Metánfaló baktériumok

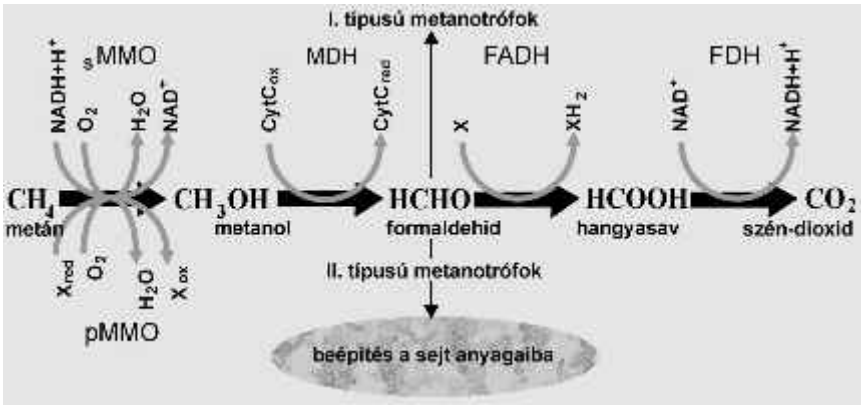
ASZKÉTA MIKROORGANIZMUSOK A KÖRNYEZETVÉDELEM SZOLGÁLATÁBAN

Egy késhegynyi átlagos talajszemcsében több ezer különféle baktériumfaj több százezer sőt, több millió egyede nyüzsög. E parányi élőlények élhetnek oxigén jelenlétében vagy éppen annak hiányában, nitrogént kötnek meg, ammóniát vagy vasat oxidálnak, lehetnek növényi vagy állati kórokozók. És vannak olyanok, amelyek metánt esznek.

A számtalan, jobbára még ismeretlen mikroorganizmus egy elképesztően összetett életközösség része. A bakteriális életközösségek felelősek azért, hogy a Föld olyan, amilyennek ma láthatjuk, és azért is, hogy bizonyos határok között ilyen marad. Földünk jelenlegi képe és egyensúlya rengeteg, egymással szorosan összefüggő körforgás eredménye, mely körforgások fenntartásában a baktériumoknak meghatározó szerepe van.

Egy aszkéta a baktériumok között

Akárhonnan veszünk talajszemcsét, szinte bizonyosan találunk benne metánfaló (metanotróf) baktériumokat is. Az erdők, a mezők, a kertek, a sivatagok és a tundrák földjében egyaránt megtalálhatók. Ezek az élőlények teljes energia- és szénszükségletüket metánból fedezik (szemben például a legtöbbet vizsgált baktériummal, az Escherichia colival, amely csak bonyolult szerves molekulákat képes növekedéséhez hasznosítani). A metánon kívül növekedésükhöz mindössze vízre, levegőre és ásványi sókra van szükségük. Ez, a mikrobák között is ritka igénytelenség teszi őket képessé arra, hogy szinte mindenütt megtelepedjenek. Gyakorlatilag minden olyan környezetben megélnek, ahol metán és oxigén található, az óceánok és tavak vizeiben éppúgy, mint a folyók iszapjában, a mocsarakban, a hőforrásokban, sőt a kérődző állatok bélrendszerében, a termeszvárakban és számos más helyen.
A metánfaló baktériumok legfontosabb szerepe a Föld metánkörforgalmának és ezen keresztül a légköri metán egyensúlyának fenntartása. Ez a vegyület a természetben különféle szerves hulladékok rothadása során, a metántermelő (metanogén) baktériumok tevékenysége nyomán keletkezik. A metántermelő baktériumok oxigéntől elzárt (anaerob) környezetben dolgozzák fel a szerves anyagokat, végtermékként metánt bocsátanak ki. Az ő élettevékenységük terméke a fosszilis energiahordozóként hasznosított földgáz is.



A metánoxidáció biokémiai útja a metánfalókban.
(sMMO – szolubilis metán-monooxigenáz;
pMMO – partikuláris metán-monooxigenáz;
MDH – metanol-dehidrogenáz;
FADH – formaldehid dehidrogenáz;
FDH – hangyasav dehidrogenáz)

A metánfaló baktériumok a becslések szerint a környezetükben termelődött metán 75 százalékát, együtt mintegy 520 millió tonnányit oxidálnak, mielőtt az a levegőbe kerülne. Ez a bioszféra éves biomassza-termelésének 2 százaléka. Energiatartalmát tekintve igen nagy tételről van szó: 5,5 x 1015 J az a metánmennyiség, amely ???megfogható" egységekben (biomassza-égetés, földgázmezők, mezőgazdasági és lakossági hulladékok lebomlása során) kerül a légkörbe, ez a Földön évente felhasznált benzin 30 százalékának megfelelő energiát hordoz.

A légkörbe kerülő metán a szén-dioxidhoz hasonlóan üvegházhatású gáz, visszaveri a Földről kibocsátott hősugárzást. Légköri koncentrációja alig egyharmada a szén-dioxidénak, de annál huszonhatszor hatékonyabban veri vissza az infravörös sugarakat. Ennek következtében a szén-dioxiddal azonos nagyságrendben járul hozzá a Föld felmelegedéséhez.
Az emberi tevékenység következtében a légköri metán koncentrációja az elmúlt 300 évben több mint kétszeresére (0,75 ppm-ről – pars per million, milliomodrész – 1,7 ppm-re) nőtt, és napjainkban is riasztó mértékben, évi 0,8-1,0 százalékkal gyarapodik. A növekedés többek között a rizstermesztésnek, a kőolaj- és földgázmezők kitermelésekor feleslegesnek minősülő földgáz légkörbe eresztésének, az intenzív állattartásnak (kérődzők), az erdő-, a bozót- és a tarló égetésének a következménye.
Az ismert (azaz tiszta tenyészetben izolált, és jellemzett) metánfaló baktériumok anyagcsere-útvonalaik, sejten belüli membránrendszereik, DNS-bázisösszetételük és membránjaik zsírsavösszetétele alapján két fő csoportba sorolhatók. Az I. típusba tartozó metánfalók közé tartoznak a *Methylomonas, Methylosphaera, Methylobacter, Methylomicrobium, Methylococcus* és *Methylocaldum* nemzetség tagjai. A II. típusba a *Methylosinus* és *Methylocystis* nemzetségeket sorolják.

A metánfaló enzim

A metánfalók a metánt metanol, formaldehid és hangyasav köztestermékeken keresztül szén-dioxiddá és vízzé oxidálják. A metán oxidációja során felszabaduló energiát hasznosítják életműködéseikhez. Az oxidációs reakciósort csak félig végrehajtva, azt a formaldehid szintjén megállítva a metánt beépítik a sejt szerves anyagaiba (így szénforrásként is képesek azt hasznosítani – lásd: az ábra). A metán oxidációját végző, abból metil-alkoholt (metanolt) termelő metán-monooxigenáz (MMO) enzim a metánfalók különlegessége. Ez az enzim olyasmit tud, amit a vegyészek is szeretnének megtanulni: a metánt metanollá oxidálja egy lépésben, méghozzá légköri nyomáson, 20 és 70 Celsius-fok közötti hőmérsékleten. A ma ismert vegyipari eljárások ugyanezt a feladatot csak több lépésben tudják elvégezni, és ezt is a légköri nyomás 25-100-szorosán, több száz Celsius-fokos hőmérsékleten.
A csodára képes katalizátorfehérjének két, egymástól sok mindenben eltérő formája található meg a metánfalókban. A sejt belsejében az úgynevezett oldható vagy szolubilis (**sMMO**) van jelen, az úgynevezett partikuláris (pMMO) pedig a membránhoz kötődik. A metánfalók többségében csak a pMMO fordul elő, másokban mindkét jelen van, s a réz/biomassza arány határozza meg, hogy a két azonos funkciójú ám eltérő szerkezetű enzim közül melyik termelődik. Ahol viszonylag nagy a réz koncentrációja, ott a membránhoz kötött pMMO képződik, s ha a réztartalom csökken, az oldott **sMMO** termelődik.
Mindkét metán-monooxigenáz több polipeptidláncból összetekeredő, bonyolult szerkezetű fehérjemolekula, amelyben a reakciót a fehérjéhez kötődő fémkomplexek katalizálják. A pMMO-ban ez a fémkomplex réz-, míg az **sMMO**-ban vasatomokat tartalmaz. Az **sMMO** a metán–metanol átalakítás mellett meghökkentően sokféle reakciót katalizál. Az egyenes szénláncú, gyűrűs és aromás szénhidrogének, alkoholok, aldehidek, telítetlen szénhidrogén-származékok mellett klórozott szénhidrogének oxidációjára is képesek az **sMMO**-t termelő metánfalók.
A természetes vizekbe kerülő, és ott felhalmozódó klórozott szénhidrogének egyre nagyobb közegészségügyi problémát okoznak világszerte. Ilyen vegyületek egész sora került és kerül a környezetbe az emberi tevékenység folytán, de a kibocsátott mennyiség és a nagy stabilitás miatt a triklór-etilén (TCE) a legveszélyesebb. A klórozott szénhidrogéneket éppen stabilitásukért alkalmazzák az iparban oldó- és tisztítószerekként. A klórozott szénhidrogénekről időközben az is kiderült, hogy mérgező és rákkeltő anyagok forrásai.
Habár intenzív kutatómunka folyik TCE-bontó mikroorganizmusok izolálására, a mai napig az **sMMO**-t tartalmazó metánfalók a leghatékonyabbak a TCE és hasonló vegyületek ártalmatlanítására, és a legkevesebb ártalmas közti terméket adják. Az **sMMO**-t termelő metánfalókat széles körben alkalmazzák klórozott szénhidrogének, különösen a TCE biológiai lebontására a talajban, az ivóvízben, az ipari szennyvizekben. Keresik a lebontás hatásfokának növelésére alkalmas technológiákat és a hatékonyabb és más vegyületek lebontására képes metánfalókat.
A metánfalók egyedülálló anyagcseréje számos más biotechnológiai alkalmazást is kínál. Az állattenyésztésben fehérjedús tápanyag-kiegészítőként használt úgynevezett egysejtfehérje (single cell protein, SCP) gyakorlatilag elölt baktériumok tömege. Az SCP árát elsődlegesen a baktérium tenyésztésének költségei szabják meg. Az igénytelen metánfalókból a lehető legolcsóbban termelhető egysejtfehérje.
A kisebb tételekben a légkörbe kerülő metánt a ma ismert technológiákkal nem lehet gazdaságosan hasznosítani. A vegyipari metanolszintézis, a metán palackozása, szállítása csak akkor kifizetődő, ha nagy mennyiségről van szó. A metánfalókra alapozott metán–metanol biokonverzió egyrészt csökkentené a

légkörbe engedett, és a Föld túlmelegedéséhez vezető metán mennyiségét, másrészt ösztönözné a biogáztermelést és -felhasználást. A biogázból termelt metanol energiatartalma nagy, ezért gazdaságosan szállítható. Japánban és az Egyesült Államokban óriási kutató-fejlesztő programok indultak a környezetkímélő gépjárművek kifejlesztésére. Ezek között előkelő helyük van a metanollal működő motoroknak. A metanol számos vegyipari szintézisnek az alapanyaga, és a ma használatos robbanómotorokban kis átalakítás után és némi benzinnel keverve elégethető.

Metánfalók felső (Celsius-)fokon

A mai kutatások fő célja a biológiai metanolszintézis megvalósítása és a klórozott szénhidrogének lebontásának hatékonyabbá tétele. A sikeres gyakorlati hasznosításhoz olyan metánfalókra van szükségünk, amelyek különleges körülmények között is megállják a helyüket. Az egyik követelmény, hogy hőtűrők legyenek. Ennek biotechnológiai előnyeit nem nehéz belátni. Ha bizonyos folyamatok jóval az emlősök testhőmérséklete fölött mennek végbe, az csökkenti a mikrobiológiai ipari folyamatok biztonságát örökké fenyegető, kórokozó mikrobákkal való fertőzés veszélyét. A kórokozók ugyanis csak a melegvérű gazdaszervezetek 36-37 Celsius-fok körüli hőmérsékletén igazán életképesek. Magasabb hőmérsékleten a kémiai reakciók sebessége nő. A metanol 64,5 Celsius-fokon forr, és ez különösen előnyössé teszi a 65-70 Celsius-fokon működő metánfalók alkalmazását. Ezen a hőmérsékleten a mikrobák által termelt metanol gyakorlatilag keletkezésének pillanatában a gáztérbe kerül, ahonnan hűtéssel (kondenzálással) egyszerűen kivonható. Ezáltal kiküszöbölhető a metanolnak a metán-monooxigenázt gátló hatása, valamint az, hogy nagyobb koncentrációban magukra a baktériumokra is mérgező. Ha hőtűrő metánfalókkal végeztetik a klórozott szénhidrogének lebontását, ebből az az előny származik, hogy a lebontandó molekulák stabilitása csökken, ez fokozza a rendszer hatékonyságát, és bővíti a lebontható molekulák körét.

Egy metán-monooxigenáz molekula szerkezeti modellje

A metán-monooxigenázok min-den molekula oxidálásához valamilyen redukáló molekulát (redukált NADH-t*, citokrómot*) igényelnek. Természetes körülmények között ezt a metanol továbboxidálásával állítják elő a metánfalók (lásd: ábra), de a metanol kivonásával ez a lehetőség elvész. A biológiai ártalmatlanítás esetén sincs erre lehetőség, mert a lebontást ugyanaz az enzim végzi, amelynek a metánt metanollá kellene oxidálnia. A két oxidálandó anyag, a metán és a TCE kiszorítja egymást az **sMMO**-ról, és emiatt a TCE lebontása lelassul. A redukálóerőt a hangyasav nátriumsójával pótolják, de ennek két hátránya is van. Egyrészt a hangyasav viszonylag drága, másrészt a környezetet erősen savassá teszi. Kedvezőbb megoldás várható egy másik biológiai trükktől, az úgynevezett hidrogenáz enzimek alkalmazásától. A hidrogenázok a molekuláris hidrogén (H_2) hasznosítását (bizonyos esetekben termelését) végző enzimek. Sok mikroba anyagcsere-folyamataiban vesznek rész hidrogenáz enzimek, de a metánfalók közül eddig csak néhányról derült ki, hogy termel hidrogenáz enzimet.

A szegedi hőtűrők

A sikeres gyakorlati bevetéshez tehát hőtűrő, hidrogenáz-tartalmú, **sMMO**-t termelő metanotróf baktériumra van szükség. Sajnos, ilyen metánfalót a mikrobiológusok nem ismernek. A hőtűrő metánfalókról és a metánfalókban előforduló hidrogenázokról egyelőre igen keveset tudunk, így kutatásainkkal először ezeket a hézagokat kell betömnünk.
Egy, az **sMMO** jelenlétére célzottan érzékeny izolálási módszer tökéletesítésével tizennégy különböző **sMMO**-termelő metánfalót találtunk a Szeged környéki földgáztartalmú hőforrásokban. Az izolátumok 50 Celsius-fok hőmérsékletig képesek növekedni. Molekuláris biológiai és biokémiai módszerekkel kimutattuk bennük az **sMMO** enzimet. Az **sMMO**-t kódoló génszakasz szekvenciáját analizálva kimutattuk, hogy az izolátumok szoros rokonságban vannak az egyik legjobban ismert metánfalóval, az I. típusba tartozó Methylococcus capsulatus (Bath) törzzsel. Igen biztató eredményként könyveltük el, hogy olyan metanotróf is akadt közöttük, amely – bár nem nőtt 50 Celsius-fok felett – 65 Celsius-fokon is erőteljes **sMMO** aktivitással bírt. Ez arra utal, hogy az ilyen baktériumokat 45-50 Celsius-fokon felnövesztve 65 Celsius-fokon működő katalizátorhoz juthatunk.

A Methylocaldum szegediense OR2 kolóniái

Magasabb hőmérsékleteken is növekedni képes metánfalókra vadászva Colin Murrell csoportjával (Warwicki Egyetem, Anglia) együtt számos új metánfalót izoláltunk, amelyek közül kettő bizonyult igazán érdekesnek. Az első már 62 Celsius-fokon is tudott szaporodni, ami akkor új rekordnak számított. Alaposabb vizsgálata során derült fény arra, hogy egy eddig ismeretlen metánfaló-nemzetség képviselőiről van szó. A metánfaló család újabb tagját Methylocaldum szegediense névre kereszteltük. Eredményeink fényt derítettek néhány, a metánfalók rendszerezésében mintegy húsz éve fennálló tévedésre is. A másik új metánfaló (Methylothermus faj) még ennél is jobban bírja a meleget, növekedési maximuma 72 Celsius-fok. Ezekben az újonnan megismert apró élőlényekben kutatjuk a metán- és hidrogéngáz-anyagcsere közötti kapcsolatot is. Az említett metánfalók ideális jelöltjei a biológiai metanoltermelésnek, de sajnálatos módon egyikük sem képes az **sMMO** előállítására. A klórozott szénhidrogéneket tehát csak akkor tudják lebontatni, ha molekuláris biológiai, génsebészeti eszközökkel ???megtanítjuk" őket az **sMMO** bioszintézisére. Ennek minden részletét mi sem ismerjük, de sejtjük, hol található ez az információ a metanotrófok DNS-ének kettős spirálján.
Az alapkutatás eredményeképp hamarosan megszületnek a gyakorlatban hasznosítható metánfaló mikrobák. A környezetvédelem és ipar felfokozott érdeklődését jelzi, hogy 1997-ben a 8. Európai Biotechnológiai Kongresszuson Budapesten külön szimpóziumon tárgyalták a metanotrófokkal kapcsolatos újabb fejleményeket.