



### Falk Hillmann

Jahrgang 1979. Biologiestudium an der Universität Rostock; dort 2005–2009 Doktorarbeit bei Prof. Dr. Bahl. 2006 FEMS Short Term Fellowship am INSA in Toulouse, Frankreich. Seit 2009 Postdoc (DAAD-Stipendium) bei Prof. Dr. Pugsley am Institut Pasteur, Paris, Frankreich.

## VAAM-Promotionspreis 2010

# Aerotoleranz ohne Katalase und Superoxid-Dismutase

FALK HILLMANN

MOLECULAR GENETICS UNIT, DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY, INSTITUT PASTEUR, PARIS, FRANKREICH

■ Auch wenn die molekularen Ursachen anaeroben Lebens lange Zeit kaum bekannt waren, schien diesen Organismen zumindest eine Eigenschaft gemein zu sein: Während Aerobier und Aerotolerante reaktive Sauerstoffspezies durch Katalase und Superoxid-Dismutase entgiften können, sind diese Enzymaktivitäten in Anaerobiern kaum oder gar nicht nachweisbar. Erst die Entdeckung der Superoxid-Reduktase in einem hyperthermophilen Archaeon ließ vermuten, dass Anaerobier möglicherweise alternative Systeme zur oxidativen Stressabwehr besitzen [1].

Aufgrund ihrer Bedeutung in Biotechnologie und Medizin gelten Clostridien als vergleichsweise gut beschriebene und klassische Anaerobier. So war bekannt, dass *Clostridium acetobutylicum* Wachstum und Gärungsstoffwechsel an der Luft sofort einstellt. Erst genauere Untersuchungen zeigten, dass es bereits unmittelbar nach Luftzufuhr zu einer massiven Synthese des oxidativen Stressproteins Rubrerythrin kommt. Von besonderem Interesse war neben der Funktion dieser Rubrerythrine, wie die Expression der entsprechenden Gene in Gegenwart von Sauerstoff ( $O_2$ ) reguliert ist. Eine Analyse der Promotorregion offenbarte eine DNA-Sequenz mit Ähnlichkeiten zur Bindestelle des Peroxid-Repressors PerR aus *Bacillus subtilis*. Im

Genom von *C. acetobutylicum* wurden *perR*-ähnliche Gene identifiziert, und die Deletion eines dieser Gene führte zur Überexpression der Rubrerythrine [2]. Weit aus überraschender war jedoch der Phänotyp dieser Deletionsmutante. Im Gegensatz zum Wildtyp konnten Zellen ohne PerR ihr Wachstum an der Luft beibehalten (Abb. 1). Ähnlich aerotolerant zeigte sich die *perR*-Mutante auch in  $O_2$ -gesättigten Flüssigkulturen, wo sie zunächst weiter wuchs und mehrere Stunden überlebte, während der Wildtyp innerhalb von 30 Minuten starb. Gleichzeitig verbrauchten die Zellen der Mutante Sauerstoff ( $O_2$ ) mit einer Rate, die sonst nur aus aeroben Organismen bekannt war. Auch gegenüber Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) war die Mutante unempfindlicher. So konnten in Zelltrakten hohe Aktivitäten für eine NADH-abhängige Entgiftung von Peroxiden gemessen werden. Diese Ergebnisse beweisen, dass Anaerobier eine oxidative Stressabwehr besitzen, die aber im Gegensatz zu aeroben Organismen auf Reduktion statt auf Dismutation basiert [2].

Eine weitere Frage war, welche Enzyme in Anaerobiern an der Reduktion reaktiver Sauerstoffspezies beteiligt sind. Einen ersten Hinweis lieferten weitere PerR-Bindestellen vor Genen, deren Proteinprodukte als Komponenten eines reduktiven Entgiftungssystems

charakterisiert werden konnten. Dabei wird NADH oxidiert, und Elektronen werden über Rubredoxin und die terminalen Reduktasen auf  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  und  $O_2$  übertragen [3]. Transkriptom-Analysen bestätigten die  $O_2$ -abhängige, PerR-regulierte Expression dieses Systems und ließen erkennen, dass neben einer Beseitigung der Schadensquellen noch weitere Mechanismen zur Aerotoleranz beitragen [4]. Zukünftige Experimente sollten klären, wie das reduktive Entgiftungssystem an den anaeroben Energiestoffwechsel gebunden ist und welche physiologischen Konsequenzen sich aus einer Verwendung von Sauerstoff als alternativem Elektronenakzeptor ergeben. ■

### Literatur

- [1] Jenney FE Jr, Verhagen MF, Cui X et al. (1999) Anaerobic microbes: oxygen detoxification without superoxide dismutase. *Science* 286:306–309
- [2] Hillmann F, Fischer RJ, Saint-Prix F et al. (2008) PerR acts as a switch for oxygen tolerance in the strict anaerobe *Clostridium acetobutylicum*. *Mol Microbiol* 68:848–860
- [3] Riebe O, Fischer RJ, Wampler DA et al. (2009) Pathway for  $H_2O_2$  and  $O_2$  detoxification in *Clostridium acetobutylicum*. *Microbiol* 155:16–24
- [4] Hillmann F, Döring C, Riebe O et al. (2009) The role of PerR in  $O_2$ -affected gene expression of *Clostridium acetobutylicum*. *J Bacteriol* 191:6082–6093

### Korrespondenzadresse:

Dr. Falk Hillmann  
Molecular Genetics Unit  
Department of Microbiology  
Institut Pasteur  
25, rue du docteur Roux  
F-75724 Paris cedex 15  
Tel.: +33-(0)140-61-3685  
Fax: +33-(0)145-68-8960  
hillmann@pasteur.fr

Die VAAM dankt den Sponsoren der VAAM-Promotionspreise 2010:

- BASF
- Sanofi-Aventis
- Bayer Schering Pharma
- New England Biolabs
- Evonik Industries



▲ Abb. 1: Koloniewachstum von *Clostridium acetobutylicum* mit fehlendem *perR*-Gen an der Luft über einen Zeitraum von 40 Tagen. Die kleineren Bilder zeigen gleich behandelte Kolonien des Wildtyps.