



Forschungsförderung A durch die Andreas Rühl Stiftung

„Auf der Suche nach neuen Archaeen, die im Meeresboden Erdöl ganz ohne Sauerstoff abbauen“

Antragssteller Dr. Gunter Wegener, HGF-MPG Brückengruppe für Tiefseeökologie und -Technologie;
Unterstützung des Doktorarbeitsprojekts von Hanna Zehnle: Identifikation, Funktion und molekulare Marker Alkan-abbauender Archaeen

Vor genau zehn Jahren kam es während einer Erdölbohrung auf der Deepwater Horizon zum Super-GAU, dem größten anzunehmende Unfall in der Ölindustrie: Nach einer Explosion traten Millionen Barrel Erdöl und ähnlich viel Erdgas aus dem Bohrloch in den Golf von Mexiko aus.

Meere und Küstenlinien wurden für Jahre verschmutzt. Bei der Bewältigung der Ölkatastrophe spielten Mikroorganismen, die kleinsten Bewohner des Meeres, die größte Rolle, denn viele Bakterien in der Wassersäule können sich von Öl ernähren und haben dieses so größtenteils unschädlich gemacht. Das Wirken der aeroben, also sauerstoff-abhängigen Mikroorganismen ist seit langem bekannt.

Natürliche Ölaustritte sind im Meeresboden hingegen recht selten und von weit kleinerer Dimension. Dies liegt daran, dass Öl normalerweise tief im Meeresboden von Mikroorganismen abgebaut wird, bevor es die Ozeane erreichen kann. Der Ozeanboden ist jedoch weitgehend anoxisch, das heißt, es muss auch Organismen geben, die Öl ohne Sauerstoff abbauen. Wer sind diese stillen Helfer unserer Ökosysteme und auf welche Komponenten haben sie sich spezialisiert? In den 1990er Jahren entdeckten Forscher, dass einige Bakterien einige Ölbestandteile auch ohne Sauerstoff, das heißt anaerob, abbauen können. Mein Forscherteam arbeitet seit vielen Jahren an Archaeen, der anderen Domäne des Lebens, und deren Fähigkeiten, Erdgas und Erdöl abzubauen. Wir begannen unsere Studien an anaeroben Methanoxidierern. Diese nutzen Enzyme, die eigentlich aus der Methanogenese bekannt sind, um Methan abzubauen. Insbesondere ist die Methyl-Coenzyme M Reduktase (MCR) wichtig, mit der die Methanoxidierer das unter Raumtemperatur äußerst reaktionsträge Methan aktivieren. Somit verringern sie den Ausstoß des Klimagases Methan in die Ozeane um mindestens 90%¹. Lange wurde davon ausgegangen, dass mithilfe von MCR Enzymen nur Methan aktiviert werden kann. Vor wenigen Jahren hat mein Team jedoch zuvor gänzlich unbekannte Archaeen kultiviert, die kurzkettinge Alkane wie Ethan, Propan und Erdgas abbauen können². Diese Organismen nutzen dafür ganz neue Varianten der MCR, und die Organismen wurden als wichtige Erdgasverwerter in vielen Sedimenten identifiziert^{3,4}.

Nun stellte sich uns die Frage, ob wir Archaeen mit MCR-ähnlichen Enzymen nicht nur für Erdgas, sondern auch für die Aktivierung langkettiger und somit flüssiger Kohlenwasserstoffe, also Erdöl, nutzen können. Die Antwort lautet bisher: Es kann sein, aber noch haben wir keine dieser Organismen in Kultur. So steht der entscheidende Beweis noch aus. Mithilfe der Metagenomik haben wir mit Kollegen der Jiaotong Universität in Shanghai, China, herausgefunden, dass Archaeen mit der neuartigen MCR sehr häufig und divers sind^{5,6}. Sie kommen aus drei der vier bekannten Superphyla der Archaeen. Allein aufgrund der Gensequenz kann jedoch bisher nicht auf das Substratspektrum der Organismen geschlossen werden, da noch zu wenige Organismen kultiviert sind. So wissen wir noch nicht, welche Ölbestandteile in den Tiefseesedimenten von Archaeen genutzt werden.

In unseren aktuellen Studien von Hanna Zehnle wollen wir diese neuen Archaeen kultivieren, und ihr Substratspektrum sowie die Funktion der neuartigen Kohlenwasserstoff-Abbauer bestimmen. Wir arbeiten dazu



mit Umweltproben, die wir in mehreren Ausfahrten zu den heißen Gas- und Ölaustritten im Guaymas Beckens im Golf von Kalifornien gewonnen haben, sowie mit neuen Proben aus dem Golf von Cádiz, die wir auf der

Forschungsfahrt mit der FS METEOR (M167 im Herbst 2020) gewinnen wollen. Aus den Guaymas Becken - Sedimenten wurden bereits mit bestimmten Kohlenwasserstoffen als Substrat aktive mikrobielle ölabbauende Anreicherungen gewonnen, die jedoch noch viele verschiedene Organismen enthalten. Ähnliche Forschungsvorhaben werden an den Proben des Golf von Cádiz vorgenommen.

Ziel ist die Vernetzung der Messungen von Stoffumsatz, mikrobieller Aktivität sowie der Detektion intrazellulärer Stoffwechselintermediate. Hierzu werden zu diesen Anreicherungen Alkane hinzugegeben, die mit dem schwereren stabilen Kohlenstoffisotop ^{13}C markiert sind. Diese markierten Substrate verhalten sich biochemisch genauso wie die normalen Alkane. Durch die Zugabe des schweren Kohlenstoffs kann der Abbau jedoch genau nachverfolgt werden. Organismen, die auf den Abbau diesen Alkans spezialisiert sind, nehmen nun diesen Kohlenstoff in ihre Biomasse und damit in ihre Nukleinsäuren (DNA und RNA) ein. Mithilfe etablierter Methoden können nun die neugebildeten schweren Nukleinsäuren von den sonstigen Nukleinsäuren abgetrennt werden. Die neugebildete DNA und RNA wird sequenziert, und so werden die Ölabbauer, ihre Funktionsweise sowie ihr Substratspektrum identifiziert. Gleichzeitig kann die Probe auf markierte Intermediate untersucht werden und so die Abbaumechanismen identifiziert werden.

Zielsetzung des durch die Andreas Rühl Stiftung unterstützten Forschungsvorhabens:

Hier sollen Inkubationsversuche mit mikrobiellen Anreicherungen und markierten Kohlenwasserstoffen (^{13}C -Dekan, Hexadekan und Eicosan) durchgeführt werden. Ziel ist die Identifikation von neuen Archaeen, die Kohlenwasserstoffe abbauen. Diese Archaeen stellen vermutlich wichtige, bisher unbekannte Ölabbauer im Meeresboden dar, durch deren Aktivität eine Vielzahl natürliche Ölaustritte in den Ozeanen vermieden werden.

Nutzung der Fördermittel: Schiffsgebundene Labormittel für die Teilnahme von Hanna Zehnle an einer Forschungsreise zu den Erdgas- und Erdölaustritten im Golf von Cádiz (M167, Oktober 2020). Kauf von ^{13}C -markierten Kohlenwasserstoffen für die oben beschriebenen Laborversuche. Beschaffung von Reagenzien zur Sequenzierung. Die Experimente und Analysen sollen im Zeitraum Nov. 2020 bis Juni 2021 durchgeführt werden. Die Ergebnisse werden in die Doktorarbeit von Hanna Zehnle eingehen.

Geplant ist eine Veröffentlichung in einem internationalen Fachjournal.

Anmerkung: Ein Feature der Arbeiten finden Sie im Max Planck Journal, Ausgabe 3/2019; https://www.mpg.de/13879577/W005_Umwelt_Klima_072_077.pdf

Literatur (* = eigene Forschungsarbeiten § = Doktorarbeitsprojekte im Team)

- 1 Knittel, K. & Boetius, A. Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process. *Annual review of microbiology* 63, 311-334, doi:10.1146/annurev.micro.61.080706.093130 (2009).
- 2 Shima, S. et al. Structure of a methyl-coenzyme M reductase from Black Sea mats that oxidize methane anaerobically. *Nature* 481, 98-101, doi:10.1038/nature10663 (2012).
- 3 *§ Laso-Pérez, R. et al. Thermophilic archaea activate butane via alkyl-coenzyme M formation. *Nature* 539, 396-401 (2016).
- 4 *§ Hahn, C. J. et al. "Candidatus Ethanoperedens," a Thermophilic Genus of Archaea Mediating the Anaerobic Oxidation of Ethane. *mBio* 11, e00600-00620, doi:10.1128/mBio.00600-20 (2020).
- 5 *Wang, Y., Wegener, G., Hou, J., Wang, F. & Xiao, X. Expanding anaerobic alkane metabolism in the domain of Archaea. *Nature microbiology* 4, 595-602 (2019).
- 6 McKay, L. J. et al. Co-occurring genomic capacity for anaerobic methane and dissimilatory sulfur metabolisms discovered in the Korarchaeota. *Nature Microbiology*, doi:10.1038/s41564-019-0362-4 (2019).