mit gelösten Gasen angereichertes Wasser (warme Quellen). Die genannten Areale fallen durch üppiges Wachstum von Würmern, Muscheln und Krebsen auf. Die Tiere ernähren sich von Bakterien, die ihrerseits auf der Basis der chemolithotrophen Oxidation von Schwefelwasserstoff oder der Oxidation von Methan ihren Energiestoffwechsel betreiben und Zellsubstanz aufbauen. Sie wachsen in Suspension oder auf Oberflächen. Die Endosymbiose schwefeloxidierender Bakterien mit Würmern wird an anderer Stelle behandelt (Plus 18.3, S. 579). Die Primärproduktion an den heißen Quellen in der lichtlosen Tiefsee beruht also nicht auf Photosynthese, sondern auf **Chemolithoautotrophie** (Kap. 11.2).



Hydrothermalquellen am Boden der Tiefsee.

Heißes, hydrothermales Wasser bringt gelöste Gase und reduzierte Mineralien zum Tiefseeboden. Chemolithotrophe H_2S -, Fe^{2+} - und H_2 -verwertende Bakterien sorgen für eine Primärproduktion, die ein artenarmes, hoch spezialisiertes Ökosystem mit Biomasse versorgt.

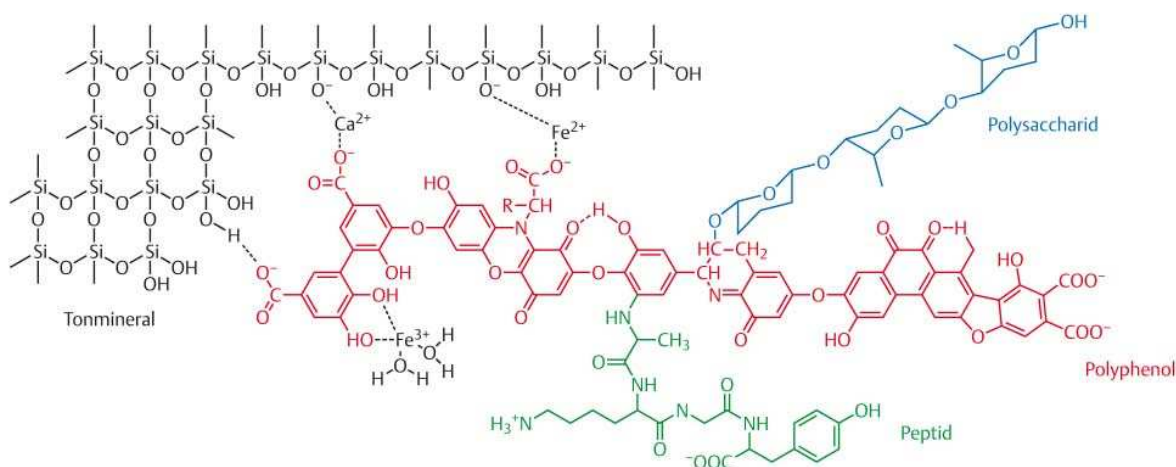
17.10.2 Bodenbestandteile

Die mineralischen Bestandteile des Bodens gehen zumeist auf die Verwitterung des örtlichen Gesteins zurück und werden im Wesentlichen durch **Silikate**, **Carbonate**, sowie **Metalloxide**, v. a. Eisenoxide, geprägt. Carbonatgesteine verleihen dem Boden eine gute Pufferung gegenüber Säureeinträgen. Die organischen Bodenbestandteile werden von den Pflanzen und von tierischen und mikrobiellen Biomasseresten geliefert. Diese können weitgehend strukturiert sein, z. B. in Form von Zweigen oder Chitinpanzern, und werden langsam in eine dunkelbraune, relativ homogene Substanz verwandelt, die man **Humus** nennt (Kap. 10.4). Würmer, Insekten und Protozoen tragen zur Zerkleinerung und zum Abbau des organischen Materials bei. Humus wird im Wesentlichen durch pilzliche Aktivitäten gebildet, die vorwiegend die aromatischen Bestandteile der Biomasse aktivieren und zu komplex strukturierten Polymeren vernetzen. Der entstehende Humus kann aus der Bodenmatrix durch alkalische Extraktion gelöst werden. Durch schrittweise Ansäuerung kann man verschiedene Fraktionen ausfällen, die sich durch ihre Löslichkeitseigenschaften und ihre Molekularmassen (zwischen 10 000 und 200 000 g/mol) unterscheiden, und die man als **Humine**, **Huminsäuren** und **Fulvinsäuren** (Plus 17.13) bezeichnet. Diese Klassifizierung ist künstlich. Untersuchungen mithilfe von radioaktiven Tracern haben gezeigt, dass alle drei Verbindungsklassen in vergleichbarer Weise mikrobiell umgesetzt und ineinander überführt werden.

Plus 17.13 Huminstoffe

Huminstoffe (Humine, Huminsäuren und Fulvinsäuren) enthalten nicht nur aromatische Strukturen. Zwar bilden Aromaten, die aus dem Abbau von Lignin, aromatischen Aminosäuren und pflanzlichen Sekundärmetaboliten hervorgehen, ein wesentliches Strukturelement der Huminstoffe, doch sind in oder an diese aromatischen Strukturen auch andere Bestandteile der Biomasse, z. B. Polysaccharide, Proteine oder einzelne Aminosäuren, kovalent gebunden (Abb.). Unter den funktionellen Gruppen fallen überwiegend saure Carboxylgruppen auf. Sie entstehen u. a. bei der Ringspaltung

von Aromaten durch Dioxygenasen (Kap. 10.6.3) und übernehmen im Boden eine wichtige Rolle als Ionenaustauscher. Über divalente Kationen gewährleisten sie auch die Anbindung an die Silikatmatrix des Bodens. Chinoide Strukturen können als Elektronenüberträger wirksam werden – eine Funktion, die auch bei der mikrobiellen Reduktion von ungelösten Eisen- und Manganoxiden des Bodens eine Rolle spielen könnte (Kap. 17.9). Insgesamt macht der organische Anteil des Oberflächenbodens in einem Wald 10–15% aus, in einem Ackerboden nur 0,3–1,5%.



Exemplarische Darstellung eines Huminstoffmoleküls in Assoziation mit silikatischem Bodenmineral.
(Zeichnung nach Andreas Brune).

17.10.3 Mikroorganismen im Boden

Unter den Mikroorganismen des Oberbodens dominieren die Pilze mit mehr als 80% der Biomasse, während Bakterien nur ca. 10% ausmachen. Die verbleibenden 5–10% der Bodenbiomasse werden von den verschiedenen Tieren ausgefüllt. Unter den Bodenpilzen sind die Hefen nur in geringem Umfang vertreten (ca. 2%); die Mehrheit ist den fädigen, mycelbildenden Pilzen zuzuordnen. Unter den Bodenbakterien dominieren nach herkömmlicher Vorstellung die Gram-positiven Arten, vor allem *Arthrobacter*, *Bacillus* sp. und Actinomyceten. Diese Annahmen basieren aber bisher ausschließlich auf Zählungen, die auf der Kultivierung der Organismen beruhen und deren Schwächen bekannt sind. Molekularbiologische Untersuchungen legen nahe, dass auch die Gattungen *Planctomyces* und *Ochrobactrum* im Boden bedeutend sind. Der Biomasseumsatz im Boden ist vergleichsweise langsam. Aus dem Umsatz der organischen Substanz im Vergleich zur vorhandenen mikrobiellen Biomasse lässt sich abschätzen, dass sich die Mikrobengemeinschaft nur ein- bis zweimal im Jahr verdoppeln kann und der Zuwachs durch Abweidung wieder ausgeglichen wird.

17.10.4 Stickstoffhaushalt

Von großer Bedeutung, vor allem für die Landwirtschaft, ist der **Stickstoffhaushalt** des Bodens. Zum Stickstoffhaushalt tragen primär die stickstofffixierenden Bakterien, unter diesen *Azotobacter*, *Xanthobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus* und verschiedene Clostridien, bei. In Assoziation mit Pflanzen übernehmen die symbiontisch lebenden Vertreter der Gattungen *Rhizobium* und *Frankia* und die relativ lose mit dem Wurzelraum ein- und zweikeimblättriger Pflanzen assoziierten *Azospirillum*-Arten wichtige Funktionen. Da der Boden aufgrund seiner zahlreichen sauren, funktionellen Gruppen in erster Linie ein Kationenaustauscher ist, werden Ammoniumionen im Boden gut, Nitrationen hingegen nur schlecht gebunden. Ammoniumdünger wird in einem gut durchlüfteten Boden durch mikrobielle Nitrifikation schnell zu Nitrat oxidiert, das dann leicht ausgewaschen und ins Grundwasser verfrachtet wird. In anoxischen Mikronischen, insbesondere in staunassen Böden, wird Nitrat durch Denitrifikation leicht zu N_2 umgewandelt, wobei **NO** und **N_2O** als Nebenprodukte entstehen, deren Freisetzung infolge ihrer Treibhauswirkung unerwünscht ist. 70% des N_2O , das in die Atmosphäre gelangt, stammt von Ackerböden und gedüngten Waldböden.

17.10.5 Methankreislauf

Böden wirken auch als wichtige Quellen und Senken von atmosphärischen Spurengasen. Neben der Freisetzung von N_2O ist auch die Freisetzung von **Methan** von globaler Bedeutung. Natürliche Feuchtgebiete, z. B. **Tundren**, und künstliche Feuchtgebiete, wie **Reisfelder**, tragen gemeinsam zu fast 40% zur globalen Methanfreisetzung an die Atmosphäre bei. Der größte Teil der Methanfreisetzung erfolgt nicht direkt über die Boden/Luft-Grenzfläche, sondern durch das **Aerenchym** der dominierenden Pflanzen. Typische Feuchtgebietspflanzen (Helophyten) versorgen ihr Wurzelgewebe durch ein internes Pumpensystem mit Sauerstoff. Im Gegenzug wird Methan aus dem anoxischen Boden über das Wurzelgewebe durch den Stängel und die Blätter an die Atmosphäre abgegeben. Zwar reichern sich im Wurzelsaum dieser Pflanzen **aerobe Methanoxi-**

dierer an, doch reicht ihre Aktivität nicht aus, den Methanexport in die Atmosphäre wirksam zu begrenzen.

17.10.6 Schichtung des Bodens

Die durchwurzelte und beackerte Bodenkrume reicht höchstens bis in eine Tiefe von mehreren Metern. Mit versickerndem Regenwasser werden Mikroorganismen, aber auch gelöste organische und anorganische Substrate in tiefere Bodenschichten und ins Grundwasser verfrachtet. Dort können sie durchaus noch größere Aktivitäten entfalten, vor allem dann, wenn z.B. aus einem leckgeschlagenen Öltank organische Substrate reichlich angeboten werden (Kap. 19.14.5).

17.10.7 Tiefer Untergrund

In marinen Sedimenten hat man bakterienähnliche Strukturen mit 10^4 – 10^8 Zellen pro ml in Tiefen bis zu 500 m unter der Sedimentoberfläche gefunden (Abb. 17.17). Es bleibt offen, wovon sich Mikroorganismen in dieser Tiefe ernähren. Die von der Oberfläche her exponentiell mit der Tiefe abnehmenden Zellzahlen legen nahe, dass der Substrateintrag von oben erfolgt. Allerdings sind solche Sedimente bis zu 10 Millionen Jahre alt und es fällt schwer anzunehmen, dass in solch altem Material noch verwertbare Substrate zu finden sind. Auch in festem, gewachsenem Gestein sind in großer Tiefe noch prokaryontische Zellen gefunden worden. Der Energiestoffwechsel solcher Organismen dürfte auf lithotrophen Prozessen aufbauen, da andere Substrate kaum verfügbar sind.

17.11 Extreme Standorte und ihre Bewohner

Heiße Quellen, Gletschereis, gesättigte Salzlösungen, konzentrierte Säuren oder die unwirtliche Welt der Tiefsee: Solche Lebensräume bezeichnen wir als extrem, weil wir sie nach den von unserer eigenen Lebensbedingungen geprägten Vorstellungen als lebensfeindlich einschätzen. Die Definition eines extremen Standorts hat darum immer ein wenig anthropozentrische Züge. Nach einer allgemeineren Definition kann man extreme Standorte als solche Standorte definieren, an denen nur wenige taxonomische Gruppen von spezialisierten Organismen leben können.

Wenn man sich auf der Wärmeskala aufwärts bewegt, findet man Wirbeltiere nur bis zu einer Temperaturgrenze von ca. 40 °C, Gefäßpflanzen und multizelluläre tierische Lebensformen bis ca. 50 °C und oberhalb 50 °C ausschließlich Pilze, Algen, Protozoen und Prokaryonten. Oberhalb von 60 °C trifft man ausschließlich Prokaryonten an und jenseits von 95 °C ausschließlich Archaeobakterien. So reduziert sich die Vielfalt der Lebewesen mit zunehmender Temperatur. Ähnliches lässt sich beobachten, wenn man sich in Bereiche sehr niedriger Temperaturen, an Standorte extremer Säure-, Basen- oder hoher Salzkonzentrationen begibt. Fast immer sind die Prokaryonten die Organismen, die unter extremen Bedingungen noch ihr Dasein fristen können.

Das wissenschaftliche Interesse an extremen Standorten, neben der verständlichen Neugier gegenüber allem Exotischen, begründet sich aus dem Anreiz, anhand von relativ einfachen, von wenigen Organismengruppen gestalteten Standorten ökologische Konzepte entwickeln und überprüfen zu können. Neben diesem rein ökologischen Aspekt ist man

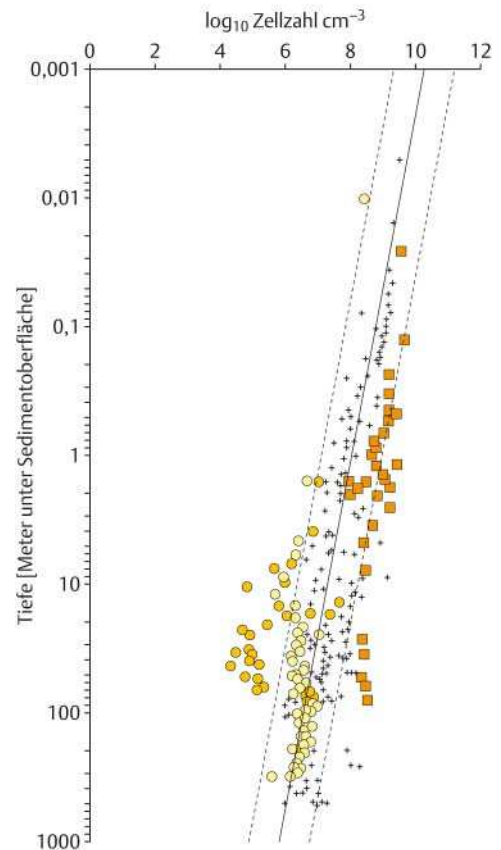


Abb. 17.17 Vorkommen bakterienähnlicher Strukturen in tiefen Sedimenten an fünf verschiedenen Standorten im Pazifischen Ozean. Die Zellen wurden mithilfe von Diamidinophenolindol (DAPI) angefärbt. Deutlich ist eine weitgehend logarithmische Abnahme der zählbaren Partikel mit der Sedimenttiefe zu erkennen. Verschiedene Symbole kennzeichnen verschiedene Probenahme-standorte (nach Parkes et al., 1994).

natürlich auch an ungewöhnlichen Organismen und der Antwort auf die Frage, wie Leben unter den jeweiligen harschen Bedingungen überhaupt möglich sein kann, interessiert. Nicht zuletzt erweisen sich solche Standorte auch als Quelle von Organismen, die wirtschaftliches Interesse finden: Thermophile Bakterien bilden **thermostabile Enzyme**, die beim Abbau von Stärke und Cellulose eingesetzt werden können, Lipasen und Proteasen von Bakterien aus alkalischen Standorten eignen sich als Waschmittelzusätze und bei der Ledergerberei, und Ähnliches gilt für thermophile Lipasen. Auch die heutige Molekularbiologie basiert auf einem Bakterium aus einer heißen Quelle, *Thermus aquaticus*, dessen DNA-Polymerase (Taq-Polymerase) in PCR-Reaktionen eingesetzt wird.

Aber auch im täglichen Leben begegnen uns extreme Standorte. Immer wieder hat der Mensch – wissentlich oder nicht – **Nahrungsmittel** durch Bedingungen konserviert, die eine Vermehrung von Mikroorganismen weitgehend unterbinden. Er hat sie abgekocht, tiefgefroren, gesalzen, kandiert, angesäuert, alkalisch konserviert oder geräuchert und damit eine verbesserte Haltbarkeit für Wochen oder Monate erzielt. Die Konservierungsmethoden beruhen darauf, dass spezifisch angepasste Mikroorganismen angereichert werden, die dem anschließenden Verzehr nicht abträglich sind. Hier begegnet die Ökologie extremer Standorte der **Lebensmittelmikrobiologie**.

17.11.1 Heiße Standorte und thermophile Organismen

Zu den **thermophilen** Bakterien zählen wir heute solche Organismen, die in einem Temperaturbereich von 40–60 °C wachsen. Als **extrem thermophil** gelten solche mit Temperaturoptima zwischen 55 und 80 °C und **hyperthermophile** Organismen wachsen erst oberhalb von 75 °C mit Optima bei 80 °C und höher (Kap. 6.4). Sie wurden erst vor wenigen Jahrzehnten entdeckt (Plus 17.14).

Die meisten thermophilen Bakterien sind **Archaeobakterien**, nur wenige sind den Eubakterien zuzurechnen. Ein Vergleich der ribosomalen 16S-rRNA-Sequenzen von Eu- und Archaeobakterien (Kap. 2.6) zeigt, dass fast alle Organismen, die man in der Nähe des Ursprungs der biologischen Evolution annimmt, zu den extrem thermophilen und hyperthermophilen Organismen gehören. Dies legt den Schluss nahe, dass sich die frühe Evolution des Lebens an heißen Standorten auf der noch jungen Erdoberfläche vollzogen hat und die hyperthermophilen Prokaryonten Zeugen dieser frühen Entwicklungsphase repräsentieren. Wir bezeichnen diese Organismen daher als **primär thermophil**, im Gegensatz zu den **sekundär thermophilen Organismen**, wie *Bacillus stearothermophilus*, *Clostridium thermocellum* oder *Thermoactinomyces vulgaris*, die erst später aus dem Stammbaum der Prokaryonten abzweigen und große Ähnlichkeit zu mesophilen Verwandten zeigen. Diese Organismen sind in großem Umfang aus Komposthaufen und sich selbst erhitzendem Heu isoliert worden, zu dessen **Erhitzung** sie durch ihre eigene Stoffwechselaktivität wesentlich beitragen. Aus Gärungen frei gesetzter Wasserstoff dürfte eine Schlüsselrolle bei der gelegentlichen Selbstentzündung des Heus spielen. Im Gegensatz zu den spektakulären, konstant heißen Quellen sind manche Standorte auch extremen **Temperaturveränderungen** ausgesetzt, z. B. die Oberflächenschichten des Bodens im Jahresgang in unseren Breiten, die Temperaturen zwischen –25 °C und +50 bis +60 °C haben können. Auch diese extremen Wechsel stellen besondere Anforderungen an die an solchen Standorten lebenden Mikroorganismen.

Plus 17.14 Entdeckung thermophiler Bakterien

Die Erforschung der thermophilen Bakterien hat sich in zwei großen Wellen vollzogen. In den 70er Jahren haben Thomas Brock und seine Mitarbeiter im Yellowstone Nationalpark, USA, an den dortigen heißen Quellen thermophile Bakterien mit Optima um 65–75 °C isoliert und viele originelle Untersuchungen zur Ökologie dieser Organismen in ihrem natürlichen Lebensraum durchgeführt. In einer zweiten Welle verschob sich das Interesse an den thermophilen Organismen zu Standorten auf der Höhe des Meeresspiegels oder submarinen heißen Quellen. Vor allem Karl Stetter, Wolfram Zillig und Holger Jannasch haben mit ihren Isolierungen von diesen Standorten die obere Temperaturgrenze des Lebens bis über 110 °C angehoben.

Extrem heiße Standorte

Solche Standorte, z. B. heiße vulkanische Quellen, können als vollständige Ökosysteme betrachtet werden, da sie zumindest potenziell alle wesentlichen trophischen Gruppierungen eines echten Ökosystems, d. h. **Primärproduzenten** und **Konsumenten**, enthalten. Vulkanische Gase enthalten neben Wasserdampf fast immer H_2S , CO_2 , H_2 , CO und andere Spurengase, zusammen mit gelösten reduzierten Metallionen, wie Fe^{2+} und Mn^{2+} . Im Kontakt mit dem Luftsauerstoff werden viele dieser Komponenten oxidiert. Sulfid fällt als elementarer Schwefel aus, der häufig sulfidische Quellen umgibt (daher der Name des Yellowstone Parks) und langsam weiter zu Schwefelsäure oxidiert wird.

Die **Primärproduktion** an extrem heißen Standorten wird in erster Linie von **chemolithotrophen** Organismen geleistet (Tab. 17.2). Neben der Oxidation von molekularem Wasserstoff, Schwefelwasserstoff oder Schwefel mithilfe von Nitrat, CO_2 , Schwefel, Sulfat oder Sauerstoff wird durch verschiedene Vertreter der hyperthermophilen Archaeobakterien organische Substanz aufgebaut, die anschließend durch heterotrophe Konsumenten oxidiert werden kann.

In ähnlicher Weise lassen sich vollständige Ökosysteme auch aus solchen Organismen konstruieren, die aus submarinen heißen Quellen isoliert wurden. Auch hier leisten chemolithotrophe Prokaryonten die Primärproduktion. Eine **phototrophe Primärproduktion** ist erst unterhalb einer Temperatur von 73°C möglich. Das Cyanobakterium *Synechococcus lividus* bildet im Ablauf von neutralen heißen Quellen in diesem Temperaturbereich die ersten auffallend grünen Beläge, die bald darauf durch ein orange gefärbtes, dennoch den grünen anoxygenen Photo-

Tab. 17.2 Die wichtigsten Vertreter hyperthermophiler Prokaryonten an terrestrischen heißen Quellen.

	$T_{\text{max}} (^\circ\text{C})$	Stoffwechsel
Chemotrophe Primärproduzenten		
<i>Pyrobaculum aerophilum</i>	103	$\text{H}_2 + \text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$
<i>Methanothermus sociabilis</i>	97	$4 \text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$
<i>Acidianus infernus</i>	95	$\text{H}_2 + \text{S}_0 \rightarrow \text{H}_2\text{S}$
<i>Desulfovibrio thermophilus</i>	75	$4 \text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4 \text{H}_2\text{O}$
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	85	$2 \text{S}^0 + 3 \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{SO}_4^{2-} + 4 \text{H}^+$
Phototrophe Primärproduzenten		
<i>Synechococcus lividus</i>	73	oxygene Photosynthese
<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	70	anoxygene Photosynthese
Heterotrophe Konsumenten		
<i>Pyrobaculum islandicum</i>	103	Oxidation organischer Substrate mit S_0
<i>Thermotoga thermarum</i>	84	Vergärung organischer Substrate
<i>Bacillus</i> sp.	85	Oxidation organischer Substrate mit O_2
<i>Thermus aquaticus</i>	80	Oxidation organischer Substrate mit NO_3^- , O_2
<i>Thermoanaerobacter brockii</i>	78	Vergärung organischer Substrate

Abb. 17.18 Octopus-Quelle im Yellowstone Nationalpark, Wyoming, USA. Im Quelltopf im Bildhintergrund (a) quillt ca. 90 °C heißes Wasser aus der Tiefe. In der Mitte bei ca. 55 °C hat sich eine von *Synechococcus lividus* farblich dominierte grüne Mikrobenmatte entwickelt, die im Vordergrund, in einem durch kleine Kalksinterwälle abgetrennten Seitenbereich, durch *Chloroflexus aurantiacus* orangefarben erweitert wird. Im Ablauf dieser Quelle (b) ist im oberen, heißen Teil noch keine Besiedlung durch phototrophe Organismen zu erkennen. Erst wo sich das Wasser auf ca. 73 °C abgekühlt hat, wird vom Rand her zunächst eine grüne (*Synechococcus lividus*), dann eine orangefarbene (*Chloroflexus aurantiacus*) Besiedlung erkennbar (Aufnahme B. Schink).



trophen zuzurechnendes Bakterium, *Chloroflexus aurantiacus*, überlagert werden. Beide bilden im Ablauf neutraler heißer Quellen (z. B. Octopus Spring, Yellowstone Park; Abb. 17.18) dichte, oft mehrere Millimeter dicke Matten, bevor sie in Zonen unterhalb von 40 °C von höheren Tieren abgeweidet werden. Die Mechanismen, mit denen extrem thermophile Organismen ihre Zellbestandteile bei hoher Temperatur vor Denaturierung schützen, werden in Plus 17.15 diskutiert.

Plus 17.15 Stabilisierung von Zellbestandteilen bei hoher Temperatur

Wie ist Leben bei Temperaturen noch möglich, bei denen jedes herkömmliche Protein koagulierte und als hart gekochtes Ei serviert werden kann? Die Primärstruktur **thermostabiler Enzyme** ist nicht substanziell verschieden von der isofunktioneller Enzyme aus mesophilen Bakterien. Nur wenige Aminosäuren sind ausgetauscht. Das reicht aus, um die Tertiärstruktur dieser Proteine auch bei hoher Temperatur zu stabilisieren. Für die Stabilität der Struktur spielen wahrscheinlich **spezifische Chaperone** eine wichtige Rolle, die aus prinzipiell ähnlichen Primärstrukturen bei hoher Temperatur ähnlich stabile Tertiärstrukturen zu formen helfen, wie sie in anderen Fällen bei moderaten Temperaturen aufgebaut werden.

Auf welche Weise die **DNA** hyperthermophiler Bakterien in aktiver Form gehalten werden kann, ist ebenfalls noch nicht hinreichend geklärt. Ihre DNA ist nicht reicher an Guanin und Cytosin als vergleichbare DNA mesophiler Organismen. Möglicherweise wird sie durch so genannte positive Super Coils stabilisiert, die durch eine **reverse Gyrase** produziert werden. Ein solches Enzym hat man bisher nur in extrem thermophilen Archaeobakterien gefunden. Vielleicht spielen bei der Stabilisierung von Nukleinsäuren auch Polyamine, wie Spermidin und Spermin, eine Rolle. Solche basischen Verbindungen wurden allerdings auch bei mesophilen Prokaryonten gefunden. Wahrscheinlich wirken mehrere Faktoren zusammen, um die DNA auch bei hoher Temperatur vor einem Schmelzen zu bewahren.

Die Stabilität der **cytoplasmatischen Membran** wird bei höherer Temperatur durch einen bevorzugten Einbau von langkettigen, gesättigten Fettsäuren in die Membranlipide gewährleistet. Die cytoplasmatischen Membranen der Archaeobakterien bestehen aus Glycerinlipoisoprenethern, die gegenüber einer thermischen Hydrolyse sehr viel stabiler sind als Esterlipide. Bei hyperthermophilen Archaeobakterien findet man bevorzugt Octaprenyldiglycerin-Tetraetherlipide, die die gesamte Zellmembran durchspannen und damit einen besonders hohen Grad von Stabilität gewährleisten können (Kap. 5.5).

Bis zu welcher Temperatur ist Leben möglich? Den **Temperaturrekord** von 113 °C hält das schwefelreduzierende, marine Bakterium *Pyrodicticum occultum*. Inzwischen gibt es Hinweise auf mikrobielles Leben bei bis zu 120 °C. Falls die Verfügbarkeit von flüssigem Wasser die ausschließliche Voraussetzung für Leben sein sollte, sollte man an Tiefseequellen auch noch bei 250 °C Lebensformen erwarten können. Allerdings schrumpft die mittlere Lebensdauer von wesentlichen Zellbestandteilen wie ATP und DNA, die Säureanhydrid- und Esterbindungen enthalten, oberhalb von 130 °C auf wenige Minuten oder Sekunden, weshalb Leben nach einer herkömmlichen Biochemie oberhalb dieser Temperaturgrenze schwer vorstellbar ist.

17.11.2 Kalte Standorte, psychrophile Organismen und Kältekonservierung

Auch für ein Leben in der Kälte gibt es spezifisch adaptierte Spezialisten. Die Ozeane sind unterhalb einer Deckschicht von ca. 100 m durchweg 2–4 °C kalt und in den Randzonen zu den polaren Eiskappen liegt die Wassertemperatur bei 0–2 °C. Obwohl sich aus dem kalten Tiefseewasser auch mesophile Bakterien isolieren lassen, ist die Mehrzahl der Bakterien in Tiefen von mehr als 2000 m spezifisch an geringe Temperaturen angepasst. Sie sind psychophil und erreichen ihre maximalen Wachstumsraten bei 15 °C und weniger (Kap. 17.9.2).

In den Schneedecken der Alpen wachsen grüne vegetative Zellen der eukaryontischen Alge *Chlamydomonas nivalis*. Ihre Sporen sind rot gefärbt und bilden gelegentlich rötliche Schleier auf Schnee und Gletscheroberflächen. Auch in permanent gefrorenem Meerwasser der Antarktis sind Diatomeen und Grünalgen gefunden worden.

An der Grenze zum Gefrierpunkt reichern psychrophile und psychrotolerante Organismen niedermolekulare Verbindungen an, die als „**Frostschutzmittel**“ die Bildung von Eiskristallen unterbinden. Fische reichern in ihren Geweben **Trimethylamin-N-oxid** an, das nach dem Tod des Fisches bakteriell zu **Trimethylamin** reduziert wird und so für den typischen Fischgeruch verantwortlich ist. Psychrophile Algen reichern **Glycerin** im Zellinneren an und Prokaryonten synthetisieren eine Vielzahl von frostschtutzwirksamen Substanzen, die auch zum Ausgleich des osmotischen Wertes an salzreichen Standorten genutzt werden (**Osmolytika** oder kompatible Solute, Kap. 16.7.3). Dennoch stellt das Einfrieren eine natürliche Untergrenze für mikrobielle Aktivität dar. Die Lebensfähigkeit kann jedoch auch über das Einfrieren hinaus aufrechterhalten werden, vor allem wenn der Organismus schonend und in Gegenwart von Substanzen einfriert, die eine Eiskristallbildung weitgehend unterbinden. Dies ist z. B. in der Konservierung von Bakterienkulturen der Fall (Kap. 6.11).

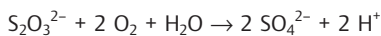
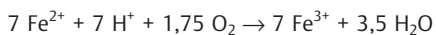
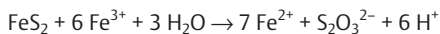
17.11.3 Saure und basische Standorte und daran angepasste Organismen

Die meisten bekannten Mikroorganismen wachsen bei Säure/Base-Verhältnissen nahe dem Neutralpunkt, zwischen pH 5,5 und 8,5. Einige produzieren organische Säuren, z. B. Milchsäure oder Essigsäure. Sie säuern damit das sie umgebende Medium auf einen pH-Wert von 3–4 an und erschweren so anderen Mikroorganismen das Wachstum. Solche säuretoleranten Bakterien, z. B. Milchsäuregärer und Essigsäureproduzenten, werden mit Erfolg in der Lebensmittelkonservierung eingesetzt. Auch bei der Herstellung von Silage wird die Aktivität von Milchsäuregärern genutzt (Kap. 12.2). Im Allgemeinen sind Pilze, vor allem Hefen, toleranter gegenüber erhöhten Säurekonzentrationen. Hefen dominieren daher, gemeinsam mit Milchsäurebakterien, in sauren Lösungen wie Fruchtsäften, bei pH-Werten von 2–4 unter Ausschluss von Luftsauerstoff.

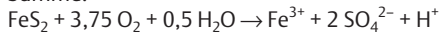
Ein niedrigerer pH-Wert wird durch anorganische Säuren wie **Schwefelsäure** und **Salpetersäure** erreicht, die beide durch mikrobielle Oxidationen entstehen. Reduzierte Schwefelverbindungen, vor allem Neutralschwefel und Sulfide, liegen in der Erdkruste gelegentlich gehäuft vor und fallen z. B. im Umkreis von heißen Schwefelquellen und Fumarolen in oxidierte Form aus. Die Oxidation des Schwefels bildet Schwefelsäure in Konzentration von 10–100 mM und mit pH-Werten zwischen 0,5 und 2. Da solche Standorte zudem häufig auch heiß sind und Temperaturen bis

Plus 17.16 Die mikrobielle Oxidation von Pyrit

Viele Metalle in der Erdkruste sind als Sulfide in der Erdkruste ausgefällt worden, z. B. Eisen und Kupfer (**Pyrit, FeS₂; Kupferkies, Chalkopyrit, CuFeS₂**). Die mikrobielle Oxidation von Pyrit wird durch Fe³⁺-Ionen eingeleitet, die das wasserunlösliche Mineral zu Fe²⁺-Ionen und Thiosulfat oxidieren. Eisen- und schwefeloxidierende Bakterien vom Typ *Acidithiobacillus ferrooxidans* oxidieren Eisen(II)-Ionen und Thiosulfat weiter zu Schwefelsäure und Fe³⁺-Ionen, die in dem entstehenden sauren Milieu gelöst bleiben und erneut Pyritminerale angreifen können.



Summe:



Während der erste Schritt rein chemisch erfolgt, bedürfen die folgenden beiden der beschleunigenden Aktivität von eisen- und schwefeloxidierenden Bakterien. Die Auswaschung von Metallionen mithilfe der aus sulfidischen Mineralien freigesetzten Schwefelsäure (**mikrobielle Laugung**, engl. **leaching**) hat sich zu einem lukrativen Verfahren entwickelt, mit dem geringwertige Deckerze aus Abraumhalden noch genutzt werden können (Kap. 19.15).

zu 90 °C erreichen, stellen sie enorm hohe Anforderungen an mögliche mikrobielle Bewohner. Durch die Oxidation von Metallsulfiden, vor allem Pyrit (Plus 17.16), wird in großem Umfang Schwefelsäure produziert.

Die Primärproduktion an solchen, stark sauren Standorten erfolgt durch die erwähnten chemolithotrophen Bakterien *Acidithiobacillus thiooxidans*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* usw. An heißen sauren Quellen wurde *Sulfolobus acidocaldarius* und *Metallosphaera sedula* gefunden, die bei Temperaturen von 70–80 °C und einem pH-Wert von 2–3 optimal wachsen. Auch *Thermoplasma acidophilum* und *Acidianus infernus* sind an solchen Standorten zu Hause. Die eukaryontische Grünalge *Cyanidium caldarium* kann bis zu einem pH-Wert von 1 und Temperaturen bis zu 50 °C eine phototrophe Primärproduktion leisten. Heterotrophe Prokaryonten vertragen einen pH-Wert von 3.

Auch durch die Oxidation von reduzierten Stickstoffverbindungen durch nitrifizierende Bakterien entsteht eine starke Säure, die Salpetersäure. Da jedoch reduzierte Stickstoffverbindungen selten in größeren Mengen auftreten, kommt es in diesem Zusammenhang selten zu einer nennenswerten Ansäuerung. Durch die Oxidation von Ammoniak zu Nitrat an Dunggruben entsteht Calciumnitrat (**Salpeter**), wodurch die Carbonate des umgebenden Gesteins oder Zements ausgelaugt werden. Bakterien, die Ammoniak und Stickoxide oxidieren, tragen damit durch Salpetersäurebildung zur Korrosion von Mörtel und Gestein an Gebäuden und an historischen Bau- und Kunstwerken bei.

Das Cytoplasma von acidophilen und acidotoleranten Prokaryonten ist typischerweise neutral bis schwach sauer (pH-Wert > 5,5), während im Außenmedium ein pH-Wert von 1–2 herrscht. Der dadurch bedingte, enorm starke Protonengradient über die cytoplasmatische Membran wird durch ein invertiertes elektrisches Potenzial (außen negativ) partiell ausgeglichen, um damit eine Überladung der Membran und einen daraus resultierenden Kurzschluss zu vermeiden.

Über **alkaliphile Organismen** ist weniger als über acidophile bekannt. Die Kultivierung in Medien bei pH-Werten oberhalb von 9 ist schwierig, da Phosphate und Carbonate ausfallen. Es wurden erst wenige alkalische Quellen und carbonatreiche Seen (Kap. 17.11.4) mit pH-Werten von 9–10,5 untersucht. Die Primärproduktion an solchen Standorten wird von Cyanobakterien wie *Gloeotheca*, *Spirulina* und *Anabaenopsis* und auch von Grünalgen der Gattung *Chlorella* geleistet. Unter den anoxygen phototrophen Bakterien wurden *Ectothiorhodospira*-Arten bei einem pH-Wert bis zu 10 kultiviert. Unter den heterotrophen Bakterien sind einige alkaliphile *Bacillus*-Stämme bekannt, die bis zu einem pH-Wert von 11 zu wachsen vermögen. *Bacillus*-ähnliche Organismen wurden auch im stark alkalischen **Mitteldarm von bodenfressenden Termiten** (pH-Wert bis zu 12!) beobachtet (Kap. 17.13.4), doch ist unklar, ob sie dort auch metabolisch aktiv sind. Auch einige Vertreter der Gattungen *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* und *Arthrobacter* sind als alkalitolerant beschrieben worden.

17.11.4 Salzreiche Standorte und halophile Organismen

Salzionen tragen in wässriger Lösung eine mehr oder weniger große **Hydrathülle**. Bei erhöhter Salzkonzentration konkurrieren solche Ionen mit Proteinen und Nukleinsäuren, die zur Aufrechterhaltung ihrer Struktur ebenfalls auf eine ausreichende Hydrathülle angewiesen sind, um das Wasser. Das Problem erhöhter Salzkonzentrationen ist also in erster

Linie eine Konkurrenz um freies Wasser und stellt für die Chemie lebender Systeme dasselbe Problem dar wie eine Austrocknung. Die Verfügbarkeit von freiem Wasser wird durch die Wasseraktivität (a_w ; Kap. 6.4.) beschrieben.

Dass der Erdboden regelmäßigen Wechseln der Wasseraktivität unterliegt, wurde bereits im Kapitel 17.10 angesprochen. Die Wasseraktivität liegt dort zwischen 1,0 und 0,9. Typische Bodenbakterien können sich an diese Wechsel anpassen. Die Wasseraktivität des **Meerwassers** ($a_w = 0,98$) stellt noch keine große physiologische Herausforderung dar. Da Natriumionen besonders viel Wasser für ihre Hydratisierung beanspruchen, werden sie aus der Zelle im Antiport gegen Protonen oder Kaliumionen herausgepumpt. In Aestuarien, wo salzarmes Flusswasser und Meerwasser sich begegnen, müssen Mikroorganismen sich fluktuierenden Salzkonzentrationen in oft kurzzeitigen Wechseln anpassen.

Die **Organismengemeinschaften** in Salzseen sind stark vom jeweiligen Salzgehalt bestimmt (Plus 17.17). Im Great Salt Lake in Utah, USA, einem thalassohalinen See, erreicht die Salzkonzentration im größeren Teil des Sees ca. 12%. Das Wasser ist durch eine Massenentwicklung der **rot pigmentierten Grünalge *Dunaliella salina***, die durch den Salinenkrebs, *Artemia salina*, abgeweidet wird, rot gefärbt. Unter den mikrobiellen Konsumenten dominieren Vertreter der Gattungen *Pseudomonas*, *Marinomonas*, *Halomonas* u. a.. Im Nordarm desselben Sees, der keinen direkten Wasserzulauf hat, erreicht die Salzkonzentration mit ca. 25% die Sättigungsgrenze. In diesem Wasser gibt es keine Eukaryonten. Die wiederum rötliche Färbung dieses Wassers geht auf die **Purpurmembranen** von extrem halophilen aeroben Archaeobakterien der Gattungen *Halobacterium*, *Haloferax*, *Halomonas* u. a. zurück, die an diesem Standort praktisch keiner Abweidung unterliegen. Salzausfällungen aus solchen Seen zeigen oft die typische rote Farbe der Halobakterien (Abb. 17.19).

Halotolerante und halophile Organismen haben verschiedene Strategien entwickelt, um dem Problem des Wasserentzugs durch allzu hohe Salzkonzentrationen zu begegnen. Natriumionen werden im Tausch gegen Protonen oder Kaliumionen, deren Hydrathüllen kleiner sind als die der Natriumionen, aus der Zelle herausgepumpt. Hefen und andere Eukaryonten akkumulieren im Zellinneren Glycerin, um so den osmotischen Wert gegenüber dem Außenmedium auszugleichen. Bei Bakterien hat man eine Vielzahl von Verbindungen gefunden, die spezifisch bei Exposition an erhöhte Salzkonzentrationen produziert werden. Zu diesen **kompatiblen Soluten** oder **Osmolytika** zählen verschiedene Zucker, wie Trehalose oder Saccharose, sowie zwitterionische Aminosäurederivate, wie Betain oder Ectoin (Kap. 16.7.3).

17.12 Mikrobielle Umsetzungen von Mineralien in der Erdkruste

Mikroorganismen waren am Aufbau der Erdkruste maßgeblich beteiligt. Zum großen Teil ist es ihnen zuzuschreiben, dass die in den Urgesteinen weitgehend im Gemisch vorliegenden Elemente und Verbindungen teilweise entmischt worden sind. Die Lagerstätten mehrerer Rohstoffe, die heutzutage abgebaut werden, gehen ganz oder teilweise auf mikrobielle Tätigkeit zurück.

Plus 17.17 Salzseen

Salzseen können sehr verschiedene Ursprünge haben. Es kann sich z. B. um abgetrennte Meeresarme handeln, die durch Verdunstung langsam austrocknen. Ihre Salzzusammensetzung ist überall dieselbe, da sie von der Zusammensetzung des Meerwassers bestimmt wird (**thalassohaline Seen**). Andere Salzseen entstehen in trocken-heißen Kontinentalgebieten, die keinen Abfluss zum Meer haben und daher die jeweils aus dem umgebenden Einzugsbereich ausgewaschenen Salze sammeln und aufkonzentrieren (**athalassohaline Seen**). Ihre Zusammensetzung hängt deshalb von der Chemie des Einzugsgebiets ab. Abhängig von der Verfügbarkeit von Calciumionen wird die Wasserchemie entweder von Sulfat- oder von Carbonationen bestimmt. Zu den Sulfatseen zählt das Tote Meer, zu den alkalischen Carbonatseen der Mono Lake oder der Owens Lake in Kalifornien, sowie einige Seen im Wadi Natrun, Ägypten.



Abb. 17.19 Massenentwicklung extrem halophiler Archaeobakterien. Salzkrusten in einem Salzsee südlich Alexandria, Ägypten, sind durch Halobakterien rot gefärbt (Aufnahme B. Schink).

Plus 17.18 Banded Iron Formations (BIFs)

Die Ablagerung dieser Eisenoxide erfolgte hauptsächlich in der Zeit vor 2,8–1,6 Milliarden Jahren (Kap. 1; Abb. 1.7 Seite 11). Bis dahin hatte sich das aus dem magmatischen Gestein des Meeresgrundes herausgelöste Eisen als Fe^{2+} -Ion gemeinsam mit anderen reduzierten Ionen wie Mn^{2+} in großen Mengen in den Meeren angesammelt. Nach einer verbreiteten Hypothese wurden mit dem Beginn der oxygenen Photosynthese die Fe^{2+} -Ionen durch O_2 zu Fe^{3+} -Ionen oxidiert. Diese fielen dort, wo das eisenhaltige Tiefenwasser mit dem sauerstoffhaltigen Oberflächenwasser in Berührung kam, weitflächig als Fe(III) -Oxide aus. In den BIFs wechseln Eisenoxid- und Silikatschichten (0,2–2,0 mm Dicke) miteinander ab. Diese Schichtung wird als Folge der jahreszeitlichen Rhythmik der Photosynthese in den Sedimentationsbecken gedeutet. Erst nach Abschluss der Eisenoxidation im Meerwasser vor 1,6 Milliarden Jahren konnte sich O_2 in der Atmosphäre anreichern. Diese Erklärung steht allerdings nach der Entdeckung, dass auch anoxygen phototrophe Bakterien Fe^{2+} oxidieren können, infrage. Berücksichtigt man diesen Aspekt, würden diese Mineralien nicht den Zeitpunkt des Auftretens der oxygenen, sondern den Beginn der **anoxygenen Photosynthese**, gemeinsam mit Einsetzen der Oxidation der reduzierten Schwefelverbindungen, angeben. Der Beginn der **oxygenen Photosynthese** wäre demnach später, erst vor ca. 1,6 Milliarden Jahren, zu datieren, wo er mit der Ausfällung von Mangan(IV)-Oxiden zusammenfiel.

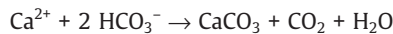
17.12.1 Eisenablagerung

Die größten Eisenerzlagerstätten sind die **gebänderten Eisenerze** (*banded iron formations*, kurz BIFs genannt) (Plus 17.18).

Auch an der Mobilisierung des in Granitgesteinen enthaltenen Eisens und seiner Wiederausfällung sind Mikroorganismen beteiligt. Wird der Schwefelanteil von **Pyrit** oder **Marcasit** durch *Acidithiobacillus thiooxidans* und *A. ferrooxidans* zu Schwefelsäure oxidiert, wird Eisen als Fe^{2+} -Ionen löslich und durch *A. ferrooxidans* zu Fe^{3+} -Ionen oxidiert (Plus 17.16 und Kap. 19.15). Durch Reaktion mit Wasser wird das Fe^{3+} als Fe(OH)_3 ausgefällt. Zahlreiche Lagerstätten sehr reinen Eisenoxids sind höchstwahrscheinlich einer Jahrtausenden dauernden, mikrobiellen Erzlaugung (engl. leaching process) zu verdanken. An anderen Stellen sind an der Solubilisierung und Komplexierung des Eisens sicherlich organische Säuren (Huminsäuren) beteiligt. Die Oxidation von Fe(II) zu Fe(III) kann aerob durch Bakterien wie *Gallionella* oder *Siderocapsa* (bei neutralem pH-Wert) beschleunigt werden. Das Ergebnis der Umsetzungen sind **Sumpfeisenerz** und **Raseneisenerz**.

17.12.2 Ablagerung von Calciumcarbonat

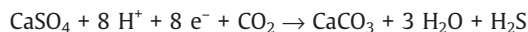
Im Gewässer stehen Calciumionen im Gleichgewicht mit Bicarbonat oder Sulfat. Dadurch, dass Kohlendioxid durch Photosynthese entzogen wird, wird das Bicarbonat in das schwer lösliche Calciumcarbonat überführt und als Seekreide ausgefällt:



Entsprechendes gilt für die Entstehung von Korallenstöcken, wo symbiotische Algen CO_2 fixieren (Kap. 1.7).

Ein großer Teil des Kalksteins ist wahrscheinlich dadurch entstanden, dass Calcium und Bicarbonat durch Meeresströmungen in tropische Gewässer verfrachtet worden sind. Dort verringerte sich durch die erhöhte Gewässertemperatur die Löslichkeit von CO_2 und das Calcium wurde als CaCO_3 präzipitiert.

Unter anoxischen Bedingungen, wenn Sulfat durch sulfatreduzierende Bakterien zu Schwefelwasserstoff reduziert wird, fällt aus Calciumsulfat(Gips)-haltigem Wasser das Calciumcarbonat aus:



17.12.3 Schwefelablagerung und andere Lagerstätten

Die Bildung abbauwürdiger Schwefelvorkommen geht auf die **bakterielle Sulfatreduktion** zurück. Untersuchungen zur Isotopenverteilung (Plus 17.19) bestätigten den Schluss, dass die Schwefellagerstätten in Texas und Louisiana biogenen Ursprungs sind.

Die Erörterung der biogeochemischen Umsetzungen lässt sich im Hinblick auf die Entstehung der Lagerstätten von **Kohle**, **Erdöl**, **Erdgas**, **Kieselsäure** und **Bauxit** fortsetzen. Auch an diesen Umsetzungen sind Mikroorganismen durch ihre Stoffwechseltätigkeiten, also durch Oxidationen, Vergärungen, Säurebildung, Reduktion, Kohlendioxidassimilation und die Bildung flüchtiger Produkte, beteiligt. Diese Umsetzungen haben eine Mineralisation, Auflösung, Mobilisierung oder Immobilisierung zur Folge. Mit dem Einfluss von Mikroorganismen auf die Bildung, Veränderung und Auflösung von Gesteinen beschäftigt sich die **Geomikrobiologie**.

Plus 17.19 Isotopendiskriminierung

Schwefel liegt im Meerwasser vorwiegend in Form zweier stabiler Isotope vor: zu 95 % als ^{32}S und zu 4 % als ^{34}S . Bei der hauptsächlich durch die Zufuhr von Elektronendonatoren begrenzten, bakteriellen Sulfatreduktion wird das ^{32}S -Sulfat gegenüber dem ^{34}S -Sulfat bevorzugt von den Zellen aufgenommen und reduziert. Der gebildete Schwefelwasserstoff enthält daher weniger ^{34}S als das Meerwassersulfat. Wenn dieser „leichte“ Schwefelwasserstoff biotisch oder abiotisch oxidiert wird, entsteht „leichter“ Schwefel. Der Isotopengehalt des Schwefels in den genannten Lagerstätten weist diesen als biogenen, also durch mikrobielle Aktivität entstandenen Schwefel aus. Das Isotopenverhältnis von **biogenem**

Schwefel unterscheidet sich beträchtlich von dem, das für vulkanisch gebildeten Schwefel (z. B. in Sizilien) bestimmt wurde.

Auch für den **Nachweis aktueller mikrobieller Aktivitäten**, z. B. den Abbau von kontaminierenden Kohlenwasserstoffen in grundwasserführenden Schichten, kann die Messung der Isotopendiskriminierung, z. B. die Verschiebung des $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisses, wichtige Informationen liefern. Sie ermöglicht, einen diskriminierenden mikrobiellen Abbau von einem nur sehr wenig diskriminierenden Adsorptions- oder Verdünnungseffekt zu unterscheiden (Kap. 19.14).

17.13 Tierische Verdauungssysteme

Zwischen den Mikroorganismen und Verdauungssystemen höherer Tiere und Mikroorganismen haben sich in der Evolution verschiedene Formen von Kooperationen entwickelt, die im Resultat letztlich immer als mutualistische Symbiosen anzusehen sind, da sie beiden Partnern zugute kommen. Dies ist jedoch nicht selbstverständlich, stellt doch die vom Wirtsorganismus aufgenommene Nahrung auch für die Mikrobiota des Verdauungssystems ein interessantes Angebot dar, dessen Nutzung durch die Bakterien zu Lasten des Wirtes gehen muss. So bewegt sich das Verhältnis zwischen Wirt und Mikrobiota zwischen **Kooperation** und **Konkurrenz**, die von Fall zu Fall unterschiedlich ausgeprägt sind. Immerhin trägt z. B. ein erwachsener Mensch in seinem Dickdarm gut zehnmal so viele Zellen hoch aktiver Bakterien mit sich herum, wie er selber Körperzellen hat! Die Konkurrenz um die aufgenommene Nahrung wird wesentlich dadurch begrenzt, dass die Mikrobengemeinschaft im Verdauungssystem nur sehr wenig Sauerstoff zur Verfügung hat und daher für ihren Energiestoffwechsel auf **Gärungen** angewiesen ist, deren Produkte dem Wirtsorganismus zugute kommen.

17.13.1 Ernährungs- und Verdauungstypen

Abhängig von der Herkunft der überwiegend aufgenommenen Nahrung spricht man von **carnivorer** oder **herbivorer** Ernährung, sowie den Mischernährern, den **Omnivoren** und den **Detritivoren**. Aus Untersuchungen mit steril aufgezogenen Jungtieren weiß man, dass viele Tiere für ihre Entwicklung und die Aufrechterhaltung ihrer Gesundheit strikt von der Funktion einer komplexen Darmmikrobiota abhängen (Kap. 1.9). Wiederkäuer sind ohne symbiontische Bakterien nicht lebensfähig. Dieses gilt für Fleischfresser und Mischernährer in weit geringerem Maß. Ein einfaches Schema eines Verdauungssystems ist in Abbildung 17.20 dargestellt. Die Nahrung wird im Maul zerkleinert, über den Ösophagus in den Magen verfrachtet und dort chemisch und biochemisch aufgeschlossen. Während der Passage durch den Zwölffingerdarm werden die frei gesetzten, leicht verfügbaren Nährstoffe fast vollständig resorbiert. Der angeschlossene Dickdarm entzieht dem Nahrungsbrei das vorher durch Speichel reichlich zugesetzte Wasser. Überdies wird dort der verbleibende Speisebrei durch die Aktivität einer Vielzahl von überwiegend strikt anaeroben Mikroorganismen vergoren und weiter auf-

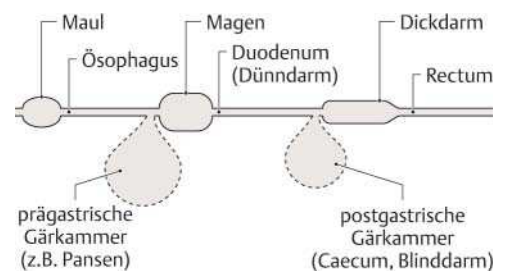


Abb. 17.20 Verdauungssystem höherer Tiere. Das System besteht aus Maul, Ösophagus, Magen, Dünndarm, Dickdarm, Rectum und After. Dieses einfache System, das in dieser Form bei Fleischfressern verwirklicht ist, wird bei Pflanzfressern durch Gärkammern, entweder vor dem Magen durch den Pansen oder vor dem Dickdarm durch den Blinddarm (Caecum), erweitert.

Tab. 17.3 Dominante Prokaryonten in der Pansenmicrobiota.

Celluloseabbauende Bakterien

Ruminococcus albus

Butyrivibrio fibrisolvens

Fibrobacter succinogenes

Clostridium lochheadii

Hemicelluloseabbauende Bakterien

Fibrobacter succinogenes

Butyrivibrio fibrosolvens

Ruminococcus albus

Lachnospira multiparus

Stärke- und zuckerabbauende Bakterien

Selenomonas ruminantium

Succinimonas amylolytica

Bacteroides ruminicola

Streptococcus bovis

Lactatabbauende Bakterien

Selenomonas lactilytica

Megasphaera elsdenii

Veillonella sp.

Succinatdecarboxylierende Bakterien

Selenomonas ruminantium

Veillonella parvula

Methanogene Archaeobakterien

Methanobrevibacter ruminantium

Methanomicrobium mobile

geschlossen, wobei die Gärprodukte in Form von **Fettsäuren** an den Wirt abgegeben werden. Nach hinreichender Vergärung verlässt der Speisebrei den Darm als Kot über das Rectum.

Der in Abbildung 17.20 skizzierte Ablauf entspricht im Wesentlichen dem Verdauungsvorgang bei einem Fleischfresser. Bei ihm wird eine proteinreiche, überwiegend aus Fleisch zusammengesetzte Nahrung nach mechanischer Zerkleinerung im Magen unter stark sauren Verhältnissen enzymatisch aufgeschlossen. Die hohe Säurekonzentration im Magen (pH-Wert beim Menschen 0,5–1) tötet die überwiegende Zahl der mit aufgenommenen Mikroorganismen ab und unterbindet auf diese Weise unerwünschte Gärungen, die bei einer proteinreichen Nahrung auch zu toxischen Produkten führen könnten (primäre Amine, bakterielle Toxine!). Mikrobielle Aktivitäten werden in der Verdauung von Fleischfressern und auch im Verdauungssystem des omnivoren Menschen fast ausschließlich im Dickdarm wirksam. Immerhin deckt der Mensch 20–30 % seines Energiehaushalts mithilfe von niederen Fettsäuren, die im Zuge der Vergärung seines Nahrungsbreis im Dickdarm gebildet und dort resorbiert werden.

Die Verwertung einer reinen Pflanzennahrung ist in weit höherem Ausmaß auf die Hilfe von Mikroorganismen angewiesen. Echte herbivore Tiere, zu denen der Mensch nicht zählt, bilden daher entweder vor dem Magen (**prägastrisch**) oder hinter dem Magen (**postgastrisch**) mehr oder weniger ausgedehnte Gärkammern aus. In diesen unterstützen zahlreiche Mikroorganismen durch Ausscheidung von Exoenzymen den Abschluss des schwer zugänglichen Bausteins des Pflanzenmaterials. Dies geschieht bei den Wiederkäuern (Kuh, Schaf, Ziege) prägastrisch im **Pansen** oder postgastrisch im **Blinddarm** (Kaninchen) und/oder im Dickdarm, wie bei Pferd und Esel sowie den meisten Unpaarzehern. Im Falle der prägastrischen Verdauung werden auch die im Zuge der Vergärung herangewachsenen Mikrobenzellen im Magen aufgeschlossen. Dies ist bei einer postgastrischen Verdauung nicht möglich – es sei denn, die mikrobielle Produktion des Hinterdarmes wird noch einmal gefressen (**Caecotrophie** bei Kaninchen). Im Folgenden soll exemplarisch das Verdauungssystem der Wiederkäuer, des Pferdes und der Termiten verglichen werden. Der Verdauungsapparat des Menschen wird in Kapitel 18.4 behandelt.

17.13.2 Verdauungsapparat der Wiederkäuer

Im **Pansen** wird die aufgenommene Pflanzenmasse nach wiederholter Zerkleinerung und reichlicher Durchmischung mit bicarbonatreichem Speichel vergoren (Abb. 17.21). Hier werden die polymeren Bestandteile der Nahrung (Blätter und Gräser), vor allem **Cellulose**, **Hemicellulosen** (**Xylan**), **Pectin** und andere **pflanzliche Polysaccharide**, durch die Aktivität mikrobieller Enzyme abgebaut und so für den Stoffwechsel der Tiere verwertbar gemacht (Kap. 10.3). Diese verfügen jedoch nicht selber über geeignete Cellulasen oder Xylanasen. Die Enzyme werden von den Mikroben, die im Pansen leben, sezerniert. Der Rinderpansen hat ein Volumen von ca. 100–150 l und zeichnet sich durch konstante Temperatur- und pH-Verhältnisse (ca. 39 °C, pH-Wert ca. 6,5) aus. Die vorhandene Mikrobengemeinschaft ist sehr komplex und umfasst neben strikt anaeroben Bakterien und Archaeobakterien (> 200 Arten) auch anaerobe Protozoen, vor allem Ciliaten, und Pilze. Die Prokaryonten machen mit 10^{10} – 10^{11} Zellen pro g Trockengewicht den größten Anteil aus. Vorherrschend sind die Gattungen *Ruminococcus*, *Selenomonas*, *Fibrobacter* und *Methanobrevibacter* (Tab. 17.3).

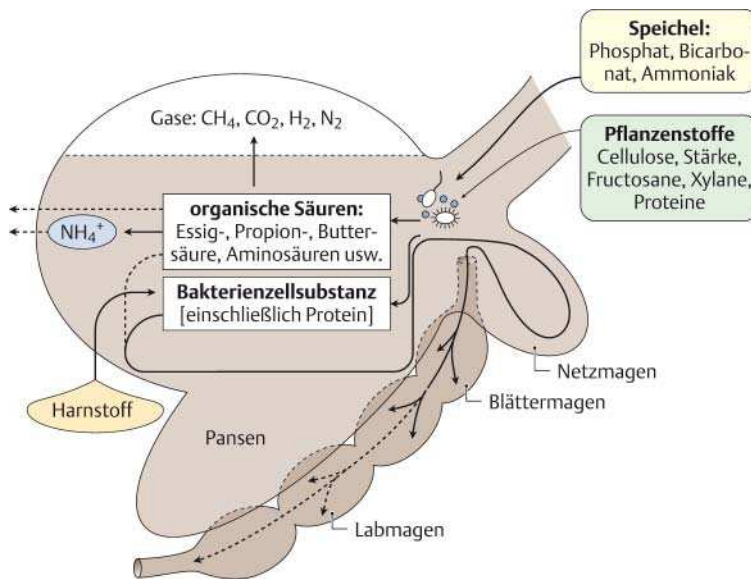
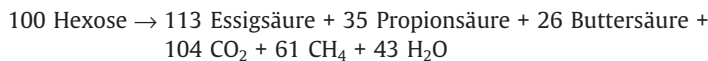


Abb. 17.21 Mikrobielle Umsetzungen im Wiederkäuermagen. Harnstoff wird durch die Leber bereitgestellt.

Im Pansen verbleibt der Nahrungsbrei für ca. 9–12 Stunden. Faseriges Material wird im Netzmagen (**Retikulum**) zurückgehalten und hat eine entsprechend längere Verweilzeit. Die pflanzlichen Polysaccharide werden zu Oligo- und Monosacchariden zerlegt, die unmittelbar weiter vergoren werden. Dabei entstehen hauptsächlich Fettsäuren, wie **Essig-, Propion- und Buttersäure**, die der Wirt aufnimmt. In Gärungen primär entstehendes Succinat wird durch Spezialisten zu Propionat decarboxyliert. Außerdem entstehen Kohlendioxid und Wasserstoff, die durch die Aktivität methanogener Archaeobakterien zu **Methan** umgewandelt werden, welches zusammen mit CO_2 den Pansen durch Rülpsen verlässt. Die in den letzten Jahrzehnten erfolgte Zunahme an Rinder- und Schafherden auf der Erde hat u. a. zur Erhöhung der atmosphärischen Konzentration des Treibhausgases Methan beigetragen.

Insgesamt kann die Vergärung von Hexosen im Pansen durch folgende Gleichung beschrieben werden:



Da die pflanzliche Nahrung nur wenig gebundenen Stickstoff enthält, wird der für die Proteinsynthese der Pansenmikrobiota erforderliche Stickstoff durch Zufuhr von Harnstoff aus der Leber des Rindes ergänzt (**ruminohepatischer Kreislauf**). Die gebildeten Fettsäuren gelangen über die Pansenwand in den Blutkreislauf des Wirts und dienen diesem als Energiequelle. Darüber hinaus gelangen auch erhebliche Mengen an Bakterien in den eigentlichen Verdauungsmagen und liefern Aminosäuren und Vitamine. Das Rind ernährt sich somit in erster Linie von Fettsäuren und Bakterienzellen und nicht vom aufgenommenen Pflanzenmaterial!

17.13.3 Verdauungsapparat des Pferdes

Weit weniger effizient ist die Verwertung von pflanzlicher Nahrung durch das **Pferd**, das zwei postgastrische Gärkammern, den **Blinddarm** und den **Dickdarm**, nutzt. Die im Blinddarm heranwachsenden Bakterienzellen werden nur zu einem geringen Teil im Dickdarm aufgeschlossen und werden weitgehend mit dem Kot ausgeschieden. Da Harnstoff nicht in den Verdauungskanal zurückgeführt wird, geht der gebundene Stickstoff mit dem Harn verloren. **Pferdemist** ist daher für die Düngung wertvoller als Kuhmist, weil er noch viel gebundenen Stickstoff enthält.

17.13.4 Verdauungsapparat von holzfressenden Termiten

Termiten sind eine sehr heterogene Tiergruppe, deren Vertreter, ebenso wie die zahlreicher anderer Insektengruppierungen, in ihrer Ernährungsweise hoch spezialisiert sind. Hinsichtlich ihrer Ernährung am besten untersucht sind die holzfressenden Termiten, die in den Tropen und Subtropen massive wirtschaftliche Schäden durch Holzerstörung verursachen. Bodenfressende Termiten sind vor allem in tropischen Regionen wesentlich für den Abbau der organischen Bodensubstanz verantwortlich.

Der Verdauungsapparat holzfressender Termiten ist in mancher Hinsicht mit dem der Wiederkäuer vergleichbar. Die durch die Kauwerkzeuge auf wenige Mikrometer große Partikel zerkleinerten Holzfasern werden von Protozoen aufgenommen, die bis zu 65 % des Darmvolumens ausmachen. Sie bewerkstelligen die Trennung von Lignin und Cellulose und vergären die Polysaccharide vor allem zu **Acetat und Wasserstoff**,

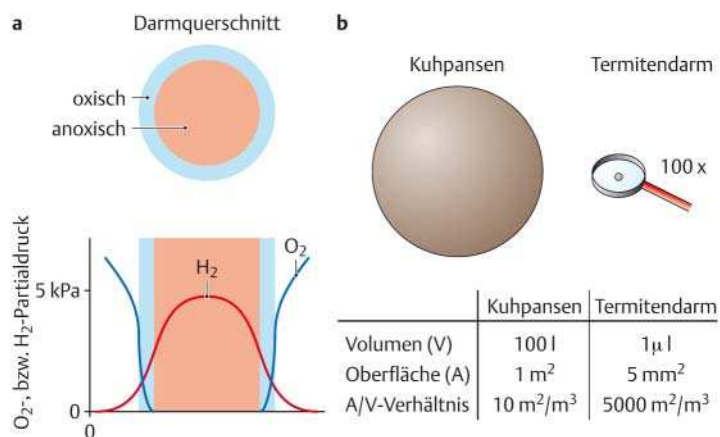
Plus 17.20 Stabilisierung anoxischer Verhältnisse im Termitendarm

Lange hat man angenommen, dass das Verdauungssystem der Termiten strikt anoxisch sei. Dort ist in der Tat kein Sauerstoff messbar, doch kann dieser Zustand nur durch massive Sauerstoffzehrung in der peripheren Zone des Darms aufrechterhalten werden, da Sauerstoff mit hoher Rate aus den umgebenden Tracheen über das dünne Darmepithel eindringt. Tatsächlich wird auf diese Weise ca. 40 Volumenprozent des Hinterdarms mit Sauerstoff versorgt (Abb. a), dem möglicherweise eine Rolle bei der Trennung von Lignin und

Cellulose zukommt. Ein Vergleich der Größe und der Oberflächen- und Volumenverhältnisse illustriert, warum aerobe Prozesse im Termitenhinterdarm ungleich bedeutsamer sind als im Kuhpannen (Abb. b).

Aus diesem Beispiel wird deutlich, dass es für Verdauungssysteme eine Größengrenze gibt, unterhalb derer anoxische Verhältnisse, die dem Wirt Gärprodukte liefern, nur zum Preis eines hohen konkurrierenden Substratverbrauchs aufrechterhalten werden können.

Sauerstoffversorgung im Termitendarm. a Verteilung von Sauerstoff und Wasserstoff in und im Umkreis von einem in Agarose eingebetteten Enddarm der Holz fressenden Termiten *Reticulitermes flavipes*. Deutlich ist eine intensive Zehrung von Sauerstoff und von Wasserstoff im peripheren Darmbereich erkennbar. b Größenvergleich von Kuhpannen und Termitendarm und das daraus resultierende Verhältnis von Volumen und Oberfläche. (Zeichnung nach Andreas Brune).



woran evtl. auch intrazelluläre symbiontische Bakterien beteiligt sind. Der gebildete Wasserstoff wird sowohl von homoacetogenen Bakterien als auch von methanogenen Archaeobakterien verwertet. Das Acetat wird an den Wirt abgegeben, das Methan wird freigesetzt. Man schätzt, dass das von Termiten gebildete Methan 4–10% der globalen Methanfreisetzung in die Atmosphäre beiträgt. Das Lignin wird von den Termiten nicht weiter verwertet und in modifizierter Form fast vollständig mit dem Kot ausgeschieden. In Plus **17.20** wird diskutiert, wie in dem kleinen Ökosystem Termitendarm anoxische Verhältnisse aufrechterhalten werden.

Zusammenfassung

- In der Natur sind Nährstoffe fast immer nur in sehr begrenztem Umfang verfügbar. **Hunger** ist die typische Lebenssituation für Mikroorganismen, die nur gelegentlich und kurzfristig durch Phasen ausreichender Nährstoffversorgung unterbrochen wird.
- Der Erfolg von Mikroorganismen bei der Konkurrenz um Nährstoffe im fließenden System wird durch ihre **Substrataffinität** bestimmt, die ihrerseits die Restkonzentrationen des Substrats am natürlichen Standort definieren. Auch in einem statischen System verbleiben Restkonzentrationen von Substraten, die durch die Energetik der jeweiligen Abbauprozesse bestimmt werden.
- Eine umfassende Analyse natürlicher Mikrobengemeinschaften ist in den letzten Jahren durch **molekularbiologische Techniken** (z.B. FISH) möglich geworden. Durch die Verwendung molekularer, fluoreszenzmarkierter Sonden lassen sich Mikroorganismen in natürlichen Gemeinschaften spezifisch anhand der 16S-rRNA nachweisen.
- Am natürlichen Standort ist die überwiegende Menge der Mikroorganismen an **Oberflächen** angeheftet. Frei schwimmende Einzelzellen sind eher die Ausnahme als die Regel.
- **Gewässer** sind hinsichtlich osmotischem Wert, Temperatur, pH-Wert usw. vergleichsweise homogene Standorte. Deshalb eignen sie sich besonders, um die Beziehungen von Mikroorganismen untereinander und ihre Wechselwirkung mit anderen Organismen zu untersuchen.
- Der **Erdboden** ist ein extrem heterogener, kleinräumig hoch strukturierter Lebensraum, der sich durch Extreme der Wasserversorgung, der Temperatur und anderer physikochemischer Faktoren auszeichnet.
- An so genannten **extremen Standorten** findet man im Allgemeinen nur wenige taxonomische Gruppierungen von Lebewesen. Bei Temperaturen oberhalb von 70 °C und Salzgehalten nahe der Sättigungsgrenze sind dies ausschließlich Prokaryonten, zumeist Archaeobakterien.
- Bakterien haben in der Vergangenheit die **Chemie der Erdoberfläche** wesentlich mitbestimmt und damit zur Bildung von wichtigen Erzlagerstätten, Schwefelvorkommen u.a. beigetragen. Sie sind auch gegenwärtig für die Verwitterung von Gesteinen und die Neubildung von Mineralvorkommen wesentlich verantwortlich.
- Im **Verdauungssystem** von Tieren stehen Bakterien ihren Wirtsorganismen als Kooperationspartner aber auch als Konkurrenten gegenüber. In der Evolution haben sich vor allem bei Pflanzenfressern hoch entwickelte Kooperationssysteme herausgebildet, die für beide Partner in hohem Maße vorteilhaft sind.

18

Mikroorganismen als Symbionten und Antagonisten

Mikroorganismen, wie Bakterien, Algen und Pilze, haben im Verlauf der Evolution neben der unbelebten Natur auch höhere Organismen, wie Pflanzen, Tiere und den Menschen, als potenzielle Lebensräume erschlossen. Dabei haben sich Lebensgemeinschaften (**Symbiosen**) entwickelt, die erhebliche Bedeutung sowohl für die Landwirtschaft als auch für die moderne Medizin besitzen.

Zwischen vielen Bakterien und Pflanzen bestehen mutualistische Symbiosen – mit gegenseitigem Nutzen verbundene Lebensgemeinschaften. So bilden stickstofffixierende Bakterien mit bestimmten, landwirtschaftlich bedeutsamen Schmetterlingsblütlern (Leguminosen) **Wurzelknöllchen** aus, über die sich die Pflanze mit Stickstoff versorgt, die aber auch erheblich zur natürlichen Stickstoffversorgung der Böden beitragen. Auch decken viele Bäume ihren Stickstoffbedarf aus dem Zusammenleben mit stickstofffixierenden Bakterien. Ebenso vielfältige Gemeinschaften bestehen zwischen Bakterien und Tieren, deren Verdauungstrakt ein bevorzugter Lebensraum für die Mikroorganismen ist. Auch der Mensch ist dicht mit Bakterien besiedelt (**Körperflora**), deren Zahl etwa 10fach über der Zahl der Körperzellen liegt. Die Stoffwechselaktivitäten der Bakterien werden meist nicht bemerkt und können sowohl vorteilhaft (z. B. im Darm) als auch unangenehm (Schweiß, Mundgeruch) sein.

Daneben gibt es jedoch eine vergleichsweise kleine Gruppe von **pathogenen** Bakterien und Pilzen, deren Überlebensstrategie darin besteht, die Zellinhaltsstoffe ihrer Wirte als Nahrungsressourcen zu nutzen. Die Besiedlung eines Wirtes mit solchen Mikroorganismen ist daher fast immer mit dem Ausbruch einer Krankheit verbunden. Pathogene Mikroorganismen besitzen zur erfolgreichen Besiedlung ihrer Wirte ein Arsenal an speziellen Zellkomponenten (Virulenzfaktoren), die die jeweiligen Abwehrmechanismen der tierischen und pflanzlichen Wirte ausschalten. Einige pathogene Mikroorganismen (z. B. Milzbrand- und Pestbakterien), aber auch Viren, eignen sich zum Missbrauch als biologische Waffen.

Überblick

- 18.1 Symbiosen ... 573**
- 18.2 Symbiose von stickstofffixierenden Bakterien mit Pflanzen ... 574**
 - 18.2.1 Wurzel- oder Stammknöllchenbakterien ... 574
 - 18.2.2 Andere Formen ... 577
- 18.3 Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen mit Tieren ... 577**
- 18.4 Körperflora des Menschen ... 578**
- 18.5 Mikroorganismen als Auslöser von Krankheiten ... 581**
 - 18.5.1 Tier- und humanpathogene Bakterien ... 581
 - 18.5.2 Virale Krankheitserreger und Prionen ... 590
- 18.6 Pflanzenpathogene Bakterien und Pilze ... 592**
 - 18.6.1 Pflanzenpathogene Bakterien ... 593
 - 18.6.2 Pflanzenpathogene Pilze ... 593
 - 18.6.3 Pflanzenabwehr gegen Mikroorganismen ... 595
- 18.7 Biologische Waffen ... 596**

18.1 Symbiosen

Die Lebensgemeinschaft von zwei verschiedenen Organismen wird als **Symbiose** im weiteren Sinne bezeichnet. Hinsichtlich des relativen Nutzens, den die Partner aus der Symbiose ziehen, kann man zwischen mehreren Kategorien unterscheiden. Symbiose im engeren Sinne ist ein gesetzmäßiges Zusammenleben verschiedener Arten zu beiderseitigem Vorteil (**Mutualismus**). Diese Form der Gemeinschaft setzt gegenseitige Anpassungen voraus, die sich im Laufe der Evolution herausgebildet haben (Kap. 1.7). Als Beispiel ist hier die Symbiose zahlreicher stickstofffixierender Bakterien mit Pflanzen zu nennen. In den anderen Fällen hat sich nur einer der Partner an das Zusammenleben angepasst und zieht Gewinn daraus. Erleidet der andere Partner keinen Schaden, spricht man von **Kommensalismus**. Als kommensale Lebensweise kann der Großteil der normalen Körperflora des Menschen verstanden werden. Wird der Partner durch das Zusammenleben dagegen geschädigt, liegt **Parasitismus** vor. Dies ist bei Bakterien, Viren oder eukaryontischen Organismen (s. a. Lehrbücher der Zoologie) der Fall, die Infektionskrankheiten bei Bakterien, Mensch, Tier oder Pflanze verursachen oder parasitieren. In vielen Fällen können Partner aber auch ohne gegenseitige Beeinflussung zusammenleben (**Neutralismus**). Die wichtigsten mutualistischen Symbiosen sind in Tabelle 18.1 zusammengefasst.

Tab. 18.1 Wichtige mutualistische Symbiosen.

Leistung des mikrobiellen Partners	Mikroorganismen	eukaryontischer Partner
CO ₂ -Fixierung	Grünalge (selten)	Korallen
	Cyanobakterien	Pilze (Flechte)
	Cyanobakterien	marine Schwämme
	Prochlorophyta	Seescheiden
	H ₂ S-Oxidierer	Bartwürmer (Pogonophora), Muscheln
N ₂ -Fixierung	Rhizobien und andere	Schmetterlingsblütler (Leguminosen) Erle, Sanddorn, Silberwurz
	Frankia	Kallargras
	Azoarcus	Zuckerrohr
	Acetobacter	Lebermoose, Moose, Azolla
	Cyanobakterien	Cycadeen, Gunnera
Wurzelversorgung	Pilz-Mykorrhizen	die meisten Landpflanzen, viele Bäume
Synthese essenzieller Aminosäuren und Cofaktoren	Bakterien	viele Insekten (Mycetome), Protozoa
Entfernung von Stoffwechselprodukten (Wasserstoff)	methanogene Archaeobakterien	Protozoa
Abbau von Polysacchariden (Cellulose)	Eubakterien, Archaeobakterien, Protozoa	Wiederkäuer (Pansen), andere Pflanzenfresser (Hinterdarm), Termiten (Hinterdarm), Schaben, Bohrmuschel
Biolumineszenz	Eubakterien (<i>Vibrio</i>)	Fische, Tintenfische, Tunicaten
Bewegung	Spirochaeten	Protozoa
Synthese von Antibiotika	Eubakterien	Nematoden, Insekten

Tab. 18.2 Stickstofffixierende Bakterien und ihre Wirtspflanzen.

Gattung/Art	Wirt(e)
alpha-Gruppe der Proteobakterien	
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	
biovar <i>vicia</i>	Erbse, Linse, Wicke
biovar <i>phaseolis</i>	Feuerbohne
biovar <i>trifolii</i>	Klee
<i>Rhizobium meliloti</i> (= <i>Sinorhizobium meliloti</i>)	Honigklee, Luzerne
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Sojabohne
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Sesbanie (Stamm und Wurzel)
<i>Sinorhizobium fredii</i>	Sojabohne
beta-Gruppe der Proteobakterien	
<i>Burkholderia caribensis</i>	Mimose
<i>Ralstonia taiwanensis</i>	Mimose

18.2

Symbiose von stickstofffixierenden Bakterien mit Pflanzen

Nur eine kleine Zahl von Prokaryonten sind in der Lage, den molekularen Stickstoff der Luft (N_2) als Stickstoffquelle zu nutzen (Kap. 8.4.1).

Einige stickstofffixierende Bakterien bilden mit Pflanzen symbiontische Lebensgemeinschaften, wobei die Pflanzen den Bakterien Energie- und Kohlenstoffquellen liefern und die Bakterien die Pflanzenzellen als Gegenleistung mit Stickstoff versorgen. Die Wechselbeziehungen zwischen Bakterium und Pflanze sind sehr spezifisch, d. h. ein Bakterienstamm infiziert nur ganz bestimmte Pflanzenarten (Tab. 18.2).

18.2.1

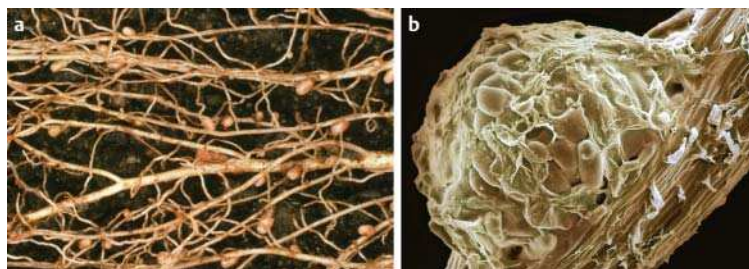
Wurzel- oder Stammknöllchenbakterien

Besonders eingehend untersucht ist die symbiontische Stickstoffbindung durch die Leguminosen (Schmetterlingsblütler; mehr als 18 000 Arten), darunter wichtige Kulturpflanzen wie Sojabohne, Klee, Bohne und Erbse, die mit Bakterien der Gattungen *Sinorhizobium*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* und *Azorhizobium* sogenannte Wurzel- oder Stammknöllchen bilden (Abb. 18.1). Landwirtschaftlich durch sogenannten Fruchtwechsel genutzt, können durch diese Symbiose zwischen 100 und 600 kg Stickstoff pro Hektar und Jahr in den Boden eingebracht werden. Der Beitrag freilebender N_2 -fixierender Bakterien ist um eine Größenordnung geringer.

Bei den Knöllchenbakterien handelt es sich um gramnegative, obligat aerobe, bewegliche Stäbchen. Sie weisen außerhalb einer Pflanze keine stickstofffixierende Aktivität auf, sondern verwenden Ammonium-Ionen oder andere Stickstoffquellen. Nachdem sie in die Wirtspflanze eingedrungen sind, verändern die Bakterien ihre Zellform und -größe von einer stäbchenförmigen Zelle in ein rundliches **Bakteroid** (Plus 18.1) und es entstehen die Knöllchen an den Wurzeln. Erst dann wird das zur Stickstofffixierung erforderliche Enzym, die **Nitrogenase**, gebildet. Die Nitrogenase katalysiert die Reduktion von N_2 zu Ammoniak bzw. NH_4^+ -Ionen, wobei als Nebenprodukt molekularer Wasserstoff entsteht (Kap. 8.4.1).

Zum Schutz des Enzyms vor Sauerstoff, den die Bakterioide zur Energiegewinnung über aerobe Atmung benötigen, wird von den infizierten Pflanzenzellen **Leghämoglobin** synthetisiert. Dabei handelt es sich um ein dem Hämoglobin des Blutes ähnliches Protein, das Sauerstoff bindet und der Atmungskette in dieser Form zur Verfügung stellt. Dadurch wird der O_2 -Partialdruck in der Umgebung der Nitrogenase unterhalb schädlicher Werte gehalten. Die Knöllchenbakterien erhalten von der Pflanze Nährstoffe in Form organischer Säuren, wie Malat oder Succinat,

Abb. 18.1 Wurzelknöllchensymbiose. **a** Knöllchen an der Wurzel von Weißklee, gebildet von Bakterien der Spezies *Rhizobium trifolii*. **b** Raster-elektronenmikroskopische Aufnahme eines Wurzelknöllchens an einer Erbsenpflanze mit dem Bakterium *Rhizobium leguminosarum* (Aufnahmen Dr. Jeremy Burgess, copyright science photo-library).



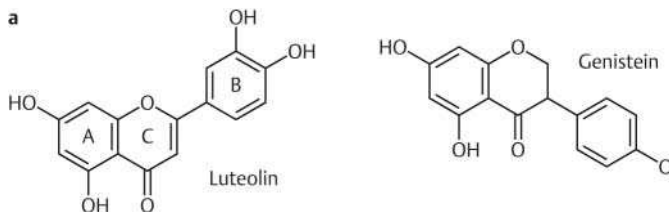
die die Pflanze durch Photosynthese in den Blättern bildet und die in den Citratzyklus eingeschleust werden (Abb. 18.2). Mithilfe von Elektronen aus dem Zwischenprodukt Pyruvat reduziert die Nitrogenase den molekularen Stickstoff unter Energieverbrauch zu Ammonium-Ionen. Die Ammonium-Ionen werden in das Cytoplasma der Pflanze exportiert, dort durch die Glutaminsynthetase assimiliert und zu Glutamin umgesetzt. Der Stickstoff gelangt auf diese Weise in den pflanzlichen N-Stoffwechsel (Kap. 8.4.1)

Plus 18.1 Spezifische Wechselwirkung zwischen Rhizobien und Pflanzenwurzeln

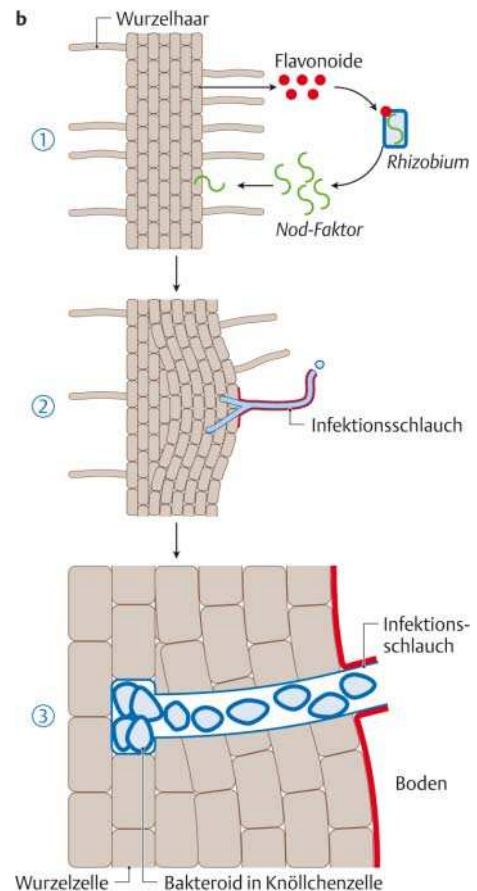
Die Abbildung zeigt die Interaktionen zwischen Mikroorganismus und Pflanze, die zur Bildung von Wurzelknöllchen notwendig sind. Die an der Symbiose beteiligten Pflanzen sondern jeweils art- oder gattungsspezifische Signalstoffe – **Flavonoide** – ab (z. B. Luteolin und Genistein, Abb. a), für deren Erkennung die Bakterien ihrerseits spezifische Rezeptoren besitzen (Abb. b ①).

Nachdem sie ihren Wirt erkannt haben, lagern sich die Bakterien an die Wurzelhaare der Pflanze an, wozu wiederum bestimmte Moleküle (**Adhäsine**) auf der Oberfläche der Bakterienzellen erforderlich sind. Von den Bakterien werden Wachstumsfaktoren – **Nod-Faktoren** – freigesetzt, die aus 4–5 β -1,4-verknüpften N-acyl-D-Glucosamineinheiten, mit einer Fettsäure am nichtreduzierenden Ende, bestehen (Abb. c).

Die Nod-Faktoren verursachen eine Krümmung der Wurzelhaarspitze (Abb. b ②). Die Bakterien veranlassen weiterhin die Bildung eines von der Plasmamembran der Pflanzenzelle abgeleiteten Infektionsschlauches. Dieser ist durch Cellulose-Auflagerungen vom Cytoplasma der Pflanzenzelle abgegrenzt. Im Infektionsschlauch wandern die Bakterien in bestimmte, aus neuerlicher Zellteilung hervorgegangene, Pflanzenzellen (tetraploide Rindenzellen), wo sie ins Cytoplasma entlassen werden. Nach einigen Zellteilungen differenzieren sich die Bakterien zu **Bakteroiden**, die sich in der Regel von freilebenden Bakterien in Größe und Form unterscheiden (Abb. b ③). Die Bakterioide werden sodann von einer Doppelmembran, der sogenannten Peribakteroidmembran aus Infektionsschlauch und Cytoplasmamembran umgeben. Diese Gesamtstruktur wird auch als **Symbiosom** bezeichnet. Erst jetzt sind die Bakterioide zur Stickstofffixierung befähigt. Der gesamte Prozess endet nach ca. 3 Wochen mit einem vollentwickelten Knöllchen, das ein spezielles Pflanzenorgan darstellt und vollständig mit Bakteroiden gefüllt ist (Abb. d).



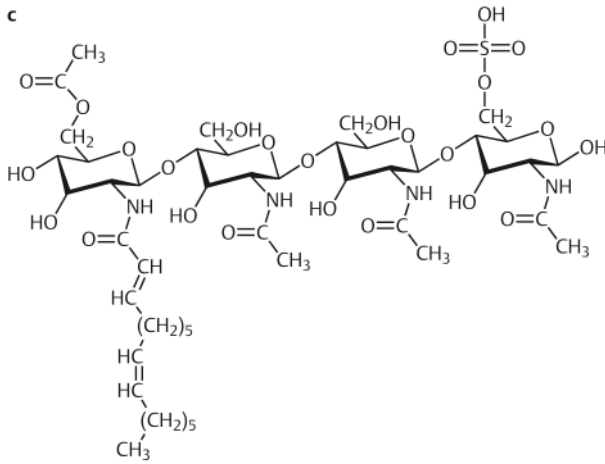
Gattungsspezifische, pflanzliche Flavonoide. Die Grundstruktur besteht aus zwei aromatischen Ringen (A und B) und einem heterozyklischen Pyran (C) auch Pyronring genannt.



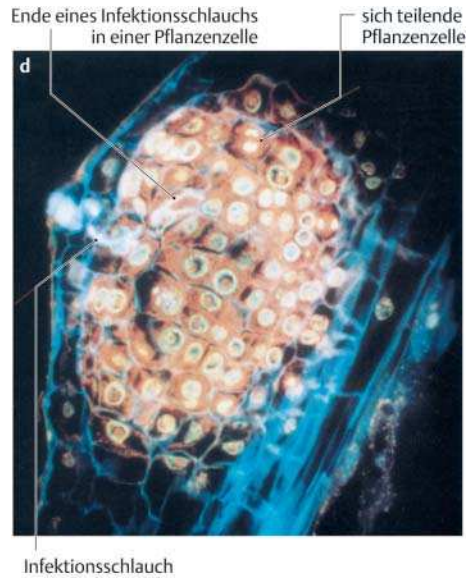
Infektion von Pflanzenwurzeln durch Knöllchenbakterien. ① Pflanzen setzen Flavonoide frei, die von Bakterien über Rezeptoren erkannt werden. Sie synthetisieren daraufhin die Nod-Faktoren. ② Die Nod-Faktoren induzieren die Knöllchenbildung und die Krümmung der Wurzelhaare. Bakterien dringen über den Infektionsschlauch in die Wurzel und infizieren tetraploide Rindenzellen der Wurzel. ③ Die Bakterien verwandeln sich in Bakterioide und differenzieren sich zu N-fixierenden Zellen.

Fortsetzung

Fortsetzung

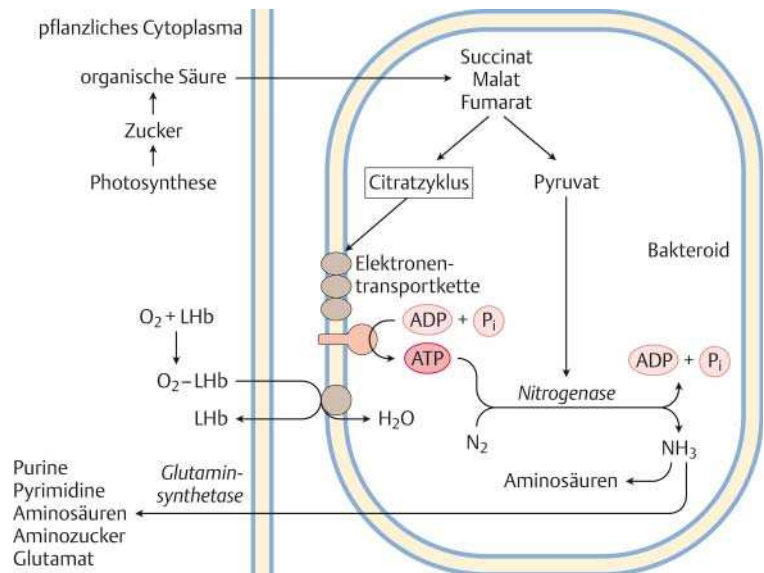


Wichtigster Nod-Faktor von *Sinorhizobium meliloti*.



Infektionsschlauch in einem Wurzelknöllchen der Luzerne
(Aufnahme Sharon R. Long, Stanford University).

Abb. 18.2 Metabolische Reaktionen und Stoffaustausch in einem Bakteroid. Die Bakterioide erhalten von der Pflanze organische Säuren als Energiequelle und liefern dafür zu Ammoniak reduzierten Stickstoff. Die Pflanze stellt weiterhin das sauerstoffbindende Protein Leghämoglobin (LHb) her, welches einerseits das Bakteroid mit O_2 für die Atmung versorgt und andererseits die Nitrogenase vor freiem Sauerstoff schützt.



18.2.2 Andere Formen

Viele Vertreter der Angiospermen (bedecktsamige Pflanzen), darunter Arten der Gattung *Alnus* (Erle), sind in der Lage, mit Bakterien der Gattung *Frankia* stickstofffixierende Wurzelknöllchen auszubilden. *Frankia* gehört zu den grampositiven, mycelartig wachsenden Aktinomyceten. Die Knöllchen bilden korallenförmige Strukturen, die als **Aktinorhiza** bezeichnet werden (Kap. 1, Abb. 1.13). Im Gegensatz zu den Wurzelknöllchen der Leguminosen handelt es sich bei den Aktinorhiza um modifizierte Seitenwurzeln. Nach der Infektion von Wurzelhärrchen etablieren sich die Bakterien außerhalb der Plasmamembran als eine Art Vesikel mit verdickter Zellhülle aus Zellwandmaterial der Pflanze, wie Pektin (Polygalakturonsäuremethylester), Cellulose und Hemicellulose (Kap. 10.3). Dadurch wird wahrscheinlich die Sauerstoffkonzentration in der Umgebung zum Schutz der Nitrogenase erniedrigt. Unter Berücksichtigung der weltweiten Verbreitung der Wirtspflanzen (Erle, Sanddorn) muss das System der Aktinorhiza als ein wesentlicher Faktor für den Stickstoffgehalt des Bodens angesehen werden.

Auch von einigen Gramineen sind Lebensgemeinschaften mit stickstofffixierenden Bakterien bekannt. So findet man in den Zellzwischenräumen von Wurzeln und Sprossen des Kallargrases Bakterien der Gattung *Azoarcus*. Aus Zuckerrohr konnte dagegen *Acetobacter diazotrophus* isoliert werden. Im Unterschied zur Symbiose von Leguminosen mit *Rhizobium* werden hier jedoch keine speziellen Strukturen, wie Wurzelknöllchen, gebildet. Man spricht deshalb von **endophytischen** Bakterien. Auch Cyanobakterien können mit zahlreichen Pflanzen stickstofffixierende Symbiosen eingehen (Plus 18.2)

Plus 18.2 Symbiosen mit stickstofffixierenden Cyanobakterien

Bei der Lebensgemeinschaft des Wasserfarns *Azolla* mit *Anabaena azollae* verbleiben die Bakterien außerhalb der Pflanzenzelle. Sie befinden sich in speziellen Blatthöhlen und entwickeln sich zu stickstofffixierenden **Cyanobionten**, womit, wie bei der freilebenden Form, die Differenzierung zu Heterocysten (Kap. 5.12.2) einhergeht. Allerdings ist der Anteil an Heterocysten mit fast 50 % in den Cyanobionten deutlich erhöht. Eine Besonderheit dieser Symbiose scheint zu sein, dass andere Bakterien (Gattung *Arthrobacter*) assoziiert vorkommen. Durch die Aktivität der Cyanobionten erklärt sich auch, warum viele Reisfelder mit Wasserfarnbewuchs keine zusätzliche Stickstoffdüngung benötigen.

Weiterhin wurden stickstofffixierende Cyanobakterien der Gattung *Nostoc* in Thalli verschiedener Lebermoose, in Wurzelzellen einiger Cycadeenarten (Farnpalmen) und in Rhizomen von Gunnera (Seebeerengewächse) nachgewiesen.

18.3 Lebensgemeinschaften von Mikroorganismen mit Tieren

Mikroorganismen bilden zahlreiche Lebensgemeinschaften mit Tieren, die für den Wirt häufig Vorteile bei der Verfügbarmachung von Nährstoffen bedeuten (Kap. 12 und 17). Darüberhinaus sind weitere Symbiosen, insbesondere mit Wirbellosen, bekannt (Tab. 18.1).

Leuchtorgane. Die Leuchtorgane mancher mariner Organismen wie Tintenfische und Fische stellen eine weitere hochspezifische Lebensgemeinschaft mit Bakterien dar. Ein besonders gut untersuchtes Beispiel ist die Symbiose zwischen dem im Küstengewässer vor Hawaii vorkommenden Tintenfisch *Euprymna scolopes* und dem Bakterium *Vibrio fischeri*. Das Bakterium synthetisiert das Enzym **Luciferase**, welches eine spezielle Oxidationsreaktion mit Sauerstoff katalysiert, bei der ein Teil der frei werdenden Energie in Form von Licht abgegeben wird (**Biolumineszenz**) (Kap. 7.5.4).

Der Tintenfisch akkumuliert Zellen von *V. fischeri* zu einer Konzentration von 10^{10} – 10^{11} pro ml in einem speziellen **Leuchtorgan**, das sich im Zentrum der Mantelhöhle befindet (Abb. 18.3). Unter den Bedingungen hoher Zelldichte (Quorum Sensing, Kap. 16.10) wird die Lumineszenz



Abb. 18.3 Leuchtorgan des Tintenfisches *Euprymna scolopes* (an der Unterseite geöffnet) (Aufnahme Margret McFall und Edward G. Ruby, Stanford University).

durch Autoinduktion hervorgerufen (Abb. 18.4). Es wird vermutet, dass die Lichtemission den nachtaktiven Tieren einen Schutz gegen Fressfeinde verleiht, da sie dadurch im herabscheinenden Mond- und Sternenlicht keinen Schatten werfen. Durch spezielle biochemische Aktivitäten im Leuchtorgan entsteht offenbar eine für *V. fischeri* selektive und vorteilhafte Mikroumgebung, worin der Nutzen dieser Gemeinschaft für die Bakterien begründet sein könnte. Die Besiedlung des Leuchtorgans durch *V. fischeri* ist ein hoch komplexer und bislang nur teilweise verstandener Vorgang. Jungtiere müssen die Bakterien dabei aus dem Meerwasser aufnehmen, wo deren Dichte durch regelmäßige Ausscheidung aus den Leuchtorganen erwachsener Tiere zu Tagesbeginn erhöht ist.

Bei Fischen, insbesondere Tiefseefischen, sind Leuchtorgane meist mit dem Darm assoziiert. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass Leuchtbakterien in der Evolution aus Darmbakterien hervorgegangen sind. Man geht davon aus, dass den Tieren das Licht, das durch die Bakterien abgegeben wird, in der Dunkelheit der Tiefsee hilft, Nahrung aufzuspüren.

Da die bakterielle Leuchtfähigkeit bei verminderter Qualität des Wachstumsmediums abnimmt, wird die Messung der Biolumineszenz in der **Ökotoxikologie** zum Aufspüren von Schadstoffen in Gewässern eingesetzt.

Weiterhin können symbiotische Bakterien auch durch spezielle Aktivitäten ihres Sekundärstoffwechsels zur Überlebensfähigkeit ihres Wirtes beitragen (Plus 18.3).

18.4 Körperflora des Menschen

Sämtliche Körperoberflächen des Menschen (Haut, Mundhöhle, Verdauungstrakt, Atemwege, Urogenitalbereich) sind unterschiedlich intensiv von speziellen Bakterien (vereinzelt auch von Archaeabakterien, Pilzen und Protozoen) besiedelt, die hier ihre ökologische Nische gefunden haben. Es wird geschätzt, dass pro Körperzelle des Menschen ca. zehn Mikroorganismen existieren, was einer Gesamtzahl von 10^{14} entspricht. Man kann davon ausgehen, dass die körpereigenen Mikroorganismen zumindest teilweise einen Schutzmechanismus gegen die Besiedlung durch pathogene Bakterien bilden (Abb. 18.5).

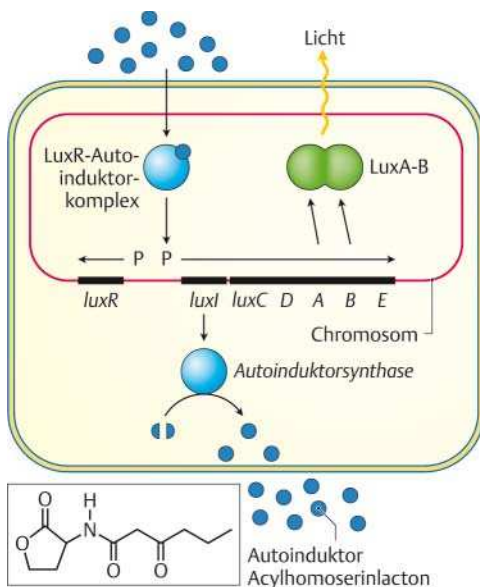


Abb. 18.4 Mechanismus der Aktivierung der Lichterzeugung bei *Vibrio fischeri* im Leuchtorgan. Durch eine Synthese, kodiert von *luxI*, wird ein Autoinduktor (Acylhomoserinlacton) gebildet, der in das Medium diffundiert. Erst bei hoher Zelldichte akkumuliert er in der Zelle und bindet an den Rezeptor LuxR. Der entstandene Komplex aktiviert die Expression des *luxICDABE*-Operons, was zur Bildung der Luciferase (LuxA-B) und schließlich zur Biolumineszenz führt. Die Gene *luxCDE* codieren einen Enzymkomplex, der das Substrat der Luciferase, einen langkettigen Aldehyd synthetisiert.

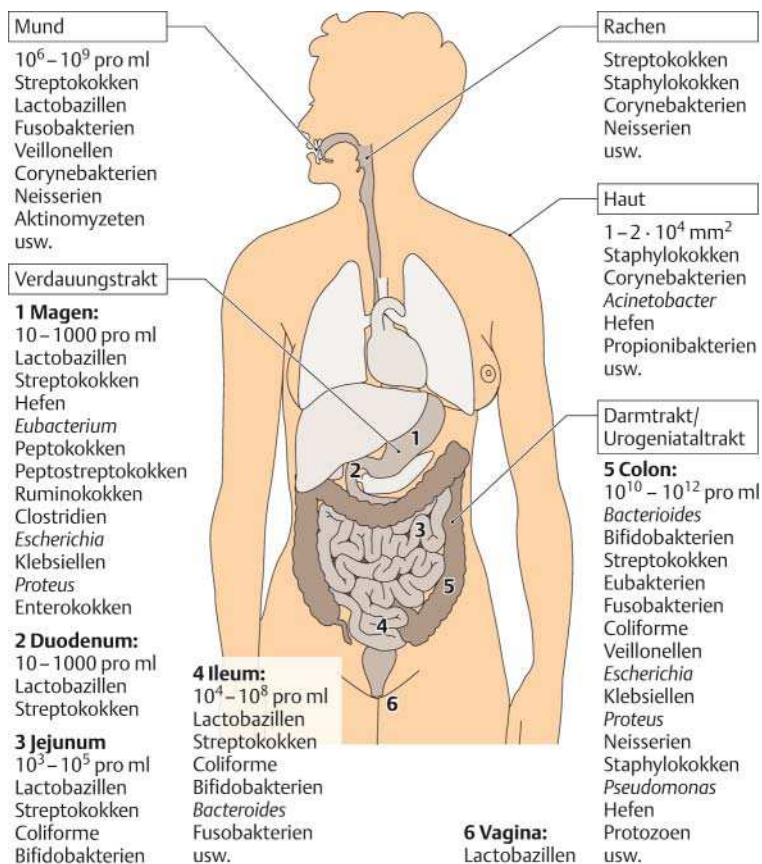


Abb. 18.5 Körperflora des gesunden Menschen (nach J. Blech, 2002).

Besiedlung der Haut

Weite Bereiche der Haut sind aufgrund des geringen Wassergehalts von mikrobiellem Leben ausgespart. Dort jedoch, wo der Feuchtigkeitsgehalt ausreicht, wie zwischen den Fingern und Zehen, unter den Achselhöhlen oder im Genitalbereich, treten gehäuft Bakterien auf. Sie sind meist direkt mit den Schweißdrüsen assoziiert. So ist der mit dem Achselweiß verbundene Geruch auf die Aktivität von Bakterien in diesem Bereich zurückzuführen. Einen ebenfalls vorteilhaften Lebensraum für Mikroorganismen stellen die Fettdrüsen dar, die mit den Haarfollikeln verbunden sind. Die Sekrete der Hautdrüsen sind nämlich reich an mikrobiellen Nährstoffen, wie Harnstoff, Aminosäuren, Milchsäure und Salze. Häufig anzutreffen sind aerobe und anaerobe, meist grampositive Bakterien, die nur wenigen Gruppen angehören. Dazu gehören vorwiegend Bakterien der Gattung *Staphylococcus*, aber auch *Corynebacterium*, *Micrococcus*, und *Propionibacterium*, sowie einige gramnegative Vertreter wie *Acinetobacter* und *Alcaligenes*. *Propionibacterium acne* ist normalerweise ein harmloser Bewohner, kann jedoch die als Akne bekannte Störung in der Funktion von Schweißdrüsen verursachen.

Plus 18.3 Spezielle Lebensgemeinschaften von Bakterien mit Tieren

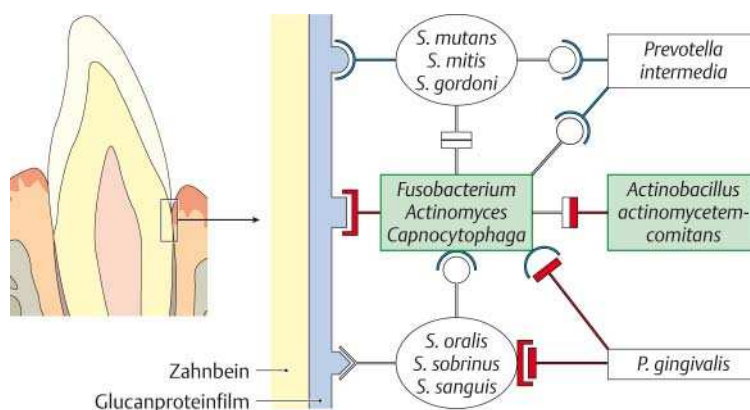
Bestimmte Fadenwürmer (Nematoden), die als Parasiten von Insekten leben, tragen in ihrem Darm Bakterien der Gattung *Xenorhabdus*. Infiziert der Nematode ein Insekt, entlässt er die Bakterien in dessen Darm, wodurch der Wirt abgetötet und die Vermehrung des Fadenwurms ermöglicht wird. Dabei setzen die Bakterien bestimmte Antibiotika frei, um vorzeitigen Abbau des toten Insektengewebes durch andere Bakterien zu verhindern.

Antibiotika spielen auch bei der Symbiose von Insekten mit Bakterien eine Rolle. Die Bakterien schützen das Insekt durch Sekretion bestimmter Antibiotika gegen Angriffe pathogener Bakterien.

Buchnera aphidicola, ein mit *E. coli* nahe verwandtes Bakterium, lebt als Endosymbiont in speziellen Organen (Bacteriome) bestimmter Blattläuse (*Aphis*) und versorgt diese mit lebensnotwendigen Aminosäuren. Die Insekten können ohne die Bakterien weder ihren Entwicklungszyklus durchlaufen noch sich vermehren.

Wolbachia pipientis, ein zur alpha-Untergruppe der Proteobakterien gehörendes Bakterium, das systematisch den Rickettsien nahesteht, ist ein häufiger Symbiont von Arthropoden. Man schätzt, dass 15 % aller Insekten infiziert sind. Die Bakterien kommen hauptsächlich in den Ovarien und Testikeln der Wirtstiere vor und können die Reproduktion der Wirte zu ihren Gunsten beeinflussen. Auf diese Weise wird Parthenogenese induziert, genetische Männchen verweiblichen oder werden abgetötet. Da die Bakterien nur über die Weibchen übertragen werden, kann dies als Vorteil gesehen werden. Ein Vorteil für die Wirtstiere ist nicht offensichtlich. Es sind jedoch auch Beispiele für eine pathogene Wirkung von Wolbachien auf ihren Wirt bekannt. Es könnte sich somit um einen Übergang zwischen Symbiose und Parasitismus handeln.

Abb. 18.6 Bakterienflora einer infizierten Zahntasche. Rechts sind die über Adhäsine verbundenen typischen Bakterienarten dargestellt, die in der Zahntasche Biofilme und Mikrokolonien bilden. Der Glucanproteinfilm besteht aus mikrobiellen und wirtseigenen Komponenten. *S.* *Streptococcus*; *P.* *Porphyromonas*.



Besiedlung der Mundhöhle

Hier stellen insbesondere die Zähne und die Zunge Besiedlungsflächen für Mikroorganismen dar, die auf Nahrungsreste und Bestandteile des Speichels als Nährstoffe zugreifen können. Trotz der im Speichel vorhandenen antimikrobiellen Enzyme, wie Lysozym und Lactoperoxidase, bildet sich dabei eine stabile Mikroflora.

Bestandteile des Speichels (Glykoproteine) lagern sich auch auf den Zahnoberflächen ab, wodurch ein dünner Film entsteht, der Bakterien der Gattung *Streptococcus* als Oberfläche zur Besiedlung dient. Die Ausbildung von **Zahnbelag (Plaque)** ist auf starke Vermehrung dieser Bakterien zurückzuführen, die auch eine Sekundärbesiedlung mit anaeroben filamentösen Bakterien (*Fusobacterium*) und Spirochaeten (*Borrelia*) zur Folge haben kann (Abb. 18.6; Biofilmbildung, Kap. 17.7.1). Die Bildung von Polyfructose, bei der Saccharose in Fructose und Glucose gespalten und der Fructoserest zu einem Polyfructan (Laevan) verknüpft wird, fördert die Entstehung von Plaques. Der fermentative Abbau von Glucose, insbesondere durch Streptokokken (*S. mutans*, *S. sobrinus*), führt aufgrund der Säureproduktion zur Bildung von **Karies**. Die bei der Zuckervergärung entstehende Milchsäure löst Calcium aus dem Zahnschmelz, der dadurch zerstört wird.

Besiedlung des Verdauungstrakts

Insbesondere der Dickdarm ist ein bevorzugter Ort für das Wachstum von Mikroorganismen, da hier, im Vergleich zu Magen aber auch Dünndarm, ein nahezu neutraler pH-Wert vorherrscht. Einige der dort vertretenen Bakterien erreichen Zelldichten von 10^{10} – 10^{11} pro Gramm Kot (Tab. 18.3). Insgesamt haben Mikroorganismen einen Anteil von 40–50% an der Kot-trockenmasse. Zu den zahlenmässig vorherrschenden Organismen zählen u. a. gramnegative Bakterien der Gattung *Bacteroides*. Unter den mehr als 400 vorkommenden Arten befinden sich hauptsächlich obligate Anaerobier, während fakultativ anaerobe Bakterien, wie z. B. *Escherichia coli*, nur in geringeren Zahlen auftreten (10^7 – 10^9 pro g Kot). Diese sind für den vollständigen Verbrauch des noch vorhandenen Sauerstoffs verantwortlich, sodass ein strikt anaerobes Milieu entsteht. Im Darm lebende Mikroorganismen werden mit dem Kot ständig aus dem Darm entfernt. Der Dickdarm kann deshalb als Chemostat betrachtet werden (Plus 18.4).

Tab. 18.3 Die Bakterienflora im Stuhl eines gesunden Erwachsenen.

Gattung	Log ₁₀ der Bakterien pro g Stuhl
nichtsporenbildende Anaerobier	
<i>Bacteroides</i> spp.	10–11
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10–11
<i>Eubacterium</i> spp.	9–11
<i>Propionibacterium</i> spp.	9–11
<i>Veillonella</i> spp.	5–8
sporenbildende Anaerobier	
<i>Clostridium</i> spp.	5–9
sporenbildende Aerobier	
<i>Bacillus</i> spp.	4–6
Microaerophile	
<i>Lactobacillus</i> spp.	7–9
<i>Streptococcus</i> spp.	7–9
<i>Enterococci</i>	5–7
fakultative Organismen	
Coliforme	7–9
andere <i>Enterobacteria</i>	7–9

Besiedlung der Atemwege

In den Atemwegen befinden sich Bakterien, zu denen Vertreter der Gattungen *Staphylococcus* und *Streptococcus* gehören, fast ausschließlich im Bereich der Schleimhäute der oberen Atemwege (Nasenhöhle, Rachen). Die unteren Atemwege (Luftröhre und Lunge) sind dagegen, hauptsächlich aufgrund der aufwärts gerichteten Bewegung der Flimmerhaare, im wesentlichen steril.

Besiedlung des Urogenitalbereichs

Während die Harnblase steril ist, befinden sich in der Harnröhre fakultativ anaerobe Bakterien, wie *Escherichia coli* und *Proteus mirabilis*. Diese können sich bei Störungen des Immunsystems oder Veränderungen des pH-Wertes zu pathogenen Bakterien entwickeln und Harnwegsinfektionen hervorrufen.

Die Vagina erwachsener Frauen stellt aufgrund der Aktivitäten von Milchsäurebakterien (*Lactobacillus acidophilus*) ein leicht saures Milieu dar (pH-Wert ca. 4,5), da diese Bakterien das von der Vagina produzierte Glykogen zu Lactat umsetzen, wodurch der niedrige pH-Wert entsteht. Dieses Milieu bietet Schutz gegen Besiedlung durch pathogene Bakterien. Vor der Pubertät und nach der Menopause ist der pH-Wert dagegen alkalisch, da aufgrund fehlender Glykogenproduktion *L. acidophilus* nicht vorkommt.

18.5 Mikroorganismen als Auslöser von Krankheiten

Zu den Mikroorganismen, die sich Säuger, also auch den Menschen, als ökologische Nische zur Besiedlung ausgewählt haben und dabei Krankheiten verursachen, zählen neben Vertretern der Bakterien, Pilze und Protozoen auch suborganismische Strukturen, wie Viren und Prionen. Auch ein pathogener Vertreter der Archaeobakterien wurde kürzlich gefunden. Infektionen mit humanpathogenen Mikroorganismen sind insbesondere in den Entwicklungsländern eine der Hauptursachen für hohe Sterblichkeitsraten (Kap. 1, Abb. Plus 1.12).

18.5.1 Tier- und humanpathogene Bakterien

Bei den Krankheitserregern sind sowohl Gattungen bekannt, die ausschließlich pathogene Arten enthalten (z. B. *Shigella*, *Yersinia*) als auch solche, bei denen nur einige Arten pathogen sind (z. B. *Streptococcus*: *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*; *Bacillus*: *B. anthracis*; *Corynebacterium*: *C. diphtheriae*; *Clostridium*: *C. perfringens*, *C. tetani*). Von besonderer Bedeutung ist *Escherichia coli*, da hier in einer Art sowohl harmlose (z. B. der Laborstamm *E. coli* K12) als auch pathogene (z. B. *E. coli* O157:H7) Stämme existieren.

Die Fähigkeit Krankheiten auszulösen beruht auf der Ausbildung von Zellfaktoren, die zur Besiedlung und Schädigung des Wirtes beitragen. Die Gesamtheit der Faktoren bestimmt das Ausmaß der krankheitserregenden Eigenschaften des Organismus (**Virulenz**). Virulenzfaktoren werden entweder auf dem Chromosom, meist in sogenannten **Pathogenitätsinseln**, oder auf Plasmiden codiert. Bakteriophagen spielen als Überträger der genetischen Information für Virulenzfaktoren bei der Entstehung pathogener Bakterien offenbar eine wichtige Rolle.

Plus 18.4 Der Dickdarm als Chemostat

Die Verdopplungszeiten der Organismen im Dickdarm liegen im Bereich von 12–24 Stunden. Als Nährstoffe dienen vom Wirt nicht verwertete, stärkeartige Polysaccharide der Nahrung, komplexe Polysaccharide (Ballaststoffe, wie Pektin und Hemicellulosen aus Früchten und Gemüse, aber auch Cellulose) sowie Disaccharide (Lactose, Stachyose) und Zuckeralkohole (z. B. das als Süßstoff verwendete Sorbitol), die das menschliche Verdauungssystem nicht verwerten kann. Für die Nutzung der Polysaccharide sind in erster Linie solche Bakterien verantwortlich, die hydrolytische Exoenzyme, wie Amylasen, Pectinasen, Xylanasen und Cellulasen zu deren Depolymerisierung ausscheiden. Produkte der Gärungsprozesse sind kurzkettige Fettsäuren, wie Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure, sowie Gase (CO_2 , CH_4 , H_2). Ein beachtlicher Teil der organischen Säuren wird resorbiert und dient so der Nahrungsergänzung. Bei Bewohnern von Industriestaaten kann dies bis zu 15% des täglichen Energieeintrags ausmachen. Buttersäure wird darüberhinaus eine hemmende Wirkung auf die Entstehung von Darmkrebs zugeschrieben. Außer Buttersäure entstehen im Dickdarm aufgrund mikrobieller Aktivität noch weitere Geruchsstoffe, so z. B. H_2S , Amine und Skatole. Auch die Versorgung mit Vitamin K, ein fettlösliches Vitamin, das für die Blutgerinnung beim Menschen wichtig ist, geht hauptsächlich auf dessen Synthese durch *E.-coli*-Bakterien im Dickdarm und dessen Absorption in die intestinale Lymphe zurück. Entgegen früherer Annahmen spielt die bakterielle Synthese von Vitamin B_{12} bei der Versorgung des Menschen mit diesem Vitamin keine Rolle.

Die Mikroflora des Darmes bietet aufgrund ihrer vielfältigen Anpassung an den Standort auch einen wirksamen Schutz gegen die Besiedlung durch pathogene Bakterien.

Das Ziel pathogener Bakterien ist, einen Zugang zu den Nährstoffquellen in den Wirtszellen zu erhalten und sich dadurch rasch zu vermehren. Dabei wird der Wirt oft irreversibel geschädigt. Es lassen sich prinzipiell mehrere Phasen unterscheiden:

1. Anheftung der Bakterien an Haut oder Schleimhäute (**Adhäsion oder Adhärenz**),
2. Eindringen in Epithelzellen (**Invasion**),
3. **Kolonisierung und Vermehrung**, unterstützt durch Freisetzung weiterer Virulenzfaktoren. Dazu zählen neben Zellgiften (**Toxine**) u.a. Transportsysteme für die Versorgung der Bakterien mit Eisen, sowie Enzyme zur Manipulation und Inaktivierung von Abwehrmechanismen der Wirtszellen.

Adhäsion der Bakterien

Stabile Wechselwirkungen mit dem Wirt erfolgen in erster Linie an Schleimhautzellen der Atemwege, des Verdauungstrakts oder des Urogenitalbereichs. Zutritt über die Haut ist meist nur im Bereich einer Wunde möglich (Abb. 18.7). Die Wechselwirkungen sind sowohl gewebe- als auch wirtsspezifisch.

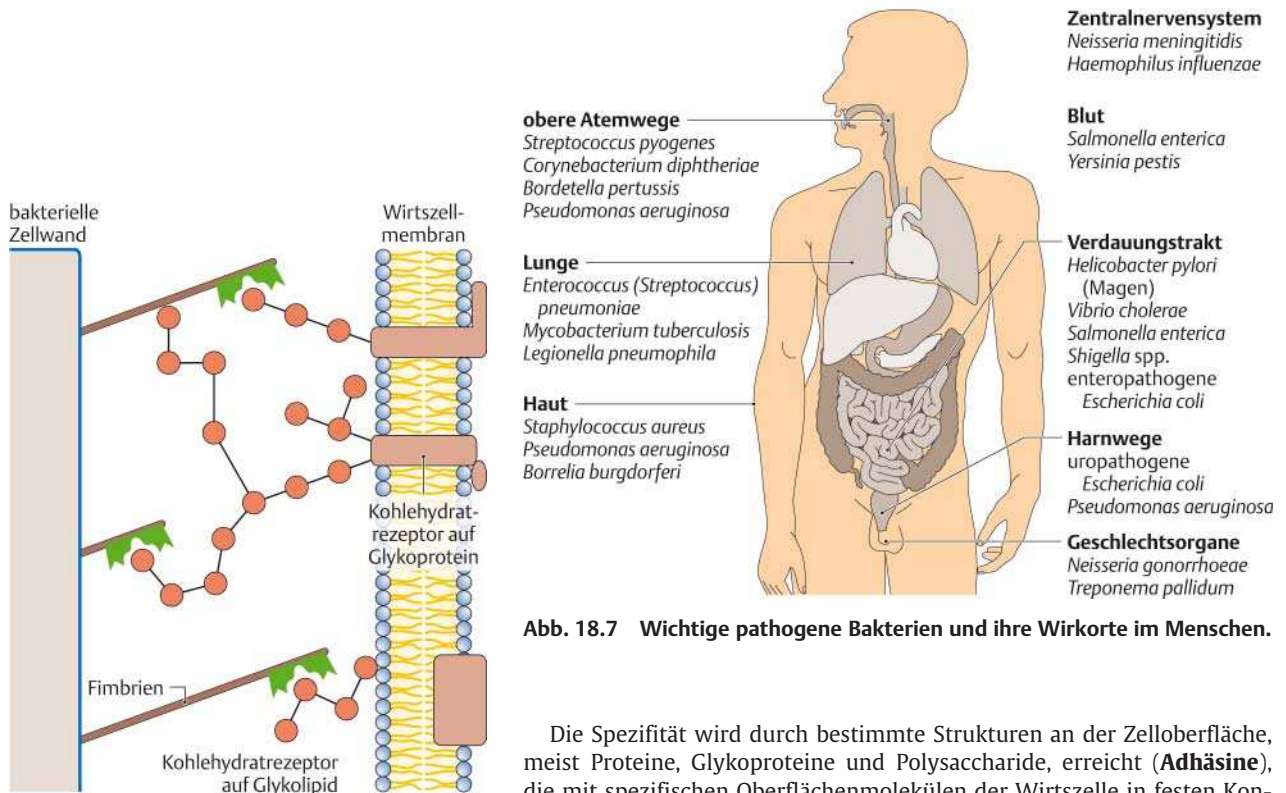


Abb. 18.7 Wichtige pathogene Bakterien und ihre Wirkorte im Menschen.

Abb. 18.8 Anheftung einer pathogenen Bakterienzelle an eine Wirtszelloberfläche durch Adhäsine (Fimbrien). Spezielle Proteine an der Spitze der Fimbrien binden an Glykolipide oder an Glykoproteine auf der Wirtszellmembran.

Die Spezifität wird durch bestimmte Strukturen an der Zelloberfläche, meist Proteine, Glykoproteine und Polysaccharide, erreicht (**Adhäsine**), die mit spezifischen Oberflächenmolekülen der Wirtszelle in festen Kontakt treten (Abb. 18.8). Zu den Strukturen, die Bakterien zu diesem Zweck zur Verfügung stehen, zählen Pili, Fimbrien, Oberflächenproteine, aber auch Flagellen (Kap. 5.9.1). Die Besiedlung der Schleimhäute wird gefördert, wenn die körpereigene Flora, z.B. als Folge einer Antibiotikabehandlung, reduziert ist.

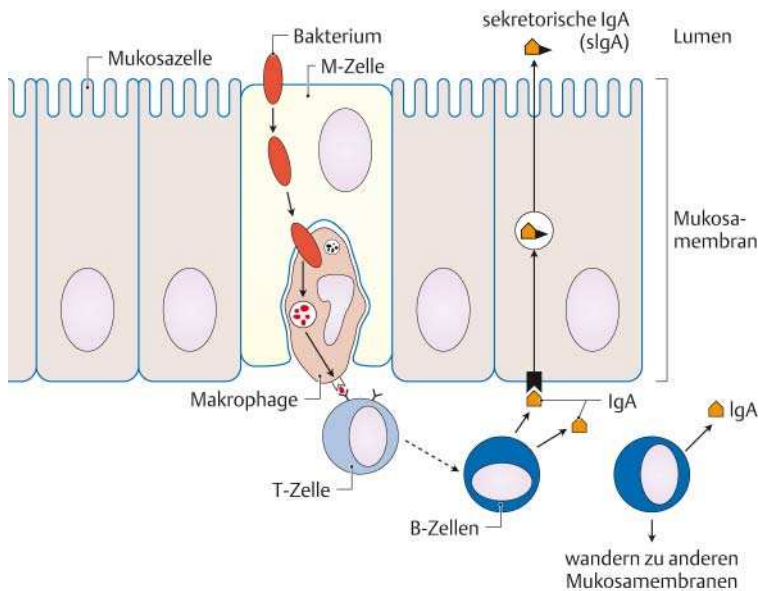


Abb. 18.9 Zellen des gastrointestinal-assoziierten Immunsystems. An den Schleimhäuten vorkommende Bakterien (Antigene) werden durch M-Zellen aufgenommen. Makrophagen zerlegen die Antigene in Peptide und präsentieren die Bruchstücke auf ihrer Oberfläche. Dies fördert die T-Zell-abhängige Aktivierung von Immunglobulin(Ig)A-produzierenden B-Zellen. IgA bindet an einen Rezeptor, wird aufgenommen und in Vesikeln zur Lumenseite der Membran verbracht. Dort wird durch proteolytische Spaltung nur ein Teil des Rezeptors entfernt, wodurch sIgA entsteht. M-Zellen und die damit verbundenen lymphatischen T- und B-Zellen werden auch als Follikel bezeichnet. Eine Anhäufung von Follikeln nennt man Peyer-Plaques. M-Zellen können von invasiven Bakterien der Gattungen *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* und *Listeria* zum Eintritt in die Wirtszellen genutzt werden.

Invasion der Bakterien

Viele pathogene Bakterien dringen in die Wirtszelle ein. Dieser Vorgang wird als Invasion bezeichnet und kann entweder an beliebigen Epithelzellen oder an speziellen Zellen des Schleimhautgewebes, den sogenannten **M-Zellen** (membranöse Epithelzellen) stattfinden. M-Zellen gehören zur Immunabwehr, denn sie transportieren Mikroorganismen zu assoziierten Makrophagen und tragen so zur Bildung sekretorischer Immunglobuline der Klasse A bei (Abb. 18.9). Der Invasion liegen unterschiedliche Mechanismen, wie Endo- oder Phagozytose, zugrunde. Als Auslöser dieser Wirtszellaktivität dienen dabei bakterielle Proteine (**Invasine**), die über ein **Typ-III-Sekretionssystem** (Kap. 9.5.3) in die Wirtszelle eingeschleust werden. Das Cytoskelett wird temporär verändert und die Bakterienzelle dadurch internalisiert.

Andere Bakterien dringen dagegen nicht in die Wirtszellen ein, sondern schädigen ihren Wirt ausschließlich durch die Aktivität der von ihnen produzierten Toxine. Dazu gehören *Vibrio cholerae*, der Erreger der Cholera (Abb. 18.10, Plus 18.5), und *Corynebacterium diphtheriae*, der Erreger der Diphtherie.

Kolonisation und Ausbreitung der Bakterien

Nach der Aufnahme in die Wirtszelle vermehren sich die Bakterien (**Kolonisation**). Sie breiten sich danach entweder nur lokal begrenzt im Wirt-organismus aus oder sie wandern über das Lymph- oder Blutgefäßssystem in andere Gewebe und Organe ein. Hierfür sind spezielle Virulenzfaktoren (z. B. Enzyme) erforderlich, welche z. B. die Stützstrukturen des Gewebes wie Kollagen (Kollagenasen) oder Hyaluronsäure (Hyaluronidasen) auflösen bzw. abbauen.

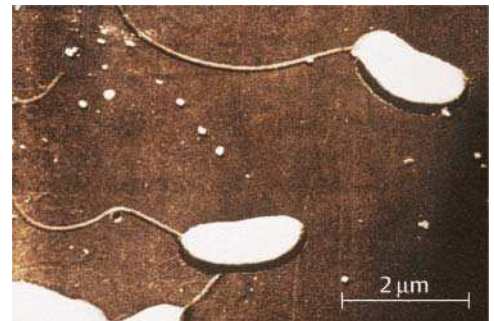


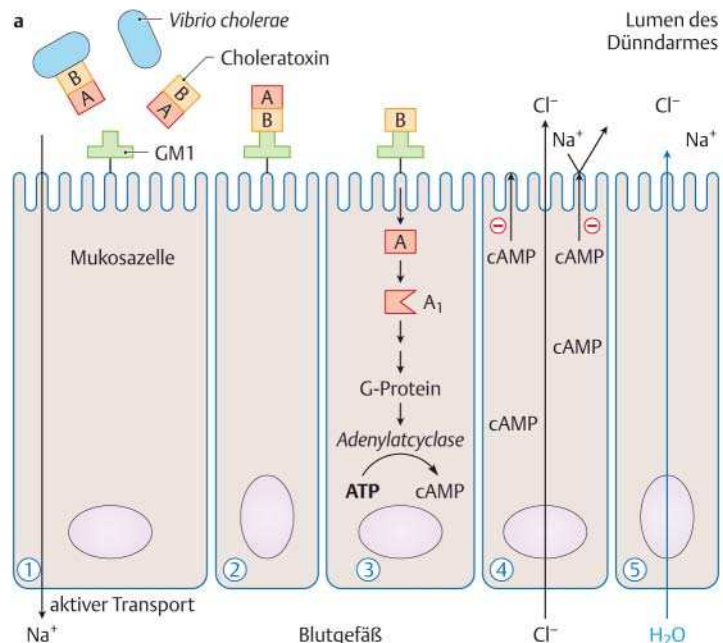
Abb. 18.10 Zellen von *Vibrio cholerae*. (Raster-elektronenmikroskopische Aufnahme; aus Kayser et al., 2005).

Plus 18.5 Cholera

Bei Cholera handelt es sich um eine lebensbedrohende Durchfallerkrankung, die durch *Vibrio cholerae*, ein gramnegatives, gekrümmtes Stäbchenbakterium ausgelöst wird (Abb.). Aufgrund von Variationen im O-Antigen (bestehend aus Lipopolysacchariden, LPS) (Kap. 5.8) unterscheidet man mehrere Serovare. Erreger der Cholera gehören in der Regel dem Serovar O:1 an. Diese wiederum lassen sich anhand physiologischer Eigenschaften in die Biovare „cholerae“ und „eltor“ einteilen. Die Erkrankung trat bisher in sieben weltweiten Epidemien (Pandemien) auf, von denen die letzte derzeit noch anhält. Die Aufnahme der Bakterien erfolgt oral fast ausschließlich über kontaminiertes Trinkwasser aufgrund ungenügender sanitärer Verhältnisse. Daher tritt Cholera insbesondere in einigen Entwicklungsländern und auch als Folge von Naturkatastrophen oder kriegerischen Auseinandersetzungen auf. Für den Ausbruch der Krankheit ist die Aufnahme einer relativ hohen Anzahl von Bakterien (10^8 – 10^9) erforderlich. Der Grund hierfür ist wahrscheinlich das saure Milieu des Magens, das nur wenigen Bakterien die Passage in den Dünndarm erlaubt. Erfolgt die Aufnahme jedoch über

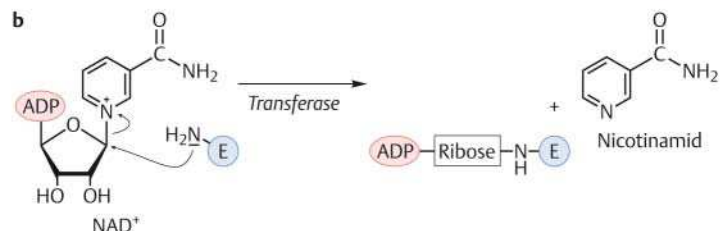
Nahrungsmittel (z. B. Muscheln), sind deutlich weniger Bakterien notwendig, um die Krankheit auszulösen.

Im Dünndarm heften sich die Bakterien mittels spezieller Adhäsionsfaktoren an Epithelzellen an, vermehren sich und setzen das Cholera toxin frei. Das Krankheitsbild ist ausschließlich auf die Wirkung dieses Toxins zurückzuführen. Es handelt sich dabei um ein Protein des A-B-Typs, das aus einer A-Komponente und fünf Kopien der B-Komponente besteht. Über die B-Untereinheiten bindet das Toxin spezifisch an das Gangliosid GM1, ein typisches komplexes Glykolipid der Epithelzellenoberfläche (Abb. a). Anschließend wird die A-Komponente über die Plasmamembran der Zielzelle transloziert, wobei gleichzeitig das eigentlich als Toxin wirkende A_1 -Fragment gebildet wird. A_1 katalysiert die Übertragung eines ADP-Ribosylrestes von NAD^+ auf ein G-Protein (Abb. b). Dieses reguliert die Aktivität des Enzyms Adenylatcyclase, welches den zellulären Botenstoff cAMP als Reaktion auf extrazelluläre Reize (z. B. durch Hormone) synthetisiert. Durch die Modifikation verbleibt das G-Protein dauerhaft in der aktiven Form und somit auch die Adenylatcyclase.



Wirkungsmechanismus des Cholera-Toxins.

Nach Anheftung von *V.-cholerae*-Zellen an die Mikrovilli der Darmepithelzellen bilden und sekretieren diese das Cholera-A-B-Toxin. Über die B-Untereinheiten bindet das Toxin an GM1-Ganglioside, Glykolipide der Wirtszellmembran (①, ②). Die A-Untereinheit gelangt nun mithilfe der B-Untereinheit in die Epithelzelle (③). In Folge der Aktivität des Toxins wird die Adenylatcyclase der Zellen dauerhaft aktiviert (④). Dies hemmt die Na^+ -Aufnahme und führt zum Wasserausstrom ins Lumen (⑤).



Fortsetzung

Fortsetzung

Die Zelle behält dadurch einen hohen cAMP-Spiegel, was zu einer Veränderung der Ionenflüsse über die Zellmembran führt. Unter normalen Bedingungen werden Na^+ -Ionen aktiv aus dem Lumen des Dünndarms in das Blut transportiert, womit auch ein passiver Wasserfluss verbunden ist. Als Folge der Toxinaktivität und der dadurch hohen Konzentration an cAMP werden jedoch die Na^+ -Pumpen inaktiviert, was einen Nettofluss von Chlorid-Ionen aus dem Blut ins Lumen und damit verbunden auch einen massiven Wasser- ausstrom ins Lumen zur Folge hat.

Unbehandelt verliert der Patient auf diese Weise bis zu 20 l Wasser pro Tag. Dadurch werden jedoch auch die Bakterien ausgeschwemmt, weshalb die Krankheit als selbstlimitierend bezeichnet wird. Therapeutische Maßnahmen bestehen im

Ausgleich des Wasser- und Ionenverlustes durch eine Elektrolyt-Glucose-Lösung (Empfehlung der WHO: 3,5 g NaCl, 2,9 g Trinatriumcitrat, 1,5 g KCl und 2 g Glucose pro Liter Wasser) sowie in der Gabe von Antibiotika, z. B. Tetracyclin.

Die Untereinheiten des Toxins werden von den Genen *ctxA* und *ctxB* codiert, die auf einem im Chromosom der Bakterien integrierten Prophagen (CTX) lokalisiert sind. Für die Aufnahme des CTX-Phagen in das Bakterium wird ein bestimmter Zellanhang, der TCP-Pilus benötigt. Die Expression der *ctx*-Gene wird durch verschiedene Umweltfaktoren (pH-Wert, Temperatur, Gallensäuren) angestoßen, die das Milieu im Wirt charakteristisch gegenüber der aquatischen Umgebung abgrenzen. An dieser Erkennung sind mehrere Sensorregulatorsysteme (Kap. 9, 16) beteiligt.

Toxine

Die unmittelbar mit einer bakteriellen Infektion einhergehenden Krankheitssymptome sind meist nicht Folge der bakteriellen Vermehrung, sondern der Produktion von Toxinen. Dabei handelt es sich um polymere Verbindungen (meistens Proteine), die nach wenigen Grundprinzipien die Stoffwechselaktivitäten der Wirtszelle schädigen und so deren Absterben verursachen.

Man unterscheidet Exotoxine und Endotoxine.

Exotoxine sind Proteine, die von ihren Produzenten in das umgebende Medium freigesetzt werden und anschliessend in die Wirtszellen eindringen. Zu den Exotoxinen gehören cytolytische Toxine, A-B-Toxine und Superantigene.

Cytolytische Toxine lagern sich in die Cytoplasmamembran der Zielzelle ein und bilden Poren für den unkontrollierten Fluss von Ionen. Dadurch zerstören sie die Integrität der Membran und somit die Lebensfähigkeit der Zelle. Beispiele hierfür sind die sogenannten Hämolsine, die insbesondere zur Zerstörung (Lyse) von Erythrozyten beitragen. Hämolsine werden z. B. von bestimmten *E.-coli*- oder *Staphylococcus aureus*-Stämmen gebildet.

Zur Gruppe der **A-B-Toxine** gehören Proteine, die sich durch einen gemeinsamen strukturellen Aufbau auszeichnen. Das eigentliche Toxin, die A-Komponente, wird zunächst zusammen mit dem B-Teil synthetisiert, welcher den Transfer in die Wirtszelle bewerkstelligt, selbst jedoch nicht eindringt (Abb. 18.11). A-B-Toxine hemmen u. a. die Proteinbiosynthese oder lösen unkontrolliert zelluläre Signaltransduktionsketten aus, wodurch die Zellen letztlich zerstört werden. Nach diesen Mechanismen wirken z. B. Toxine, die für die Symptome der Diphtherie oder der Cholera (Plus 18.5) verantwortlich sind.

Exotoxine, die auf Dünndarmzellen wirken und Durchfallerkrankungen hervorrufen, werden auch als **Enterotoxine** bezeichnet.

Als **Superantigene** werden Toxine bezeichnet, die das Immunsystem des Wirtes manipulieren. Sie binden, anders als „normale“ Antigene, gleichzeitig an zwei wichtige Komponenten des Immunsystems (Haupt-Histokompatibilitätskomplex, MHC II und T-Zell-Rezeptor) und aktivieren dadurch unspezifisch sogenannte T-Helferzellen (Abb. 18.12). Diese Aktivierung ist um ein Vielfaches stärker als bei „normalen“ Antigenen. Es wird eine Kaskade von Zell-(Entzündungs-)reaktionen ausgelöst, die

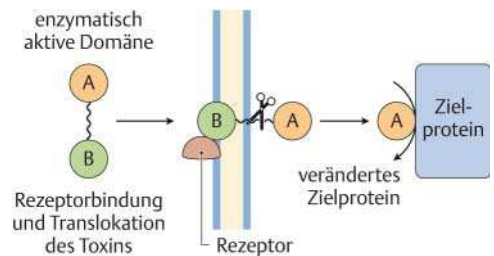


Abb. 18.11 Allgemeine Wirkungsweise von A-B-Toxinen (aus Doenecke et al., 2005).

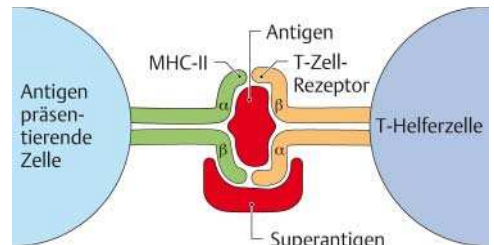


Abb. 18.12 Wirkung von Superantigenen durch Kopplung zwischen T-Zell-Rezeptor und MHC-II-Molekül von antigenpräsentierenden Zellen (aus Doenecke et al., 2005).

schließlich zum massiven Zelltod und Organversagen führt (toxischer Schock). Superantigene werden u.a. von *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pyogenes* gebildet.

Bei den **Endotoxinen** handelt es sich um einen Bestandteil der Lipopolysaccharide der äusseren Membran gramnegativer Bakterien (Kap. 5.8), der erst bei Zelllyse freigesetzt wird. Als toxische Komponente wurde das Lipid A identifiziert. Im Gegensatz zu den Exotoxinen ist ihre Wirkungsweise unspezifisch und beruht hauptsächlich in der Auslösung von allgemeinen Entzündungsreaktionen sowie Fieber. Bei größeren Dosen freigesetzter Endotoxine, z.B. bei Infektionen mit *E. coli* oder *Salmonella*, können diese Reaktionen durch septischen Schock zum Tod des Wirts führen.

Überwindung von Abwehrmechanismen des Wirtes

Eine stabile Etablierung und Vermehrung der Bakterien im Wirtsorganismus ist nur möglich, wenn sie über Mechanismen zur Ausschaltung der wirtseigenen Infektabwehr in Geweben und im Blut verfügen. Diese besteht aus unspezifischer, angeborener Immunität, vermittelt durch Phagozyten (Fresszellen), Komplementsystem und Eisenlimitierung, sowie der spezifischen, induzierbaren Immunität über T-Zellen und Antikörper.

Phagozyten nehmen Bakterien gezielt in sich auf (Phagozytose) und zerstören sie anschließend durch eine Vielzahl zellschädigender Faktoren, u.a. durch die Bildung toxischer Sauerstoffradikale, Stickstoffoxid (NO) (engl. oxidative burst) und Proteasen. Einige pathogene Bakterien, darunter *Neisseria gonorrhoeae*, *Hämophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* oder *Bacillus anthracis*, können sich durch die Bildung von Kapseln (Kap. 5.7) gegen die Aufnahme schützen. Andere, wie z.B. *Salmonella typhimurium*, unterbinden die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies in den Phagozyten (**Antiphagozytose**).

Bestimmte Komponenten des Komplementsystems – Serumproteine, die Bakterienzellen durch Bindung markieren – bilden einen Membranangriffskomplex (MAK), der Poren in der äusseren Membran gramnegativer Bakterien bildet. Gegen diese Aktivität schützen sich einige Bakterien (z.B. *N. gonorrhoeae*) durch eine Modifikation des LPS, wodurch sie für Komponenten des Komplementsystems „unsichtbar“ werden (**Serumresistenz**). Andere wiederum setzen Komponenten der Komplementkaskade außer Funktion.

Eisen ist ein essenzieller Bestandteil membrangebundener Elektronentransportketten und cytoplasmatischer Redoxenzyme und daher für die Vermehrung der Bakterien unverzichtbarer Nahrungsbestandteil. Eine Zelle enthält ca. 10^6 Eisen-Ionen, sodass bei einer im Serum zu erreichenden Zelldichte von 10^8 pro ml pro Generation etwa 10^{14} Fe^{3+} -Ionen aufgenommen werden müssen. Das Angebot an freien Eisen-Ionen ist jedoch aufgrund der geringen Löslichkeit von Fe^{3+} -Ionen sehr begrenzt. Wirtsproteine im Blut und anderen Körperflüssigkeiten, die Fe-Ionen binden (Transferrin, Lactoferrin), setzen die Konzentration weiter herab (auf ca. 10^{-20} Mol/l), wodurch die Wachstumsmöglichkeiten für Bakterien stark eingeschränkt werden. Eine hohe Konzentration von Lactoferrin ist z.B. die Ursache für die natürliche Sterilität der Milch. Um die Eisenversorgung zu sichern, scheiden Bakterien, niedermolekulare Fe-Komplexbildner (**Siderophore**) aus, die eine hohe Affinität zu Eisen besitzen (Kap. 8.4.4). Sie entziehen den Wirtsproteinen das Eisen und werden dann über spezifische Transporter der ABC-Klasse (Kap. 9.2.1) in die Zelle aufgenommen.

Die spezifische Immunantwort des Wirtes setzt ebenfalls die Erkennung der Bakterien als Fremdorganismen voraus. Einige Bakterien machen sich „unsichtbar“, indem sie ihre Zelloberfläche mit Molekülen wie Hyaluronsäure oder Neuraminsäure dekorieren, die auch bei Wirtszellen vorkommen (**molekulares Mimikry**).

Antikörper (Immunglobuline) binden spezifisch an bestimmte Makromoleküle (**Antigene**), insbesondere der Zellwand, und führen so die Bakterien dem Komplementsystem zur Zerstörung zu. Anhand der gebundenen Antikörper erkennen auch Fresszellen (Makrophagen) des Immunsystems ihre Ziele. Einige Bakterien (*Salmonella*, *Neisseria*) entgehen einer Antikörperreaktion, indem sie die chemische Struktur von Oberflächenmolekülen, wie Pili und Flagellen, ändern. Dies beruht auf einer Variabilität der die Antigenproteine codierenden Gene. Als Konsequenz werden bereits vorhandene Antikörper unwirksam (**Antigenvariation**).

In Sekreten von Schleimhäuten befinden sich hohe Konzentrationen von Immunglobulinen der Klasse IgA, die für die spezifische Immunität verantwortlich sind. Typische schleimhautbesiedelnde Bakterien wie *Neisserien* oder *Haemophilus* setzen über ein Typ-V-Sekretionssystem (Kap. 9.5.3) spezifische Proteasen frei, welche die Antikörper abbauen.

Tabelle 18.4 fasst wichtige humanpathogene Bakterien und ihre Eigenschaften zusammen.

Die meisten bakteriellen Infektionskrankheiten lassen sich mit **Antibiotika** erfolgreich behandeln (Kap. 5.14, 15), auch wenn einige durch das Auftreten von **Multiresistenzen** (Kap. 5.14, 9.4) in den letzten Jahren teilweise an Wirksamkeit eingebüßt haben. Der gezielte Einsatz von Antibiotika setzt die frühzeitige Identifikation des die Krankheitssymptome auslösenden Erregers voraus. Dies wird in der medizinisch-mikrobiellen Diagnostik durch Kombination klassischer mikrobieller Verfahren mit modernen molekularbiologischen Techniken erreicht.

Tab. 18.4 Steckbriefe wichtiger humanpathogener Bakterien.

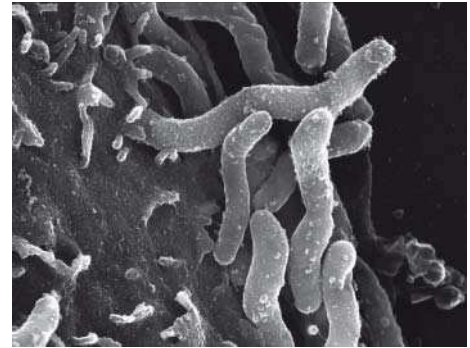
Organismus	Krankheit	Anmerkungen
<i>Bacillus anthracis</i>	Milzbrand	aerober Sporenbildner, Toxine
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Lyme-Borreliose	Spirochät, durch Zecken übertragen
<i>Clostridium</i> spp.		
<i>C. botulinum</i>	Lebensmittelvergiftung (Botulismus)	produziert mehrere, in sehr geringen Dosen wirksame Neurotoxine
<i>C. perfringens</i>	Gasbrand, Lebensmittelvergiftung	Wundkontamination, Toxine
<i>C. tetani</i>	Wundstarrkrampf (Tetanus)	Wundkontamination, Neurotoxin
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Diphtherie	nichtinvasiv, A-B-Toxin, codiert auf Prophagengenom, hemmt Proteinbiosynthese durch ADP-Ribosylierung des Elongationsfaktors EF-2
<i>Escherichia coli</i>	intestinale Infekte, Harnwegsinfekte, Sepsen, Neugeborenenmeningitis	Hauptverursacher von Hospitalinfektionen
enterohämorrhagische <i>E. coli</i> (EHEC)	hämorrhagische Kolitis	Aufnahme über Nahrungsmittel, führt zu Nierenversagen, hauptsächlich Serotyp O157:H7, bildet Shiga-Toxin
enteropathogene <i>E. coli</i> (EPEC)	Säuglingsdiarrhö	spezielle Anheftung an Darmepithelzellen, Zerstörung der Mikrovilli

Tab. 18.4 Fortsetzung.

Organismus	Krankheit	Anmerkungen
enterotoxische <i>E. coli</i> (ETEC)	choleraähnlicher Durchfall	Reisediarrhö, 2 Typen von Toxinen: hitzelabiles (LT) und hitzstabiles (ST)
enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)	shigellaähnliche Ruhr	invasiv, besitzen Megaplasmid mit Virulenzgenen
<i>Haemophilus influenzae</i>	Meningitis, Infekte der Atemwege	besiedelt Nasenraum des Menschen, benötigt Hämvorstufe zum Wachstum, Polysaccharidkapsel
<i>Helicobacter pylori</i>	Gastritis, peptischer Ulcer	besiedelt Magenschleimhaut, bildet Urease, Zytotoxin (VacA) (Plus 18.6)
<i>Legionella pneumophila</i>	Lungenerkrankung („Legionärskrankheit“)	Verbreitung über Klimaanlage und Duschen, invasiv, repliziert in Phagosomen
<i>Listeria monocytogenes</i>	Meningitis bei Neugeborenen und immungeschwächte Personen	fakultativ intrazellulär, lysiert Phagosomen durch Listeriolysin und Phospholipase, benutzt Actinzytoskelett der Wirtszellen zur Ausbreitung in Cytosol
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberkulose	spezieller Zellwandaufbau (u. a. Mykolsäuren), überlebt in Makrophagen
<i>Neisseria meningitidis</i>	Meningitis, Sepsis	besiedelt Nasenraum des Menschen, nur selten wird Hirnhaut erreicht und besiedelt, Typ-IV-Pili
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Hospitalinfektionen	weit verbreitet, natürliche Antibiotikaresistenz, einige bilden Schleimschicht (in Patienten mit cystischer Fibrose), Synthese fluoreszierender Pigmente (Fluorescein, Pyocyanin), Wundinfektion, fast nur bei immungeschwächten Personen
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Fleckfieber	durch Kleiderläuse übertragbar, obligat intrazellulär, kleines Genom (834 Gene), ATP/ADP-Transporter
<i>Salmonella</i>		invasieren nichtphagocytische Wirtszellen
<i>S. typhi</i>	Typhus-Fieber	bildet spezielles Kapselpolysaccharid (Vi-Antigen)
<i>S. typhimurium</i> , <i>S. enteritidis</i>	Gastroenteritis	über verunreinigte Lebensmittel (u. a. rohes Fleisch, Geflügel, Eier, Milch) übertragen, Virulenzgene auf Pathogenitätsinseln
<i>Shigella dysenteriae</i>	Bakterienruhr	produziert Shiga-Toxin, invasiert Epithelzellen
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nahrungsmittelvergiftung, eitrige Infekte	mehrere Toxine (Superantigene), Plasmakoagulase
<i>Streptococcus</i> spp.		
<i>S. pneumoniae</i>	Atemwegsinfektionen	bildet Kapsel als Schutz vor Phagocytose, α -Hämolyse
<i>S. pyogenes</i>	verschiedene Krankheitsbilder, u. a. Scharlach	invasive Effekte, β -Hämolyse durch Streptolysine, andere Toxine, M-Protein in Zellwand
<i>Treponema pallidum</i>	Syphilis	Spirochät, nicht kultivierbar, Virulenzfaktoren unbekannt
<i>Vibrio cholerae</i>	Cholera	Übertragung durch Lebensmittel und Trinkwasser, nicht-invasiv, bildet A-B-Toxin, dereguliert Ionenflüsse in Darmepithelzellen durch ADP-Ribosylierung eines G-Proteins
<i>Yersinia pestis</i>	Beulenpest	im 14. Jh. verantwortlich für ca. 25 Mio. Todesfälle (ungefähr 25 % der Bevölkerung in Europa), Übertragung bei Ratten und anderen Wildtieren durch Flöhe, sehr invasiv, bildet Exotoxin A (hemmt Proteinbiosynthese durch ADP-Ribosylierung des Elongationsfaktors EF-2)

Plus 18.6 *Helicobacter pylori* – Langzeitkolonist der Magenschleimhaut

Helicobacter pylori, ein helikal (oder schraubenförmig) geformtes Bakterium (Abb.), das phylogenetisch zur epsilon-Gruppe der Proteobakterien zählt (Kap. 2.6.1), verursacht chronisch-entzündliche und maligne Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes (Gastritis, Magengeschwüre und Magenkrebs). Der Organismus wird wahrscheinlich mit der Nahrung aufgenommen, wobei neuere Untersuchungen auch von einer Übertragung durch andere Säuger, wie Katzen, ausgehen. Nach Schätzungen sind ca. 40 % der Bevölkerung entwickelter Länder und 80 % der Bevölkerung in Entwicklungsländern mit *H. pylori* infiziert, von denen jedoch nur ein geringerer Anteil auch Krankheitssymptome entwickelt. *H. pylori* besiedelt hauptsächlich die Magenschleimhaut, kann jedoch langfristig auch in den Zwölffingerdarm vordringen. Um im sauren Milieu des Magens (pH-Wert 1–2) überleben zu können, produzieren die Bakterien u.a. Urease, ein cytoplasmatisches Enzym, das Harnstoff in Bicarbonat und Ammoniak spaltet. Es wird vermutet, dass Ammoniak die Zellen in Form von Ammoniumionen (NH_4^+) verlässt. Dadurch wird der pH-Wert in der unmittelbaren Umgebung der Bakterien erhöht, mit der Folge, dass auch der cytoplasmatische pH-Wert der Bakterien neutral gehalten werden kann. Als ein wichtiger Virulenzfaktor ist ein Cytotoxin (VacA) bekannt, das Epithelzellen des Wirtes zerstört. Darüberhinaus enthält das Chromosom einiger *Helicobacter*-Stämme eine Pathogenitätsinsel (*cag*, engl. cytotoxin-associated gene) die u.a. für ein Typ-IV-Sekretionssystem kodiert, über das ein Effektorprotein (CagA) in die Magenschleimhautzellen des Wirtes gelangt. Das Auftreten von Magengeschwüren und Magenkrebs ist insbesondere auf die Anwesenheit von *cag*⁺-Stämmen zurückzuführen.



Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von Zellen von *Helicobacter pylori* in Assoziation mit Magenschleimhautzellen. (Aufnahme V. Brinkmann, MPI für Infektionsbiologie, Berlin).

Medizinische Diagnostik

In der Routinediagnostik im medizinisch-klinischen Labor richtet sich das Interesse auf einen relativ kleinen Kreis klinisch relevanter Organismen, die zumeist mithilfe weniger Tests in Untersuchungsproben wie Blut, Urin und Abstrichen hinreichend sicher identifiziert werden können. Hierzu zählen vor allem diverse Färbetechniken, wie z. B. Gram-Färbung zur groben Einteilung oder Spezialfärbungen wie Ziehl-Neelsen für Mykobakterien, sowie die Analyse des Spektrums der genutzten Substrate („Bunte Reihe“), die heute auf Standardnährböden weitgehend automatisiert durchgeführt werden kann (z. B. **BIOLOG**-System). Der Nachweis der Verwertung verschiedener Substrate wird durch den Einsatz sogenannter **chromogener Substrate** vereinfacht, die z. B. Zucker in Kopplung an einen *o*-Nitrophenylrest anbieten. Durch Hydrolyse wird das farbige Nitrophenol freigesetzt und liefert damit einen Farbttest für die Substratverwertung.

Für die **Differenzierung** einzelner Bakterien bedient man sich spezifischer **Indikatornährmedien**; dies wird am Beispiel der Differenzierung von *E. coli* als Fäkalindikator gegenüber anderen Enterobakterien ausführlich in Kapitel 19 dargestellt. Diese Techniken setzen voraus, dass die jeweiligen Zielorganismen problemlos anwachsen und nicht z. B. durch vorhergehende Aushungerung oder zugesetzte Selektionssubstanzen beeinträchtigt sind.

Im Einzelfall kann man sich auch das Verhalten gegenüber spezifischen **Hemmstoffen** zunutze machen. Viele Darmbakterien zeigen eine erhöhte Resistenz gegenüber Gallensäuren. Zum gezielten Nachweis solcher Bakterien werden daher den Medien Cholsäure, Desoxycholsäure oder andere

Plus 18.7 Impfstoffe

Impfstoffe, auch **Vakzine** genannt, erzeugen im Körper eine milde Form der Erkrankung. Der Schutzschild des menschlichen Organismus, das Immunsystem, wird dadurch auf den Abwehrkampf gegen den wirklichen Krankheitserreger vorbereitet. Man unterscheidet mehrere Impfstoffgruppen. **Lebendimpfstoffe**, wie erstmals 1796 von E. Jenner eingesetzt, enthalten lebende, jedoch abgeschwächte Krankheitserreger. Dazu gehören Vakzine gegen virale Erkrankungen wie Polio (als Schluckimpfung), Masern, Mumps und Röteln. Impfstoffe gegen Typhus oder Cholera bestehen aus **abgetöteten oder inaktivierten Bakterien**. Eine dritte Gruppe von Impfstoffen enthält bakterielle Toxine, die durch Behandlung mit Hitze oder Chemikalien (Formaldehyd) inaktiviert wurden (**Toxoide**). Auf diesem Prinzip beruhen Impfungen gegen Diphtherie oder Tetanus (Wundstarrkrampf). Neuerdings werden Vakzine auch **gentechnisch** hergestellt. Dabei wird das Gen für ein bestimmtes Protein des Erregers in einen geeigneten Wirtsorganismus (z. B. Hefe) eingebracht, dort exprimiert und das gereinigte Protein injiziert. Im menschlichen Körper wird so eine Immunantwort ausgelöst. Ein solches Präparat wird gegen Hepatitis B eingesetzt.

Detergenzien (Brij 58, Tween usw.) zugesetzt. Einer selektiven Unterdrückung bedient man sich zum Nachweis von *Corynebacterium diphtheriae* (auf tellurithaltigem Nährboden) und von pathogenen *Enterobacteriaceae* (Wismutagar), da diese Bakterien hohe Konzentrationen der genannten Metallionen tolerieren.

Immunologische Verfahren ermöglichen im Einzelfall auf der Basis der Oberflächenantigene (O-, K- und H-Antigene; Kap. 5.8, 5.7 und 5.9.1) eine Identifikation von möglichen Krankheitserregern über die Ebene der Arten hinaus. Vor allem für die Identifikation von klinisch relevanten Stämmen (**Serovaren**) der Gattung *Salmonella* wurde ein immunologisches Identifikationssystem aufgebaut (Kaufmann-White-Schema), das innerhalb kurzer Zeit eine Differenzierung zwischen mehr als zweitausend verschiedenen Stämmen und damit auch eine Identifizierung der Infektionsquelle möglich macht. Moderne immunologische Verfahren, wie Immunoblot oder Enzyme linked immuno sorbent Assay (ELISA), bei denen definierte Antigene nachgewiesen werden, finden insbesondere bei der Identifizierung viraler Krankheitserreger Anwendung.

Zu den etablierten Methoden sind in den letzten Jahren **molekularbiologisch basierte Techniken** getreten, die eine Identifizierung von Mikroorganismen aufgrund der DNA-Nukleotidsequenzen erlauben, die für die **16 S-ribosomale RNA** codieren (Kap. 2.3.2). Da diese Methoden nicht nur eine, im Vergleich zu klassischen Wachstumstests, sehr viel schnellere Identifizierung erlauben, sondern auch für nichtkultivierbare Mikroorganismen anwendbar sind, haben sie sich schnell einen wichtigen Platz in der medizinischen Diagnostik erobert. Da auf Sequenzähnlichkeiten basierende Identifizierungen jedoch auch auf Zufallsidentitäten einzelner Sequenzbereiche beruhen können, müssen die Resultate jeweils durch andere Untersuchungstechniken abgesichert werden.

Die **Polymerasekettenreaktion (PCR)** (Box 15.6, S. 489) bietet die Möglichkeit, bestimmte DNA- oder RNA-Abschnitte selbst aus einzelnen Zellen spezifisch zu amplifizieren und nach Trennung durch Gelelektrophorese sichtbar zu machen. Außerdem kann die genaue Nukleotidsequenz einzelner Bereiche durch Sequenzierung ermittelt werden. Eine solche Identifizierung ist hoch sensitiv und hoch spezifisch und deutlich schneller als die herkömmliche Kultivierung. Bestimmte Mikroorganismen und Viren können in Patientenmaterial durch Hybridisierung ribosomaler RNA mit fluoreszenzmarkierten DNA-Sonden (**Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung, FISH**; Kap. 17.6.4) nachgewiesen werden. Das Verfahren ist allerdings wegen der Abhängigkeit von verfügbarer RNA nicht universell einsetzbar. Die Technik der Zukunft dürfte auch hier die **DNA-Chip-Technologie** sein, bei der PCR-vermehrte DNA mit einer trägergebundenen Ziel-DNA hybridisiert wird. Diese Technik kann innerhalb weniger Stunden Resultate liefern, ist aber für die Anwendung auf breiter Ebene noch nicht ausgereift.

Zur Vorbeugung gegen bakterielle und virale Infektionen kann die körpereigene Immunabwehr durch gezieltes Einbringen von vorbehandelten vollständigen Erregern oder immunaktiver Proteine stimuliert werden (Impfung). Die gängigen Verfahren sind in Plus 18.7 zusammengestellt.

18.5.2 Virale Krankheitserreger und Prionen

Das **HI-Virus** (engl. human immunodeficiency virus) gehört zur Gruppe der Retroviren (Kap. 4.7.4) und ist der Erreger des *acquired immune deficiency syndrome* (**AIDS**). Nach Angaben von UNAIDS, einer Unterorganisation der Vereinten Nationen, waren im Jahr 2005 weltweit 40,3 Mio.

Menschen infiziert oder erkrankt. Die Zahl der Todesopfer betrug 3,1 Mio., während 4,9 Mio. Neuinfizierte hinzukamen. Insgesamt sind seit Ausbruch der Pandemie Mitte der 1980er Jahre mehr als 25 Mio. Menschen an AIDS gestorben. Die Viren, die in HIV-1 und HIV-2 unterteilt werden, zerstören gezielt T-Helferzellen (CD4-T-Zellen), die eine wichtige Rolle bei der zellulären Immunabwehr spielen. Dies hat eine erhöhte Anfälligkeit des Patienten gegenüber Sekundärinfektionen durch Bakterien, Einzeller und andere Viren zur Folge. Auf die Erstinfektion, die durch Blut, Blutprodukte, Geschlechtsverkehr und während der Schwangerschaft von der Mutter auf den Fötus geschehen kann, folgt eine Inkubationsphase, die, nach heutiger Sicht, mehr als 10 Jahre betragen kann, bevor die eigentliche Erkrankung ausbricht. Labordiagnosen zum Nachweis einer Infektion beinhalten die Analyse von HIV-Antikörpern und HIV-Antigenen mittels immunologischer Methoden (Enzymimmunoassay, Immuno-Blot). Die Isolierung des Virus aus dem Blut des Patienten und die Bestimmung der Viruskopienzahl erfolgt über quantitative PCR (Kap. 15.11).

Hepatitis B oder Serum-Hepatitis wird durch ein DNA-enthaltendes Virus (Familie Hepadnaviren, Kap. 4.7.2) verursacht, das auf ähnlichen Wegen wie HIV übertragen wird. Als Folge der Infektion sterben bis zu 10% der Patienten an Leberversagen. Länger anhaltende Infektionen können zu Leberkrebs führen.

Marburg- und Ebola-Virus, die zu den Filoviren gehören, verursachen hämorrhagische (zu inneren Blutungen führende) Fieberanfälle mit hoher Letalität. Bei Ausbrüchen des Marburg-Virus in Europa wird eine Übertragung durch eingeführte Affen vermutet, wohingegen die Herkunft des bisher nur in Zentralafrika aufgetretenen Ebola-Virus nicht bekannt ist. Nach neuesten Untersuchungen könnten jedoch Fledermäuse als Reservoir dienen.

Prionen und BSE (Rinderwahnsinn). Prionen (proteinartige infektiöse Partikel) werden, wie von Stanley Prusiner Anfang der 1980er Jahre erstmals vermutet, als Verursacher tödlich verlaufender Hirnerkrankungen beim Menschen (Creutzfeldt-Jacob-Krankheit, CJD) und bei Tieren (Scrapie oder Traberkrankheit bei Schaf und Ziege; BSE [bovine spongiforme Enzephalopathie] oder Rinderhirnschwamm bei Rindern) betrachtet (Tab. 18.5). Dabei handelt es sich nach neuesten Erkenntnissen um ein wirtseigenes Protein (PrP^C), das sowohl in einer normalen als auch in einer fehlerhaft gefalteten, pathologischen Form (PrP^{Sc}) vorkommt. Die pathologische Form ist hoch resistent gegenüber Hitze und kann im Autoklaven nur bei Temperaturen von 134–136 °C, die mindestens 1 Stunde anhalten, inaktiviert werden (zum Vergleich: für hitzeresistente Endosporen sind 121 °C und 20 Minuten ausreichend). Es wird vermutet, dass die pathologischen Formen das natürlich vorkommende Protein in infektiöse Formen umwandeln, wodurch eine autokatalytische Kettenreaktion in Gang gesetzt wird (Abb. 18.13). Die Anhäufung des Proteins in Form amyloider Aggregate kann histologisch nachgewiesen werden.

Der Rinderwahnsinn trat gehäuft Mitte der 1980er Jahre in Großbritannien auf und wurde durch infiziertes Tiermehlfutter verursacht. Da ein Zusammenhang mit dem Auftreten einer neuen Variante der Creutzfeldt-Jacob-Krankheit (vCJD) vermutet wird und inzwischen in Laborversuchen nachgewiesen wurde, dass Prionen auf andere Tiere übertragbar sind, wird Rindfleisch seit einigen Jahren unmittelbar nach der Schlachtung auf Prionen untersucht. Ein zuverlässiger Test am lebenden Tier ist derzeit noch nicht verfügbar. Die Verfütterung von Tiermehl wurde verboten.

Tab. 18.5 BSE-ähnliche Erkrankungen.

Erkrankung	betroffene Arten	vermuteter Übertragungsweg
Scrapie, Traberkrankheit	Schafe, Ziegen	infiziertes Tiermehl Vererbung direkter Kontakt
bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE)	Rinder	infiziertes Tiermehl
feline spongiforme Enzephalopathie (FSE)	Hauskatzen, Großkatzen in Zoos (z. B. Gepard, Puma)	infiziertes Tiermehl
transmissible Nerz-Enzephalopathie (TME)	Nerze	infiziertes Tiermehl
wissenschaftliche Übertragbarkeitstests	viele Arten: u. a. Affen, Mäuse, Schafe, Hornträger	unbekannt
Variante Creutzfeld-Jakob-Krankheit (vCJK)	Mensch	BSE-infiziertes Rindfleisch/Rindfleischprodukte möglicherweise BSE-infiziertes Fleisch von anderen Nutztieren
klassische Creutzfeld-Jakob-Krankheit (CJK)	Mensch	noch unbekannt 85 % Vererbung 10 % medizinische Behandlungen 5 %
Gerstmann-Sträußler-Scheinker-Syndrom (GSS)	Mensch	Vererbung
fatale familiäre Insomnie (FFI)	Mensch	Vererbung
Kuru-Kuru (Schüttelkrankheit)	Mensch	infiziertes Menschenhirn (Bestattungsritual)

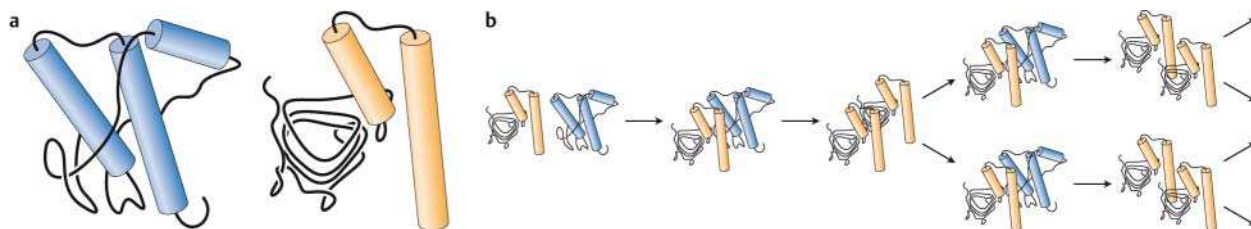


Abb. 18.13 Modelle der Tertiärstrukturen von PrP^{C} (links) und PrP^{Sc} (rechts). Aus dem Vergleich von Prionproteinen ergeben sich die dargestellten Konformationen. PrP^{C} besitzt zu ca. 42 % α -Helix- und keine β -Faltblatt-Struktur. Dagegen besteht PrP^{Sc} zu 43 % aus β -Faltblatt-Strukturen und zu 30 % aus einer α -Helix.

18.6 Pflanzenpathogene Bakterien und Pilze

Derzeit sind etwa 11 000 Infektionskrankheiten bei Pflanzen beschrieben. Diese werden von Pilzen (120 Gattungen), Bakterien (10 Gattungen) und Viren (30 Typen) verursacht. Die auftretenden Symptome sind verschiedenartig und oft schwer zu diagnostizieren. Zu den häufigsten Merkmalen zählen Fäule, Blattflecken, das Welken von Blättern und Stängeln, Krebsgeschwülste und Gallen. Mikrobielle Pflanzenerkrankungen, insbesondere landwirtschaftlicher Nutzpflanzen, sind häufig mit immensen wirtschaftlichen Schäden verbunden.

18.6.1 Pflanzenpathogene Bakterien

Die weitaus meisten zur Auslösung von Pflanzenkrankheiten befähigten Bakterien sind gramnegativ und gehören zu den Gattungen *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* und *Erwinia*. Nur einige sind obligat pathogen und können außerhalb eines Wirtes nicht überleben, während es sich bei den meisten um frei im Boden lebende Bakterien handelt. Untersuchungen u. a. an *Xanthomonas campestris* (pathovar *vesicatoria*), dem Erreger der **bakteriellen Fleckenkrankheit** bei Tomate und Paprika, haben dabei gezeigt, dass bakterielle Tier- und Pflanzenpathogene durchaus ähnliche Strategien benutzen, um ihren Wirt zu besiedeln. So wird bei gramnegativen Vertretern beider Gruppen ein Typ-III-Sekretionssystem (Kap. 9.5.3) verwendet, um Effektorproteine in die Wirtszelle einzubringen. Die Aktivitäten dieser Proteine unterdrücken dabei u. a. die jeweiligen spezifischen Abwehrmechanismen der Wirtsorganismen.

Eine der bekanntesten bakteriellen Erkrankungen ist der **Feuerbrand**, der zu den Rosengewächsen gehörende Wild-, Zier- und Obstgehölze, darunter Apfel- und Birnbäume, befällt und zu den meldepflichtigen Pflanzenkrankheiten zählt. Bei befallenen Bäumen werden Blüten, Blätter und Zweige schwarz und der ganze Baum kann schließlich absterben. Der Erreger, *Erwinia amylovora*, wurde erstmals 1959 in England nachgewiesen und hat sich seitdem über den gesamten europäischen Raum verbreitet, begünstigt auch durch Anpflanzung von Wirtspflanzen an Autobahnen. *E. amylovora* war das erste Bakterium überhaupt, das als Verursacher einer Pflanzenkrankheit identifiziert wurde. Weiterhin als bedeutsam zu nennen sind der Erreger der **Bakterienwelke** (*Pseudomonas solanacearum*) bei der Tomatenpflanze, insbesondere in wärmeren Klimazonen, sowie der Auslöser der **Knollennassfäule** bei Kartoffeln, *Erwinia carotovora*. Auch der **Krebs von Zitrusfrüchten** geht auf ein Bakterium, *Xylella fastidiosa*, zurück.

Tumorinduktion durch Bakterien der Gattung *Agrobacterium*. Gramnegative, peritrich begeißelte, aerobe Bakterien der Gattung *Agrobacterium*, die zur alpha-Gruppe der Proteobakterien gehören, können dikotyle Pflanzen im Bereich einer Verwundung zu unkontrollierter Zellteilungsaktivität veranlassen. Infektion mit *A. tumefaciens* führt zur Ausbildung sogenannter **Wurzelhalsgallen** (Abb. 18.14), während *A. rhizogenes* die Bildung von Wurzeln an der verwundeten Stelle verursacht. Da die Bakterien einen Teil ihres Genoms in die Pflanzenzelle einschleusen, kann eine Infektion mit *Agrobacterium* als Modellsystem für den Gentransfer zwischen Organismenreichen angesehen werden (Plus 18.8, Kap. 15.6.2).



Abb. 18.14 Ein durch Infektion mit *Agrobacterium tumefaciens* verursachter Tumor an einem Baumstamm. (Aufnahme Robert Calentine, copyright Visuals Unlimited).

18.6.2 Pflanzenpathogene Pilze

Pilze tolerieren Trockenheit und saure pH-Werte viel besser als Bakterien, was sie dazu befähigt, besonders Pflanzen mit ihrer trockenen Oberfläche und sauren Vakuole zu besiedeln. Pilze haben unterschiedliche Strategien entwickelt, Pflanzen zu infizieren. Manche dringen über die Spaltöffnungen in das Wirtsgewebe ein, während andere die Cuticula und die darunter liegenden Epidermiszellen penetrieren. Um durch die dicken Zellwände zu dringen, haben viele Pilze spezielle Haftorgane entwickelt. Sie scheiden zellwandabbauende Enzyme aus, die in erster Linie den Pektin- (Polygalakturonasen) und den Hemicellulose- (β-Xylosidasen, α-Arabinosidasen) der Wand angreifen (Kap. 10.3). Hinsichtlich ihrer Lebensweise unterscheidet man **Nekrotrophe**, die die Zellen ihrer Wirtspflanze abtöten, und **Biotrophe**, die sich nur von lebendem Gewebe ernähren.

im Wein- und Obstbau kann der Pilz bei hoher Luftfeuchtigkeit erhebliche Ernteausfälle verursachen. Bei trockener Witterung führt Botrytisbefall der Weinbeeren jedoch zu besonders hohen Zuckergehalten und wird dann als Edelfäule bezeichnet (Trockenbeerenauslese). Der Pilz ist fakultativ pathogen, wächst also sowohl auf abgestorbenem organischem Substrat als auch auf lebendem pflanzlichen Gewebe. *B. cinerea* penetriert Cuticula und Epidermis oder tritt über Wunden in die Pflanze ein.

Die Ordnung *Erysiphales* enthält die Familien *Peronosporaceae* (**Dunkler oder Falscher Mehltau**) und *Erysiphaceae* (**Echter oder Weißer Mehltau**). Den Dunklen Mehltau (kenntlich an dunkel gefärbten Sporen) findet man vornehmlich auf Blättern in feuchten, tropischen Wäldern. Der Echte Mehltau ist ein Sammelname für eine Vielzahl von Erysiphaceenarten, die auf zahlreichen Angiospermen parasitieren, darunter Gräser und Leguminosen. Das Pilzmycel breitet sich in der Regel auf der Blattoberseite aus und es werden lediglich in vereinzelte Epidermiszellen differenzierte Hyphen (Haustorien) eingesenkt.

Rostpilze gehören zur Klasse der Ständerpilze (*Basidiomycetes*) und zur Ordnung der Rostpilze (*Uredinales*). Sie sind weltweit mit 5000 Arten vertreten, leben obligat biotroph und sind auf fast allen Arten unserer Blütenpflanzen bekannt. Bei zahlreichen Nutzpflanzen, wie Getreide, Mais, Birnbaum und Kaffee, aber auch bei Föhren, Fichten und Pappeln verursachen Rostpilze Erkrankungen. Sichtbar wird ein Befall meist auf der Blattunterseite durch warzenähnlichen Sporenlagern, welche die namensgebenden, staubförmigen und rostfarbenen Sporen enthalten. An den befallenen Stellen ist die Blattoberseite meist aufgehellte. Das befallene Blatt stirbt rasch ab und die Sporen können die Wirtspflanze weiter infizieren.

18.6.3 Pflanzenabwehr gegen Mikroorganismen

Pflanzen zeigen eine bemerkenswerte Resistenz gegenüber pathogenen Mikroorganismen und Viren in ihrer Umgebung. Bei Kontaktaufnahme wird ein äußerst effizientes Arsenal von Abwehrmechanismen induziert, welches die Mikroorganismen an der Infektionsstelle bekämpft. Nachfolgend kann dies auch zu einer dauerhaften Resistenz gegenüber einem breiten Spektrum von pathogenen Mikroorganismen führen. Da Pflanzen über kein zirkulierendes Antikörpersystem verfügen, besitzt jede Zelle eine Palette sogenannter **R-(Resistenz-)Gene**, deren Produkte als Rezeptoren spezielle Proteine des pathogenen Mikroorganismus (Avr-Proteine) erkennen. Diese Wechselwirkung, welche an der Membran oder im Cytosol stattfinden kann, löst eine Kaskade von Zellreaktionen aus. Zunächst wird eine Veränderung der Ionenpermeabilität der Cytoplasmamembran beobachtet, die zum Einstrom von Ca^{2+} - und H^+ -Ionen sowie zum Ausstrom von K^+ - und Cl^- -Ionen führt. Als Folge davon werden **reaktive Sauerstoffverbindungen** (O_2^- , H_2O_2) gebildet (engl. oxidative burst) und es kann auch zu einem programmierten Tod einer oder weniger Pflanzenzellen (**hypersensitive Reaktion**) kommen. Dem Erreger wird dadurch die Nahrungsgrundlage entzogen und er wird an der weiteren Ausbreitung im Gewebe gehindert. Dies wird begleitet von der Freisetzung phenolischer Verbindungen aus der absterbenden Zellwand und durch verstärkte Einlagerung von Lignin und Cellulose in angrenzenden Zellen. Weiterhin kommt es zur verstärkten Transkription von Abwehrgenen, deren Produkte (PR-Proteine, für engl. pathogenesis-related proteins) antimikrobielle Aktivitäten aufweisen können. Dazu zählen beispielsweise zellwandabbauende Enzyme wie Glucanasen und Chitinasen, die so das pilzliche Wachstum hemmen. Innerhalb weniger Stunden nach

Infektion werden auch spezifische **Phytoalexine** (griech. alekein, abwehren) gebildet, antimikrobiell wirksame, niedermolekulare Substanzen, die den sekundären Pflanzenstoffen zuzuordnen sind.

18.7 Biologische Waffen

Gemäß einer Definition der Vereinten Nationen von 1972 sind **biologische Waffen** „.....lebende Organismen aller Art, oder aus diesen gewonnene infektiöse Stoffe, die Krankheiten oder Tod bei Menschen, Tier oder Pflanze verursachen sollen und deren Wirkung auf ihrer Fähigkeit beruht, sich in den angegriffenen Personen, Tieren oder Pflanzen zu vermehren.“

Aufgrund ihrer Eigenschaften und wegen der Gefährlichkeit der von ihnen produzierten Toxine können eine Reihe pathogener Bakterien, aber auch Viren, prinzipiell als Kampfstoffe gegen Menschen und landwirtschaftlich genutzte Tiere und Pflanzen missbraucht werden. Wenn auch nicht zur direkten Bekämpfung militärischer Gegner geeignet, so kann durch Verseuchung von Nutztieren oder Trinkwasser (gemeinsam mit chemischen Kampfstoffen) Terror auf die Zivilbevölkerung ausgeübt werden. „Effiziente“ Biowaffen weisen dabei folgende Eigenschaften auf: Stabilität gegenüber Umwelteinflüssen, geringe Infektionsdosis, Verbreitung der Krankheit über zwischenmenschliche Kontakte und möglichst fehlende therapeutische Gegenmittel.

Insbesondere Organismen wie *Bacillus anthracis* und *Clostridium botulinum* wurden für den Einsatz als biologische Waffen getestet. Beide sind als grampositive Sporenbildner nach einer Freisetzung besonders überlebensfähig und lassen sich als Aerosole verbreiten.

B. anthracis verursacht **Milzbrand**. Der Mensch infiziert sich an erkrankten Tieren, geschädigt werden hauptsächlich die Haut, aber auch Lunge und Darm. In der Folge entstehen blauschwarze Pusteln, von denen der Name herrührt (griech. anthrax, Kohle). Die Symptome gehen auf die Aktivitäten mehrerer Toxine (Ödemfaktor, Letalfaktor, protektives Antigen) zurück, die zelluläre Regulationskaskaden stören. Die bis heute ungeklärte Versendung von Briefen mit Anthraxpulver im Oktober 2001 in den USA führte zu mehreren Todesfällen und löste eine anhaltende Diskussion über den terroristischen Einsatz pathogener Mikroorganismen (Bioterrorismus) aus.

C. botulinum ist selbst nicht infektiös, produziert jedoch mehrere Toxine, welche zu den stärksten bekannten Toxinen zählen. Die Toxine hemmen die Reizleitung im Bereich der motorischen Endplatten, wodurch Lähmungen der Muskulatur auftreten. In geringen Dosen wird das **Botulismustoxin** daher in der Medizin zur Therapie bestimmter Muskelkrankheiten (Spasmen) eingesetzt und findet neuerdings auch in der Kosmetikbranche zur (zeitlich begrenzten) Entfernung von Gesichtsfalten als sogenanntes Botox Verwendung.

Weitere potenzielle biologische Waffen umfassen *Yersinia pestis* (Erreger der Beulenpest), *Brucella abortus* (Brucellose, Erkrankung von Nutztieren), *Salmonella* spp. (Kontamination von Lebensmitteln und Trinkwasser), das Variola-Virus (Erreger der Pocken), sowie neuerdings eventuell auch das Ebola-Virus. Auch pflanzenpathogene Mikroorganismen haben Waffenpotenzial, da sie Ernten zerstören können, und werden inzwischen von den UN gelistet; darunter sind sowohl Pilze als auch Bakterien der Gattungen *Erwinia* und *Xanthomonas*.

Neuere Besorgnis besteht jedoch auch in der Anwendung gentechnologischer Methoden, welche nicht nur die Massenproduktion von Toxinen in kurzer Zeit erlaubt, sondern auch die Herstellung hoch virulenter Organismen durch gezielte Kombination von Virulenzgenen.

Trotz der 1972 verabschiedeten Genfer **B-Waffen-Konvention der UNO**, die die Entwicklung, Herstellung und Lagerung bakterieller Waffen und Toxine verbietet und der bis 1998 158 Staaten beigetreten sind, bleibt die Verifikation ein Problem. Dies liegt hauptsächlich darin begründet, dass die Forschung zur Entwicklung von Impfstoffen für den Zivilschutz erlaubt ist und somit biologische Kampfstoffe prinzipiell vorgehalten werden dürfen. Vorgänge in jüngster Zeit, wie die Aufdeckung eines Unfalls mit Milzbrandbakterien in der ehemaligen Sowjetunion (1979) und der Nachweis einer Fabrikation biologischer Kampfstoffe im Irak nach Beendigung des 2. Golfkriegs (1995) haben gezeigt, dass sich Staaten weiterhin die Option auf den Einsatz dieser Waffen offenhalten wollen. In den letzten Jahren haben deshalb die Anstrengungen zugenommen, durch gegenseitige Kontrollen der mit dieser Forschung befassten Labore vertrauensbildende Maßnahmen zu schaffen. Derzeit ist dieses Programm jedoch durch Rückzug der USA aus den entsprechenden Gremien unterbrochen.

Zusammenfassung

- Mikroorganismen haben eine wichtige Bedeutung, sowohl als **Symbionten** als auch als **Antagonisten** von Mensch, Tier und Pflanze.
- Die Lebensgemeinschaft von zwei verschiedenen Organismen wird als **Symbiose** im weiteren Sinne bezeichnet. Dabei kann sowohl der Nutzen (**mutualistisch**) als auch der Schaden (**parasitär**) für den Partnerorganismus überwiegen. Symbiosen im engeren Sinne sind mutualistisch.
- Stickstofffixierende Bakterien (**Rhizobien**) regen Leguminosen zur Bildung von Wurzel- oder Stammknöllchen an, in denen sie Stickstoff fixieren, und tragen so auch zur Stickstoffdüngung von landwirtschaftlichen Nutzflächen bei. Die Bakterien verfügen über das Enzym Nitrogenase, welches molekularen Stickstoff (N_2) zu Ammoniak reduziert. Die Pflanze synthetisiert Leghämoglobin zum Schutz der Nitrogenase vor Sauerstoff. Die Wechselbeziehungen zwischen Bakterien und Pflanze sind sehr spezifisch und auf spezielle Signalstoffe, wie Flavonoide (von Seiten der Pflanze) und Nodulationsfaktoren (von Seiten der Symbionten), zurückzuführen.
- Leuchtorgane bestimmter Tintenfische und Fische enthalten Bakterien der Art *Vibrio fischeri*, die zur **Biolumineszenz** befähigt sind.
- Die Zahl der Mikroorganismen, die die Körperoberflächen des Menschen (Haut, Mundhöhle, Verdauungstrakt, Atemwege, Urogenitaltrakt) besiedeln, ist ca. 10fach größer als die Zahl seiner Körperzellen.
- Eine relativ kleine Gruppe von Mikroorganismen ist für die Entstehung von Infektionskrankheiten verantwortlich. Sie werden als **pathogen** (krankmachend) bezeichnet. Unter **Virulenz** versteht man die unterschiedliche Angriffskraft eines pathogenen Mikroorganismus hinsichtlich seiner Vermehrung und Schädigung des Wirtes. Die hierzu notwendigen Genprodukte werden unter dem Begriff Virulenzfaktoren zusammengefasst.

- Zur Besiedlung eines Wirtes notwendige Virulenzfaktoren ermöglichen die Anheftung (**Adhäsion**) an Wirtszellen, das Eindringen in Epithelzellen (**Invasion**), die Zerstörung von Wirtszellen (Toxine) und die Manipulation und Inaktivierung des Immunsystems.
- **Toxine** sind meist Proteine und schädigen die Wirtszellen durch Lyse der Cytoplasmamembran, Manipulation zellulärer Signalübertragungswege oder Beeinflussung des Immunsystems (**Exotoxine**). Die Lipid-A-Komponente des Lipopolysaccharids gramnegativer Bakterien löst unkontrollierte Entzündungsreaktionen aus, die zum Tod führen können (**Endotoxin**).
- Pathogene Bakterien schalten die Abwehrmechanismen des Wirtes gegen Besiedlung aus indem sie Kapseln bilden, Siderophore und Eisentransportsysteme synthetisieren oder Oberflächenstrukturen variieren.
- Zu den wichtigsten viralen Krankheitserregern, die pro Jahr weltweit für Millionen von Todesfällen verantwortlich sind, gehören das **HI-Virus** und das **Hepatitis-B-Virus**.
- **Prionen** sind pathologische Formen von Proteinen in Nervenzellen, die das normale Protein in infektiöse Formen umwandeln und so Krankheiten wie BSE (beim Rind) und Creutzfeldt-Jakob (beim Menschen) auslösen.
- Bakterien der Gattung **Agrobacterium** infizieren dikotyle Pflanzen im Bereich einer Verwundung und lösen so unkontrollierte Zellteilungsaktivität aus. *A. tumefaciens* verursacht die Bildung von Wurzelhalsgallen. Die Bakterien besitzen das Ti-Plasmid, von dem ein Teil, die T-DNA, in die Pflanzenzelle übertragen wird. Die zur Erkennung der Verwundung, Anheftung an die Pflanze und den Gentransfer erforderlichen Proteine werden von den *vir*-Genen auf dem Ti-Plasmid codiert. Ein verändertes Ti-Plasmid kann zur genetischen Manipulation von Pflanzen verwendet werden.

19

Mikroorganismen im Dienste des Menschen: Biotechnologie

Mikroorganismen sind mit dem Menschen schon immer eng verbunden, sei es als Erreger von Krankheiten, als harmlose, häufig auch nützliche Kommensalen auf der Außenhaut und den Schleimhäuten oder als Symbionten im Verdauungssystem.

Sehr früh und zunächst unbewusst begann der Mensch, die Dienste von Mikroorganismen zu nutzen, um sein Überleben in klimatisch ungünstigen Regionen der Erde zu sichern.

Seit Jahrhunderten werden Lebensmittel mithilfe von Mikroorganismen verfeinert und haltbar gemacht. Bereits im Mittelalter nutzten Kräuterfrauen und Bader unbewusst Schimmelpilze und die von ihnen produzierten Antibiotika, um zu heilen. Von der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts an wurden im Zuge neuer technologischer Entwicklungen zahlreiche Organismen entdeckt und ihre StoffwechsellLeistungen beschrieben. Im 20. Jahrhundert beginnt in der Lebensmittelproduktion und in der synthetischen Industrie der großindustrielle Einsatz von kontrollierten mikrobiellen Verfahren zur Herstellung von Penicillin und anspruchsvollen chemischen Verbindungen.

In den letzten 15 Jahren hat die molekularbiologische Manipulation von Mikroorganismen die Anwendung der Biotechnologie dramatisch erweitert. Gezielte Modifikationen von Produktionsstämmen führen häufig zu besser definierten Produktgemischen und einer verbesserten anschließenden Aufarbeitung (engl. **downstream processing**).

Die Gesamtheit der technischen Anwendungen biologischer Verfahren zur Produktion bzw. Aufarbeitung von Grund- und Gebrauchskemikalien einschließlich des Trinkwassers wird unter dem Begriff **Biotechnologie** zusammengefasst. Zukünftig wird der Mensch auch vor die Aufgabe gestellt, End- und Nebenprodukte, die man bisher als Abfall verworfen hat, konsequent auf ihre mögliche biotechnische Wiederverwertung in der Stoff- und Energiewirtschaft zu prüfen, da mittelfristig die klassischen Energieressourcen, Kohle und Erdöl, erschöpft sein werden. Eine **nachhaltige Wirtschaftsplanung** verlangt, dass vermehrt erneuerbare Rohstoffquellen, z. B. aus der Land- und Forstwirtschaft, genutzt werden. Auch in diesen neuen Wirtschaftsbereichen spielen Mikroorganismen eine herausragende Rolle.

Überblick

- 19.1 Die Bakterienzelle als Produzent ... 601**
- 19.2 Technische Abläufe in der klassischen Biotechnologie ... 601**
- 19.3 Essigsäure ... 604**
 - 19.3.1 Unvollständige Oxidationen ... 604
 - 19.3.2 Stoffwechselleistungen von Essigsäurebakterien ... 604
 - 19.3.3 Biochemie der Essigsäurebildung ... 605
- 19.4 Produktion organischer Säuren durch Pilze ... 606**
 - 19.4.1 Physiologie und Biotechnologie ... 606
 - 19.4.2 Chemie der Säurebildung durch Pilze ... 608
- 19.5 Aminosäuren ... 610**
- 19.6 Stoffumwandlungen ... 610**
- 19.7 Antibiotika ... 611**
 - 19.7.1 Antibiotikabildende Mikroorganismen ... 612
 - 19.7.2 Nachweis der Synthese von Antibiotika ... 613
 - 19.7.3 Therapeutisch wichtige Antibiotika ... 614
 - 19.7.4 Mykotoxine ... 618
- 19.8 Vitamine ... 618**
- 19.9 Exopolysaccharide und Tenside ... 619**
- 19.10 Enzyme ... 620**
- 19.11 Polyhydroxyalkanoate ... 621**
- 19.12 Gentechnische Verfahren ... 622**
 - 19.12.1 Klassische Verfahren versus Gentechnik ... 622
 - 19.12.2 Produktionsstämme ... 622
 - 19.12.3 Vektoren ... 622
 - 19.12.4 Exoenzyme ... 623
 - 19.12.5 Einschlusskörper ... 632
- 19.13 Produktion von Biomasse ... 623**
- 19.14 Umwelttechnologie ... 624**
- 19.15 Metalllaugung und Renaturierung im Tagebau ... 631**
- 19.16 Energieversorgung ... 632**
- 19.17 Biosensoren ... 633**
- 19.18 Mikrobiologische Prozesskontrolle ... 634**
- 19.19 Mikrobielle Schädlingsbekämpfung ... 634**

19.1 Die Bakterienzelle als Produzent

Entsprechend der wichtigsten Funktion der Mikroorganismen in der Natur stellt man sich mikrobielle Aktivitäten in erster Linie als Abbauvorgänge vor. Als Produkte entstehen in der Regel CO_2 , H_2O , NH_3 und andere anorganische Verbindungen. Bei Gärungen können als Reaktionsprodukte Substanzen gebildet werden, die für den Menschen durchaus von Wert sind. Beispiele sind Milchsäure, Propionsäure, Ethanol, Butanol und andere Gärprodukte, die vor allem in der Lebensmittelmikrobiologie Bedeutung haben, aber auch als Konservierungsmittel, Lebensmittelzusätze oder Geschmacksbildner von Interesse sind. Diese Produkte werden als Produkte des Energiestoffwechsels simultan mit der Zellmasse gebildet. Man spricht daher von **primären Stoffwechselprodukten**, deren Produktion sich unter Umständen in geringem Ausmaß bis in die stationäre Wachstumsphase fortsetzt. Im Gegensatz hierzu werden **sekundäre Stoffwechselprodukte** vorzugsweise nach Abschluss der Wachstumsphase während der anschließenden, so genannten **Idiophase** gebildet (Abb. 19.1). Zu diesen Produkten zählen Antibiotika, aber auch viele andere pilzliche und bakterielle Sekundärmetabolite.

Während für das Wachstum von Mikroorganismen typischerweise eine ausbalancierte Diät günstig ist, die alle wesentlichen Nährstoffe in ausreichendem Maß zur Verfügung stellt, lässt sich die Produktion von Sekundärmetaboliten gezielt durch einseitige Limitierung des Stoffwechsels optimieren. Da auch für die Produktion von Sekundärmetaboliten in der Idiophase Energie erforderlich ist, sollte allerdings nicht das energieliefernde Substrat limitiert werden, sondern z. B. die Stickstoff-, Kohlenstoff-, Phosphor- oder Schwefelquelle. So kann die Bildung von Speicherfetten und Speicherpolysacchariden begünstigt werden, indem die Stickstoffquelle limitiert wird. Für viele Produktionsstämme wichtiger Sekundärmetaboliten wurden die erforderlichen Nährstoffe jedoch nicht im Detail analysiert. Aus ökonomischen Gründen verwendet man für die Anzucht dieser Stämme in großem Maßstab komplexe Nährlösungen, die auf einfachen landwirtschaftlichen Produkten oder Nebenprodukten aufbauen, wie z. B. Melasse, Sojaschrot, peptisch verdautes Fleisch- oder Sojaeiweiß (Pepton), Hefeextrakt usw. Für die Produktionsaktivität spielt gelegentlich auch die Versorgung mit Spurenelementen eine wichtige Rolle.

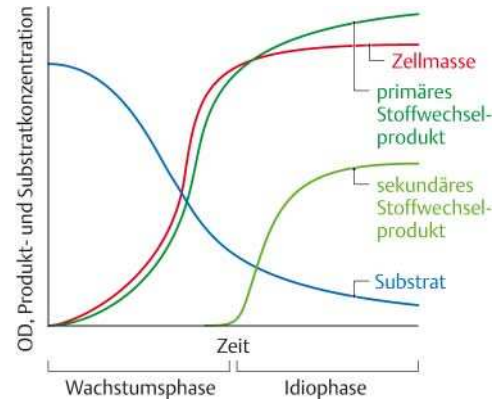


Abb. 19.1 Wachstum, Verbrauch von Substraten und Bildung von primären und sekundären Stoffwechselprodukten.

19.2 Technische Abläufe in der klassischen Biotechnologie

Die Entdeckung des Penicillins und dessen gezielte Synthese in großem Maßstab eröffnete einen neuen Zweig der klinisch-synthetischen Industrie. In der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts wurden auch die meisten Prozesse in der Lebensmitteltechnologie auf kontrollierte mikrobiologische Verfahren im industriellen Maßstab umgestellt, z. B. in der Bierbrauerei, der Weinkellerei und der Herstellung von Käse und anderen Milchprodukten. Generell erfordern in industriellem Maßstab hergestellte Lebensmittel und Medikamente den Umgang mit mikrobiologisch eindeutig definierten Produktionsstämmen, um Qualitätseinbrüche oder Produktionsausfälle zu verhindern.

Biologisch basierte Produktionsverfahren spielen heute außerdem vor allem bei der Herstellung von **strukturell anspruchsvollen chemischen Verbindungen** eine Rolle, die die synthetische Chemie nur mit großem

Aufwand und mit geringer Ausbeute herstellen kann. Eine besondere Herausforderung sind **enantiomerenreine Produkte**, z. B. Aminosäuren, da die Chemie in der Regel nur Enantiomergemische (**Racemate**) synthetisieren kann.

Die Kultivierung von Mikroorganismen im technischen Maßstab bezeichnet man als **Fermentation**, unabhängig davon, ob es sich hierbei um einen aeroben oder anaeroben Prozess handelt. Die Anzucht- bzw. Produktionsvorgänge erfolgen in druckstabilen, dampfsterilisierbaren Reaktionsgefäßen, so genannten **Fermentern**. Diese bestehen in der Regel aus Edelstahl und besitzen Arbeitsvolumina von 1–10 l (Laborfermenter; Abb. 19.2a) bis zu mehreren Kubikmetern, in Extremfällen bis zu 10^6 l (Abb. 19.2b). Je größer das Arbeitsvolumen ist, desto größer ist jedoch auch das Risiko eines massiven Materialverlusts infolge einer Kontamination mit Fremdorganismen. Es ist daher in der Biotechnologie ausschlaggebend, zuverlässige sterile bzw. mikrobiologisch strikt kontrollierte Reaktionsbedingungen zu schaffen (Plus 19.1).

Für die Anzucht von **Pilzen** ist eine Kultivierung in einer Flüssigkeit (Submersanzucht) nicht immer ohne Weiteres möglich. Manche Pilze bilden in der Nährlösung kleine Aggregate, so genannte **Pellets** von mehreren Millimetern bis Zentimetern Durchmesser. Innerhalb dieser Pellets herrschen meist sehr verschiedene Bedingungen hinsichtlich Sauerstoffversorgung, Säuregrad usw. vor. Andere Pilze können nur in so genannten **Feststofffermentern** gezüchtet werden, in denen ein pulvriges, befeuchtetes Substrat, das dem Mycelwachstum der Pilze entgegenkommt, vorsichtig in Bewegung gehalten wird.

Auch zahlreiche Bakterien tendieren dazu, statt frei suspendiert in der Flüssigkeit an Oberflächen zu wachsen und dort so genannte **Biofilme** auszubilden (Kap. 17.7). Diese Tendenz kann man sich durch ein hinreichendes Angebot von Oberflächen auf geeigneten Trägern im Reaktor gezielt zunutze machen. Man bindet die Biomasse im Reaktor und erzielt durch mehrfaches sequenzielles Beschicken des Reaktors mit frischer Nährlösung (engl. **fed batch**) oder durch kontinuierliches Beschicken mit geeigneter Substratlösung den gewünschten wachstumsunabhängigen Umsatz. Durch solche Kunstgriffe werden die Verweildauer der Substratlösung im Reaktor und die Verdopplungszeit der Mikroorganismen

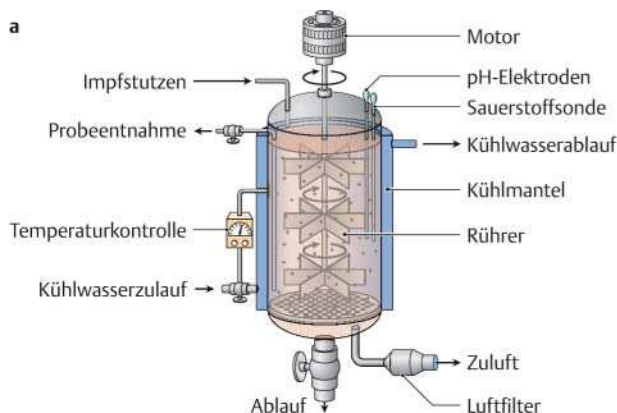


Abb. 19.2 Fermenteranlagen zur Produktion von Biomasse oder Reaktionsprodukten. **a** Schema eines Laborfermenters. **b** Große technische Fermentationsanlage, zu sehen sind nur die Deckel der Fermenter, die jeweils ein Arbeitsvolumen von 100 m³ haben (Aufnahme Fa. BASF, Ludwigshafen).

Plus 19.1 Handhabung großer Reaktionsvolumina

Während die Reaktionsgefäße durch Heißdampf bei ca. 2 atm Druck zuverlässig sterilisiert werden können, ist eine Hitze-sterilisation für die Nährlösungen nicht immer möglich. Das Aufheizen und Abkühlen größerer Volumina nimmt relativ viel Zeit in Anspruch, wodurch thermolabile Bestandteile zerstört werden können. Zur Sterilisation von Nährlösungen wird daher bevorzugt die **Sterilfiltration** über mehrschichtige, druckstabile Faserfilter, so genannte „Seitz-Filter“, vorgezogen. Für nichtfiltrierbare Nährmedien, die z. B. Melasse oder Sojaschrot enthalten, bietet sich ein elegantes Verfahren mit Wasserstoffperoxid an, das man nach hinreichend langer Einwirkungszeit durch einen Zusatz von steriler Katalaselösung inaktiviert.

Die Anzucht von Mikroorganismen im industriellen Maßstab vollzieht sich grundsätzlich über mehrere Stufen. Man beginnt mit einer Schüttelkultur von mehreren 100 ml Volumen und geht dann in mehreren Schritten um den Faktor 10–100 auf größere Volumina über (engl. **upscaling**). Natürlich muss auf jeder Ebene die Reinheit der Kultur überprüft werden, damit eine Kontamination früh festgestellt werden kann und in der letzten und teuersten Stufe keine Kontaminanten durchwachsen. In großen Volumina sind anaerobe Prozesse sehr viel leichter zu führen als aerobe. Bei hohen Zelldichten

und einem großen Arbeitsvolumen ist es eine enorme technische Herausforderung, durch **Belüftung** einen hinreichend hohen Sauerstoffpartialdruck zu gewährleisten. Für dieses Problem gibt es mittlerweile eine Reihe von Lösungen. Die erforderliche Luft wird über Zellstofffilter entkeimt und bei hohem Druck über feine Düsen in der Nährlösung verteilt. Verschiedene Rührsysteme verteilen die Luftbläschen und sichern einen möglichst langen Verbleib in der Flüssigkeit. Neben Rührblattfermentersystemen haben sich auch solche bewährt, bei denen die Nährlösung über die Radialachse zirkuliert (Umwurfsystem; sog. Schlaufenreaktor). Für die Auswahl des optimalen Mischsystems spielen neben der Frage nach einer optimalen Sauerstoffversorgung auch die in der Flüssigkeit kleinräumig auftretenden Scherkräfte eine wichtige Rolle. Pilze und **eukaryontische Zellen** sind gegenüber solchen **Scherkräften** empfindlich, suspendiert wachsende Bakterienzellen sind dagegen eher unempfindlich.

Bei größeren Arbeitsvolumina ist es auch wichtig, die **Reaktionswärme**, die vor allem beim aeroben Stoffwechsel frei wird, aus dem Reaktor abzuführen. Darüber hinaus bringen Belüftung und intensives Rühren weitere Wärmeenergie in das System ein, die abgeführt werden muss, um für die Mikroorganismen optimale Bedingungen aufrechtzuerhalten.

voneinander abgekoppelt, was insbesondere bei langsamwüchsigen Organismen von Vorteil ist. Suspensierte Bakterienzellen können durch einen Filtrationsschritt im Reaktor zurückgehalten werden, während die bearbeitete Produktlösung den Reaktor verlässt.

Die Bindung der Zellmasse an Trägermaterialien im Reaktor ist häufig erwünscht (**Fesselverfahren**). Haften die Zellen nicht von sich aus im Reaktor, werden sie vor allem in teuren Produktionsverfahren für Feinchemikalien entweder über Antikörper oder durch kovalente chemische Bindung an geeignete Trägermaterialien fixiert oder in polymere Träger (z. B. Alginat) eingebunden.

Nach Abschluss des eigentlichen Fermentationsvorgangs erfolgt die Weiterverarbeitung, das so genannte **Downstream Processing**. Hierunter versteht man die Gesamtheit der Abläufe, die von der bewachsenen Kulturbühe zum reinen Produkt führen. Die Mikroorganismen werden durch **Filtration** oder durch **Zentrifugation**, der meist eine Filtration nachgeschaltet werden muss, aus der Kulturbühe entfernt. Um zu vermeiden, dass die Zellen auf der Filteroberfläche verkleben, bedient man sich der Tangentialfiltration. Bei diesem Verfahren wird die bewachsene Kulturbühe tangential über die Filteroberfläche geführt und so kontinuierlich eingedickt.

Ist die Zellmasse abgetrennt, werden die gewünschten Reaktionsprodukte nach den Methoden der präparativen organischen Chemie gewonnen. Hierzu zählen organische Extraktion, Destillation, Wasserdampfdestillation, Sorption an geeignete Trägermaterialien, z. B. Kunsthharze, sowie zahlreiche Chromatographieverfahren, die schließlich zu hoch reinen Produkten führen. In manchen Fällen setzt man statt ganzer Zellen auch isolierte Enzyme für gezielte Umsetzungen ein (Plus 19.2).

Plus 19.2 Zellfreie Reaktionssysteme

In der Biotechnologie werden nicht nur ganze Zellen von Bakterien oder Pilzen, sondern häufig auch angereicherte oder reine **Enzyme** für spezifische Umsatzreaktionen herangezogen. Es versteht sich von selbst, dass auch bei diesen Verfahren strikt steril gearbeitet werden muss, um einen vorzeitigen Abbau der Substrate und Produkte durch proteolytische Bakterien zu verhindern. Gerade in der Enzymtechnologie werden die Enzyme häufig an Träger angebunden, wozu man sich geeigneter chemischer **Linker** bedient, die eine kovalente Bindung an eine Trägermatrix, z. B. Silicagel, Hydroxylapatit, Cellulose, Dextran, Alginat, Carageenan, Polyacrylamid, Polyvinylalkohol oder Methacrylat herstellen. Alternativ werden gelöste Enzyme in separate Reaktionsräume eingeschlossen, die durch Ultrafiltrationsmembranen vor Enzymverlusten und dem Eintrag von Mikroorganismen geschützt sind (**Membranreaktor**). Schließlich bietet sich sowohl für ganze Mikrobzellen als auch für isolierte Enzyme der

Einschluss in Polymerkügelchen an. Diese bestehen zu meist aus Agarose, Dextran oder Alginat, die die Organismen und Enzyme schützen, einen hinreichenden Austausch mit der Substratlösung erlauben und zugleich im Reaktionssystem zurückgehalten werden können. Für die **kovalente Bindung** von Enzymen an Trägersysteme werden vor allem spezifische Reaktionen mit den Aminosäureseitenketten der Proteine genutzt, z. B. mit der ϵ -Aminogruppe des Lysins oder den Carboxylgruppen der Seitenketten von Glutamat oder Aspartat. Die aromatischen Aminosäuren können über Azokupplungen gebunden werden. Einige Enzyme werden auch in lipophile Reaktionsräume eingeschlossen. Dies gilt vor allem für Lipasen und andere Esterasen, die dann in einem wasserfreien Medium die übliche Richtung der Hydrolysereaktion umkehren und z. B. Esterbindungen herstellen können (Kap. 10.5.3).

Plus 19.3 Typen von Essigsäurebildnern

Ob ein Bakterium zur Gruppe der Peroxidierer (*peroxydans*) gehört und Acetat nur vorübergehend anhäuft oder ein Mitglied der *suboxydans*-Gruppe ist, Acetat also nicht weiteroxidiert, kann man in einfachen Experimenten zeigen. Auf einem milchig-trüben Kreideagar (Nährboden mit Ethanol, Hefeextrakt und Calciumcarbonat) löst sich das Calciumcarbonat während des Koloniewachstums durch ausgeschiedene Säure auf (Hofbildung). Während bei **Suboxidanten** der klare Hof erhalten bleibt, setzt bei **Peroxi-danten** durch Weiteroxidation des Acetats und anschließendes Ausfallen des Calciumcarbonats erneute Trübung ein. Zu den Peroxidierern zählen *Acetobacter aceti* und *A. pasteurianus*. *Gluconobacter oxydans* ist der Prototyp der Suboxidierer. Zwischen beiden gibt es alle Übergänge. *Acetobacter aceti* ssp. *xylinus* oxidiert Acetat nur sehr langsam.

19.3 Essigsäure

19.3.1 Unvollständige Oxidationen

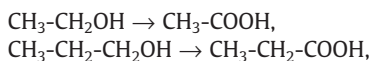
Zahlreiche aerobe Mikroorganismen produzieren beim Abbau komplexer organischer Verbindungen neben CO_2 auch einfache organische Verbindungen. Man bezeichnet solche Stoffwechselleistungen als **unvollständige Oxidationen** (Kap. 10.8). Die klassischen anaeroben Gärungen und ihre Anwendungen werden in Kapitel 12 vorgestellt.

Den aeroben Essigsäurebakterien ist die Fähigkeit gemeinsam, aus Zuckern oder Alkoholen durch unvollständige Oxidation Säuren zu bilden, die vorübergehend oder als unverwertbare Endprodukte in die Nährlösung ausgeschieden werden. Zu den Essigsäurebakterien zählen gramnegative Stäbchen, die entweder mit peritrich (*Acetobacter*) oder polar (*Gluconobacter*) inserierten Geißeln schwach beweglich sind. Sie sind den Pseudomonaden ähnlich, unterscheiden sich jedoch von ihnen durch hohe Säuretoleranz, geringe peptolytische Aktivität, geringere Beweglichkeit und fehlende Farbpigmente. Die natürlichen Standorte der Essigsäurebakterien sind Pflanzen. Wo zuckerreiche Säfte frei werden, sind Essigsäurebakterien mit Hefen vergesellschaftet. Die meisten Essigsäurebakterien beanspruchen komplexe Nährböden.

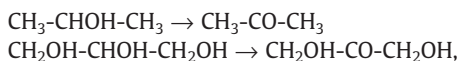
Je nachdem, ob das entstehende Acetat weiterverwertet wird, unterscheidet man peroxidierende und suboxidierende Typen von Bakterien (Plus 19.3).

19.3.2 Stoffwechselleistungen von Essigsäurebakterien

Essigsäurebakterien oxidieren primäre Alkohole zu den entsprechenden Fettsäuren, z. B.



sekundäre Alkohole zu Ketonen, z. B.



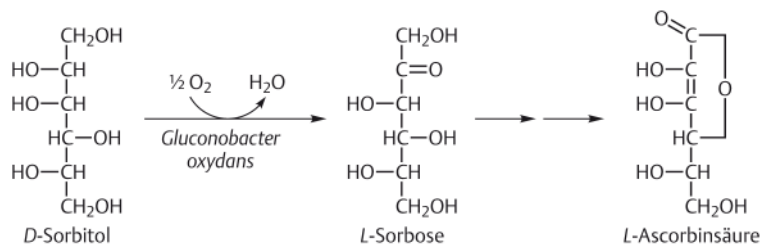


Abb. 19.3 Oxidation von Sorbitol zu Sorbose durch *Gluconobacter oxydans*.

und Aldehyde, Aldosen und Ketosen zu den entsprechenden Säuren, z. B.

Glycolaldehyd $\rightarrow$ Glycolat,
L-Xylose $\rightarrow$ *L*-Xylonat,
D-Glucose $\rightarrow$ *D*-Gluconat.

Zuckeralkohole werden zu Aldosen und Ketosen oxidiert, z. B. Sorbitol zu Sorbose (Abb. 19.3). Diese Oxidation hat als Teilreaktion des präparativen Weges von Glucose zu Ascorbinsäure große technische Bedeutung erlangt. Zunächst wird *D*-Sorbitol durch elektrochemische Reduktion von *D*-Glucose gewonnen. Durch *Gluconobacter oxydans* werden anschließend Lösungen mit bis zu 30% Sorbitol mit einer Ausbeute von 90% zu Sorbose umgesetzt, die als Vorstufe für die Produktion von Ascorbinsäure dient (Kap. 19.8). Wie Sorbitol werden auch Glycerin, Tetrit, Pentit, Hexit und Heptit oxidiert (z. B. *D*-Mannit $\rightarrow$ *D*-Fructose).

D-Gluconat wird zu Ketogluconaten oxidiert. Die Stämme der Essigsäurebakterien unterscheiden sich in der Eigenschaft, entweder 2- oder 5-Ketogluconat zu bilden. *Gluconobacter oxydans* ssp. *melanogenes* produziert über 2-Ketogluconat das 2,5-Diketogluconat. Diese Säure, die bei einem pH-Wert von 4,5 instabil ist, ist für die Braunschwarzfärbung der Kolonien von *G. oxydans* ssp. *melanogenes* (Name!) auf Glucoseagar verantwortlich.

19.3.3 Biochemie der Essigsäurebildung

Acetobacter und *Gluconobacter* besitzen Alkohol-, Glucose- und andere Polyol-Dehydrogenasen, die als prosthetische Gruppe **Pyrrolochinolin-Chinon (PQQ)** (Abb. 10.24, s.S. 310) enthalten. Diese Enzyme sind an der Außenseite der Cytoplasmamembran lokalisiert und katalysieren die Oxidation von Ethanol, Glycerin oder Glucose zu den entsprechenden Säuren (Essigsäure, Glycerinsäure, Gluconsäure). Die dabei freigesetzten Elektronen werden auf der Stufe des Cytochrom *c* in die Elektronentransportkette eingeschleust und Protonen nach außen in den periplasmatischen Raum abgegeben. PQQ gelangt auch in das Nährmedium und in den Speiseessig. Der gesteigerte Appetit von Schwangeren auf essighaltige Nahrungsmittel wird mit einem vermehrten Bedarf an PQQ für den Aufbau der Plazenta in Verbindung gebracht.

Die Gewinnung von Essig aus Wein bzw. Ethanol ist vorwiegend eine Frage der Belüftung. Die technischen Verfahren zielen durchweg darauf ab, die Bakterien und die zu oxidierende Flüssigkeit in intensiven Kontakt mit Luftsauerstoff zu bringen. Dem Prinzip nach sind drei Verfahren zu unterscheiden: das Oberflächen- oder Deckenverfahren, das Fesselverfahren und das Submersverfahren (Plus 19.4).

Plus 19.4 Technologie der Essigproduktion

Das **Oberflächenverfahren** ist eine uralte Methode und wurde als **Orleans-Verfahren** standardisiert. Wird Wein in flachen Schalen aufgestellt und sorgen Fruchtfliegen (*Drosophila*) für Beimpfung, bildet sich auf der Oberfläche eine zusammenhängende Haut, eine Decke, die auch als **Essigmutter** oder *Mycoderma aceti* bezeichnet wird. Diese besteht aus Zellen von *Acetobacter xylinus*, die durch Cellulosefibrillen zusammengehalten (immobilisiert) werden. Der Säuerungsprozess ist sehr langsam. Das Verfahren wird auch im Haushalt zur Herstellung von Teekwass angewendet. Unter den **Fesselverfahren** werden die Verfahren zusammengefasst, bei denen die Bakterien an ein Trägermaterial gebunden (gefesselt) sind, wie z.B. an Weintrester und Traubenstiele in häufig belüfteten und bewegten Fässern. Beim Schnellessigverfahren wird die alkoholhaltige Flüssigkeit wiederholt durch Standbehälter geleitet, die mit Buchenholzspänen gefüllt sind. Die „Bakteriensäule“ wird von unten belüftet. Das Verfahren hat den Vorteil, dass der produzierte Speiseessig kaum noch einer Filterung bedarf, da die Bakterien immobilisiert sind. Trotzdem werden zunehmend **Submersverfahren** in Fermentern eingesetzt, die starke Belüftung und Wärmeabführung ermöglichen.

19.4 Produktion organischer Säuren durch Pilze

Mehrere organische Säuren werden im industriellen Maßstab durch Pilze produziert. Die Vorteile der Verwendung von Pilzen zur Herstellung von Citronensäure, Itaconsäure, Gluconsäure, Äpfelsäure und anderen Säuren wurden schon früh erkannt. So lassen sich die Pilze z. B. leicht über preisgünstige Filtrationen von der Flüssigkeit abtrennen, während zur Abtrennung von Bakterien leistungsfähige Zentrifugen und ein hoher Energieaufwand nötig sind.

19.4.1 Physiologie und Biotechnologie

Der Pilzstoffwechsel ist streng oxidativ. Das bedeutet nicht, dass Pilze Kohlenhydrate nicht anaerob abbauen und vergären könnten (Hefegärung!). Unter anaeroben Bedingungen erfolgt jedoch kein anhaltendes Wachstum und als Gärprodukte entstehen fast ausschließlich Ethanol oder Milchsäure. Andere organische Säuren werden nur unter aeroben Bedingungen sezerniert. Am natürlichen Standort der Pilze, im Boden, werden Intermediärprodukte kaum ausgeschieden.

Bei Nahrungsmangel gewinnen Pilze durch vollständige Oxidation und Assimilation des Substrats ein Maximum an Energie und Zellsubstanz. Dass im Labor und in der industriellen Praxis zahlreiche Stoffwechselprodukte ausgeschieden werden, ist auf das Überangebot an Kohlenhydraten und eine häufig durch Entzug von Spurenelementen verstärkte Desorganisation des Stoffwechsels zurückzuführen. Pilze verfügen über ein „starkes glykolytisches System“, d. h. bei genügendem Substratangebot läuft die Glykolyse mit hoher Rate ab, auch wenn die Zwischenprodukte dann oft nicht vollständig oxidiert sondern ausgeschieden werden. Letztlich sind die meisten „oxidativen Gärungen“ auf eine Fehlregulation des Stoffwechsels zurückzuführen. An den Engpässen des Intermediärstoffwechsels stauen sich Intermediärprodukte, die entweder direkt oder nach geringfügiger Veränderung ausgeschieden werden. In vielen Fällen genügt es, ein essenzielles Spurenelement nicht zur Verfügung zu stellen, um einen Pilz zur Anreicherung von Intermediärprodukten im Medium zu veranlassen. Eine bemerkenswerte Wirkung hat dabei ein Mangel an Zink, Eisen, Mangan, Kupfer sowie Magnesium, Kalium und Calcium.

Milchsäure wird hauptsächlich von *Mucorales* (*Rhizopus nodosus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. nigricans*) und anderen Phycomyceten (*Allomyces*, *Saprolegnia*, *Blastocladiella*) ausgeschieden. Bei diesen Organismen ist Milchsäure jedoch nie das einzige Stoffwechselprodukt, wie bei den homofermentativen Milchsäurebakterien. Neben Milchsäure entstehen geringe Mengen Fumarsäure, Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Ameisensäure, Essigsäure und Ethanol. Eine maximale Ausbeute an Milchsäure erhält man nur in Gegenwart von Sauerstoff. Da Pilze keine komplexe Nährlösung benötigen und mit Harnstoff als Stickstoffquelle auskommen, bereitet die Abtrennung der Milchsäure in besonders reiner Form weniger Schwierigkeiten als bei der Milchsäuregärung durch *Lactobacilli*.

Die **Fumarsäure**produktion ist eine typische Eigenschaft mehrerer Gattungen der *Mucorales* (*Mucor*, *Cunninghamella*, *Circinella*, *Rhizopus*).

Gluconsäure wird von vielen *Aspergilli* und *Penicillia* gebildet. Die Produktion beruht auf der enzymatischen Oxidation von Glucose durch eine von den Pilzen ins Medium ausgeschiedene Glucoseoxidase. *Aspergillus niger* kann dabei selbst in 30–35%igen Glucoselösungen mit hoher Ausbeute Gluconsäure produzieren, wenn die Säure durch Calciumcarbonat neutralisiert wird. Glucoseoxidase ist ein Enzym, das FAD als prostheti-

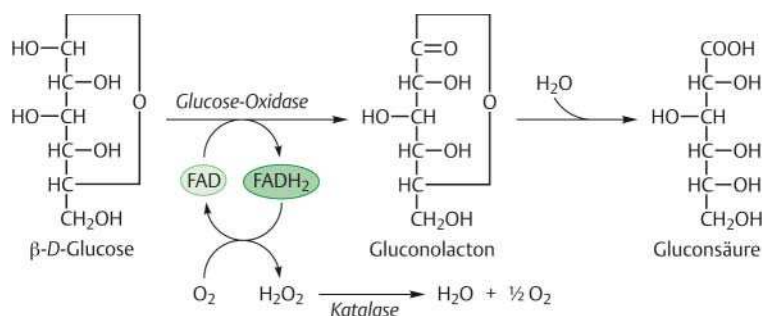


Abb. 19.4 Oxidative Umsetzung von Glucose zu Gluconolacton durch *Aspergillus niger*. Das entstehende Gluconolacton wird zu Gluconsäure hydrolysiert.

sche Gruppe enthält. Bei der Oxidation von Glucose entsteht als primäres Oxidationsprodukt β -D-Glucono- δ -lacton, das spontan oder durch ein weiteres Enzym, Gluconolactonase, zu Gluconsäure hydrolysiert wird. Die reduzierte Glucoseoxidase überträgt die Elektronen auf den Luftsauerstoff und es entsteht Wasserstoffperoxid, das durch Katalase in Wasser und Sauerstoff gespalten werden kann (Abb. 19.4).

Oxalsäure wird von vielen Pilzen ausgeschieden. Ihre Produktion wird in schwach alkalischer Nährlösung gefördert.

Itaconsäure wird von nur wenigen Stämmen von *Aspergillus itaconicus* und *A. terreus* gebildet. Auch die Produktion von Itaconsäure verläuft bei pH-Werten um 2.

Synthese von Citronensäure

Die Synthese von Citronensäure durch Pilze wurde wegen der praktischen und ökonomischen Aspekte schon zu einem relativ frühen Zeitpunkt der biotechnologischen Entwicklung intensiv bearbeitet. Nachdem C. Wehmer die Citronensäure 1893 in Kulturen von *Penicillia* (*Citromyces pfefferianus*) entdeckt hatte, legte J. Currie (1917) die Grundlage zur industriellen Erzeugung der Säure. Er entdeckte, dass *Aspergillus niger* in Nährlösungen mit Anfangs-pH-Werten von 2,5–3,5 üppig gedeiht und dabei große Mengen Citronensäure ausscheidet. Mit steigendem pH-Wert entstehen Gluconsäure und schließlich Oxalsäure. Der niedrige Anfangs-pH-Wert hat den Vorteil, dass Verunreinigungen mit Bakterien kaum zu befürchten sind. Die Ausbeute kann durch Optimierung der Nährlösung verbessert werden. Auch hat sich das Verfahren der industriellen Produktion von Citronensäure über die Jahre verändert (Plus 19.5)

Optimierung der Ausbeute an Citronensäure

Die Citronensäureproduktion durch *Aspergillus niger* ist stark von den Komponenten der Nährlösung abhängig. Dies wird deutlich, wenn man alle Bedingungen konstant hält und nur jeweils eine Komponente mengenmäßig variiert. Für exakte Untersuchungen setzt man einer einfachen Nährlösung mit Glucose, die durch Aluminiumhydroxidfällung spurenelementfrei gemacht worden ist, einzelne Komponenten in bekannten Konzentrationen zu. Diese definierte Nährlösung wird beimpft und neun Tage lang unter Schütteln inkubiert. Bestimmt man dann die Myzelmasse, den Restzucker und die Citronensäure, so ergeben sich eine Reihe von Beziehungen (Abb. 19.5):

Plus 19.5 Industrielle Produktion von Citronensäure

Viele Jahre lang wurde die industrielle Produktion ohne Einhaltung steriler Bedingungen im Deckenverfahren in Pfannen betrieben. In Gärkammern aufgestellte Aluminiumtröge ($2 \times 2,5 \times 0,153 \text{ m}^3$) werden 8 cm hoch mit Melasselösung gefüllt, beimpft und 9–11 Tage bei 30 °C gehalten. Die Ausbeute ist hoch. Nach Ablassen der Nährlösung kann die Pilzdecke erneut mit frischer Lösung unterschichtet werden. Aus der umgesetzten Lösung wird Citronensäure mit Calciumcarbonat gefällt, umkristallisiert und mit Schwefelsäure freigesetzt. In den industrialisierten Ländern werden zur Citronensäureproduktion heute ausschließlich Submersverfahren angewendet. Fermenter mit 300 000–400 000 l Volumen werden kontaminationsfrei betrieben. Statt Melasse werden Rohrzucker oder Stärkehydrolysate eingesetzt.

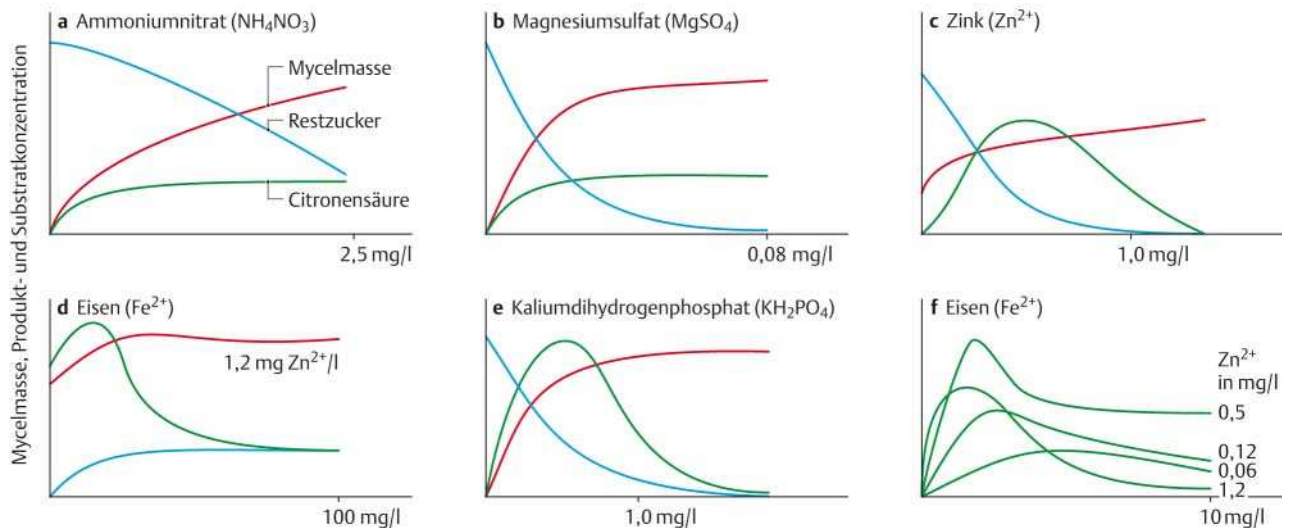


Abb. 19.5 Abhängigkeit der Mycelmasse von *Aspergillus niger* und der Menge der gebildeten Citronensäure von der Zusammensetzung der Nährlösung. Eine von Spurenelementen befreite Glucoselösung wird mit zunehmenden Konzentrationen von Salzen angereichert und mit dem Pilz *Aspergillus niger* angeimpft. Nach neuntägigem Wachstum werden Mycelmasse (rot) und die Konzentrationen von Citronensäure (grün) bzw. des Restzuckers (blau) bestimmt. Die Ausgangsnährlösung enthielt: 140 g/l Glucose; 1,05 g/l Stickstoff; 2,5 g/l KH_2PO_4 ; 0,5 g/l $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 0,01 g/l Eisen; 0,0025 g/l Zink; pH = 3,8 (aus Shu et al., 1948).

1. Ammoniumnitrat und Magnesiumsulfat haben keinen spezifischen Einfluß auf die Citronensäureausbeute; diese Salze kontrollieren lediglich das Myzelwachstum.
2. Für die Abhängigkeit der Ausbeute von der Konzentration an Zink, Eisen und Phosphor sind Optimumkurven typisch. Ermöglichen diese Elemente nur suboptimales Wachstum, kommt es zu einer erhöhten Ausbeute an Säure. Bei noch geringeren Konzentrationen begrenzt das Myzelwachstum auch die Säureproduktion.
3. Besonders hohe Erträge lassen sich erzielen, wenn beide Komponenten, Eisen und Zink, in begrenzenden Mengen vorhanden sind. Eine ausgesprochene Hemmwirkung hat Mangan; 3 $\mu\text{g Mn}^{2+}/\text{l}$ Nährlösung genügen, um die Ausbeute zu verringern (mit einer gereinigten käuflichen Glucose werden bereits 10 $\mu\text{g Mn}^{2+}/140 \text{ g Glucose}$ in 1 Liter Nährlösung eingebracht!).

Die durch Eisenmangel verstärkte Ausscheidung von Citronensäure beruht wahrscheinlich darauf, dass Eisen ein Cofaktor der Aconitase ist. Kupfer wirkt bei Aconitase als Antagonist des Eisens und eignet sich daher für einen weiteren Kunstgriff zur Erhöhung der Ausbeute an Citronensäure: Auch in Gegenwart geringer Mengen an Eisen-Ionen in der Melasselösung (10 mg/l) werden maximale Ausbeuten erzielt, wenn man der Lösung einen Überschuss an Kupfer-Ionen (150 mg/l) zusetzt.

19.4.2 Chemie der Säurebildung durch Pilze

Die Säuren, die von den Pilzen während der Glucoseumsetzung ausgeschieden werden, werden im Citratzyklus gebildet. Die Intermediate Malat, Fumarat, Succinat und Citrat werden wahrscheinlich direkt ins Medium abgegeben (Abb. 19.6).

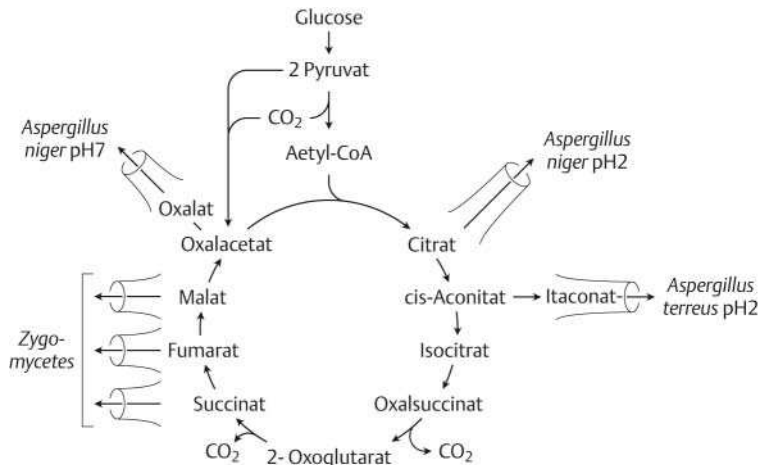
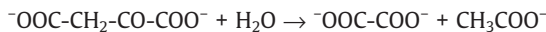


Abb. 19.6 Produktion organischer Säuren durch Pilze.

Oxalat entsteht durch Hydrolyse von Oxalacetat durch Oxalacetat-hydrolase:



Die **Itaconatbildung** geht von cis-Aconitat aus. Während der Decarboxylierung werden Elektronen im Kohlenstoffskelett verschoben, wodurch die Doppelbindung von der 2,3- in die 3,4-Stellung verlagert wird (Abb. 19.7).

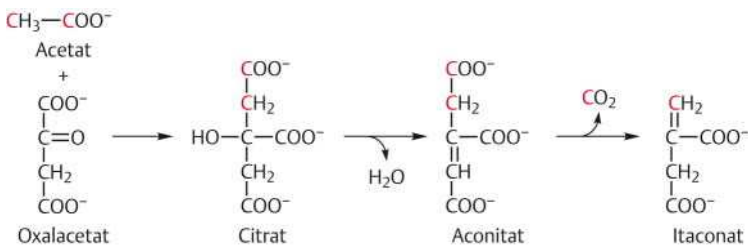


Abb. 19.7 Produktion von Itaconat durch *Aspergillus terreus*.

Der Citratzyklus hat seine Rolle in erster Linie im Abbau. Man kann ihn jedoch auch als zentralen Verteiler sehen, der die Vorstufen für eine große Anzahl von Zellbausteinen zur Verfügung stellt. Werden dem Zyklus an einer Stelle Intermediärprodukte entzogen, muss Oxalacetat durch anaplerotische Reaktionen ergänzt werden (Abb. 7.26, S. 225).

Würde **Citrat** ausschließlich aus Acetyl-CoA synthetisiert, würde 1 mol Glucose lediglich 2/3 mol Citronensäure ergeben, aus 100 g Glucose könnten also nur 71 g Citronensäure gebildet werden. Gelegentlich werden jedoch Ausbeuten von 75–87 g Citronensäure erzielt. Untersuchungen haben ergeben, dass dabei große Mengen Kohlendioxid fixiert werden, indem Pyruvat zu Oxalacetat carboxyliert wird: Zugewetztes $^{14}\text{CO}_2$ findet sich im C₆-Atom der Citronensäure wieder. Die Umsetzung von Glucose zu Citrat ist in Abbildung 19.8 dargestellt.

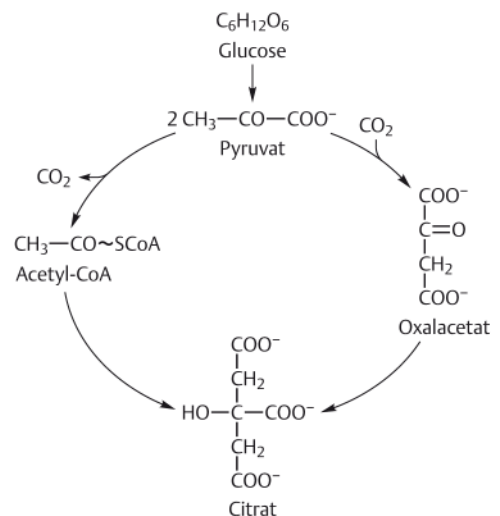


Abb. 19.8 Produktion von Citrat aus Glucose durch *Aspergillus niger*.

Box 19.1 Von der Entdeckung zum Prozess: Glutaminsäure

Das *L*-Glutaminsäure ausscheidende Bakterium *C. glutamicum* wurde mit einer einfachen Screening-Methode, der Bioautografie, isoliert. Eine große Anzahl von Bodenbakterien wurde durch Stempelübertragung (Abb. 15.21, S. 482) auf verschiedene Nährböden überimpft, inkubiert und dann durch UV-Bestrahlung abgetötet. Die Platten wurden mit einem Basalmmedium, das einen glutaminsäurebedürftigen Bakterienstamm enthielt, überschichtet. Nach einer weiteren Inkubation zeigte das Wachstum dieses Indikatorbakteriums an, welche Kolonien der Bodenbakterien während der ersten Inkubation Glutaminsäure ausgeschieden hatten. *L*-Glutaminsäure wird nur unter aeroben Bedingungen gebildet. Bei Ansätzen in 50 m³ fassenden Fermentern und einer Nährlösung, die Harnstoff als Stickstoffquelle und 10 % Glucose enthält, werden in 40 Stunden bei 30 °C etwa 50 g *L*-Glutamat pro Liter angehäuft. Das entspricht einer Ausbeute von 0,6 mol Glutamat pro Mol Glucose.

19.5

Aminosäuren

Mit der Entdeckung von *Corynebacterium glutamicum* durch Kinoshita (1957) wurde eine neue Epoche der Entwicklung industriell anwendbarer unvollständiger Oxidationsprozesse eingeleitet (Box 19.1).

Der Glucoseabbau verläuft offenbar über die Glykolyse und anschließend über Citrat und 2-Oxoglutarat zum *L*-Glutamat (Abb. 19.9). An der Bereitstellung von Oxalacetat ist, wie bei der Citratbildung durch *Aspergillus niger*, die Carboxylierung von Pyruvat beteiligt. Der Nährlösung beigefügtes ¹⁴CO₂ findet man nahezu ausschließlich in der α -Carboxylgruppe der freigesetzten Glutaminsäure wieder. Die Ausscheidung von Glutaminsäure beruht offenbar auf einem Anstau von 2-Oxoglutarat infolge eines natürlichen Defektes der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase. Das 2-Oxoglutarat wird durch die Glutamatsynthetase mit Glutamin zu zwei Molekülen Glutamat umgesetzt. Das Glutamat wird nur zum Teil ausgeschieden. Der andere Teil wird bei Anwesenheit von Ammonium zu Glutamin umgesetzt, das wieder in den Kreislauf einfließt (Kap. 8.4.1). In Abwesenheit von Ammonium wird 2-Oxoglutarat ausgeschieden. Zur industriellen Produktion von Glutamat wird anstelle von Glucose auch Acetat als Substrat eingesetzt.

Zur Produktion anderer Aminosäuren lassen sich auxotrophe Mutanten von *Corynebacterium glutamicum* heranziehen. Homoserinbedürftige Mutanten scheiden unter geeigneten Bedingungen 20 g **L-Lysin**/l Nährlösung aus. Andere Mutanten von *C. glutamicum*, *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonadaceae* produzieren **L-Homoserin**, **L-Valin**, **L-Isoleucin**, **L-Tryptophan**, **L-Tyrosin** und andere Aminosäuren. In Japan wurden weitere Verfahren zur Herstellung von Inosinsäure und Guanylsäure ausgearbeitet. Diese 5'-Nukleotide dienen als Gewürze und Geschmacksverbesserer.

19.6

Stoffumwandlungen

Mikroorganismen führen an einer Fülle von Substanzen in höchst spezifischer Weise Oxidationen, Hydrierungen, Hydrolysen, Veresterungen, Kondensationen, Methylierungen, Decarboxylierungen, Wasserabspaltungen, Desaminierungen, Aminierungen und viele andere Reaktionen durch. Diese biologischen Umwandlungen (**Biokonversionen**, **Biotransformation**) verlaufen fast immer stereospezifisch. Zu diesen Reaktionen sind sowohl Actinomyceten und andere Bakterien als auch niedere und höhere Pilze befähigt.

Besonders aufsehenerregende Erfolge erzielte die mikrobielle Synthese von Steroiden. Die chemische Synthese von Cortison und Hydrocortison umfasst über 30 Syntheseschritte und verläuft mit schlechter Ausbeute. Mithilfe von Mikroorganismen wird Cortison jedoch in 13 Schritten zugänglich. Einer der schwierigsten Syntheseschritte ist die Einführung einer Hydroxylgruppe am C₁₁-Atom des Steroidgerüsts. Sie wird durch niedere Pilze (*Rhizopus arrhizus*, *Curvularia lunata*, *Cunninghamella blakesleeana*) und *Streptomyces fradiae* bewerkstelligt. Ein klassisches Beispiel für eine spezifische Hydroxylierung ist die Umwandlung von 11-Desoxycortisol (Reichsteins Verbindung S) zu Hydrocortison (Abb. 19.10).

Neben dieser Hydroxylierung bewältigen viele Pilze mit stereospezifischen Oxygenasen Hydroxylierungen an fast allen Stellen des Steroidmoleküls. Andere mikrobielle Enzymwirkungen betreffen Dehydrogenierung alkoholischer Hydroxylgruppen, Einführung von Doppelbindungen, Reduktionen von Keto- und Oxogruppen usw.

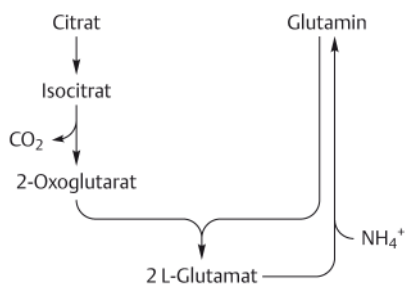


Abb. 19.9 Produktion von *L*-Glutamat durch *Corynebacterium glutamicum*.

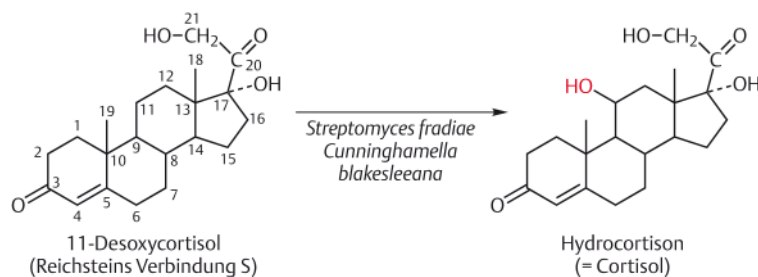


Abb. 19.10 Hydroxylierung von 11-Desoxycortisol zu Hydrocortison.

Ein Beispiel für eine **Additionsreaktion** ist die Synthese von Phenylacetylcarbinol, das ein wichtiges Zwischenprodukt der Synthese des Asthma- und Hypotonietherapeutikums **Ephedrin** ist. Einer gärenden Hefekultur zugesetzter Benzaldehyd wird, analog der Acetoinbildung durch Hefe, acyliert, indem aktiver Acetaldehyd auf Benzaldehyd übertragen wird (Abb. 19.11). Die an die Synthese des Phenylacetylcarbinols anschließenden Vorgänge sind chemische Umsetzungen.

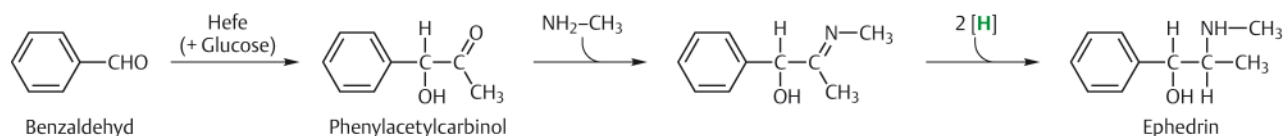


Abb. 19.11 Synthese von Phenylacetylcarbinol durch Hefen als Vorstufe der Ephedrinsynthese.

Ein Beispiel für die gezielte **enzymatische Spaltung** einer Substanz mit Hilfe von Mikroorganismen ist die Herstellung von 6-Aminopenicillansäure. Einige Bakterien und Pilze, die spezifische *Acylasen* enthalten, spalten natürliche Penicilline unter Bildung von 6-Aminopenicillansäure (Abb. 19.12), die wiederum Ausgangssubstanz für die Herstellung halbsynthetischer Penicilline ist.

19.7 Antibiotika

Antibiotika sind Substanzen biologischer Herkunft, die schon in geringen Konzentrationen das Wachstum von Mikroorganismen hemmen. Man unterscheidet zwischen lediglich hemmend wirkenden (Bakteriostatika, Fungistatika) und abtötenden Stoffen (Bakterizide, Fungizide). Bakterien und Pilze produzieren eine Fülle von Stoffen, die gemeinsam mit den sekundären Pflanzenstoffen als **Sekundärmetabolite** bezeichnet werden. Viele dieser Stoffe spielen z. B. als Therapeutika und Futtermittelzusätze eine große Rolle. Als Produzenten sekundärer Metabolite haben die Mikroorganismen große wirtschaftliche Bedeutung erlangt.

Symbiotische und antagonistische Beziehungen zwischen Mikroorganismen sind schon seit dem 19. Jahrhundert bekannt. Den Anstoß zur Aufklärung des Prinzips einer Antibiose gab A. Fleming 1928. Er beobachtete, dass eine Pilzkolonie von *Penicillium notatum* das Wachstum von Staphylokokken hemmen konnte. Die von *Penicillium* ausgeschiedene, durch den Agar diffundierende Verbindung wurde Penicillin genannt. Seither sind zahlreiche antibiotisch wirkende Stoffe isoliert worden.

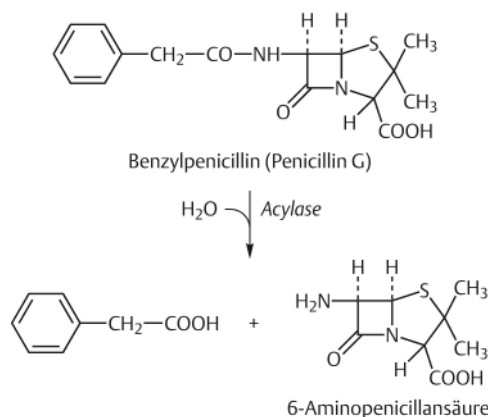


Abb. 19.12 Hydrolyse von Penicillin G zu 6-Aminopenicillansäure durch eine spezifische Acylase.

Tab. 19.1 Verbrauch von Antibiotika in Europa im Jahr 1997.

Einsatzgebiet	Menge in t	Anteil in %
Veterinärmedizin (Therapie, Pro- und Metaphylaxe) davon entfallen auf:	3 494	33
– Tetracycline	2 294	66
– Makrolide	424	12
– β -Lactame	322	9
– Aminoglykoside	154	4
– Fluorchinolone	43	1
– Sonstige	182	6
Antibiotische Futter- zusatzstoffe	1 599	15
Humanmedizin	5 400	52
Gesamt	10 493	100

Noch lassen sich keine Grenzen der Neuauffindung, Modifikation und Applikation sekundärer Metabolite von Mikroorganismen erkennen. Dabei geht es heute nicht mehr ausschließlich um echte Antibiotika, d. h. Substanzen, die das Wachstum von pathogenen Mikroorganismen beeinträchtigen, sondern vermehrt auch um andere pharmakologisch wirksame Substanzen, wie z. B. Cytostatika.

Einen Eindruck von der wirtschaftlichen Bedeutung der Antibiotika vermittelt Tabelle 19.1.

19.7.1 Antibiotikabildende Mikroorganismen

Zur Bildung von Antibiotika sind hauptsächlich Pilze aus der Gruppe der *Aspergillales*, Actinomyceten und einige andere Bakterien befähigt. Bezüglich der chemischen Vielfalt der produzierten Verbindungen stehen die Streptomyceten an erster Stelle. Bisher sind insgesamt über 10 000 antibiotische Wirkungen beschrieben und über 2000 Antibiotika eingehend charakterisiert worden, jedoch werden nur etwa 50 Antibiotika chemotherapeutisch eingesetzt.

Die Frage, welche Bedeutung die Antibiotika für die sie produzierenden Organismen an ihrem **Standort im Boden** haben, ist völlig ungeklärt. Antibiotika werden auf speziellen Synthesewegen produziert, die man dem Sekundärmetabolismus zuordnet. Es handelt sich um Stoffwechselwege und Enzyme, die zum Wachstum und zur Erhaltung der Zellen nicht primär nötig sind. Der zur Synthese der Antibiotika notwendige genetische Apparat stellt also nach heutigem Verständnis eine Last für den Organismus dar. Geht man davon aus, dass immer nur Sinnvolles Bestand hat, müssen also auch Antibiotika Verbindungen sein, die den Produzenten einen Wachstumsvorteil einräumen, z. B. bei der Konkurrenz um das Substrat. Solche antagonistischen Beziehungen sind im Boden jedoch schwer nachzuweisen, da die Produktion quantitativ sehr gering ist.

Allmählich wird jedoch anerkannt, dass während der Evolution anscheinend unnützes genetisches Material offenbar nicht unbedingt ausgesiebt wird, auch wenn es – unter den bisher geprüften experimentellen Bedingungen – einen Ballast bedeutet. Die Natur ist wahrscheinlich konservativer, als in der Frühzeit der molekularbiologischen Ära angenommen wurde.

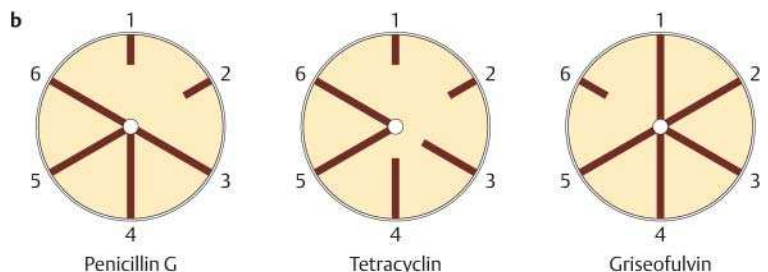


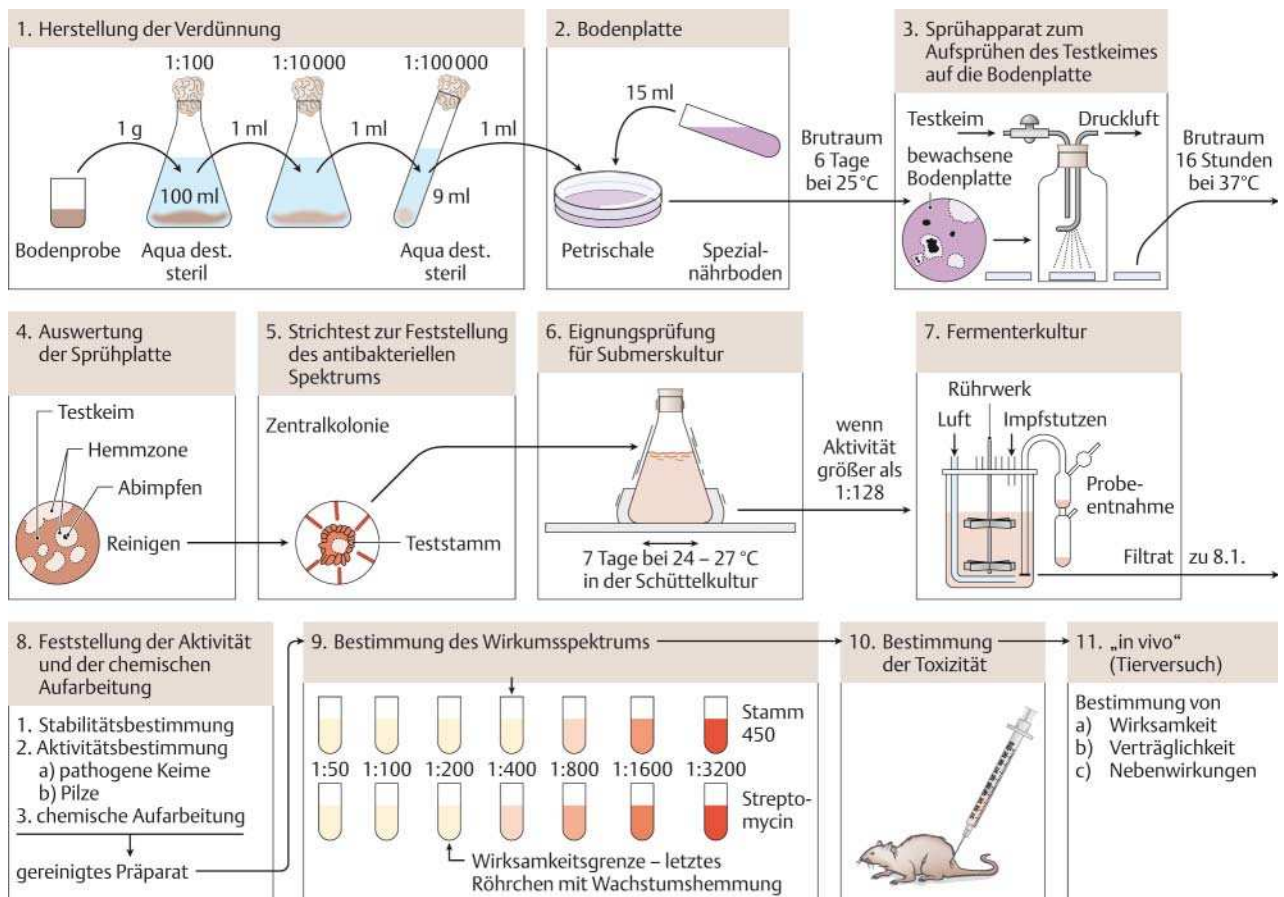
Abb. 19.13 Nachweis von Antibiotika. **a** Qualitativer Nachweis der Ausscheidung von Antibiotika mit verschiedenen Antibiotika produzierenden Streptomyceten-Stämmen. Als Indikatorstamm wurde *Bacillus subtilis* in den Agar eingegossen (Aufnahme Thomas Härtner und Wolfgang Wohlleben, Tübingen). **b** Strichtest zur Erfassung der Wirkungsspektren von drei Antibiotika. Indikatororganismen sind (1) *Staphylococcus aureus*, (2) *Streptococcus sp.*, (3) *Escherichia coli*, (4) *Pseudomonas aeruginosa*, (5) *Candida albicans* (Hefe), (6) *Trichophyton rubrum*. Auf der Mitte der Petrischale wird ein Filterpapierscheibchen aufgelegt, das mit 10 μ g des zu überprüfenden Antibiotikums getränkt ist. Abhängig vom Antibiotikum sind im Diffusionshof verschiedene Organismen nicht gewachsen.

19.7.2 Nachweis der Synthese von Antibiotika

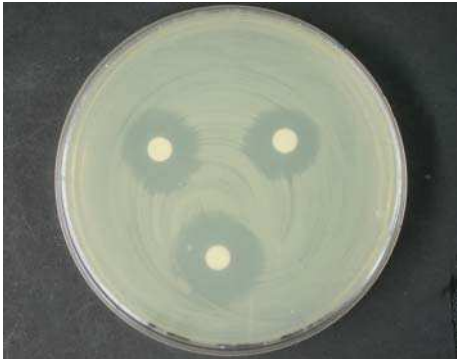
Die ersten Antibiotika sind zufällig entdeckt worden. Auf einer Nähragarplatte, die mit einem Indikatorbakterium dicht beimpft worden war, blieb in der Umgebung einer Pilz- oder Streptomycetenkolonie das Wachstum der Indikatorbakterien aus. Ursache des Hemmhofes war das aus der Pilzkolonie in den Agar diffundierende Antibiotikum (Abb. 19.13a, vgl. auch Box 19.2). Heutzutage dienen repräsentative Mikroorganismen als Indikatorbakterien. Sie werden strichförmig vom Mittelpunkt einer Agarplatte zum Rand hin ausgestrichen (Strichtest). Das Zentrum der Platte wird entweder mit dem auf Antibiotikaproduktion zu prüfenden Bakterienstamm beimpft oder es wird ein Filterscheibchen aufgelegt, das mit dem Antibiotikum getränkt wurde (Abb. 19.13b). Nach Inkubation lassen sich aufgrund des Ausmaßes der Wachstumshemmung der Indikatororganismen Aussagen über das Wirkungsspektrum des Antibiotikums machen. Die Antibiotika unterscheiden sich bezüglich ihrer Wirkung auf grampositive und gramnegative Bakterien, Hefen, Dermatophyten und andere Mikroorganismen in charakteristischer Weise.

Die meisten Antibiotika wurden im Zuge eines Screening-Programms entdeckt. Die von der Aufschwemmung einer Bodenprobe bis zum Tierversuch zu durchlaufenden Stadien eines solchen Programms sind in Abbildung 19.14 wiedergegeben.

Abb. 19.14 Arbeitsgänge eines Screening-Programms für Antibiotika.



Box 19.2 Quantitative Bestimmung eines Antibiotikums



Plattendiffusionstest zur quantitativen Bestimmung eines Antibiotikums mit *E. coli* K 12 als Indikatorstamm. Die auf die beimpfte Agaroberfläche aufgelegten Filterpapierscheiben enthalten verschiedene Mengen des Antibiotikums. Der Durchmesser der Hemmzone ist ein Maß für die Konzentration des Antibiotikums (Aufnahmen Thomas Härtner und Wolfgang Wohlleben, Tübingen).

Zur quantitativen Prüfung der Wirkung eines Antibiotikums bedient man sich des Plattendiffusionstests (Abb.), des Verdünnungsreihentests und verschiedener anderer Methoden. Zur Durchführung des Plattendiffusionstests werden die Schalen mit einem mit der Testkeimsuspension versetzten Nähragar bis zu einer bestimmten Höhe gefüllt. Auf diese Platten werden die Testlösungen aufgebracht, indem sie entweder in ausgestanzte Löcher (Lochplattentest), in aufgesetzte Glas- oder Metallzylinder (Zylinderplattenmethode) oder auf Filterpapierscheiben auf dem Agar aufgelegt werden. Bei positiver Reaktion ist nach Bebrütung eine Hemmzone sichtbar, deren Durchmesser dem Logarithmus der Konzentration des Antibiotikums proportional ist. Wichtig ist, dass konstante Versuchsbedingungen, wie Nährbodenzusammensetzung, Schichtdicke, Einsaatdichte, Bebrütungszeit und -temperatur usw. eingehalten werden (Abb.).

Im **Verdünnungsreihentest** wird das Antibiotikum in einer mit dem Testkeim beimpften Nährlösung in Verdünnungsstufen 1:2 verdünnt und nach Bebrütung die Konzentration ermittelt, bei der gerade kein Wachstum erfolgt ist (minimale bakterio-statische Konzentration).

Um synergistische und antagonistische Wirkungen verschiedener Substanzen zu erfassen sowie die Wirksamkeit gegenüber anderen Organismen, wie Protozoen, Nematoden, Algen, Zellgewebe oder Viren, zu prüfen, sind Spezialverfahren entwickelt worden.

19.7.3 Therapeutisch wichtige Antibiotika

Die industrielle Produktion von Antibiotika ist inzwischen zu ungeahnter Effizienz gesteigert worden. Einige der chemotherapeutisch angewandten Antibiotika werden im Folgenden kurz vorgestellt.

Penicillin

Den ersten Platz nimmt noch immer das von *Penicillium notatum*, *P. chrysogenum* und einigen anderen Pilzen produzierte Antibiotikum **Penicillin** ein.

Ein Grund für die herausragende Bedeutung des Penicillins ist, dass sich durch die Spaltung des Moleküls und die Substitution von Seitenketten der dabei entstehenden 6-Aminopenicillansäure halbsynthetische Penicilline, wie z. B. Ampicillin, herstellen lassen. Durch Umsetzung der 6-Aminopenicillansäure mit Säurechloriden lassen sich Hunderte von Penicillinen zusammensetzen (Abb. 19.15), die zum Teil unterschiedliche Wirkungsspektren besitzen, also gegen verschiedene Erreger einsetzbar sind. Viele Bakterien produzieren Penicillinase und machen das Penicillin durch Spaltung des β -Lactamrings unwirksam. Etliche der halbsynthetischen Penicilline werden aber durch Penicillinase nicht gespalten und können aufgrund ihrer Säurestabilität auch oral verabreicht werden. Allen Penicillinen ist jedoch die Wirkung auf die Zellwandsynthese von Bakterien gemeinsam (Kap. 8.7.5). Für den Menschen ist der Wirkstoff beinahe ungiftig und führt nur bei einem geringen Prozentsatz der Behandelten zu allergischen Beschwerden.

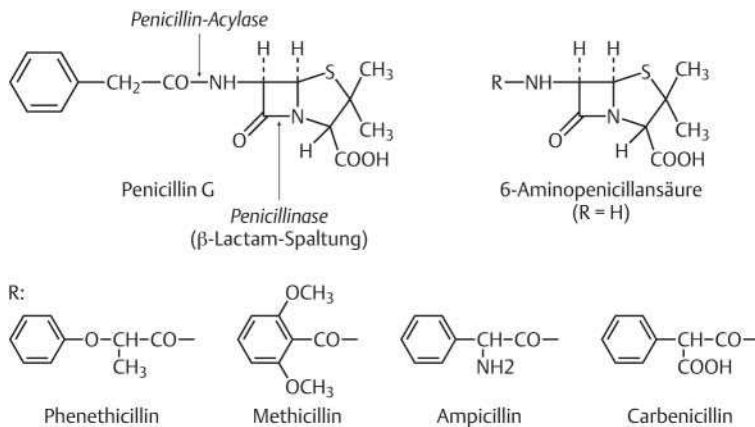


Abb. 19.15 Angriffspunkte der bakteriellen Enzyme **Penicillinase** und **Penicillin-Acylase** an **Penicillin G**. Durch Umsetzung der 6-Aminopenicillansäure (Substitution von R) mit den Säurechloriden der unten aufgezeichneten Säurereste lassen sich die halbsynthetischen Penicilline Phenethicillin, Methicillin, Ampicillin und Carbenicillin gewinnen.

Cephalosporine

Cephalosporine werden durch eine Art des Pilzes *Cephalosporium* ausgeschieden. Cephalosporin C besitzt einen β -Lactamring und ähnelt dem Penicillin (Abb. 19.16). Durch Abspaltung der Seitenkette und Substitution der 7-Aminocephalosporansäure mit anderen Seitenketten lassen sich halbsynthetische Cephalosporine herstellen (Cephalothin, Cephaloridin), die in ihrer Wirkung den Penicillinderivaten ähnlich sind, aber wesentlich seltener zu Resistenz führen. Wie Penicillin wirken Cephalosporine auf die Zellwandsynthese verschiedener Bakterien.

Streptomycin

Dieses Antibiotikum wurde aus der Nährlösung von *Streptomyces griseus* isoliert und wird auch von anderen *Streptomyces*-Arten produziert. Es besteht aus drei Einheiten: N-Methyl-L-2-glucosamin, einer Methylpentose und einem Inositolderivat mit zwei Guanidinresten (Abb. 19.16). Streptomycin verdankt seinen Anwendungserfolg der Wirkung auf eine Reihe säurefester und gramnegativer Bakterien, die vom Penicillin nicht erfasst werden. Allergische Nebenreaktionen beim Menschen sind allerdings stark ausgeprägt. Streptomycin wird auch in der Tiermedizin und zur Bekämpfung von Pflanzenkrankheiten eingesetzt. Streptomycin inhibiert die Knüpfung der Peptidbindung bei der Translation.

Chloramphenicol

Chloramphenicol (Chloromycetin) wurde zuerst in Kulturen von *Streptomyces venezuelae* gefunden, ist jedoch auch synthetisch zugänglich (Abb. 19.16). Es ist außerordentlich stabil, wirkt gegen viele gramnegative Bakterien, aber auch gegen Spirochaeten, Rickettsien, Actinomyceten und große Viren. Chloramphenicol inhibiert die Knüpfung der Peptidbindung bei der Translation.

Tetracycline

Diese Antibiotika werden von verschiedenen Streptomyceten (darunter *Streptomyces aureofaciens*) ausgeschieden. Die verschiedenen Tetracycline sind chemisch sehr nahe miteinander verwandt und leiten sich vom Naphthacengerüst ab (Abb. 19.16). Die bekanntesten sind Chlortetracyclin

(Aureomycin), Oxytetracyclin (Terramycin) und Tetracyclin. Sie zeichnen sich durch ein breites Wirkungsspektrum und gute Verträglichkeit aus. Tetrazykline wirken auf die ribosomale Proteinbiosynthese, indem sie die Anlagerung der Aminoacyl-tRNA an die Akzeptorstellen der 30S-Untereinheit der Ribosomen verhindern.

Makrolide

Zu den Makroliden rechnet man Antibiotika verschiedener Herkunft mit verhältnismäßig hoher Molekülmasse, die durch einen makrozyklischen Lactonring charakterisiert sind. Zu dieser Gruppe gehören z. B. Erythromycin, Carbomycin A, Picromycin, Actinomycin u. a. Durch die Interaktion mit dem Enzym Translocase hemmen Makrolidantibiotika ebenfalls die Proteinbiosynthese verschiedener Bakterien.

Actinomycin

Actinomycin wurde 1940 als erstes Streptomyceten-Antibiotikum isoliert. Es handelt sich um ein Gemisch aus mehreren Substanzen, denen ein Phenoxazonchromophor gemeinsam ist. Dieser ist mit verschiedenen Polypeptidketten substituiert (Abb. 19.16).

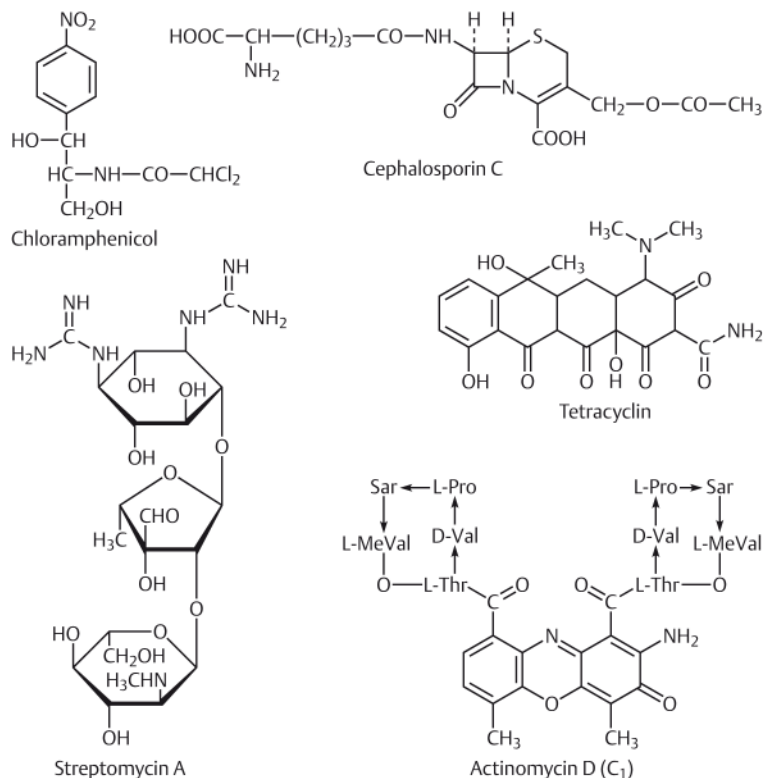


Abb. 19.16 Strukturformeln verschiedener Antibiotika. L-Thr, L-Threonin; D-Val, D-Valin; L-Pro, L-Prolin; Sar, Sarcosin; L-MeVal, N-Methyl-L-Valin.

Polypeptidantibiotika

Auch die Polypeptidantibiotika, wie Gramicidin 5, Polymyxin, Bacitracin, Ristocetin u. a., bilden eine Gruppe. Polymyxin B besteht aus einem Ring von sieben Aminosäuren mit peptidisch verknüpfter Seitenkette (Abb. 19.17). Die Polypeptidantibiotika haben eine hohe Affinität zur Cytoplasmamembran. Sie sind daher für Bakterien und Eukaryonten gleichermaßen toxisch und werden klinisch nicht angewendet. Aufgrund ihrer Eigenschaft, selektiv Ionen durch die Membran zu transportieren, werden sie in der Forschung als **Ionophoren** eingesetzt. **Valinomycin** erleichtert beispielsweise den Transport von Kaliumionen durch die Membran. Es besteht aus einem zwölfgliedrigen Ring, der so beschaffen ist, dass das Kaliumion gerade in den Innenraum des Moleküls passt. Der Valinomycin-K⁺-Komplex ist an seiner Außenseite lipophil und wird dadurch leicht durch die Lipidschicht der Membran transportiert. Der Zusatz von Valinomycin zu einer Zellsuspension führt daher zur Verarmung der Zellen an Kaliumionen. Die technische Produktion von Antibiotika geschieht heute durch Hochleistungsstämme (Plus 19.6).

Einige einzellig wachsende Bakterien bilden Proteine, die verwandte Arten oder Stämme abtöten oder in ihrem Wachstum hemmen können. Solche so genannten **Bacteriocine** sind aus *Escherichia coli* (Colicine), *Pseudomonas aeruginosa* (Pyocine), *Bacillus megaterium* (Megacine) und anderen Bakterien isoliert worden. Sie besitzen Molekulargewichte in der Größenordnung von 50–80 kDa, im Gegensatz zu den niedermolekularen „klassischen“ Antibiotika. Ihre Synthese wird auf Plasmiden codiert.

Unter dem Begriff **Lantibiotika** fasst man eine Gruppe von ribosomal synthetisierten, polyzyklischen Peptidantibiotika zusammen, die als charakteristische Bausteine die ungewöhnlichen Thioetheraminosäuren meso-Lanthionin und 3-Methyl-Lanthionin enthalten. Außerdem findet man seltene ungesättigte Aminosäuren, wie 2,3-Didehydroalanin, 2,3-Didehydrobutyrin und (2S, 9S)-Lysinoalanin (Abb. 19.18). Lantibiotika bestehen aus Ketten von 19–34 Aminosäureresten. Sie werden durchweg von grampositiven Bakterien synthetisiert. Beispiele sind **Nisin** von *Streptococcus lactis*, Subtilin von *Bacillus subtilis*, Epidermin von *Staphylococcus epidermidis* und Gallidermin von *Staphylococcus gallinarum*. Nisin wird in der Nahrungsmittelkonservierung eingesetzt, Epidermin gegen Akne und Ekzeme.

Plus 19.6 Optimierung der Antibiotikaproduktion

In der pharmazeutischen Industrie werden zur großtechnischen Herstellung der Antibiotika heute nicht mehr die ursprünglichen Stämme, sondern durchweg leistungsfähigere Mutanten verwendet. Flemings Schimmelpilz produzierte etwa 3 mg Penicillin pro Liter Flüssigkultur. Die heute eingesetzten Stämme synthetisieren mindestens das 2000fache. Diese Ausbeutesteigerung geht auf Mutation und Selektion von aktiveren Stämmen, Verbesserung der Nährböden und die Erforschung der optimalen Produktionsbedingungen zurück. Nachdem die Biosynthesewege für viele Antibiotika aufgeklärt worden sind, steigert man nun die Ausbeuten durch gezielte Mutation und abgestimmte Selektion von Mutanten. In einigen Fällen hat es sich bewährt, den Mikroorganismen spezifische Bausteine für die Synthese von Antibiotika anzubieten. Das Ergebnis sind neue Substanzen mit verändertem Wirkungsspektrum, besserer Verträglichkeit oder höherer Stabilität gegenüber dem bakteriellen Abbau.

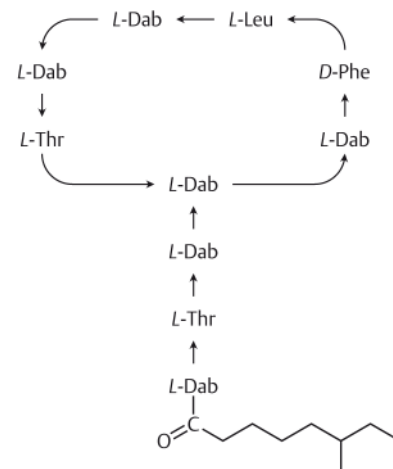


Abb. 19.17 Polymyxin B. L-Dab, 2,4-Diaminobuttersäure; L-Leu, L-Leucin; D-Phe, D-Phenylalanin; L-Thr, L-Threonin; Die aliphatische Seitenkette ist die 6-Methyloctansäure.

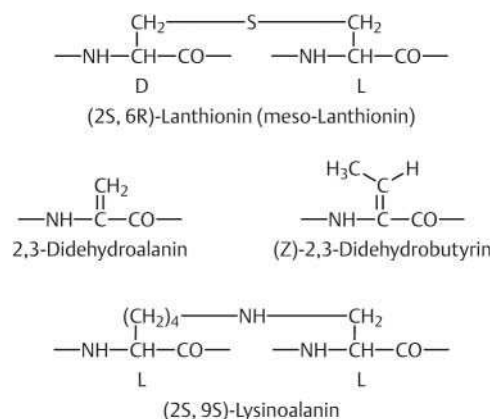


Abb. 19.18 Ungewöhnliche Aminosäurebausteine in Lantibiotika.

19.7.4 Mykotoxine

Die Mykotoxine sind sekundäre Metabolite von Pilzen, die auf Menschen und Tiere toxisch wirken. Ein Mykotoxinproduzent ist beispielsweise *Claviceps purpurea*, der Mutterkornpilz (Kap. 3.8.1). Die von ihm gebildeten **Alkaloide**, Derivate der Lysergsäure (Ergotamin, Ergotoxin) spielen bei der Therapie von Gefäßkrankheiten, Migräne und als Halluzinogene eine beträchtliche Rolle. Wenn auch der überwiegende Anteil des Mutterkorns (*Secale cornutum*) heute noch durch künstliche Infektion von Roggenpflanzen mit *C. purpurea* erzeugt wird, so beginnt die Submerskultur anderer Stämme, darunter *C. paspali*, doch ökonomisch interessant zu werden.

Viele Pilze, darunter die augenfälligen Hutpilze und die Myxomyceten, sind Produzenten hochwirksamer Gifte und teilweise chemisch noch nicht untersuchter organischer Verbindungen, von denen wahrscheinlich viele eine interessante Wirkung haben. Dazu gehören auch die Toxine der giftigen Formen unter den Basidiomyceten, wie *Amanita phalloides* (Knollenblätterpilz, Amanitatoxin), *A. pantherina* (Pantherpilz), *A. muscaria* und *Inocybe patouillardii* (Pilzatropin und Muscarin). Mykotoxine, z. B. Aflatoxin, machen immer wieder durch Vergiftung von unsachgemäß gelagerten Futtermitteln Schlagzeilen. Aflatoxine sind Derivate des Cumarins und werden von manchen Stämmen von *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. oryzae* und anderen Pilzen gebildet. Sie können in allen verpilzten Lebensmitteln (Erdnüsse, Getreide, Ölfrüchte, Futtermittel) enthalten sein und haben kanzerogene Eigenschaften (Abb. 19.19).

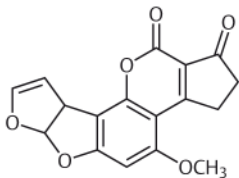


Abb. 19.19 Struktur von Aflatoxin B₁.

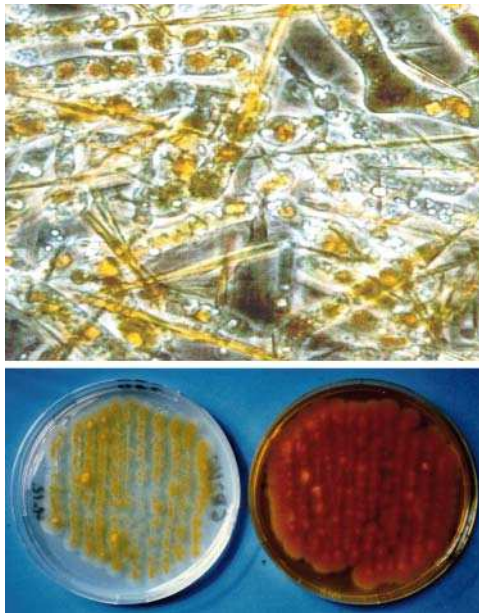


Abb. 19.20 Der Ascomycet *Ashbya gossypii* und Vitamin B₁₂. **a** *Ashbya-gossypii*-Zellen, die das kristalline Vitamin B₁₂ enthalten. **b** Ausstriche des Wildtyps von *Ashbya gossypii* (links) und des Produktionsstammes (rechts, Aufnahmen Hauer, BASF, Ludwigshafen).

19.8 Vitamine

Vitamine werden Lebensmitteln und Futtermitteln heute routinemäßig zugesetzt und daher in großen Mengen produziert. Auch wenn viele Vitamine chemisch-synthetisch hergestellt werden, ist die Produktion von Riboflavin, Vitamin B₁₂ und Vitamin C (Ascorbinsäure) mithilfe von Mikroorganismen vorteilhaft.

Riboflavin (**Vitamin B₂**) wird von Ascomyceten (*Ashbya gossypii* und *Eremothecium ashbyii*) ausgeschieden, aber auch von Hefen (*Candida*) und Bakterien (*Clostridium*) in Grammmengen pro Liter abgegeben. Dieser mikrobielle Syntheseprozess hat die chemische Synthese von Riboflavin inzwischen weitgehend vom Markt verdrängt (Abb. 19.20).

Vitamin B₁₂ wird ausschließlich von Mikroorganismen synthetisiert. Es ist für Tiere essenziell. Sie müssen das Vitamin mit der Nahrung oder als Präparat zu sich nehmen. Das von den Darmbakterien, wie *E. coli*, im Darm produzierte Vitamin kann von Tieren dort in freier Form nicht resorbiert werden. Ein Verhalten, das die im Darminhalt verborgenen Vitamine dem Wirt über den Magen und den Zwölffingerdarm zugänglich macht, ist bei Nagetieren verbreitet. Nager fressen ihren eigenen Kot und machen sich auf diese Weise dessen Inhaltsstoffe zunutze (**Koprophagie**). Zur industriellen Produktion von Vitamin B₁₂ eignen sich Bakterien, in deren Stoffwechsel Corrinnoide (Verbindungen mit einem Corrinring, wie z.B. Vitamin B₁₂) eine entscheidende Rolle spielen: Dazu gehören u.a. Propionibakterien, Clostridien und Streptomyceten.

Carotinoide werden als Futtermittelzusätze verwendet und verleihen dem Eigelb eine gelbe Farbe. Sie lassen sich aus dem Mycel von Zygomyceten (*Blakesleea trispora* und *Choanephora circinans*) isolieren. Die chemische Synthese macht aber der mikrobiellen Produktion Konkurrenz.

Auf die Einschaltung eines Schrittes der Biokonversion, der Oxidation von *D*-Sorbitol zu *L*-Sorbose, in die Synthese von **Vitamin C** wurde schon eingegangen (Kap. 19.3). Inzwischen ist es gelungen, gentechnisch veränderte *Erwinia*-Stämme (*E. herbicola*, *E. citrea*) zu entwickeln, die die Umwandlung von Glucose in 2-Keto-*L*-Gulonsäure in der Zelle vollziehen. Aus dieser lässt sich die Ascorbinsäure durch säurekatalysierte Dehydrierung gewinnen.

Die zur Anzucht von Bakterien, Hefen und anderen Pilzen üblichen Verfahren werden zunehmend auch auf die **Produktion tierischer und pflanzlicher Zellen** angewendet. Für das Wachstum von Pflanzenzellen in synthetischer Nährlösung sind Verfahren ausgearbeitet worden, die es erlauben, diese Zellen in mehrere 1000 Liter fassenden Fermentern wachsen zu lassen. Unter diesen Bedingungen bilden die Pflanzenzellen Enzyme und sekundäre Metabolite in Konzentrationen, die um das Zehn- oder Hundertfache höher liegen als in den intakten Pflanzen. Überraschenderweise werden dabei auch Substanzen angehäuft, die *in vivo* nicht oder nur in geringen Mengen gebildet werden. Es ist daher zu erwarten, dass es in Zukunft möglich sein wird, auch mithilfe von Pflanzenzellen Alkaloide, Glykoside, Steroide, organische Säuren und andere sekundäre Metabolite zu produzieren.

19.9 Exopolysaccharide und Tenside

Zur Erhöhung der Viskosität von Flüssigkeiten, als Dickungsmittel, verwendet man seit langem pflanzliche Polysaccharide. An deren Stelle sind mittlerweile mehrere bakterielle Exopolysaccharide (Kap. 5.7) getreten (Tab. 19.2). Als Zusätze für Speiseeis, Puddings, Cremes und für hydrophile Überzüge zur Feuchthaltung von Wurzeln verwendet man **Alginate**. Die aus Meeressalgen hergestellten Polysaccharide werden jedoch zunehmend von Produkten verdrängt, die mithilfe von *Azotobacter* oder *Pseudomonas* erzeugt werden. Vielseitige Anwendung haben die von *Xanthomonas campestris*, einem pflanzenpathogenen Bakterium, gebil-

Tab. 19.2 Mikrobiell produzierte Exopolysaccharide und ihre Verwendung.

Produkt	Mikrobielle Herkunft	Verwendung
Dextran (α -1,6-Glucan)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Acetobacter</i> , Streptokokken	Blutplasmaersatzmittel; Adsorbentien in der biochemischen Industrie
Alginat (1,4-glykosidisch verknüpfte Mannuron- und Guluronsäuren)	<i>Azotobacter vinelandii</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	Speiseeis, Instantpudding, Creme; Appretur für Textilien und Papier; hydrophiler Über- zug für Pflanzenwurzeln, Wunden und Christbäume
Xanthan mit Trisaccharidseitenketten substituierte Cellulose)	<i>Xanthomonas campestris</i>	Zusatz zu Getränken und Schmelzkäse; Schlagcreme, Instantpudding, Emulsions- stabilisator
Pullulan (β -1,6-glykosidisch verknüpfte Maltotriose- gruppen)	<i>Aureobasidium</i> (syn. <i>Pullularia</i> , <i>Dematium</i>) <i>pullulans</i>	Überzüge für Lebensmittel
Curdlan (β -1,3-Glucan)	<i>Alcaligenes faecalis</i> var. <i>myxogenes</i>	Geliermittel für Puddings; wird im Darm nicht abgebaut, daher kalorienarm

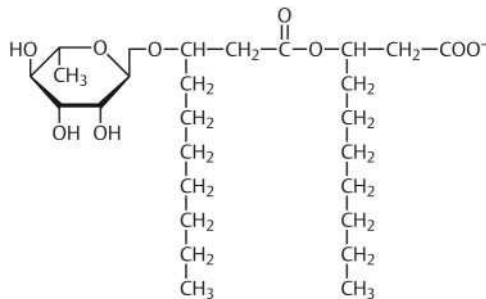


Abb. 19.21 Rhamnolipid, produziert von *Pseudomonas aeruginosa*.

deten Schleime, die **Xanthane**, gefunden. Sie bestehen aus β -1,4-glykosidisch verknüpften Ketten von Glucose, wie Cellulose, welche Trisaccharidseitenketten tragen. Die Xanthane werden als Dichtungsmittel in der Lebensmittelherstellung und der kosmetischen Industrie, als Emulgierzusätze für Binderfarben und Druckerschwärze und sogar als Zusätze zum Flutungswasser in Erdöllagerstätten verwendet. Zur Bereitung von Puddings und kalorienarmen Suppen bieten sich die **Curdlane** an, die im menschlichen Darm nicht abgebaut werden. **Dextran** wird als Blutplasmaersatzmittel und als Grundlage für die als Sephadex bekannten Adsorbentien verwendet.

Für spezifische Anwendungen wird hochreine **Cellulose** benötigt, die man aus Pflanzen bzw. aus Holz nicht in hinreichender Qualität gewinnen kann. Als Alternative bietet sich die bakterielle Produktion durch aerobe Essigsäurebakterien oder Enterobakterien, wie *Salmonella typhimurium* nach geeigneter genetischer Modifikation, an.

Manche Bakterien bilden in Gegenwart von lipophilen Substraten, z. B. Kohlenwasserstoffen, extrazelluläre Detergenzien (**Biotenside**). Während *Pseudomonas aeruginosa* Rhamnolipide bildet (Abb. 19.21), produzieren *Bacillus*-Stämme zyklische Oligopeptide, die eine langkettige Fettsäure als lipophilen Rest enthalten, z. B. Surfactin oder Lichenysin.

19.10 Enzyme

Das zur Herstellung von Hartkäse gebräuchliche Labferment Rennin wurde früher durch Extraktion von Kälbermägen gewonnen. Die bei der Lederherstellung benötigten Proteasen isolierte man aus pulverisiertem Hundekot. Heutzutage erleichtern mikrobielle Methoden den Zugang zu solchen Enzymen. Außerdem haben diese Verfahren das Angebot an Enzymen, die biotechnologisch anwendbar sind, dramatisch erweitert (Tab. 19.3). An die Stelle des zur Gerinnung der Milch gebräuchlichen Labferments aus Kälbermägen ist ein Rennin getreten, das von *Mucor rouxii* und anderen Pilzen natürlich ausgeschieden wird.

Auch in der Alkoholproduktion spielen industriell gewonnene Enzyme eine große Rolle. Musste man Getreide zur Verzuckerung von Stärke zunächst keimen lassen, bevor die Hefe den Zucker vergären konnte, setzt man der Stärke nun Amylasen zu, die aus Pilzen gewonnen werden. Um aus Stärke Fructose zu erzeugen, die eine höhere Süßkraft als Saccharose oder Glucose besitzt, setzt man die Stärke mit α -Amylase und Glucoamylase zu Glucose und diese anschließend mit Glucose-Isomerase und hoher Ausbeute zu Fructose um. Zur Verzuckerung der Stärke eignet sich auch Pullulanase, die α -1,4- und α -1,6-glykosidische Bindungen spaltet. Verschiedene Präparate solcher Enzyme, dabei auch relativ thermotolerante, werden aus *Bacilli*, Clostridien, Streptomyceten und Lactobakterien isoliert. Proteasen und Lipasen werden als Zusätze zu Waschmitteln verwendet. Man ist auch bestrebt, mithilfe mikrobiell hergestellter Cellulasen aus *Trichoderma viride* oder *Penicillium* preisgünstige Cellulose aus Holz und Stroh zu verzuckern und diese damit für die Ethanolproduktion zu erschließen. Durch Pilze produzierte Phytase erschließt in der Tiermast die in den pflanzlichen Phosphorspeichern, wie dem nicht von Tieren abbaubaren **Phytat** (myo-Inositolhexakisphosphat), eingelagerten Phosphatvorräte mit hoher Effizienz.

Die bisher aufgeführten Enzyme sind **Exoenzyme**. Sie werden von den Mikroorganismen ausgeschieden und aus der Kulturbrohe isoliert. Zu den aus zellulären Systemen, vorwiegend Bakterien, isolierten Enzymen ge-

Tab. 19.3 Mikrobiell produzierte Enzyme und ihre Verwendung.

Enzym und katalysierte Reaktion	Mikrobielle Herkunft	Verwendung
Rennin (Gerinnung des Milchcaseins)	<i>Mucor rouxii</i>	Herstellung von Hütten- und Hartkäsen
Invertase Hydrolyse von Saccharose	<i>Aspergillus oryzae</i> , Hefen und andere Pilze	Herstellung von Invertzucker für Süßwaren
Proteasen Hydrolyse von Protein	<i>Bacillus subtilis</i> und andere Bakterien; auch Pilze	Waschmittelzusätze, Gerberei
Pectinolytische Enzyme Hydrolyse von Pectin	Pilze und <i>Erwinia</i>	Klärung von Fruchtsäften
Lipase Hydrolyse von Lipiden	Pilze und <i>Pseudomonas</i>	Waschmittelzusätze, Gerberei
Glucoseoxidase Oxidation zu Gluconat	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Gluconobacter oxidans</i>	Herstellung von Gluconsäure
Hexose-Isomerase Isomerisierung von Fructose	<i>Streptomyces</i>	Herstellung von Fructose aus Glucose
Amylase Hydrolyse von Stärke	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Aspergillus</i> sp., andere Pilze	Herstellung von Glucosesirup, Entfernen der Appreturstärke
Pullulanase Hydrolyse von Stärke	<i>Bacillus</i>	Spaltung von α -1,4- und α -1,6-Bindungen
Cellulasen Hydrolyse von Cellulose	<i>Trichoderma viride</i> , <i>Penicillium</i>	Gewinnung von Glucose aus Cellulose

hören Endonukleasen und andere in der Klonierungstechnik verwendete Enzyme.

Wichtig für industriell anwendbare Enzyme ist auch, dass sie an Cellulose, Agarose, Alginate oder Glaskugeln gebunden oder in Kapseln eingeschlossen werden können, um sie zu fixieren oder zu stabilisieren.

19.11 Polyhydroxyalkanoate

Bei Stickstoff- oder Phosphatmangel produzieren viele Bakterien Poly- β -hydroxybuttersäure (PHB) als intrazellulären Speicherstoff (Kap. 5.10.2). PHB ist, wie Polypropylen und Polyethylen, thermoplastisch verformbar, lässt sich zu Folien, Fasern und Hohlkörpern, wie z. B. Flaschen und Bechern, verarbeiten und ist mikrobiell abbaubar. PHB wird von einigen Bakterien unter geeigneten Kulturbedingungen mit Zuckern als Substrat in so großen Mengen intrazellulär angehäuft, dass der PHB-Anteil mehr als 90 % (w/w) des Trockengewichts ausmacht. Mit autotrophen Wasserstoffoxidierern oder mit methylotrophen Bakterien lässt sich PHB auch auf der Basis billiger Rohstoffe produzieren. Inzwischen wurden Bedingungen ermittelt, unter denen neben PHB auch Poly- β -hydroxyvaleriansäure, Poly- β -hydroxyoctanoat und andere Polyhydroxyalkanoate (PHA) produziert werden können. Darüber hinaus kann man von den Bakterien auch andere Monomere zu Polyestern, z. B. zu Homo- und Heteropolymeren und zu Thioestern, verarbeiten lassen. Damit werden neue Polymere zugänglich, die nicht nur für die Herstellung mikrobiell abbaubarer Verpackungsmaterialien von Interesse sind.

19.12 Gentechnische Verfahren

19.12.1 Klassische Verfahren versus Gentechnik

Die enormen Fortschritte der Molekularbiologie in den letzten 20 Jahren haben auch für die angewandte Mikrobiologie völlig neue Tätigkeitsgebiete eröffnet. In der Vergangenheit wurde die Leistungsfähigkeit von Mikroorganismen, z. B. in der Produktion von Antibiotika, durch **Selektion und gezielte Züchtung** natürlich auftretender Stämme optimiert. Mittlerweile können Produktionsvorgänge jedoch auch mit gezielten Eingriffen in den Stoffwechsel der jeweiligen Produktionsorganismen verbessert werden. Eigene oder fremde DNA-Stücke werden mit Hochleistungspromotoren kombiniert, um Proteine in großem Umfang und mit weit höherer Reinheit und Verlässlichkeit zu produzieren, als es mit dem ursprünglichen Produktionsorganismus möglich war. Durch genetische Rekombination können ganze Stoffwechselwege für die Synthese komplexer Wirkstoffe in Produktionsstämme überführt werden.

Die Vielfalt der heute bereits im Pilotmaßstab eingesetzten Produktionsvorgänge, die auf rekombinanten Produktionsstämmen beruhen, ist kaum noch zu überschauen. Für eine umfassendere Darstellung sei daher auf Lehrbücher der Biotechnologie und Molekularbiologie verwiesen. An dieser Stelle werden einige Prinzipien behandelt, die für ein generelles Verständnis dieser Prozesse notwendig sind.

19.12.2 Produktionsstämme

Die molekulare Klonierungstechnik (Kap. 15.9) ermöglicht es, Fremd-DNA in Plasmide einzubauen und diese durch Transformation in Bakterien oder Hefen zu übertragen, wo die entsprechenden Gene exprimiert und die gewünschten Produkte synthetisiert werden. Für die Auswahl eines geeigneten **Produktionsstamms** sind verschiedene Faktoren zu berücksichtigen. Soll z. B. ein Protein in einem geeigneten Wirtstamm produziert werden, muss sichergestellt sein, dass das produzierte Protein für diesen Stamm nicht toxisch ist. Ebenso darf der Stamm das Produkt nicht durch eigene Proteasen spalten. Außerdem sollten die Produkte exportiert werden können. Aus diesem Grund sind gramnegative Bakterien, z. B. *E. coli*, nachteilig, da sie die Produkte über zwei Membranen transportieren müssen. Dagegen haben sich grampositive Bakterien, z. B. *Staphylococcus carnosus*, für solche Produktionen bewährt. Alternativ werden heute Eukaryonten, z. B. verschiedene Hefen, wie *Saccharomyces cerevisiae*, *Arxula adeninivorans*, *Hansenula polymorpha* oder *Sordaria macrospora*, für die Proteinproduktion eingesetzt. Ihr Proteinsyntheseapparat eignet sich insbesondere für die Herstellung und eventuell erforderliche Sekretion eukaryontischer Proteine in das Medium.

19.12.3 Vektoren

Ein Vektor ist ein für die Klonierung von DNA-Fragmenten verwendetes DNA-Molekül, das amplifiziert und in Zellen übertragen werden kann. Zunächst wird die für das gewünschte Protein codierende DNA in einen geeigneten **Expressionsvektor** ligiert (Kap. 15.9). Hierfür werden auf dem Markt verschiedene Vektoren angeboten, die für eukaryontische oder prokaryontische Produktionsstämme spezifisch sind. Die Vektoren tragen verschiedene Marker, zumeist Gene für Antibiotikaresistenz, mit denen

ihre Integration und Expression nachgewiesen werden kann. Die Effizienz der Produktbildung lässt sich durch die Auswahl eines geeigneten **Promotors** bestimmen, hinter den das Fremdgen kloniert wird.

19.12.4 Exoenzyme

Viele technisch einsetzbare Enzyme sind Exoenzyme. Die Sekretion von produzierten Proteinen in das Außenmedium bietet den Vorteil, dass das Produkt leicht von den Zellen getrennt werden kann und letztere möglicherweise trägergebunden für viele Produktionsgänge eingesetzt werden können. Die weitere Präparation des Zielproteins sollte möglichst wenig Reinigungsaufwand erfordern. Deshalb ist es wünschenswert, dass der Produktionsstamm in einem möglichst einfachen, mineralischen Nährmedium ohne komplexe Zusätze wachsen kann. Solche Medien sind in der großtechnischen Anwendung preisgünstig und halten die Kosten des Downstream Processing niedrig.

19.12.5 Einschlusskörper

Nicht immer können Proteine in intakter, katalytisch aktiver Form aus der prokaryontischen Produktionszelle ausgeschleust werden. Stattdessen akkumulieren sie in der Zelle und erschweren so eine Abtrennung und Reindarstellung des Produkts. Häufig bilden sich bei der Überproduktion von Proteinen so genannte Einschlusskörper (engl. **inclusion bodies**), in denen das fremde Protein in stark verdichteter, parakristalliner Struktur vorliegt. Solche Einschlusskörper bieten die Möglichkeit, das Produkt leicht von den restlichen Zellbestandteilen abzutrennen. Solche Proteine sind jedoch häufig in ihrer Tertiärstruktur gestört und in ihrer biologischen Wirkung eingeschränkt. In vielen Fällen gelingt es, das unlösliche Protein in die aktive, lösliche Form zurückzufalten. Beispiele für gentechnologisch hergestellte Proteine werden in Plus 19.7 aufgeführt.

19.13 Produktion von Biomasse

Mikroorganismen werden in großem Maßstab auch produziert, um sie als **Lebens- oder Futtermittel** zu verwenden (z.B. Hefen und Bakterien, Speisepilze). Auch wird Erde in großem Maßstab z. B. mit Rhizobien angeimpft („**Impfmaterial**“), um die Etablierung einer Symbiose zu erleichtern. Mikroorganismen dienen als **Treibmittel** in der Backwarenindustrie (Backhefe), als **Starterkultur** für die Bereitung von Sauermilch und Rohwurst usw. **Probiotika** werden als Nahrungsmittelzusätze produziert (Plus 19.8). Ansätze zur Herstellung von Futterhefen (*Candida*) auf der Grundlage der Sulfitablauge der Zellstoffindustrie gehen auf die 30er Jahre zurück. Nachdem in Notzeiten auch in Mitteleuropa Eiweißhefe für den menschlichen Konsum erzeugt wurde, entwickelte man in den 70er Jahren mehrere Verfahren zur Massenproduktion von **Einzellerprotein** (engl. single cell protein). Als Substrate und Organismen wurden Petroleum und reine Kohlenwasserstoffe (*Candida lipolytica*), Wasserstoff plus Kohlendioxid (*Ralstonia eutropha*), Methanol (*Methylomonas*), Ethanol und hochwertige organische Verbindungen, die in der Synthesechemie als Abfälle auftreten, erprobt. Die Grüne Revolution und die Optimierung agrarwirtschaftlicher Anbaumethoden haben die Weiterentwicklung relevanter Verfahren erübrigt.

Plus 19.7 Beispiele für gentechnologisch erzeugte Proteine

Durch heterologe Expression werden heute zahlreiche menschliche Proteine und Proteine anderer Säuger produziert. Hierzu zählen Hormone wie **Insulin**, **Somatotropin**, **Somatostatin**, **Relaxin**, die Blutproteine **Erythropoietin**, **Gewebsplasminogen-Aktivatorprotein**, **Blutgerinnungsfaktoren** und **Urokinase**, sowie **Interferon**, **Lysozym**, **Interleukin** und der **Tumornekrosefaktor**. Für die Herstellung von Impfstoffen werden Virusproteine der Erreger von **Hepatitis A** und **B**, **Masern**, **Tollwut**, **Poliomyelitis** und **Grippe**, sowie Oberflächenproteine der bakteriellen Erreger von **Tetanus** und **Diphtherie** durch rekombinante Mikroorganismen produziert. Daneben sind die Produktionswege für niedermolekulare Produkte, wie **Antibiotika** und **Cytostatika** (Kap. 19.7), von Interesse mit dem Ziel, durch genetische Manipulation die Produktausbeute und -reinheit zu verbessern. Auch die Produktion von genetisch modifizierten Stämmen für **Starterkulturen** in der Lebensmittelindustrie stellt einen wichtigen Bereich der rekombinanten Biotechnologie dar. Starterkulturen sollen reproduzierbar einsatzfähig und möglichst langlebig sein. Ein wichtiger Faktor zur Stabilisierung solcher Kulturen ist die Entwicklung von **virusresistenten Kulturen**, die plötzliche Massenentwicklungen von Bakteriophagen oder Viren überstehen.

Plus 19.8 Pro- und Präbiotika

Die Zusammensetzung der menschlichen Darmmikrobiota ist bei einem einzelnen Individuum unabhängig von gelegentlichen Auswaschungen (Durchfall) über viele Jahrzehnte stabil. Zwischen verschiedenen Individuen innerhalb eines Kulturkreises sind die Unterschiede in der Zusammensetzung trotz unterschiedlicher Ernährungsgewohnheiten (z. B. Vegetarier, Mischernährer) gering. Die Darmmikrobiota wird nur durch längerfristige Einnahmen von Antibiotika, vor allem bei immunkompromittierten Patienten, nachhaltig verändert. Um die Zusammensetzung der Darmmikrobiota günstig zu beeinflussen, ist es mittlerweile verbreitet, gezielt benigne Mikroorganismen, z. B. in Form von Trinkjoghurt, zu sich zu nehmen. Zu diesen Organismen gehören z. B. *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* u. a., denen man eine vorteilhafte Wirkung auf die Funktion des Darmsystems zuschreibt (so genannte **Probiotika**). Allerdings wurde bisher

in keinem Fall überzeugend gezeigt, dass sich solche von außen zugeführten Mikroorganismen dauerhaft in einem Wirtsorganismus etablieren.

Eine andere Strategie zielt darauf ab, die Vermehrung nützlicher Bakterien im Darm durch gezielte Diät zu begünstigen (so genannte **Präbiotika**). Hierzu zählt die gezielte Zugabe von bestimmten Kohlenhydraten, die spezielle Milchsäuregärer stimulieren sollen. Diese diätetischen Maßnahmen bestätigen, dass eine faserreiche, überwiegend polysaccharidbasierte Kost die Zusammensetzung der Mikrobiota günstig beeinflusst. Dagegen fördert eine sehr proteinreiche Nahrung die Entwicklung von proteolytischen Bakterien, unter ihnen auch verschiedene Toxinproduzenten. Präbiotika werden in Raten von 5–30 g pro Tag verabreicht. Es handelt sich in erster Linie um Oligosaccharide, vor allem Fructane, wie das unverdauliche Inulin, das z. B. auch durch den Verzehr von Topinambur geliefert wird.

19.14 Umwelttechnologie

Die Mineralisation organischer Verbindungen ist die primäre Aufgabe der heterotrophen Bakterien und niederen Pilze in der Natur. Diese Funktion wird bei der Reinigung von Abwässern und der Beseitigung von Siedlungsabfällen genutzt. Wird ein sauberer Bach mit Abwasser belastet, lässt sich ein typischer Ablauf von mikrobiellen Prozessen beobachten (Abb. 19.22). Infolge des aeroben Abbaus der eingetragenen organischen Substanz sinkt der Sauerstoffgehalt des Wassers sehr schnell und die Anzahl der suspendierten Bakterien steigt. Aus der organischen Substanz freigesetztes Ammoniak wird im weiteren Verlauf des Bachs zu Nitrat oxidiert, sobald der Gehalt an organischer Substanz einen gewissen Grenzwert unterschreitet und der Sauerstoffgehalt wieder zunimmt. Die Bakteriengemeinschaft wird durch bakterivore Protozoen abgeweidet, deren Zahl ebenfalls wieder abnimmt. Ammonium, Nitrat und Phosphat verursachen eine Massenentwicklung von grünen Pflanzen und Algen, die wiederum den Sauerstoffgehalt des Wassers erhöhen.

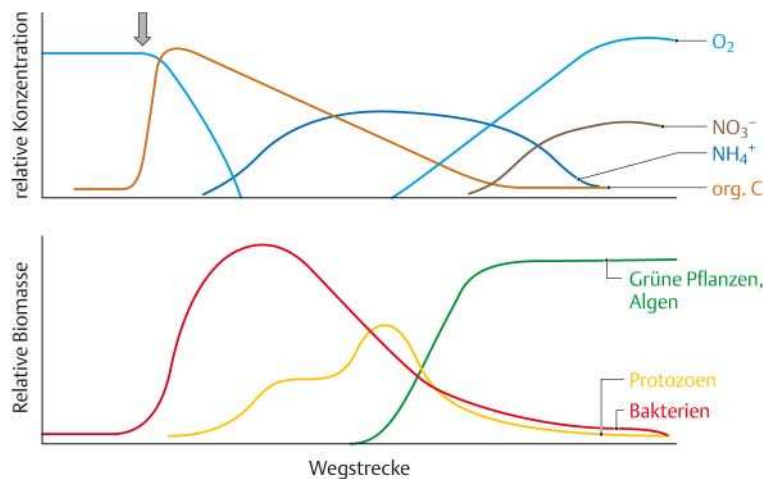


Abb. 19.22 Verschmutzung eines sauberen Bachs mit Abwasser. An der Stelle des Abwassereintrags (Pfeil) nimmt der Sauerstoff rapide ab: Organischer Kohlenstoff wird oxidiert, wobei Ammonium und später Nitrat als Folgeprodukte entstehen. Der aerobe Abbau ernährt zunächst Bakterien, sekundär Protozoen und schließlich grüne Pflanzen und Algen.

19.14.1 Abwasserreinigung

Eine Abwasserreinigungsanlage arbeitet im Prinzip wie die Mikroben-gemeinschaft in einem Bach. Die Anlage verstärkt durch intensive Belüftung die Abbauaktivitäten der aeroben Mikroben und hält eine dichte, metabolisch vielseitige Gemeinschaft von Mikroorganismen für den Abbau der organischen Belastung bereit. Moderne Abwasserbehand-lungsanlagen oxidieren nicht nur die organische Fracht, sondern entfer-nen auch gebundenen Stickstoff und gelöstes Phosphat aus dem Wasser. Einige Begriffe der Abwassertechnologie werden in Plus **19.9** erklärt.

Die Zusammensetzung eines typischen häuslichen Abwassers ist in Tabelle **19.4** angegeben. Die organische Fracht umfasst im Wesentlichen Kohlenhydrate, Proteine, Harnstoff und fettähnliche Bestandteile, darun-ter überwiegend Detergenzien aus Seifen, Wasch- und Spülmitteln. Die anorganischen Bestandteile gehen zum Teil auf die Nahrungsproduktion und auf Abschwemmungen von Oberflächen zurück. Unter den mikrobiel-len Bestandteilen dominieren nichtpathogene Bakterien, z.B. Pseudo-monaden, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter cloacae* und *Zoogloea ramigera*. *Escherichia coli* als Indikator fäkalen Ver-unreinigungen macht weniger als 1 % der gesamten bakteriellen Gemein-schaft aus. Echte pathogene Bakterien sind typischerweise nur in sehr geringer Zahl nachzuweisen.

Tab. 19.4 Eigenschaften eines häuslichen Abwassers und Anforderungen an die Qualität des abgegebenen Wassers.

Eigenschaft	Komponente	Belastung
Organische Belastung des Wassers	BSB	300–550 mg/l
	Kohlenhydrate	50 %
	Proteine und Harnstoff	40 %
	Fette und Detergenzien	10 %
	als Feststoff suspendiert	ca. 30 % der organischen Substanz
Anorganische Fracht	Phosphat	20 mg P/l
	Ammoniak und Nitrate	80 mg N/l
Mikrobielle Bestandteile	Bakterienzellen, einschließlich:	10^6 – 10^8 /l
	Zellen von <i>Escherichia coli</i>	10^4 – 10^6 /l
	Zellen von pathogenen Bakterien	< 10/l
	niedere Pilze und Hefen	10^3 – 10^5 /l
Anforderungen an gereinigtes Abwasser	BSB	< 20 mg/l
	Gesamtstickstoff	< 18 mg/l
	suspendierte Feststoffe	< 30 mg/l
	Bakterienzellen	< 10^5 /l
	<i>Escherichia coli</i>	< 10/l

Plus 19.9 Einige Spezialbegriffe der Abwassertechnologie

Der biologische Sauerstoffbedarf (BSB, engl. BOD) ist ein Maß für die Menge an organi-scher und anorganischer Belastung eines Ab-wassers, die durch mikrobielle Aktivität oxi-diert wird. Der Wert gibt an, wie viel Sauer-stoff in einem Gewässer, z. B. einem Fluss oder See, durch den Abwassereintrag ge-zehrt würde. Der BSB wird in mg O₂ pro Liter Abwasser angegeben und klassischer-weise durch Inkubation des jeweiligen Ab-wassers mit einer gemischten Mikroben-gemeinschaft, z. B. Belebtschlamm (siehe unten), bestimmt. Die Sauerstoffaufnahme wird über fünf Tage unter standardisierten Bedingungen bestimmt (BSB₅) wobei der erforderliche Sauerstoff kontrolliert nach-geliefert werden muss. Diese Aufgabe über-nehmen automatische BSB-Bestimmungs-anlagen, die den Sauerstoffgehalt konstant halten und die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs dokumentieren. Innerhalb dieser fünf Tage wird im Wesentlichen die orga-nische Substanz oxidiert. Die Oxidation re-duzierter Stickstoffverbindungen, vor allem Ammoniak, wird hierbei nicht erfasst. Häus-liches Abwasser hat einen BSB₅-Wert von 300–500 mg/l, Abwässer aus der Papier- und Zellstoffindustrie, aus Brauereien, obst-verarbeitenden Betrieben oder Schlacht-höfen können BSB₅-Werte von 10 000–100 000 mg/l erreichen.

Der chemische Sauerstoffbedarf (CSB) gibt für die vollständige chemische Oxidation der Inhaltsstoffe eines Abwassers zu CO₂, z. B. durch Behandlung mit Chromschwefel-säure bei 160 °C, einen Wert in Sauerstoff-äquivalenten an. Während der CSB die voll-ständige chemische Oxidation umfasst, be-schränkt sich der BSB-Wert auf die biologisch vergleichsweise leicht abbaubaren Abwasser-inhaltsstoffe.

Abwasserreinigung im Belebtschlammverfahren

Um häusliches Abwasser vollständig zu oxidieren, ist eine intensive Belüftung notwendig, da der Sauerstoffgehalt des Wassers unter Luft-sättigung bei 10°C nur ca. 10 mg O₂ pro Liter beträgt. Moderne Anlagen reinigen das Abwasser in der Regel in drei Schritten (Abb. 19.23).

1. In einer ersten, ausschließlich mechanischen Reinigungsstufe werden größere Feststoffe durch Rechenanlagen abgefangen. Suspensierte Material wird in Stillwassertanks sedimentiert oder durch Flotation bei leichter Belüftung an der Oberfläche abgefangen (z. B. Fette).
2. Der zentrale zweite Schritt einer wirksamen Abwasserbehandlung ist die biologische Reinigung, die heute in den meisten Anlagen nach dem **Belebtschlammverfahren** durchgeführt wird. Das mechanisch vorgereinigte Abwasser wird in einem speziellen Belüftungsbecken durch intensives Einblasen von Luft und gegebenenfalls zusätzliches Rühren reichlich mit Sauerstoff versorgt, wobei im Allgemeinen nur eine Luftsättigung von 10–40 % erreicht wird (Abb. 19.24). Hierbei werden die gelösten und suspendierten Inhaltsstoffe des Abwassers durch die komplexe mikrobielle Gemeinschaft um bis zu 99 % oxidiert. Das behandelte Wasser und der Belebtschlamm, der im Wesentlichen aus mikrobieller Biomasse besteht, werden im darauf folgenden Absetz-becken voneinander getrennt.
3. Das behandelte Wasser kann von hier aus unmittelbar an das nächste Oberflächenwasser, den so genannten Vorfluter abgegeben werden. Gegebenenfalls müssen noch Stickstoff- oder Phosphatverbindungen in einer dritten, chemischen Reinigungsstufe entfernt werden.

Die mikrobielle Biomasse setzt sich im Absetzbecken zumeist gut ab und 70–95 % des Schlammes werden in das Belebtschlammbecken zurückgepumpt. Diese **Schlammrückführung** hat drei wesentliche Funktionen, die für eine zuverlässige Arbeit der Kläranlage unerlässlich sind:

1. Sie koppelt die Retentionszeit des Schlammes von der des Wassers ab. Während das Wasser im Mittel nur 4–8 Stunden im Belebtschlammbecken verbleibt, bleibt der Belebtschlamm mehrere Tage im System. Dadurch können auch langsamwüchsige Mikroorganismen, die eventuell nur gelegentlich für die Oxidation spezifischer Abwasserbestandteile erforderlich sind, erhalten werden.
2. Sie hält die Gesamtbiomasse im Belebtschlammbecken und damit die Oxidationsaktivität auf einem hohen Niveau. Die Bakteriengemeinschaft ist insgesamt sehr „hungrig“ und die apparente Affinität des Schlammes für gelöste Substrate ist hoch ($V_0 = V_{\max}/K_S$; Kap. 17.3).
3. Sie sorgt dafür, dass bevorzugt solche Organismen im System zurückgehalten werden, die sich im Absetzbecken leicht absetzen. Nicht-

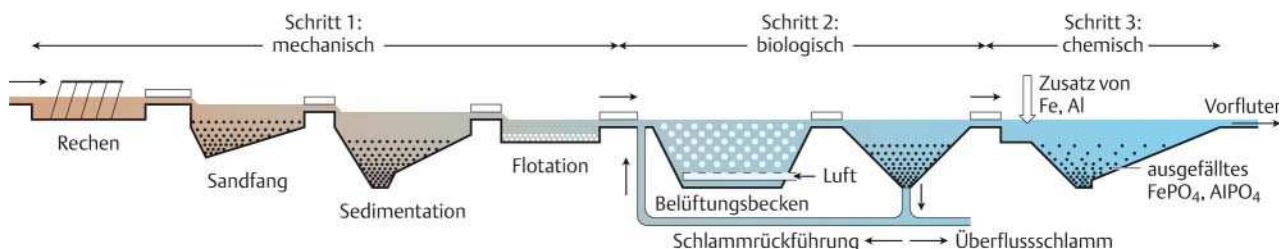


Abb. 19.23 Ablaufschema einer mittelgroßen Kläranlage, die nach dem Belebtschlammverfahren arbeitet.



Abb. 19.24 Belebtschlammbecken der Zentralkläranlage Konstanz. **a** Übersicht. Das Wasser wird radial von innen nach außen transportiert, die Belüftung erfolgt im mittleren Ring. **b** Belüftungsbecken. **c** Belebtschlammflocken bei schwacher Vergrößerung im Dunkelfeldmikroskop (Aufnahmen B. Schink, Konstanz).

sedimentierende, suspendierte Einzelzellen verlassen das System in den ersten Wochen nach Anfahren der Anlage. Insgesamt beruht das Belebtschlammverfahren darauf, dass die heranwachsende mikrobielle Biomasse im Absetzbecken leicht sedimentiert.

Im Belebtschlamm sind neben Aggregaten aus kleineren Bakterienzellen einige fädige Bakterien und Protozoen, vor allem Ciliaten der Gattungen *Paramecium* und *Vorticella*, vorhanden (Abb. 19.24c) Diese Protozoen weiden überwiegend freischwimmende Bakterienzellen ab. Außerdem enthält der Belebtschlamm Rotatorien, Nematoden und gelegentlich Oligochaeten. Die Protozoen tragen wesentlich dazu bei, dass im Belebtschlamm solche Bakterien dominieren, die Aggregate bilden und mit dem Schlammmaterial leicht sedimentieren. Die Protozoen sind auch wesentlich für die Hygienisierung des Belebtschlammes und des Abwassers verantwortlich, da sie die Zahl eventuell vorhandener Pathogene und *Escherichia coli* als Indikator für Fäkalverunreinigungen reduzieren.

Die Bakteriengemeinschaft im Belebtschlamm wird bestimmt von aggregatbildenden Vertretern von *Zoogloea ramigera* und ihren Verwandten, sowie von den fädigen Angehörigen der Gattungen *Leucothrix* und *Thiothrix*. Mittlerweile sind durch moderne Nachweisverfahren viele weitere Organismen im Belebtschlamm entdeckt worden (Plus 19.10).

Der überschüssige Belebtschlamm wird gemeinsam mit dem sedimentierten organischen Material aus der mechanischen Reinigungsstufe im **Faulturm** ausgefault. Dabei vermindert sich die Gesamtmasse und es entsteht ein lagerfähiges Produkt, das in begrenztem Umfang als Dünger in der Landwirtschaft oder für die Begrünung von Kulturflächen benutzt werden kann. Die mittlere Verweildauer des Schlammes im Faulturm beträgt 3–5 Wochen bei 30–35 °C. Das dabei entstehende **Biogas** enthält 65–70 % CH₄ und 30–35 % CO₂, zusammen mit Spuren von N₂ und H₂S. Mit einem Teil dieses Gases wird der Faulturm beheizt. Der größere Teil wird in Gasmotoren und angeschlossenen Generatoren zur Herstellung von elektrischem Strom genutzt, um damit wenigstens einen Teil des Energieaufwands für die Belüftung der Belebtschlammbecken zu decken.

Alternativen zum Belebtschlammverfahren sind für die Behandlung von Abwässern von kleinen Gemeinden sinnvoll, wo eine komplette, dreistufige Kläranlage mit Belebtschlammtechnik zu groß dimensioniert ist. Als Alternativen kommen **Rieseltürme** oder **Rieselfelder** infrage, über die das Abwasser verrieselt wird und die Inhaltsstoffe durch komplexe Mikroorganismengemeinschaften oxidiert werden, die dort auf Oberflächen dichte Biofilme bilden.

Plus 19.10 Bakteriengemeinschaften im Belebtschlamm

Die Gesamtheit der vorhandenen Mikroorganismen ist sehr groß und die weitaus meisten dieser Organismen sind nie kultiviert worden. In den letzten Jahren wurden vor allem durch molekularbiologische Verfahren, bei denen Gensonden eingesetzt werden, eine Reihe Mikroorganismen im Belebtschlamm identifiziert, die dort offensichtlich wichtige Aufgaben erfüllen. Hierzu zählen Vertreter der Gattungen *Paracoccus*, *Caulobacter*, *Hyphomicrobium*, *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Acinetobacter*, *Sphaerotilus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Flexibacter*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Nocardia* und andere, zusammen mit einigen anaeroben Bakterien, wie *Clostridium*, *Lactobacillus* und *Staphylococcus*.

Entfernung von Stickstoff- und Phosphorverbindungen

Auch nach Oxidation der organischen Fracht führen reduzierte Stickstoffverbindungen, vor allem Ammoniak, im Folgegewässer durch Oxidation zu einer Sauerstoffzehrung. Diesen Sauerstoffbedarf muss eine fortgeschrittene Abwassertechnik abfangen. Deshalb wird Ammonium noch in der Anlage, meist bereits im Belebtschlammbecken, zu Nitrat oxidiert. In einem Folgeschritt werden für eine anaerobe Nachbehandlung begrenzte Mengen organische Fracht, z. B. durch Einleitung eines kleinen Rohabwasserstroms, zugeführt, um Nitrat unter Ausschluss von Sauerstoff zu N_2 zu reduzieren.

Eine neue Perspektive hat sich durch die Entdeckung der **anaeroben Ammoniumoxidation (Anammox-Reaktion)** ergeben (Kap. 13.2.3). Dieser Prozess kombiniert eine partielle Oxidation von Ammonium zu Nitrit mit der anschließenden Komproportionierung von Nitrit und weiterem Ammonium zu N_2 . Das Verfahren ist vielversprechend, jedoch technisch noch nicht ausgereift, zumal man die Anammox-Bakterien bis heute nicht kultivieren kann und ihre Nährstoffansprüche nicht hinreichend kennt.

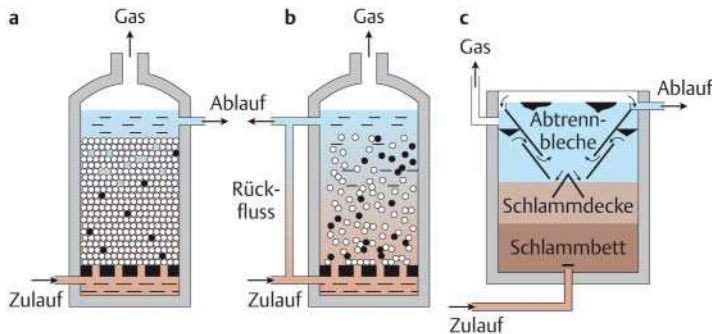
Die Reduzierung des **Phosphatgehalts** im behandelten Abwasser ist notwendig, um eine ungewünschte Eutrophierung im Folgegewässer zu vermeiden. In der traditionellen Technik wird Phosphat in der dritten, chemischen Reinigungsstufe durch **Fällung** mit Eisen- oder Aluminiumsalzen entfernt. Da sehr geringe Phosphatkonzentrationen entfernt werden sollen, muss mit hohen Überschüssen an Fällmittel gearbeitet werden. Um die Effizienz des Fällungsvorgangs zu erhöhen, bedient man sich auch der Aktivität von **phosphatspeichernden Bakterien**, z. B. *Acinetobacter* und anderen, die bei ausreichender Sauerstoff- und Energieversorgung Phosphat als Polyphosphat in der Zelle speichern (Volutingranula, Kap. 5.10.3). Die in der Zellmasse angereicherte Phosphatfracht kann mit der Biomasse entfernt werden oder in einem separaten Becken unter Sauerstoffausschluss freigesetzt und dann chemisch gefällt werden. Da die Zellen das Phosphat gegenüber dem Außenmedium um das 1000- bis 100 000fache anreichern, hilft dieser Vorgang, den Aufwand für die chemische Phosphatfällung wesentlich zu mindern.

Primär anaerobe Abwasserbehandlung

Nachdem das Belebtschlammverfahren für die Abwasserbehandlung in Nord- und Mitteleuropa flächendeckend etabliert worden war, ergab sich bald das Problem der Klärschlamm Entsorgung.

Die Mengen an Klärschlamm können jedoch durch ein alternatives Verfahren, die **primär anaerobe Behandlung**, reduziert werden. Hierbei wird die organische Fracht zunächst anaerob zu Methan und CO_2 vergoren. Vor allem bei hoch belasteten Abwässern bietet sich dieses Verfahren an, da sie besonders viel Biogas freisetzen. Neben der Gewinnung von Biogas ist die Menge des entstehenden Klärschlammes bei der primär anaeroben Behandlung geringer als bei dem aeroben Verfahren, weil die ATP-Ausbeute beim anaeroben Abbau wesentlich niedriger ist als beim aeroben und deshalb wesentlich weniger Biomasse erzeugt wird. Ein weiterer Vorteil ist, dass der Belüftungsaufwand, der mit dem BSB-Gehalt des Abwassers steigt, bei dem anaeroben Verfahren entfällt. Es sind jedoch besondere Strategien notwendig, um die Biomasse in der Anlage zurückzuhalten (Plus **19.11**). Das anaerob vorbehandelte Abwasser wird für die Oxidation von Ammonium und Sulfid aerob nachbehandelt.

Plus 19.11 Biomasserückhaltung bei der anaeroben Abwasserbehandlung



Reaktortypen für die anaerobe Behandlung von hoch belasteten Abwässern. a Anaerober Filter, Festbett. b Schwebebett mit Rückflusszirkulation. c Upflow anaerobic Sludge Blanket-(UASB-)Reaktor.

Da anaerobe Bakterien zumeist deutlich langsamer wachsen als aerobe, erfordert die anaerobe Abwasserbehandlung prinzipiell andere Strategien der Biomasserückhaltung, um den Abwasserdurchsatz von der Wachstumsrate der Bakterien abzukoppeln. Hierzu wird die Biomasse durchweg auf Trägersystemen gebildet, die entweder fest gepackt werden (**Festbettreaktor**, Abb. a) oder im Reaktorbett schweben (**Schwebebettreaktor**, Abb. b). Im anaeroben Schlammbettreaktor (**Upflow anaerobic Sludge Blanket-(UASB-)Reaktor**, Abb. c) aggregieren die Bakterienzellen zu Pellets von mehreren Millimetern Größe, die infolge Sedimentation im Reaktor zurückgehalten werden).

Zurzeit werden primär anaerobe Behandlungsanlagen auch für häusliche Abwässer entwickelt. Primär anaerobe Verfahren eignen sich auch für die Behandlung spezieller Industrieabwässer, deren Inhaltsstoffe bevorzugt reduktiv angegriffen werden, wie z. B. **Azofarbstoffe**, **halogenierte Organika** oder nitrosubstituierte Verbindungen. In anderen Fällen ist eine anaerobe Primärbehandlung aus technischen Gründen angezeigt: **Phenole** polymerisieren in Gegenwart von Sauerstoff zu schwer abbaubaren huminstoffähnlichen Derivaten, **Detergenzien** führen bei intensiver Belüftung im Belebtschlammbecken zur Entwicklung gewaltiger Schaummassen.

19.14.2 Kompostierung

Die Kompostierung ist ein **aerober Prozess** der Biomasseoxidation, der mit deutlicher Wärmeentwicklung einhergeht und vor allem für die Behandlung von festen und halbfesten Haushalts- und Grünabfällen genutzt wird. In Komposthaufen oder in technischen Kompostierungsanlagen wird das organische Material durch Pilze und Bakterien oxidiert und erreicht dabei **Temperaturen** bis zu 80 °C. In der ersten Phase des Abbaus spielen Pilze zusammen mit mesophilen Bakterien eine wesentliche Rolle. Mit steigender Temperatur (40–60 °C) beginnen Arten von *Thermoactinomyces*, *Micropolyspora* und *Thermomonospora* zu dominieren, bei höheren Temperaturen (65–75 °C) dominieren *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Clostridium thermocellum* und *Thermus*-Arten. Die Hitzeentwicklung ist ein Nebenprodukt der mikrobiellen Aktivität und spielt eine wichtige Rolle bei der Hygienisierung des entstehenden Komposts, wobei insbesondere pathogene Bakterien, Parasiten, Pilze und Wurmeier abgetötet werden. In der frühen Aufwärmphase bei 35–45 °C kann sich auch *Aspergillus fumigatus* entwickeln, dessen Sporen in hohem Maße allergen sind und für empfindliche Menschen Gesundheitsprobleme darstellen können. Es ist daher stets von Interesse, die Aufwärmphase des Komposts möglichst kurz zu halten. Dies wird in Kompostieranlagen durch thermische Isolierung und einen semikontinuierlichen Betrieb gewährleistet, bei dem jeweils das neu hinzukommende Material schnell erhitzt und intensiv beimpft wird.

Feste und halbfeste Abfälle können auch anaerob zu Methan und CO₂ vergoren werden. Bei Trockenmassegehalten von mehr als 50% ist eine Verbrennung ohne biologische Vorbehandlung sinnvoll.

19.14.3 Trinkwasserbehandlung

Die Trinkwasserversorgung wird bei uns zu einem wesentlichen Teil aus Grundwasser, zu einem geringeren Teil aus Oberflächenwässern gedeckt. Die Trinkwasseraufbereitung umfasst im Wesentlichen Filtrationen durch **Sandfilter**, in denen dichte Besiedlungen **oligocarbophiler Bakterien** Reste gelöster organischer Substanz abbauen. Durch Ozonierung werden gelöste Huminstoffe angegriffen und deren weiterer mikrobieller Abbau wesentlich erleichtert. Bevor man das Wasser in das Trinkwassernetz einspeist, werden lebende Mikroorganismen durch Behandlung mit NaClO (**Chlorierung**) oder durch **Ozonierung** weitgehend abgetötet. Da diese Oxidationen aber auch gelöste organische Inhaltsstoffe des Wassers zu möglicherweise schädlichen Produkten aktivieren, erfolgt dieser abschließende Schritt erst, nachdem organische Inhaltsstoffe weitestgehend entfernt wurden.

19.14.4 Abluftreinigung

Die Abluft aus Industriebetrieben, die im großen Umfang mit flüchtigen organischen Verbindungen umgehen, bedarf im Einzelfall der Reinigung. Zu den organischen Verbindungen gehören organische **Lösungsmittel** aus der Farbindustrie, flüchtige **chlorierte Kohlenwasserstoffe** aus chemischen Reinigungen und Entfettungsanlagen, **Ethylen**, das reifende Früchte in Lagerhäusern in großem Umfang abgeben, ebenso wie geruchsintensive Fettsäuregemische, die aus **Massentierhaltungen** freigesetzt werden. Zur Reinigung hat man zunächst Aktivkohle oder Bodensäulen benutzt, die die flüchtigen organischen Verbindungen adsorbieren sollten. Später stellte sich heraus, dass sich auf diesen Trägern Biofilme von Bakterien anreichern, die diese Verbindungen abbauen. Heute benutzt man durchströmte Betten mit synthetischen Trägermaterialien, Holz- oder Rindenschnitzeln, Torf oder Boden, durch die die belastete Luft nach vorheriger Befeuchtung geleitet wird. Der heranwachsende Biofilm wird durch höhere Organismen abgeweidet, wodurch sich ein Reinigen und Regenerieren der Bettsysteme weitgehend erübrigt.

19.14.5 Bodensanierung

Infolge von Sorglosigkeit, Unachtsamkeit und Unfällen kommt es immer wieder zu massiven Einträgen von Fremdstoffen in den Boden, die eine Belastung für die weitere Nutzung bzw. eine Gefährdung für das Grundwasser darstellen. Alte **Industriestandorte**, unkontrollierte **Müllkippen**, **Tankstellen**, leckgeschlagene oder durchgerostete **Öltanks** sind die häufigsten Ursachen für massive Bodenverunreinigungen, die häufig erst erkannt werden, wenn bereits Folgeschäden wie eine Grundwasserverschmutzung eingetreten sind. Mehr als 50% der aktuellen Bodenverschmutzungen in Deutschland sind durch Mineralöl und seine Derivate verursacht.

Verunreinigungen beginnen typischerweise auf oder im Oberboden und sickern durch den ungesättigten Boden, bis sie die Grundwasserschicht erreichen. Abhängig von der Dichte der verunreinigenden Komponenten schwimmen diese entweder auf dem Grundwasser auf, lösen

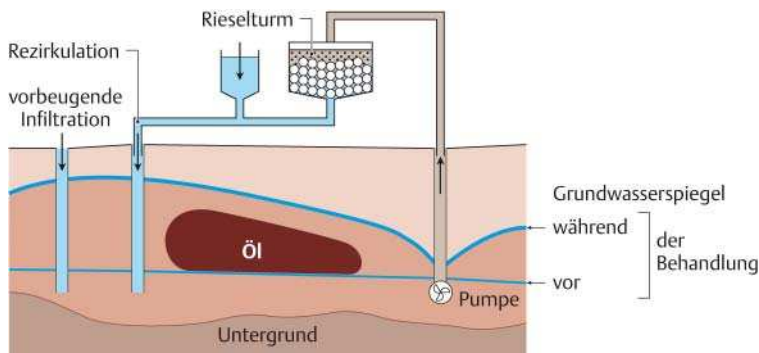


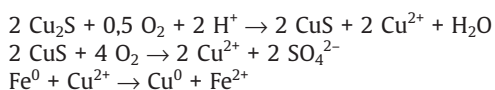
Abb. 19.25 Behandlung von ölverunreinigtem Boden durch Umpumpen von Grundwasser und bakterielle Reinigung des Wassers. Die vorbeugende Infiltration von frischem, nichtkontaminiertem Wasser schützt den nichtkontaminierten Boden auf der linken Seite. Im Rieselturm findet die mikrobielle Oxidation der Fremdstoffe statt.

sich zu einem gewissen Anteil (vor allem niedermolekulare und aromatische Bestandteile, z. B. Benzol, Toluol, Xylol, Ethylbenzol), oder sinken, wie z. B. schwere Ölanteile, auf den Grund der wasserführenden Schicht.

Für die Dekontamination eines solchen Standorts gibt es verschiedene Möglichkeiten. Man kann den Boden weitgehend ungestört belassen und den Abbau der Kontaminanten der bodenständigen Mikrobiota überlassen (**Natural Attenuation**). Dies ist das kostengünstigste aber auch langwierigste Verfahren. Alternativ kann man den natürlichen Abbauprozess durch Abpumpen und Rezirkulieren des Grundwassers nach entsprechender Zwischenbehandlung intensiviert und zugleich die Ausbreitung der Schadstofffahne eingrenzt (Abb. 19.25). Eine weitere Möglichkeit ist, den kontaminierten Boden abzutragen, mit geeigneten Nährsalzen zu beaufschlagen und Mieten anzulegen, in denen durch Bewässerung und regelmäßige Durchmischung die mikrobielle Schadstoffoxidation gefördert wird. Als Alternativen zur vollständigen Beseitigung des jeweiligen Fremdstoffs kommt prinzipiell auch eine **Inertisierung** vor Ort in Frage. Das als Sprengstoff bekannte Trinitrotoluol (TNT) wird im ungesättigten Boden nur langsam abgebaut. Unvollständige Reduktionen der Nitrogruppen leiten eine Polymerisation des TNT und seine Verknüpfung mit der organischen Bodenmatrix (Huminstoffe) ein, die zu einem stabilen, inerten und ungiftigen Folgeprodukt führt.

19.15 Metallaugung und Renaturierung im Tagebau

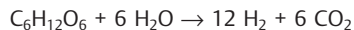
Die mikrobielle Oxidation und saure Extraktion von Eisensulfiden einschließlich des Pyrit wurde bereits in Kapitel 17 besprochen. In ähnlicher Weise können schwefeloxidierende Bakterien vom Typ *Thiobacillus ferrooxidans* auch Kupfersulfide oxidieren. Die Reaktionen laufen wie folgt ab:



Der erste Schritt, die Oxidation von Cu^+ zu Cu^{2+} , wird ausschließlich mikrobiell katalysiert. Der zweite Schritt, die Oxidation von Sulfid zu Sulfat, wird teils mikrobiell und teils chemisch ermöglicht. Aus der sauren

Plus 19.12 Grenzen der Wasserstoffgewinnung durch Mikroorganismen

Eine **Vergärung von Biomasse** mit Glucose als repräsentativem Ausgangssubstrat zu H_2 und CO_2 entsprechend der Gleichung



liefert unter Standardbedingungen -26 kJ pro mol Glucose. Es gibt keinen Organismus, der mit diesem geringen Energiebetrag die Umsetzung von 12 Elektronenpaaren zu 12 Wasserstoffmolekülen leisten kann und dabei noch wächst. Stattdessen beobachtet man im günstigsten Fall eine Vergärung der Glucose entsprechend der Gleichung



Diese Reaktion liefert pro mol Glucose $\Delta G^{0'} = -216$ kJ, und auch diese Bilanz wird nur erreicht, wenn der Wasserstoffpartialdruck z. B. durch methanogene Partnerorganismen niedrig gehalten wird (Kap. 13.7). Dennoch verbleiben bei dieser Vergärung zwei Drittel der Elektronen aus der Glucose im Acetat, aus dem sie durch Gärung nicht freigesetzt werden können. Erneut zeigt sich hier die Überlegenheit der Methanbildung, die die im Acetat festgelegten Elektronen quantitativ in Methan überführt. Eine fermentative Wasserstoffproduktion aus Biomasse wird also nur ein Drittel der rechnerisch verfügbaren Elektronen nutzen können. Die reale Ausbeute ist sogar deutlich schlechter.

Als Alternative bietet sich eine Wasserstoffbildung durch **phototrophe Bakterien**, entweder durch Cyanobakterien oder durch anoxygene phototrophe Bakterien, an. Hierbei dient entweder die Nitrogenase oder die mit diesem Stoffwechsel assoziierten membranständigen Hydrogenasen als wasserstofffreisetzendes Enzymsystem. Trotz aufwändiger Forschung ist es jedoch bisher nicht gelungen, solche Mengen Wasserstoff auf diese Weise zu produzieren, die ein solches Verfahren wirtschaftlich auch nur annähernd diskutabel machen. Zukunftspläne zielen auf eine Kopplung des Photosystems mit membranständigen Hydrogenasen in zellfreien Reaktionssystemen ab, doch sind solche Systeme empfindlich und daher kurzlebig und eine Nutzung in großem Maßstab (unter strikt sterilen Bedingungen!) wohl unrealistisch.

Lösung wird Cu^{2+} mit Hilfe von Eisenschrott als metallisches Kupfer ausgefällt. Auf diese Weise kann wertarmer Eisenschrott für die Gewinnung von hochwertigem Kupfer genutzt werden.

Da Eisensulfide, vor allem Pyrit, häufig auch in den Deckschichten oberhalb von Kohle- und Braunkohlelagerstätten zu finden sind, werden sie mit dem Abraum umgeschichtet und damit dem Sauerstoff und der mikrobiellen Oxidation ausgesetzt. Die Folge sind gewaltige Einträge an schwefelsauren Oberflächen- und Grundwässern, z. B. im Bereich des Braunkohletagebaus in Mitteldeutschland. Nach Flutung der ehemaligen Tagebaulöcher sind die neu entstandenen Seen mit pH-Werten von 2–3 häufig stark sauer. Langfristiges Ziel der Renaturierung dieser Standorte ist die Ausfällung der Eisen- und Schwefelsäurefrachten dieser Wässer als Eisensulfide. Dazu sind große Mengen organischer Elektronendonatoren und anoxische Verhältnisse in den tiefen Wasserschichten erforderlich. Da sich die Primärproduktion im sauren Wasser nur sehr zögernd entwickelt, werden diese Renaturierungsmaßnahmen viele Jahrzehnte in Anspruch nehmen. In Modellexperimenten konnte man zeigen, dass die Neutralisierung eines solchen Gewässers durch Eintrag von externer organischer Substanz (z. B. Stroh) wesentlich beschleunigt wird.

Auch aus Abwässern der Galvanisierungsindustrie können Schwermetalle durch Ausfällen mit mikrobiell produziertem Schwefelwasserstoff als **Metallsulfide** rückgewonnen werden.

19.16 Energieversorgung

Steigende Ölpreise beleben immer wieder neu die Diskussion, in welchem Umfang Mikroorganismen zur Deckung unseres Energiebedarfs beitragen können. Die Gewinnung von **Methan** in Form von Biogas bei der anaeroben Behandlung von Abwässern und Abfällen wurde bereits erwähnt (Kap. 19.14.1). Der Vorteil der Methanbildung besteht darin, dass der größte Teil der Energie eines organischen Substrats, sofern es anaerob abbaubar ist, für eine spätere energetische Nutzung im Methan gebunden ist (Kap. 10.1.2). Außerdem ist es als Gas leicht abzufangen. Dieser Aspekt limitiert für die Energiewirtschaft vor allem die technische Nutzung von gelösten Gärprodukten, wie **Ethanol**. Durch Vergärung mit Hefen oder mit dem Bakterium *Zymomonas mobilis* wird im günstigsten Fall ein Alkoholgehalt von ca. 10 % (v/v) erreicht. Für die Destillation auf einen Alkoholgehalt von mehr als 90 % sind Energiemengen erforderlich, die nahezu in der gleichen Größenordnung liegen, wie die Energie des gewonnenen Alkohols. Überdies können nur bestimmte Anteile der Biomasse, vor allem Zucker, Stärke und andere Polysaccharide (nach enzymatischer Vorbehandlung) zu Ethanol vergoren werden (Kap. 12.3). Zwar ist die Ethanolausbeute aus spezifisch hierfür angezüchteten, zuckerreichen Erntepflanzen wie Zuckerrohr und Zuckerrüben günstiger, doch muss man für eine bilanzierende Bewertung dann auch den Energieaufwand für die landwirtschaftliche Produktion dieser Ausgangsmaterialien, sowie die strukturellen Aspekte einer auf Alkoholproduktion ausgelegten Landwirtschaft berücksichtigen.

Einer mikrobiellen Herstellung von **Wasserstoff** aus organischen Abfällen durch **Gärung** sind prinzipiell Grenzen gesetzt (Plus 19.12).

Eine weitere Energiequelle wurde kürzlich wiederentdeckt: die Gewinnung **elektrischer Energie** aus der Verbindung des Redoxmilieus einer reduzierten tiefen Sedimentschicht mit dem des überstehenden luftgesättigten Wassers. Tatsächlich lässt sich mithilfe geeigneter Elektroden aus

dieser Redoxpotenzialdifferenz elektrischer Strom abzapfen. Die erreichbare Spannung liegt allerdings deutlich unter 1 Volt und die Stromflüsse sind von der Oberfläche der verwendeten Elektroden abhängig, jedoch in jedem Fall gering (max. 0,1 W/m²). Man kann auch Bakterien, z. B. Vertreter der Gattung *Geobacter*, gezielt auf Elektroden ansiedeln, an die sie Elektronen aus der Oxidation organischer Substrate abgeben. Die Nutzung derartiger **mikrobieller Brennstoffzellen** (Abb. 19.26) kann aber nur lokal begrenzte Bedeutung haben.

19.17 Biosensoren

Biosensoren werden vermehrt für die diskontinuierliche und kontinuierliche Messung von Prozessen in definierten Reaktorsystemen oder in der Umwelt angewendet. Ihr Grundprinzip ist die Kopplung einer biologischen oder biochemischen Reaktion an ein elektrisches oder optisches Signal, das anschließend elektronisch verstärkt und weitergeleitet werden kann. Die typischen Bauelemente eines Biosensors sind in Abbildung 19.27 gezeigt. Der einfachste Typ eines Biosensors ist eine Elektrode, mit deren Hilfe die Glucosekonzentration in einem Reaktor gemessen werden kann. In diesem Fall wird die Reaktion



durch Glucoseoxidase (Abb. 19.4, S. 607) katalysiert, die an der Oberfläche des Sensors immobilisiert ist. Das entstehende Lacton wird schnell zu Gluconsäure hydrolysiert. Das Messsignal ist das gebildete Wasserstoffperoxid, das amperometrisch erfasst wird.

Statt einer einzelnen Enzymreaktion können auch mehrere Enzyme miteinander zu einer Reaktionskette gekoppelt werden. In anderen Fällen können auch ganze Bakterienzellen, Antikörper oder Zellorganellen als Sensorsysteme in einen Biosensor eingebaut werden (Tab. 19.5). Das Signal kann an verschiedene Formen von **Transducern** gekoppelt werden, die das jeweilige primäre biologische Signal in eine elektronisch erfassbare Form übersetzen und damit der weiteren Verarbeitung zugänglich machen. Der Vorteil von Biosensoren im Vergleich zu chemischen Sensoren ist ihre hohe Spezifität und die enorme Vielfalt biologischer Reaktionssysteme, die auf diese Weise für schnelle Analysen genutzt werden kann. Schwierigkeiten bestehen in einer geeigneten Immobilisierung des jeweiligen biologischen Sensorsystems, der Aufrechterhaltung seiner Stabilität über längere Operationszeiten, der Sicherung der *response*-Stabilität, sowie in der Störung des Systems durch möglicherweise toxische Nebeneinflüsse aus dem Messsystem. Die neuen Entwicklungen auf dem Gebiet der Photo- und Optoelektronik und der elektronischen Datenverarbeitung haben die Anwendbarkeit von Biosensoren wesentlich erweitert.



Abb. 19.27 Biosensor.

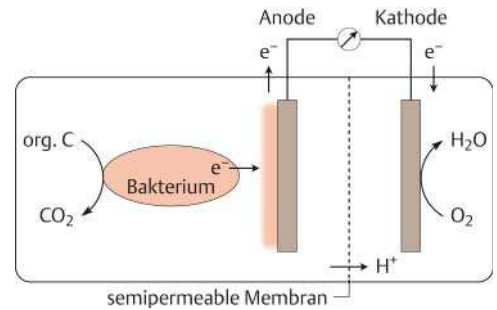


Abb. 19.26 Prinzip einer biologischen Brennstoffzelle. Organische Substanz wird durch ein Bakterium zu CO₂ oxidiert. Die anfallenden Elektronen werden bei möglichst niedrigem Redoxpotenzial an eine Anode abgegeben, die sie schließlich an der Kathode auf den Sauerstoff überträgt.

Tab. 19.5 Typen von Biosensoren.

Biologische Komponente	Transducer	Nachweis
immobilisierte Enzyme	potentiometrische Elektroden	NH_4^+ , H^+ , CO_2
Zellen	amperometrische Elektroden	O_2^+ , H_2
Antikörper	Transistoren	H^+ , NH_3
Zellorganellen	Photomultiplier in Verbindung mit Faseroptik	Lichtemission, Lumineszenz
	Photodioden mit Licht-emittierenden Dioden	Lichtabsorption

19.18 Mikrobiologische Prozesskontrolle

Die Herstellung von Feinchemikalien wie Antibiotika, Enzymen usw. wie auch große Teile der industriellen Lebensmittelproduktion erfolgt durch **Reinkulturen** unter mikrobiologisch strikt kontrollierten Bedingungen. Hier wird Kontaminationsfreiheit durch Kontrolle der Mikroorganismen gesichert.

In anderen Industriezweigen, die aufgrund der Art ihrer Substratumsätze und ihrer Größe nicht steril durchgeführt werden können, z.B. in der **Papierindustrie**, kommt es darauf an, die mikrobielle Besiedlung gering zu halten, um **Qualitätsmängel**, z.B. Verfärbungen im Produkt infolge mikrobieller Pigmente, zu vermeiden. Das Wachstum von Mikroorganismen in den nährstoffreichen Celluloseaufschlämmungen kann durch geeignete Modifikationen der Prozessführung, Hitzeschritte, saure oder basische Zwischeninkubationen oder durch den Einsatz von **Bioziden**, die ihrerseits jedoch nur in geringem Umfang im Produkt verbleiben dürfen, eingeschränkt werden. Hier muss der Mikrobiologe eng mit dem Verfahrenstechniker zusammenarbeiten, um in jedem Einzelfall eine geeignete Lösung zu finden, um unerwünschte Anreicherungen zu unterbinden.

Schließlich besteht bei **biotechnischen Prozessen in offenen Systemen**, wie der Abwasser- und Abfallbehandlung, die Herausforderung darin, die Randbedingungen so zu gestalten, dass die für die jeweiligen Reaktionsschritte erwünschten Organismen im System angereichert und stabil zurückgehalten werden.

19.19 Mikrobielle Schädlingsbekämpfung

Auch zur Bekämpfung von Schädlingen in der Landwirtschaft können Mikroorganismen wirksam werden. Das bekannteste Beispiel ist ***Bacillus thuringiensis***, ein aerober Sporenbildner, der ein für zahlreiche Insekten toxisches Protein (**Bt-Toxin**) produziert und in der Zelle kristallin anreichert. Dieses Protein wird im alkalischen Darmtrakt von Motten- und Schmetterlingslarven aktiviert und perforiert die Darmwand. Da Bienen und andere Nutzinsekten nicht betroffen werden, können *B. thuringiensis* und verwandte Arten, die andere Toxine produzieren, als Zellsuspension auch im Wein- und Obstbau gegen diverse Fliegenarten bzw. in Feuchtgebieten gegen Stechmücken eingesetzt werden. Es ist bereits gelungen, die Bt-Toxin-Gene in Tabakpflanzen zu exprimieren und damit die Pflanze mithilfe des bakteriellen Toxins gegen Schadinsekten zu schützen. Gegen andere Schädlinge werden gezielt Erreger von Insektenkrankheiten eingesetzt, z.B. Granuloseviren gegen Apfel- und Schalenwickler.

Xenorhabdus nematophilus ist ein den Enterobakterien verwandtes, schwach biolumineszentes Bodenbakterium, das in jeweils spezifischer Assoziation im Darm bestimmter Nematoden lebt. Diese Nematoden befallen Insektenlarven, in denen sich die Bakterien schnell vermehren und den Wirtsorganismus durch spezifische Toxine abtöten, während eine neue Generation Nematoden heranwächst und sich anschließend eine neue Larve als Opfer sucht. An einer heterologen Expression der *Xenorhabdus*-Toxine in Nutzpflanzen wird gegenwärtig gearbeitet.

Für die Bekämpfung pilzlicher Erkrankungen kann man sich natürliche Antibiosen zwischen verschiedenen Pilzen zunutze machen. So setzt man *Coniothyrium minitans* gegen *Sclerotinia sclerotiorum* und *S. minor* ein, die Erreger von Stengel-Fäulniserkrankungen bei Raps und verschiedenen Gemüsepflanzen.

Bacillus subtilis und andere Bacilli, sowie verschiedene *Pseudomonas*-, *Streptomyces*- und *Erwinia*-Arten fördern im Wurzelraum von Pflanzen deren allgemeine Widerstandsfähigkeit gegen Schadorganismen, z.B. durch die Produktion von Komplexbildnern für die Versorgung mit Eisen und Spurenelementen, oder durch die Produktion von Pflanzenhormonen (z. B. Auxin). Natürlich tragen auch andere typische Bewohner des Wurzelraums incl. *Azospirillum*, *Azotobacter* etc. sowie die Mykorrhizapilze durch verbesserte Nährstoffversorgung zur Stärkung der Widerstandsfähigkeit von Pflanzen bei.

Zusammenfassung

- Mikroorganismen können als Produzenten wertvoller Substanzen genutzt werden. Klassische Gärungsprozesse liefern Ethanol, Milchsäure und Propionsäure, die vor allem in der **Lebensmitteltechnologie** zur Konservierung genutzt werden. Zum selben Zweck dient Essigsäure, die vornehmlich durch eine aerobe, unvollständige Oxidation produziert wird. Auch Citrat, Oxalat, Zuckersäuren und Zuckeralkohole können durch aerobe mikrobielle Fermentationsprozesse gewonnen werden.
- Mikroorganismen werden bevorzugt für die Synthese **komplexer Verbindungen** eingesetzt, deren Synthese auf rein chemischer Basis zu umständlich ist oder zu geringe Ausbeuten liefert. Dies gilt insbesondere für Verbindungen, die chirale Kohlenstoffatome enthalten (z.B. Aminosäuren oder Vitamine), oder stereospezifisch substituiert werden müssen (z. B. Steroide).
- Viele Mikroorganismen, darunter vor allem Streptomyceten und Pilze, produzieren in ihrem Sekundärstoffwechsel niedermolekulare Verbindungen, die andere Mikroorganismen hemmen oder abtöten (**Antibiotika**). Andere Bakterien, z. B. Enterobakterien, Milchsäurebakterien oder Bacilli, scheiden Polypeptide aus, die andere Bakterien abtöten (**Bacteriocine**).
- Durch **gentechnische Veränderungen** ist es möglich geworden, die Effizienz von mikrobiellen Produktionsvorgängen durch Rekombination und Kopplung mit geeigneten Promotoren deutlich zu erhöhen. Auch können Proteine aus Eukaryonten (z.B. Insulin, Rennin) oder Viren (für die Herstellung von Impfstoffen) auf diese Weise in hoher Reinheit und Ausbeute produziert werden.

- In der **Umweltmikrobiologie** leisten Mikroorganismen, vor allem Bakterien, wichtige Dienste in der Reinigung von Abwässern und Abluft, in der Sanierung von kontaminierten Böden oder der Aufbereitung von niederwertigen Metallerzen.
- Als Lieferant von technisch nutzbarer Energie ist die mikrobielle Vergärung von **Biomasse zu Methan** immer noch das erfolgreichste Verfahren, auch wenn andere Prozesse (Bio-Alkohol, Bio-Wasserstoff, Bio-Elektrizität) gegenwärtig mit großer Aktivität entwickelt werden.

Ausgewählte Literatur

Allgemeine Literatur

- Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, eds. The prokaryotes. 2nd ed. New York: Springer Verlag; 1992.
- Garrity GM, ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Heidelberg, Berlin, New York: Springer Verlag; 2005.
- Berg J, Tymoczko JL, Stryer L. Biochemie, 5. Aufl. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 2003.
- Janning W, Knust E. Genetik. Stuttgart: Thieme Verlag; 2004.
- Knippers R. Molekulare Genetik. 9. Aufl. Stuttgart: Thieme Verlag; 2006.
- Lengeler JW, Drews G, Schlegel HG, eds. Biology of Prokaryotes. Stuttgart, New York: Thieme Verlag; 1999.
- Maddigan MD, Martinko JM. Brock Biology of the Microorganisms. Upper Saddle River, NJ: Pearson-Prentice Hall; 2005.
- Maddigan MD, Martinko JM. Brock Mikrobiologie. 11. Aufl. München: Pearson Studium; 2006.
- Nelson DL, Cox MM. Lehninger-Principles of biochemistry. 4rd ed. New York: Worth Publ.; 2004.
- Nelson DL, Cox MM. Lehninger Biochemie. 3. Aufl. Heidelberg, Berlin, New York: Springer Verlag; 2001.
- Streble H, Krauter D. Das Leben im Wassertropfen. 9. Aufl. Stuttgart: Kosmos Gesellschaft der Naturfreunde, Franckh'sche Verlagshandlung; 2002.
- Neidhardt FC, Curtiss III R, Ingraham RJ, Lin ECC, Low KB, Magasanik B, Reznikoff WS, Riley M, Schaechter M, Umberger HE (eds). Escherichia coli and Salmonella. Cellular and Molecular Biology. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 1996.

Kapitel 1

Bücher

- Brock T. Milestones in Microbiology 1546 to 1940. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 1999.
- Brock TD. Robert Koch. A Life in Medicine and Bacteriology. Heidelberg, New York: Springer Verlag, Madison, Wisconsin: Science Tech Publishers; 1988.
- Bullock W. The History of Bacteriology. New York: Dover Publications, Inc.; 1938
- de Kruit P. Mikroben Jäger. Zürich, Leipzig: Orell Füssli Verlag; 1926.
- Dixon B. Der Pilz, der John F. Kennedy zum Präsidenten machte. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 1998.
- Dobbel C. Antony van Leeuwenhoek and his Little Animals. New York: Dover Publications, Inc.; 1960.
- Dubos R. Pasteur and Modern Science. Heidelberg, New York: Springer Verlag; 1960.
- Mochmann H, Köhler W. Meilensteine der Bakteriologie. Minerva Verlag-Ed. Wissen; 1997.
- Schlegel HG. Geschichte der Mikrobiologie. 2. Aufl. Halle, Saale: Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina; 2004.
- van Iterson jr. G., den Dooren de Jong LE, Kluyver A J. Martinus Willem Beijerinck: His Life and His Work. Madison, Wisconsin: Science Tech, Inc.; 1983.

von Drigalski W. Männer gegen Mikroben. Berlin: Verlag des Druckhauses Tempelhof; 1951.

Kapitel 2

Original- und Übersichtsartikel

- Bresler V, Montgomery WL, Fishelson L, Pollak PE. In: Gigantism in a bacterium, *Epilopiscium fishelsoni*, correlates with complex patterns in arrangement, quantity, and segregation of DNA. *J Bacteriol.* 1998; 180:5601–5611.
- Dyall SD, Brown MT, Johnson PJ. In: Ancient invasions: from endosymbionts to organelles. *Science.* 2004; 304:253–257.
- Frank J. In: The ribosome – a macromolecular machine par excellence. *Chemistry & Biology.* 2000; 7: R133–R144.
- Huber H, Hohn MJ, Rachel R, Fuchs T, Wimmer VC, Stetter KO. In: A new phylum of Archaea represented by a nanosized hyperthermophilic symbiont. *Nature.* 2002; 417:63–67.
- Schulz HH, Jørgensen BB. In: Big bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 2001; 55:105–137.
- Srinivasan G, James CM, Krzycki JA. In: Pyrrolysine encoded by UAG in Archaea: charging of a UAG-decoding specialized tRNA. *Science.* 2002; 296:1459–1461.
- Watson JD, Crick FHC. In: A structure for desoxyribose nucleic acid. *Nature.* 1953; 171:737–738.
- Woese CR, Fox GE. In: The phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdom. USA: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1977; 74:5088–5090.

Kapitel 3

Bücher

- Agrios GN. *Plant Pathology.* New York: Academic Press; 1997.
- Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M. *Introductory Mycology.* New York: John Wiley; 1996.
- Esser K (Hrsg.). *The Mycota, Bd I–VIII.* Heidelberg, Berlin, New York: Springer Verlag.
- Gow NAR, Gadd GM. *The Growing Fungus.* London, New York: Chapman and Hall; 1997.
- Griffin DH. *Fungal Physiology.* 2. Aufl. New York: Wiley and Sons; 1996.
- Kirk PM, Cannon PF, David JC, Stalpers JA, (ed.). *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi.* 9th ed. 2001.
- Hawsworth DL, Sutton BC, Ainsworth GC. *Dictionary of the Fungi.* Kew: Commonwealth Agricultural Bureaux; 1983.
- Henssen A, Jahns HM. *Lichenes.* Stuttgart: Thieme Verlag; 1974.
- Kothe HW, Kothe E. *Pilzgeschichten.* Heidelberg, Berlin, New York: Springer Verlag; 1996.
- Müller E, Löffler W. *Mykologie.* 5. Aufl. Stuttgart: Thieme Verlag; 1992.
- Osiewacz H, eds. *Molecular Biology of Fungal Development.* New York: Marcel Dekker; 2002.
- Weber H. *Allgemeine Mykologie.* Weinheim: Spektrum Akademischer Verlag; 2002.
- Webster J. *Introduction to Fungi.* 2nd. ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1980.

Internetadressen

<http://www.keil.ukans.edu/~fungi/>
<http://www.fgsc.net/>

Kapitel 4

Bücher

Flint SJ, Enquist LW, Krug RM, Racaniello VR, Skalka AM. Principles of Virology. 2nd ed. Molecular Biology, Pathogenesis, and Control. Washington DC: ASM Press; 2003.
Levine JL. Viruses. New York: Scientific American Library; 1992.
Modrow S, Falke D. Molekulare Virologie. 2. Aufl. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 2003.
Pommerville F C. Alcamo's Fundamental of Microbiology. Boston, Toronto, London, Singapore: Jones and Bartlett Publishers; 2004.
Summers WC. Félix d'Herelle and the Origins of Molecular Biology. New Haven, London: Yale University Press; 1999.

Kapitel 5

Bücher

Bast E. Mikrobiologische Methoden. 2. Aufl. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 2001.
Ghuysen JM, Hakenbeck R, eds. Bacterial cell wall. Amsterdam: Elsevier Science B.V.; 1994.
Gräfe U. Biochemie der Antibiotika. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 1992.

Original- und Übersichtsartikel

Bardy SL, Ng SYM, Jarrell KF. In: Prokaryotic motility structures. Microbiology. 2003; 149:295–304.
Cannon GC, Bradburne CE, Aldrich HC, Baker SH, Heinhorst S, Shively JM. In: Microcompartments in prokaryotes: Carboxysomes and related polyhedra. Appl. Environ. Microbiol. 2001; 67:5351–5361.
Doolittle RF, York AL. In: Bacterial actins? An evolutionary perspective. BioEssays. 2002; 24:293–296.
Errington J. In: Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. Nature Rev. Microbiol. 2003; 1:117–126.
Graumann PL. In: Cytoskeletal elements in bacteria. Curr. Opin. Microbiol. 2004; 7:565–571.
Harshey RM. In: Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. Annu Rev. Microbiol. 2003; 57:249–273.
Höltje JV. In: Growth of the stress-bearing and shape-maintaining murein sacculus of *Escherichia coli*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1998; 62: 181–203.
Kaiser D. In: Bacterial motility: how do pili pull? Cur. Biol. 2000; 10: R777–R780.
McNab RM. In: How bacteria assemble flagella. Annu. Rev. Microbiol. 2003; 57:77–100.
Offner S, Ziese U, Wanner G, Typke D, Pfeifer F. In: Structural characteristics of halobacterial gas vesicles. Microbiology. 1998; 144:1331–1342.

- Schüler D, Frankel RB. In: Bacterial magnetosomes: microbiology, biomineralization and biotechnological applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 1999; 52:464–473.
- Setlow P. In: Spore germination. Cur. Opin. Microbiol. 2003; 6:550–556.
- Szurmant H, Ordal GW. In: Diversity in chemotaxis mechanisms among the bacteria and archaea. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2004; 68:301–319.
- van den Ent F, Amos LA, Löwe J. In: Prokaryotic origin of the actin cytoskeleton. Nature. 2001; 413:39–44.
- Wältermann M, Steinbüchel A. In: Neutral lipid bodies in prokaryotes: recent insights into structure, formation, and relationship to eukaryotic lipid depots. J Bacteriol. 2005; 187:3607–3619.

Kapitel 6

Bücher

- Atlas RM. Handbook of microbiological media. Boca Raton: CRC Press; 1993.
- Gerhardt P, Murray RGE, Wood WA, Krieg NR, eds. Methods for general and molecular bacteriology. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1994.
- Gunsalus IC, Stanier RY, eds. The Bacteria, Bd. IV. New York, London: Academic Press; 1962.
- Ingraham JL, Maaløe O, Neidhardt FC. Growth of the bacterial cell. Sunderland, Mass.: Sinauer Ass. Inc.; 1983.
- Kirsop BE, Doyle A. Maintenance of microorganisms and cultured cells. 2nd ed. New York, London: Academic Press; 1991.
- Malek I, Fencel Z. Theoretical and methodological basis of continuous culture of microorganisms. New York, London: Academic Press; 1966.
- Mandelstam J, McQuillen K, Dawes J, eds. Biochemistry of bacterial growth, 3rd ed. Oxford: Blackwell Sci. Publ; 1982.
- Neidhardt FC, Ingraham JL, Schaechter M. Physiology of the bacterial cell, Sunderland: Sinauer Associates; 1990.
- Pirt SJ. Principles of microbe and cell cultivation. New York: Wiley; 1975.
- Schlegel HG, Kröger E, Hrsg. Anreicherungskultur und Mutantenauslese. Zentralbl. Bakteriol. 1. Abt. Suppl. 1. Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag; 1965.
- Stouthamer AM. Energetic aspects of the growth of microorganisms. In: Haddock BA, Hamilton WA, eds. Microbial Energetics. London: Cambridge University Press; 1977.
- Veldkamp H. Continuous culture in microbial physiology and ecology. Durham: Meadowfield Press; 1976.
- White D. The physiology and biochemistry of prokaryotes. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press; 2006.

Original- und Übersichtsartikel

- Harder W, Dijkhuizen L. In: (1983) Physiological responses to nutrient limitation. Annu Rev Microbiol. 1983; 37:1–23.
- Monod J. The growth of bacterial cultures. Annu Rev Microbiol. 1949; 3:371–394.

Kapitel 9

Bücher

- Holland IB, Cole SPC, Kuchler K, Higgins CF, eds. ABC proteins. From bacteria to man. Amsterdam: Academic Press; 2003.
- Winkelmann G, eds. Microbial transport systems. Weinheim: Wiley-VCH; 2001.

Original- und Übersichtsartikel

- Abramson J, Smirnova I, Kashko V, Verner G, Kaback HR, Iwata S. In: Structure and mechanism of the lactose permease of *Escherichia coli*. *Science*. 2003; 301:610–615.
- Cascales E, Christie PJ. In: The versatile bacterial type IV secretion systems. *Nature Rev. Microbiol.* 2003; 1:137–149.
- Desvaux M, Parham NJ, Henderson IR. In: The autotransporter secretion system. *Res. Microbiol.* 2004; 155:53–60.
- Gauthier A, Thomas NA, Finlay BB. In: Bacterial injection machines. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:25273–25276.
- Kung C, Blount P. In: Channels in microbes: so many holes to fill. *Mol. Microbiol.* 2004; 53:373–380.
- Llosa M, Gomis-Rüth FX, Coll M, de la Cruz F. In: Bacterial conjugation: a two-step mechanism for DNA transport. *Mol. Microbiol.* 2002; 45:1–8.
- Locher K, Lee AT, Rees DC. In: The *E. coli* BtuCD structure: a framework for ABC transporter architecture and mechanism. *Science*. 2002; 296:1091–1098.
- Manting EH, Driessen JM. In: *Escherichia coli* translocase: the unravelling of a molecular machine. *Mol. Microbiol.* 2000; 37:226–238.
- Palmer T, Sargent F, Berks BC. In: Light traffic: photo-crosslinking a novel transport system. *Trends Biochem. Sci.* 2004; 29:55–57.
- Peabody CR, Chung YJ, Yen MR, Vidal-Ingigliardi, Pugsley AP, Saier MH Jr. In: Type II protein secretion and its relationship to bacterial type IV pili and archaeal flagella. *Microbiology*. 2003; 149:3051–3072.
- van den Berg B, Clemons WM Jr, Collinson I, Modis Y, Hartmann E, Harrison SC, Rapoport TA. In: X-ray structure of a protein-conducting channel. *Nature*. 2004; 427:36–44.
- Wadhams GH, Armitage JP. In: Making sense of it all: bacterial chemotaxis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2004; 5:1024–1037.

Kapitel 15

Original- und Übersichtsartikel

- Bartlett MS. Determinants of transcription initiation by archaeal RNA polymerase. *Current Opinion in Microbiology*. 2005; 8:677–684.
- Bell SD. Archaeal transcriptional regulation – variation on a bacterial theme? *Trends in Microbiology*. 2005; 13:262–265.
- Bentley SD, Parkhill J. Comparative genomic structure of prokaryotes. *Annual Review of Genetics*. 2004; 38:771–792.
- Haugen P, Simon DM, Bhattacharya D. The natural history of group I introns. *Trends in Genetics*. 2005; 21:111–119.
- Johnson A, O'Donnell M. Cellular DNA replicases: components and dynamics at the replication fork. *Annual Review of Biochemistry*. 2005; 74:283–315.

- Kell DB, Brown M, Davey HM, Dunn WB, Spasic I, Oliver SG. Metabolic footprinting and systems biology: the medium is the message. *Nature Reviews Microbiology*. 2005; 3:557–565.
- Kunkel TA, Erie DA. DNA mismatch repair. *Annual Review of Biochemistry*. 2005; 74:681–710.
- Lambowitz AM, Zimmerly S. Mobile group II introns. *Annual Review of Genetics*. 2004; 38:1–35.
- Sistla S, Rao DN. S-Adenosyl-L-methionine-dependent restriction enzymes. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2004; 39:1–19.
- Thomas CM, Nielsen KM. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews Microbiology*. 2005; 3:711–721.

Kapitel 16

- Snyder L, Champness W. *Molecular Genetics of Bacteria*. 2nd ed. Washington: ASM Press; 2003.

Kapitel 17

Bücher

- Atlas RM, Bartha R. *Microbial ecology, fundamentals and applications*. 4th ed. Menlo Park, Ca.: Benjamin/Cummings Publishing Co.; 1997.
- Brock TD, eds. *Thermophiles*. New York: General Molecular and Applied Biology, Wiley Interscience; 1986.
- Geesey GG, Lewandowski Z, Flemming HC. *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems*. London, Tokyo: Lewis Publishers, Boca Raton Ann Arbor; 1994.
- Killham K. *Soil ecology*. Cambridge, London: Cambridge University Press; 1994.
- Kjelleberg S. *Starvation in bacteria*. New York, London: Plenum Press; 1993.
- Paul EA, Clark FE. *Soil microbiology and biochemistry*. 2nd ed. San Diego, New York: Academic Press; 1996.
- Stumm W, Morgan JJ. *Aquatic chemistry*. 3rd ed. New York: John Wiley and Sons; 1996.
- Tannock GW. *Normal microflora – an introduction to microbes inhabiting the human body*. Chapman & Hall; 1995.

Original- und Übersichtsartikel

- Adams MWW. Biochemical diversity among sulfur-dependent, hyperthermophilic microorganisms. *FEMS Microbiol Rev*. 1994; 15:261–277.
- Akkermans ADL, van Elsas JD, de Bruijn FJ. (1995) *Molecular microbial ecology manual*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1995.
- Amann R, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*. 1995; 59:143–169.
- Bagyaraj DJ, Varma A. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and plants. In: Jones JG, eds. *Advances in Microbial Ecology*. New York: Plenum Press. 1995; Vol 14:119–142.
- Breznak JA, Brune A. Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites. *Ann Rev Entomol*. 1994; 39:453–487.

- Cavanaugh CM, Levering PR, Maki SJ, Mitchell R, Lidstrom ME. Symbiosis of methylotrophic bacteria and deep-sea mussels. *Nature*. 1987; 325:346–348.
- Cavanaugh CM, Wirsén CO, Jannasch HW. Evidence for methylotrophic symbionts in a hydrothermal vent mussel (*Bivalvia*: *Hytilidae*) from the mid-atlantic ridge. *Appl Environ Microbiol*. 1992; 58:3799–3803.
- Cavanaugh CM. Symbiotic chemotrophic bacteria in marine invertebrates from sulfide-rich habitats. *Nature*. 1983; 302:58–61.
- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. (1995) Microbial biofilms. *Annu. Rev.* 1995; 49:711–745.
- Des Marais DJ. The biogeochemistry of hypersaline microbial mats. In: Jones JG, eds. *Advances in Microbial Ecology*. New York: Plenum Press. 1995; Vol 14:251–274.
- Ghiorse WC. Biology of iron- and manganese-depositing bacteria. *Ann Rev. Microbiol* 1984; 38:515–50.
- Højberg O, Sørensen J. Microgradients of microbial oxygen consumption in a barley rhizosphere model system. *Appl Environ Microbiol*. 1993; 59:431–437.
- Jakobsen I. Carbon metabolism in mycorrhiza. In: Norris JR, Read DJ, Varma AK, eds. *Methods in Microbiology, Techniques for the study of mycorrhiza*. London: Academic Press. 1991; Vol. 23:149–180.
- Jannasch HW. Life at the sea floor. *Nature*. 1995; 374:676–677.
- Lawrence JR, Korber DR, Wolfaardt GM, Caldwell DE. Behavioral strategies of surface-colonizing bacteria. In: Jones JG, eds. *Advances in Microbial Ecology*. New York: Plenum Press; 1995; Vol. 14:1–75.
- Leadbetter ER, Poindexter JS, eds. *Bacteria in nature*. New York, London: Plenum Press. 1985; Vols. 1–3.
- McHatton SC, Barry JP, Jannasch HW, Nelson DC. High nitrate concentrations in vacuolate, autotrophic marine *Beggiatoa* spp. *Appl Environ Microbiol*. 1996; 62:954–958.
- Pierson B, Oesterle A, Murphy GL. Pigments, light penetration, and photosynthetic activity in the multi-layered microbial mats of Great Sippewissett Salt Marsh, Massachusetts. *FEMS Microbiol Ecol*. 1987; 45:365–376.
- Stetter KO, Fiala G, Huber G, Huber R, Seegerer G. Hyperthermophilic microorganisms. *FEMS Microbiol Rev*. 1990; 75:117–124.
- Thauer RK, Jungermann K, Decker K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev*. 1977; 41:100–180.
- Waterbury JB, Calloway CB, Turner RD. A cellulolytic nitrogen-fixing bacterium cultured from the gland of *Deshayes* in shipworms (*Bivalvia*. *Teredinidae*). *Science*. 1983; 221:1401–1403.
- Wimpenny JWT. Microbial systems: patterns in time and space. *Advances in Microbial Ecology*. 1993; 12:469–522.

Kapitel 18

Bücher

- Alibek K, Handelman S. *Direktorium 15. Russlands Geheimpläne für den biologischen Krieg*. München, Düsseldorf: Econ Verlag; 1999.
- Dusenbery DB. *Verborgene Welten*. Heidelberg: Spektrum Verlag; 1996.
- Hacker J, Heesemann J, Hrsg. *Molekulare Infektionsbiologie*. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 2000.

- Kayser FH, Böttger EC, Zinkernagel RM, Haller O, Eckert J, Deplazes P. Medizinische Mikrobiologie. 11. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme Verlag; 2005.
- Kiper M, Streich J. Biologische Waffen: Die geplanten Seuchen. RoRoRo aktuell 12624. Hamburg: Rowohlt Verlag; 1990.
- Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL, eds. *Helicobacter pylori: physiology and genetics*. Washington: American Society for Microbiology Press; 2001.
- Salyers AA, Whitt DD. Bacterial pathogenesis. A molecular Approach. 2nd ed. Washington DC: American Society for Microbiology Press; 2002.

Original und Übersichtsartikel

- Albrecht C, Geurts R, Bisseling T. In: legume nodulation and mycorrhizae formation; two extremes in host specificity meet. *EMBO-J.* 1999; 18:281–288.
- Atlas RM. In : Bioterrorism: from threat to reality. *Annu. Rev. Microbiol.* 2002; 56:167–185.
- Casadevall A, Pirofski LA. In: The weapon potential of a microbe. *Trends Microbiol.* 2004; 12:259–263.
- Cole LA. In: Biologische Waffen. *Spektrum d. Wiss.* Februar 1987:68–74.
- Gage DJ. In: Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2004; 68:280–300.
- Gelvin SB. In: Agrobacterium and plant genes involved in T-DNA transfer and integration. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 2000; 51: 223–256.
- Nyholm SV, McFall-Ngai MJ. In: The winnowing: establishing the squid-Vibrio symbiosis. *Nature Rev. Microbiol.* 2004; 2:632–642.
- Prusiner SB. In: Frühtests auf Rinderwahnsinn. *Spektrum der Wissenschaften.* Februar 2005; 62–69.
- Prusiner SB. In: Molecular biology of prion diseases. *Science.* 1991; 252:1515–1522.
- Prusiner SB. In: Prionen-Erkrankungen. *Spektrum der Wissenschaften.* März 1995; 44–52.
- Reidl J, Klose KE. In: Vibrio cholerae and cholera: out of the water and into the host. *FEMS Microbiol. Rev.* 2002; 26:125–139.
- Schmitt CK, Meysick KC, O'Brien AD. In: Bacterial toxins: friends or foes. *Emerg. Infect. Dis.* 1999; 5:224–234.
- Soto GE, Hultgren SJ. In: Bacterial adhesins: common themes and variations in architecture and assembly. *J. Bacteriol.* 1999; 181:1059–1071.
- Turton K, Chaddock JA, Acharya KR. In: Botulinum and tetanus neurotoxins: structure, function and therapeutic utility. *Trends Biochem. Sci.* 2002; 27:552–558.
- Visick KL, McFall-Ngai MJ. In: An exclusive contract: specificity in the Vibrio fischeri-Euprymna scolopes partnership. *J. Bacteriol.* 2000; 182: 1779–1787.

Internetadressen

- Bad Bug Book: www.cfsan.fda.gov/%7Emow/intro.html
- Parasitic diseases: www.cdc.gov/ncidod/dpd/parasites/listing.htm

Kapitel 19

Bücher

- Crueger W, Crueger A, Brock RD, eds. *Biotechnology: a textbook of industrial microbiology*, 2nd ed. Sunderland, Mass: Sinauer Associates; 1990.
- Denyer SP, Hodges NA, Gorman SP (ed.). *Hugo and Russel's Pharmaceutical Microbiology*. 7th ed. Oxford, UK, Blackwel; 2004.
- Glick BR, Pasternak JJ. *Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 2003.
- Hugo WB, Russel AD. *Pharmaceutical microbiology*. 5th ed. Oxford, England: Blackwell; 1992.
- Jördening HJ, Winter J, eds. *Environmental Biotechnology – Concepts and applications*. Wiley VCH; 2004.
- Meyers RA, eds. *Molecular biology and biotechnology: a comprehensive desk reference*. Weinheim: VCH; 1995.
- Primrose SB. *Molecular biotechnology*, 2nd ed. Oxford, England: Blackwell; 1991.
- Renneberg R. *Biotechnologie für Einsteiger*. Heidelberg: Spectrum Akademischer Verlag; 2006.
- Wink M, eds. *An introduction to molecular biotechnology*. Wiley VCH; 2006.

Original- und Übersichtsartikel

- Agate AD. Recent advances in microbial mining. *World J Microbiol Biotechnol*. 1996; 12:487–495.
- Barras F, van Gijsegem F, Chatterjee AK. Extracellular enzymes and pathogenicity of soft-rot *Erwinia*. *Annu Rev Phytopathol*. 1994; 32:201–234.
- Handelsman J, Stabb EV. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *Plant Cell*. 1996; 8:1855–1869.
- Kortstee GJJ, Appeldoorn KJ, Bonting CFC, van Niel EWJ, van Veen HW. Biology of polyphosphate-accumulating bacteria involved in enhanced biological phosphorus removal. *FEMS Microbiol Rev*. 1994; 15: 137–153.
- Lettinga G. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1995; 67:3–28.
- Pueppke SG. The genetic and biochemical basis for nodulation of legumèns by rhizobia. *Annu Rec Biotechnol*. 1996; 16:1–51.
- Sahm H, Eggeling L, Eikmanns B, Krämer R. Metabolic design in amino acid producing bacterium *Corynebacterium glutamicum*. *FEMS Microbiol Rev*. 1995; 16:243–252.
- Toerien DF, Gerber A, Lötter LH, Cloete, TE. Enhanced biological phosphorus removal in activated sludge systems. In: Marshall KC, eds. *Advances in Microbial Ecology*. New York, London: Plenum Press. 1990; Vol. 11:173–229.
- Verstraete W, de Beer D, Pena M, Lettinga G, Lens P. Anaerobic bioprocessing of organic wastes. *World Journal of Microbiol and Biotechnol*. 1996; 12:221–238.

Vocabularium

zur Erleichterung der etymologischen Ableitung für die verwendeten Fachausdrücke
(E = englisch, F = französisch, G = griechisch, L = Latein)

A

aboriri (abortus) L = zugrundegehen
(Frühgeburt)
abortivus L = nicht zur vollen
Entwicklung kommend
accipio, accipere L = annehmen
acetum L = Essig
acidus L = sauer
acr, acros G = Luft
adhaereo, adhaerere L = anhaften
adustus L = gebräunt, angebrannt
aerugo L = Grünspan
aes, aeris L = Erz
aggrego, aggregare L = zugesellen,
hinzunehmen
agilis L = beweglich, schnell
aktis, aktinos G = Strahl
alekein G = abwehren
algos G = Schmerz
alias G = anders beschaffen
amber E = Bernstein
ambo L = beide
amphi G = um, herum
ampulla L = kleine Flasche
amylon G = Stärke
anabaino, anabainein G = aufsteigen
anapleroo, anapleroun G = auffüllen,
wieder(an)füllen
angeion G = Gefäß
annulo, annulare L = zunichte machen
anthos G = Blume, Blüte
anthrax G = Kohle, Brandbeule,
Milzbrand
anti G = gegen (als Vorsilbe)
apex, apicis L = Spitze (eines Kegels)
aphanizo, aphanizein G = unsichtbar-
machen
applanatus L = abgeflacht
aqua L = Wasser
arbor, arboris L = Baum
arbuscula, arbusculae L = Bäumchen
archaios G = ursprünglich
armilla L = Armband
arthron G = Glied
askos G = Schlauch
aspergillum L = Wedel zum Besprengen
aspergo, aspergere L = besprengen
aster G = Stern
attenuare L = schwächen
attraho, attrahere L = herbeiziehen
aureus L = golden
autos G = selbst
auxano, auxanein G = vermehren
axon G = Achse

B

bacillum L = Stäbchen
baeo G = Zwerg
bakterion G = kleiner Stab
ballo, balle in G = werfen
basis, base os G = Grundlage
bdallo, bdallein G = melken, saugen
bdella G = Blutegel
benignus L = gütig, freundlich
bifidus L = zweigeteilt, gespalten
bini L = je zwei
bioo, bioun G = leben
bios G = Leben
bis L = zweimal
blepharon G = Augenlid, Wimper
bolos G = Wurf
bos, bovis L = Rind
botulus L = Wurst, Darm
bradys G = langsam
brevis L = kurz

C

caedo, caedere L = fällen, töten
cancer L = Krebs
capsa L = Kasten, Kapsel
carbo L = Kohle
caseus L = Käse
caulis L = Stengel, Stiel
cereus L = aus Wachs, schmierig
cerevisia L = Bier, Hefe
chaite G = Haar, Borste
cheo G = gießen
chimaera L = flammenhauchendes
Untier
chimaira G = Ziege
chiton G = Gewand
chlamys G = Mantel, Kleid
chloros G = hellgrün, bleich
choane G = Trichter
chondros G = Klumpen, Brei, Knorpel
chroma G = Farbe
chronos G = Zeit
chrysos G = Gold
chthon, onos G = Erde
chytra G = Topf
cilium L = Augenlid, Wimper
cinereus L = aschgrau
cinnabaris L = rote Farbe
circino, circinare L = kreisförmig machen
circulo, circolare L = kreisen
circulus L = Kreis
cisterna L = unterirdischer Wasser-
behälter
citrus L = Zitronenbaum

classis L = Abteilung, Klasse
clatratus L = vergittert
clavis L = Schlüssel
coagulo, coagulare L = gerinnen lassen
coccum L = Kern, Beere
code F = Telegrammschlüssel
coelum L = Himmel, Witterung
colo, colere L = bewohnen
color L = Farbe
columella L = kleine Säule
combinatio L = Vereinigung
combindo, combinare L = vereinigen
communis L = gemeinschaftlich
competo, competere L = wetteifern,
zusammentreffen
compleo, complere L = auffüllen
confluo, confluere L = zusammenfließen
coniungo, coniungere L = verbinden
conservo, conservare L = bewahren
consortium L = Gemeinschaft
contamino, contaminare L = berühren,
verderben
convergo, convergere L = sich hinneigen
cornutus L = gehörnt
corrodo, corrodere L = zernagen
cortex L = Rinde
crassus L = dicht, dick
cremor L = Schleim
cribrum L = Sieb
crista L = Kamm, Leiste
cuticula, cuticulae L = Häutchen
cutis, cutis L = Haut

D

daktylos G = Finger
deiknymi, deiknynai G = zeigen
deleo, delere L = zerstören, vernichten
deletio L = Vernichtung
dendron G = Baum
derma G = Haut
deuteros G = der Zweite
dexter L = rechts, rechter
diagnosis G = Unterscheidung
dicha G = zweigeteilt
diktyon G = Netz
diplous G = zweifach
dis G = zweimal
diskos G = Scheibe
dispergo, dispergere L = zerstreuen,
verbreiten
dissolvens L = auflösend
dissolvo, dissolvere L = auflösen,
freimachen
divarico, divaricare L = ausspreizen

duro, durare L = härten, dauern
dysenteria G = Ruhr

E

edaphos G = Boden
eikosi G = zwanzig
ekleipo, ekleipein G = auslassen
ektos G = außerhalb
endon G = innen
enteron G = Eingeweide
epi G = auf
eremos G = leer, entblößt
ergon G = Werk, Tat
eruthros G = rot
eu G = gut
excido, excidere L = herausschneiden
extra L = außerhalb

F

facio, facere L = machen
facultas L = Möglichkeit
faex, faecis L = Bodensatz, Hefe
fascio, fasciare L = umwickeln
fermentum L = Hefe, Sauerteig
ferrugineus L = eisenrostfarbig
ferrum L = Eisen
fertilis L = fruchtbar
fervere L = kochen
fevidus L = siedend, feurig
fibra L = Faser
figo, figere L = befestigen
filum L = Faden, Gewebe
fimbria L = Faden, Franse
fimum L = Mist
flecto, flectere L = biegen
flos, floris L = Blume, Blüte
fluctuatio L = Schwanken, Unstetigkeit
fluctuo, fluctuare L = schwanken
fluor L = Fluss, Strömung
folliculus L Ledersack, Lederschlauch
forma L = Gestalt
fuligo L = Ruß, Schwärze
fulvus L = rotgelb
fungus L = Pilz
fusus L = Faden, Spindel

G

galla L = Gallapfel
gamos G = Heirat
ganos G = Glanz
gaster G = Magen
generatio L = Erzeugung, Zeugung
genesis G = Entstehung, Ursache
genus L = Geschlecht, Art
gigno, gignere L = erzeugen
gignomai, gignesthai, gegona
G = werden
globo, globare L = runden, zu einem
Haufen versammeln

globus L = Kugel, Klumpen
gloios G = klebrige Masse
glomus, glomers L = Knäuel
glykys G = süß
gnosis G = Kenntnis
gonos G = Spross
gossypium L = Baumwolle
grandis L = groß
grapho, graphein G = schreiben
gratis L = umsonst
gratuitus L = umsonst, unentgeltlich,
gratis
griseus L = grau
gyne, gynaikos G = Frau
gyros G = Ring, Kreis, rund, gerundet

H

habitare L = wohnen
haima G = Blut
helix G = Drehung, Spirale
helveticus L = schweizerisch
helvus L = honiggelb
hepta G = sieben
hermaphroditos G = Zwitter
herpeton G = kriechendes Tier
heteros G = der andere von beiden
heuristic, heuriskein G = finden
hexadeka G = sechzehn
hirsutus L = stachlig, struppig,
schmucklos
holos G = ganz
homoios G = gleich, ähnlich
hormao, horman G = in Bewegung
setzen
hyalos G = Glas
hybrida L = Mischung
hydor G = Wasser
hymen G = dünne Haut
hyper G = übermäßig (als Vorsilbe)
hyphos G = Gewebe
hypo G = unter (als Vorsilbe)
hypothesis G = Vorschlag, Vermutung

I

ictus L = Stoß
immunis L = unversehrt, frei
imperfectus L = unvollendet
induco, inducere L = hineinführen,
veranlassen
infesto, infestare L = angreifen,
gefährden
inficio, inficere L = färben, vergiften
inhalo, inhalare L = anhauchen,
einatmen
insero, inserere L = einfügen,
einpflanzen
insertio L = Einfügung, Einpflanzung
integratio L = Wiederherstellung,
Erneuerung

intra L = innerhalb
isos G = gleich

K

kampylos G = gekrümmt, gebogen
karpos G = Frucht
karyon G = Nuss, Kern
kata G = herab (als Vorsilbe)
kephale G = Kopf
kineo, kinein G = bewegen
klados G = Zweig
kleio, kleiein G = schließen
klino, klinein G = neigen
koinos G = gemeinsam
koleon G = Scheide
kollybos G = kleine Münze
konis G = Staub
kopros G = Mist
kormos G = Baumstamm
koryne G = Keule, Stock
krypto, kryptein G = verbergen
kyanos G = blaue Farbe
kybernao G = steuern, lenken
kybos G = Würfel
kyklos G = Kreis
kyon G = Hund
kystis G = Blase
kytos G = Höhlung, Zelle

L

labor, labi L = gleiten, fallen
lacrima, lacrima L = Träne
laevus L = links, linker
lampros G = hell, klar
lateo, latere L = verborgen sein
latus L = breit
latus, lateris L = Seite
legnon G = Borte, Rand
leichen G = Moos, Flechte
leptos G = fein, dünn
letalis L = tödlich
leukos G = weiß
lignum L = Holz
ligo, ligare L = binden, verbinden
limicola L = Schlammbewohner
limne G See, Teich, Sumpf
limus L = Schlamm
lino, linere L = bedecken, bestreichen
lipos G = Fett, Talg, Öl
lithos G = Stein
lobos G = Lappen
logos G = Wort, Lehre, Vernunft
lophos G = Hügel, Helmbusch,
Haarschopf
lumen, luminis L = Licht, Leuchte,
lichte Weite
luna L = Mond
lux L = Licht
lyo, lyein G = lösen

M

macero, macerare L = mürbe machen, schwächen
 malignum L = böswillig, gefährlich
 marcesco, marcescere L = faul werden, vermodern
 matrix, matricis L = Muttertier, Mutterboden
 megas G = groß
 meio G = verringern
 meion G = weniger
 mel, mellis L = Honig
 melas G = schwarz
 meninx G = Häutchen
 mensa L = Tisch
 mergo, mergere L = versenken
 merismos G = Teilung
 meros G = Teil
 mesos G = der Mittlere
 meta G = (als Vorsilbe) bedeutet: Veränderung
 migro, migrare L = wandern
 mikros G = klein
 mitos G = Faden
 mixis G = Vermischung
 mobilis L = beweglich
 monile L = Halsband
 monos G = allein, einzeln
 morphe G = Gestalt
 mucor L = Schimmel, Moder
 multus L = viel, zahlreich
 murus L = Mauer, Wand
 mutatio L = Veränderung, Wechsel
 muto, mutare L = verändern, wechseln
 mutuus L = wechselseitig
 mykes G = Pilz
 myon G = Muskel
 myxa G = Schleim

N

nanus L = Zwerg
 nato, nare L = schwimmen
 neco, necare L = töten
 necto, nectere L = knüpfen
 nekros G = Toter, Leichnam
 nema G = Faden
 neura G = Sehne
 nidulor, nidulans L = ein kleines Nest bauend
 nidus L = Nest
 niger L = schwarz
 nodosus L = knotig
 nomos G = Gesetz
 noto, notare L = kennzeichnen
 novellus L = neu
 novus L = neu
 nucleus L = Kern

O

occultus L = verborgen
 ochros G = bleich, gelb

oculus L = Auge
 oikos G = Haus, Haushalt
 okto G = acht
 oligos G = wenig
 oma G = Geschwulst
 omnis L = ganz, jeder
 onkos G = Anschwellung, Geschwulst
 oon G = Ei
 operator L = Arbeiter, Verrichter
 operor, operari L = arbeiten, beschäftigt sein
 opsis G = das Sehen
 organon G = Werkzeug, Organ
 oryza L = Reis
 oscillum L = Schaukel
 osmos G = Stoß, Antrieb
 ouron G = Urin

P

pagus L = Ort, Bezirk
 pallidus L = bleich
 paluster L = sumpfig
 panus L = Geschwulst
 par L = gleich, ähnlich
 parasitos G = Schmarotzer
 paro, parare L = (zu)bereiten
 partior, partiri L = teilen
 parvus L = klein
 pathos G = Leid, Leiden
 patior, pati L = dulden
 pecten L = Kamm
 pelos G = Schlamm
 pente G = fünf
 perficio, perficere L = vollenden
 peri G = herum
 permeo, permeare L = hindurchgehen
 perone G = Nadel
 petra G, L = Fels
 phagein G = essen
 phaino, phainein G = zeigen
 phaios G = grau, bräunlich
 phero, pherein G = tragen
 philos G = Freund
 phleas G = Schilf
 phobeo, phobein G = erschrecken
 phormos G = Korb
 phos, photos G = Licht
 phthora G = Zerstörung
 phykos G = Seetang
 phyllon G = Blatt
 physis, physeos G = Natur, Wuchs
 phyton G = Pflanze
 pikros G = scharf, bitter
 pilum L = Speer, Wurfspieß
 pilus L = Haar
 pino, pinein G = trinken
 pix, picis L = Pech
 planes G = wandern
 plankton G = das Umhergetriebene
 planus L = flach, eben

plaque F = Platte, Schild
 plasma G = Gebilde
 platto, platte in G = formen, bilden
 pleko, plekein (plektos) = flechten (geflochten)
 pleura G = Seite, Flanke
 plico, plicare L = falten
 pneuma G = Hauch
 pneumonia G = Lungenkrankheit
 poieo, poiein G = machen, bewirken, hervorbringen
 pollen L = feines Mehl
 polos G = Drehpunkt
 polys G = viel
 populus L = Volksmenge, Bevölkerung
 potens L = mächtig, bewirkend
 pous, podos G = Fuß
 prodigiosus L = unnatürlich, Wunder
 promotor L = Vermehrter
 promoveo, promovere L = vergrößern, vorwärts bringen
 pros G = hinzu (als Vorsilbe)
 prostheka G = Anhängsel
 proteus G = griech. Gottheit (gestaltwandelnder Meergeris)
 protos G = der erste
 pseudo, pseudein G = täuschen
 psittakos G = Papagei
 psychros G = kalt, kühl
 purpureus L = purpurfarben
 putidus L = faul, morsch
 pyon G = Eiter
 pyr, pyros G = Feuer
 pyren G = Kern

Q

quasi L = als ob
 quintus L = der Fünfte

R

racemus L = Beere, Traube
 radius L = Stab, Strahl
 radix L = Wurzel
 rami ger L = Zweige tragend
 ramus L = Ast, Zweig
 re- L = zurück-, wieder-
 reciprocus L = zurückkehrend, zurückwirkend
 reduplicatio L = Verdopplung, Wiederholung
 repello, repellere L = zurückstoßen
 replicatio L = das Zurückfalten, Wiederholung
 reprimor, reprimere L = zurückdrängen, hemmen
 resisto, resistere L = widerstehen
 restringo, restrictus, restringere L = beschränken
 reticulum L = kleines Netz

retro L = zurück
 revento, revertere L = zurückkehren
 rhage G = Riss
 rhiza G = Wurzel
 rhodon G = Rose
 rivus L = Bach
 ruber, rubrum L = rot
 rufus L = rot
 rugosus L = faltig
 rumen L = Pansen
 rumino, ruminare L = wiederkäuen

S

sacculus L = kleiner Sack
 saeptum L = Gehege, Verzäunung
 sal L = Salz
 saliva L = Speichel
 salivarius L = schleimig
 sapos G = verfault
 sarcina L = Bündel, Gepäck
 sarcos G = Fleisch
 schizo, schizein G = spalten
 secale L = Getreide (eine Art)
 segregatio L = Absonderung, Trennung
 segrego, segregare L = absondern, trennen
 selene G = Mond
 semi L = halb
 sensus L = Sinn, Gefühl
 sentio, sentire L = fühlen, merken
 sepo, sepein G = faulen lassen
 sexus L = Geschlecht
 sideros G = Eisen
 situs L = Lage, Stellung
 skleros G = hart, rau
 skopeo, skopein G = betrachten
 skotos G = Finsternis, Dunkel
 socius L = Gefährte
 solidus L = gediegen, massiv
 solitus L = gewöhnlich
 solvo, solutus L = lösen, gelöst
 soma G = Körper
 sordes L = Schmutz
 soros G = Behälter, Haufen
 species L = Art, Erscheinung
 speira G = Windung
 sphaira G = Kugel
 spira L = Windung
 sporos G = Saat
 staphyle G = Traube
 stear G = Talg
 stele G = Säule
 stereos G = fest, hart, räumlich
 sterigma G = Stütze
 sterilis L = unfruchtbar
 sto, stare L = stehen
 stolo L = Wurzelspross
 stoma G = Mund
 stratum L = Schicht
 strepho, strephein G = drehen

stringo, stringere L = zusammenziehen
 strobilos G = Wirbel, Kreisel
 stroma G = Unterlage, Lager, Teppich
 stylos G = Pfeiler, Stütze
 styptikos G = verstopfend
 submergo, submergere L = versenken, untertauchen
 substerno (substratus) L = unterlegt (ausgebreitet)
 subtilis L = fein, dünn
 sucinum L = Bernstein
 sucus L = Saft
 sulfur G = Schwefel
 suppleo, supplere L = auffüllen, ergänzen
 suppressor L = Unterdrücker, Verhehler
 supprimo, supprimere L = zurückhalten, unterdrücken
 suspendo, suspendere L = aufhängen
 symbiosis G = Zusammenleben
 syn G = zusammen mit
 synecho, synechein G = zusammenhalten, geschlossenhalten
 to screen E = durchsieben

T

tachys G = schnell
 tardus L = langsam, träge
 taxis, taxeos G = Ordnung, Aufstellung
 teichos G = Mauer
 telos G = Ende
 tempero, temperare L = mäßigen, mäßig sein
 tenax L = hartnäckig, fest
 tenuis L = zart, fein
 terminator L = Beendiger
 tettares G = vier
 thallos G = grüner Zweig
 thamnos G = Busch, Strauch
 theion G = Schwefel
 theke G = Kasten, Kiste
 therion G = Tier
 thermos G = warm
 thrix, trichos G = Haar
 thuringiensis L = thüringisch
 thylakos G = Sack
 tithemi, tithenai G = setzen, stellen, legen
 tolero, tolerare L = ertragen
 tolype G = Knäuel
 tomaculum L = Wurst
 tome G = Schnitt
 tonos G = Spannung
 topos G = Ort, Gegend
 toxikon (pharmakon) G = Pfeilgift (Heilmittel)
 transeo, transire L = (hin)übergehen
 transfero, translatus, transferre L = übertragen
 transitio L = Hinübergehen, Übergang

transpono, transponere L = hinübersetzen
 treis, tria G = drei
 tremo, tremere L = zittern
 trepho G = ernähren
 trepo, trepein G = wenden, drehen
 trichos G = Haar (s. thrix)
 trope G = Wechsel, Wende
 trophe G = Nahrung
 tropos G = Richtung, Wendung
 tuber L = Höcker, Beule
 tubulus L = kleine Röhre
 tumor L = Geschwulst
 turbo, turbare L = verwirren
 typhos G = Fieber
 typos G = Gepräge, Form

U

ubique L = überall
 ultra L = jenseits
 undula L = kleine Welle
 uredo L = Brand an Gewächsen
 uro, ustus L = (ver)brennen, verbrannt
 utilis L = nützlich
 uva L = Traube

V

valeo, valere L = wert sein, gelten
 vermögen
 vario, variare L = verändern
 varius L = verschieden, bunt
 ventriculus L = kleiner Bauch
 venus L = Schönheit, Reiz
 versi-color L = buntfarben, schillernd
 versus L = geändert
 verito, vertere L = wenden
 vesicula L = Bläschen
 vinosus L = weinartig
 viridesco, viridescere L = grün werden
 viridis L = grün
 virulentus L = giftig
 virus L = Gift, Saft
 viscidus L = klebrig, zäh
 vitis L = Rebe
 vitreus L = gläsern
 vitrum L = Glas
 vivus L = lebend, lebendig
 volumen L = Rolle, Wirbel
 voluto, volutare L = wälzen, drehen
 voro, vorare L = verschlingen

X

xylon G = Holz

Z

zoon G = Lebewesen
 zyme G = Hefe, Sauerteig
 zygos G = Joch, Zweigespann, Brücke

Bildnachweis

- Bakterienlicht und Wurzelpilz: Endosymbiosen in Forschung und Geschichte. Marburg: Basiliken-Presse; 1998.
- Blech J. Leben auf dem Menschen. Reinbeck: Rowohlt; 2002.
- Bracegirdle B, ed. Beads of glass: Leeuwenhoek and the early microscope. Catalogue of an exhibition in The Science Museum, London; 1983.
- Castón RJ, Trus BL, Booy FP, Wickner RB, Wall JS, Steven AC. J. Cell. Biol. 1997; 138:975.
- Curtiss R III, Caro LG, Allison DP, Stallions DR. Early Stages of Conjugation in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 1969; 100:1091.
- Daims H, Nielsen JL, Nielsen PH, Schleifer K-H, Wagner M. Appl. and Environ. Microbiol. 2001; 67:5273.
- Doddema HJ, Vogels GD. Appl. Environ. Microbiol. 1978; 36:752.
- Doenecke D, Koolman J, Fuchs G, Gerok W. Karlsons Biochemie. 15. Aufl. Stuttgart, New-York: Thieme; 2005.
- Gängler P, Hoffmann T, Willershausen B, Schwenzer N, Ehrenfeld M. Konservierende Zahnheilkunde, 2. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme; 2005.
- Garrity GM, ed. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Heidelberg, Berlin, New York: Springer; 2005.
- Haeckel E. Allgemeine Entwicklungsgeschichte der Organismen. Berlin; 1866.
- Hakenbeck and Ghuysen, eds. New comprehensive biochemistry, Vol. 27. London, Amsterdam, New York: Elsevier;
- Hof H, Dörries R. Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie. 3. Aufl. Stuttgart, New York; Thieme; 2004.
- Hyun HH, Zeikus JG, Longin R, Millet J, Ryter A. Ultrastructure and extreme heat resistance of spores from thermophilic *Clostridium* species. J. Bacteriol. 1983; 156:1332.
- Kandler, O. Naturwissenschaften 1979; 66:95.
- Kayser FH, Böttger EC, Zinkernagel RM, Haller O, Eckert J, Deplazes P. Medizinische Mikrobiologie. 11. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme; 2005.
- Klieneberger-Nobel E, Cuchow FW. J. gen. Microbiol. 1955; 12:95.
- Knippers, R. Molekulare Genetik, 8. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme; 2006.
- Köhler W, Eggers HJ, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer G (Hrsg.). Medizinische Mikrobiologie. 8. Aufl. München: Elsevier GmbH, Urban & Fischer; 2001.
- Kornberg A, Baker TA. DNA Replication. 2nd ed. New York: Freeman; 1992.
- Lehmann, H. Biologie in unserer Zeit. 1979; 9:129.
- Lengeler JW, Drews G, Schlegel HG. Hrsg. Biology of the Prokaryotes. Stuttgart, New York: Thieme; 1999.
- Lin LP, Pankratz S, Sadoff HL. J. Bacteriol. 1978; 135:641.
- Listgarten H.J. Bacteriol. 1964; 88:1087.
- Lodisch H, Berk A, Zipursky SL, Matsudeira P, Baltimore D, Darnell JE. Molekulare Zellbiologie. 4. Aufl. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 2001.
- Miller I, Kandler O. Milchwiss. 1967; 22 686.
- Nelson DC, Jørgensen BB, Revsbech NP. Growth pattern and yield of a chemoautotrophic *Beggiatoa* sp. in oxygen-sulfide microgradients. Appl. Environ. Microbiol. 1986; 52:225.

- Östling J, Holmquist L, Flärd K, Svenblad B, Jouper-Jan A, Kjelleberg S. Starvation and Recovery of *Vibrio*. In: Kjelleberg S, ed.: Starvation in Bacteria. pp. 102–127. New York: Plenum Press; 1993.
- Parkes RJ, Cragg BA, Bale SJ, Getliff JM, Goodman K, Rochelle PA, Fry JC, Weightman AJ, Harvey SM. Deep bacterial biosphere in Pacific Ocean sediments. *Nature* 1994; 371, 410.
- Pfennig N. *Ann. Rev. Microbiol.* 1967; 21:285.
- Remsen CC, Valois FW, Watson SW. *J. Bacteriol.* 1967; 94:422.
- Schlegel HG. *Geschichte der Mikrobiologie*. Halle: Acta Historica Leopoldina Nr. 28, Deutsche Akademie der Naturforscher. 1999.
- Shu P, Johnson JM. *J. Bacteriol.* 1948; 56:577.
- Sitzmann CS. *Duale Reihe Pädiatrie*. 2. Aufl. Stuttgart, New York: Thieme; 2002.
- Stragier P, Losick R. *Annu. Rev. Genet.* 1996; 30:297.
- Trüper HG, Pfennig N. In: Starr MP, Stolp H, Trüper HG, Balows A, and Schlegel HG (eds.) *The prokaryotes*, Vol. 1. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 1981.
- Wadhams GH, Armitage JP. Making Sense of it all. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2004; 5:1024.

Sachverzeichnis

Halbfette Seitenzahl: Auf dieser Seite wird das Stichwort ausführlich besprochen.

- A**
- A-B-Toxine 585
 - Cholera toxin 584
 - AAV (adeno-assoziierte Viren) 114
 - Abbau
 - Aminosäuren 300
 - aromatische Verbindungen 302
 - Cellulose 287
 - Chitin 290
 - Fettsäuren 312
 - Heterozyklen 314
 - Kohlenwasserstoffe 308
 - Lignin 292
 - Lipide 296
 - Murein 291
 - niedermolekulare Substanzen 297
 - Nukleinsäuren 296
 - Pectin 289
 - Polysaccharide 290
 - Proteine 295
 - Purine 314
 - Pyrimidine 314
 - Stärke 291
 - Xenobiotika 315
 - Zucker 298
 - ABC-Transporter 269
 - bindepoteinabhängige 269
 - Maltose 273
 - Substratbindepotein 269
 - Abluftreinigung 630
 - Absterbephase 175
 - Abtötung 180f.
 - Abwasserbehandlung 25, 332, **625**
 - anaerobe 629
 - Abweidung 532
 - Acetat 366
 - Assimilation 225
 - Entstehung im Termitendarm 568
 - Acetatkinase **350**, 366, 372
 - Acetobacter*
 - Essigsäureproduktion 604
 - unvollständige Oxidationen 317
 - Acetobacter diazotrophus* 577
 - Acetobacter pasteurianus* 143
 - acetogene Bakterien 326, 400
 - Acetogenese 377, **400**
 - Aceton 371
 - Acetosyringon 85
 - Acetyl-CoA-Carboxylase 256
 - Acetyl-CoA-Synthase/CO-Dehydrogenase **249**, 344, 398, 400
 - Acetyl-CoA-Weg 251
 - oxidativer 210
 - reduktiver **248**, 389, 401
 - Acetylen-Reduktionstest 238
 - Acetylierung, posttranslationale Kontrolle 494
 - Acetylserin-Sulphydrylase 239
 - Acidianus* 336f
 - Acidithiobacillus* 334, 339
 - Acidithiobacillus ferrooxidans* 562
 - Acidithiobacillus thiooxidans* 562
 - Acidocalcisomen 144
 - acidophil 161, 562
 - acidotolerant 161, 562
 - Acinetobacter*, auf der Haut 579
 - Aconitat-Hydratase 209
 - ACP (Acyl-Carrier-Protein) 256
 - Acrasmiomyceten 94
 - Acremonium* 64
 - Acryloyl-CoA 372
 - Actin 60
 - Actinomycin 182, 450, 616
 - Actinring 92
 - Acyl-Carrier-Protein (ACP) 256
 - Acyl-CoA-Dehydrogenase 313
 - Acylhydrolase 296
 - Adanson'sche Prinzipien 47
 - Adaptation
 - an einen Lebensraum 528
 - Chemotaxis 519
 - chromatische 424
 - Adaptationsvermögen 14
 - adaptive Mutationen 446
 - Adeninnukleotide 244
 - adeno-assoziierte Viren (AAV) 114
 - Adenosinphosphosulfat (APS) 238, 337, 390
 - Adenoviren 107, 109
 - Adenylatcyclase, Glucoserepression 505
 - Adenylatkinase 240, 244
 - Adenylierung
 - Kontrolle 516
 - posttranslationale Kontrolle 494
 - Adenyltransferase 516
 - Regulation Glutaminsynthetase 517
 - Adhärenz 582
 - Adhäsine 575, 582
 - ADP-Glucose 260
 - ADP-Ribosylierung
 - *Corynebacterium* 587
 - *Yersinia* 588
 - Adsorption 100
 - Aecidien 89
 - Aecidosporen 89
 - Aerenchym 556
 - aerob 160
 - aerobe Kultivierung 164
 - aerobe Wasserstoffoxidation 342
 - aerobic respiratory control (ArcBA) 508
 - Aerotaxis 141, **221**
 - Regulation 507
 - negative 238
 - aerotolerant 160, 353
 - Aestuarien 563
 - Affinitätskonstante (KM) 178
 - Aflatoxin 88, **618**
 - Agar 163, 290
 - Agaricus bisporus* 63, 69, 86
 - Agaricus bitorquis* 82
 - Agarose 163
 - Agarosegelelektrophorese 478
 - Agenzien, alkylierende 449
 - Aggregate 537
 - Agmatin 302
 - Agrobacterium tumefaciens* 465, **593f**
 - Tumorinduktion 593
 - AIDS 590
 - Akineten 413
 - Akridinorange 450
 - Aktinorhiza 577
 - Aktionsspektrum, Photosynthese 431
 - Aktivatorprotein 501
 - Aktivierungsenergie 197
 - D-Ala-D-Ala siehe D-Alanyl-D-Alanin-Dipeptid
 - β-Alanin, Pyrimidinabbau 315
 - D-Alanyl-D-Alanin-Dipeptid 134, 260
 - Alarmone 497, 505
 - Struktur 505
 - Alcaligenes* 556
 - auf der Haut 579
 - Aldehyd-Oxidase 222
 - Aldehyd-Reduktase 223
 - Aldehyde 187
 - Aleuria aurantia* 71
 - Algen 8
 - Alginat 619
 - Alicyclobacillus acidocaldarius* 184
 - alkaliphil 161, 562
 - Alkaloide, biotechnologische Herstellung 618
 - Alkane, Abbau 308
 - Alkan-Monooxygenase 308
 - Alkene, Abbau 309
 - Alkoholdehydrogenase 360
 - Reaktion 199
 - unvollständige Oxidation 317
 - Alkohole 180
 - alkoholische Gärung 359
 - alkylierende Agenzien 449
 - Allergien, mycogene 81
 - allochthon 528
 - Allolactose 505
 - allosterische Effektoren 197
 - allosterische Regulation 227
 - Alphaviren 114

- Amanita muscaria* 87
Amanita phalloides 87
 Amanitatoxin 618
 α -Amanitin 87
 Ameisensäure 187
 – Formaldehydoxidation 309
 Ames-Test 449
 Amidotransferasen 235
 Amin, primäres 302
 Aminoacyl-tRNA-Synthetasen 252, **471**
 4-Aminobenzoat 181
 6-Aminopenicillansäure 611, 614
 Aminopeptidase 295
 2-Aminopurin 449
 Aminosäure-Ammoniak-Lyase 302
 Aminosäuredecarboxylase 302
 Aminosäuremangel, stringente
 Kontrolle 510
 Aminosäuren 24
 – Abbau 300
 – Biosynthese 252
 – biotechnologische Produktion 610
 – Gärung 374
 D-Aminosäuren 135
 Aminosäure-Oxidase 222
 Aminotransferasen 235
 Ammenpilze 21
 Ammoniak 234
 – Eliminierung 301
 – im Abwasser 628
 Ammoniakmonooxygenase 133
 Ammonium 159
 Ammonium-Assimilation, Reaktionen
 236
 Ammonium-Monooxygenase 330
 Ammoniumoxidation 330
 – anaerobe 553
 – – in der Abwasserreinigung 628
 Amöben 21, 532
 Amphibolismus 195, 226
 amphiphil 180
 α -Amylase 291f
 β -Amylase 291
 Amylase, biotechnologische Herstellung
 620
 Amylopectin 143, **291**
 – Abbau 291
 – Struktur 291
 Amylose 143, 291
 Amytal 216
Anabaena azollae 577
Anabaenopsis 562
 Anabolismus 195
 anaerob, fakultativ 160
 anaerob, obligat 160
 anaerobe Atmung, Produkte 324
 anaerobe Wasserstoffoxidation 342
 Anaerobenbank 165
 Anaerobenkultur 165
 Anaerobentöpfe 165
 Anaerobier, thermophile 9
- Anaerobiose 220
 Anammox 386
 – Energetik 332
 Anammox-Bakterien **327**, 383
 Anammoxprozess 385, 553
 Anamorph 63
 anaplerotische Reaktionen 223
 – Enzyme 225
 – Sonderfälle 225
 Anastomosen 60
 Änderungen, elektrochrome 431
 Angriff, terminaler, Alkanabbau 309
 3,6-Anhydrogalactose 290
 anisotrop 60
 Anlaufphase 174
 Anlaufzeit 176
Anophora paradoxa 413
 anorganische Elektronendonatoren
 328
 anoxisch 164
 Anreicherungskultur 14, **166f**
 Ansteckungskrankheiten 3f
 Antennenkomplexe 424
 Antherenbrand 88
 Antheridien 93
 Anti- σ -Faktor 512
 – σ^B 512
 Anti-Anti- σ -Faktor 512
 Antibiotika 24, 86, 149, **181**, 187
 – Angriffsorte 150
 – Konkurrenzvorteil für Produzenten
 612
 – β -Lactam-Antibiotika 151
 – Makrolide 616
 – Multiresistenz 587
 – Nachweis 613
 – Polypeptidantibiotika 617
 – Produktion, Optimierung 617
 – Symbiosen 579
 – Verbrauchsstatistik 612
 – Wirkungsweise 150
 Anticodon 42, **471**
 Antigene 587
 Antigenvariation 587
 Antimetabolite 181
 Antiphagozytose 586
 Antiport 270
 Antisense-Therapie 117
 Antwortregulator 499
 – Zweikomponentensystem 499
 Apfelschorf 594
 Apothecien 71
 Apparat, konjugativer, Induktion
 520
 Appressorien 76, 79
 APS (Adenosinphosphosulfat) 238, 337,
 390
 – -Kinase 239
 – -Reduktase 239, 390
 Aquaporine 516
Aquifex aeolicus 53
- ara*-Operon 502
 Arbuskel 76
 ArcBA *siehe* Aerobic respiratory Control
 Archaeobakterien 8, **34f**, 53, 110, 393
 – acetogene 400
 – Crenarchaeota 54
 – Euryarchaeota 53
 – extrem halophile 34
 – – Fütterungskette 542
 – halophile 162
 – hyperthermophile 34, 393
 – methanogene 34, 326, **396**
 – Schwefelreduktion 393
 – thermophile 558
 – Translation 475
 Arginin 253
 Aromatenabbau 302
 – aerober 302
 – anaerober 305
 – Cometabolismus 316
 – Varianten 308
 Aromatenfamilie 252
 ARS-Elemente 84
 Arsenat 181, 403
 Arterivirus 114
Arthrobacter 577
 Ascomyceten **64**, 76
 Ascorbinsäure, biotechnologische
 Herstellung 618
 Ascus 64
 – Analyse 84
 asexuelle Sporangien 64
 asexuelle Vermehrung 66
Ashbya gossypii 92
 – Vitamin-B₂-Herstellung 86
 – Vitamin-B₁₂-Herstellung 618
 Aspartat 232
 – Abbau 307
 Aspartatfamilie 252
Aspergillus 64
Aspergillus flavus 87
Aspergillus nidulans 63, 71
Aspergillus niger 86
 – Citronensäureproduktion 607
Aspergillus oryzae, Herstellung von
 Reiswein 292
 Assimilation 233ff
 Assimilationsraten 233
 Assoziation, syntrophe **543**, 553
 Atmung
 – aerobe, Regulation 507
 – anaerobe
 – – Produkte 324
 – – Regulation 507
 – Protonenextrusion 218
 Atmungsenzyme, alternative 508
 Atmungskette 324, **328**
 – Anordnung der Redoxsysteme
 216
 – Anpassung an Sauerstoffverhältnisse
 217

- Chinone 214
 - Cytochrome 214
 - Eisen-Schwefel-Proteine 214
 - Flavoproteine 214
 - Hemmstoffe 216
 - Komplex I 215
 - Komplex II 216
 - Komplex III 216
 - Komplex IV 216
 - Komponenten 213
 - Normalpotenziale der Komponenten 212
 - Prinzip 210
 - verzweigte **217, 508**
 - Wirkungsgrad 219
 - Atmungsschutz 238
 - Atomic Force Microscopy 128
 - ATP **201, 232f, 240, 243**
 - Ausbeute 351
 - Struktur 201
 - Synthese 219
 - Übertragung des Phosphats 243
 - ATP-Citratlyase 248
 - ATP-Sulfurylase 239
 - ATP-Synthase 210
 - Reaktionsablauf 219
 - Struktur 219
 - Umkehrbarkeit 219
 - Attenuation 500, **503**
 - Haarnadelstruktur 504
 - Leitpeptid 504
 - Tryptophanbiosynthese 503
 - Auflösungsvermögen 12
 - Auftriebsgebiet 552
 - Aufzucht, sterile 185
 - Aureobasidium pullulans* 292
 - Aureomycin 616
 - Auskeimung 148
 - Ausplattierung 166
 - Aussatz 4
 - Ausstreichen 168
 - Auswaschrare 178
 - autochthon 528
 - Autoinduktor 505
 - Autokinaseaktivität, CheA 519
 - Autoklav 183
 - Autolyse 88, 175
 - autonom replizierende Sequenzen 84
 - Autoökologie 525
 - Autoregulation, Translation 510
 - autotroph 158
 - Autotrophie 245
 - auxotroph 157
 - Avirulenzgene 79
 - Azid 166, 216, 238
 - Azoarcus* 577
 - Azorhizobium caulinodans*, Stickstofffixierung 574
 - Azotobacter* 556
- B**
- b₆f-Komplex 428f
 - BAC (bacterial artificial Chromosome) 480
 - Bacillus* 161, 556
 - im Stuhl 580
 - Bacillus anthracis* **4, 587**
 - biologische Kriegsführung 596
 - Steckbrief 587
 - Bacillus polymyxa* 143
 - Bacillus subtilis* 51
 - Bacillus thuringiensis* 146
 - Schädlingsbekämpfung 634
 - Bacitracin **150f, 260, 617**
 - Bacterial artificial Chromosome (BAC) 480
 - Bacteriocine **444, 617**
 - Bacteroides*, im Stuhl 580
 - Bacteroides fragilis* 52
 - Bactoprenol 258
 - Baeocyten 413
 - Baeyer-Villiger-Oxidation 309
 - Bakterien
 - acetogene 326
 - acidophile 562
 - acidophile Fe²⁺-oxidierende 339
 - acidotolerante 562
 - alkalophile 562
 - Anammox 327, 383
 - anoxygene phototrophe 413
 - Vorkommen 415
 - chemolithotrophe 323
 - Isolierung 325
 - Stoffwechseltypen 326
 - eisenoxidierende 535
 - extremophile 558
 - fakultativ anaerobe, Wachstum 507
 - grüne 53
 - homoacetogene 569
 - hyperthermophile 559
 - im Boden 556
 - magnetotaktische 535
 - methanotrophe 133, 327
 - methanoxidierende 535
 - Nachweis in einer Population 535
 - nichtkultivierbare, Nachweis 538
 - nitrifizierende 133
 - oxidasepositive 215, 220
 - oxidasenegative 217, 220
 - oxygene phototrophe 409
 - pflanzenpathogene 593
 - phosphatspeichernde 628
 - phototrophe 407
 - anoxygene aerobe 415
 - Anreicherungskultur 417
 - Stammbaum 414
 - Tabelle 411
 - thermophile 419
 - thermophile 558
 - Bakterienchromosom 31
 - Bakterienkolonie 164
 - Bakterienmassenbestimmung 169
 - Bakterienräuber 21
 - Bakterienwelke 593
 - Bakteriochlorophylle 190, 420, **421**
 - Struktur 422
 - Bakteriophage Lambda 101, 107, **456, 466**
 - Attachment Site 456
 - Excisionase 456
 - Integrase 456
 - Integration Host Factor 456
 - Bakteriophage f1 112
 - Bakteriophage f2 114
 - Bakteriophage fd 112
 - Bakteriophage M13 101ff, 112
 - Bakteriophage MS2 114
 - Bakteriophage Mu 455, 457
 - Bakteriophage P1 466
 - Bakteriophage Φ29 102
 - Bakteriophage Φ6 118
 - Bakteriophage ΦX174 102, 104, 113
 - Bakteriophage ΦX174 113
 - Bakteriophage Qβ 114
 - Bakteriophage R17 114
 - Bakteriophage T4 102, **107**
 - Bakteriophagen 21, 99f
 - Basalplatte 107
 - Cystoviridae 118
 - doppelsträngige-DNA- 106
 - Ff-Phagen 112
 - Kopf 107
 - Krage 107
 - ökologische Rolle 532
 - recycling 113
 - RF-Form 112
 - Rolling Circle 113
 - Schwanz 107
 - Schwanzfasern 107
 - temperente 101
 - therapie 100
 - vektoren 107
 - Bakteriorhodopsin 435
 - sensorisches 435
 - Bakteriostatika 611
 - bakteriostatische Wirkung 180
 - Bakterizide 180, 611
 - Bakteroid 574f
 - Baltimore-Schema 105
 - Banded Iron Formations (BIFs) 11, 564
 - barophil 551
 - Bary, Anton de 5
 - Basalkörper 139
 - Basalplatte, Bakteriophagen 107
 - Basenanaloga 449
 - Basenrollwinkel 441
 - Basidien 63
 - Basidiomyceten **63, 76**
 - Basidiosporen 89
 - Baustoffwechsel, Gene 233
 - Bauxit 564

- Beggiatoa* 324, 335
 – Gradientenorganismus 535
 – Vakuolen 552
 Beijerinck, Martinus 5, 99
 Belebtschlamm 626
 Belüftung 164
 – in der Biotechnologie 603
 Benzoesäure 187
 Benzoyl-CoA, Aromatenabbau 306
 Benzoyl-CoA-Reduktase 307
 Benzoyl-CoA-Weg 306
 Bestrahlung 185
 Bewegung
 – Cyanobakterien 520
 – Myxobakterien 520
 – Schwimmen 518
 – Taumeln 518
 – Twitching Motility 520
 Bier 187, **362**
 – Herstellung 85
Bifidobacterium, im Stuhl 580
Bifidobacterium bifidum 356
 BIFs (Banded Iron Formations) 11, 564
 Bindeproteine, DNA 500
 Bindungssequenzen, DNA-Bindeproteine 500
 Bioelemente 20
 Biofilme 13, 21, 359, **540**
 – in der Biotechnologie 602
 – Konditionierung 540
 – Zahnbelag 541
 Biofilmbildung, Quorum Sensing 520
 Biogas 627
 – Bildung, Summengleichung 285
 Biokonversion 610
 BIOLOG-System 189
 biologische Waffen 596
 biologisches Energiequant 219
 Biolumineszenz **222**, 520
 Biomasse
 – chemolithotroph erzeugte 554
 – im Boden 556
 – Primärproduktion in der Tiefsee 554
 Biomasserückhaltung 629
 Biosensoren 633
 Biosphäre 527
 Biosynthese 252ff
 – Aminosäuren 252
 – Desoxynukleotide 254
 – Lipide 256
 – Makromoleküle 233
 – Murein 259
 – Nukleotide 254
 – Speicherstoffe 260
 – Zellwandkomponenten 259
 – Zucker 252
 Biota 527
 Biotechnologie 23, 85, 87, **599**
 Biotenside 620
 Biotin 231, 372
 Biotope, extreme 15
 Biotransformation 610
 biotroph 78f, 593
 Biozönose 527
 Biphenyle 187
 – polychlorierte 316
 Blau/Weiß-Selektion 477
 Blinddarm 566
 – Pferd 568
 Blitzlichtspektroskopie 431
 Blutgerinnungsfaktoren 623
 BOD (biologischer Sauerstoffbedarf) 625
 Boden
 – als Standort 553
 – Schichtung 557
 – Stickstoffhaushalt 556
 Bodenbakterien 556
 Bodenbiomasse 556
 Bodenfeuchte 553
 Bodenpilze 556
 Bodensanierung 25, 630
Boletus edulis 63, 77
Borrelia burgdorferi, Steckbrief 587
Borrelia, in der Mundhöhle 580
 Botenstoffe 520
Botrytis cinerea 594
 Botulinumtoxin 186
 – biologische Kriegsführung 596
 Bradford 171
Bradyrhizobium japonicum 49
 – Stickstofffixierung 574
 Branch Migration 455
 Brandpilz 88
 Brandsporen 80
 Braunfäulepilze 74, 294
 – Celluloseabbau 288
 Braunkohle 294
 Brechungsindex 171
 Brennstoffzelle, mikrobielle 633
 Brenzcatechin 303
 5-Bromuracil 449
 Brot 363
 Brotherstellung 86
 BSB (biologischer Sauerstoffbedarf) 625
 BSE (Rinderwahnsinn) 591
 – ähnliche Erkrankungen 592
 Bt-Toxin 146, 634
Buchnera aphidicola 579
 Bunte Reihe 589
Burkholderia caribensis, Stickstofffixierung 574
 Butandiolgärung 366
 Butanol 371
 Buttersäure 370
 Buttersäuregärung 369
 Butyrat, im Verdauungstrakt 581
C
 Cadaverin 302
 Caecotrophie 566
 CagA 589
 Calcit 548
 Calciumcarbonat 161, 564
 Calciviridae 114
 Calcivirus 114
 Calvin-Zyklus 204, 245
 – Reaktionen 246
 cAMP 94
 cAMP Rezeptorprotein (CRP) 272, 501
Candida 68
Candida albicans 82
Cantharellus cibarius 63
 CAP (Catabolite Activator Protein) *siehe* cAMP Rezeptorprotein
 Carbamoyl-Transferasen 235
 Carbamoylphosphat 232, 235, 253
 Carbamoylphosphat-Synthetase 235
 Carboanhydrase 247
 Carbomycin A 616
 Carboxidobakterien
 – aerobe 344
 – anaerobe 344
Carboxydotherrus 344
 Carboxylasen 245
 Carboxylat-Typ 242
 Carboxypeptidase 295
 Carboxysomen 146, 247, 411
 Carotinoide 190, 258, **423**, 548
 – biotechnologische Herstellung 618
 – Purpurbakterien 415
 – Struktur 258
 Carotinoidspektrum, elektrochrome Änderungen 431
 Carrier 266
 – Redox- 349
 Casaminoäuren 163
 Casein 357
 Casein-Pepton 163
 Casein-Trypton 163
 Catabolite Activator Protein (CAP) *siehe* cAMP Rezeptorprotein
 Catabolite Control Protein A (CcpA) 506
 Catechol 303
 Catechol-Typ 242
Caulobacter crescentus
 – CtrA 521
 – Lebenszyklus 521
 – Schwärmerzelle 521
 CcpA (Catabolite Control Protein A) 506
 cDNA-Banken 480
 C₁-Einheiten 231, 242
 Cellobiase, β -1,4-Glucosidase 288
 Cellobiose 287f
 Cellobiosephosphorylase 288
 Cellulase 78, 287
 – biotechnologische Herstellung 620

- Cellulose 60, **287**
 – Abbau 287
 – – durch Termiten 568
 – – im Pansen 288
 – Aufschluss 22
 – biotechnologische Herstellung 620
 – Elementarfibrille 287
 – Verdauung 566
 Cellulosefibrille 287
 – Abbau 288
 Cellulosom 288
 CEN-Regionen 84
 Centromeren 66
 – Sequenzen 84
 Cephaloridin 615
 Cephalosporine 150f, 260, **615**
Cephalosporium 615
 Cephalothin 615
 Chalkopyrit 562
 Champagner-Verfahren 362
 Chaperone-Proteine 276, 514
 – Hitzeschockantwort 514
 – thermophiler Bakterien 560
 Chargaff, Erwin. 41
 chemiosmotische Theorie 219
 Chemoevolution 197, 245
 Chemokline 545
 Chemolithoautotrophie 5, 323
 – Symbiose 327
 – tektonisch aktive Zonen 553
 chemolithotrophe Bakterien 323
 – Isolierung 325
 – Stoffwechseltypen 326
 – Vorkommen und Kultivierung 325
 chemoorganotroph 73
 Chemorezeptoren 141
 – membranständige 518
 Chemostat 177ff
 – Substratlimitierung 529
 Chemotaxis 139, 273, **518f**
 – Adaptation 519
 – Che-Proteine 141
 – Chemorezeptoren 141
 – Flagellenmotor 518
 – in Archaeobakterien 519
 – Lockstoffe 140
 – negative 518
 – positive 518
 – Regulation 518
 – – durch Methylierung 519
 – Schreckstoffe 140
 Chemotaxisproteine, methyl-akzeptierende (MCP) 518
 Chemotaxonomie 45
 Chemotherapeutika 442
 chemotrophe Bakterien 158
 Che-Proteine
 siehe Zweikomponentensysteme
 Chi-Sequenz 455
 Chinolone 442
 Chinoloxidase 217, 221, 337
 Chinoloxidase Cyt *bd*₃ 508
 Chinoloxidase Cyt *bo*₃ 508
 Chinoloxidase Cyt *o* 508
 Chinone **214**, 258, 328
 Chitin 60, **290**
 – Abbau 290
 – Struktur 290
 Chitinase 290
 – in Insektenpathogenen 291
 Chitobiase 290
 Chitobiose 290
 Chitosan 60
Chlamydia trachomatis 52
Chlamydomonas nivalis 561
 Chlamydosporen 68
 Chloramphenicol 181, 474, **615**
 Chlorat 403
 Chlorierung, Trinkwasserbehandlung 630
Chlorobiaceae 419
Chlorobium 394, 434
Chlorobium tepidum 52
Chlorochromatium 420
Chloroflexus 249, 418
Chloroflexus aurantiacus 53, 560
 Chloromycetin 615
 Chlorophylle 420f
 – Absorptionsspektren 420
 – Struktur 420
 Chloroplasten 33, 210, **408**
 Chlorosomen 146, 419, **425**
 – grüne Schwefelbakterien 419
 – Struktur 425
 Cholera 4, 584
 Cholera toxin, A-B-Typ 584
 Cholesterin 131
Chromatiaceae 416
 Chromatiden 66
Chromatium 543
 Chromatographie 603
 Chromosom, prokaryontisches 128
 – lineares 128
 – ringförmiges 128
 – Supercoil 128
 Chromosomen 31, 59, 66, 82f
 Chromosomensegregation 129
 Chymosin 358
 Chytridiomyceten 61, 65
 Ciliaten 532
 – anaerobe 532
 Ciprofloxacin *siehe* Fluorochinolone
 circadiane Rhythmen 91
 cis-Dihydrodiol 308
 Citratsynthase 209
 Citratzyklus 208, 231f
 – alternative Wege 210
 – Reaktionen 209
 – reduktiver 247, 372, 389
 – – Grüne Schwefelbakterien 419
 – unter Anaerobiose 507
 Citronensäure 86
 – Produktion 607
 CJK (klassische Creutzfeldt-Jakob-Krankheit) 592
Claviceps purpurea 80
 Cleistothecien 71
Clostridium 160, 369
 – im Boden 556
 – im Stuhl 580
Clostridium botulinum
 – biologische Kriegsführung 596
 – Steckbrief 587
Clostridium perfringens, Steckbrief 587
Clostridium tetani 51
 – Steckbrief 587
Clostridium botulinum, Steckbrief 587
 ClpXP 512
 CO 248
 CO₂ 159, 231
 – Partialdruck 163
 – Fixierung 389, 401
 – – autotrophe 244f
 – – heterotrophe 224
 CO-Dehydrogenase/Acetyl-CoA-Synthase **249**, 344, 398, 400
 CoA-Transferase 372
 Code, genetischer 471
 Codon 471
 Coenzym 198
 – Struktur 199
 Coenzym A 208
 – Struktur 256
 Coenzym B12 372
 Coenzym M 398
 Cohn, Ferdinand 5
 Colicine 617
 Coliforme, im Stuhl 580
 – Differenzialdiagnostik 368
 Colistin 180
 Collagen, Abbau 295
Colletotrichum graminicola 78
 Cometabolismus, Xenobiotikaabbau 315
 Conalbumin 241
 Conidien 65, 67f
 Conidiophoren 66
 Conidiosporen 67f
 Coniferylalkohol 293
 Contigs 482
 Cooxidation 316
 Copepoden 532
 copiotroph 531
Coprinopsis cinerea 70
 Core 108
 Core-Antigen 111
 Coreduktion 316
 Coronaviridae 114
 Corrinoid-Protein 248
 Cortex 148
 Cortison, mikrobielle Synthese 610

- Corynebacterium* 36
 – auf der Haut 579
Corynebacterium diphtheriae, Steckbrief 587
Corynebacterium glutamicum 51
 – Glutaminsäureproduktion 610
 cos-Site 480
 Cosmide 480
 – cos-Site 480
 – Shuttle- 480
 Coulter-Counter 169
 Coumarine 442
 Coxsackievirus B3 114
 C₄-Pflanzen 225
 C-P-Lyase 240
 Crenarchaeota 110
 Creutzfeld-Jakob-Krankheit
 – klassische (CJK) 592
 – variante (vCJK) 592
 C-Ring 139
 Crick, F. 41
 Crotonyl-CoA 313
 CRP (cAMP-Rezeptorprotein) 272, 501
 – Glucoserepression 505
Cryptococcus neoformans 64, 90
 CSB (chemischer Sauerstoffbedarf) 625
 C₁-Stoffwechsel 243
 CtrA siehe Zweikomponentensysteme
 ctx-Gene 585
 CTX-Phagen 585
 Curdlan 620
 cut and paste-Transposition 459
 Cutinasen 78
 C₁-Verbindungen 159
 Cyanid 166, 180, 215f
Cyanidium caldarium 562
 Cyanobakterien 51, **409**
 – als Primärproduzenten 550
 – Bewegung 520
 – Morphologie 412
 – morphologische Gruppen 411
 – Stoffwechsel 410
 – Vorkommen 409
 – Zelldifferenzierung 413
 – Zellstruktur 410
 Cyanobionten 577
 Cyanophycin **145**, 147, 411
 Cycline 67
 Cyclobutanring 449
 Cyclodextrin 292
 Cyclodextrin-Glucosyltransferasen 292
 Cycloheximid 166
 Cycloserin 150f, 260
Cymadothea trifolii 60
 Cystein 232, 239
 – Abbau 307
 Cysten 147, 531
 Cystoviridae 118
 Cytochrom 190, 214
 – in Anaerobiern 215
 Cyt bd₃ (Chinoloxidase Cytbd₃) 508
 Cyt bo₃ (Chinoloxidase Cytbo₃) 508
 Cyt d (Oxidase Cyt d) 508
 Cyt o (Chinoloxidase Cyt o) 508
 Cytochrom bc₁-Komplex 216
 Cytochrom b₅₅₉ 428
 Cytochrom c 328, 385
 – Hämgruppe 215
 – Oxidase-Test 215
 Cytochrom c₅₅₃ 428
 Cytochromoxidase 215f, 221
 Cytochrom-P₄₅₀-Monooxygenasen 309
 Cytochromoxidasen 215f
 Cytoplasma 59
 Cytoplasmamembran 34, 130
 – bakterielle, Transport 268
 Cytorhabdovirus 117
 Cytosin, Desaminierung 447
 Cytoskelett 60, 92, **129**
 Cytostatika 612
 Cytotoxin, VacA 589
- D**
 D-Alanin 134
 D-Alanyl-D-Alanin-Dipeptid 134, 260
 Dam 452
 Dam-Methylase 494
 D-Aminosäuren 39, 135
 Dampfdruck 184
 DAPI 535
 Darmmikrobiota 624
 Darwin, Charles 7
 Dauerkulturen 188
 DDT 316
 de Bary, Anton 5
 Deadenylierung, Kontrolle 516
 Decarboxylasen 270
 Deckenverfahren,
 Citronensäureherstellung 607
 Dehalogenase 316
 Dehalogenierung, reduktive 317
 Dehalorespiration 317, 403
 Dehydratase, Eliminierungsreaktion 302
 Dehydrogenasen 200
 Dehydrogenierung siehe Oxidation
Deinococcus radiodurans 53
 Dekanal 223
 Delbrück, Max 99
 Denitrifikation 19, **383ff**
 – im Boden 556
 Desaminierung
 – durch Eliminierung 301
 – oxidative 300
 Desinfektion 182f, 185
 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat 257
 Desoxynukleotide, Biosynthese 254
 Desoxyribonukleinsäure siehe DNA
 Destillation 603
 Destruent 17, 527
 Desulphydrase 302
Desulfobacteriaceae 389
Desulfotomaculum 389
Desulfovibrio 389
 Desulfurikanten 20
Desulfuromonas 394
 Detergenzien 180, 185
 Detritusnahrungskette 546
 Deuteromyceten 65
 Dextran 620
 dezimale Reduktionszeit 183
 D-Galactose, im Agar 290
 DGGE (denaturierende
 Gradientengelelektrophorese) 539
 D-Glucose, in Stärke 291
 D'Herelle, Felix 99
 Diacetyl 367
 Diagnostik 189, 191
 – medizinische 589
 Diaminopimelinsäure 134
 Diauxie 174, 504
 Dicarbonsäuren, Abbau 313
Dictyostelium discoideum 95
 Didesoxymethode 483
 Diethyldicarbonat 185, 187
 Differenzierung 521
 – funktionelle 541
 Differenzierungsprozesse, σ-Faktoren 502
 Diffusion 265, 534
 – 1. Ficksches Gesetz 265
 – Mischzeit 324
 – Permeabilitätskoeffizient 265
 Diffusionskoeffizient 533
 Diffusionszeit 533
 Dihydrofolatreduktase 243, 256
 Dihydroliponamid-Dehydrogenase 208
 Dihydroliponamid-Transacetylase 207
 Dihydroxyacetonzyklus 250
 1,3-Dihydroxybenzol 308
 Diimid 237
 Dikaryon 69, 80
 Dimethylsulfoxid (DMSO) 402
 dimorph 61
 Dimorphismus 82
 2,4-Dinitrophenol 181
 Dioxygenase 303
 – ringspaltende 305
 Dioxygenase/Reduktase 308
 Dipicolinsäure 147
 diploid 59
 Diplokokken 36
 Distickstoffmonoxid 384
 Diterpene 257
 DMSO (Dimethylsulfoxid) 402
 DNA (Desoxyribonukleinsäure) 41, 234
 – Aufnahme 279
 – B-Form 441
 – Basenrollwinkel 441
 – Bindedomäne 110, 500
 – Bindeproteine 500

- Chip-Array-Technik 191
- Chip-Technologie 487, 590
- Dam 452
- Error-prone Repair 453
- Hybridisierung 46
- hyperchromer Effekt 441
- Klonierung 476
- Microarray-Technologie 487
- MutHLS 452
- Photolyasen 453
- Propeller Twist 441
- Reparatur 451
- Replikationsgabel 444
- Schmelzpunkt 441
- SOS-Antwort 453
- Struktur 441
- Superhelikalität 493
- DNA-Glykosylase 448
- DNA-Gyrase *siehe* Topoisomerasen
- DNA-Ligase 445, 481
- DNA-Methylase 494
- DNA-Methylierung 493
- DNA-Polymerase I 445
- DNA-Polymerase III 445
- DNA-Replikation 444, 463
- Fehlerkorrektur 445
- Primer 444
- Ursprung 444
- Rolling Circle 464
- Terminator *terC* 445
- DNA-Schleife, Promoter 501
- DNA-Sequenzierung 482
- Contigs 482
- Didesoxymethode 483
- Kettenabbruchmethode 483
- Shotgun-Verfahren 482
- DNA-Viren 110
- einzelsträngige,
- – Eukaryonten 113
- – Prokaryonten 112
- DnaA-Boxen 494
- DnaA-Protein 494
- DnaK-Chaperon 515
- Doppelhelix 41
- Dormant State 170
- Downstream Processing 603
- Dunaliella salina* 563
- Dunkelfeldmikroskop 126
- Dunkelreaktion 407
- Dunkelreparatur 453
- β -D-Xylose 288
- Dynein 60
- E**
- Ebola-Virus 591
- EBV (Epstein-Barr-Virus) 108
- Ectothiorhodospira* 562
- EDTA 241
- Effektoren, allosterische 197
- Effektorprotein CagA 589
- EHEC (enterohämorrhagische *E. coli*-Stämme) 486
- Steckbrief 587
- EIEC (enteroinvasive *E. coli*), Steckbrief 588
- EIIAGlc-Protein 272
- EIIBC (Glucose-Carrier) 505
- Einfrieren 188
- Einheit in der Biochemie 196, 223
- Einheitsmembran 130
- Einschlusskörper 623
- Einwecken 183
- Einzeller 7
- Einzellerprotein (single Cell Protein) 311, 623
- Eisen 20, 388
- Korrosion 393
- Reduktion 388
- Verfügbarkeit 241
- Eisen-Schwefel-Proteine 214
- Rolle 215
- Struktur 214
- Eisen-Siderophor-Komplexe 138
- Eisenaufnahmesysteme 241
- Eisenbakterien 161
- Eisenstein, gebänderter 11
- Eisentransport 242
- Ektomykorrhiza 75f
- ektopische Integration 82
- Ektosymbiose 542
- Elastin, Abbau 295
- elektrisches Membranpotenzial 218
- elektrochemisches Potenzial 218, 381
- elektrochrome Änderung 431
- Elektrodenpotenzial 211
- Elektronenakzeptoren 200, 381
- Hierarchie 221, 382
- hierarchische Regulation 507
- Elektronendonatoren 200, 324, 381
- anorganische 328
- Redoxskala 327
- Elektronenmikroskop 12, 123, 127
- Gefrierätzung 128
- Gefrierbruch 128
- Kontrastierung 127
- Raster- 127
- Transmissions- 127
- Elektronentransport 390
- rückläufiger **220**, 325, 327, 433ff
- Elektronentransportkette **210f**, 217, 381
- anaerobe Bakterien 220
- photosynthetische 428, **429**
- revertierte 220
- Elektronentransportphosphorylierung **210ff**, 217ff, 328, 349
- Elektronentransportsysteme 328
- Elektroporation 460
- 2 μ -Element 84
- Elemente
- mobile genetische 457
- wachstumslimitierende 20
- Elementarfibrille, Cellulose 287
- Elementzusammensetzung 232
- Elicitor 79
- Eliminierung
- Ammoniak 301
- α -Aminogruppe 301
- Elongation 469
- Embden-Meyerhof-Parnas-Weg 202
- EMBL4 478
- Emericella nidulans* 63
- EMS (Ethylmethansulfonat) 450
- Emulgator, beim Kohlenwasserstoffabbau 309
- enantiomerenrein 602
- Endocellulase 288
- Endocytose 95
- Endoflagellen 142
- FlaA 142
- FlaB 142
- Endoglucanase 287
- Endomykorrhiza 65
- arbuskuläre 75
- Endoplasmatisches Retikulum 32, 59
- Endosomen 118
- Endospaltung 286
- Endosporen 51, 146
- Auskeimung 148
- Bildung 148
- Cortex 148
- Sporenhülle 148
- Vorspore 148
- Endosporenbildner 369
- Endosporenbildung
- σ -Faktoren 502
- Regulation durch alternative σ -Faktoren 522
- Endosymbionten, Genregulation 493
- Endosymbiontentheorie 33, 54
- Endosymbiose **11**, 23, 542
- Endotoxine 137, 586
- Endoxidase 217
- Endozytose 115
- Endprodukt hemmung 495
- Energie
- elektrische, Gewinnung 632
- freie, aus Potenzialdifferenz 212
- Energiekonservierung 327
- Energieladung 244
- Energiequant, biologisches 219
- Energiequellen 158
- energiereiche Verbindungen 201
- Energiestoffwechsel 323
- Regulation 504f, 507
- Enolase 203
- Enoyl-CoA-Hydratase 313
- Enterobacter aerogenes* 364
- Enterobacteria*, im Stuhl 580

- Enterobacteriaceae* 49
 – bunte Reihe 368
 – klinische Differenzierung 363
 Enterobactin, Struktur 242
Enterococcus, im Stuhl 580
 enterohämorrhagische *E.-coli*-Stämme (EHEC) 486
 Enterotoxine 186, 585
 Entkeimung 182
 Entkeimungsfiltration 186
 Entkoppler 218, 431
 Entner-Doudoroff-Abbauweg 202
 entomopathogene Pilze 81
 Entwicklungszyklus 521
env-Gen 115
 EnvZ/OmpR
 siehe Zweikomponentensysteme
 Enzyme 24, 196
 – Aktivität 197
 – allosterisches Zentrum 197
 – Bestimmung 200
 – biotechnologische Herstellung 620
 – dehalogenierendes 316
 – in der Biotechnologie 604
 – katalytisches Zentrum 197
 – lytische 188
 – Regulation 197
 – thermostabile 558, 560
 – Verwendung in der Biotechnologie 621
 – wasserspaltende 429
 – Wirkungsweise 196
 EPEC (enteropathogene *E. coli*), Steckbrief 587
 Ephedrin 611
 Ephemerovirus 117
 Epidemie 118
 Epidermin 617
 Episom 108
 Epoxid 308
 – Alkenabbau 309
 Epstein-Barr-Virus (EBV) 108
 Erdgas 564
 Erdöl 564
 Ergänzungsstoffe 157
 Ergosterol, als Nachweis für Pilze 536
 Ergotamin 618
 Ergotoxin 618
 Erkennungshelix, Helix-turn-Helix-Motiv 500
 Ernährung 59
 – parasitische 59
 – saprophytische 59
 – symbiontische 59
 Error-prone Repair 453
 Ertrag 175
 Ertragskoeffizient Y
 – Energie 175
 – molarer Ym 175
Erwinia 364, 593
Erwinia amylovora 593
Erwinia carotovora 593
 Erythromycin 181, 474, 616
 Erythropoietin 623
 Erzlaugung 341
Escherichia coli 36, 49, 364
 – im Urogenitalbereich 581
 – MG1655 49
 – O157:H7 49
 – Steckbrief 587
 ESI (Electrospray Ionization) 488
 Essigmutter 605
 Essigsäure 187
 – biotechnologische Produktion 604
 – unvollständige Oxidationen 317
 Essigsäurebakterien, Celluloseproduktion 620
 Essigsäurebildner 604
 Ester, Abbau 312
 Esterase 296
 Estersynthese, durch Lipasen 297
 ETEC (enterotoxische *E. coli*) Steckbrief 588
 Ethanol 365
 – technische Nutzung 632
 Ethanolgärung 359
 Etherlipide 131
 Ethidiumbromid 450
 Ethylenoxid 185
 Ethylmethansulfonat (EMS) 450
 ETP (Elektronentransport-phosphorylierung) 210ff, 217ff, 328, 349
 Euascomyceten 70
Eubacterium, im Stuhl 580
 Eubakterien 8
 – grampositive Bakterien 50
 Eukarya 61
 Eukaryonten 7
 – Tabelle 35
 eukaryontische Zelle 149
 Euryarchaeota 110
 eutroph 545
 Eutrophierung 19
 Evolution 9
 Exciton 424
 Exocellulase 288
 Exocheline 241
 Exoenzyme 272, 286
 – Bindestelle 287
 – Regulation 287
 – Sekretion 287
 Exoglucanase 287
 Exons 109
 Exonuklease V 104
 Exopolysaccharide
 – biotechnologische Herstellung 619
 – Verwendung 619
 Exoskelett 290
 Exospaltung 286
 Exotoxine 585
 exponentielle Phase 174
 exponentielle Wachstumsrate 176
 exponentielles Wachstum 171
 Exporter 267
 Expression 84
 Expressionsvektor 622
 Extinktionsmessung 171
 extreme Biotope 15
 Exzisionsreparatur 453
F
 f1 112
 f2 114
 Factor of Inversion Stimulation (FIS) 442
 FAD, Struktur 213
 FadL 138
 fakultativ anaerob 160
 FAME (Fatty Acid Methyl Ester Analysis) 190
 fatale familiäre Insomnie (FFI) 592
 Färbemethoden 5
 Farbstreifensandwatt 551
 Fatty Acid Methyl Ester Analysis (FAME) 190
 Fäulnis 3, 186
 Faulturm 627
 fd 112
 Fe²⁺-oxidierende Bakterien 339
 Fed Batch 602
 Fenton-Reagenz 241, 294
 Fermenter 164
 – in der Biotechnologie 602
 Ferredoxin 237
 Ferredoxin-NADP+-Reduktase 428
 Ferrichrom 241
 Ferrioxamine 241f
 Fesselverfahren 603
 – Essigproduktion 605
 Festbett 629
 Fettsäure-Coenzym-A-Ligase 312
 Fettsäuren 43, 257
 – Abbau 312
 – im Verdauungstrakt 581
 – mehrfach ungesättigte, Cyanobakterien 410
 – methylverzweigte 257
 – ungesättigte, Synthese, Schema 258
 Fettsäuresynthese 256
 Feuerbrand 593
 Ff-Phagen 112
 FFI (fatale familiäre Insomnie) 592
Fibrobacter 566
 Fibrose, cystische 541
 Fick'sches Gesetz 265
Filobasidiella neoformans 90
 Filtration 184
 Fimbrien 142
 – Adhäsine 582
 FIS (Factor of Inversion Stimulation) 442

- FISH (Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung) 48, 191, **537**, 590
 FISH-MAR 538
 FlaA 142
 FlaB 142
 Flachs röste 290
 Flagellaten 532
 Flagellen 123, 138
 – Adhäsine 582
 – Anordnung 138
 – Antrieb 139
 – Aufbau 139
 – Bewegung 139
 – C-Ring 139
 – Fli-Proteine 139
 – Geschwindigkeit 139
 – Länge 138
 – Mot(or)-Proteinen 139
 – MS-Ring 139
 – P- und L-Ringe 139
 Flagellenmotor 518
 – Regulation 519
 Flagellin 139
 Flavinnukleotide, Struktur 213
 Flaviviridae 111
 Flavivirus 114
 Flavodoxin 237
 Flavonoide 575
 Flavoproteine 214
 – elektronenübertragendes, β -Oxidation 313
 Flechten 21f, 77, 543
 Fleckenkrankheit, bakterielle 593
 Fleming, Alexander 100
 Fli-Proteine 139
 Fließgewässer 550
 Fließgleichgewicht 178, 533
 Fluid Mosaic Model 131
 Fluoracetat 181
 Fluorescein 49
 Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH) 48, 191, **537**, 590
 Fluoreszenzmikroskop 126
 Fluorochinolone 442
 Fluxom 488
 FMN, Struktur 213
 FNR (Fumarat-Nitrat-Reduktaseregulator) 508
 Folin-Ciocalteu 171
 Formaldehyd 249
 – Oxidation 309
 Formaldehydassimilation
 – Dihydroxyacetonzyklus 250
 – Hexulosephosphatweg 250
 – Serinweg 250
 Formiat 248, 364
 Formiatdehydrogenase 248, 394, 400
 Formiat-Hydrogen-Lyase 365
 Formyl-Methanofuran-Dehydrogenase 397
 Formylmethionin 473
 Formyltetrahydrofolat-Synthetase 243, 248
 fossile Kohlenstoffvorräte 17
 F-Pili 463
 F-Plasmid 463
 Frame-Shift-Mutationen 447
Frankia 556, 577
 freie Energie, aus Potentialdifferenz 212
 Freiwasser 546
 Fremdstoffe *siehe* Xenobiotika
 Fressfeinde 21
 Frosch, Paul 99
 Frostschutzmittel 561
 Fruchtkörper 64, 70
 Fruchtkörperbildung, bei *Myxococcus xanthus* 521f
 Fructan 292
 Fructose, in der Biotechnologie 621
 Fructose-1,6-bisphosphatase 225
 Fructose-6-phosphat, Endprodukt des Chitinabbaus 291
 Fructosebisphosphat-Aldolase 203
 frühe Gene 100
 FtsZ 129
 Fulvinsäuren *siehe* Huminstoffe
 Fumarase 210
 Fumarat 387
 Fumaratatmung 387
 Fumarat-Nitrat-Reduktaseregulator (FNR) 508
 Fumaratreduktase 247, 387
 Fumarolen 561
 Fumarsäure, Produktion 606
 Fungistatika 611
 Fungizide 611
 Furfurolen 184
Fusobacterium, in der Mundhöhle 580
 futile Cycle 226
 Fütterungskette 542
- G**
- G1-Phase 66
 G2-Phase 67
 gag-Gen 115
 Galactan 288
 β -Galactosidase (*lacZ*) 353, 505
 Galacturonsäure, im Pectin 289
 Gallidermin 617
Gallionella 161, 340
Gallionella ferruginea 535
 Gameten 65
 Gärbilanz 366
 Gärkammern 22, 566
 Gärprodukte 349, 365
 Gärung 3f, 349
 – alkoholische 359
 – Aminosäuren- 374
 – ATP-Ausbeute 351
 – Bier 362
 – *Bifidobacterium bifidum* 356
 – biotechnologische Bedeutung 353
 – Brot 363
 – Butandiol- 366
 – Buttersäure- 369
 – Elektronentransportphosphorylierung 349
 – fermentiertes Gemüse 358
 – gemischte Säure- 363
 – Genussmittel 358
 – Hefeteig 363
 – Homoacetat- 377, 401
 – im Verdauungssystem 565
 – Milchsäure 353
 – primäre, Fütterungskette 542
 – Propionsäure- 371
 – Purine 375
 – Regulation 507
 – Rohwurst 358
 – Sauerteig 358
 – Sekt 362
 – sekundäre 375
 – – Fütterungskette 542
 – Silage 359
 – Stickland- 374
 – Substratkettenphosphorylierung 350
 – Wasserstoff 352
 – Wein 362
 – *Zymomonas mobilis* 360
 Gärungsbilanz 349, 366
 Gärungstypen 367
 Gashydrate 552
 Gasvakuolen 145
 – bei Cyanobakterien 411
 Gasvesikel 145
 – GvpA 145
 – GvpC-Protein 145
 GC-Gehalt 46, 190
 gebänderter Eisenstein 11
 Gefrierätzung 128
 Gefrierbruch 128
 Gefriertrocknung 188
 Geißeln 189
 Gelbstoffe 546
 Gelbsucht 111
 Gelrit 163
 gemischte Säuregärung 363
 Gen
 – frühes 100
 – Konversion 84
 – Reparatur 84
 – spätes 100
 Gen-A-Protein 104
 Gen-für-Gen-Hypothese 79
 Generationszeit 171
 genetische Elemente, mobile 457
 genetischer Code 471
 Genexpression 468
 – DNA-Methylierung 493
 – durch Strukturänderung der DNA 493
 – Regulation 493

- Genom 31
 Genombibliotheken 477, 481
 Genomgröße 485
 Genominseln 14
 Genomorganisation 485
 Genomsequenzen 482
 Genomsequenzierung, Contigs 482
 Genomvergleiche 485
 Genotyp 446
 Genpool 14
 Genregulation 493
 – Endosymbionten 493
 Gentechnik 476
 – Blau/Weiß-Selektion 477
 – Kolonienhybridisierung 482
 – Vektoren 477, 480
 Gentechnologie 24
 Gentherapie 117
 Gentisinsäure 303
 Gentransfer 459
 – horizontaler 459, 486
 – lateraler 14, 486
 – – Photosynthese 413
 – Formaldehydoxidation 311
 Gentransferagens (GTA) 466
 Gerstmann-Sträußler-Scheinker-Syndrom (GSS) 592
 Gesamtkohlenstoffgehalt 170
 Gesamtstickstoffgehalt 170
 Gesamtzellzahl 169
 Geschichte der Mikrobiologie 3
 Gewässerschichtung 545
 Glassinterfilter 184
 Gleitbewegungen 142
glnA 517
 Glockentierchen 21
Gloeotheca 562
 Glomeromyceten 61, 65
Glomus mossae 75
 Glove-Box 165
 Glucan 60
 Glucoamylase 292
 Gluconeogenese 224, 231, 245
 – anaplerotische Reaktionen 225
 – C₃-Verbindungen 225
 – Fettsäuren 225
 – Schlüsselenzyme 225
Gluconobacter
 – biotechnologische
 Essigsäureproduktion 604
 – unvollständige Oxidation 317
 Glucanlactonase 204
 Gluconsäure
 – Abbau 299
 – Herstellung 317, 606, 621
 Glucose, unvollständige Oxidation 317
 Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase 203
 – oxidativer Stress 513
 Glucose-Carrier, EIIBC 505
 Glucose-Phosphotransferasesystem 505
 Glucosedehydrogenase 300
 – bei unvollständigen Oxidationen 317
 Glucoseoxidase 222, 294
 – in der Biotechnologie 621
 – unvollständige Oxidation 317
 Glucosephosphat-Isomerase 202
 Glucoserepression 504
 – *lac*-Operon 505
 – Adenylatcyclase 505
 – Allolactose 505
 – cAMP Rezeptorprotein 505
 – Induktorausschluss 505
 – Phosphotransferasesystem (PTS) 505
 – Sensor 505
 Glucosensor, Glucoserepression 505
 Glucosesirup, Herstellung 621
 Glucosestoffwechsel
 – unter Aerobiose in *E. coli* 507
 – unter Anaerobiose in *E. coli* 507
 β-1,4-Glucosidase, Cellobiase 288
 Glutamat 232, **235**, 253
 Glutamatdehydrogenase 235
 Glutamatfamilie 253
 Glutamatsynthase (GOGAT) 235
 Glutamin 232, **235**, 253
 Glutaminsäure 24
 – biotechnologische Produktion 610
 Glutaminsynthetase 235
 – Expressionskontrolle 517
 – Regulation 496, 516
 – – durch PII-Protein 517
 – – durch Adenyltransferase 517
 – – durch Uridyltransferase 517
 Glutaryl-CoA, Abbau ungeradzahliger Fettsäuren 313
 Glutathion 222
 – Formaldehydoxidation 311
 Glycerin 43, 361
 – als Frostschutzmittel 561
 – Transportsystem 271
 Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase 203
 Glycerinlipide 257
 Glycin 231, 242
 Glycin-Betain 515
 Glycinreduktase 374
 Glycylradikal 311
 Glykogen 143, 292
 Glykolipide 43
 Glykolyse **202**, 231f, 360
 – Schrittmacherenzyme 224
 Glykoproteine 115
 Glykosylierung 86
 Glyoxaloxidase 294
 Glyoxylat
 – Assimilation 225
 – Purinabbau 314
 Glyoxylatzyklus **226**, 251
 – Reaktionen 226
 GOGAT (Glutamatsynthase) 235
 Golgi-Apparat 33
 Gradienten 324
 Gradientengelelektrophorese
 – denaturierende (DGGE) 539
 – thermische (TGGE) 539
 Gradientenorganismen 324, 534
 Gram-Färbung 126, 133, 189
 Gram-Typ 189
 Gramicidin 5 617
 Grana, Chloroplasten 408
 Granula, metachromatische 144
 Granulose 143
 Grauschimmel 594
 Greigit 145, 535
 Grenzextrin 292
 Grundenergieumsatz 13
 Grünücke 423
 Gruppen, prothetische 198
 Gruppentranslokation 271
 Gruppenübertragung 243
 Gruppenübertragungspotenzial 201
 GSS (Gerstmann-Sträußler-Scheinker-Syndrom) 592
 Guanosintetraphosphat 505
 Guanylsäure, biotechnologische Produktion 610
 GvpA 145
 GvpC-Protein 145
Gymnosporangium sabinae 90
 Gyrase, reverse 560
- ## H
- HA (Hämagglutinin-A-Protein) 118
 Haarnadelschleifen 114
 Haarnadelstruktur, Attenuation 504
 Haber-Bosch-Verfahren 237
 Habitat 527
 Haeckel, Ernst 7
Haemophilus influenzae, Steckbrief 588
 Haken 71
 Halbsättigungskonstante K_S 178
Halobacterium 563
 Halobakterien
 – Lichtnutzung 435
 – Photosynthese 435
Haloferax 563
Halomonas 563
 halophil 162
 Halorhodopsin 435
 Häm-Enzyme, beim Ligninabbau 294
 Hämagglutinin-A-Protein (HA) 118
 Hämolyse 241
 H-NS (Histone-like Nucleoid structuring Protein) 442
 haploid 59
 Haplophase 59
 Harnsäure 234, 314
 Harnstoff 234
 – Purinabbau 314
 – Synthese 253

- Hartig'sches Netz 76
 H⁺-ATP-Synthase *siehe* ATP-Synthase
 Hausschwamm 74
 Haustorien 79
 Haut, Körperflore 579
 Hautmykosen 81
 HBV *siehe* Hepatitis-B-Virus
 Headful-packaging 102
 Headful-Replikation 120
 Heat-unstable Nucleoid Protein (HU) 442
 Hefe 60
 – *Saccharomyces* 362
 – Ethanolgärung 359
 – obergärig 363
 – Spalt- 62
 – untergärig 363
 Hefeextrakt 163
 Hefeteig 363
 Hefeviren 119
 Helferviren 114
Helicobacter pylori 50, **589**
 – Steckbrief 588
Helicobacter, Ureaseproduktion 589
 Helikase 445
Hellobacterium 420
 Heliobakterien 420
 – Photosystem I 434
Helioresistis 420
Heliothrix 419
 Helix-Turn-Helix-Motiv 500
 Hellfeldmikroskop 125
Helvella crispa 71
 Hemicellulose 288
 – Abbau 288
 – Verdauung 566
 Hemmung, kompetitive 181
 Hepadnaviridae 111
 Hepatitis-A-Virus 111, 114
 Hepatitis-B-Virus 111, 591
 – Entwicklung 111
 Hepatitis-C-Virus 111, 114
 Hepatitis-E-Virus 114
 HEPES 161
 Herpesvirus 107
 Hershey, Alfred 99
 Heterocysten 147, 238, 413, 577
 – Symbiose mit heterotrophen Bakterien 544
 Heterodisulfid-Reduktase 398f
 heterofermentative
 Milchsäurebakterien 355
 Heterokaryon 60
 Heterothallie 68
 heterotroph 158
 heterotrophe CO₂-Fixierung 224
 heterotrophe Nitrifikation 332
 Heterozyklen, Abbau 314
 Heu, Selbstentzündung 558
 Hexadecan, Abbau 311
 Hexokinase 202
 Hexonate, Abbau 299
 Hexons 102
 Hexose 42
 Hexoseabbau **202ff**, 207, 299
 – Beteiligung verschiedener Wege 207
 – Energiebilanz 220
 Hexulose-6-phosphat,
 Formaldehydoxidation 311
 Hexulose-6-phosphatsynthase 249
 Hexulosephosphatweg, Regeneration
 Akzeptor 250
 Hexulosephosphatzyklus 249
 Hfr-Stämme 464
 HI-Virus (Human Immunodeficiency Virus, HIV) 590
 Hilfspigmente 423
 Hilfssubstrate 316
 Hill-Reaktion 431
 Histidin 252
 – Abbau 307, 314
 histonähnliche Proteine 442
 Histone-like Nucleoid structuring Protein (H-NS) 442
 Hitzeschockproteine 514
 Hitzeschockreaktion 513
 – DnaK-Chaperone 515
 – Regulation 514
 Hitzeschockregulator σ^{32} 503
 HI-Virus (HIV, Human Immunodeficiency Virus) 103, 590
 HIV (Human Immunodeficiency Virus) 103, 590
 HMG-CoA
 (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA) 257
 Holliday-Strukturen 455
 holomiktisch 545
 holzfressende Insekten 22
 Holzschutzmittel 316
 Homing 459
 Homoacetatgärung 377, 401
 homofermentative
 Milchsäurebakterien 355
 Homogentisinsäure 303
 Homokaryon 60
 homologe Integration 82
 homologe Rekombination 454
 Homoserin, biotechnologische Produktion 610
 Homoserinlacton 505, 520
 Homothallie 68
 Hopanoide 131, 258
 – als Nachweis für Cyanobakterien 536
 – Struktur 258
 horizontaler Gentransfer 459, 486
 Hormogonien 413
 Host-Range Mutationen 107
 Hot Spots 448
 Human Immunodeficiency Virus (HIV) *siehe* HIV
 HU (Heat-unstable Nucleoid Protein) 442
 humanpathogen 78
 Humine *siehe* Huminstoffe
 Huminsäuren *siehe* Huminstoffe
 Huminstoffe 294, 555
 – aquatische 546
 Humus 19, 555
 – C/N-Verhältnis 294
 Humusbildung 294
 Hungate-Technik 165
Hydnum 63
 Hydrazin 237
 Hydrocortison, mikrobielle Synthese 610
 Hydrogenasen **343**, 352, 391
 – NAD(P)H-abhängige 352
 Hydrogenierung *siehe* Reduktion 200
 Hydrogenosomen 34, 543
 Hydrogensulfid 361
 Hydrolyse, thermische 560
 Hydrophobin 61
 Hydrothermalquelle 554
 Hydroxamat-Typ 242
 3-Hydroxybutyryl-CoA 260
 Hydroxylamin 449
 Hydroxylamin-Dehydrogenase 331
 Hydroxylradikale 222, **294**, 448
 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) 257
 3-Hydroxypropionatzylus **249**, 419
 Hydroxypyruvat-Reduktase 251
 Hymenium 63, 70
 Hymenomyceten 63
 Hyperchromizität 46
 Hypersensitive Reaktion 79
 hyperthermophil 161, 558
 Hyphe 60
 Hyphenform, virulente 91
 Hyphenmantel 76
Hyphomicrobium 544
 Hyphomyceten 65
 Hypolimnion 545

I
 Identifizierung 189
 Idiomorphe 71
 Idiophase 175, 601
 IGS, intergenic spacer 65
 IHF (Integration Host Factor) 442, 502
 Immundefizienzvirus, HIV 116
 Immunogoldmarkierung 127
 immunologische Verfahren 190
 Immunschwäche-Virus (HIV) *siehe* HIV
 imperfektes Stadium 90
 Impfstoffe 590
 Impfung 4
 Importer 267
 Inclusion Bodies 623
 Indikator-Nährmedien 189

- Individuum 527
 Induced Fit 197
 Induktion 101
 – *lac*-Operon 501
 – katabole Operons 501
 – negative Regulation 501
 – repressorabhängige 501
 Induktorausschluss 273
 – Glucoserepression 505
 Inertisierung, Bodensanierung 631
 Infektionen, systemische 81
 Infektionshypothese 76, 79
 Infektionskrankheiten 26f
 Influenza-A-Virus 117f
 Influenzaviren 117
 Initiation 469
 – Replikation 494
 – Transkription 500
 Initiationsfaktoren 473
 Initiator-tRNA 473
 Injektion 100
 inkompatible Interaktion 79
 Inosinsäure, biotechnologische
 Produktion 610
 Inositolhexakisphosphat 620
 Inoviridae 112
 Insekten, holzfressende 22
 Insertions-(IS-)Elemente 457
 Insulin 623
 Integrase 115f, 455, 459
 Integration
 – ektopisch 82
 – homologe 82
 Integration Host Factor (IHF) 442, 502
 Integrationsvektoren 84
 Integrins 456
 Interaktion
 – inkompatible 79
 – kompatible 79
 interferierende RNAs 120
 Intergenic Spacer (IGS) 65
 Interleukin 623
 Intermediärstoffwechsel 195, 223
 Intermediate, zentrale, beim
 Aromatenabbau 303
 internal transcribed Spacer (ITS) 65
 Interspecies-Wasserstoff-Transfer 352
 intrazelluläre Membranstrukturen 330
 Introns 84, 109, 459
 Inulin 624
 Invasine 583
 Invasion 582
 inverted terminal Repeats (ITR) 113
 Ionen-ATPasen 269
 ionisierende Strahlen 185f
 Ionophore 617
 Isocitrat-Dehydrogenase 209
 – Regulation 496
 Isocitrat-Lyase 226
 Isoenzyme, verzweigte Atmungsketten
 508
 Isoleucin, biotechnologische Produktion
 610
 Isopentenylpyrophosphat 257
 Isopranalkohole 257
 Isoprene 258
 – aktives 257
 Isopropanol 371
 Isotopendiskriminierung 565
 – $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis 9
 isotrop 60
 Itaconatbildung, Biochemie 609
 Itaconsäure, Produktion 607
 ITR (inverted terminal Repeats) 113
 ITS (internal transcribed Space) 65
 Iwanowski, Dimitri 99

J
 Jenner, Edward 4
 Jod, Stärkenachweis 291
 Jogen 143

K
 K⁺-Aufnahmesystem (KdpFABC) 515
 Kalium 20
 Kalkstein 564
 Kälte, als Standort 561
 Kältekonserverung 561
 Kandierung 187
 Kapazität, logistisches Wachstum 529
 Kapazitätsgrenze 529
 Kapseln 91, 136
 Kapside 102
 Kapsomere 102, 109
 Karamellisierung 184
 Kartoffelspindelknollen-Viroid 120
 Karyogamie 59
 Katabolismus 195
 – Regulation 504f, 507
 Katabolitregulation 504
 – grampositive Bakterien 506
 Katabolitrepresion 272
 Katalase 222, 512
 Kationenaustauscher, Humus 294
 Katzensuche 113
 Kaufmann-White-Schema 190
 Kautschuk 308
 KdpDE *siehe* Zweikomponentensysteme
 KdpFABC (K⁺-Aufnahmesystem) 515
 KDPG (2-Keto-3-desoxy-6-
 Phosphogluconat) 204
 KDPG (2-Keto-3-desoxy-6-
 Phosphogluconat)-Weg 202f, 360
 KDPG-Aldolase 204
 2-Keto-3-desoxy-6-Phosphogluconat
 siehe KDPG
 Keratin, Abbau 295
 Kern 31, 59
 Kern-Polysaccharidregion 137
 Kernlokalisierungssequenz 110
 Kernmembran 59
 Kernporen 59
 Kernspindel 66
 Kernverschmelzung 59
 Kerogen 9
 β-Ketoadipatweg 305
 β-Ketothiolase 313
 Kettenabbruchmethode 483
 Kieselgur 184, 564
 Kinasedomäne, Sensorkinase 499
 Kinesin 60
 Kinetik, Reaktion 1. Ordnung 172
 Klasse-I-Transposons 457
 Klasse-I-Viren 106
 Klasse-II-Transposons 457
 Klasse-II-Viren 112
 Klasse-III-Viren 118
 Klasse-IV-Viren 114
 Klasse-V-Viren 117
 Klasse-VI-Viren 114
 Klassifikation, Bakterien 44, 47
 – künstliche 46
 – natürliche 47
Klebsiella pneumoniae 364
 Klon 168
 KM (Affinitätskonstante) 178
 Knallgasbakterien 343
 Knock-out-Mutanten 488
 Knollenfäule 94
 Knollennassfäule 593
 Knospung 60, 118
 Koch, Robert 4
 Koch'sche Postulate 5
 Kohle 564
 Kohlendioxid 17
 – Fixierung 18
 – Versorgung 163
 Kohlenhydrate, Abbau 196
 Kohlenmonoxid 181, 215f
 Kohlenmonoxid-Dehydrogenase/
 Acetyl-CoA-Synthase 249, 344,
 398, 400
 Kohlenmonoxid-Oxidation 344
 Kohlenstoff 17, 20, 231
 – Kreislauf 17
 – Quellen 159
 – Vorräte, fossile 17
 Kohlenwasserstoffe
 – Abbau 308
 – – aerober 311
 – mehrfach halogenierte 316
 Kokken 36
 Koloniehybridisierung 482
 Kolonisation 583
 Kommensalismus 168, 544, 573
 Kommunikation, interzelluläre 520
 kompatible Interaktion 79
 Kompetenz 460
 – natürliche 279
 – Quorum Sensing 520
 Kompetenzproteine 460

- kompetitive Hemmung 181
 Kompostierung 629
 konditional letale Mutationen 451
 Konditionierung, Biofilmbildung 540
 konfokales Laser-Scanning-Mikroskop 126
 Konformationsschutz 238
 Konjugation 279, 462
 – grampositive Bakterien 465
 – Surface Exclusion 463
 konjugative Plasmide 443, 462
 konjugative Transposons 459
 Konkatenate 104
 Konkurrenz 168
 – Wirt und Mikrobiota 565
 Konservierung 183
 – Verfahren 186f
 Konsumenten 17, 527
 – heterotrophe 559
 Kontamination 182
 kontinuierliche Kultur 177, 180
 Kontrastierung 127
 Kontrolle, stringente 509f
 – Aminosäuremangel 510
 – Kopplung Anabolismus/Katabolismus 509
 – RelA-Protein 509
 – ribosomale Proteine 510
 Konvektion 534
 Kooperation, Wirt und Mikrobiota 565
 Koprophagie 618
 Korallen 23
 Korallenriff 22
 Körperflora 578
 – Haut 579
 – Mundhöhle 580
 – Verdauungstrakt 580
 Kragen, Bakteriophagie 107
 Krautfäule 94
 Kreideagar 317
 Kreislauf
 – der Stoffe 17
 – des Kohlenstoffs 17
 – des Phosphors 19
 – des Schwefels 20
 – des Stickstoffs 19
 – ruminohepatischer 567
 Kresole 180, 187
 Kreuzung 63
 Kreuzungstypen 68
 – Genorte 71
 kryophil 161
 KS, Halbsättigungskonstante 178
 Kultivierung
 – aerobe 164
 – Erfolge 537
 – Methoden 537
 Kultivierungstechniken 162f, 165
 Kultur
 – kontinuierliche 177, 180
 – statische 173, 180
 Kulturerhaltung 188
 Kulturmethoden 188
 – selektive 166
 Kupfer, Methan-Monooxygenase 311
 Kuru-Kuru 592
- L**
- λ 101, 107, **456**, 466
 L-Aminosäuren 39, 41
 Labferment 357, **372**, 620
lac-Operon, Glucoserepression 505
lac-Repressor (LacI) 505
 Laccase 221, 294
 Lachgas 238
 LacI (*lac*-Repressor) 505
 β-Lactam-Antibiotika 151, 260
 β-Lactamring 614
 Lactat 365
 Lactatdehydrogenase 372
Lactobacillus, im Stuhl 580
Lactobacillus acidophilus 50
 – im Urogenitalbereich 581
 Lactoferrin 241, 586
 Lactonring, makrozyklischer 616
 Lactose 298
 Lactosepermease 270
lacZ (β-Galactosidase) 353, 505
lacZ-Promotor 502
lacZYA-Operon 502
 Ladderan 386
 Ladungstrennung, Photosynthese 408, **427**
 lake snow 541
 LamB 138
 Lambda 101, 107, **456**, 466
 Lamellen 69
 Lantibiotika 617
 lateraler Gentransfer 14, 459, 486
 Laugung, mikrobielle 562
 Lebendkulturen 188
 Lebendzellzahl 169
 Lebensmittel 186
 – Lagerung 186
 Lebensraum 527
 – diffusionskontrollierter 534
 Leberentzündung 111
Leccinum scabrum 77
 Leeuwenhoek, Antonie van 3
 Leghämoglobin 238, 574
Legionella pneumophila 541
 – Steckbrief 588
 Leichengift 302
 Leitpeptid
 – *trp*-Operon 504
 – Attenuation 504
Lentinus edodes 86
 Lepra 4
Leptothrix ochracea 535
 Leserastermutationen 448
 Leuchtbakterien 161
- Leukämieviren der Maus (MLV) 116
 Leviviridae 114
 LexA-Repressor 453
 LH I (Light harvesting Komplex I) 425
 LH II (Light harvesting Komplex II) 425
 L-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase 313
 Lichtabsorption, im Wasser 420
 Lichterntekomplexe 425
 Lichtintensität, in
 Bakterienpopulationen 548
 Lichtmikroskop 3, 123, 125
 – Auflösungsvermögen 125
 – Dunkelfeld- 125
 – Fluoreszenz- 125
 – Hellfeld- 125
 – konfokales Laser-Scanning- 126
 – Ölimmersion 125
 – Phasenkontrast- 125
 Lichtnutzung, Halobakterien 435
 Lichtreaktion 407
 – Wirkungsgrad 430
 Lichtreparatur 453
 Lichtsammelkomplexe 424
 Light harvesting Komplex I (LH I) 425
 Light harvesting Komplex II (LH II) 425
 Lignin 74, **292**
 – Struktur 292
 – Verwertung durch Bakterien 529
 Ligninabbau 292
 – durch Termiten 568
 – Cometabolismus 316
 – Schema 293
 Ligninperoxidase 294
 Ligninsynthese 293
 Lignit 294
 Linné, Carl von 3
 Lipase 296
 – biotechnologische Herstellung 620
 – Reaktionen 299
 – Umesterung 297
 Lipid A 137, 586
 Lipide 43, 234
 – Abbau 296
 – – Biotechnologie 297
 – Biosynthese 256
 – in der Biotechnologie 621
 Lipidfettsäuren 190
 Lipidmembran 114
 Lipidzusammensetzung, Membran 256
 Liponat 208
 Lipopolysaccharid 137, 234
 – als Toxin 586
 Lipoproteine 111, 137
 Lipoteichonsäuren 134
Listeria monocytogenes, Steckbrief 588
 lithotroph 158
 Lockstoffe 95, 140
 Loeffler, Friedrich 99
 logarithmisches Wachstum 171
 Long terminal Repeats (LTR) 116

- Lösungsmittelgärung 371
 lower Pathway 305
 Lowry 171
 L-Ring 139
 L-Sorbose, Vitamin-C-Herstellung 317
 LTR (Long Terminal Repeats) 116
 Luciferase 223, 577
 Luftmycel 60
 Lumen, Thylakoide 408
 Luria, Salvador 99
 Lutein 420
 LuxI (Pheromonsynthese) 520
 Lyse 100
 Lysin, biotechnologische Produktion 610
 lysogener Zyklus 101
 Lysophospholipide 297
 Lysosomen 33, 59, 118
 Lysozym 134, 291
 Lyssavirus 117
 lytische Enzyme 188
 lytischer Zyklus 100
- M**
- μ , Wachstumsrate 172
 2 μ -Element 84
 2 μ -Plasmid 84
 M13 **102f**, 107, 112
Macrolepiota procera 63
 Magnetit **145**, 388, 535
 Magnetosomen 145
Magnetospirillum gryphiswaldense 146
 Magnetotaxis 145
 Maischegärung 362
 MAK (Membranangriffskomplex) 586
 Makroelemente 157, 240
 Makrolide 616
 Makromoleküle 233
 Makrophagen 21
 Malatdehydrogenase 210
 Malatsynthese 226
 MALDI-TOF (Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight) 488
 Malonat 181
 Malonyl-CoA 256
 Maltoporin 138
 Maltose-ABC-Transporter 273
 Malyl-CoA-Lyase 251
 Malyl-CoA-Synthase 250
 Mangan 388
 Mangan(IV)-Salze, in Sedimenten 548
 Mannan 288
 MAP-Kinase-Kaskade 81
 Marburg-Virus 591
 Marcasit, mikrobielle Umsetzung 564
 marine Snow 541
 Marschen 551
 Marshall, Barry 50
 Massenentwicklung
 – halophile Archaeobakterien 563
 – Purpurbakterien 547
 Massenspektrometrie (MALDI-TOF) *siehe* MALDI-TOF
 mating Type switching 71
 Matrixprotein 118
 Matte, mikrobielle 551
 MCP (methyhlakzeptierende Chemotaxisproteine) 518
 medizinische Mikrobiologie 26
 Meerestiere 22
 Meerwasser 20
 Megacine 617
 Mehltau 595
 Meilensteine, der Forschung 15f
 Meiose 31, 59, 63
 – diploide Phase 59
 Melanin 91
 Melasse 607
 Membran
 – äußere 137
 – intracytoplasmatische 132
 – intrazelluläre 330
 Membranangriffskomplex (MAK) 586
 Membranfilter 184
 Membranlipide 257
 Membranpotenzial 218f
 – elektrisches 218
 Membranproteine 131
 – integrale 131
 – periphere 131
 Membranreaktor 604
 Menachinol 387
 meromiktisch 545
meso-Lanthionin 617
 mesophil 160
 messenger-RNA (mRNA) 470
 metabolic Engineering 86
 Metabolismus 195
 Metabolite 196
 Metabolom 488
 Metachromasie 144
 metachromatische Granula 144
 Metalimnion 545
 Metallionen
 – Atmung 388
 – chemolithotrophe Bakterien 339
 – Oxidation 340f
 Metallionenoxidierer, neutrophile 340f
 Metalllaugung 631
Metallosphaera sedula 562
meta-Spaltung 305
 Methan 18, 249
 – aerobe Oxidation 312
 – Bildung 397f
 – – bei der Verdauung 567
 – Energieversorgung 632
 – Kreislauf 556
 – Oxidation 309
 – – aerobe 557
 – – anaerobe 552
 – Tiefsee 554
 Methaneis 395
 Methanhydrate 17, 395
 – Lager 309
 Methankreislauf 556
 Methanmonooxygenase 133, 309
 – Kupfermangel 311
Methanobrevibacter 566
Methanococcus jannaschii 493
 Methanogene 396
 – Archaeobakterien 326
 – Coenzyme 396
 – Ökologie 397
 – Substratspektrum 396
 Methanogenese 349, 395
 Methanol 248f
 – aus Pectinabbau 289
 – Methanoxidation 309
 3-Methyl-Lanthionin 617
 Methanophenazin 398
Methanosarcina barkeri 53
 methanotrophe Bakterien 327
 Methanoxidierer, aerobe 557
 Methenyl-Tetrahydrofolat-Cyclohydrolase 243
 Methoxatin 309
 Methylamin 248f
 Methyl-CoM-Reduktase 398f
 Methylen-Tetrahydrofolat 255
 Methylen-Tetrahydrofolat-Dehydrogenase 243
 Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase 243
 Methylsterase 519
 – Pectinabbau 289
 Methyletherverbindungen 248f
 Methylierung, von DNA 493
 Methylmalonyl-CoA 372
Methylobacterium extorquens 311
 methylotroph 249
 Methyl-Tetrahydrofolat 248
 Methyltransferase 248
 methylverzweigte Fettsäuren 257
 Mg-Chelatase 420
micF-RNA 503
 Microbial Loop 546
 Microbiota, im Pansen 567
Microbotryum violaceum 89
Micrococcus, auf der Haut 579
Micrococcus luteus 143
 Microviridae 113
 mikroaerob 160
 mikroaerophil 160
 Mikroautoradiografie 536
 Mikrogenbanken 188
 mikrobielle Toxine 186

- Mikrobiologie
 – Geschichte 3
 – medizinische 26
 Mikrobiota 527
 – im Darm 624
 Mikro-Kjeldahl-Verfahren 170
 Mikroorganismen
 – Absterben 182
 – Abtötung 180, 182
 – Anpassung an Umweltbedingungen 160
 – Anreicherung 166
 – extreme Biotope 15
 – Fressfeinde 21
 – Größe 12
 – Lebensbedingungen 13
 – Lebensweise 13
 – Nährstoffe 157
 – Sammlungen 188, 190
 – Überdauerungsvermögen 14
 – Verbreitung 15
 – Wachstum 169
 – – Absterbephase 175
 – – Anlaufphase 174
 – – exponentielle Phase 174
 – – Hemmung 180
 – – Kinetik 171
 – – Physiologie 173
 – – stationäre Phase 175
 – Zellteilung 169, 171
 Mikrophotographie 5
 Mikroskop 3, 12
 Mikrostandort 553
 Mikrotubuli 60, 66
 Milchsäure 187
 – Gärung 187, 353
 – Produktion 606
 Milchsäurebakterien 353f
 – heterofermentative 355
 – homofermentative 355
 – Lebensmittel 357
 – medizinische Bedeutung 359
 – praktische Bedeutung 357
 – Vorkommen 354
 Milchsäuregärung 187, 353
 Milzbrand 4, 596
 Mineralien, mikrobielle Umsetzung 563
 Mineralisation 17
 Mineralisierung 17, 73
 – aerobe 285
 – anaerobe 285
 minus-Strang 105
 Mischkultur 168
 – definierte 168
 Mischzeit 324
 missense-Mutationen 446
 Mitchell-Theorie, Experimente 218
 Mitochondrien 33, 210, 220
 Mitomycin C 182
 Mitose 31, 66
 – postmeiotische 70
 Mittellamelle 289
 MLV (Leukämieviren der Maus) 116
 MNNG (N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidin) 450
 mobile genetische Elemente 457
 mobilisierbare Plasmide 464
 Modifikationen, posttranslationale 475
 molekularer Stickstoff 159
 Molybdän-Cofaktor 314
 Molybdän-Nitrogenase, Reaktionszentrum 237
 Molybdo-Häm-Enzym, unvollständige Oxidationen 317
 Monokaryon 69
 Monolignol 293
 – Struktur 292
 Monooxygenase 303
 – Ammoniak- 133
 – Cytochrom P₄₅₀ 309
 – Methan- 133
 MOPS 161
 Morgan, Thomas Hunt 84
 Morphogenese 100
 Mot(or)-Proteine 139
 M-Phase 66
 MreB 129
 mRNA (messenger-RNA) 470
 – polycistronische 469, 474
 MS-Ring 139
 MS2 114
 MUK-Proteine 442
 Multiresistenzproteine 275
 Mundhöhle, Körperflora 580
 Murein 133, 234, **291**
 – Abbau 290
 – Aufbau 291
 – Biosynthese 259
 – Synthese, Schema 259
 murines Leukämievirus (MLV) 116
 N-Acetylmuraminsäure (MurNAc) 133, 290
 Muscarin 618
 Mutagene 449
 – Nitrit 449
 Mutagenese 86
 Mutanten 446
 – für die Antibiotikaproduktion 617
 – Selektion 451
 Mutase 372
 Mutationen
 – adaptive 446
 – Frame Shift 447
 – Host-range 107
 – Hot Spots 448
 – konditional letale 451
 – Leseraster 448
 – Missense 446
 – natürliche 448
 – Nonsense 446
 – oxidative Schäden 448
 – spontane 446
 – stumme 446
 – UV-Schäden 448
 MuthLS 452
 Mutterkorn, Mycotoxinproduktion 618
 Mutualismus 168, **542**, 573
 Mycel 60
 – von Bakterien 288
 Mycetome 22
 Mycetozoa 94
Mycobacterium 36
Mycobacterium tuberculosis 5, 51
 – Steckbrief 588
 Mycobactine 241
Mycoplasma genitalium 128
 Mykobiont 544
 Mykolsäuren 134, 309
 Mykobiont 77, 544
 mykogene Allergien 81
 mykoparasitisch 78
 Mykoplasmen 50, 134
 Mykorrhiza 21f, 75ff
 – Symbiose 63f
 Mykose 80
 Mykotoxikose 80
 Mykotoxine 74, 87
 myo-Inositolhexakisphosphat 620
 Myosin 60
 Myoviridae 107
 Myxobakterien
 – Bewegung 520
 – fruchtkörperbildende 522
Myxococcus xanthus 128
 – Fruchtkörperbildung 521f
 Myxomyceten 62, 94
 Myxosporen **147**, 522, 531
 M-Zellen 583

N

 v, Teilungsrate 173
 NA (Neuraminidase) 118
 N-Acetylglucosamin 60, 133
 – Abbau 299
 – im Chitin 290
 – im Murein 291
 N-Acetylmuraminsäure (MurNAc) 133, 290
 N-Acetylmuraminsäurepentapeptid 291
 N-Acetylalosaminuronsäure 135
 Nachweis, Protease 295
 Nachweis von Bakterien 535
 – chemische Methoden 536
 – durch Kultivierung 536
 – Mikroautoradiografie 535
 – Molekularbiologische Methoden 537
 NAD⁺ **200**, 233, 244
 NADH-Dehydrogenase 215
 NADH-Dehydrogenase II, verzweigte Atmungskette 508

- NAD(P)H-abhängige Hydrogenasen 352
 NADP⁺ 200
 NADPH 233, 244
 – Bildung, Photosystem I 430
 – -Oxidase 222
 Nährböden 163
 Nährlösung 157
 Nährmedien 162f, 165
 – Indikator- 189
 Nährstoffe 157
 Nährstoffkette, anaerobe 349
 Nahrungsmittelindustrie 24
 Nalidixinsäure *siehe* Chinolone
 NarL (Nitrat-Response-Regulator) 508
 NarX (Nitratsensorkinase) 508
 NarXL (Nitratregulator) 509
 Natriumbicarbonat 161
 natural Attenuation 631
 natürliche Kompetenz 279
 natürliche Mutationen 448
 NDP(Nukleosiddiphosphat)-aktivierter Zucker 254
 nekrotroph 78f
 negative Aerotaxis 238
Neisseria gonorrhoeae 142
Neisseria meningitidis, Steckbrief 588
 Nekrose 79
 nekrotroph 593
 Nematoden, mikrobielle Bekämpfung 635
 Neomycin 181
 Nephelometrie 171
 Nernst-Gleichung 211
 Netzwerke, Regulations- 497
 Neuberg'sche Vergärungsformen 361
 Neuraminidase (NA) 118
Neurospora 64
Neurospora crassa 70
 – Lebenszyklus 71
 Neutralfette 144
 Neutralismus 542, 573
 Neutrallipide 257
 – Synthese, Schema 258
 Neutralseifen 180
 neutrophile Metalloxidierer 340f
 N-Glykosid 254
 Nicht-Schwefelbakterien
 – grüne 418
 – purpur 418
 nichthomologe Rekombination 455
 Nicotinamid 200
 – Wasserstoffübertragung 200
 Nicotinsäureamid *siehe* Nicotinamid
 Nische, ökologische 527
 Nisin 617
 Nitrat 159, 234, **382**
 – in Sedimenten 548
 – Regulator des Energiestoffwechsels 509
 Nitratammonifikation 383, 385f
 Nitratatmung 382
 Nitrattoxidoreduktase 331
 Nitratreduktase 235, 386
 – assimilatorische 382, 386
 – dissimilatorische 383, 385
 Nitratreduktion
 – assimilatorische 235, 382
 – dissimilatorische 235, 382
 Nitratregulator NarXL 509
 Nitratsensorkinase (NarX) 508
 Nitrifikanten 326, 329f
 Nitrifikation 19, 332
 – Energetik 332
 – heterotrophe 332
 Nitrit 449
 Nitrit/Nitrat-Oxidoreduktase 331
 Nitritoxidation 331
 Nitritreduktase, 235
 – assimilatorische 382
 – dissimilatorische 383, 385
 Nitrobakterien 330–331
 Nitrogenase 147, 237, 574
 – Sauerstoff 238
 – Reaktion 238
 Nitrogenase-Reduktase 237
 Nitrosobakterien 330
 N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidin (MNNG) 450
 NO, Denitrifikation im Boden 556
 N₂O, Denitrifikation im Boden 556
 Nod-Faktoren 575
 Nomenklatur 44
 – binäre 47
 Nonsense-Mutationen 446
 Normalpotenzial 212, 381
Nostoc 577
 Novobiocin *siehe* Coumarine
 NtrC (Stickstoffregulator) 502
 Nucleorhabdovirus 117
 Nukleinsäuren
 – Abbau 296
 – Verwertung durch Bakterien 529
 Nukleinsäuresynthese, Hemmung durch Antibiotika 182
 Nukleoid 31, 129
 Nukleokapsid 114
 Nukleosid-3'-phosphat 296
 Nukleosid-5'-phosphat 296
 Nukleosiddiphosphat(NDP)-aktivierter Zucker 254
 Nukleosomen 31, 109
 Nukleotide, Biosynthese 254

O

 O-Acetylserin-Sulphydrylase 239
 Oberfläche/Volumen-Verhältnis 12
 Oberflächenanheftung von Bakterien 539
 Oberflächensterilisation 186
 obergärige Hefe 363
 obligat aerob 160
 obligat anaerob 160
 obligate Symbionten 75
 Octopus-Quelle 560
Oenococcus 362
 O-Glykosid 254
 Oidien 68
 Okazaki-Fragmente 445
 Ökosysteme 527
 – aquatische 545
 Oligogalacturonase 289
 Oligosaccharide 42
 oligotroph 530, 545
Oligotropha 344
 OmpC 137, 516
 OmpF 137, 516
 Onkogene 108, 116
 Onkoproteine 108
 Oogonien 93
 Oomyceten 62
 Oosporen 93
 Operon 469
 o-Phenylphenol 187
 Opine 465, 594
 optische Testmethoden 200
 Organellen 59
 Organismen, methylotrophe 311
 organotroph 158
 ori (Replikationsursprung) 109
oriC (Origin of Replication) 444
 Origin of Replication (*oriC*) 444
oriT (Origin of Transfer) 463
 Ornithin 253
 Orthomyxoviridae 117
ortho-Spaltung 305
 Osmolarität 137
 Osmolytika
 – als Frostschutzmittel 561
 – Rolle bei hohen Salzkonzentrationen 563
 Osmoregulation 515
 – kompatible Solute 515
 Osmotoleranz 81
 Oxalsäure
 – Ligninabbau 294
 – Produktion 607, 609
 Oxidasen 160, 331f
 – flavinhaltige 222
 – terminale 331, 508
 Oxidase-Test 215
 oxidasenegative Bakterien 217, 220
 oxidasepositive Bakterien 215, 220
 β-Oxidation 312
 Oxidation 200
 – diterminale 308
 – Kohlenmonoxid 344
 – lithotrophe 549
 – Metallionen 340f
 – unvollständige 317
 – – in der Biotechnologie 604
 Oxidationsmittel 233, 244

- oxidative Burst 595
- oxidativer Acetyl-CoA-Weg 210
- oxidativer Pentosephosphatzyklus 203f, 210
- 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase 209
 - Anaerobiose 507
- 2-Oxoglutarat-Synthase 247
- Oxygenase 160, 222, 303
 - Alkanabbau 308
 - Reaktionen 308
- OxyR-Regulon 513
- oxyS-RNA 502
- Oxytetracyclin 616
- Ozean 550
- Ozonierung, Trinkwasserbehandlung 630
- P**
- Φ6 118
- Φ29 102
- ΦX174 104, **113**
- P1 466
- P1-derived artificial chromosome (PAC) 480
- p53 110
- Paarungstypen *siehe* Kreuzungstypen
- PAC (P1-derived artificial Chromosome) 480
- Pac-Site 118
- Palindrom 500
- Pandemie 118
- Pansen 566
 - Celluloseabbau 288
- Pansenmicrobiota 567
- Papillomaviridae 109
- Papillomviren 109
- PAPS (Phosphoadenosinphosphosulfat) 239
- Paracoccus* 337
- Paraffine, Abbau 308
- Parasitella parasitica* 92
- Parasitismus **78f**, 542, 573
- Parenthosomen 59
- Parvoviren 113
 - Replikation 114
- Parvoviridae 113f
- Pasteur, Louis 4
- Pasteur-Effekt 360f
- Pasteurisation 4, 182, 187
- Pathogene 59, 359
- Pathogenität 241
- Pathogenitätsfaktoren, Proteasen 295
- Pathogenitätsinsel 581
- PCR (Polymerasekettenreaktion) 191, 488, **590**
- p-Cumarylalkohol 293
- Pectin 289
 - Abbau 289
 - in der Biotechnologie 621
 - Verdauung 566
- Pectinase 289
 - als Pathogenitätsfaktor 290
 - in der Biotechnologie 289
- Pectinmethylesterase 289
- Pelagibacter ubique* 436
- Pelochromatium* 420, 543
- Penetration 107
- Penicillin 86, 134, 150, 166, **614**
 - halbsynthetisches 611, 614
- Penicillinase 614
- Penicillinbindepoteine 260
- Penicillium* 64
- Penicillium notatum* 86
- Pentachlorphenol 316
- Pentamer 107
- Pentapeptid 134
- Pentapeptidseitenkette 259
- Penton 102
- Pentosen 42, 355
 - Abbau 300
 - Vergärung 355
- Pentosephosphat-Zyklus 357
 - oxidativer **203ff**, 210, 246
- Pentosephosphatweg **203ff**, 356
 - Reaktionen 205
- PEP-Carboxykinase 225
- PEP-Carboxylase 250
- Peptidantibiotika 39
- Peptidase 295
- Peptidbindung 39
- Peptidoglykan 123, 133
- peptolytisch 369
- Pepton 163
- Perchlorat 403
- Perchlorethylen 403
- perfektes Stadium 90
- Periplasma 138
- Perithecien 71
- Permeabilitätskoeffizient 265
- Permeasen 266
 - Zuckeraufnahme 298
- Peroxidant 604
- Peroxidase **222**, 294, 512
 - Mn-abhängige 294
- Peroxide 222
- Peroxisomen 33, 59
- Persulfid-Dehydrogenase 338
- Pestivirus 114
- Pferd, Verdauungsapparat 568
- Pferdemist 568
- Pflanzen, Bauprinzip 6
- Pflanzenzellwand
 - Abbau 288
 - Aufbau 288
- pH-Differenz 219
- pH-Schwankungen 161
- PHA (Polyhydroxyalkanoat) 261
- Phagen *siehe* Bakteriophagen
- Phagosomen 21
- Phanerochaete chrysosporium* 294
- Phänotyp 446
- Phase
 - exponentielle 174
 - stationäre 175, 510
 - – Kontrolle durch 6S-RNA 503
 - – Regulation 510
- Phasenkontrastmikroskop 125
- Phasenvariation 455
- Phenole 180, 187
- Phenylacetylcarbinol 611
- Phenylalanin, Abbau 307
- Phenylpropaneinheit 293
- Pheophytin 427f
- Pheromonantwort 81
- Pheromone 70, 520
- Pheromonsynthase (LuxI) 520
- Phloroglucin 308
- PhoE 138
- Phosphat 21, 159
 - im Abwasser 628
- Phosphatase 240
- Phosphatrücklösung 549
- Phosphit 240
- Phosphoadenosinphosphosulfat (PAPS) 239
- Phosphodiesterase 296
 - Reaktionen 298
- Phosphoenolpyruvat-(PEP-)
 - Phosphotransferasesysteme 271
- Phosphofructokinase 202, 361
- 6-Phosphogluconat 300
- 6-Phosphogluconat-Dehydratase 204
- 3-Phosphoglycerat, Umsetzung zu Pyruvat 204
- 3-Phosphoglycerat-Kinase 203, 350
- Phosphoglycerat-Mutase 203
- Phosphoketolasen 351, 356f
- Phospholipide 43, 257
- Phosphonatverbindungen 240
- Phosphopantethein 256
- Phosphor 20, 159, 232, **240**
 - Assimilation 240
 - Kreislauf 19
- 5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphat (PRPP) 254
- Phosphorylierung
 - posttranslationale Kontrolle 494
 - zyklische 430
- Phosphorylierungspotenzial 244
- Phosphotransacetylase 351, 366, 372
- Phosphotransferasesystem (PTS), Glucoserepression 505
- Photobacterium* 223
 - Biolumineszenz 520
- Photobionten 77
- Photolyasen 453
- Photosynthese 407
 - Aktionsspektrum 431
 - anoxygene 432
 - bakteriorhodopsinabhängige 435
 - Halobakterien 435
 - Hemmstoffe 431

- oxygene 426
- Wirkungsgrad 430
- Photosystem, anoxygenes 432
- Photosystem I 428, **430**
 - FeS-Typ
 - – anoxygen 434
 - – oxygen 430
- grüne Schwefelbakterien 434
- Heliobakterien 434
- Photosystem II 428
 - Chinon-Typ
 - – anoxygen 434
 - – oxygen 428
- Grüne Nicht-Schwefelbakterien 417
- Purpurbakterien 417
- Phototaxis 141
- phototroph 158
- Phragmobasidie 89
- Phragmobasidiomyceten 63
- Phycobiline 424
 - Absorptionsspektren 424
 - Struktur 424
- Phycobilisomen 146, 424, **426**
 - Struktur 426
- Phycobionten 544
- Phycocyanobiline 424
- Phycoerythrobiline 424
- phylogenetischer Stammbaum 7, 9
- Phytase 620
- Phytat 620
- phytopathogen 78
- Phytophthora infestans* 94
- Picornaviridae 111, 114
- Picromycin 616
- Piericidin A 216
- Pigment P₆₈₀ 427f
- Pigmente, akzessorische 422
- PII-Protein 517
- Pili 123, 142
 - Adhäsine 582
 - F- (Fertilitäts-) 142
 - Sex- 142
 - Typ-IV- 461
- Pilobolus* 64
- Pilze 8, 59
 - Bodenpilze 556
 - Brand- 88
 - Echte 60f
 - entomopathogene 81
 - filamentöse 60
 - imperfekte 65
 - parasitische 73
 - pflanzenpathogene 593
 - phytopathogene 78
 - Rost- 89
 - Speise- 86
 - symbiontische 73
 - Vermehrungsformen 62
 - Wirtswechsel 89
- Pilzgifte 86
- Planktomyces maris* 52
- Plaque 580
- 2 μ -Plasmid 84
- Plasmide 31, 82f, 129, **443**
 - Inkompatibilität 443
 - konjugative 443, 462
 - Kopien 129
 - Kopienzahl 443
 - lineare 129
 - Mega- 129
 - mobilisierbare 464
 - Resistenzgene 443
- Plasmodesmen, bei Cyanobakterien 412
- Plasmodiophorales 94
- Plastochinon 427f
- Plastochinonpool 429
- Plastocyanin 428f
- Plattengusstechnik 4
- Plektenchym 60
- Pleurotus ostreatus* 86
- plus-Strang 105
- Podospora anserina* 64, 71
- pol-Gen 115
- Poliovirus 114
- Poly- β -Hydroxybuttersäure 143
- Polyamine 302
- polycistronische mRNA 469, 474
- Polyester, biotechnologische Herstellung 621
- Polyfructosan 292
- Polyglucose 260
- Polyhydroxyalkanoat (PHA) 261
 - biotechnologische Produktion 621
- Polyhydroxybuttersäure (PHB), biotechnologische Herstellung 621
- Polyhydroxyfettsäuren 260
- Polymerase Chain Reaction (PCR) 191, 488, **590**
- Polymerasekettenreaktion (PCR) 191, 488, **590**
- Polymerasen 444
- Polymere 159
 - Verwertung durch Bakterien 529
- Polymerisation, radikalische, Ligninsynthese 293
- Polymyxin 180, 671
- Polyomaviridae 108
- Polypeptidantibiotika 180, 617
- Polyphosphate 261, 628
- Polyphosphatgranula 144
- Polysaccharide 24, 42, 91
 - Abbau 287ff
 - pflanzliche, Verdauung 566
 - Vergärung durch Termiten 568
 - Verwertung durch Bakterien 529
- Polysomen 130
- Polysulfid 394
- Polysulfidreduktase 394
- Population 527
- Porine **137**, 265, 516
 - FadL 138
 - LamB 138
 - Maltoporin 138
 - OmpC 137, 516
 - OmpF 137, 516
 - PhoE 138
 - ScrY 138
- Pospiviroidae 120
- Postgenomik 486f, 489
- posttranslationale Modifikationen 475
- Postulate, Koch'sche 5
- Potatoe-Spindle-Tuber Viroid, PSTV 120
- Potenzial
 - elektrochemisches 218, 381
 - Normal- 381
 - Redox- 381
- ppGpp *siehe* Guanosintriphosphat
- PQQ (Pyrrolochinolin-Chinon) 309, 605
- PQQ-Enzym, bei unvollständigen Oxidationen 317
- Präbiotika 624
- primäre Transportsysteme 269
- Primärproduktion 550
 - an heißen Standorten 559
 - chemolithotrophe 559
 - phototrophe 559
 - sekundäre 546
- Primärproduzenten
 - chemotrophe 559
 - phototrophe 559
- Primer 444
- P-Ring 139
- Prionen 591
- Probiotika 624
- Prochlorococcus* 550
- Prochloron* 413
- Prochlorophyten 413
- Produktionsphase 175
- Produktionsstamm 622
- Produzent 17, 527
- Prokaryonta *siehe* Prokaryonten
- Prokaryonten 7, 31
 - hyperthermophile 559
 - Tabelle 35
- prokaryontische Zelle **36f**, 149
 - gramnegative 36
 - Zellformen 54
- prokaryontisches Chromosom 128
 - lineares 128
 - ringförmiges 128
 - Supercoil 128
- Prolin 253
 - Abbau 314
- Promotor 469, 623
 - ara-Operon 501
 - lacZYA-Operon 501
 - DNA-Schleife 501f
 - komplexer 501
 - Musterpromotor 470

- Proofreading 445
 Propeller Twist 441
 Prophagen 456
 β -Propiolacton 185
 Propionat, Assimilation 225
Propionibacterium 371
 – auf der Haut 579
Propionibacterium acne 579
 Propionsäure 187
 Propionsäurebakterien 358
 Propionsäuregärung 371
 Propionyl-CoA, β -Oxidation 313
 Propionyl-CoA-Carboxylase 249, 313
 Prosthecan 531
 Prosthekan 37
 prosthetische Gruppen 198
 Protease ClpXP 512
 Proteasen 295
 – aktives Zentrum 295
 – Biotechnologie 295
 – biotechnologische Herstellung 620
 – Nachweis 295
 – Pathogenitätsfaktoren 295
 – Seitenkettenspezifität 295
 Proteinase 295
 Proteine 38f, 234
 – Abbau 295
 – chlorophyllbindende 428
 – DNA-bindende 500
 – histonähnliche 442
 – in der Biotechnologie 621
 – Primärstruktur 39
 – Quartärstruktur 41
 – Sekundärstruktur 39
 – Tertiärstruktur 41
 – Verwertung durch Bakterien 529
 Proteinexport 276f
 – Resistenz 275
 Proteinmodifikation
 – Glutaminsynthetase 516
 – Kontrollenzyme 496
 – modifizierbare Aminosäuren 496
 – Phosphorylierung 495
 Protein RB107 110
 Proteinspeicher 262
 Proteinsynthese, Hemmung durch
 Antibiotika 181
 Proteobakterien 48
 Proteolyse, posttranslationale
 Kontrolle 494
 Proteom 488
 Proteomik 486
 Proteorhodopsin 436
Proteus mirabilis 141
 – im Urogenitalbereich 581
 Protisten 7, 94
 Protoascomyceten 70
 Protocatechusäure 303
 Proton motive Force 218
 Protonendiffusionspotenzial 218
 Protonengradient 383
 Protonenpotenzial 218
 Protonenpumpe, lichtgetriebene 435
 Protoperithecium 70
 Protoplast 85, 134
 Protoporphyrin IX 420
 prototroph 157
 Protozoen 8, 21
 – Fütterungskette 543
 Provirus 101, 116
 Prozesskontrolle, mikrobiologische 634
 PRPP (5-Phosphoribosyl-1-
 pyrophosphat) 254
 Pseudohyphen 67
Pseudomonas 118, 593
Pseudomonas aeruginosa 49, 142
 – Steckbrief 588
Pseudomonas solanacearum 593
 Pseudomurein 135
 Pseudoparenchym 60
 Pseudopilus 461
 Pseudopodien 94
 PSTV (Potatoe-Spindle-Tuber Viroid)
 120
 psychrophil 161, 561
 PTS (Phosphoenolpyruvat-
 Phosphotransferasesystem) 271, 505
Puccinia graminis 89
 Pufferung 161
 Pullulan 292
 Pullulanase 292
 Pulsfeldgelelektrophorese 478
 Purine 41
 – Abbau 314
 Purinnukleotide 255
 Purpurbakterien 48, 133, **417**
 – Massenentwicklung 547
 Purpurmembran 435, 563
 Pyocine 617
 Pyocyanin 49
 Pyridinnukleotide 199
 Pyrimidine 41
 – Abbau 314
 Pyrimidinnukleotide 255
 Pyrit
 – mikrobielle Umsetzung 564
 – Oxidation 562
Pyrodictium occultum 560
 Pyrophosphatase 240
 Pyrrolochinolin-Chinon (PQQ) 309, 605
 Pyrrolisin 475
 Pyruvatcarboxylase 163, 225
 Pyruvatdecarboxylase 208, 360
 Pyruvatdehydrogenase 207, 227
 – Reaktionsschritte 208
 Pyruvatfamilie 252
 Pyruvat-Ferredoxin-Oxidoreduktase
 208, **352**, 369
 Pyruvat-Formiat-Lyase 208, **352**, 364
 – anaerober Citratzyklus 507
 Pyruvatkinase 203, 350
 Pyruvat-Phosphat-Dikinase 225
 Pyruvatoxidation 207
 Pyruvat-Wasser-Dikinase 225
 Pyruvatsynthase 163, 248
 – Reaktion 248
Q
 Q β 114
 Q-Zyklus 429
 Quantenbedarf, Photosynthese 430f
 Quelle, vulkanische 15
 Quorum Sensing 223, 460
 – siehe auch Zelldichte, Regulation
 – Biofilmbildung 520
 – Virulanz 520
R
 R17 114
 Racemat 602
 Radikalkation, im ligninolytischen
 System 294
 Raffinose 298
Ralstonia taiwanensis,
 Stickstofffixierung 574
 Raseneisenerz 564
 Rasterelektronenmikroskop 127
 Rasterkraftmikroskop 128
 Raucher, Schwarzer 554
 Räuchern 187
 RB107 110
 reactive Oxygen Species (ROS) 221
 Reaktion 1. Ordnung, Kinetik 172
 Reaktionen
 – anaplerotische 223
 – Enzyme 225
 – Hypersensitive 79
 – Sonderfälle 225
 Reaktionswärme, in Bioreaktoren
 603
 reaktive Sauerstoffspezies,
 Inaktivierung 222
 Reaktorbett 629
 RecA-Proteine 453, 455
 RecBCD-Multienzymkomplexes 455
 recycling 113
 Redox-Carrier 349
 Redoxbilanz 349
 Redoxkette, photosynthetische 427
 Redoxpotenzial **211**, 324f, 328, 381
 – pH-Wert 212
 Reduktase, terminale 381
 Reduktion 200
 Reduktionsmittel 233, 244
 Reduktionszeit, dezimale 183
 reduktiver Acetyl-CoA-Weg **248**, 401
 – Reaktionen 248
 reduktiver Citratzyklus **247**, 372, 389
 – Reaktionen 247
 Reed, Walter 99
 Regelkreise 498

Regulation

- aerobe Atmung 507
- Aerotaxis 507
- allosterische 227, 244, **495**
- allosterische Effektoren 197
- anaerobe Atmung 507
- Chemotaxis 518
- Energiestoffwechsel 504f, 507
- O_2 , Nitrat 509
- Enzymaktivität 197
- futile Cycle 226
- Gärung 507
- Genexpression 493
- Hitzeschock 514
- Katabolismus 504f, 507
- negative 500
- osmotischer Druck 515
- positive 501
- posttranslationale 494f
- – Glutaminsynthetase 516
- Quorum Sensing 520
- Sauerstoff 221
- Schlüsselenzyme 227
- stationäre Phase 510
- Stickstoffassimilierung 516
- Stoffwechsel, Elektronenakzeptoren 507
- Zelldichte 520
- zentrale Stoffwechselwege 226
- Regulon 497
- Reinkultur 168, 189
- Isolierung 168
- Reisfelder, Methanfreisetzung 556
- Reiswein, Herstellung 292
- Reiz
- chemischer 497
- physikalischer 497
- Reizaufnahme 497
- Reizverarbeitung 497
- Rekombination 83, **454**, 461
- homologe 454
- nichthomologe 455
- Rekombinationsfrequenz 84
- RelA-Protein 509
- Relaxase 463
- Relaxin 623
- Renaturierung 632
- Rennin 358, 620
- Reoviridae 119
- Repeat induced Point Mutation (RIP) 83
- Replikase 445
- Replikation 100, 444
- bidirektionale 109
- Headful- 120
- Initiation 494
- Regulation 493
- semikonservative 108f
- Replikationsgabel 444
- Replikationsursprung *oriC* 84, 109, 444
- replikative Transposition 459

Repression

- *trpEDCBA*-Operon 500
- von Biosynthesewegen 500
- Repressorprotein 500
- Resistenzgene 79
- Pflanzenabwehr 595
- Resistenzplasmid RP4 464
- Resistenztransferfaktoren 464
- Resolvase 457
- Resonanzenergie 302
- Resorcin 308
- Response-Regulator, siehe auch Antwortregulator 499
- NarL 508
- Restriktions-/Modifikations- (R/M-)systeme 467
- Erkennungssequenz 467
- Restriktionsendonukleasen 467
- Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus, terminaler (TRFLP) 539
- Retentionszeit, in der Kläranlage 626
- Retikulum, Endoplasmatisches 32, 59
- Retinal 435
- Retrohoming 459
- Retrotransposition 105, 459
- Retroviren 104, 111, 114f
- Reverse Transkriptase 104, 115f
- Rezeptoren 103, 107, **497**
- RF-Form 104
- RFLP (Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus) 539
- R-Gen 595
- Rhabdoviridae 117
- Rhinovirus Typ 14 114
- Rhizobium* 556
- Rhizobium leguminosarum*, Stickstofffixierung 574
- Rhizobium meliloti*, Stickstofffixierung 574
- Rhizomorphen 60
- Rhizopus stolonifer* 65
- Rhodobacter* 418
- Rhodocyclus* 418
- Rhodopseudomonas* 418
- Rhodopseudomonas viridis* 431
- Rhodospirillum* 418
- Rhodospirillaceae* 416
- Rhythmen, circadiane 91
- Riboflavin 86
- biotechnologische Herstellung 618
- Ribonukleinsäure siehe RNA
- Ribonukleotidreduktase 41, 255
- ribosomale RNA 470
- Ribosomen 33, 129
- 30S 129
- 50S 129
- 70S 129
- -Bindungsstelle 473
- Riboswitch 503
- Ribotypisierung 46

Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase

- 146, 245
- Oxygenase-Nebenaktivität 246
- Oxygenase-Reaktion 247
- Ribulose-5-phosphat, Formaldehydoxidation 311
- Ribulose-5-phosphatkinase 246
- Ribulosemonophosphatzyklus 204
- Rickettsia prowazekii*, Steckbrief 588
- Rieselturm 627
- Riesenbakterien 36
- Riesenzellen 335
- Rifampicin 182
- Rinderwahnsinn (BSE) 591
- Ringelröteln 113
- RIP (repeat induced point mutation) 83
- Ristocetin 617
- 6S-RNA, Kontrolle der stationären Phase 503
- RNA (Ribonukleinsäure) 234
- 16S-rRNA 47
- messenger- (mRNA) 42, 470
- *micF* 503
- *oxyS* 502
- 16B 190
- Gehalt 174
- Introns 120
- kleine regulatorische siehe small RNA
- Polymerase, core-Enzym 502
- Polymerasen 469
- – σ -Faktor 469
- Primer 445
- regulatorische 502
- Retroviren 104
- ribosomale (rRNA) 42, 470
- Schalter 503
- small- (sRNA) 502
- – Riboswitch 503
- – unter Stressbedingungen 511
- Sonde 538
- Transfer (tRNA)- 42, 470f
- – Initiator- 473
- – Suppressor- 472
- RNA-Viren 114
- Alphavirus 114
- Arterivirus 114
- Calciviridae 114
- Calcivirus 114
- Coronaviridae 114
- Coronavirus 114
- Cocksackievirus B3 114
- doppelsträngige 118
- – Eukaryonten 119
- – Prokaryonten 118
- – *Saccharomyces cerevisiae* 119
- Flavivirus 114
- Hepatitis-A-Virus 114
- Hepatitis-C-Virus 114
- Hepatitis-E-Virus 114
- Immundefizienzvirus, HIV 116
- minus-Strang-, der Eukaryonten 117

- murines Leukämievirus, MLV 116
 - Pestivirus 114
 - Picornaviridae 114
 - plus-Strang-, der Eukaryonten 114
 - plus-Strang-, der Prokaryonten 114
 - Poliovirus 114
 - Rhinovirus Typ 14 114
 - Rous-Sarkom-Virus 116
 - Rubiviren 114
 - Togaviridae 114
 - Torovirus 114
 - RNAi 120
 - RNaseH 115, 445
 - Rohhumus 73
 - Rohwurst 358
 - rolling Circle 104, 113
 - Replikation 464
 - Röntgenstrukturanalyse 431
 - ROS (reactive Oxygen Species) 221
 - Roseobacter* 415, 550
 - Rostpilze 89, 595
 - Rotatorien 532
 - Rotavirus A 119
 - Rotenon 216
 - Rous-Sarkom-Virus 116
 - RP4 Resistenzplasmid 464
 - R-Plasmide 464
 - rpoS*-Gen 511
 - rRNA (ribosomale RNA) 470
 - Sonde 537
 - RssB 512
 - Rubisco 146, 246
 - Rubiviren 114
 - Rubredoxin 309
 - rückläufiger Elektronentransport 220, 325ff
 - Ruminococcus* 566
 - Ruminococcus albus* 376
 - Rusticyanin 341
- S**
- S-abhängige Archaeobakterien 393
 - S-Adenosylmethionin 232, 242
 - S-Adenosylmethionin-Synthetase 243
 - saccharolytisch 369
 - Saccharomyces cerevisiae* 62, 64
 - Saccharose 298
 - in der Biotechnologie 621
 - Saline 15
 - Salmonella* 190, 364
 - Salmonella enteritidis*, Steckbrief 588
 - Salmonella typhi*, Steckbrief 588
 - Salmonella typhimurium* 113
 - Steckbrief 588
 - Salpeter 329, 562
 - Salvage Pathway 296
 - Salzen 187
 - Salzseen 563
 - Saprolegnia* 93
 - Saprophyten 76
 - saprophytisch 73
 - Sarcinen 36
 - Sättigungskurve 178
 - Sauerstoff 159
 - aerotolerant 220
 - Aktivierung 221
 - als Cosubstrat 222
 - Biolumineszenz 222
 - Eigenschaften und Funktionen 220
 - Entgiftungsreaktionen 221
 - fakultativ aerob 220
 - mikroaerob 220
 - obligat aerob 220
 - reaktive Sauerstoffspezies 221
 - Regelsignal 221
 - Regulation 221
 - Regulator des Energiestoffwechsels 509
 - strikt anaerob 220
 - toxische Wirkung 221
 - Sauerstoffbedarf
 - biologischer (BSB, BOD) 625
 - chemischer (CSB) 625
 - Sauerstoffsensor, ArcBA 508
 - Sauerstoffspezies, reaktive 222, 512
 - Inaktivierung 222
 - Sauerstoffstimulon 498
 - Sauerstoffverbindung, reaktive, Pflanzenabwehr 595
 - Sauerstoffverbrauch 13
 - Sauerteig 358
 - Säuerung 187
 - Säuregärung, gemischte 363
 - σ^B , in *Bacillus* 512
 - Schädlingsbekämpfung 25
 - mikrobielle 634
 - Schichtung
 - Boden 557
 - Gewässer 545
 - Schizophyllum commune* 60, 63, 70
 - Schizosaccharomyces pombe* 62, 64, 82
 - Schlammrückführung 626
 - Schleime 136
 - Schleimhäute 25
 - Schleimpilze, syncytiale 94
 - Schlinger 21
 - Schlüsselenzyme 226, 246
 - Schmelztemperatur 46
 - Schnallen 69
 - Schreckstoffe 140
 - Schüttelkrankheit 592
 - Schutzpigmente 423
 - Schwanzfasern, Bakteriophagen 107
 - Schwärmbewegung 141
 - Schwärmerzelle 521
 - Schwarze Raucher 554
 - Schwebbett 629
 - Schwefel 20, 159, 232, **238**
 - Atmung 393
 - biogener 565
 - Kreislauf 20
 - Schwefel-Oxygenase/Reduktase 337
 - Schwefelbakterien 333
 - Grüne 415, 419
 - – Photosynthese 434
 - Schwefellagerstätten 564
 - Schwefeln 361
 - Schwefeloxidation 336
 - *Acidianus* 339
 - Schwefelpurpurbakterien 415, **418**
 - Massenentwicklung 416
 - Schwefelquellen 561
 - Schwefelsäure, an sauren Standorten 561
 - Schwefelung 187
 - Schwefelwasserstoff 239
 - Tiefsee 554
 - Schwermetalle 180
 - Schwimmen 518
 - Scrapie 592
 - ScrY 138
 - Sec-Translokationssystem 276
 - Chaperone 276
 - Signalpeptidase 277
 - SECIS (Selenocysteininsertionssequenz) 476
 - Secretin 461
 - Sedimente 324
 - marine 552, 557
 - See 548
 - Seekreide 548
 - Seen 545
 - athalassohaline 563
 - eutrophe 545
 - holomiktische 545
 - meromiktische 545
 - oligotrophe 545
 - Salzseen 563
 - thalassohaline 563
 - Sekretionssysteme
 - Typ I 278
 - Typ II 277
 - Typ III 139, 278, 583
 - Typ IV 278, 589, 594
 - Typ V 278
 - Typ-IV- 463
 - spezielle 277
 - Sekt 362
 - sekundäre Gärung 375
 - Sekundärmetabolismus 86
 - Sekundärmetabolit 611
 - Selektion
 - in der Züchtung 622
 - Mutanten 451
 - Selektionsmarker 84
 - selektiv 162
 - selektive Kulturmethode 166
 - Selenat 403
 - Selenocystein 475
 - Selenocysteininsertionssequenz (SECIS) 476
 - Selenomonas* 566

- semikonservative Replikation 108
 Sensor-Regulator-Systeme 137, 274
 Sensoren 497
 Sensorkinase 499
 – CheA (Chemotaxis) 519
 Septen 60, 66
 Sequenzen, autonom replizierende 84
 Serin 231, 242
 – Abbau 307
 Serin-Hydroxymethyl-Transferase 242, 250
 Serin-Transacetylase 239
 Serin/Threonin-Proteinkinasen, Zweikomponentensystem 499
 Serinfamilie 252
 Serintransacetylase 239
 Serinweg 250
 – Regeneration Akzeptor 251
 – Schlüsselreaktionen 251
 Serovaren 190
Serpula lacrymans 74
Serratia marcescens 364
 Serum-Hepatitis 591
 Serumresistenz 586
 Sesquiterpene 257
 Sexpili 463
 σ -Faktor 469, **502**
 – σ^{32} 503, 514
 – σ^{38} 511
 – – bei schnellem Wachstum 511
 – σ^{54} 517
 – σ^{70} 502
 – σ^B 512
 – σ^S 511
 – Endosporenbildung 522
Shigella 364
Shigella dysenteriae, Steckbrief 588
 Shine-Dalgarno-Sequenz 473
 Shotgun-Sequenzierung 482
 Siderophore 241, 586
 Sigma-Faktor *siehe* σ -Faktor
 Signalpeptidase 277
 Signalsequenzen 276
 Signaltransduktion 81
 Signatursequenzen 48
 Sikyospore 93
 Silage 359
 Silicagel 163
 Silicium 20
 Simian Virus 108
 – Polyomaviridae 108
 – SV40 108
 Sinapinalkohol 293
 single Cell Protein 311, 623
 Singlet-Sauerstoff 423
 Sirohäm 385, 390
 Sklerotien 79
 small RNA (sRNA) 502
 – Riboswitch 503
 – unter Stressbedingungen 511
 (S)-Methylmalonyl-CoA 313
 SOD (Superoxiddismutase) 512
 Solute, kompatible 515
 Somatostatin 623
 Somatotropin 623
 Sorbinsäure 187
 Sorbitol, Oxidation durch Essigsäurebakterien 605
Sordaria macrospora 64, 71
 SOS-Antwort 453
 SoxRS-Regulon 513
 Spalthefe 62
meta-Spaltung 305
ortho-Spaltung 305
 späte Gene 100
spc-Operon 510
 Speicherglykogen, Abbau 299
 Speicherstoffe 42, 143
 – Biosynthese 260f
 Speiseessig 317
 Speisepilze 85f
 Spermatium 70, 89
 Spermatogonien 89
 spezielle Sekretionssysteme 277
Sphaerotilus natans 144
 S-Phase 66
 Sphingolipide 257
 Spike 109
 Spindel 84
Spirillum volutans 144
Spirochaeta sp. 52
 Spirochaeten 36
Spiroplasma melliferum 129
Spirulina 562
 Spitzenkörper 60
 spontane Mutationen 446
 Sporangien, asexuelle 64
 Sporen 62, **531**
 Sporenbildung 189
 Sporenhülle 148
 Sporidien 64, 80
 SpoT-Protein 510
 Sprossung 67
 Spurenelemente 157, 240
 Squalen 258
 – Struktur 258
 sRNA *siehe* small RNA
 SSB (Single Strand binding Protein) 445
 S-Sulfocystein-Reduktion 239
 Stäbchen 36
 Stabilitätskonstante 241
 stable Isotope probing 538
 Stadium
 – imperfektes 90
 – perfektes 90
 Stammbaum, phylogenetischer 7, 9
 Stammknöllchenbakterien 574
 Standard- σ -Faktor 502
 Standardzellen 169
 Standort 527
 – basischer 561
 – extremer 557
 – – Konservierung 558
 – kalter 561
 – saurer 561
Staphylococcus
 – auf der Haut 579
 – in den Atemwegen 581
Staphylococcus aureus 50
 – Steckbrief 588
 Staphylokokken 36
 Stärke 143, **291**
 – Abbau, Biotechnologie 292
 – in der Biotechnologie 621
 – Nachweis durch Iod 291
 Starterkulturen 357, 623
 stationäre Phase 175
 statische Kultur 180
 Steinkohle 294
 sterile Aufzucht 185
 Sterilfiltration, Biotechnologie 603
 Sterilisation 182f, 185f
 Steroide 24, 258
 – mikrobielle Synthese 610
 Stickskulturen 188
 Stickland-Gärung 374
 Stickstoff 20, 159, 232
 – molekularer 159
 Stickstoffassimilierung 234
 – molekularer Stickstoff 517
 – Regulation 516
 Stickstofffixierung 19, 237
 Stickstoffhaushalt, im Boden 556
 Stickstoffkreislauf 19
 Stickstoffmonoxid 383
 Stickstoffregulator NtrC 502
Stigmatella aurantiaca 49
 Stimulon 497
 – Sauerstoff 498
 Stoffaufnahme 13
 Stoffkreislauf 17, 323
 Stoffumsatz 13
 Stoffwechsel 195
 – Charakterisierung 190
 – Grundmechanismen 195
 – Hemmung 180
 – Schema 195
 Stoffwechselaktivität 13
 Stoffwechselprodukt
 – primäres 601
 – sekundäres 601
 Stoffwechselschema 300
 Stoffwechseltypen 45
 Stoffwechselsvielfalt 13
 Stoffwechselwege
 – peripherer, aerober Aromatenabbau 303

- zentrale 196, 202, 231
 - – aerober Aromatenabbau 305
 - – allosterische Kontrolle 227
 - – Kohlenstoffverbindungen 224
 - – Regulation 226
 - Stoppodon 474
 - Strahlen, ionisierende 185f
 - Strahlenbehandlung 186
 - Stratifikation 545
 - Streptococcus* 580
 - im Stuhl 580
 - in den Atemwegen 581
 - Streptococcus pneumoniae* 50
 - Steckbrief 588
 - Streptococcus pyogenes*, Steckbrief 588
 - Streptokokken 36
 - Streptomyces griseus* 51
 - Streptomycinproduktion 615
 - Streptomyces venezuelae*, Chloramphenicolproduktion 615
 - Streptomycin 150, 181, 473, **615**
 - Stress, oxidativer 512
 - Stressantwort
 - generelle 509ff
 - – σ^{38} 511, 516
 - – σ^B 512
 - spezifische 512ff
 - – Hitzeschockreaktion 513
 - – oxidativer Stress 512
 - Strichtest, Antibiotikanachweis 613
 - Stromatolithe 10
 - Strudler 21
 - Strukturanaloge 181
 - Strukturprotein, Abbau 295
 - stumme Mutationen 446
 - Submerskultur 164
 - Suboxidant 604
 - Substanzen, polymere, Biofilmbildung 540
 - Substrataffinität 178, 529
 - substratbegrenztes Wachstum 178
 - Substrathyphen 60
 - Substratkettenphosphorylierung 204, 350
 - energiereiche Zwischenverbindungen 201
 - Substratkonzentration 179
 - Substratphosphorylierung 200
 - Substratspezifität 197
 - Subtilin 180
 - Succinat 365
 - Succinat-Thiokinase 209
 - Succinatdehydrogenase 181, 210, 216
 - bei unvollständigen Oxidationen 317
 - Succinyl-CoA, Abbau geradzahlgiger Fettsäuren 313
 - Succinyl-CoA-Synthetase *siehe* Succinat-Thiokinase 209
 - Suillus viscidus* 78
 - Suizidmetabolit 316
 - Sulfanilamide 181
 - Sulfat 238, **388**
 - Reduktion 389
 - – zu Sulfit 239
 - Transport 390
 - Sulfatesterne 239
 - Sulfatreduktion
 - assimilatorische 20, **238**, 391
 - dissimilatorische 20, 239, 391
 - Sulfatreduzierer
 - Bedeutung 393
 - Habitat 392
 - Isolierung 392
 - Sulfattransfer 239
 - Sulphydryltransfer 239
 - Sulfid-Chinon-Oxidoreduktase 336
 - Sulfid-Cytochrom-c-Oxidoreduktase 336
 - Sulfit 239
 - Sulfit-Chinon-Oxidoreduktase 337
 - Sulfitreduktase 239
 - dissimilatorische 390
 - Sulfolobales* 249
 - Sulfolobus* 110, 160, **336**
 - Sulfolobus acidocaldarius* 54, 562
 - Sulfonamide 181
 - Sulfuretum 551
 - Sulfurikanten 20, 326, **333**
 - symbiotische 335
 - Sumpfeisenerz 564
 - Sumpfgas 395, 549
 - Superantigene 585
 - Supercoil 128
 - Superhelikalität, DNA 493
 - Superoxidanionradikal 222, 512
 - Superoxiddismutase (SOD) 222, 512
 - Suppline 157
 - Suppressor-tRNA 472
 - Surface Exclusion 463
 - S(urface)-Layer 135
 - SV40, Simian Virus 108
 - Symbionten 21
 - obligate 75
 - schwefeloxidierende 338
 - symbiotische Sulfurikanten 335
 - Symbiose 21, 541
 - chemolithoautotrophe 327
 - Cyanobakterien 410
 - Kommensalismus 573
 - Mutualismus 542, 573
 - Neutralismus 573
 - Parasitismus 573
 - Tabelle 573
 - Symbiosom 575
 - Symport 270
 - Synchytrium endobioticum* 65
 - syncytiale Schleimpilze 94
 - Synechococcus elongatus* 51
 - Synechococcus lividus* 559
 - Synökologie 525
 - Syntheseleistung 232
 - syntroph 329, 376
 - Syntrophie 23, 543
 - Syntrophomonas* 376
 - Syntrophus* 376
 - System, ligninolytisches 293
 - Systematik 44
 - Systembiologie 488
 - systemische Infektionen 81
- T**
- T4 102
 - Tabakmosaikvirus, TMV 103
 - Tag-Nacht-Rhythmus 91
 - Tagebau, Renaturierung 631
 - Tangentialfiltration 603
 - Tannine 298
 - Taq-Polymerase 558
 - Tat (twin Arginine Transporter) 277
 - Tat-Translokationssystem 277
 - TATA-Box 469
 - TATA-Box-Bindeprotein (TBP) 469
 - Taumeln 518
 - Häufigkeit 519
 - Taxonomie 44ff
 - numerische 47
 - TBP (TATA-Box-Bindeprotein) 469
 - T-DNA 85, 594
 - Teichonsäuren 134
 - Teilentkeimung 182
 - Teilungsrate, v 171, 173
 - Teleomorph 63
 - Teleosporen 89
 - Temperatur 160
 - Temperatur-Sprungschicht 415
 - Tenside, biotechnologische Herstellung 620
 - terC* Terminator 445
 - terminale Reduktase 381
 - Termination 470
 - Transkription, Attenuation 503
 - Terminator *terC* 445
 - Termiten 22
 - Verdauungsapparat 568
 - Termitendarm, alkalophiler Standort 562
 - Terpene 257, 308
 - Terramycin 616
 - Testmethoden, optische 200
 - Tetrachlorethylen 317
 - Dehalorespiration 317
 - Tetrachlorethylen-Reduktase 317
 - Tetracycline 181
 - Tetrahydrofolsäure 181, 231f, 242
 - Formaldehydoxidation 311
 - Tetrahydromethanopterin, Formaldehydoxidation 311
 - Tetrathionat 339
 - Tetrazykline 150, 473, 615
 - TGGE (thermische Gradientengelelektrophorese) 539
 - Thallus 77

- Thamnidium elegans* 93
 Theorie, chemiosmotische 219
 Thermokline 545
 thermophil 160, 558
 – extrem 160
 – primär 558
 – sekundär 558
 thermophile Anaerobier 9
Thermotoga maritima 53
 thermotolerant 160
Thermus aquaticus 160
 Thiaminpyrophosphat 208
Thiobacillus 333
Thiobacillus denitrificans 49
Thiomargarita 335
Thiomargarita namibiensis,
 Schwefelkugeln 552
Thioploca 335
 – Vakuolen 552
Thiospirillum jenense 140
 Thiosulfat-Chinon-Oxidoreduktase
 337
 Thiosulfat-Dehydrogenase 338
 Threonin, Abbau 307
 Thylakoide 33, 408
 – Cyanobakterien **424**
 Thylakoidmembran 408
 Thymindimer 448, 453
 Ti-Plasmide 85, 465, 594
 Tiere, Bauprinzip 5
 Tiermodelle 5
 tierpathogen 78
Tilletia caries 88
 TMAO (Trimethylaminoxid) 402
 tmRNA (Transfer-Messenger-RNA)
 475
 TMV, Tabakmosaikvirus 103
 Togaviridae 114
 Tollwut 117
 Tollwutviren 117
 Toluol, Abbau 311
 Ton-Komplex 241
 Topo-Cloning 481
 Topoisomerase IV *siehe* Topoisomerasen
 Topoisomerasen 442, 445
 Torf 294
 Torovirus 114
 Toxine 27, **585**
 – A-B-Toxine 585
 – Botulinum- 186
 – Cholera 584
 – cytolytische 585
 – mikrobielle 186
 – Superantigene 585
 Tra-Proteine 463
 Traberkrankheit 592
 trans-Dihydrodiol 308
 Transaldolase 204, 246, 306
 Transamidierung, Reaktionen 236
 Transaminierung, Reaktionen 236
 Transcarboxylase 372
 Transduktion 466
 – allgemeine 466
 – spezifische 466
 Transfer-(T-)DNA 465
 Transfer-Messenger-RNA (tmRNA)
 475
 Transfer-RNA 470
 Transferrin 241, 586
 Transformation 85, 279, **460**
 – *Agrobacterium*-vermittelte 85
 Transglykosylierung 259f
 Transitionen 447, 449
 Transketolase 204, 246, 306
 Transkriptase 118
 – Reverse 104, 115f
 Transkription 42, 469
 – Elongation 469
 – Initiation 469, 500
 – Kontrolle 494
 – Regulation 499
 – Termination 470
 – – Attenuation 503
 Transkriptom 488
 Transkriptomik 486
 Translation 471
 – archaeobakterielle 475
 – Autoregulation 510
 – Elongation 473
 – Elongationsfaktor EF-G 473
 – Elongationsfaktor EF-Tu 473
 – Hemmung durch Antibiotika 473
 – Initiationsfaktoren 473
 – Kontrolle 494
 – Termination 474
 – Terminationsfaktoren 474
 Transmissionselektronenmikroskop
 127
 Transpeptidierung 259f
 Transport 265
 – aktiver 266
 – bakterielle Cytoplasmamembran
 268
 – Disaccharide 301
 – Glykoside 301
 – Kinetik 266
 – Mechanismen 267
 – passiver 265
 – Zucker 301
 Transportmetabolit 198
 Transportproteine 266
 Transportrate 266
 Transportsysteme
 – Differenzierung 275
 – Glycerin 271
 – primäre 269
 – Regulation 272
 – sekundäre 270
 Transposase 457
 Transposition
 – cut and paste 459
 – replikative 459
 Transposons 105, 457
 – Klasse-I- 457
 – Klasse-II- 457
 – konjugative 459
 Transversion 447
 Trehalose 298, 515
 Treibhausgas, Methan 312
 Treibmittel 623
Treponema pallidum 52
 – Steckbrief 588
 TRFLP (terminaler Restriktionsfragment-
 Längenpolymorphismus) 539
 Triacylglyceride, Abbau 296
 Tricarbonsäurezyklus *siehe* Citratzyklus
 Trichogyne 70
Tricholoma 65
Tricholoma terreum 76
 Trichome 412
 Triglyceride 43, 144
 Triglyceridspeicher 261
 1,3,5-Trihydroxybenzol 308
 Trimethylamin 561
 Trimethylamin-N-oxid (TMAO) 402,
 561
 Trinkwasser 14, 630
 Trinkwasserdiagnostik 368
 Triosephosphat-Isomerase 203
 Trisphosphorsäure 72
 Triterpene 257
 tRNA 470f
 – Initiator- 473
 – Suppressor- 472
 Trockenmasse 170
 Trockensterilisator 184
 Trocknung 186
 Trophophase 175
trp-Operons, Leitsequenz 504
trpEDCBA-Operon 500
 Trübung 171
 Trüffulgärten 87
 Trypton 163
 Tryptophan 302, 307
 – Abbau 314
 – biotechnologische Produktion 610
 Tryptophanbiosynthese, Attenuation
 503
Tuber 64
Tuber macrosporium 71
 Tuberkulose 4
 Tumor-Antigene 109
 Tumorsuppressorprotein p53 110
 Tumurviren 101, 108
 Tundra, Methanfreisetzung 556
 Turbidimetrie 171
 Turbidostat 179
 twin Arginine Transporter (Tat) 277
 twitching Motility 520
 Twort, Frederick 99
 Tyndallisation 183
 Typ-II-Topoisomerase
 siehe Topoisomerasen

- Typ-IV-Pili 461
 Typ-IV-Sekretionssystem **463**, 594
 Tyrosin, biotechnologische Produktion 610
 Tyrosinase 221
- U**
- Übergangsmetalle 157
 Ubichinol-Cytochrom-c-Oxidoreduktase 217
 Ubichinon
 – Reduktion 214
 – Zweikomponentensystem ArcBA 508
 UDP-aktivierte Zucker 259
 UDP-Glucose 254
 UDP-N-Acetylglucosamin 259
 Ultrahocherhitzung 184
 Umesterung, durch Lipasen 297
 Umweltprozesse 25
 Uncoating 100
 Undecaprenolphosphat 259f
 Undecaprenolpyrophosphat 260
 ungesättigte Fettsäuren, Synthese, Schema 258
 Uniport 271
 untergärrige Hefe 363
 upper Pathway 303
 Upscaling 603
 Urease 234
 – *Helicobacter* 589
 Urediniomyceten 64
 Uredosporen 89
 Uridylierung, posttranslationale Kontrolle 494
 Uridyltransferase, Regulation Glutaminsynthetase 517
 Urzeugung 3f
Ustilago maydis 64, 70, **79**, 82
Ustilago nuda 88
 Ustilaginomyceten 64
 UV-Schäden 448
 UV-Strahlung 185
- V**
- VacA 589
 Vakuolen 59
 Vakzination 4
 Vakzine 590
 Valin, biotechnologische Produktion 610
 Valinomycin 617
 van Niel, Cornelis 428
 Van Slyke-Folch 170
 van-der-Waals-Kräfte 539
 Vanadium 20
 Vancomycin 150f, 260
 variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (vCJK) 592
 VBNC-Zustand 531
- vCJK (variante Creutzfeldt-Jakob-Krankheit) 592
Veillonella, im Stuhl 580
 Vektoren 84, 622
 – zur Integration 84
 – virale 116
 – – adeno-assoziierte Viren 116
 – – Leukämieviren der Maus, MLV 116
Venturia inaequalis 594
 Verbindungen, energiereiche 201
 Verdauung 565
 Verdauungstrakt 26
 – Körperflora 580
 Verdopplungszeit 171
 Verdünnungsrate D 177
 Verfahren, immunologische 190
 Vergärungsformen, Neuberg'sche 361
 Vermehrungsformen bei Pilzen 62
 – asexuell 62, 66
 – sexuell 62, 68ff
 – vegetativ 63
 Verpackungssequenz 118
 Verseifung 312
 Versuchstiere 5
Verticillium lecanii 81
 Verwesung 186
 verzweigte Atmungskette 217
 Vesiculovirus 117
 Vesikeln 60
Vibrio 223
Vibrio cholerae 364, **584**
 – Steckbrief 588
Vibrio fischeri 577
 – Biolumineszenz 520
 vir-Gen 594
 virale Vektoren 116
 Viren 8, 99
 – Aufbau 101
 – Beispiele 106
 – Cytorhabdovirus 117
 – doppelsträngige DNA-Viren 106
 – – Bakterien 106
 – – Eukaryonten 107
 – Entwicklung 100
 – Ephemerovirus 117
 – Hefeviren 119
 – Hefevirus L-A 120
 – Influenza- 117f
 – Klasse-I- 106
 – Klasse-II- 112
 – Klasse-III- 118
 – Klasse-IV- 114
 – Klasse-V- 117
 – Klasse-VI- 114
 – Klassifizierung 105
 – Lyssavirus 117
 – Mechanismen der Verbreitung 105
 – Nucleorhabdovirus 117
 – Reoviridae 119
 – RNA-Viren *siehe dort*
 – Rotavirus A 119
- Tollwut- 117
 – Vermehrung 104
 – Vesiculovirus 117
 – Vorkommen und Entdeckung 99
 Virionen 101
 Viroide 120f
 – Kartoffelspindelknollen- 120
 Virologie 121
 Virulenz 581
 – Quorum Sensing 520
 Viruspartikel 184
 Virusproteine, Impfstoffherstellung 623
 Vitamine 24, 157, 163
 – B₁₂, biotechnologische Herstellung 618
 – B₁₂-Enzym, Tetrachlorethylen-Reduktase 317
 – Bereitstellung durch Symbiose 544
 – biotechnologische Produktion 618
 – C, biotechnologische Herstellung 618
 – K, im Verdauungstrakt 581
 Volutin 144
 von Linné, Carl 3
 Vorspore 148
 vulkanische Quelle 15
- W**
- Wachse, Abbau 312
 Wachstum
 – exponentielles 171
 – Hemmung 180
 – Kinetik 171
 – lineares 176
 – logarithmisches 171
 – Physiologie 173
 – substratbegrenztes 178
 Wachstumsdimorphismus 82
 Wachstumsertrag Y 175
 Wachstumsleichung
 – exponentielle 529
 – logistische 529
 Wachstumshemmung, Antibiotikanachweis 613
 Wachstumskurve 174
 – Parameter 175
 wachstumslimitierendes Element 20
 Wachstumsrate, μ 172
 Wachstumsrate, exponentielle 176
 Waffen, biologische 596
 Waldhofsysteem 164
 Warburg-Dickens-Horecker-Schema 202
 Warren, Robin 50
 Wasseraktivität 162
 Wasserblüte 409, 546
 Wasserdampfdestillation 603
 Wasserrückhaltevermögen, Humus 294
 Wasserschimmel 93

Wasserspaltung, Photosynthese 428
 Wasserspaltungsenzym 428
 Wasserstoff 352, 365, 375
 – Entstehung im Mitochondrium 568
 Wasserstoffakzeptor
 siehe Elektronenakzeptor
 Wasserstoffdonator
 siehe Elektronendonator
 Wasserstoffelektrode 211
 Wasserstoffoxidation 342
 – aerobe 342
 – anaerobe 342
 Wasserstoffperoxid 185, **222**, 512
 – im Ligninabbau 294
 – zur Sterilisation 603
 Wasserstoffübertragung,
 Pyridinnukleotide 200
 Watson, James D. 41
 Wechselwirkungen, elektrostatische 539
 Weißfäulepilz 74, 294
 – ligninolytisches System 293
 Wein 187, 362
 – Herstellung 85
 Weinsäure 187
 Wiederkäufer 22, 566
 Winogradsky, Sergei 5, 324
 Wirkungsgrad, Lichtreaktion 430
 Wirkungsspezifität 197
 Wirtsspezifität 77
 Wirtswechsel 89
 Wobble-Paarungen 471
 Woese, Carl 8, 47
Wolbachia pipiens 579
Wolinella 394
 Wood-Ljungdahl-Weg 248
 Wurzelhalssgalle 593
 Wurzelknöllchenbakterien 49, 574
 Wurzelknöllchensymbiose 22
 Wurzelknolle 22

X

Xanthan, biotechnologische Herstellung 620
 Xanthin-Oxidase 222
Xanthobacter 556
Xanthomonas 593
 Xenobiotika
 – Abbau 315
 – – durch ligninolytisches System 294
Xenorhabdus 579
 – Schädlingsbekämpfung 635
 Xylan 288
 – Abbau 289
 – Struktur 289
 Xylanasen 78, 288
Xylella fastidiosa 593
 Xylobiose 288
 β -D-Xylose 288

Y

Y Ertragskoeffizient 175
 YAC (Yeast artificial Chromosome) 480
 Yeast artificial Chromosome (YAC) 480
Yersinia pestis, Steckbrief 588
 Ym molarer Ertragskoeffizient 175

Z

Zahnbelag 580
 – Biofilm 541
 Zeitgeber 91
 Zeiträume, geologische 10
 Zelldichte, Regulation 520
 – siehe auch Quorum Sensing
 Zelle 38f
 – eukaryontische 149
 – gestielte 521
 – gramnegative 36
 – pilzliche 59
 – prokaryontische **36f**, 149
 Zellformen, prokaryontische 54
 Zellgrenzschicht, Schädigung 180
 Zellkern 59
 Zellmassenbestimmung 170
 Zellteilung 129
 – asymmetrische, bei *Caulobacter crescentus* 521
 – Septumring 129
 Zelltod 182
 Zellturgordruck 133
 Zellwand 59, **133ff**
 Zellwandbiosynthese 259
 – Hemmstoffe 260
 – Hemmung durch Antibiotika 182
 Zellzahlbestimmung 169
 Zellzusammensetzung, Makromoleküle 233
 Zellzyklus 66
 zentrale Stoffwechselwege 231
 – allosterische Kontrolle 227
 – Kohlenstoffverbindungen 224
 – Regulation 226
 Zentrifugation 603
 Zentrum, aktives, Protease 295
 Zitronensäure 187
 Zn-Finger-Motiv 110
 Zoosporen 65, 93
 Z-Schema 426
 Züchtung, gezielte 622
 Zuckbewegungen 142
 Zucker 187
 – Abbau 202, 298
 – – Bilanzen 206
 – – in Archaeobakterien 207
 – – Varianten 207
 – Aufnahme in die Zelle 301
 – Biosynthese 252
 – Derivate 304

Zucker-1-phosphate 252
 Zuckeraktivierung 252
 Zuckerkohol, Oxidation durch
 Essigsäurebakterien 605
 Zuckerübertragung, Schema 254
 Zuflußrate f 177
 Zuwachsrates 13
 Zweikomponentensysteme 274, **499**
 – ArcBA (Aerobic respiratory Control) 508
 – Biolumineszenz 521
 – CheA 519
 – – Autokinaseaktivität 519
 – CtrA 521
 – cytoplasmatisches (Che-Proteine) 518
 – EnvZ/OmpR 516
 – Histidin-Proteinkinase 499
 – KdpDE 515
 – NarX 508
 – NtrBC 517
 – Phosphatase 499
 – Sensorkinase 499
 Zwergformen 531
 Zwischenwirt 89
 Zygomyceten 61, 64
 Zygosporien 64, 72
 Zygote 31
 Zyklus
 – lysogener 101
 – lytischer 100
 zymogen 528
Zymomonas mobilis 360