

Press release**Westfälische Wilhelms-Universität Münster****Dr. Christina Hoppenbrock**

04/22/2021

<http://idw-online.de/en/news767250>Research results
Biology
transregional, national**Wissenschaftler liefern neue Erkenntnisse zum Citratzyklus**

Forscher um die Professoren Ivan Berg (WWU Münster) und Wolfgang Eisenreich (TUM) haben neue Erkenntnisse zum Citratzyklus: Bakterien, die diesen zentralen Stoffwechselweg mittels des Enzyms Citratsynthase „rückwärts“ nutzen können, benötigen dazu sehr hohe Konzentrationen des Enzyms und von Kohlenstoffdioxid. Möglicherweise ist dieser Weg ein Relikt aus der frühen Entwicklung des Lebens.

Der Citratzyklus ist ein wichtiger Stoffwechselweg, der es vielen Mikroorganismen, aber auch höheren Lebewesen ermöglicht, durch den Abbau organischer Stoffe zu Kohlenstoffdioxid (CO₂) Energie zu gewinnen. Normalerweise sorgt der Biokatalysator Citratsynthase für den ersten, namensgebenden Schritt im Citratzyklus: den Aufbau von Citrat. Bestimmte Bakterien sind zudem in der Lage, bei Abwesenheit von Sauerstoff („anaerob“) durch den sogenannten reduktiven Citratzyklus umgekehrt Biomasse aus CO₂ aufzubauen – ähnlich wie Pflanzen bei der Photosynthese. Im reduktiven Citratzyklus dieser anaeroben Bakterien wird die Citratsynthase durch das ATP-verbrauchende Enzym Citratlyase ersetzt, um das Citrat zu spalten, statt es aufzubauen; ATP (Adenosintriphosphat) ist der universelle Energieträger lebender Zellen. Vor wenigen Jahren entdeckte ein Forscherteam um den Biologen Prof. Dr. Ivan Berg (Westfälische Wilhelms-Universität (WWU) Münster) und Prof. Dr. Wolfgang Eisenreich (Technische Universität München (TUM)), dass die Citratsynthase in manchen anaeroben Bakterien auch ohne ATP-Verbrauch die Citratspaltung katalysiert. Nun hat das Team um die beiden Professoren abermals neue Erkenntnisse zu diesem Stoffwechselweg: Bakterien, die den Citratzyklus mittels der Citratsynthase „rückwärts“ nutzen können, benötigen dazu eine sehr hohe Konzentrationen des Enzyms und von CO₂.

Im Vergleich: Während die CO₂-Konzentration in der Luft ungefähr 0,04 Prozent beträgt, brauchen die Bakterien mit diesem Weg für ihr Wachstum mindestens die 100-fache Konzentration. Die Forscherinnen und Forscher vermuten: Solche CO₂-konzentrationsabhängigen Wege für die Assimilation von Kohlenstoffdioxid waren auf der Ur-Erde weitverbreitet, da die CO₂-Konzentration damals sehr hoch war. Der Stoffwechselweg ist also möglicherweise ein Relikt aus der frühen Entwicklung des Lebens. Die Ergebnisse der Studie sind nun in der Fachzeitschrift „Nature“ veröffentlicht (online vorab).

Das Team untersuchte die anaeroben Bakterien *Hippea maritima* und *Desulfurella acetivorans*. Diese Organismen leben ohne Sauerstoff unter anderem an heißen Quellen, wo die CO₂-Konzentration 90 Prozent und höher sein kann. „Es ist vorstellbar, dass noch viele andere Organismen diesen Zyklus zur CO₂-Fixierung nutzen“, sagt Ivan Berg. „Unsere Erkenntnisse passen zu den Ergebnissen anderer aktueller Studien, die die potenzielle weitere Verbreitung des reversen oxidativen Citratzyklus hervorheben.“ Viele Bakterien nutzen jedoch andere, energetisch weniger effiziente Reaktionen für die Citratspaltung durch die ATP-verbrauchende Citratlyase-Reaktion. „Es war rätselhaft, warum diese ‚teure‘ Version des Weges in der Natur zu finden ist, wenn im Hinblick auf die Energiebilanz eine viel günstigere Alternative über die Rückreaktion der Citratsynthase existiert. Jetzt wissen wir, dass dies der für gewöhnlich niedrigen CO₂-Konzentration in der Umgebung geschuldet ist. Die günstige Alternative funktioniert dort nicht“, unterstreicht Wolfgang Eisenreich.

Die Erkenntnisse der Wissenschaftler könnten auch für die Biotechnologie interessant sein. Das Wissen über die CO_2 -Konzentrationsabhängigkeit kann genutzt werden, wenn autotrophe Organismen mit dem „Rückwärts-Zyklus“ durch die höhere CO_2 -Konzentration dazu gebracht werden, einen Ausgangsstoff effektiver in das gewünschte Produkt umzuwandeln.

Die Ergebnisse im Detail

Die Frage der Forscher lautete: Wodurch wird bestimmt, ob der Citratzyklus bei den untersuchten Bakterien „vorwärts“ oder „rückwärts“ läuft? Sie züchteten die Bakterien unter verschiedenen Bedingungen und merkten, dass das Wachstum dieser Organismen stark von der CO_2 -Konzentration abhängig ist. Im Detail heißt das: Die hohe CO_2 -Konzentration ist notwendig, damit ein weiteres wichtiges Enzym, die sogenannte Pyruvatsynthase, arbeiten kann. Dieses Enzym ist für die Assimilation von Acetyl-CoA (Produkt des „Rückwärts-Zyklus“) verantwortlich. Die hohe CO_2 -Konzentration treibt die Pyruvatsynthase in Richtung der Carboxylierung. Dadurch wird der Citratzyklus in die Rückwärtsrichtung getrieben und ermöglicht die Umwandlung von CO_2 in Biomasse.

Die von den Wissenschaftlern verwendeten Bakterien *Hippea maritima* und *Desulfurella acetivorans* konnten sehr gut mit 20 und 40 Prozent CO_2 wachsen, nur noch moderat mit fünf Prozent. Mit zwei und einem Prozent CO_2 war kein Wachstum mehr möglich. Zur Kontrolle nutzten sie das Bakterium *Desulfobacter hydrogenophilus*, das die andere, energetisch teurere Version des Citratzyklus in reduktiver Richtung verwendet. In diesem Bakterium wurde das Wachstum durch die CO_2 -Konzentration nicht beeinflusst.

Der „Rückwärts-Zyklus“ unter Beteiligung von Citratsynthase ist bioinformatisch nicht vorhersagbar, da es keine Schlüsselenzyme gibt, wonach man in den Bakterien suchen kann und deren Präsenz man als Indiz für den Weg betrachten kann. Die Forscher nutzten daher die nachgewiesenen hohen Mengen an der Citratsynthase im Proteincocktail der Bakterien als Erkennungsmerkmal für bioinformatische Analysen. Ihnen gelang es mit einem speziellen Analyse-Werkzeug, Vorhersagen über die Produktion einzelner Proteine zu machen und so bei vielen anaeroben Organismen vorherzusagen, ob große Mengen an Citratsynthase gebildet werden und sie dadurch den „Rückwärts-Zyklus“ zur autotrophen (Biomasse aufbauenden) CO_2 -Fixierung nutzen könnten oder nicht.

Die Wissenschaftler zeigten auch, dass keine Genregulation für das Umschalten von der oxidativen („vorwärts“) zur reduktiven („rückwärts“) Richtung notwendig ist. „Das heißt, die Zellen können spontan sehr schnell reagieren, je nachdem, welche Kohlenstoffquelle gerade in ihrer Umgebung vorhanden ist“, sagt Ivan Berg. „Entweder sie nutzen die reduktive Richtung, um CO_2 zu fixieren, wenn viel CO_2 vorhanden ist, oder die oxidative Richtung, wenn eine andere Kohlenstoffquelle zur Verfügung steht.“

Hinweise zur Methodik

Für ihre Untersuchungen setzten die Wissenschaftler verschiedene Methoden ein, darunter Massenspektrometrie und Isotopenanalysen (^{13}C), Enzymmessungen, Proteinquantifizierung sowie Medien- und Aminosäureanalysen mittels chromatographischer und spektrometrischer Verfahren (LC/MS beziehungsweise GC/MS). Mit bioinformatischen Methoden untersuchten sie das Vorkommen bestimmter Nukleotidbasen-Kombinationen (Codons), um Vorhersagen über die Produktion einzelner Proteine zu machen.

Förderung

Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG, Projekt-ID BE 4822/5-1 und Projekt-ID 364653263 – TRR 235) sowie von der Hans-Fischer Gesellschaft (München) finanziell gefördert.

contact for scientific information:

Prof. Dr. Ivan Berg
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie
Telefon: +49 251 83-39825
E-Mail: ivan.berg@uni-muenster.de

Prof. Dr. Wolfgang Eisenreich
Technische Universität München
Bayerisches NMR Zentrum, AG Eisenreich
Telefon: +49 (89) 289 - 13336 or - 13657
E-Mail: wolfgang.eisenreich@mytum.de

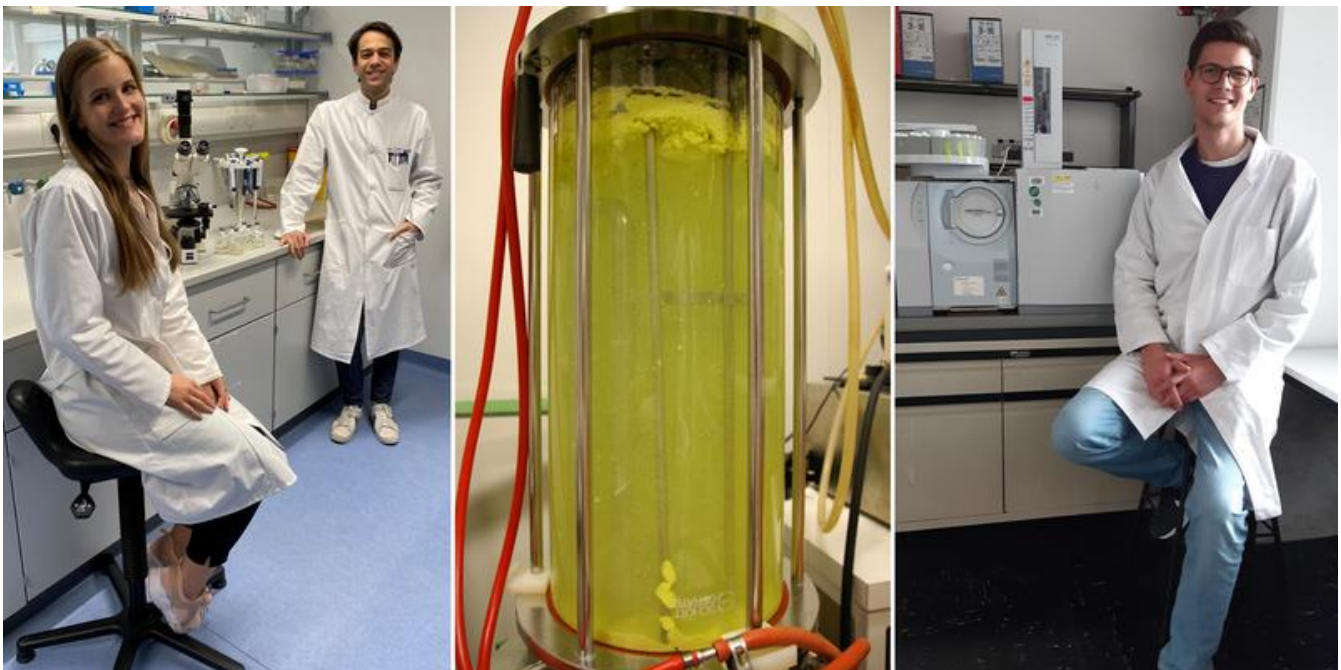
Original publication:

Lydia Steffens, Eugenio Pettinato, Thomas M. Steiner, Achim Mall, Simone König, Wolfgang Eisenreich und Ivan A. Berg: High CO₂ levels drive the TCA cycle backwards towards autotrophy. Nature 2021; DOI: <https://www.nature.com/articles/s41586-021-03456-9>

URL for press release: <https://naturemicrobiologycommunity.nature.com/posts/high-co2-levels-drive-the-tca-cycle-backwards-in-anaerobic-bacteria?channelId=346-behind-the-paper> Behind the Paper

URL for press release: <https://www.nature.com/articles/d41586-021-00977-1> Kommentar: Life in a carbon dioxide world (Nature News and views)

URL for press release: <https://www.uni-muenster.de/news/view.php?cmdid=9355> Pressemeldung: Schlüsselenzym des Citratzyklus funktioniert auch "rückwärts" (WWU News)



Lydia Steffens und Eugenio Pettinato (WWU Münster, links) sowie Thomas M. Steiner (TUM, rechts) im Labor; die drei Promovierenden teilen sich die Erstautorenschaft der Nature-Publikation. In der Mitte ist eine Fermenter-Anlage zur Bakterienanzucht.

