

Quantitative Physiologie

Metabolische Zyklen – biochemisch notwendig und nützlich

WOLFGANG BABEL

UFZ – HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR UMWELTFORSCHUNG GMBH, LEIPZIG

Zyklen sind grundsätzlich nicht effizienter als lineare Alternativen. Sie sind nur einfach nötig, um die für die Aktivierung von Organika erforderlichen Ko-Substrate zuverlässig bereitzustellen. Sie sind sparsam, flexibel nutzbare Lösungen und überlebensstrategisch wertvoll.

In principle, cycles are bioenergetically not more efficient than linear alternatives. They are only simply necessary to reliably provide the co-substrates required for the activation of organics. They are economical and flexible solutions and insofar survival-strategically valuable ones.

■ In Biowissenschaften sind „Wozu-Fragen“ keine Seltenheit. Sie initiieren häufig einen ganzen Fragenkomplex. Gefragt wird gerne, wozu wird etwas gebraucht (z. B. eine Funktion)? Und wozu ist etwas evolviert worden? Wenn Alternativen in ein und derselben Spezies etabliert sind, stellt sich die Frage, ist

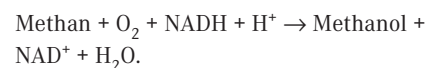
diese Spezies effizient organisiert, und wenn sie in verschiedenen Spezies etabliert sind, nach den Vorteilen. Die „Funktionen“ sollten Organismen helfen, kritische Situationen zu überleben und die Konkurrenzfähigkeit zu verbessern. Zur quantitativen Bewertung geeignet sind demzufolge Parameter wie spe-

zifische Wachstumsgeschwindigkeit und Effizienz der Substratnutzung bzw. Biomassebildung durch Vermehrung. Aber welche Möglichkeit ist die vorteilhaftere? Da die Stoffwechselwege maßgeblich die Effizienz bestimmen [1], sollten metabolische Bilanzgleichungen eine Antwort darauf geben.

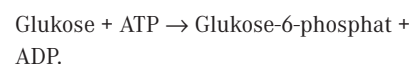
Chemoorganoheterotrophe Organismen nutzen organische Verbindungen als Quelle von Kohlenstoff und Energie. Um den Kohlenstoff zu nutzen, müssen sie biokatalytisch vermittelt ähnlich gemacht werden. Dies soll geschehen, indem sie – nach dem Konzept eines zentralen Präkursors – in einen C_3 -Körper gewandelt werden [1]. Um die Energie für Lebensprozesse zu erschließen, müssen sie oxidiert und der Substratwasserstoff in eine geeignete Form (z. B. NADH) überführt werden. Assimilation und Dissimilation können entlang linearer Sequenzen und zyklisch erfolgen. Aber gleichgültig, welches Schicksal Organika erfahren, sie müssen aktiviert werden.

Investieren, um zu profitieren

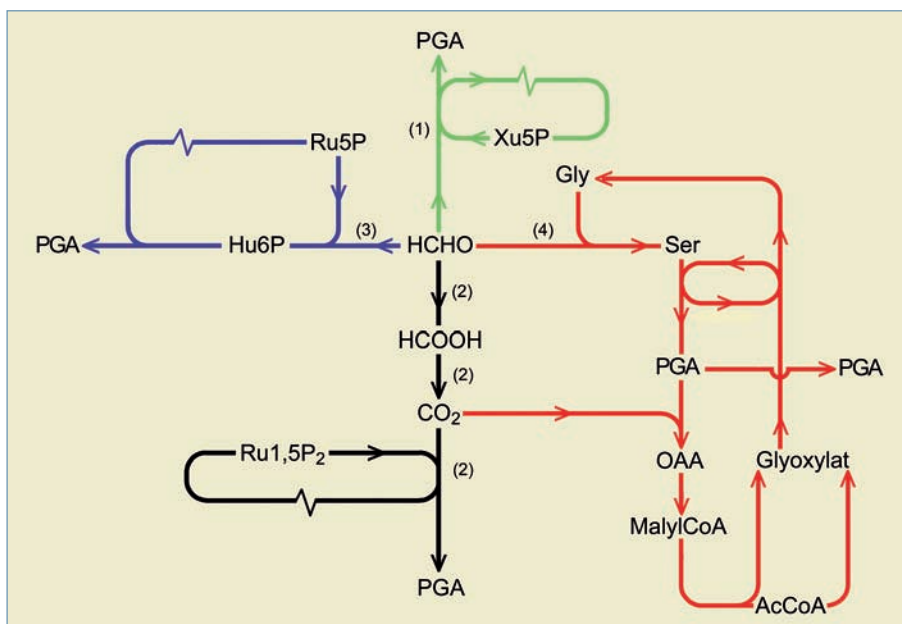
Die Substrat-Aktivierung kostet zunächst Energie, konkret ein NAD(P)H oder zwei bis drei ATP pro Mol Substrat. Im Falle von Methan ist NADH aufzuwenden:



Für die Aktivierung von Glukose ist ATP nötig:



Da beide Substrate – im Gegensatz zu den indigenen Xenobiotika – metabolisch und bioenergetisch souverän sind [1], das heißt jeweils als alleinige Quelle von Kohlenstoff und Energie für Wachstum und Vermehrung dienen können, müssen sie für die Ko-Substrate zu ihrer Aktivierung selbst aufkommen. Dies geschieht bei Methan, indem das gebildete Methanol in einer quasi linearen Sequenz via Formaldehyd und Formiat endoxidiert wird [2].



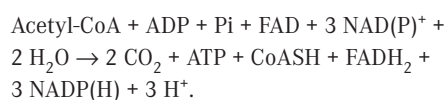
▲ **Abb. 1:** Zyklen zur aeroben Assimilation von reduzierten C_1 -Verbindungen. Bei Hefen: (1) Dihydroxyaceton-Zyklus. Bei Bakterien: (2) Ribulosebisphosphat-Zyklus, (3) Ribulosemonophosphat-Weg, (4) Serin-Zyklus. Abkürzungen: AcCoA: Acetyl-CoA; Gly: Glycin; Hu6P: Hexulose-6-phosphat; OAA: Oxalacetat; PGA: 3-Phosphoglycerat; Ru5P: Ribulose-5-phosphat; Ru1,5P₂: Ribulose-1,5-bisphosphat; Ser: L-Serin; Xu5P: Xylulose-5-phosphat.

Glukose dagegen braucht nicht endoxidiert zu werden. Die via Hexokinase (und Phosphofruktokinase) eingespeiste Energie ist bekanntlich schon auf dem Niveau Pyruvat mit Gewinn re-generiert. Die Investition hat sich gelohnt; der Kredit ist getilgt.

Um Acetat bioenergetisch zu nutzen, müsste es dehydrogeniert (Glykolat) oder isomerisiert (Glykolaldehyd) werden. Beide Reaktionen sind nicht wahrscheinlich. Vorstellbar aber ist eine Monoxygenase-Reaktion. Würde Acetat auf solche Weise metabolisiert, könnte bzw. sogar müsste das gebildete Glykolat via Glyoxylat, Oxalat und Formiat endoxidiert werden. Entlang dieser linearen Sequenz wären netto fünf ATP pro Acetat zu gewinnen [3]. Tatsächlich wird Acetat von einer Acetyl-CoA-Synthetase oder Kinase (plus Phosphotransacetylase) aktiviert. Dafür notwendig sind ATP und CoASH als Ko-Substrate:



Wenn kein anderes Substrat als Quelle für Energie und Kohlenstoff zur Verfügung steht, sondern lediglich Acetat, müssen sie aus Acetyl-CoA bereitgestellt werden. Dies leistet ein Zyklus, bekannt als Tricarbonsäure-Zyklus (TCC). Er wird für folgende Reaktion gebraucht:

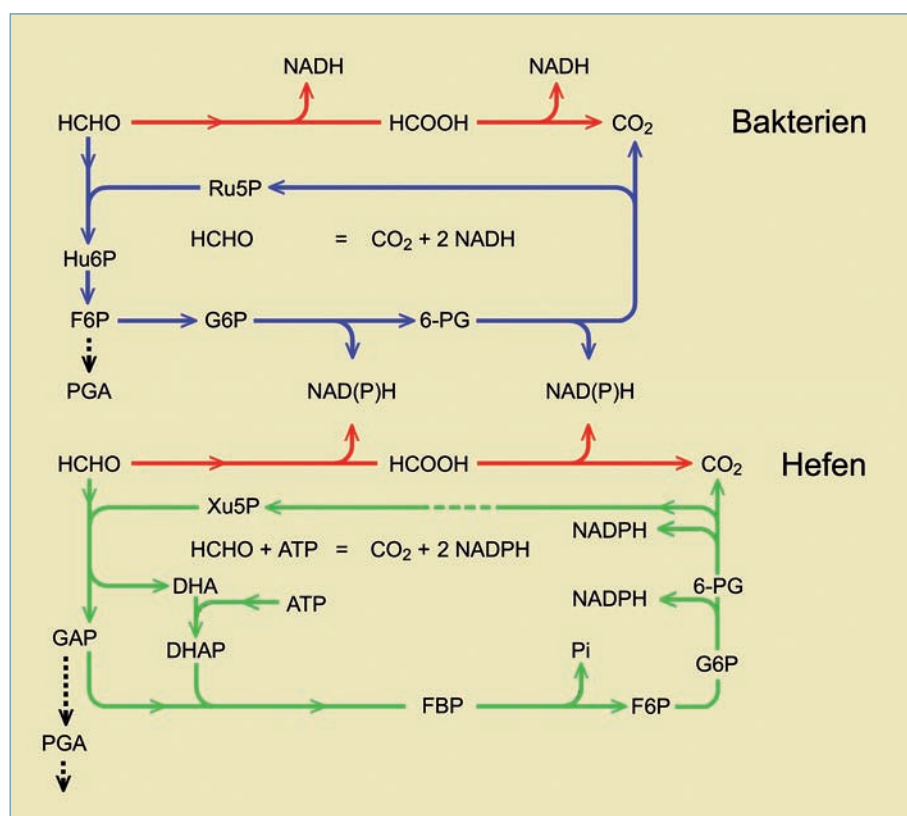


Und er ist bioenergetisch effizienter als die lineare, kürzere Sequenz. Netto können durch diese zyklische „Verbrennung“ zehn ATP pro Acetat gewonnen werden.

Hat sich der TCC – wie von Sir Jack E. Baldwin und Sir Hans A. Krebs diskutiert [3] – deshalb entwickelt und „durchgesetzt“? Sind Zyklen grundsätzlich effizienter?

Lineare versus zyklische Dissimilation

Für die Assimilation von Methan, Methanol und Methylaminen sind Zyklen essenziell (Abb. 1). Sie können allerdings auch zur Dissimilation dienen (Abb. 2) bzw. einen Weg zur Katabolisierung via TCC „öffnen“ (Abb. 3). Da reduzierte C₁-Verbindungen definitiv linear endoxidiert werden [2], stellt sich die Frage: Sind (diese) Zyklen bioenergetisch effizienter als die lineare Sequenz?



▲ **Abb. 2:** Lineare und zyklische Dissimilation von Formaldehyd (HCHO) bei Hefen und jenen Bakterien, die C₁-Verbindungen via Hexulosephosphat-Synthase (RMP-Weg) assimilieren. Abkürzungen: DHA: Dihydroxyacetone; DHAP: Dihydroxyacetonephosphat; FBP: Fruktose-1,6-bisphosphat; F6P: Fruktose-6-phosphat; GAP: Glyceraldehyd-3-phosphat; G6P: Glukose-6-phosphat; 6-PG: 6-Phosphoglukonate (weitere siehe Abb. 1).

Ausgehend von Formaldehyd können linear via Formiat maximal zwei NADH pro HCHO gewonnen werden (Abb. 2). Was zyklisch möglich ist (Abb. 2, 3), geht aus den Gleichungen in Box 1 hervor. Sie zeigen, dass der Unterschied zwischen linearem und zyklischem Weg nicht so auffällig ist wie bei Acetat (siehe oben). Die Unterschiede, die sich aus den dissimilatorischen Möglichkeiten errechnen lassen, sind gering. Sie liegen, gemessen an den theoretischen Ertragskoeffizienten, zwischen zwei und zehn Prozent. Ob die potenziell höheren Werte praktisch zum Tragen kommen, etwa einen Konkurrenz- bzw. Selektionsvorteil bedeuten, ist fraglich, insofern als die Ertragskoeffizienten in hohem Maße von den aktuellen (Umwelt-) Bedingungen abhängen und davon, wie die respektiven Spezies daran angepasst sind.

Die regulatorisch nicht verbotenen, katabolisch relevanten Zyklen sind bioenergetisch eher nicht effizienter als die lineare Sequenz. Würden sie bioenergetisch beansprucht, könnte das für die Assimilation sogar nachteilig sein, was einige Enzymaktivitäten deutlich machen: z. B. von Serinhydroxymethyl-

Transferase mit 0,173 (zyklisch) gegenüber 0,077 (linear) [$\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ Trocken-substanz] bei $\mu = 0,15 \text{ h}^{-1}$ und $Y = 0,3 \text{ g g}^{-1}$.

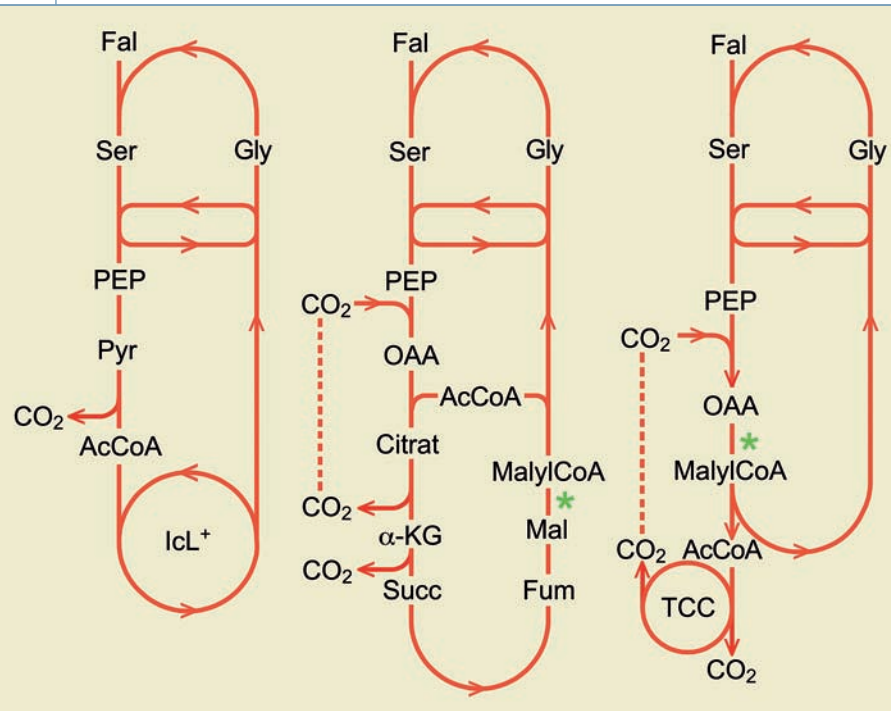
Lineare versus zyklische Assimilation

Da die oben genannten Zyklen bioenergetisch nicht effizienter sind als die lineare Alternative, stellt sich eine nächste Frage: Sind Zyklen assimilatorisch, das heißt stofflich effizienter?

Pentosen als Quelle für Kohlenstoff und Energie für Wachstum und Vermehrung erscheinen geeignet, diese Frage zu beantworten, da zwei Wege zur Assimilation (Bildung eines sogenannten zentralen Präkursors) möglich sind:

- „linear“: 3 Ribose \rightarrow 5 PGA + 5 NAD(P)(H) (inklusive Phosphofruktokinase);
- zyklisch: 1 Ribose \rightarrow 1 PGA + 5 NAD(P)(H) + 2 CO₂ (inklusive G6P-/6-PG-DH).

Wie die Bilanzierungen zeigen, liefert die Schleife mehr Reduktionsäquivalente pro 3-Phosphoglycerat (PGA) und, wenn sie bioenergetisch verwendbar wären, auch mehr ATP. Dies scheint ein Vorteil zu sein. Aller-



▲ **Abb. 3:** Möglichkeiten zur zyklischen Dissimilation von Formaldehyd bei Bakterien, die den Serin-Weg nutzen. Der grüne Stern kennzeichnet Enzyme, die U-Typ-geregelt sind. Abkürzungen: Fal: Formaldehyd; Fum: Fumarat; IcL⁺: Isocitrat-Lyase-positiv; α-KG: α-Ketoglutarat; Mal: Malat; PEP: Phosphoenolpyruvat; Pyr: Pyruvat; Succ: Succinat (weitere siehe Abb. 1).

Box 1: Zyklische Dissimilation von Formaldehyd

DHA-Weg:	1 HCHO → 1 CO ₂ + 2 NADPH - 1 ATP (via G6P-/6-PG-DH)
	1 HCHO → 1 CO ₂ + 1,66 NAD(P)H + 0,33 FADH ₂ (via TCC)
RMP-Weg:	1 HCHO → 1 CO ₂ + 2 NAD(P)H (via G6P-/6-PG-DH, Quayle-Zyklus)
FBP-SBP-Variante:	1 HCHO → 1 CO ₂ + 1,66 NAD(P)H + 0,33 ATP + 0,33 FADH ₂ (via TCC)
FBP-TA-Variante:	1 HCHO → 1 CO ₂ + 1,66 NAD(P)H + 0,66 ATP + 0,33 FADH ₂ (via TCC)
Serin-Weg:	1 HCHO → 1 CO ₂ + 1 NAD(P)H + 1 FADH ₂ (via Pyr-DH, IcL)
	1 HCHO → 1 CO ₂ + 1 NAD(P)H - 1 ATP + 1 FADH ₂
	(via PEP-Carboxylase)
	1 HCHO → 1 CO ₂ + 2 NAD(P)H + 1 FADH ₂ (via Malyl-CoA-Lyase, TCC)

Box 2: Bilanzgleichungen für die Bildung von PGA

DHA-Weg:	3 HCHO → 1 PGA + 1 NAD(P)H - 2 ATP
Mix (linear):	1 HCHO + 1 Xylose → 2 PGA + 2 NAD(P)H
RMP-Weg, FBP-Var.:	3 HCHO → 1 PGA + 1 NAD(P)H - 1 ATP
Mix (linear):	1 HCHO + 1 Ribose → 2 PGA + 2 NAD(P)H

dings bestätigen die Ertragsskoeffizienten Y (ausgedrückt als *carbon conversion efficiency*, CCE, Biomasse-C pro Substrat-C in Prozent) dies nicht: 46,5 Prozent (zyklisch) gegenüber 61,4 Prozent (linear). Offenbar kann der größere Gewinn an Reduktionsäquivalenten den assimilatorischen Kohlenstoff-Verlust nicht kompensieren. Biomassebildung durch Wachstum und Vermehrung auf Pentosen ist also via zyklische Assimilation nicht effizienter als via lineare Sequenz.

Zyklische Regenerierung versus „Linearisierung“ durch Mischsubstrat-Verwertung

Reduzierte C₁-Verbindungen werden zyklisch assimiliert. Als „Ko-Substrate“ fungieren Ribulose-5-phosphat oder Glycin bei Bakterien und Xylulose-5-phosphat bei Hefen. Da sie beim Wachstum z. B. auf Methanol als einziger C/E-Quelle extern nicht zur Verfügung stehen, müssen die „Ko-Substrate“ substrat-intrinsisch aus Methanol (re-)generiert werden. Sie

könn(t)en allerdings auch zusätzlich quasi wie ein zweites Substrat gefüttert werden, sodass sich die respektiven Regenerierungsschleifen erübrigen.

Die Gleichungen und Modellrechnungen, durchgeführt für methylotrophe Hefen und die FBP-Variante des RMP-Weges, zeigen, wie sich „Linearisierung“ durch Mischsubstrat-Verwertung auf die Bilanzgleichungen, die Effizienz der Assimilation (**Box 2**) und schließlich der Biomassebildung auswirken könnte.

Da Methanol und Pentosen bioenergetisch defizitär sind [1], ist für die CCE_{mix} ein Mittelwert zu erwarten, der vom Mischungsverhältnis abhängig ist. Wie aus den Modellrechnungen hervorgeht, trifft dies auch tatsächlich zu. Für den DHA-Weg (Hefen) ergibt sich: 53,6 Prozent (Methanol) < 60 Prozent (Mix), aber < 61,4 Prozent (Xylose); und für den RMP-Weg (Bakterien): 71 Prozent (Methanol) > 65 Prozent (Mix), aber > 61,4 Prozent (Ribose, siehe oben). Das heißt, nicht zyklisch oder linear bestimmt die Effizienz, sondern die Art der in die Assimilation eingeschlossenen Reaktionen ist entscheidend.

Fazit

Zyklen bedeuten in aller Regel mehr Schritte als lineare Alternativen. Deshalb könnten sie – zumindest potenziell, da „biologische“ Energie portionsweise bereitgestellt wird – bioenergetisch effizienter sein. Rechnungen, basierend auf metabolischen Bilanzgleichungen und dem sogenannten Y_{ATP} -Konzept, haben dies nicht bestätigt. Was also zeichnet sie aus?

Zyklen helfen, Organika zu aktivieren und zu assimilieren, Energie zu gewinnen und die dafür notwendigen Investitionen wieder zu tilgen. Sie machen Organika stofflich und bioenergetisch souverän. In diesem Sinne sind sie unverzichtbar. Und sie ermöglichen chemorganoheterotrophen Organismen, sich so zu spezialisieren, dass sie mit nur einem Substrat als Quelle von Kohlenstoff und Energie auskommen.

Zyklen sind ambivalent. Indem Intermediate, einzelne Reaktionen und Reaktionsfolgen multipel und wiederholt verwendbar sind, bedeuten sie sparsamer Umgang mit Ressourcen. Sie stehen für Ökonomie, wenn Ökonomie nicht vordergründig mit Effizienz der Stoffwandlung (Ausbeute) übersetzt bzw. auf Wirkungsgrad reduziert wird. In Ökonomie steckt mehr, dazu gehören Geschwindigkeit und quantitativ schwer zu fassende Eigenschaften wie Flexibilität, physiologische

Elastizität, *sustainability* und Konkurrenzfähigkeit.

Wahrscheinlich ist Effizienz nicht das wesentliche Kriterium für die Entwicklung bzw. Etablierung von Stoffwechselwegen und für die Konkurrenzfähigkeit von Organismen. Entscheidender dürfte sein, dass und mit welcher Geschwindigkeit ein Substrat genutzt werden kann, also Zuverlässigkeit und nicht maximaler Energiegewinn.

Welche Bedeutung Geschwindigkeit für die Evolution von linearen oder zyklischen Systemen hat und wie die Inbetriebnahme von Geschwindigkeitsalternativen kontrolliert wird, kann gegenwärtig nicht gesagt werden. So viel aber: In aller Regel wird dasjenige System in Betrieb genommen, das Überleben sichert. Das kann das effizientere sein; abhängig von den konkreten Bedingungen kann aber auch zugunsten höherer Geschwindigkeit(en) Effizienz hintangestellt werden.

Danksagung

Frau Dagmar Fiedler möchte ich sehr herzlich für die vielfältige Unterstützung danken, insbesondere für ihre Mühen beim Zeichnen der Abbildungen. ■

Literatur

- [1] Babel W, Brinkmann U, Müller RH (1993) The auxiliary substrate concept – An approach for overcoming limits of microbial performances. *Acta Biotechnol* 13:211–242
- [2] Anthony C (1982) *The Biochemistry of Methylootrophs*. Academic Press, London, New York
- [3] Baldwin JE, Krebs H (1981) The evolution of metabolic cycles. *Nature* 291:381–382

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Wolfgang Babel
UFZ – Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung
GmbH
Permoserstraße 15
D-04318 Leipzig
Tel.: 0341-2311043
w.babel@web.de

AUTOR



Wolfgang Babel

1970 Promotion zum Dr. rer. nat. (Mikrobiologie) und 1977 zum Dr. sc. nat. (Mikrobielle Biochemie). 1983 Professur Biochemie. 1991 Habilitation zum Dr. rer. nat. habil. (Mikrobielle Physiologie). 1995 C4-Professur Mikrobielle Physiologie der Fakultät für Biowissenschaften, Pharmazie und Psychologie, Universität Leipzig. Bis 2003 Leiter des Departments Umweltmikrobiologie am UFZ – Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung GmbH, Leipzig.