

**VU extremofile microorganismen**

gehalten von  
dr. Helga Stan-Lotter  
und  
dr. Christian Radax

**Inhalt**

<b>kapitel</b>	<b>seite</b>
<b>teil 1 (Stan-Lotter)</b>	
allgemeiner inhalt der VU.....	2
grundlagen der mikrobiologie.....	2
1.1 einteilung der zellreiche.....	3
1.2 erdgeschichtliche entwicklung.....	4
1.3 zell-bestandteile.....	4
1.4 Archaea-bakterielle konzepte.....	6
1.5 abiotische umweltsfaktoren.....	8
1.6 thermofile organismen.....	9
1.7 extrem halofile mikroorganismen.....	10
1.8 acidofile mikroorganismen.....	10
1.9 psychro-/kryofile mikroorganismen.....	11
1.10 baro-/piezophile mikroorganismen.....	11
1.11 strahlungsresistente mikroorganismen.....	11
1.12 ologotrofile mikroorganismen .....	12
1.13 ultramicro- / nanobakterien.....	12
1.14 schadstoff-resistente mikroorganismen.....	12
molekulare eigenschaften von extremofilen.....	13
eigenschaften von thermofilen mikroorganismen.....	15
ernahrungsweise von (hyper-)thermofilen.....	16
<b>teil 2 (Radax)</b>	
allgemeine einteilung der halofilen mikroorganismen.....	17
2.1 wasser und wasseraktivitat.....	17
2.2 saline und hypersaline biotope.....	18
2.3 organismen solcher biotope.....	18
2.4 schutz vor austrocknung mithilfe von osmotika.....	18
2.5 anpassung halofiler proteine.....	20
2.6 ausschalten der konkurrenz.....	21
2.7 schutz vor fotooxidation.....	21
2.8 halobakterielle fotoenergetik.....	21
2.9 halobakterielle fotosensorik.....	21
zusammenfassung (teil 2).....	22

**Extremofile:** organismen können aus sonderbiotopen, ausgefallenen lebensräumen (unusual biotopes) gewonnen werden; → *SUPERBUGS*; optimales wachstum bei extremen Bedingungen e.g. Halobakterien; die disziplin der extremophilen ist eine interdisziplinäre wissenschaft.

**Bakterien:** einzellen (max. bis zellaggregate) nie als metazoa; dimensionen 1-2 µm. → bakteriofagen (viren) sind viel kleiner als die bakterien.

#### Programme der VU:

- grundlagen der mikrobiologie
- erdgeschichte und entwicklung des lebens
- zellbestandteile (stabilität unter extreme bedingungen)
- archaeobakterielle konzepte
- abiotische faktoren (fysikalische, chemische parameter)
- thermofile
- halofile
- psychrofile
- piezofile (barofile)
- oligofile
- strahlen & schadstoffresistente organismen
- taxonomie / klassifizierung
- biochemie

#### Übungsteil:

- isolate aus extremen umweltsproben
- anaerobe /aerobe bedingungen
- S° verwerter
- halofile nanobakter
- fluoreszenz-mikroskopie

### Teil 1 Grundlagen der mikrobiologie

**Charakterisierung der zelle** (d. lebens): membran (+wand) grenzt aussenwelt von cytosol / cytoplasma;  
organismen mit zellkern: *Eukaryota* (besitzen einen nucleus);  
organismen ohne zellkern: *Prokaryota* (besitzen einen nukleoid) monomoleküle im cytoplasma:

Bild (s.2) Brock s.111	Nährstoffe, und metaboliten, proteine, nucleinsäuren, polysaccharide, lipide; der ganze stoffwechsel einer bakterie spielt sich nicht nur in der zelle sondern auch extrazellulär ab;
Bild (s.2)	vermehrung durch zellteilung (growth via cloning) differentiation → sporenbildung
Bild (s.2)	signaling (communication) zwischen benachbarte zellen via chemischer signale i.e. botenstoffe
Bild (s.2)	anhand von stammbäume lässt sich die evolutive linie von alten bishin zu recenten arten in direkten bezug stellen; die evolution beeinflusst in positiver / negativer weise die FITNESS, wobei die natur wiederum selektiert.

**1.1 Einteilung** der zellen nach pflanzen (Plantae), tieren (Animalia) und protisten (Protista = mikroorganismen).

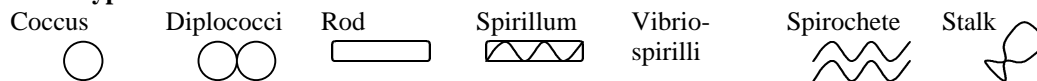
Die analyse von nucleinsäure-sequenzen erlauben die genaueste einteilung → dabei entdeckte man die "Archaeobakteria", die sich von den bakterien eindeutig durch deren nucleinsäure-sequenz abgrenzen.

Bild (s.3)

**Subzelluläre bestandteile** lassen sich nur mit elektronenmikroskopische methoden erkennen.

- Cytoplasma wird von den membran abgegrenzt, diese wiederum grenzt die zelle nach aussen hin durch eine zellwand und eventuell einer membran; fimbrien (externe geisseln) und flagella (Gk. geisseln);
- Nucleioid (DNA der bakterien);
- Plasmid ist eine ringförmige DNA die kleiner als das nukleoid ist;
- Inclusions (speicherstoffe wie FB acid);
- Ribosomen in grösserer anzahl ( $20\text{-}50\cdot E^3$  stück);

**Morfotypen:**



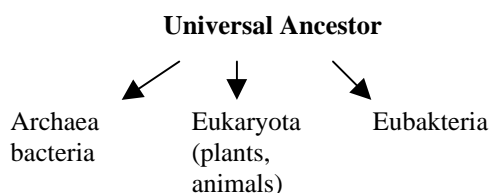
Ad stalk: budding und appendaged bakterien; z.b. süsswasser-arten wie *Caulobacteria*.

**Vermehrungsmodi:** wird durch eine 2-teilung die bis in kettenbildungen ausarten können (teilungsebenen sind spezifisch); bei der stafylusteilung (traubenaggregation) kommt es durch zufällig verteilte teilungs ebenen zu einer "konglomeration" einer anhäuffung der zellen; so können bei *Sarcina* sowohl cluster von tetraden, als auch octaden vorkommen bild (s.3)

**Zellgrößen:** organellen, wie mitochondrien, chloroplasten, lysozyme, thylakoid-stapel (fotosynthetische strukturen) gibt es nur bei Eukaryota; Prokaryota kennen keine organellen.

- **Eukaryotische** zellen sind  $\approx 20 - 100 \mu\text{m}$  gross; das genetische material ist im zellkern vom cytoplasma abgegrenzt; Eukaryota teilen sich per mitose;
- **Prokaryota** sind nur  $1\text{-}2 \mu\text{m}$  gross (Faktor  $10\text{-}100$  kleiner); hier enthält der nucleus das genetische material in form von chromosomen - keine scharfe Abgrenzung vom cytoplasma; prokaryota kennen keine mitose!

Bild s.4

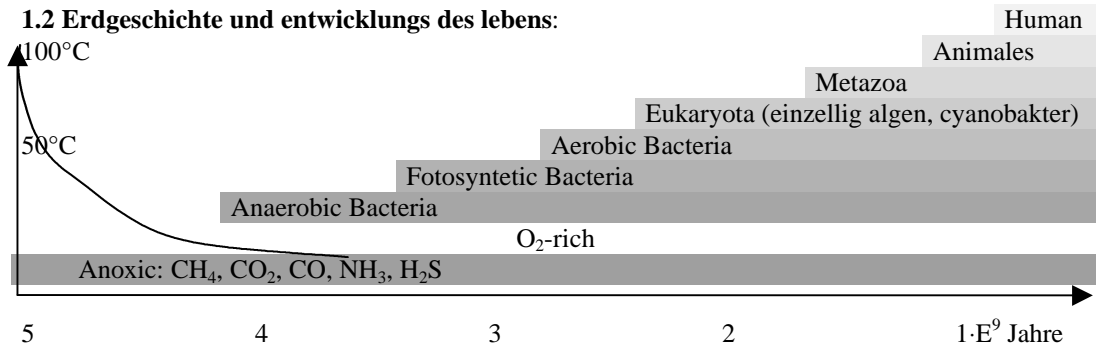


- der **menschliche körper** setzt sich aus  $\approx 1\cdot E^{13}$  eukaryotischen zellen zusammen;
- die im menschlichen organismus vorkommende normalflora umfasst  $\approx 1\cdot E^{14}$  Prokaryota (mund, GIT, magen, urogenital-trakt);  
der **magen-darm**-trakt (GIT) umfasst ca.  $1\cdot E^9\text{-}1\cdot E^{10}$  Bakterien /g darminhalt!
- im **urogenital-trakt** .....

Die einzigen bakterienfreien kompartimente im körper (steril) sind nur die lymfe, das blut, und das cytosol der menschliche zellen.

Durch die im körper vorherrschenden idealen bedingungen von  $37^\circ\text{C}$ , neutral pH gehen viele bakterien symbiosen ein bzw. betätigen sich als schmarotzer.

**1.2 Erdgeschichte und entwicklungs des lebens:**



Der abstand von der sonne zur erde, ist gerade so ideal dass das H<sub>2</sub>O in flüssiger form vorkommt, das vorhandensein von lebensformen geht aber auch auf die O<sub>2</sub>-produktion der Cyanobakteria zurück.

**1979** wurde die **GAIA hypothese** publiziert; dabei geht man davon aus das die erde selbst ein superorganismus ist der zur selbstregulierung befähigt ist (i.e. für leben günstige chemisch-fysikalische bedingungen); ein vergleich zu unseren nachbarplaneten soll dies weiter verdeutlichen:

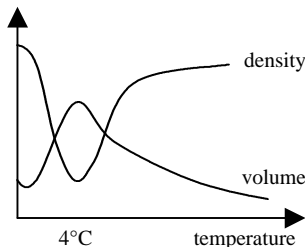
	Mars [%]	Venus [%]	w/o Life [%]	w/ Life [%]
CO <sub>2</sub>	95	98	98	0,03
N <sub>2</sub>	2,7	1,9	1,9	79
O <sub>2</sub>	0,13	Trace	Trace	21
T <sub>surface</sub> [°C]	-53	+477	290 +/- 50	13 (ausschliesslich durch μ-orgs!)

**1.3. Zell-bestandteile** (chemical components of a bacterial cell)

molecule	weight [%]	different kinds
H <sub>2</sub> O	70	1
Total macro's (proteins, lipids, RNA, DNA)	26	≈2800
Total monomers	3	≈350
Inorganic ions	1	18

**Wasser:** unter normalen bedingungen spielt sich das leben zw. 0-100°C ab (nicht immer); H<sub>2</sub>O ist elektrisch neutral, besitzt jedoch ladungssymmetrie und ist deshalb ein gutes lösungsmittel; theoretisch müsste wasser bei 70°C sieden und bei -100°C gefrieren; praktisch siedet bzw. gefriert wasser durch die H-bonds bei 0°C bzw. +100°C;

Bild s.6



"+" polarisierte H und "-" polarisierte O im wassermolekül sorgen für die ausbildung der H-bonds; weiters verändert wasser seine dichte mit der temperatur; i.e. +4°C kaltes wasser ist am schwersten; da man annimmt das leben im flüssigmedium entstanden ist, gilt grob dieser temperaturbereich.

**Macromolecule** die in Prokaryota vorkommen:

**Kohlenhydrate:** polysaccharide C:H:O = 1:2:1; glucose (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>); ribose; deoxiribose; hexose (in form von glucose und fructose).

**Glycosidic bonds** sind verbindungen die aus einem monomer ein polymere machen; im zuge dieser reaktion wird H<sub>2</sub>O abgespaltet (freigesetzt).

Das endprodukt dieser reaktion kann in 3 verschiedenen variationen vorliegen (Brock p40/25):

- **a 1,4** - stärke zerfällt (hydratisiert) bei höheren pH → durch H<sub>2</sub>O-anlagerung zerfällt es in die monomeren bestandteile;
- **a 1,6** - glycogen weist neben dieses bindungstypes zwischen den monomeren auch jenen der α1,4 auf;
- **b 1,4** - jener bindungstyp der bei der zellulose vorkommt; zellulose hydratisiert bei niedrige pH;

**Lipide, fatty acids (FA):** diese makromoleküle weisen einen hydrophilen und einen hydrophoben anteil auf; der hydrophile anteil wird durch die carboxylgruppe, der hydrophobe durch die C-H kette gebildet;

- **bei gesättigten** (saturated FA) liegen die -C-C-C-C- bonds als einfachbindungen vor (kein H kann andocken);
- **bei ungesättigten** (unsaturated FA) kommen zwischendurch auch -C=C-C- doppelbindungen vor (i.e. ein H-atom weniger);

Triglyceride sind mit glycerol veresterte FA;

Fosfolipide sind mit zucker und alkohol veresterte FA;

Glycolipide sind mit glucose veresterte FA.

**Nucleotide:** sind derivate von ringmolekülen wie ribose oder deoxiribose zucker; sie spielen eine rolle als Co-faktoren und AMP (**adenosine monofosfat**) und stellen die basen-bestandteile C,T,U,A,G der DNA bzw. RNA; die halbwertszeit von ATP bei 100°C beträgt nur wenige minuten!

- **DNA:** dieses makromelekül besteht aus einem doppelstrang der per H-bonds zusammengehalten wird; d.h. die stehenden DNA-stränge sind zueinander komplementär:  
A=T (zusammenhalt durch 2 H-bonds)  
G≡C (zusammenhalt durch 3 H-bonds)

**Das schmelzen** (aufspaltung in deren einzelstränge) der DNA ist daher vom G≡C verhältnis abhängig; je höher der G≡C anteil desto höher ist die dazu erforderliche schmelztemperatur.

**Mesophile organismen** weisen einen geringeren G≡C gehalt als thermofile auf (dsDNA = double stranded DNA, ssRNA = single stranded RNA);  
viren haben dsRNA (double stranded tRNA)

- **Aminosäuren (AA)** eine peptid-bindung entsteht durch H<sub>2</sub>O-bspaltung → ist für proteine charakteristisch. Die chemischen eigenschaften werden durch ihre seitenketten bestimmt; z.b. ionisierbar (sauer), ionisierbar (basisch); nicht-ionisierbar (hydrophile), n-ionisierbar (hydrophobe). haare, leder, eiweiss, wolle geben die vielfalt der proteineigenschaften wieder;

**Die AA-sequenz**

- Primärstruktur** (abfolge der AS in der kette);
- Sekundärstruktur** ( $\alpha$ -helix, oder  $\beta$ -faltblatt) sind durch H-bonds stabilisiert;  $\beta$ -loops (haarnadel = U-turn um 180° wird durch glycine hervorgerufen);
- Tertiärstruktur** beschreibt die räumliche anordnung einer kette von  $\alpha$ -helix und  $\beta$ -faltblatt;
- Quartärstruktur** ist die komplexe anordnung mehrere  $\alpha$ - $\beta$ -ketten (mehrerer tertiärstrukturen); e.g. hämoglobin besteht aus 2 $\alpha$ , 2 $\beta$ -ketten, i.e. 4 einzelne tertiärstrukturen;

der zusammenhalt in einem protein wird durch Van de Waals-kräfte gewährleistet; die proteindenaturierung erfolgt meist bei hohe T; stärkeren pH-änderungen; eine denaturierung lässt die AS-abfolge (AS-sequenz) unverändert - es geht nur die faltung und damit die funktion des proteins verloren.

#### 1.4. Archaeobakterielle konzepte

Die **Prokaryota** teilen sich in zwei verschiedene taxa auf:

**Archaeobakteria** (Archaea) → ohne zellkerne, organellen, etc.

**Eubakteria** (Bacteria) → ohne zellkerne, organellen, etc.

Beide sind phylogenetisch nicht einheitlich; anhand genauerer untersuchungen der nucleinsäuresequenzen von *E.coli* (1977) konnte man das taxon der einzeller in genau 3 grossgruppen aufteilen; erst ab diesen zeitpunkt spricht man von EU-bakterien, ARCHAEA-bakterien, und EUKARYOTA;

**Microfossilien** die  $\approx 3 \cdot E^9$  Jahre alt sind (wie man sie in den stromatolithen vor Australien findet) lieferten die ersten hinweise; microorganismen-gemeinschaft die  $CaCO_3$  präzipitieren sehen wie Cyanobakteria aus und haben eine kettenförmige morfologie (frage: gibt's am Mars leben so wie es die microfossilien von ALH 84001 weiss machen möchten?)  
Das zellgeschichtliche erbe liegt in den genen einer jeden zelle; jedes heutige gen ist eine mehr oder weniger genaue kopie eines solchen ursprungsgen das über millionen von jahren mutierte (leicht verändert); stimmt eine solche gensequenz von organismus A mit jener von organismus B hochgradig überein, so spricht man von **HOMOLOGIE**.  
Man schreibt daher solchen genen (wie jenen der AS-sequenz oder der nukleotidsequenz) eine **chronometrische funktion** zu.

Bsp: A : B  $\Rightarrow$  3 unterschiede, so ist B näher zu A verwandt als zu C!

A : C  $\Rightarrow$  10 unterschiede, so ist A näher zu C verwandt!

daher müssen solche **chronometergene** folgende eigenschaften aufweisen:

sollen universell vorkommen;

sollen funktionell gleich sein (funktionelle konstanz);

sollen einen hohen informationsgehalt haben;

solche voraussetzungen treffen auf die nucleinsäuren wie der rRNA zu;

deren vergleich zueinander erlaubt es stammbäume zu bilden (erfordert grosse artensequenzierung); anhand der cytochrom "C" stammbäume liessen sich Eukaryota genau einordnen; bei Eubakteria und Archae bedient man sich hingegen der proteine des syntheseapparats (z.b. rRNA, ribosomale proteine), denn eine bakterienzelle hat genug kopien davon  $10 \cdot E^3 - 20 \cdot E^3$  ribosomen.

ribosome in prokaryota	ribosome in eukaryota
23 S	28S
16 S	18S
5S	5S oder 5,8S

Das **16S ribosom der prokaryota** hat  $\approx 1500$  nukleotide (bausteine); durch zerlegung der rRNA in fragmente (oligonucleotide) hat sich gezeigt das gewisse oligonucleotid-sequenzen nur bei Archaea vorkommen, nicht aber in Eukaryota oder Eubakteria, bzw. umgekehrt.

z.B. oligonucleotid-sequenz zw. 40:83 hat sich als zeitlich sehr stabil gezeigt;

**Signatur-sequenzen** - molecular fingerprinting anhand des  $S_{AB}$ -wert; (S = similarity coefficient):

$$S_{AB} = \frac{\Sigma \text{ der nucleotide der A\&B gemeinsamen oligomeren}}{\Sigma \text{ der nucleotide aller oligomeren von A\&B}}$$

ist  $S_{AB} = 1$ , so entspricht das einer 100%igen identität;

ein  $S_{AB} < 0,02$  entspricht nur 2%igen identität;

**Extremofile biotope:** website bei T.D. Brock: <http://www.bact.wisc.edu/bact303/b27>

Life at High Temperature - Yellow Stone National Park, (Wyoming - USA) liegt in  $\approx 100$  m seehöhe; das vorhandensein dieser mikroorganismen lässt sich anhand der sedimentfärbung erkennen  $\rightarrow$  (siehe auch heisse quellen )"West Thumb Geyser Basin"  $\rightarrow$  Bacteria in boiling water; Boulder Spring in the lower Geyser basin.

Bild s.11



Versuchsaufbau: ein objektträger wird für mehrere tage in die heisse quelle getaucht; nach tagen setzt sich eine matte von bakterien auf das glatte substrat; dieser belag lässt sich im Mikroskop weiter untersuchen;

(kopie) Summarisch einige **klassische biotope von extremophilen organismen** die wie *Thermos aquaticus* hitzestabile TAQ (Thermo aquaticus) DNA-polymerase auf weist.

- **Sulfataren felder:** aus S-haltige "heissen" schlammlöchern wurden *Thermoproteus*-organismen isoliert; S-haltige quellen mit  $\text{pH} \geq 1$  enthalten das archaeobakterium *Sulfolobus*, ein irregulär geformtes lappiges ding das thermo-acidofil ist; desintegriert bei einem pH um 5.
- **Prismaquelle** - der grösste geysier enthält unter anderen auch thermo-acidophile Cyanobakteria die chlorofyll und karoteinoide enthalten.
- Die auf **Island** vorkommenden schlamm-geysiere beherbergen *Pyrococcus furiosus* aber auch *Acidianus infernus*, deren lebensoptimum bei temperaturen über  $100^\circ\text{C}$  liegt!
- **Heisse vulkanische dämpfe** (engl. exhalations) die durch aufgeheizte oberflächen-gewässer verursacht werden, lassen wasser verdünsten, wodurch eine zahnpaste-ähnlicher S-haltiger schlamm zurückbleibt der für S-verwertende Archaea als substrat dient.
- **Sulfatanfelder** auf Island - S-säure tümpel m/ instabilen "begehbaren zwischenstegen".
- **Black smoker** (marine unterwasser-schlote) in 2-3 km tiefe, wo die kontinentalen platten zusammentreffen (sich über einander schieben bzw. auseinanderreißen) sind ebenso günstige biotope dieser extremophilen organismen; wasser das in ritzen eindringt wird durch die heisse magma aufgeheizt; dabei löst das wasser  $\text{H}_2\text{S}$  und mineralien aus dem gestein; letztere präzipitieren aus wenn sie in kontakt mit dem kalten meerwasser kommen - führt zur schlotbildung; der in diesen tiefen vorherrschende grosse druck bedingt dass wasser erst ab  $\approx 450^\circ\text{C}$  zu kochen beginnt, wobei die plumes eine temperatur von  $250^\circ\text{C}$ - $350^\circ\text{C}$  erreichen; hier können nur extreme **thermo-barofile** (besser thermo-piezofile) Archaea überleben; black smokers werden nicht sehr alt ( $\approx 10$ - $30$  Jahre); dafür tauchen anderswo wieder neue auf; neben Archaea, findet man in diesen tiefen auch invertebraten wie röhrenwürmer, blinde krabben etc. die die nahrungskette bis zum toppredator aufbauen; diese ökosysteme kommen gänzlich ohne sonnenlicht und daher ohne fotosynthese aus - die nahrungskette wird ausschliesslich durch die aktivität der archaealen primärproduktion gedeckt (autotrofe sulfid-oxidierende bakterien).
- **Kohlen-abfallhalde;** im kohleabbau fallen kohlefragmete wie pyrite (Fe-haltig) und organisches material an; häufig kommt es in diesen abraumhalden zur selbentzündung mit der folge von schwelbränden; in den toxischen abgasströmen siedeln sich bevorzugt Archae der gattung *Thermoplasma* an (thermofiles Archeobakterium das keine zellwand besitzt); da derlei kohlebiotope einen antropogenen lebensraum darstellen, geht man davon aus dass der organismus schon in der kohle eingeschlossen war;
- In den **flachlagunen** um **San Francisco**- wo aus meerwasser salz gewonnen wird, lassen sich ebenso extreme halofile Archaeas aufstöbern; sie zeichnen verantwortlich für die auffällig rote farbe; neben den Archaea kommen aber auch salztolerante algen vor; bei steigender salzkonzentration zersetzen sich diese algen wovon sich in weiterer folge die halophilen Archaea ernähren; bei salzkonzentrationen um 3-4 molar überleben nur noch halobakterien der gattung *Halococcus*; salzlagunen gibt es weiters auch in Uganda, wo ebenso diese gattung vorkommt.
- Das **Tote Meer** (Dead Sea) beherbergt halobakteria; die salzseen in Afrika's die zu der hohen NaCl konzentration auch noch einen hohen carbonategehalt aufweisen (carbonate lakes) haben pH-werte zwischen 10-11; es sind die lebensräume der natronobakterien (intensiver pigmentierung).

**Holobakterien** kommen also überall dort vor wo auch NaCl vorkommt i.e. werden in die salzkristalle eingeschlossen; z.b. so sind sie auch im salzbergwerk bei Bad Ischl zu finden.

Es gibt folgende **hauptgruppen unter den Archaea**:

- die halophilen
- die thermo und thermo-acidophilen
- die methanophilen

Letztere sind **strikt anaerob** (wachsen unter O<sub>2</sub> einfluss überhaupt nicht);

vorkommen: in tümpel, seen, allgemein in jedem stagnierenden gewässern; aber auch im GIT von insekten (terminen haben diese im hindgut), menschen, und pansenmagen von rindern;

**methanofile bakterien** besitzen **coenzyme** die im UV-spektrum fluoreszieren (UV bestrahlung resultiert in emission von sichtbarem licht); dadurch lassen sich methan-verwertende bakterien relativ leicht aufspüren.

Ein besonderer lebensraum dieser Archaea ist in der antarktis zu finden; dort gibt es einen vom ewigen eis bedeckten See dessen ökologie nur aus diesen autotrofen organismen gespeist wird. Die ökologie beschreibt diese speziellen habitate und biotope (ökologie, Gr. *oikos*, hualshalt, wohnung) und beschreibt die beziehungen der organismen untereinander sowie deren interaktion mit ihrer umwelt; dabei stellen die organismen die biotische bzw. die nichtbelebte die abiotische komponente des ökosystems dar;

insbesondere stellen diesbezüglich die stoff-kreisläufe einen wichtigen stützpfiler dar.

Da die zusammensetzung der biosfäre wesentlich durch microorganismen bestimmt ist schliessen **stoff-kreisläufe** folgende prozesse mit ein:

- verderben von lebensmittel,
- korrosion von aufbereiteten materialien (oxidation),
- in der agrarindustrie die verwertung von dünger (N<sub>2</sub>-fixierung),

der **mensch** beeinflusst diese kreisläufe, ja kann sie sogar stören indem er

- vermehrt abfallstoffe, xenobiotica (= chemicalien die nicht biodegradable sind) zuführt und
- die eutrofierung von gewässer vorantreibt

**abhilfe**: durch den einsatz von microorganismen in der landwirtschaft als düngerersatz können gegenwärtige trends verlangsamt bzw. teilweise revidiert werden:

- GM-bacteria (genetically modified) können xenobiotica dekompostieren;
- biologische schädlingsbekämpfung durch microorganismen;
- produktion von lebensmittel, arzneimittel, futterstoffe, etc. werden bereits durch GM-microorganismen gemacht werden;

derlei eingriffe bedingen aber eine grössere akzeptanz der **genetically modified organisms**;

**1.5 Abiotische umwelfaktoren**: wirken meist wachstumsfördernd bzw. begrenzend; so postulierte Justus v. Liebig das "Liebig'sche gesetz von minimum":

d.h. biomassen-produktion ist von nährstoff-angebot abhängig welches in die geringsten konzentration vorliegt. i.e. eine ertragssteigerung ist in der landwirtschaft nur dann möglich wenn z.b. ein P-mangel behoben wird - nicht durch zusätzliche N-düngung.

**Fysikalische / chemische faktoren** wie temperatur, salinität, redox potential, etc. spielen mit hinein; das bedeutet das die überlebensfähigkeit eines organismus durch diese abiotischen faktoren vorbestimmt sind die innerhalb eine toleranzbereiches liegen müssen (Shelford'sches gesetz der toleranz, 1913). Das interaktive zusammenspiel von abiotischen faktoren beeinflusst zudem noch die einzelnen toleranzbereiche; so kann ein leicht veränderter pH wert die temperatur-toleranz herabsetzen bzw. steigern;

in der ökologie gibt man derlei toleranzbereiche durch entsprechende vorsilben an:

- *eur*- weiter toleranzbereich;
- *steno*- enger;
- *fil* - liebend;

#### Physical/chemical limit for microbial activity

Factor	Lower tolerance	Upper tolerance
T [°C]	-12 (pschrophile)	> 110 (S-reducing bacteria, barophile, in deep ocean)
pH	0 ( <i>Thiobacillus</i> , <i>Thiooxidans</i> <i>Picopfillus</i> sp.)	13 ( <i>Cyanobacter</i> , <i>Plectonema</i> )
Salinity	0 (drinking H <sub>2</sub> O)	Saturated ( <i>Dunatiella</i> algae, obligate halofile Archaea)
Redox potential	-450 mV (anaerobe, methanogenic)	+850 mV (Fe-oxid.bacter)
Hydrostatic pressure	0 (Atm) varios microorganismen	1400 ATM piezofile, Archaea
Ionization radiation	Low background radiation wie cosmic, rad varios microorgas.)	0,3-0,4 Mrad endospores 1-3 Mrad ( <i>Deinococcus</i> sp)



**1.6. Thermophile organismen** sind lebewesen welche bei hohen temperaturen wachsen können (is organismen spezifisch):

**Upper temperature limits for growth [°C]**

Animals	fish	38
	insects	45-50
Plants	vascular plants	45
	mosses	50
Eukaryotic microorganism	protozoa	56
	algae	55-60
Prokaryotik microorganismen	fungi	60-62
	Cyanobacteria	55-70
Other eubacteria	Purple bacteria	55-60
	Green bacteria	70-73
Archaea	Gram -	50-75
	Gram +	50-75
	<i>Thermus</i> sp	85
	<i>Thermotoga</i> mar.	90
	<i>Thermoplasma</i>	65
	<i>Methanobacteria</i>	75
	<i>Methanothermus</i>	97
	<i>Sulfolobus</i>	87
	<i>Acidianus</i>	95
	<i>Pyrococcus</i>	103
<i>Pyrodictium</i>	110 (113)	

**Thermophile lebewesen** können nahe oder bei der höchsten temperaturgrenze auf der basis seiner taxonomischen gruppenzugehörigkeit leben (fylogeny of living organismen; thermophilie ist eine polyfyletische eigenschaft; diese eigenschaft tritt daher in diversen fyla in erscheinung);

Anmerkung zum begriff **taxon**: es ist die künstliche einleitung aufgrund fenotypischer merkmale; ein fylum (Gr. stamm) unterteilt sich nach genetischen merkmalen → dies ist heute durch robosomale untersuchungen sehr genau möglich.

**Grenze der thermophilie** bezogen auf ökologische grundlagen, liegt zw. 50-60°C; bei direkter sonneneinstrahlung um werte von 55°C;

in biotopen die über 55°C liegen, handelt es sich meist um aktivitäten geothermalen ursprungs;

**Extrem thermophile biotope** sind umgebungen mit geringen artenvariation und zeichnen sich durch das fehlen mancher taxonomischer gruppen aus (definition laut T.D.Brock).

**Biotop geysier**: thermophile organismen lassen sich in geothermalen strömungszonen in denen temperaturen von über 55°C erreicht werden, aufstößern;

Bild s.18

das **magma** erwärmt eingetretenes sickerwasser; an der oberfläche entweicht das aufgeheizte, aufströmende wasser durch den geringeren atmosphärischen druck schlagartig - dieser prozess wiederholt sich präzise alle 86 min;

das aufsteigende H<sub>2</sub>O löst mineralien; für die microorganismen sind jedoch die gelösten CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, CH<sub>4</sub>, ammoniak, und spurenelemente relevant. Ähnliches ist bei Fumarole (Italien) zu beobachten; hier verursacht das kontinuierlich aufsteigende H<sub>2</sub>O einen dauernden abdampfungsprozess.

Die pH-werte von geysieren liegen normalerweise bei 7-8; ist jedoch H<sub>2</sub>S vorhanden so erhöht sich durch die aktivität der S-oxidierenden Archaea die protonenkonzentration, wodurch letztlich H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gebildet wird.

**Biotop black smokers**: dabei dringt meerwasser in gesteinspalten und wird durch das darunterliegende magma stark aufgeheizt; dabei gehen wiederum mineralien und H<sub>2</sub>S in lösung; da es sich um salzwasser handelt (ist reaktionsfreudiger) löst es bei den hohen druck und temperaturbedingungen wesentlich mehr mineralien; die ausgestossene H<sub>2</sub>S ist wiederum grundlage für S-verwertende Archaea. Vor Italien gibt's es marine sulfatanfelder die nur 2-10 m unter dem meerespiegel liegen; hier liegen die temperaturen bei ≈ 103°C (referenzen bei Karl Stetter - Uni. Regensburg).

**Composition of the Environments of hyperthermophiles.**

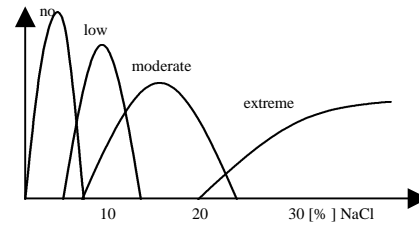
Terrestrial	Biotops	Marine
≈ 100°C	T [°C]	≈ 400°C
0,5 - 9	pH	5-8,5
<<	Salinity	≈ 3%
CO <sub>2</sub> , CO, CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S	Gases	CO <sub>2</sub> , CO, CH <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, etc.

Bild s.19

**1.7. Extrem halophile microorganismen (Archaea):** die halophile grenze ist sehr fließend, da die temperatur als fysikalischer parameter mit jener der salinität als chemischer parameter, interagiert.

**Toleranz:** die meisten verderbbaren lebensmittel sind nicht salztolerant (bestens besteht eine leichte NaCl-toleranz); die einsalzung ermöglicht daher die konservierung; *Clostridium* sp. als pathogenes bakterium ist vollig halofob!

*Pseudomonas* wachstum wird ab 5-10% NaCl gehemmt; *Micrococcus bacillus* (Gram + art) überleben zu weilen auch eine 20% NaCl konzentration.



**Bedürfnisse:** ein optimales wachstum ist dann gegeben, wenn eine gruppe die besten wachstumsbedingungen auffindet; marine microorganismen wachsen bei 4-5%iger NaCl konzentration; optimal bis mässig tolerante microorganismen findet man daher auch schon in salzböden und salzigen lebensmitteln;

meerswasser hat eine ≈ 3,5 %ige salinität; entsprechend ihrer löslichkeit fallen folgende precipitate an - im verdünstungsbecken fallen zuerst:  $\text{CaCO}_3 / \text{CaMgO}_3$

$\text{CaSO}_4$   
und zuletzt NaCl

um die NaCl möglichst rein zu erhalten pumpt man die NaCl suppe von einem ins andere becken (fraktionierung); dabei zeigt sich eine charakteristische rotfärbung (durch halophile bakterien) bzw. je nach intensität dieses rötlich schleims den reinheitsgrad der fraktion angeben → rund  $1 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$  halobacter/g NaCl sind nach im gereinigten salz vorhanden; die NASA und die ESA (astrobiologisches institut) beschäftigen sich mit diesen extremophilen organismen.

**1.8 Acidophile microorganismen** - jene bakterien die auch bei extremen pH-werten prosperieren

organismen	pH-range
Bacteria	0,9-10
Fungi	2-10
Algae	2-10
Protozoa	1,4-9,6

Die im cytoplasma der zelle vorherrschenden pH-werte um 7-7,5 indizieren dass die zellen in der lage sein müssen den internen pH zu regulieren - wie machen sie das?

**chemo-osmotischen theorie:** da ein protonen gradient notwendig ist um die lebensnotwendige energie zu extrahieren müssen solche organismen einen anderen mechanismus entwickelt haben (z.b. alkalophile microorganismen finden extrazellulär eine niedrige  $\text{H}^+$  gegenüber einer relativ dazu gesehen, hohen inneren  $\text{H}^+$  konzentration vor; sie bedienen sich dabei diverser mechanismen die noch nicht gänzlich verstanden sind;

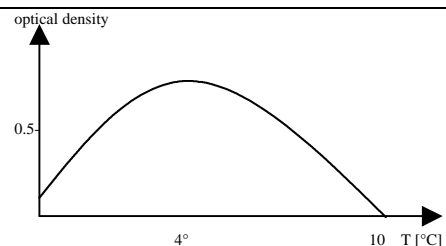
**1.9 Psychro /kryofile microorganismen** - organismen die bei extremen temperaturbedingungen leben;

Leuchtbakterien der *Pseudomonas*-arten wie *Clamydomonas nivalis* (snow algae) ist ein eukaryontischer vertreter und schafft es bei temperaturen um  $0^\circ\text{C}$  zu wachsen; bohrkernanalysen aus der antarktis zeigen microbielle-aktivität an (sowohl von prokaryota als auch von eukaryota wie z.b. diatomea).

	minimum	optimal	maximum
Psychrofile	$\leq 0^\circ\text{C}$	$\leq 10^\circ\text{C}$	$\leq 15^\circ\text{C}$
Psychrotolerante	$\leq 0^\circ\text{C}$	20 - $40^\circ\text{C}$	

Bild s.20

Growth optimum bei  $4^\circ\text{C}$  eines pschrofilen mikroorganismus; dabei ist es wesentlich das das lebensnotwendige  $\text{H}_2\text{O}$  in der flüssigphase vorhanden ist; man geht davon aus das die untere temperatur-grenze bei  $\approx 0^\circ\text{C}$  liegt.



**1.10. Baro- / piezofile** microorganismen - organismen die extremen drücken standhalten können; solche microorganismen sind zusätzlich auch psychrofil (ausnahme barofile Archaea die in black smokers leben sind nicht psychrofil).

Die grossen tiefen der ozeane sowie die meisten gebirgsketten und polarregionen stellen allerdings solche abiotischen lebensräume dar in denen die temperatur kälter als 5°C ist;

die in den grossen tiefen der ozeane vorherrschenden extremen druckverhältnisse (druck steigt mit jeden 10 m um 1 ATM) sorgen im 10,5 km tiefen **Marianen** grabens für drücke die bei  $\approx 1$  k ATM liegen!

Archaea-proben aus diesen tiefen werden mit einem **MULTI-Corer** heraufgeholt; bessere ergebnisse lassen sich aber mit langzeit-probenahmen die über wochen andauern machen;

**die biomasseaktivität der ozeane** liest sich wie folgt (%-angaben der gesamten biomassenproduktion):

0-100m tiefe  $\approx 18\%$

100-4500 m tiefe  $\approx 10\%$

in den obersten 10cm der sedimentböden ( $1 \cdot E^9 - 1 \cdot E^{16}$  Zellen /g sediment): 72%

die wenigen grossen invertebraten die sich in diesen tiefen finden beherbergen eine grosse anzahl an microorganismen; e.g. *Oneirofonta* sp.

Da diese Archaea in diesen tiefen nicht den sonnenlicht ausgesetzt sind, nimmt man an das es keine UV-bedingte mutationen gibt, d.h. deren DNA-sequenzen, neben der "ursprünglicheren" DNA-abfolge, einen anderen reparaturmechanismen besitzen.

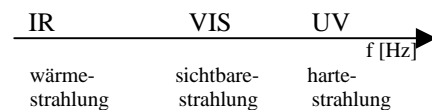
**1.11. Strahlungstolerante microorganismen** - strahlung ist der transport von energie ohne vermittelndes transport-medium; strahlung hat einen ausgangspunkt, intensität, und eine richweite;

Bild s21

je kleiner  $\lambda$  desto energiereicher die strahlung:  $E = h \cdot f$

als faustregel nimmt man die  $\lambda \leq 300$ nm grenze um zwischen ionisierende und nicht-ionisierende strahlung zu unterscheiden;

durch ionisation werden instabile ionen und freie radikale gebildet die das biologische gewebe schädigen; zu den wichtigsten radikalen die dabei entstehen, gehört das OH• radikal.



**OH-radikale** reagieren mit DNA und anderen bio-makromolekülen (proteinen, enzyme, etc.); sie bewirken unter anderem: → DNA –strangbrüche

→ komplexe chemische veränderungen

→ intermolekulare vernetzungen

→ verluste der seitengruppen in DNA, RNA, etc.

$\lambda \leq 300$  nm (**ionisierende strahlung**): bei geringen strahlendosen kommt es zu mutationen; bei höheren strahlendosen allerdings sterben die zellen durch DNA-brüche und enzyminhibition;

$\lambda > 300$  nm (**nicht ionisierende strahlung**) ist nicht durchdringend; lässt sich daher relativ leicht abschirmen, wohingegen ionisierende strahlung bis zu einem gewissen frequenzbereich organisches gewebe penetriert.

Microorganismen überstehen bestrahlung leichter als macroorganismen; so zeigte sich das im kühlwasser von AKW's gewisse stämme überleben; d.h. man muss dem kühlwasser bakteriozide hinzusetzen um die anlage nicht verschleimen zu lassen!

Dabei hat man beobachtet dass endosporen von microorganismen besonders gegen strahlung resistent sind; diesbezüglich hat *Deinococcus radiodurans* besondere berühmtheit erlangt.

**UV-strahlung:** sonnenstrahlung ermittelt ein spektrum von 1-200 nm; die einteilung nach spektren erfolgt nach praktischen gesichtspunkten: UVa: 320-400 nm

UVb: 290-320 nm

UVc: 200-290 nm (harte strahlung)

Viele organismen verwenden dieses spektrum für die fotosynthese; eine zu hohe dosis wirkt jedoch letal; man nutzt daher die harte strahlung auch zu sterilisationszwecken.

**Pyrimine- und pyrimidin-basen** absorbieren gut im 260 nm bereich (UVc); liegen 2 thymine in der DNA nebeneinander, so werden diese durch die UVc kovalent verknüpft (die dosis darf allerdings nicht zu hoch sein); dabei passiert es häufig dass gerade an dieser stelle der DNA-reparatur mechanismus eine falsche base einbaut und derart eine mutation stattfindet.

**Thymidine** sind daher die schädigungs-sensibelsten bausteine in der DNA; analog dazu verläuft auch der verknüpfungsmechanismus zwischen (T+C) thymine mit cytosine durch UVb.

**DNA reparatur mechanismus:** da es leben schon zeit  $\approx 1E^9$  jahren gibt, ist das leben an der erdoberfläche ist an die UV gewöhnt; d.h. genetische prozesse müssen in der lage sein reparaturen durchzuführen; einer dieser prozesse ist die **foto-reaktivierung** und die **dunkel-reaktivierung**. Das enzym fotolyase ist in der lage die thymidin-dimere wieder in 2 monomere zu spalten; dazu ist sichtbares licht nötig; die dabei absorbierte energie wird gebraucht um den spaltungsprozess einzuleiten (überwindung der aktivierungsenergie). Zur absorption von VIS sind allerdings chromophore nötig (antennenkomplexe) die die energie sammeln und daraus gewonnenen elektronen weiterleiten. Bei der dunkel reaktivierung werden dann die defekten strangabschnitte herausgeschnitten und neu synthetisiert; dabei ist ein ganzer enzymkomplex beteiligt, die **korrektur endonuclease**; im *Deinococcus* stamm arbeitet dieses enzym besonders effizient! Potentiell eignen sich ionisationsresistenten abschnitte dieses stammes um andere microorganismen gegen strahlung resistent zu machen, i.e. um z.b. radioaktiven abfall mikrobiell zu zersetzen;  $\rightarrow$  ist allerdings sehr fragwürdig.

**Strahlungsdosis:** angegeben in *Gray*: 1Gy = jene in 1 jahr absorbierte energie bezogen auf 1 kg gewebe.

für menschen sind  $\approx 10$  Gy "tolerabel"

für microorganismen sind es  $\approx 12 \cdot E^3 - 6 \cdot E^3$  Gy

für *Deinococcus*  $\approx 20 \cdot E^3$  Gy

Warum ist *Deinococcus* so resistent? natürlich kommen derart hohe werte nicht vor!

Entdeckt wurde dieser organismus als man durch lebensmittel-bestrahlung mit X-rays in den 40er jahren versuchte deren haltbarkeit zu verlängern;

Die strahlungsresistenz ist ein nebeneffekt einer austrocknungsresistenz; denn vacuumtrocknung wird von *Deinococcus* unbeschadet überstanden d.h. luft-O<sub>2</sub> wirkt schädigend auf die getrocknete DNA; *Deinococcus* weist einen gut funktionierenden reparaturmechanismus auf - dieser konnte durch mutationen im reparatursystem nachgewiesen werden.

**1.12. Niedrige nährstoff-konzentrationen:** weite bereiche der biosfäre weisen eine niedrige nährstoff-konzentration auf; dazu gehören die ozeane, süßgewässer, flüsse, etc. die nicht eutrofiert sind; hier spricht man von **oligotrofen** microorganismen (wachsen bei niedrigen nährstoff-konzentration bei nur 1-15 mg C/L).

*Caulobacter* ist ein solch oligotrofer vertreter, er weist einen stiel (stalk) auf womit er an oberflächen haften kann; je oligotrofer desto länger der stiel; im stiel findet der aktive transport der nährstoffe in die zelle statt.

**1.13 Ultramicro- / Nanobakterien:** dabei handelt es sich um filtrierbare bakterien die  $<0,45 \mu\text{m}$  sind; sie sind generell aquatischen ursprungs von oligotrofen gewässern wie *Vibrio*-stäbchen; normalerweise sind sie viel grösser; erst im oligotrofen ambiente schrumpfen sie auf diese abmasse.



**Mycoplasma** arten die intrazellulär leben, weisen keine zellwand auf.

**Halobakterien** haben eine zellwand aus glycoproteinen → z.b. *Halococcus* hat eine aus heteropolysacchariden.

**Methanogene Archaea:** morfologie als kokken, trauben, ketten, stäbchen; die GRAM-färbung zeigt kaum reaktionen; da methanbakterien anaerob sind, haben sie auch eine zellwand die kein murein besitzt!

**Methano sarcina** ist z.b. GRAM<sup>Pos</sup> und kommt als kokkus-paket vor; hat eine dicke zellwand, und einen sacculus, hat jedoch keine D oder C aminoacids und keine muramic acid in der zellwand.

**Spirillenartige methanogene Archaea** haben zuweilen eine L-talosamin-muramic acid (zuckerderivat der talose); daraus leitete sich das PSEUDOMUREIN ab, welches aus alternierenden N-acetyl-glucosamine und N-acetyl-L-talosamin-muramic acid aufgebaut und durch  $\beta$  1-3 bonds verknüpft sind;

pseudomurein der Archaea ist ein analog zum murein der eubakterien; es wird daher nicht von lysozymen oder penicillin angegriffen.

**Halococcus;** GRAM<sup>Pos</sup> besitzt weder murein noch pseudomurein, statt dessen glycin und andere zucker → i.e. eine heteropolysaccharid-kette aus glucose, galactose und sulfat-gruppen; die durch  $\text{SO}_4^{2-}$  eine starke negative ladung aufweist.

**Thermoproteus tenax:** hat gar keine mureinschicht und keine zucker in die zellwand sondern nur die gängigen 20 AS; dieser S(surface)-layer besteht aus proteinen bzw. glycoproteinen (angehängte kohlenhydrate); der S-layer kann sehr dicke sein und schützt das Archaea vor überhitzung und teilweise gegen detergentien.

**Methanus spirillum** weisen hüllen (scheiden) auf in der die Archaea stecken; sie sind hüllen aus proteinen und zucker (glucose, manose) und sind sehr resistent d.h. isolation derselben in 1M kochender NaOH.

#### Archaea-zellhüllen:

GRAM-reaktion	profile	vorkommen
GRAM <sup>Neg</sup> I	SL, CM	<i>Methanococcus, Sulfolobus, etc.</i>
GRAM <sup>Neg</sup> II	PS, SL, CM	<i>Methanospirillum, Halococcus, etc.</i>
GRAM <sup>Neg</sup> II	CM mit eingelag. SL	<i>Thermoplasus</i>
GRAM <sup>Pos</sup> I	PM + HP CM	<i>Methanobacte, etc.</i>
GRAM <sup>Pos</sup> II	SL, PM, CM	<i>Methano thermus</i>

PS, proteinscheide, SL, S-layer, CM, cytoplasma membran, HP, heteropolysaccharid, PM, pseudomurein;

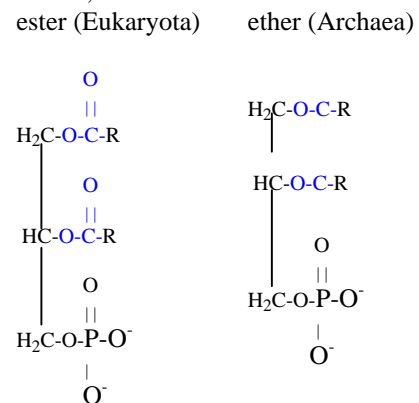
**Eigenschaften von thermophilen und hyperthermophilen organismen:**

- Archaeabakterien haben kein einheitliches zellwand-polymer;
- Archaeabakterien haben leicht modifizierte membran-bilayers;

Die bausteine jeder **biologischen membran** sind die fosfolipide und proteine; fosfolipide haben einen hydrophilen kopf (grün) und einen hydrophoben schwanz (blau); der kopfteil besteht aus einem glycerin, einer fosfatgruppe, einem alkohol oder einem zuckerrest; der hydrofobe schwanz besteht aus langen FA-ketten; der bilayer ist so aufgebaut, dass die hydrophoben teile der FA zueinander nach innen schauen, und somit nur der hydrofile kopf ins wässrige milieu gerichtet ist; der zusammenhalt der fosfolipide kommt erst durch nicht-kovalente wechselwirkungen zustande; i.e. hydrofobe wechselwirkung im inneren der FA-ketten, Van de Waals-kräfte und evtl H-bonds an den köpfchen;

**der libid-bilayer** ist daher die grundstruktur der biomembranen; darin eingelagert sind die transmembralen proteine (braun); sie übernehmen die vielfältigen mebranspezifischen funktionen; proteine weisen auch hydrofobe bezirke auf, wodurch die hydrophoben FA das transmembrale protein bestens fixieren können; die strukturformel eines fosfolipids (lt. Fischer'sche projektion) ist das C1-C3, wenn die OH-gruppe des C2-atoms nach links weisst;

die stereospezifische nummerierung des C-atoms (sn) sieht vor dass jene C-atome mit  $s_1$ -,  $s_2$ -konfiguration zu bezeichnen, wenn diese mit einer langen FA-kette substituiert sind; am 3ten molekül hängt eine kleine fosfatgruppe; die beiden FA's sind über eine esterbindung (bedingt wasser-absplattung) mit dem glycerin verknüpft; die FA-kette wird meist als zick-zack linie abgekürzt;

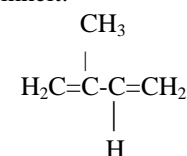


die **lipide von Archaea** sind etwas anders aufgebaut; anhand der "verseifung" (standardmethode) wird eine hydrolytische spaltung der ester-verbinding mit der alkalilauge herbeigeführt; bei archaea funktioniert das nicht, daher weiss man das mehr dahinter stecken muss (non-saponiable);

Archaea-lipide haben keinerlei esterbindungen sondern etherbindungen!

Weiters hängen die FA-ketten nicht an den C1 und C2er, wie bei den Eubakterien, sondern an den C2 und C3er ( $sn_{2,3}$ -konfiguration); die FA-ketten bestehen aus **isopren-einheiten** und deren derivaten;

1 isopren-einheit:



Isopren hat 5C-atome, eine methyl seitengruppe sowie doppelbindungen; isopren-derivate bei Archaea sind zudem vollständig gesättigt (keine doppelbindungen zwischen den C-atomen der FA-kette) - daher auch der name isopryl-derivat, i.e. isoprenoid.

Isoprenoide haben auch keine carboxylgruppen (wie die FA der Eubakterien); daher gibt es auch keine ester-gruppierung am glycerinkopf;

Im allgemeinen bestehen die hydrophoben schwänze aus  $C_{20}$ er ketten = 4 isopren-einheiten mit je 5 C's (diether → 2 diether = tetraether); es sind aber auch  $C_{40}$ er ketten bekannt (tetraether);

Tetraether haben eine besonderheit; sie haben pentazyklen ( $C_5$ er ring) die in den ketten sitzen; diese 5er ringe nehmen bei höher werdenden wachstums-temperaturen zu; daher findet man bei hyperthermophilen wie den methanogenen thermophilen bis zu 4 solcher 5er ringe in der kette;

Die diether kommen bei halobakterien vor die kaum temperatur-resistent sind; daher ist es nicht verwunderlich das etherbonds die wesentlich stabiler als esterbonds sind bei extremophilen häufig anzutreffen sind (vertragen besser >T, und <pH);

diese unterschiede grenzen Archaea von den anderen bakterien ab und sind daher taxonomisch relevante strukturmerkmale - man nutzt die lipide als erstes leicht durchzuführendes bestimmungsmerkmal;

**Biosynthese der Archaea-lipide:** da der enzymapparat bei Archaea völlig anders zusammengesetzt ist als bei Eubakterien müssen hydrierungs-vorgänge stattfinden um aus den  $\text{C}=\text{C}$ -doppelbindungen  $\text{-C-C-}$  einfach-bindungen zu machen; d.h. eine  $C_{20}$ er kette muss kovalent zu einer  $C_{40}$ er kette gemacht werden;

**Ernährungsweise von (hyper-)thermophilen:** dabei teilt man sie je nach energiequelle ein;

- **fototrof:** erfordert licht als energiequelle
- **chemotrof** (energiegewinnung durch redox reaktion)
  - i) **litho-chemotrof** (anorganische energiequelle)
  - i) **organo-chemotrof** (organische energiequelle)
- **heterotrof** (C-haltige, organische energiequellen)
- **autotrof** (nutzen mineralisches CO<sub>2</sub> und licht als energiequelle)

**chemolitho-autotrofe organismen**, wie thermophile leben von anorganischen energiequellen, sind aber dann als primärproduzenten anzusehen;

**Acidianus kulturen** verwerten elementaren schwefel:

$S^{\circ} + 1.5O_2 + H_2O \rightarrow \text{oxid.} \rightarrow H_2SO_4$  (unter aeroben bedingungen)

$S^{\circ} + H_2 \rightarrow \text{reduz.} \rightarrow H_2O$  (unter anaeroben bedingungen)

Die kultur im laufenden experiment arbeitet überwiegend oxidativ, wodurch S-säure anfällt (pH-messung); kleinere mengen von H<sub>2</sub>S werden aber auch im ME-laugenversuch gebildet;  $Fe^{II} \rightarrow Fe^{III}$

**Die technologie der ME-laugen ist sehr alt** - Cu-extraktion in spanien des 17ten jahrhunderts; dabei wurde zerkleinertes erz mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> übergossen; die danach abfließende grüne flüssigkeit ist nichts anderes als Cu-sulfat;

Cu kann aber auch über den galvanischen weg gewonnen werden; dabei wird dann Fe abgeschieden;

*Thiobacillus ferrooxidans* ist ein mesofiler organismus, durch die reaktion in der abraumhalde kann es so warm werden dass der organismus absterben kann; darauf hin übernehmen thermophile *Sulfolobus*- oder *Acidianus*-kulturen die arbeit;

*Thiobacillus* beschleunigt die reaktion um das 15fache;

Um die SO<sub>2</sub>-bildung bei der kohleverbrennung zu reduzieren wird die entschwefelung von kohle mit *Sulfolobus (acidocaldarius)* gemacht; dazu wird der kohlestaub mit der kultur und anderen nährstoffen versetzt; nach einer gewissen reaktionszeit werden die produkte wie H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ME-oxide, etc. vom kohlestaub getrennt;

**PCR polymerase chain-reaction;** weist eine hitzestabile DNA-polymerase auf die von *Thermo aquaticus*-strains isoliert wurde (TAQ-polymerase - arbeitet gut bei temperaturen um 95°C!).



**Extremofile - Teile II:**

1. Wasser und wasseraktivität.
2. Saline, hypersaline biotope
3. Organismen aus salinen und hypersalinen biotope
4. Schutz vor austrocknung, organische osmotika
5. Anpassung halofiler proteine
6. Ausschalten der konkurrenz
7. Schutz vor fotooxidation
8. Halobakterielle fotoenergetik
9. Halobakterielle fotosensorik
10. Systematik halofiler Archea.

**2.1 Wasser und wasseraktivität:** wasser wird für die hydratation der proteine benötigt; ohne wasser gibt es sonst keine funktionierenden proteine! Die hohe elektronegativität (EN) des wassers bedingt eine hohe kohesivität.

Bild 1.10

Wasser ist flüssig; rund 3.4 H-bonds werden pro H<sub>2</sub>O-molekül ausgebildet (3-D); siehe bild für die struktur der modifikation von eis.

Bild 1.13

Hydratation erfordert energie; teile des wassers sind nicht verfügbar da es sich an salze anlagert i.e. bodensalze.

Laut bild 1.13 (schematische darstellung 2er hexanmoleküle in einem kleinen volumen wasser) werden besitzen entweder die beiden hexanmoleküle jeweils eigene „hohlräume“ in der wasserstruktur (A) oder gemeinsam denselben (B) der zweite zustand ist energetisch begünstigt.

**Wasseraktivität:** je grösser a<sub>w</sub>, desto schwieriger ist es für organismen die flüssigkeit einzusaugen;

$$a_w = \frac{\text{dampfdruck einer lösung}}{\text{dampfdruck von reinem H}_2\text{O}}$$

H<sub>2</sub>O folgt rein dem osmotischen gefälle, d.h. bei a<sub>w</sub> < 1 können nur vertreter bestimmtes organismen (halofile) überleben; a<sub>w</sub> < 0,7 = extrem trocken.

**Water activity of several substances**

Water activity a <sub>w</sub>	material	some organisms growing at stated water activity
1.000	pure water	<i>Caulobacter, Spirillum</i>
0.995	human blood	<i>Streptococcus, Escherichia coli</i>
0.980	seawater	<i>Pseudomonas, Vibrio</i>
0.950	bread	Most Gram-positive rods
0.900	maple syrup, ham	Gram-positive cocci
0.850	salami	<i>Saccharomyces rouxii</i> (yeast)
0.800	fruit cake, jams	<i>Saccharomyces bailii, Penicillium</i> (fungus)
0.750	salt lake, salt fish	<i>Halobacterium, Halococcus</i>
0.700	cereals, candy	<i>Xeromyces bisporus</i> and other xerophilic fungi

**Ionic composition of some highly saline environments**

Ion	Great Salt Lake	Dead Sea	Typical soda lake	Seawater (for comparison)
Na <sup>+</sup>	105	40.1	142	10.6
K <sup>+</sup>	6.7	77	2.3	0.38
Mg <sup>+</sup>	11	44	<0.1	1.27
Ca <sup>2+</sup>	0.3	17.2	<0.1	0.40
Cl <sup>-</sup>	181	225	155	18.9
Br <sup>-</sup>	0.2	5.3	---	0.065
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	27	0.5	23	2.65
HCO <sup>-</sup> /CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	0.7	0.2	67	0.14
pH	7.7	6.1	11	8.1

**Ionenkonzentrationen** verschiedener gewässer: eine hoher pH-wert verhindert das sich Mg-, Ca-salze lösen.

- a) **Thallosohaline gewässer**: dabei überwiegt die verdunstung gegenüber den zuflüssen; meist in küstennahen zonen ; z.b. spritzwasser-tümpel, lagunen, abgeschlossenen buchten. Die zur salzgewinnung genutzten verdunstungsbecken in buchten verlieren durch die starke sonneneinstrahlung und die daraus resultierende hohe temperatur (55°C) eine grosse wassermenge; viele prokaryota (extreme halofile Archaea) und einige fotosynthetisch aktive grünalgen, wie *Dunaliella* können unter solch extremen bedingungen überleben;
- b) **Athalosohaline gewässer** sind durch einen niedrigen  $pO_2$ ,  $\approx$  mg/kg  $H_2O$  (vergleich: meerwasser  $\approx$  7 mg/kg  $H_2O$ ), die in geologischen zeiträume gebildeten grossen salz-lagerstätten und durch austrocknung charakterisiert; z.b. **Dead Sea** beherbergt viele microorganismen, ebenso Soda Lakes in Ostafrika, Owens Lake (CA-USA); diese Seen haben einen sehr hohe pH und einen mangel an divalenten kationen; Cyanobakteria, foto-autotrofe micro-organismen; heterotrofe Eubacteria (*Bazillus*), Archea als konsumenten.

Bild 9.18

## 2.2. Saline, hypersaline biotope:

viele organismen vertragen keine salzlösung, jedoch gibt es halofile Archaea die das aushalten (siehe auch tafeln).  
Bild: Effect of sodium ion concentration on growth of microorganisms of different salt tolerances. The optimum NaCl concentration for marine microorganisms is about 3 percent; for extreme halophiles, it is between 12 and 30 percent.

### Wachstumsgrenzen einiger organismen:

Organismus	Wachstums bis % NaCl
Fische	7 % (13 % letal)
Rotatorien	16 %
Efydra (larve einer Salzfliege)	30 %
Artemia salina (Salinenkrebs)	33 %
Dunaliella (Grünalge)	35 % (sättigung)
Meiste Eubakterien	ca. 2,4 %
Halotolerante Eubakterien	ca 15,20 % manche 35 %
Halofile Archaeabakterien	35 % (sättigung)

## 2.3. Organismen von salinen und hypersalinen biotopen:

**Halofile** haben ihr lebensoptimum bei 8% bei extrem halophilen liegt das optimum zwischen 12-30%, bzw. kann bis zur salzsättigung von 35% reichen;

**Halotolerante** brauchen kein salz für deren wachstum; aber, **halofile** brauchen salz um wachsen zu können.

**2.4 Schutz vor austrocknung mithilfe von osmotika**: organismen müssen in die lage sein dehydrierung zu vermeiden; da  $H_2O$  sich nicht über ionenkanäle transportieren lässt, sondern nur indirekt via osmose, muss durch kompatible solute eine saugwirkung generiert werden um so  $H_2O$  einzuschleusen; solche solute dürfen allerdings die proteinsynthese nicht stören, in ausreichend hohen konzentrationen vorliegen und stark wasserlöslich sein.

### Anpassungsstrategien:

- Akkumulation von **anorganischen ionen**:  $K^+$  ist ein bevorzugter ionentyp; bei  $\approx$  5,5 mol beginnt  $K^+$  auszufallen; carrier proteine sorgen dafür das nur nach bedarf  $K^+$  aufgenommen wird;  
der  $H^+$ - $Na^+$  antiporter wird über den cytoplasma-gradient betrieben;  
der  $K^+$ - $H^+$  - ATP betriebener synporter ebenso;  
 $Cl^-$  über das halo-rhodopsin, ist eine lichtbetriebene ionenpumpe in der gruppe der *Halobacteroides*, *Sporohalobacter*, und *Acetohalobrium* zeigen zusätzliche anpassungen.
- Akkumulierung von **organischen ionen**: die anreicherung organischer osmotika (i.e. organischer moleküle) die als kompatible solute fungieren sind im interzellulären raum hoch angereichert; d.h. sie müssen: - sehr gut  $H_2O$  löslich sein;  
- ladungsneutral sein,  
- ungiftig sein,  
- regulierungsmöglichkeiten haben; i.e. schnell synthetisierbar, umbaubar und abbaubar sein um z.b. bei plötzlich einsetzendem regen nicht zu platzen;  
das können z.b. sein: hydrofile zucker, zucker-alkohole, aminoacids, AS-derivate, etc.  
beobachtung: *E-coli* wächst bei 5% NaCl überhaupt nicht, schafft es jedoch wenn hilfsstoffe in form von kompatiblen soluten in der obigen form zur verfügung gestellt werden.

**Compatible solutes of microorganisms**

Organisms	Major solute (s) accumulated	Minimum $a_w$ for growth [-]
Bacteria, nonfototrophic	Glycine betaine, proline (mainly Gram-positive), glutamate (mainly Gram-negative)	0.97-0.90
Freshwater cyanobacteria	Sucrose	0.98
Marine cyanobacteria	$\alpha$ -Glocosylglycerol	0.92
Marine algae	Mannitol, various glycosides, proline, dimethylsulfonium propionate	0.92
Salt lake cyanobacteria	Glycine betaine	0.90-0.75
Halofilic anoxygenic fototrophic Bacteria ( <i>Ectothiorhodospira</i> and <i>Rhodospirillum</i> species)	Glycine betaine, ectoine, trehalose	0.90-0.75
Halofilic Archaea	K <sup>+</sup>	0.75
<i>Dunaliella</i> (halofilic green alga)	Glycerol and sorbitol	0.75
Xerofilic yeasts	Glycerol	0.83-0.62
Xerofilic filamentous fungi	Glycerol	0.72-0.61

Abb. 5.4

Erworbene salztoleranz durch akkumulation kompatibler solute: *Escherichia coli* (und andere enterobakterien) können in einer salzstress-situation compatible solute mit hilfe effektiver transportsysteme akkumulieren und dadurch in gewissen grenzen salztoleranz erwerben. Das foto belegt, dass diese organismen in gegenwart von ectoin im medium (2 mM) auf einer gradienteplate 0,9 M NaCl (etwa 5%) tolerieren. Die durchgezogene Linie beschreibt den bereich, der in abwesenheit der schutzstoffe bewachsen werden kann. Die grafische darstellung eines versuchs in flüssigkultur (unten) illustriert eine abhängigkeit der wachstumsraten von den eingesetzten schutzstoffen. Demnach ergibt sich für *Escherichia coli* eine abnehmende hierarchie der schutzwirkung von betain über ectoin zu prolin.

Abb 5.5

Schutzeffekte verschiedene kompatibler solute auf das enzym Lactat-dehydrogenase; viele solute schützen sowohl gegen wiederholtes einfrieren /auftauen (a) als auch gegen kurzzeitiges erhitzen (b) und sogar gegen völliges eintrocknen (c); besonders bemerkenswert ist die gute schutzwirkung von hydroxyectoin, das in allen fällen die besten ergebnisse erbrachte.

Das **cytoplasma** leidet trotz der compatible solute unter wassermangel; organische osmotika werden in der biotechnologie bevorzugt implantiert. Die **restaktivität** bei fallender H<sub>2</sub>O-konzentration anhand von LDH (lactat-dehydrogenase); d.h. organische osmotika schützen gewisse enzyme vor einem hitze bzw. trockenschock;

**Wirkungsweise Organische Osmotika**; integrieren sich gut im wassersystem.

$$\Psi = \frac{R \cdot T \cdot \ln a_w}{V_w}$$

$V_w$ , molvolumen von H<sub>2</sub>O

Wenn  $\Psi$  sinkt so muss der organismen in die Lage sein das molvolumen ( $V_w$ ) zu modifizieren, was dazu führt das sich:

- high density water in der näher der proteine aufhält;
- low density water ausserhalb der hydratisierungshülle fernab den proteinen aufhält; grosse molekule die hygroskopisch sind, bauen eine entsprechend grosse hydratationshülle auf, wenn diese jedoch neutral sind so haben sie keinen effekt;
- organische osmotika bauen allerdings ein (lockeres) eisähnliches hydratationsgebilde auf; damit wird erreicht dass das protein nicht denaturiert (→ bildet quasi eine schraubstockfunktion).

**Stabilisierende einflüsse**: stabilisation und schutz durch organische osmotika gegen eintrocknung, hitzestrom und kältestrom; nicht jedes osmotikum schützt jedes protein; fallweise kann es dadurch trotzdem zur denaturierung kommen.

**Eisinsel-model**: Theoretische überlegungen zur wirkungsweise von organische osmotika;

- 1) dieses model erklärt nicht direkt wie organische osmotika proteine stabilisieren – es erklärt den ausschluss der osmotika aus den hydrathüllen der proteine;
- 2) organische osmotika sind kosmotrope (wasser struktur bildner), daher mit wasser kompatibel und integrieren sich in dessen molekülstruktur;
- 3) organische osmotika umgeben sich mit besonders festen hydrathüllen (sind per IR-spektren als eis-ähnliche strukturen erkennbar);

die **wasseraktivität** sinkt durch präsenz der organischen osmotika; das wasser **höherer dichte** "HDW" wird durch das *geringes molvolumen* gebildet; im gegensatz dazu ist das wasser mit **geringerer dichte** "LDW" in protein-nähe, wobei hier *keine organischen osmotika anwesend sind*;

**Organische Osmotika** umgeben sich von eisähnlichen struktur wodurch die protein-konformation durch die osmotika-umzingelung beibehalten wird → HDW aussen; LDW innerhalb der proteine (i.e. protein hydrathülle)

Abb 5.6 (a)

Abb. 5.6 (b)

Modellvorstellung zur räumlichen verteilung und wirkung kompatibler solute in der nähe von

enzymoberflächen;

abkürzungen: DW: dichtes wasser

LDW: weniger dichtes wasser;

- : fixierte negative ladungen an der enzymoberfläche;

+ : gelöste kationen.

Y: wasserpotential

R: gaskonstante

$a_w$ : wasseraktivität

$V_w$ : molvolumen

Vorstellung nach dem eisinsel-modell, wonach

kompatible solute (<<<>>) sich mit (zumindest partiell)

eisähnlichen hydrathüllen umgeben; die eisinsel

integrieren sich bevorzugt in die population des

weniger dichten, aufgeweiteten wassers und sind daher aus den hydrathüllen der proteine ausgeschlossen; diese

entropische ungleichverteilung führt zu einer

minimierung der enzymoberfläche und stabilisierung der konformation.

## 2.5. Anpassung halofiler proteine:

Im **cytoplasma** der Archaea (gegenüber Eukaryota und Eubakteria) sind die salzkonzentration sehr hoch; daher müssen gewisse adaptationen getroffen werden.

**Proteine** sind generell so gebaut dass die hydrophoben reste ins proteinzentrum gerichtet sind (alanin, glycin, valin, leucin, isoleucin, methionin, fenylalanin, tryptofan, und prolin) und die hydrofile AA-ketten nach aussen dem wasser entgegengerichtet (d.s.: serin, threonin, asparagin, glutamin, cystein, se-cystein, und tyrosin).

Wird die ionenstärke in die umgebung erhöht so sinkt das  $\Psi$  (wasserpotential = die algebraische summe der einzelnen lösungspotentiale inclusive des wasserdrucks – i.e.

wanddruck; wird oft als die potentielle energie des wassers bezeichnet) wodurch das protein durch aussalzen ausfallen kann ohne dass das protein dabei denaturiert; folglich müssten bei den Archaea alle proteine aussalzen, warum tun sie das aber nicht?

Weil die proteine von Archaea mit  $H_2O$  konkurrieren; i.e. haben einen überschuss an sauren AA an der protein-oberfläche → saure AS- konkurrieren mit salzigen  $H_2O$  (d.s.: aspartat und glutamat).

Überschuss =  $\frac{\text{mol \% saurer AS}}{\text{mol \% basic AS}}$  i.e. überschuss von  $\approx 20\%$  (im vergleich dazu; eukaryota  $\approx 1$ ); die basischen AA sind lysin, arginin und histidin;

Wird jedoch die ionenstärke verringert so kommt es zur gegenseitigen abstossung; bei fehlen von gegenionen stossen sich die gegenüberliegenden sauren AA-einheiten am protein gegenseitig ab was letztlich zur entfaltung des proteins (= denaturierung) führt; diesbezüglich ist die funktion von extrazellulären proteasen noch nicht geklärt.

### Anpassungsspezialisten:

**O<sub>2</sub> Mangel:** 1 kg gesättigte NaCl lösung enthält  $\approx 2$  mg O<sub>2</sub> - im vergleich dazu 1 kg meerwasser hingegen  $\approx 7$  mg O<sub>2</sub>; d.h. da O<sub>2</sub>-mangel für Archea meist lethal ist, müssen sie in die lage sein durch chemotaxis zur höheren O<sub>2</sub> konzentration zu wandern; sie sind daher häufig im salz-luft-interface aufzufinden - es gibt aber auch ausnahmen;

### Umstellung von aeroben zu anaeroben metabolismus

- Wenn O<sub>2</sub> als terminaler O-akzeptor fehlt so wird stattdessen N-benutzt; nitrat zu N<sub>2</sub> per nitrat-reduktase;
- reduktion von fumarate zu succinat geht nur bei den Eubacteria; allerdings sind auch einige Archaea-gattungen dazu in der lage;

Archaea können sowohl aeroben als auch anaeroben stoffwechsel betreiben.

### Fumarate

COOH

|

CH

||

CH

|

COOH

+H<sub>2</sub>

→

### Succinate

COOH

|

CH<sub>2</sub>

|

CH<sub>2</sub>

|

COOH

**2.6. Ausschalten der Konkurrenz:** viele Archaea generieren **peptid antibiotika (halocine)**; die das wachstum anderer Archaea genera inhibiert; bis dato sind 14 gruppen beschrieben. Halocin H<sub>4</sub> ist bereits gut charakterisiert; es ist mit 28 kD ein salz protein und wird von *Haloferax mediterranei* gebildet; die hemmung von konkurrenten beruht auf die durch membran andockung resultierende permeabilitätsstörung → die target zelle läuft quasi aus;

**2.7 Schutz von fotooxidation** (fallbeispiel Lake Magadi in Kenya)

- rotfärbung von Archaea in salzgewinnungsbecken;
- anlagerung von roten pigmenten als sonnenschutz;
- starke Sonneneinstrahlung fördert die bildung von peroxiden → wäre letal; wird daher durch pigmente verhindert; diese sind langkettige CH-moleküle; halophile auf agar sind sehr bunt; meist allerdings blass rosa; die rotfärbung resultiert von diesen langkettigen HC's;
- manche färben sich bei höheren salzkonzentration intensiver; >>rotfärbung kann in seen der salzgewinnung auch von der Eukaryote *Dunaliella* stammen (β-carotin im thylakoid-innenraum ihrer chloroplasten sorgt für die orangerote farbe); im gegensatz dazu sind die pigmente der Archeae gleichmässig im cytoplasma verteilt;

**2.8 Halobakterielle foto-energetik:** ergebnisse anhand des *Halobakterium halobium*; es ist bereits ein gut untersuchter:

Halobakterielle küstenbewohner vor Australien weisen karotenoide auf die das nutzlicht für fotosynthetischen prozesse kanalisiert; die dabei auftretende fotoaktiven proteine sind:

HR.....lichtbetriebene Cl-pumpe

SR.....sehpigmente

BR.....bakteriorhodopsin (protonenpumpe) ist ein in der membran eingelagertes molekül, welches retinal enthält und bei der ATP-synthese massgeblich beteiligt ist; → gradienten bildner für ATP-synthetase (ADP + P<sub>i</sub> → ATP);

Pumpenmembran (farblich pigmentierte membran);

auf das BR (welches dem retinalen durch deren covalente bindung mit ??? nichtunähnlich ist) entfallen rund 55 % (→ 50 kD) der gesamten membranproteine

Bild (seite 39)

Brock s. 747  
Brock s. 748

**Funktion der BR:**

*trans* - + foton → *cis* form wodurch die pumpleistung von 100 - 200 H<sup>+</sup>/sec. nach aussen gepumpt werden; der rückfall in die *trans* konfiguration erfolgt automatisch (bei vertebralem retinal braucht energie um in den trans-zustand zurückzufallen); eine kaskade von protonen ist dabei beteiligt um die weitergabe der H<sup>+</sup> vom cytoplasma über die membranproteine nach draussen zu befördern; der so aufgebaute protonengradient wird dazu genutz um ATP zu synthetisieren (foto-fosfolierung); frage : ist das die urform der fotosynthese? eher nicht, da keine glucose gebildet wird.

Brock s. 85

BR arbeitet mit einem wirkungsgrad (η) ≈ 15 % (fotosynthese ≈ 35% ?? kann dasein?)

- das HR nutzt licht zum gerichteten transport von Cl<sup>-</sup> ins cytoplasma hinein;
- gerichtete fortbewegung per geiselmotor (5-10) filamente der eine rechtsgewundene helix bildet → dabei handelt es sich um einen basisgetriebenen rotationsmotor dessen drehrichtung umschaltbar ist.

Durch bestimmte licht- und chemikalien-reize lässt sich die drehrichtung modellieren = chemotaxis; **lockstoffe** sind alle AS und oranges licht, **flüchtstoffe** hingegen aromatische KW (fenole) und blaues bzw. UV licht;

**2.9. Halobakterielle fotosensorik:**

Halobakterien kennen zwei typen der fotosensorik (fotochrom. sensor):

**SRI-** unterscheidung zu VIS & UV orange (587 nm); es ist mit rund 4000 kopien relativ häufig vorhanden; es bildet mithilfe des lichtes einen langlebigen zwischen-zustand, welches bei 373 nm absorbieren kann; bei UV penetration kommt es durch dessen abbau zur umschaltung der betriebsrichtung im geiselmotors.

**SRII-** rezeption für blaulicht (fotorhodopsin); es kommt mit nur 400 kopien weit nicht so häufig vor; in jungsstadien fehlt SRII, sie ernähren sich heterotrof, und werden erst im adultstadium zu autotrophen vertretern;

**Zusammenfassung:**

- $a_w$ : die wasseraktivität gibt an wieviel wasser in ein system verfügbar ist; hypersaline biotope besitzen eine  $a_w$  von  $\approx 0,75$ , sind physiologisch trocken;  $H_2O$   $a_w < 0,77$  = extreme trocken; konservation  $\rightarrow$  bedingung für trokenspezialisten;
- hypersaline gewässer werden nach ihrer entstehung eingeteilt in;
  - thalossohaline gewässer: ionen zusammensetzung; entspricht der konzentration des meerwassers;
  - athalossohaline gewässer: ionen zusammensetzung unterschiedlich von der konzentration des meerwassers  $\approx$  neutral,  $\approx$  stark alkalisch;
- primäre produzenten in hypersaline gewässern sind die grünalge *Dunaliella*, Cyanobakteria, anoxygene fototrofe bakterien;
- konsumenten: halofile archaea, halofile bakterien;
- problematik des  $H_2O$  transports in die zelle: da ein aktiver  $H_2O$  transport in die zelle nicht möglich ist, muss der umweg über osmotische substanzen genommen werden um eine hydrathülle aufbauen zu können (wichtig für die protein faltung); d.h. intrazelluläre kompatible solute dienen dazu genügend  $H_2O$  in die zelle zu saugen;
- kompatible solute: anreicherung von:
  - anorganische ionen ( $K^+$ ) bis zur sättigung von 5,3 mol (archaea, einige bakterien, algen, mischtyps);
  - organische osmotika (verbindung als kompatibles solut) aufgenommen oder selbst hergestellt für Eukaria und Bakterien;
- organische osmotika müssen:
  - $H_2O$  löslich sein;
  - physiologischer pH keine nettoladung;
  - ungiftig im metabolismus;
  - rasch auf- und abbaubar (umweltanpassung);
  - interzelluläre herstellung via mehrerer synthese-wege;
 organische osmotika sind: zucker, alkohol, zucker-alkohole, AA und AA-derivate;
- organische osmotika sind protein-stabilisatoren, die bei einer vielzahl von stress-situationen wirksamen sind;
- nach dem eisinsel-model ist die ausbildung 2er unterschiedliche wasser-populationen die molekulare grundlage für die wirkung organischer osmotika;
- die proteine extrem halofiler Archaea können durch die konzentration saurer gruppen an ihren oberflächen mit dem salz im cytoplasma um wassermoleküle konkurrieren und so dem aussalzen entgegenwirken;
- viele halofile Archaea und Bakterien können neben  $O_2$  auch andere terminale elektronen akzeptoren verwenden;
- viele halofile Archaea produzieren halocine, die zur lyse fremder zelle führen;
- die charakteristische rotfärbung ist auf langkettige isoprenoide (z.b. bacteriorubein) zurückzuführen und schützt die zelle vor intensiver solarstrahlung;
- manche halofile archaea besitzen retinale proteine die licht zu fotoenergetischen und fotosensorischen prozessen kanalisieren;
- mittels bakterio-rhodopsin können manche halofile Archaea einfache foto-fosforilierung betreiben;
- das **SRI** ermöglicht den "erwachsenen" halofilen Archaea aktiv günstige lichtverhältnisse aufzusuchen (fototaxis, und chemotaxis); das **SRII** schützt junge zellen vor UV-strahlung;