

Kohlenstoffstoffwechsel

Un-/Gewöhnliche Reaktionen im mikrobiellen Metabolismus

IVAN A. BERG
MIKROBIOLOGIE, FAKULTÄT BIOLOGIE, UNIVERSITÄT FREIBURG

The diversity of microbial metabolism has significantly expanded in the last years by the discovery of several novel central metabolic pathways in different groups of prokaryotes. These novel pathways use a number of unusual intermediates, whose participation in the central metabolism was not anticipated. This fact reflects a bias in our choice of model organisms rather than a limited importance of discovered pathways/compounds in natural ecosystems. Metabolisms that we regard as unusual may actually represent mainstream processes in natural ecosystems.

DOI: 10.1007/s12268-016-0694-z
© Springer-Verlag 2016

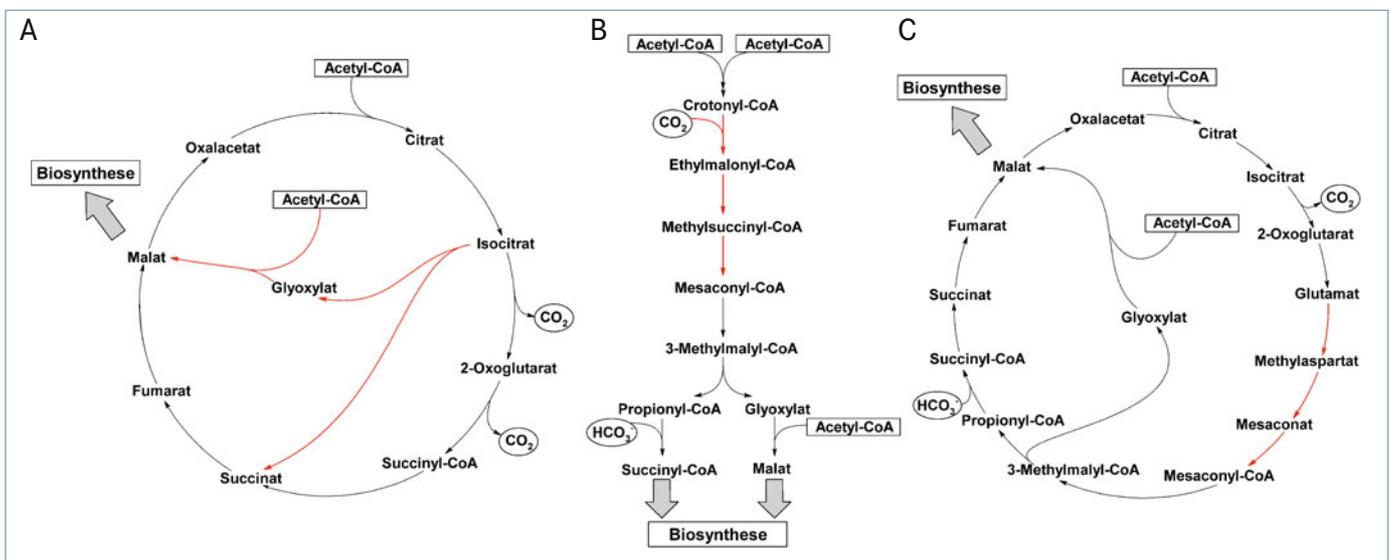
Die klassischen zentralen Stoffwechselwege, wie die Glykolyse und der Citratzyklus in Tieren oder der autotrophe Calvin-Benson-Zyklus in Pflanzen, sind bekannt. In mikrobiologischen Lehrbüchern finden sich darüber hinaus der Entner-Doudoroff-Weg für Zuckerabbau sowie der reduktive Citratzyklus und der Wood-Ljungdahl-Weg für autotrophe CO_2 -Fixierung. Damit ist die Diversität der mikro-

biellen Biochemie aber nicht ausgeschöpft. Es gibt viele Alternativen zur Glykolyse, und wir kennen sechs autotrophe CO_2 -Fixierungswege. Als klassisch gilt ein metabolischer Weg, wenn er in wohlbekannten Modellorganismen vorhanden ist – und einige Jahrzehnte seit seiner Entdeckung vergangen sind; alles andere gilt als ungewöhnlich. Dabei ist seit Langem bekannt, dass gerade die Orga-

nismen, die in natürlichen Umgebungen vorherrschen, besonders kompliziert zu kultivieren und zu untersuchen sind. Den überwiegenden Teil der mikrobiellen Diversität kennen wir noch nicht, und viele für die Natur bedeutende Organismen sind wahrscheinlich unerforscht.

Neue Wege für die Acetyl-CoA-Assimilation

Ein Beispiel für „ungewöhnliche“ Stoffwechselwege stellen die vor Kurzem beschriebenen anaplerotischen, das heißt dem Citratzyklus zuliefernde Acetat-Assimilationswege dar: der Ethylmalonyl-CoA-Weg und der Methylaspartatzyklus (Abb. 1). Diese Stoffwechselwege sind eine Alternative für den Glyoxylatzyklus, der zu den klassischen Stoffwechselwegen gehört. Er funktioniert in vielen Bakterien wie *Escherichia coli* und in den meisten Pilzen wie *Saccharomyces cerevisiae* sowie in vielen Pflanzen, und er wurde schon 1957 von Hans Krebs, dem Entdecker des Citratzyklus, beschrieben. Im Glyoxylatzyklus wird Acetyl-CoA mithilfe der Isocitratlyase und der Enzyme des Citratzyklus zu



▲ **Abb. 1:** Anaplerotische Acetyl-CoA-Assimilationswege. **A,** Glyoxylat- und Citratzyklus. **B,** Ethylmalonyl-CoA-Weg. **C,** Methylaspartatzyklus (verändert nach [2]). Die Schlüsselreaktionen der Wege sind in Rot hervorgehoben.

Glyoxylat oxidiert, das in der Malatsynthese-Reaktion mit einem zweiten Acetyl-CoA-Molekül zu Malat kondensiert (**Abb. 1A**). Dieser Weg ist jedoch nicht unproblematisch. Er zweigt vom Citratzyklus auf der Ebene von Isocitrat ab, und die Isocitratlyase muss mit der Isocitratdehydrogenase aus dem Citratzyklus um das Substrat konkurrieren. Die katalytischen Eigenschaften der Isocitratdehydrogenase sind besser als die der Isocitratlyase; und die Funktion des Glyoxylatzyklus setzt die Hemmung der Aktivität der Isocitratdehydrogenase voraus (in vielen Bakterien) oder aber eine räumliche Trennung dieser zwei Reaktionen (in Pilzen).

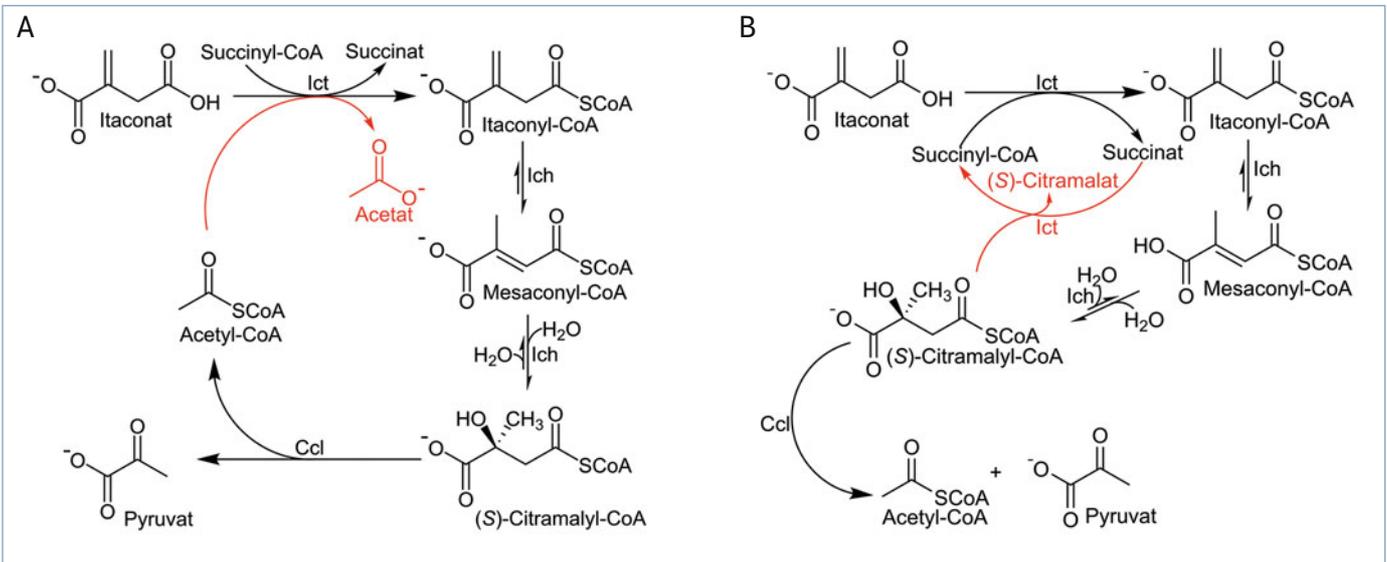
Der Ethylmalonyl-CoA-Weg ist linear (**Abb. 1B**). Er startet mit der Kondensation von zwei Acetyl-CoA-Molekülen und führt durch β -Oxidationsenzyme zu Crotonyl-CoA, das reduktiv carboxyliert wird. Ethylmalonyl-CoA, das Produkt der Carboxylierung, wird weiter über Methylsuccinyl-CoA und Mesaconyl-CoA zu β -Methylmalyl-CoA umgebaut, das dann zu Propionyl-CoA und Glyoxylat gespalten wird. Die Carboxylierung von Pro-

pionyl-CoA und die Kondensation von Glyoxylat mit Acetyl-CoA führen zu Succinat und Malat, die aus drei Acetyl-CoA und zwei anorganischen Kohlenstoffen synthetisiert werden [1]. Mit den Intermediaten wie Ethylmalonyl-CoA, Methylsuccinyl-CoA, Mesaconyl-CoA oder β -Methylmalyl-CoA sieht der Weg ungewöhnlich aus.

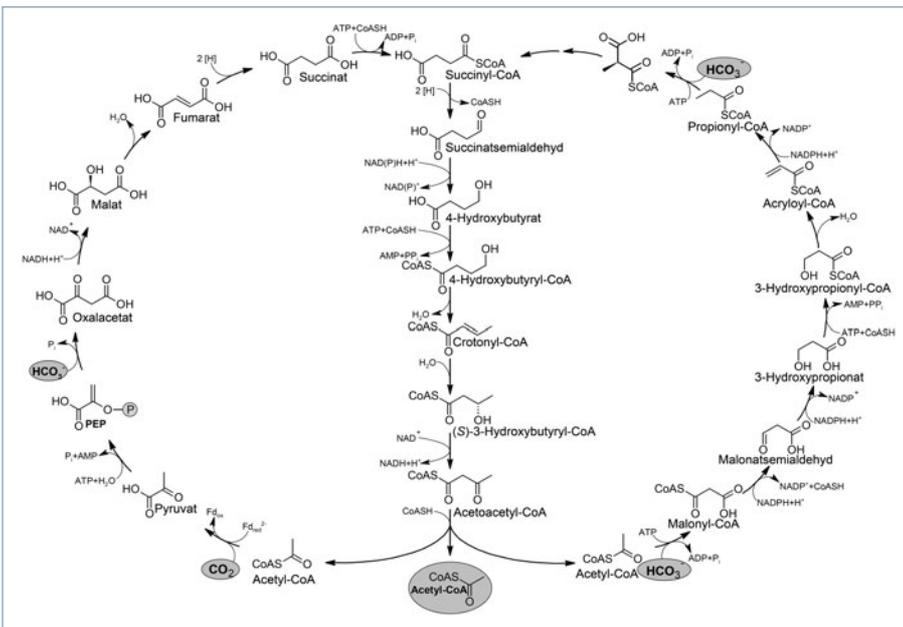
Die zweite Alternative zum Glyoxylatzyklus, der Methylaspartatzyklus, teilt mit dem Ethylmalonyl-CoA-Weg die Reaktionen ausgehend von Mesaconyl-CoA (**Abb. 1C**). Die Synthese von Mesaconyl-CoA läuft über Glutamat, das in einer B_{12} -abhängigen Reaktion zu Methylaspartat umgebaut wird; dessen Desaminierung führt zu Mesaconat [2]. Mit der ungewöhnlichen Umsetzung von Glutamat ist dieser Weg auch unkonventionell. Sind aber diese Stoffwechselwege wirklich so bizarr?

Der Methylaspartatzyklus wurde bis jetzt nur in Haloarchaeen gefunden. Allerdings sind die Gene für die Schlüsselenzyme des Ethylmalonyl-CoA-Weges im Genom von etwa fünf Prozent der bislang sequenzierten Bak-

terien vorhanden (Glyoxylatzyklus: 28 Prozent) [3]. Deren Intermediate kommen auch nicht so selten vor: Ethylmalonyl-CoA ist ein Baustein für die Biosynthese vieler Polyketid-Antibiotika und wird auch im Menschen synthetisiert [4], und Mesaconyl-CoA und β -Methylmalyl-CoA sind im autotrophen 3-Hydroxypropionat-Bizyklus von *Chloroflexus* zu finden [5]. Die Bedeutung der C_5 -Dicarbonsäuren (z. B. Citramalat, Mesaconat, β -Methylmalat, Itaconat) wird bislang offensichtlich unterschätzt. Sie kommen in vielen Stoffwechselwegen vor, beispielsweise synthetisieren Pilze im Boden Itaconat. Dieses wird auch von aktivierten Makrophagen produziert und hat eine antibakterielle Wirkung auf intrazelluläre Pathogene wie *Salmonella enterica* und *Mycobacterium tuberculosis* [6]. Der Itaconatabbau dient deshalb als ein wichtiger und weitverbreiteter Pathogenitätsfaktor intrazellulär lebender pathogener Bakterien [7]. Zwei unabhängig voneinander entwickelte Varianten des Itaconatabbauweges funktionieren in unterschiedlichen Pathogenen (**Abb. 2**), was auf



▲ **Abb. 2:** Itaconatabbauweg in *Yersinia pestis* (A) und in *Pseudomonas aeruginosa* (B) (verändert nach [7]); die Unterschiede sind farblich hervorgehoben. Ict: Itaconat-CoA-Transferase; Ich: Itaconyl-CoA-Hydratase; Ccl: (S)-Citramalyl-CoA-Lyase. Die beiden Varianten unterscheiden sich in den Eigenschaften der Ict. Obwohl das Enzym in *Y. pestis* sowohl mit Succinyl-CoA als auch mit dem Produkt des Wegs, Acetyl-CoA, aktiv ist (A), nimmt das Enzym aus *P. aeruginosa* Acetyl-CoA nicht als CoA-Donor. Stattdessen akzeptiert das Enzym aus Pseudomonaden (S)-Citramalyl-CoA als Substrat für die Itaconataktivierung (B). Interessanterweise sind Ict und Ich in *Y. pestis* und *P. aeruginosa* nicht homolog [7].



▲ **Abb. 3:** Der Dicarboxylat/4-Hydroxybutyratzyklus (links) und der 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyratzyklus (rechts) (verändert nach [8]). Für den 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyratzyklus ist die crenarchaeelle Variante dargestellt. 3-Hydroxypropionyl-CoA- und 4-Hydroxybutyryl-CoA-Synthetasen dieses Wegs hydrolysieren in Thaumarchaeota ATP zu ADP und P_i und sparen damit zwei ATP pro Runde des Zyklus [13]. PEP: Phosphoenolpyruvat.

CoA durch die anaerobe Pyruvatsynthese zu Pyruvat carboxyliert und dann weiter zu Phosphoenolpyruvat umgesetzt, und dieses wird zur C₄-Dicarbonsäure Oxalacetat carboxyliert. Im HP/HB-Zyklus (**Abb. 3**, rechts) dagegen ist die aerobe biotinabhängige Acetyl-CoA/Propionyl-CoA-Carboxylase für die Bildung von Succinyl-CoA verantwortlich. Die Regeneration von Acetyl-CoA startet in beiden Zyklen mit der Reduktion der aktivierten Carboxylgruppe von Succinyl-CoA, die über Succinatsemialdehyd und 4-Hydroxybutyryl-CoA letztlich zu zwei Acetyl-CoA-Molekülen führt. Eines der Acetyl-CoA-Moleküle kann dann für die Synthese von Zellbausteinen abgezweigt werden. Das Schlüsselenzym dieses Wegs, 4-Hydroxybutyryl-CoA-Dehydratase, katalysiert eine atypische β-γ-Dehydratisierung unter Beteiligung eines Ketylradikals. Diese Reaktion ist aber nicht einmalig für die CO₂-Fixierung, da sie auch in einigen Gärungen vorkommt [9]. Ein weiteres Intermediat dieser Umsetzung, Succinatsemialdehyd, ist gar nicht so unüblich, da es in einigen Bakterien als ein Intermediat des modifizierten Citratzyklus auftritt, bei dem 2-Oxoglutarat zu Succinatsemialdehyd decarboxyliert wird [10]. Auch die Umsetzung von Malonyl-CoA (Acetyl-CoA-Carboxylase-Produkt) zu Propionyl-CoA im HP/HB-Zyklus verläuft über scheinbar ungewöhnliche Metaboliten (Malonatsemialdehyd, 3-Hydroxypropionat, 3-Hydroxypropionyl-CoA und Acryloyl-CoA). Diese Metaboliten sind aber Inter-

eine Bedeutung des Itaconatabbaus für die Infektionsprozesse hinweist.

Autotrophe CO₂-Fixierungswege

Ein weiteres Beispiel für ungewöhnliche zentrale Stoffwechselwege stellen zwei vor Kurzem in hyperthermophilen Crenarchaeota ent-

deckte autotrophe CO₂-Fixierungswege dar: der Dicarboxylat/4-Hydroxybutyratzyklus (DC/HB-Zyklus) und der 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyratzyklus (HP/HB-Zyklus) (**Abb. 3**, [8]). Diese Wege unterscheiden sich in den Carboxylierungsreaktionen: Im DC/HB-Zyklus (**Abb. 3**, links) wird Acetyl-

mediate des Abbaus von Dimethylsulphoniumpropionat, das im Phytoplankton als Osmoprotektor dient und eine der wichtigsten organischen Kohlenstoffquellen in den Ozeanen darstellt [11]. 3-Hydroxypropionat produziert selbst *E. coli* im Pyrimidinstoffwechsel [12].

Der HP/HB-Zyklus funktioniert nicht nur in hyperthermophilen Crenarchaeota, sondern auch in mesophilen Ammoniak-oxidierenden Archaeen (Phylum Thaumarchaeota), die weltweit verbreitet und maßgeblich für die Ammoniakoxidation an den meisten natürlichen Standorten verantwortlich sind. Diese Organismen kommen überall im Ozean vor und machen einen hohen Anteil der planktonischen Mikroorganismen aus. Interessanterweise besitzen Ammoniak-oxidierende Archaeen eine neuartige Variante des HP/HB-Zyklus [13]. Diese Variante verfügt über ADP-bildende Synthetasen (Crenarchaeota: AMP-bildend) und ist damit bioenergetisch wesentlich kostengünstiger. Die thaumarchaeellen und crenarchaeellen HP/HB-Zyklen haben sich unabhängig voneinander entwickelt. Diese konvergente Evolution des autotrophen Stoffwechselwegs spricht eher für einen besonders günstigen Bauplan dieses Wegs als für dessen „Ungewöhnlichkeit“. Es gibt sogar ein drittes Beispiel der konvergenten Evolution der Autotrophie: Der 3-Hydroxypropionatteil im 3-Hydroxypropionat-Bizyklus von *Chloroflexus auranticus* nutzt die gleichen Intermediate wie der HP-Teil des HP/HB-Zyklus, aber phylogenetisch nicht homologe Enzyme [5].

Im Lehrbuch selten – im Ozean häufig

Die ungewöhnlich aussehenden Stoffwechselwege sind an natürlichen Standorten oft gewöhnlich und weitverbreitet. Irgendwann werden sie auch in Lehrbüchern erscheinen und zum regulären Wissen gehören. Da man bisher nur eine Minderheit der Lebewesen untersucht hat, bleibt noch viel zu entdecken.

Danksagung

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung meiner Forschung (BE 4822/1-2, BE 4822/2-2, BE 4822/3-1, BE 4822/4-1). Ich danke Prof. Dr. Georg Fuchs und Prof. Dr. Matthias Boll (Freiburg) für die zahlreichen Anregungen und für die freundliche Unterstützung über die Jahre in Freiburg. ■

Literatur

- [1] Erb TJ, Berg IA, Brecht V et al. (2007) Synthesis of C₅-dicarboxylic acids from C₂-units involving crotonyl-CoA carboxylase/reductase: the ethylmalonyl-CoA pathway. Proc Natl Acad Sci USA 104:10631–10636
- [2] Khomyakova M, Bükmez Ö, Thomas LK et al. (2011) A methylaspartate cycle in haloarchaea. Science 331:334–337
- [3] Erb TJ, Fuchs G, Alber BE (2009) (2S)-Methylsuccinyl-CoA dehydrogenase closes the ethylmalonyl-CoA pathway for acetyl-CoA assimilation. Mol Microbiol 73:992–1008
- [4] Linster CL, Noël G, Stroobant V et al. (2011) Ethylmalonyl-CoA decarboxylase, a new enzyme involved in metabolite proofreading. J Biol Chem 286:42992–43003
- [5] Zarzycki J, Brecht V, Müller M et al. (2009) Identifying the missing steps of the autotrophic 3-hydroxypropionate CO₂ fixation cycle in *Chloroflexus auranticus*. Proc Natl Acad Sci USA 106:21317–21322
- [6] Cordes T, Michelucci A, Hiller K (2015) Itaconic acid: the surprising role of an industrial compound as a mammalian antimicrobial metabolite. Annu Rev Nutr 35:451–473
- [7] Sasikaran J, Ziemski M, Zadora PK et al. (2014) Bacterial itaconate degradation promotes pathogenicity. Nat Chem Biol 10:371–377
- [8] Berg IA, Kockelkorn D, Ramos-Vera WH et al. (2010) Autotrophic carbon fixation in archaea. Nat Rev Microbiol 8:447–460
- [9] Buckel W, Golding BT (2006) Radical enzymes in anaerobes. Annu Rev Microbiol 60:27–49
- [10] Zhang S, Bryant DA (2011) The tricarboxylic acid cycle in cyanobacteria. Science 334:1551–1553
- [11] Moran MA, Reisch CR, Kiene RP et al. (2012) Genomic insights into bacterial DMSP transformations. Ann Rev Mar Sci 4:523–542
- [12] Loh KD, Gyaneshwar P, Markenscoff Papadimitriou E et al. (2006) A previously undescribed pathway for pyrimidine catabolism. Proc Natl Acad Sci USA 103:5114–5119
- [13] Könneke M, Schubert DM, Brown PC et al. (2014) Ammonia-oxidizing archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO₂ fixation. Proc Natl Acad Sci USA 111:8239–8244

Korrespondenzadresse:

Dr. Ivan A. Berg
Mikrobiologie
Fakultät Biologie
Universität Freiburg
Schänzlestraße 1
D-79104 Freiburg
Tel.: 0761-2032685
Fax: 0761-2032626
ivan.berg@biologie.uni-freiburg.de

AUTOR



Ivan A. Berg

Jahrgang 1975. 1993–1997 Biologiestudium mit Schwerpunkt Mikrobiologie an der Moskauer Staatlichen Lomonossov-Universität, Russland, dort 2000 Promotion und 2000–2006 Wissenschaftler. 2007–2011 Postdoc an der Universität Freiburg. 2011 Habilitation, seit 2011 Privatdozent und Heisenbergstipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft an der Universität Freiburg.