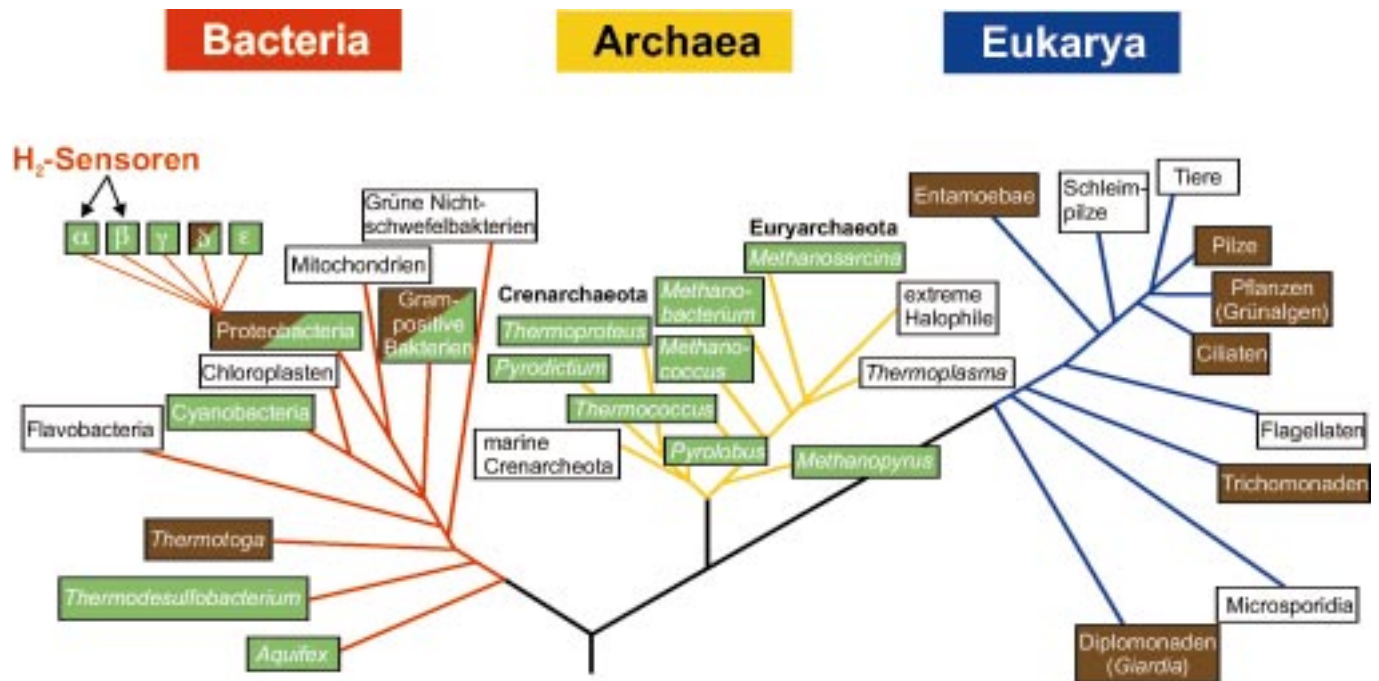


Bakterielle Wasserstoff-Sensoren

Oliver Lenz und Bärbel Friedrich

Institut für Biologie, Humboldt-Universität zu Berlin



Molekularer Wasserstoff ist eine attraktive Energiequelle, um die eine Vielzahl von Mikroorganismen konkurriert. Er tritt in aeroben Biotopen nur in Spuren auf. Einige der dort lebenden fakultativen H_2 -Oxidierer besitzen einen spezifischen Sensor, eine regulatorische [NiFe]-Hydrogenase, mit dem sie das Gas aufspüren. Der Reiz wird wahrscheinlich redoxabhängig über ein ungewöhnliches Zwei-Komponenten-Regulationssystem auf die Ebene der Genexpression weitergeleitet. Dadurch kann die komplexe Biosynthese energetisch gekoppelter [NiFe]-Hydrogenasen nur dann ablaufen, wenn das Substrat verfügbar ist.

► Mikroorganismen haben vermutlich zu einem frühen Zeitpunkt der Entwicklungsgeschichte die Fähigkeit entwickelt, molekularen Wasserstoff (H_2) biologisch umzusetzen. Katalysiert wird die reversible Spaltung von H_2 in $2 e^-$ und $2 H^+$ durch das Enzym Hydrogenase. In anaeroben Biotopen wird H_2 in Folge von Gärungsprozessen freigesetzt und entsteht darüber hinaus als Nebenprodukt der Stickstoff-fixierenden Nitrogenase. H_2 dient einer Vielzahl von Organismen sowohl in Sauerstoff-freien als auch in Sauerstoff-gesättigten Zonen als willkommene Energiequelle. Hierzu zählen die methanogenen Archaea, Schwefelreduzenten, anoxygene phototrophe Bakterien sowie obligat und fakultativ chemolithoautotrophe Organismen.

Ein Blick auf den phylogenetischen Stammbaum (Abb. 1)^[1] zeigt, dass Hydrogenasen in nahezu allen Linien der Prokaryoten verbreitet sind. In Eukaryoten scheint ihre Existenz auf Vertreter der Grünalgen, Protozoen und Pilze begrenzt zu sein^[2]. Es ist bemerkenswert, dass an extremen Standorten vorkommende, als Verwandte der ältesten Lebensformen geltende Organismen, in der Regel über Hydrogenasen verfügen.

Abb. 1: Verbreitung von Hydrogenasen. Grüne Kästchen kennzeichnen das Vorkommen von [NiFe]-Hydrogenasen, braune das von [Fe]-Hydrogenasen in einem modifizierten phylogenetischen Stammbaum^[1].

Ihre weite Verbreitung in ursprünglichen, mit einem einfachen Stoffwechsel ausgestatteten Einzellern, beflügelte die Theorie, dass die H_2 -Oxidation Teil eines primitiven Energie-liefernden Reaktionszyklus sein könnte^[1].

Die Analyse von Genomstrukturen sowie Einblicke in den Aufbau, die Biosynthese, die Reaktionsweise und die Regulation von Hydrogenasen offenbarten überraschenderweise ein überaus komplexes Redoxsystem^[2], das sich von einem primitiven Vorläufer, falls es ihn je gegeben haben sollte, hinsichtlich der Struktur und Katalyseeigenschaften wahrscheinlich erheblich unterscheidet. Am Beispiel der [NiFe]-Hydrogenasen und speziell der H_2 -sensierenden Signaltransduktionskette zeigt dieser Beitrag, welche Anstrengungen ein Einzeller unternehmen muss, um das Substrat H_2 , das kleinste natürlich vorkommende Molekül, in der Natur aufzuspüren und schließlich zu metabolisieren.

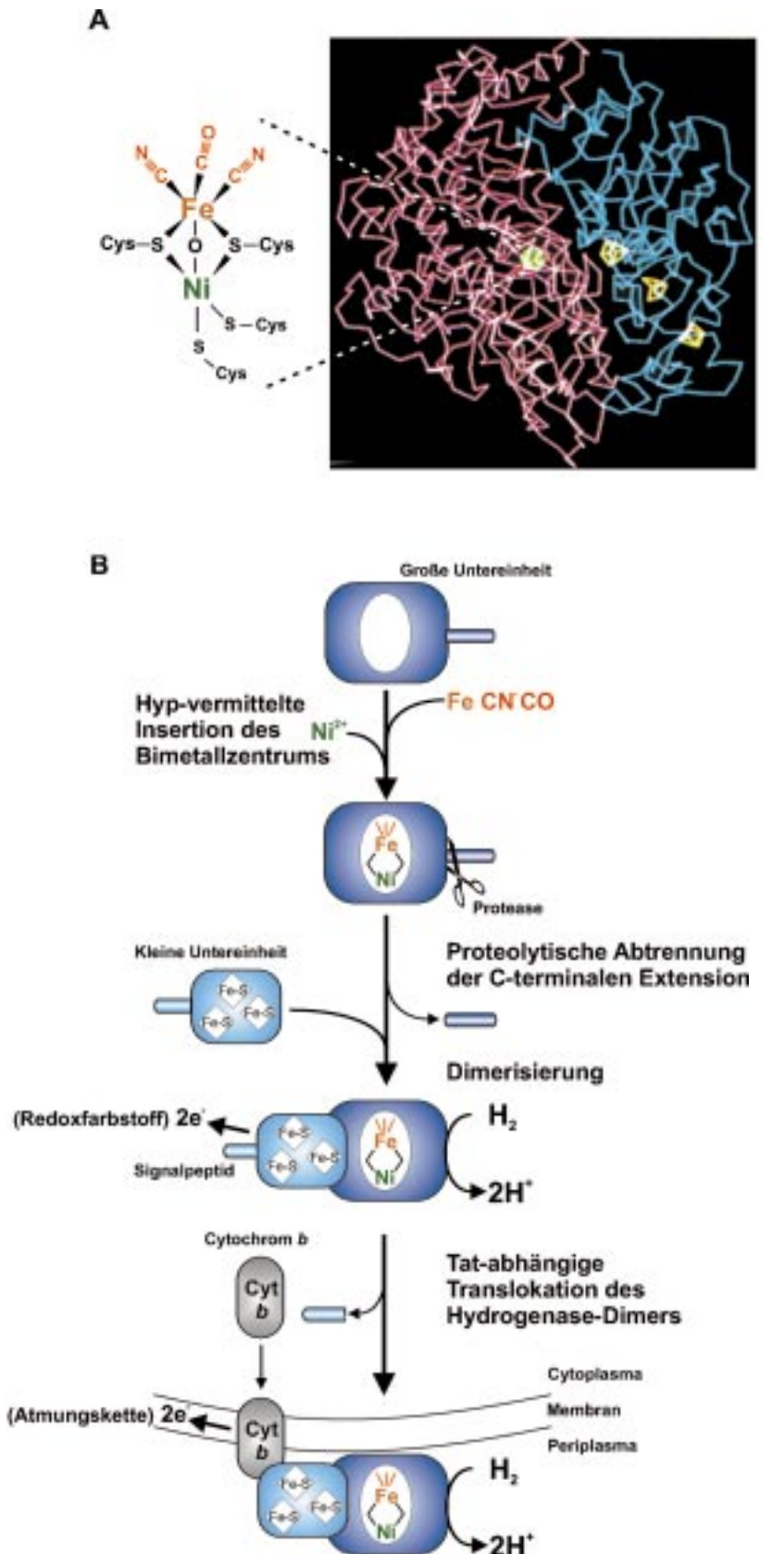


Abb. 2: Struktur und Reifung prototypischer [NiFe]-Hydrogenasen.
A: Kristallstruktur der periplasmatischen Hydrogenase aus *Desulfovibrio gigas*^[5]. Die große Untereinheit (Rosa) trägt das im Ausschnitt vergrößerte aktive Zentrum. In der kleinen Untereinheit (Blau) sind die drei Eisen-Schwefel-Zentren Gelb markiert.
B: Modell der Reifung einer membrangebundenen Hydrogenase.

Struktur und Reifung von [NiFe]-Hydrogenasen

Hydrogenasen sind redoxaktive Proteine, die in der Regel metallhaltige Kofaktoren besitzen. Basierend auf dem Metallgehalt werden zwei Klassen von Hydrogenasen unterschieden: Die hochaktiven Nur-Eisenhaltigen [Fe]-Hydrogenasen, die extrem Sauerstoffempfindlich sind und vorwiegend H₂ freisetzen, sowie die am häufigsten auftretenden Nickel-Eisenhaltigen [NiFe]-Hydrogenasen, die unter oxidativen Bedingungen relativ stabil sind und sowohl die Bildung als auch die Aufnahme von H₂ katalysieren. Eine Variante dieser Klasse enthält zusätzlich Selen. Nicht selten kommen mehrere Hydrogenase-Isoenzyme in einem einzigen Bakterium vor^[2]. Es liegen atomare Strukturen von allen drei Hydrogenase-Typen vor. In diesem Beitrag werden Merkmale der [NiFe]-Hydrogenasen detailliert beschrieben.

Das Grundmodul einer [NiFe]-Hydrogenase besteht aus einer großen, das katalytische Zentrum tragenden und einer kleinen, Elektronen-transferierenden Untereinheit. Das [NiFe]-Zentrum ist tief im Innern des Proteins eingebettet und eng gekoppelt mit drei [Fe-S]-Zentren in der kleinen Untereinheit, über die Elektronen an die Proteinoberfläche gelangen (Abb. 2A). Nickel ist über zwei Thiolgruppen mit dem Protein kovalent verbunden, und zwei weitere Cysteine liefern Liganden für die Verbrückung der beiden Metalle^[3]. Durch Infrarotspektroskopie wurde das binukleare Zentrum weiter aufgelöst^[4] und offenbarte eine ungewöhnliche Struktur. Am Eisen befinden sich zwei CN-Moleküle und eine CO-Gruppe (Abb. 2A), die wahrscheinlich Carbamoylphosphat entstammen^[5] und vermutlich für einen niedrigen Redoxzustand am Eisen sorgen^[2].

In Anbetracht der komplexen Architektur des [NiFe]-Zentrums drängt sich unweigerlich die Frage auf, wie diese Bausteine in das Protein gelangen. Mutanten lieferten hierzu erste Hinweise. Mutationen in akzessorischen Genen setzen die Hydrogenase-Aktivität stark oder gar vollständig herab und wirken in Organismen mit multiplen [NiFe]-Hydrogenasen pleiotrop^[6]. Sechs der sieben als *hyp* (hydrogenase pleiotropic) bezeichneten Gene sind hochgradig konserviert und sogar in extrem thermophilen *Bacteria* und *Archaea* verbreitet.

Unser Wissen über die konkrete Funktion der *hyp*-Genprodukte ist zwar begrenzt, aber wegweisende Arbeiten, vornehmlich an *E. coli*^[6], bilden die Basis für ein Reifungsmodell, das beispielhaft für die membrangebundene [NiFe]-Hydrogenase (MBH) veranschaulicht ist (Abb. 2B). Mithilfe des Chaperons HypC inserieren die Proteine HypD,

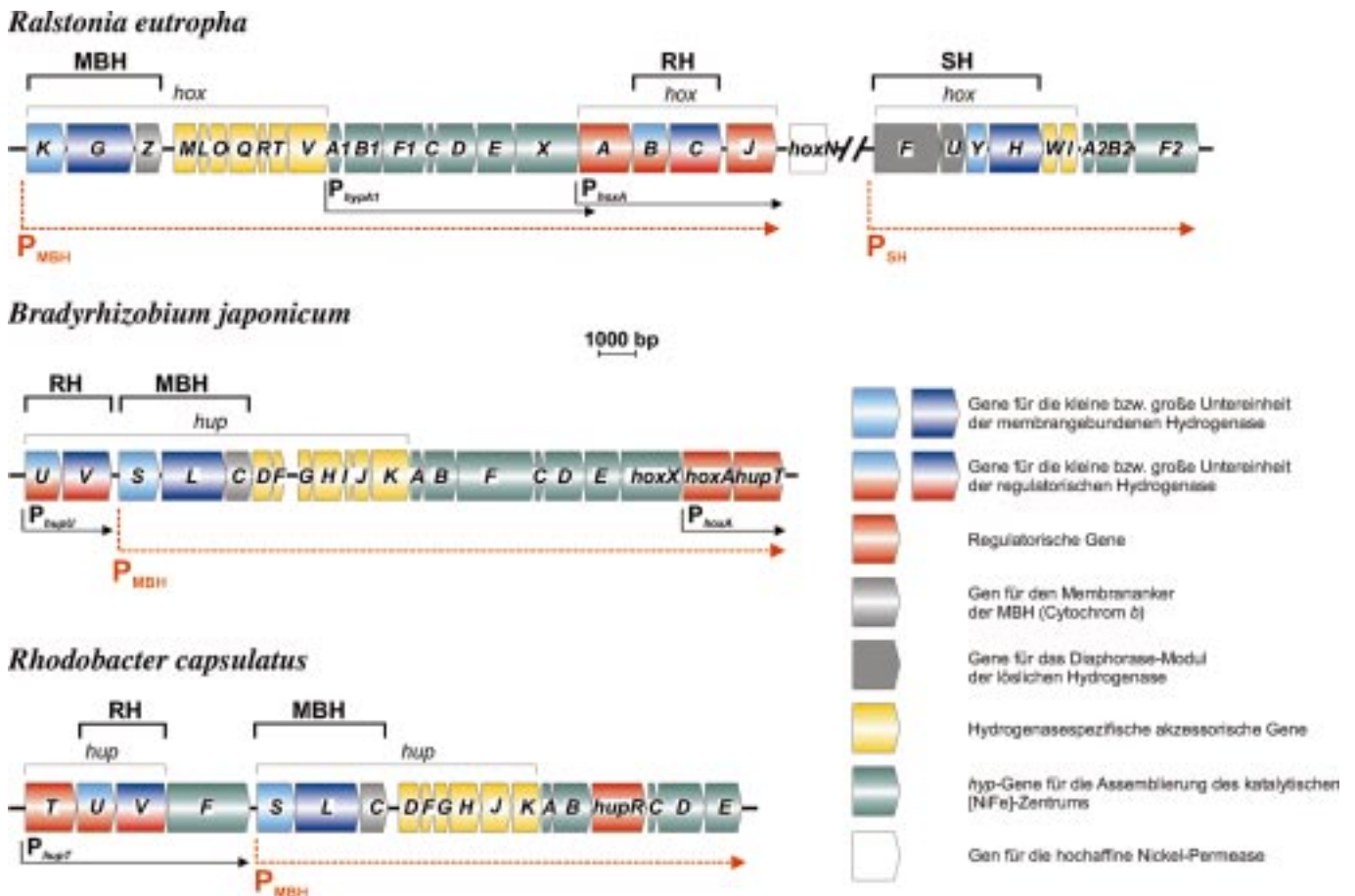


Abb. 3: Organisation der Hydrogenase-Gene in aeroben H₂-Oxidierern. H₂-regulierte Promotoren sind durch rote, konstitutiv schwache Promotoren durch schwarze Pfeile gekennzeichnet.

HypE und HypF zunächst Eisen und die diatomaren Liganden. Nickel wird von HypB in einer GTP-abhängigen Reaktion eingebaut, und abschließend erfolgt die Abspaltung eines etwa zwanzig Aminosäuren umfassenden Peptids durch eine Carboxyendoptidase^[6]. Das reife Protein faltet sich und oligomerisiert mit der kleinen Untereinheit. Entscheidend für die Einbindung des Hydrogenase-Moduls in einen physiologischen Prozess ist die Kopplung mit anderen cytoplasmatischen oder membrangebundenen Redoxkomponenten. Dies setzt im Falle der membranständigen und periplasmatischen Hydrogenasen eine Translokation des Dimers über die Membran voraus, katalysiert durch das Twin-Arginin-Translokationssystem (Tat). Durch Tat werden gefaltete, kofaktorhaltige Proteine in einer vom allgemeinen Sekretionsweg (Sec) unabhängigen Reaktion exportiert^[7].

Hydrogenase-Genregulation in aeroben H₂-Oxidierern

Der komplexe Aufbau der [NiFe]-Hydrogenasen sowie deren vielschichtige protein-

katalysierte Reifung wird auch auf genetischer Ebene sichtbar. In den gut untersuchten aeroben Wasserstoffbakterien *Ralstonia eutropha*, *Bradyrhizobium japonicum* und *Rhodobacter capsulatus* sind bis zu 21 Hydrogenase-Gene in bis zu 21kbp umfassenden Operonen organisiert (Abb. 3)^[8,9,10]. Den Genen für die Untereinheiten der über ein Cytochrom *b* mit der Atmungskette gekoppelten membrangebundenen Hydrogenase folgt ein Satz von MBH-spezifischen akzessorischen Genen, deren Produkte auch bei der Translokation mitwirken. Weiter stromabwärts sind die *hyp*-Gene positioniert, deren Produkte für die Bildung des aktiven Zentrums sorgen (Abb. 2).

Die Transkription der Hydrogenase-Gene wird von starken, regulierbaren Promotoren gesteuert (Abb. 3). Bestandteil der Promotorregionen sind sogenannte Enhancerartige Elemente, die als Bindestellen für den zentralen Aktivator HoxA beziehungsweise HupR dienen. HoxA/HupR zählt zu den Response-Regulatoren des NtrC-Typs und bildet mit der cytoplasmatischen, homodimeren Histidin-Protein-Kinase HoxJ beziehungsweise HupT ein Zwei-Komponenten-

System^[10,11]. Typisch für diese Familie von Regulatoren ist deren aktivierende Wirkung auf die Transkriptionsinitiation der mit dem alternativen Sigma-Faktor σ^{54} (RpoN) beladenen RNA-Polymerase^[12]. In der Tat ist die Hydrogenase-Genexpression in *R. eutropha* und in *B. japonicum* strikt RpoN-abhängig^[13], dagegen aktiviert HupR in *R. capsulatus* die Transkriptionsinitiation durch die σ^{70} -haltige RNA-Polymerase^[10].

In aeroben H₂-Oxidierern ist die lithotrophe Lebensweise in der Regel ein optionaler Stoffwechsel^[13]. Da in aeroben Biotopen H₂ nur sporadisch und in Spuren auftritt, haben die Aerobier Mechanismen entwickelt, die es erlauben, die Hydrogenase-Synthese an die Verfügbarkeit des Substrates anzupassen. Zur Wahrnehmung von H₂ dient eine besondere, durch die Gene *hoxBC*^[14] beziehungsweise *hupUV*^[15] kodierte [NiFe]-Hydrogenase, die sich im Cytoplasma befindet und als Regulatorische Hydrogenase (RH) oder H₂-Sensor bezeichnet wird. Das Zusammenspiel von RH und dem Zwei-Komponenten-System garantiert, dass die aufwendige Hydrogenase-Synthese ausschließlich in Gegenwart von H₂ abläuft.

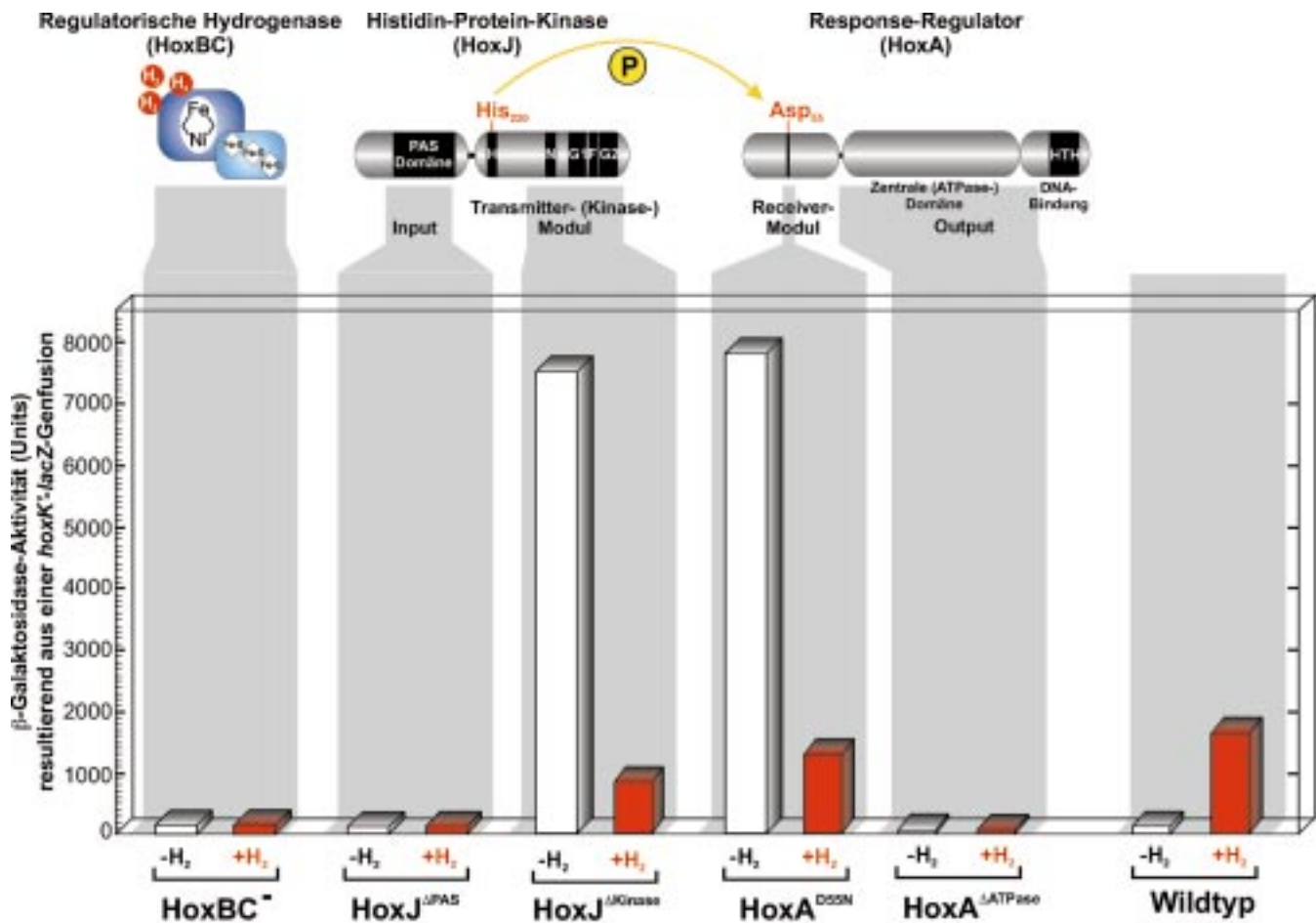


Abb. 4: Phänotypische Beschreibung von Regulationsmutanten. Zellen von *R. eutropha* wurden heterotroph in Ab- bzw. Anwesenheit von H_2 angezogen. Mithilfe der *lacZ*-Reporter-Genaktivität ist exemplarisch die Promotoraktivität des MBH-Operons dargestellt. In *HoxJ* sind die konservierten Motive von Histidin-Protein-Kinasen markiert^[6]. HTH: Helix-Turn-Helix-Motiv.

Ein ungewöhnliches Zwei-Komponenten-System

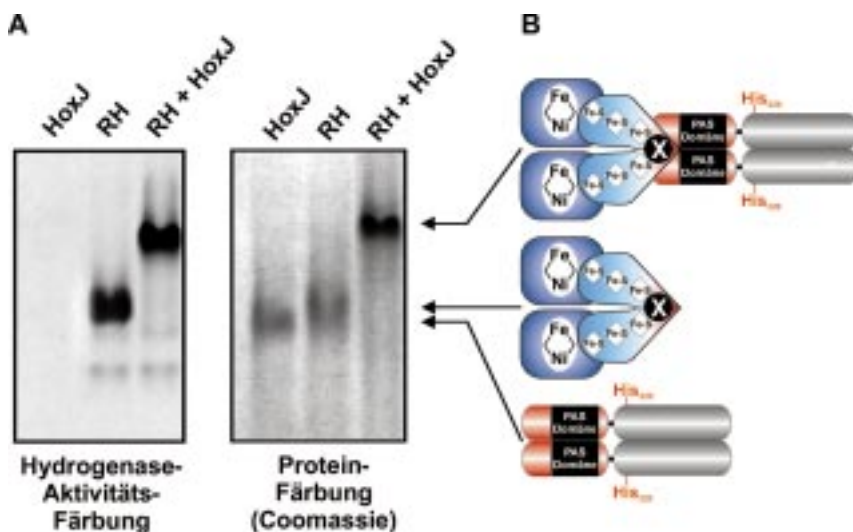


Abb. 5: Bildung eines Komplexes zwischen dem H_2 -Sensor und der Kinase. A: Gereinigte Komponenten von RH und HoxJ wurden in gleichen Mengen gemischt und in nativen Polyacrylamid-Gelen elektrophoretisch getrennt. Hydrogenase-Aktivität ist durch H_2 -abhängige Reduktion des Redoxfarbstoffs Phenazinmethosulfat veranschaulicht. Die RH und HoxJ besitzen eine ähnliche Mobilität, die im Komplex stark verlangsamt ist. B: Modell der Einzelkomponenten. Der neuartige Kofaktor in der RH^[6] ist durch ein X gekennzeichnet.

Die zunächst konventionell erscheinende Substrat-induzierte Enzym-Synthese birgt im Fall der H_2 -abhängigen Signaltransduktionskaskade einmalige Eigenschaften, die beispielhaft beschrieben werden. *R. eutropha* besitzt zwei energetisch gekoppelte [NiFe]-Hydrogenasen, ein dem MBH-Typ (*Abb. 2B*) entsprechendes Enzym und eine Flavin-haltige cytoplasmatische Hydrogenase (SH), die H_2 zur direkten Reduktion von NAD^+ nutzt^[13]. Die SH besteht aus dem Hydrogenase-Modul und einem assoziierten NADH-Oxidoreduktase-Dimer, die mit akzessorischen und einem unvollständigen Satz von Hyp-Proteinen in dem SH-Operon kodiert sind (*Abb. 3*).

Das MBH- und das SH-Operon werden stets koordiniert reguliert und stehen unter positiver Kontrolle des Regulators HoxA^[8]. Eine Deletion der zentralen Domäne, welche die Interaktion mit RpoN determiniert und ATPase-Aktivität birgt, führt zu einem vollständigen Erliegen der Genexpression (*Abb. 4*). Den gleichen Phänotyp besitzen Mu-

tanten, in denen die Gene der RH durch Deletion ausgeschaltet sind^[11]. Während von HoxA und RH eine positive regulatorische Wirkung ausgeht, beeinflusst die Kinase HoxJ die Transkription unerwartet negativ. In der überwältigenden Mehrzahl der bislang bekannten Zwei-Komponenten-Systeme werden die Response-Regulatoren durch Phosphorylierung an einem hoch-konservierten Aspartatrest im Empfänger-Modul aktiviert, was im Regelfall zur Induktion der jeweiligen Zielgene führt^[12]. Den Phosphatrest erhält der Response-Regulator reizabhängig von einem invarianten Histidin-Rest im Transmitter-Modul der Kinase, auch Sensor-Kinase genannt. Der Histidin-Rest wird seinerseits in einer autokatalytischen ATP-abhängigen Reaktion phosphoryliert.

Die Inaktivierung des HoxJ-eigenen Kinase-Moduls führt zu einer Deregulation des Systems^[11], die in eine äußerst starke H₂-unabhängige Hydrogenase-Genexpression mündet (Abb. 4). Entsprechend verhalten sich HoxA-Mutanten, in denen der Phosphatgruppen-empfangende Aspartatrest durch andere Aminosäuren ersetzt ist. Diese veränderten HoxA-Proteine werden nicht mehr phosphoryliert. Während eine solche Modifikation den Response-Regulator gewöhnlich inaktiviert, hat sie hier eine drastisch erhöhte Expression der Hydrogenase-Gene zur Folge (Abb. 4)^[11]. Es stellt sich nun die Frage, wie H₂ die Sensor-Kinase moduliert.

Ein Komplex aus H₂-Sensor und Histidin-Protein-Kinase

Die bakteriellen H₂-Sensoren sind echte [NiFe]-Hydrogenasen. Sie besitzen eine heterodimere $\alpha\beta$ -Struktur, tragen Nickel und Eisen im katalytischen Zentrum und sind zur Oxidation von H₂ befähigt. Charakteristisch für die große Untereinheit von H₂-Sensoren ist das Fehlen einer C-terminalen Extension. Offensichtlich ist der proteolytische Schritt (Abb. 2B) keine zwingende Voraussetzung für den korrekten Einbau des Bimetallzentrums^[16]. Jedoch benötigt auch die RH die Hyp-Proteine für die Reifung^[17]. Spektroskopische Analysen der gereinigten RH aus *R. eutropha* ergaben, dass das [NiFe]-Zentrum dem der Standard-Hydrogenase gleicht (Abb. 2A)^[16]. Die Hydrogenase-Aktivität der RH ist dagegen um zwei Größenordnungen geringer und zeichnet sich durch die Unempfindlichkeit gegenüber Sauerstoff, Kohlenmonoxid sowie Acetylen aus, eine für [NiFe]-Hydrogenasen ungewöhnliche Eigenschaft. Darüber hinaus befindet sich die RH in einem Redoxzustand, der es ihr erlaubt, mit H₂ unmittelbar zu reagieren, was für die Sensorfunktion wichtig ist.

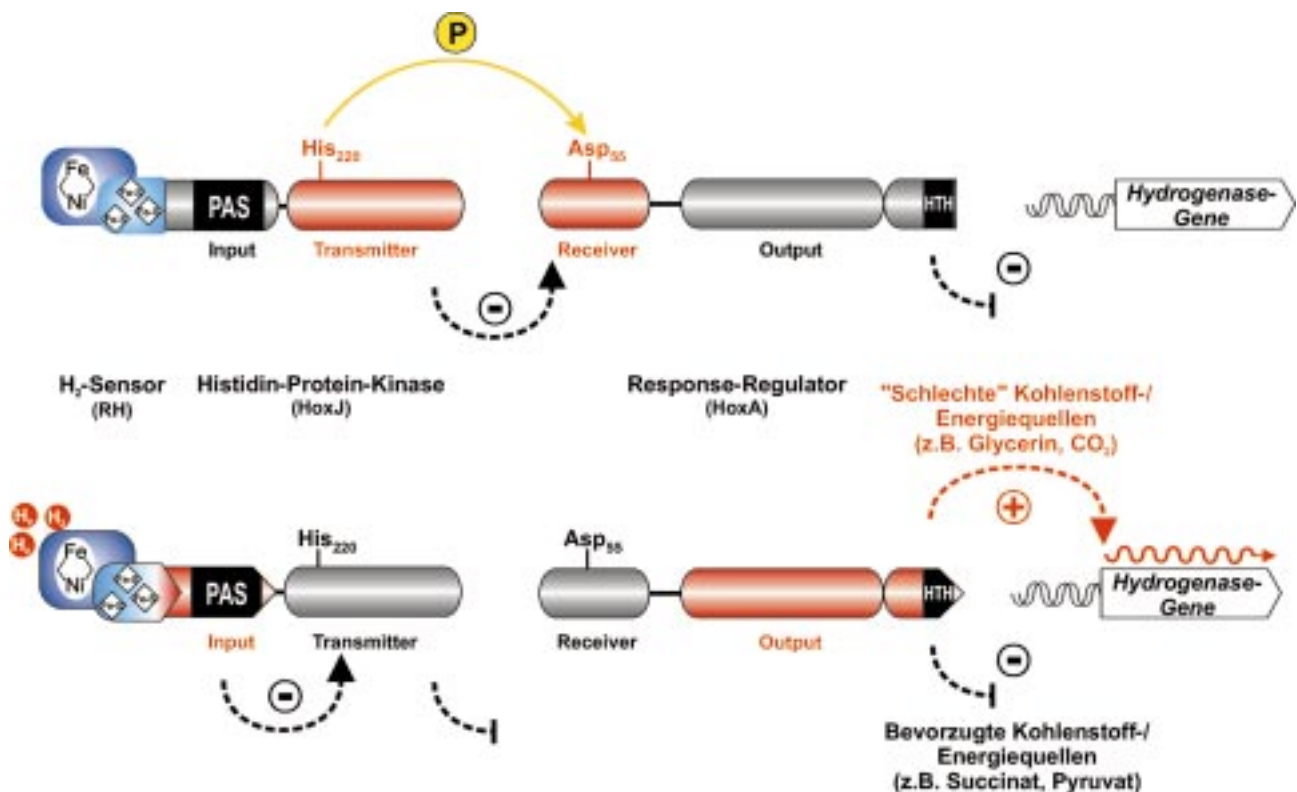
Im nativen Zustand liegt die RH in einer $\alpha_2\beta_2$ -Konformation vor^[16], für deren Ausbildung der C-terminale Bereich der kleinen Untereinheit notwendig ist^[17]. Gereinigte RH und HoxJ bilden *in vitro* einen stabilen

Komplex (Abb. 5)^[16]. Diese Komplexbildung ist nicht möglich, wenn der C-terminale Bereich der kleinen RH-Untereinheit durch Mutagenese entfernt wird und infolgedessen die $\alpha_2\beta_2$ -Form in das einfache $\alpha\beta$ -Dimer dissoziiert. Letzteres besitzt zwar Hydrogenase-Aktivität, ist regulatorisch jedoch inaktiv^[17]. Die RH beherbergt einen weiteren, in seiner Struktur noch unbekanntem Kofaktor (Abb. 5)^[16], der möglicherweise als Signalüberträger dient. Als Ziel dieser Signalübertragung bietet sich die PAS-Domäne in der Sensor-Kinase an. PAS-Domänen sind konservierte Strukturelemente, die in einer Vielzahl von sensorischen Proteinen in Organismen aller drei phylogenetischen Domänen vorkommen^[18]. Sie tragen häufig Kofaktoren und empfangen äußere Reize wie Licht, Sauerstoff und wechselnde Redoxzustände. Eine Deletion der PAS-Domäne in HoxJ hat zur Folge, dass die Kinase das H₂-Signal nicht mehr empfängt und die Aktivität des Regulators HoxA konstitutiv blockiert ist (Abb. 4).

Ausblick

Bisher sind H₂-Sensoren in Proteobakterien der α - und β -Subgruppe nachgewiesen worden (Abb. 1). Sie signalisieren den fakultativen H₂-Verwertern die Gegenwart des alternativen Substrates. Dieses stellt unter Mangelbedingungen eine attraktive zusätzliche

Abb. 6: Modell der H₂-abhängigen Signaltransduktionskette in *Ralstonia eutropha*. Einzelheiten sind im Text erläutert.



Energiequelle dar, deren Erschließung aufgrund des komplexen posttranslationalen Hydrogenase-Reifungsprozesses für den Organismus eine erhebliche Leistung bedeutet, die abhängig von der Verfügbarkeit von H_2 und anderen Substraten eine wohl balancierte Kontrolle des Stoffwechsels fordert. Die in *R. eutropha* entschlüsselte Signaltransduktionskette ist in ihren molekularen Grundlagen erst in Ansätzen aufgeklärt; das abschließende Modell (Abb. 6) veranschaulicht einen möglichen Reaktionsweg und öffnet einen Ausblick auf offene Fragen.

In Abwesenheit von H_2 ist die Transkription der Gene für die SH und MBH reprimiert; in diesem Zustand liegt der Regulator HoxA in der phosphorylierten Form vor und ist nicht in der Lage, die RpoN-beladene RNA-Polymerase zu aktivieren. Dieses Verhalten steht im krassen Gegensatz zu den konventionellen Zwei-Komponenten-Systemen, in denen der phosphorylierte Regulator aktiv ist^[12]. HoxA wird von der Sensor-Kinase HoxJ, die selbst einer Autophosphorylierung unterliegt, an einem konservierten Aspartatrest phosphoryliert. Die Kinase bildet mit dem H_2 -Sensor einen cytoplasmatischen HoxJ-RH-Komplex.

Was passiert, wenn die Zellen mit H_2 in Kontakt kommen? Der H_2 -Sensor bindet das frei diffundierende Gasmolekül am [NiFe]-Zentrum, und wir postulieren, dass H_2 gespalten wird, die Elektronen über die kleine Untereinheit auf die Sensor-Kinase fließen, was zur Antwort hat, dass die Phosphorylierung von HoxA unterbunden wird. In diesem Fall liegt der Regulator in seiner aktiven Form vor. An der Signalübertragung ist sehr wahrscheinlich ein weiterer nicht-metallischer Kofaktor in dem H_2 -Sensor und möglicherweise ein zusätzlicher Kofaktor in der mit einer PAS-Domäne ausgestatteten Kinase beteiligt. Zukünftige Versuche werden sich auf die Entschlüsselung der Kofaktoren und auf die *in vitro*-Rekonstitution der Signaltransduktionskette konzentrieren.

Eine mechanistisch noch vollständig offene Frage ist die globale Substratkontrolle, die der H_2 -Sensierung regulatorisch übergeordnet ist. Sie ermöglicht *R. eutropha*, die Transkription der Hydrogenase-Gene auch in Gegenwart von H_2 abzuschalten, vorausgesetzt, es sind bevorzugte organische Nährstoffe wie Succinat oder Pyruvat zugegen. Eine mixotrophe Verwertung von Substraten ist dagegen nur dann möglich, wenn neben H_2 Substrate angeboten werden, die nur langsames Wachstum erlauben, wie Glycerin oder Kohlendioxid^[13]. Auch im globalen Regulationsgeschehen nimmt HoxA eine Schlüsselstellung ein. Durch weitere Analyse dieses Transkriptionsfaktors erhoffen wir Einblicke in das übergeordnete regulatorische Netzwerk.

Danksagung

Unsere Arbeiten wurden gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und den Fonds der Chemischen Industrie.

Literatur

- [1] **Madigan, M. Z., Martinko, J. M. and Parker, J.:** Brock Biology of Microorganisms, 8th ed. Prentice-Hall, USA, 1997
- [2] **Vignais, P. M., Billoud, B. and Meyer, J. (2001):** Classification and phylogeny of hydrogenases. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 455–501
- [3] **Volbeda, A., Charon, M. H., Piras, C., Hatchikian, E. C., Frey, M. and Fontecilla-Camps, J. C. (1995):** Crystal structure of the nickel-iron hydrogenase from *Desulfovibrio gigas*. *Nature* 373: 580–587
- [4] **Happe, R. P., Roseboom, W., Pierik, A. J. and Albracht, S. P. (1997):** Biological activation of hydrogen. *Nature* 385: 126
- [5] **Paschos, A., Glass, R. S. and Böck, A. (2001):** Carbamoylphosphate requirement for synthesis of the active center of [NiFe]-hydrogenases. *FEBS Letters* 488: 9–12
- [6] **Maier, T. and Böck, A. (1996):** Nickel incorporation into hydrogenases. In: **Hausinger, R. P., Eichhorn, G. L. and Marzilli, L. G. (Hrsg.)** Advances in inorganic biochemistry: mechanisms of metalcenter assembly. *VHC Publishers Inc., New York*, 173–192
- [7] **Wu, L. F., Chanal, A. and Rodrigue, A. (2000):** Membrane targeting and translocation of bacterial hydrogenases. *Arch. Microbiol.* 173: 319–324
- [8] **Schwartz, E., Buhrke, T., Gerischer, U. and Friedrich, B. (1999):** Positive transcriptional feedback controls hydrogenase expression in *Alcaligenes eutrophus* H16. *J. Bacteriol.* 181: 5684–5692



Oliver Lenz

geboren 1965, Studium der Biologie an der Freien Universität Berlin,

Promotion 1998 bei Prof. Dr. Bärbel Friedrich am Lehrstuhl für Mikrobiologie an der Humboldt-Universität zu Berlin. Seit 1998 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Biologie.



Bärbel Friedrich

geboren 1945, Studium der Biologie an der Universität Göttingen, Pro-

motion 1973 in Mikrobiologie bei Prof. Dr. H. G. Schlegel, Postdoc am MIT, USA. Habilitation in Mikrobiologie, 1984–1993 Professorin für Mikrobiologie an der Freien Universität Berlin, seit 1994 an der Humboldt Universität Berlin. Seit 1997 Vizepräsidentin für Biowissenschaften der DFG.

- [9] **Black, L. K., Fu, C. and Maier, R. J. (1994):** Sequence and characterization of *hupU* and *hupV* genes of *Bradyrhizobium japonicum* encoding a possible nickel-sensing complex involved in hydrogenase expression. *J. Bacteriol.* 176: 7102–7106
- [10] **Dischert, W., Vignais, P. M. and Colbeau, A. (1999):** The synthesis of *Rhodobacter capsulatus* HupSL hydrogenase is regulated by the two-component HupT/HupR system. *Mol. Microbiol.* 34: 995–1006
- [11] **Lenz, O. and Friedrich, B. (1998):** A novel multi-component regulatory system mediates H_2 sensing in *Alcaligenes eutrophus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 12474–12479
- [12] **Hoch, J. A. and Silhavy, T. J.:** Two-Component Signal Transduction. *American Society for Microbiology, Washington D. C.*, 1995
- [13] **Friedrich, B. and Schwartz, E. (1993):** Molecular biology of hydrogen utilization in aerobic chemolithotrophs. *Annu. Rev. Microbiol.* 47: 351–383
- [14] **Kleihues, L., Lenz, O., Bernhard, M., Buhrke, T. and Friedrich, B. (2000):** The H_2 sensor of *Ralstonia eutropha* is a member of the subclass of regulatory [NiFe]-hydrogenases. *J. Bacteriol.* 182: 2716–2724
- [15] **Vignais, P. M., Dimon, B., Zorin, N. A., Tomiyama, M. and Colbeau A. (2000):** Characterization of the hydrogen-deuterium exchange activities of the energy-transducing HupSL hydrogenase and H_2 -signaling HupUV hydrogenase in *Rhodobacter capsulatus*. *J. Bacteriol.* 182: 5997–6004
- [16] **Bernhard, M., Buhrke, T., Bleijlevens, B., De Lacey, A. L., Fernandez, V. M., Albracht, S. P. J. and Friedrich, B. (2001):** The H_2 sensor of *Ralstonia eutropha*. Biochemical characteristics, spectroscopic properties, and its interaction with a histidine protein kinase. *J. Biol. Chem.* 276: 15592–15597
- [17] **Buhrke, T., Bleijlevens, B., Albracht, S. P. J. and Friedrich, B. (2001):** Involvement of the *hyp* gene products in the maturation of the H_2 -sensing [NiFe] hydrogenase of *Ralstonia eutropha*. *J. Bacteriol.* 183: in press
- [18] **Taylor, B. L. and Zhulin, I. B. (1999):** PAS domains: internal sensors of oxygen, redox potential, and light. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63: 479–506

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Bärbel Friedrich
Dr. Oliver Lenz
Humboldt-Universität zu Berlin
Institut für Biologie/Mikrobiologie
Chausseestr. 117
D-10115 Berlin
Tel.: (030) 2093 8101
Fax: (030) 2093 8102
eMail: baerbel.friedrich@rz.hu-berlin.de