

# **Bachelor-Arbeit**

## **Molekulare Anpassungen von Extremophilen an mögliche extraterrestrische Habitate**



[1]

Eingereicht: 01.10.2013

Von: **Torben Kühnast,**

Matrikel-Nr.: 0330666

Thema betreut/beurteilt von:

Univ.-Prof. Dr. Kai-Uwe Fröhlich

## Inhaltsverzeichnis

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| Zusammenfassung.....                                          | 1  |
| 1    Einleitung.....                                          | 2  |
| 2    Leben, wie wir es kennen.....                            | 4  |
| 2.1    Energie und das chemische Ungleichgewicht.....         | 4  |
| 2.2    Bekannte Elemente .....                                | 4  |
| 2.3    Flüssiges Wasser.....                                  | 5  |
| 3    Origin of Life und Lithopanspermie .....                 | 5  |
| 3.1    Entstehung des Sonnensystems.....                      | 5  |
| 3.2    Late Heavy Bombardement und Lithopanspermie .....      | 5  |
| 4    Extraterrestrische Habitate .....                        | 6  |
| 4.1    Mars .....                                             | 6  |
| 4.2    Venus .....                                            | 7  |
| 4.3    Europa .....                                           | 8  |
| 5    Molekulare Anpassungen terrestrischer Extremophiler..... | 8  |
| 5.1    Radiophile und Xerophile .....                         | 8  |
| 5.2    Thermophile .....                                      | 10 |
| 5.3    Psychrophile.....                                      | 14 |
| 5.4    Halophile.....                                         | 15 |
| 5.5    Acidophile.....                                        | 16 |
| 6    Ausblick .....                                           | 18 |
| 7    Literaturverzeichnis .....                               | 21 |

## Zusammenfassung

Auf der Erde gibt es Nischen, die trotz extremer Bedingungen Leben ermöglichen. Die dort lebenden extremophilen Mikroorganismen können Hitze (121°C), Kälte (-21°C), Strahlung (15000 Gray), hohe Salzkonzentration (356 g NaCl/Liter) bzw. niedrige Wasseraktivität ( $a_w = 0,7$ ) und hohen Säuregrad ( $\text{pH} < 0$ ) überleben. Wenn man die Suche nach extraterrestrischen Habitaten um diese Faktoren erweitert, so könnte man mikrobielles Leben auch außerhalb der Erde erwarten. Diese Arbeit beschäftigt sich mit möglichen extraterrestrischen Habitaten auf dem Mars, der Venus und Europa (Jupiter) und zeigt einen kurzen Überblick, welche Hypothesen (Panspermie, bzw. Entstehung „*de novo*“) derzeit angenommen werden, wie sich Leben in unserem Sonnensystem verbreitet haben könnte. Ein Schwerpunkt liegt besonders auf den molekularen Anpassungsmechanismen, die Extremophile auf der Erde entwickelt haben, um solche Habitate zu besiedeln. Behandelt werden Radiophile, Hyperthermophile, Psychrophile, Halophile und Acidophile. Schlussendlich wird einerseits ein Ausblick gewährt, welche exobiologischen Ziele in den nächsten Jahren in Planung sind und andererseits eine Vermutung angestellt, ob Lithopanspermie von diesen Extremophilen, bzw. „*de novo*“-Entstehung in diesen Habitaten möglich ist.

# 1 Einleitung

Das Feld der Astro- bzw. Exobiologie gewinnt mit fortschreitendem Wissensgrad im Bereich Astronomie, Kosmologie, Molekular- und Mikrobiologie, aber auch Physik und Chemie immer mehr an Bedeutung. Die interessanteste Frage besteht natürlich darin, ob wir die einzigen Lebewesen im Universum sind oder intelligentes Leben auch in anderen Systemen unserer Galaxie möglich ist. Leider sind die physikalischen Rahmenbedingungen dafür sehr eng und in unserem Sonnensystem nur auf der Erde zu finden. Daher müssen Forscher andere Sonnensysteme in der Nachbarschaft beobachten, die Lichtjahre entfernt sind. Mit dezidierten Beweisen ist in den nächsten hundert Jahren jedoch nicht zu rechnen. Die Erforschung des extraterrestrischen Lebens ist damit aber bei weitem nicht abgeschlossen. Ein Teilgebiet beschäftigt sich mit den Anfängen von Leben, wie wir es kennen. Es gibt zwar eine Vielzahl an interessanten Ansätzen, Experimenten und Ergebnissen, trotz allem muss noch viel Forschungsarbeit geleistet werden, bevor dieses Rätsel endgültig gelüftet ist. Es wäre wohl die „Theory of Everything“<sup>1</sup> der Molekularbiologie. Ein weiteres, weit theoretischeres Feld bezieht sich auf Leben, wie wir es *nicht* kennen. Existiert die Möglichkeit, dass Leben auf Silizium statt Kohlenstoff basieren könnte? Arsen statt Phosphor? Methan statt Wasser? Man muss wohl davon ausgehen, dass auch hier die Überprüfbarkeit sehr gering einzuschätzen ist. Erste Versuche der NASA Arsen-basierendes Leben zu „verkaufen“ [2], sind kläglich gescheitert. Viele Gegenversuche (siehe Kommentare in [2]) beweisen, dass strain GFAJ-1 lediglich extrem Arsen-tolerant ist. Deswegen beziehe ich mich in dieser Bachelorarbeit auf einen weiteren Bereich: Leben, wie wir es kennen, mit molekularen Mechanismen, die bekannt sind, auf solaren Planeten, dessen Bedingungen bekannt sind oder demnächst überprüft werden.

Wir wissen, dass die heutige Welt des Lebens aus wenigen Grundbausteinen besteht, die überall gleich sind: 20 Aminosäuren, 5 Basen und 2 Zucker. Dieses Grundgerüst erlaubt einen erweiterten physikalischen und physiologischen Rahmen, der nicht auf lediglich 37°C und einen pH-Wert von 7,4 reduziert ist. Einzellige, extremophile Mikroorganismen der Eukaryonten, Bakterien und besonders der Archaeen bevölkern fast alle Nischen, die derzeit auf der Erde bekannt sind. Ziel ist, die Extremophilen zu definieren, ihre Physiologie zu verstehen und in Kontext zu extraterrestrischen Habitaten zu setzen.

Diese Arbeit beginnt mit einer rudimentären Definition des Lebens und einem Blick in die frühe Phase des Sonnensystems. Dabei kommen zwei Möglichkeiten in Frage, wie frühes mikrobielles Leben auf die Planeten gekommen sein könnte: „*de novo*“-Entstehung über chemische Evolution oder Panspermie – also der interplanetare Transport nach einem Asteroideneinschlag. Reist man weiter in die Ge-

---

<sup>1</sup> Weltformel. Eine Theorie in der Physik, die alle physikalischen Phänomene erklären könnte.

genwart, so kommen nach derzeitigem Stand der Forschung zumindest drei Planeten in Frage, die noch heute Leben beherbergen könnten: der Mars unter der Oberfläche, Jupiters Mond Europa in einem unterirdischen See und Venus in ihrer oberen Atmosphäre.

Diese extraterrestrischen Habitate könnten von Extremophilen bewohnt sein, die sich an extreme Hitze (121°C), Kälte (-21°C), Strahlung (15000 Gray), hohe Salzkonzentration (356 g NaCl/Liter), niedrige Wasseraktivität ( $a_w = 0,7$ ) und hohen Säuregrad ( $\text{pH} < 0$ ) gewöhnt haben.

All diese Extreme verlangen spezifische molekulare Anpassungen. Hyperthermophile Archaeen benutzen eine Mono-Membran, die nicht in Form einer herkömmlichen Doppelschicht organisiert ist. Dadurch gewinnt sie deutlich an Festigkeit und Undurchlässigkeit. Radiophile haben erstaunliche Mechanismen entwickelt, um DNA-Schäden zu reparieren. Psychrophile können durch eigens produziertes Frostschutzmittel selbst bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt wachsen, und Acidophile schaffen es, in einer Umgebung zu überleben, die statt einem Proton 10 Millionen Protonen enthält.

Schlussendlich werden einige der nächsten Projekte der exobiologischen Forschung angesprochen. Und es wird anhand der Komplexität und Energieeffizienz der jeweiligen molekularen Mechanismen eine Vermutung angestellt, ob sich die extremen Umgebungen für die „de novo“ Entstehung eignen, bzw. welcher Evolutionsgrad notwendig ist, um Panspermie zu überleben.

## 2 Leben, wie wir es kennen

Biologen versuchen seit jeher ihre eigene wissenschaftliche Domäne zu definieren, die Eigenschaften des Lebens klar zu begrenzen. Die unbegreifliche Komplexität des Lebens verhindert dies jedoch bis heute. Selbst bei vermeintlich einfachen und bekannten Objekten wie Viren zerfließen die Grenzen und eine klare Definition ist nicht mehr möglich. Wenn man sich im Feld der Exobiologie betätigt, Planeten betrachtet oder die Vergangenheit analysiert, muss man die Grenzen auf ein Maß reduzieren, die wissenschaftlich und experimentell in nicht allzu ferner Zukunft nachzuvollziehen und zu überprüfen sind.

Dies erreicht man, indem man das Grundgerüst des Lebens, wie wir es kennen, auf folgende Bereiche reduziert: ein chemisches Ungleichgewicht zur Energiegewinnung, die wichtigsten Bauelemente (C, H, O, N, S, P) und flüssiges Wasser. Ein Planet, der diese Voraussetzungen erfüllt, beherbergt noch lange kein Leben. Ohne sie ist Leben, wie wir es kennen, jedoch nicht möglich.

### 2.1 Energie und das chemische Ungleichgewicht

Es gibt viele Energiequellen, die theoretisch genutzt werden könnten, wie z.B. Licht, thermisches oder chemisches Ungleichgewicht, Gravitation oder Radioaktivität. Betrachtet man jedoch Leben auf der Erde, dann ergeben sich zwei unabhängige Quellen: Licht an der Oberfläche und chemische Energie in hydrothermalen Quellen. Mögliche Energiequellen unterliegen weiteren Beschränkungen, wenn man sie in Bezug zu extraterrestrischen Habitaten setzt. Es gibt derzeit keinen flüssigen Ozean aus  $H_2O$  auf anderen Planeten, auf denen Photosynthese oder eine rudimentärere Lichtreaktion möglich wäre. Was jedoch überall in unterschiedlichen Ausführungen besteht, sind chemische Ungleichgewichte. Organismen, die auf der Erde solche Habitate bewohnen, heißen Chemolithotrophe. Dabei handelt es sich um Mikroorganismen, die aus einem chemischen Ungleichgewicht Energie gewinnen können. Zum Beispiel können hydrogenotrophe Methanogene Wasserstoff ( $H_2$ ), der aus einem Geysir oder "Black Smoker" durch Vulkanaktivität entweicht, mit vorhandenem Kohlendioxid ( $CO_2$ ) so metabolisieren, dass Energie, Methan ( $CH_4$ ) und Wasser entsteht. Methan und Wasser gelten deswegen als Indikatoren für mögliches Leben, wobei beides auch abiotisch entstehen kann.

### 2.2 Bekannte Elemente

Der Prozess des Lebens benötigt größtenteils die Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Phosphor und Schwefel. Diese müssen auf den Planeten in entsprechender Menge vorhanden sein, um Leben, wie wir es kennen, zu ermöglichen.

## 2.3 Flüssiges Wasser

Der wichtigste und variantenreichste Aspekt ist jedoch flüssiges Wasser. Ohne dieses Lösungsmittel kann kein Leben gedeihen. Die Grenzen des flüssigen Wassers auf der Erde werden in weiterer Folge genauer analysiert und auf extraterrestrische Habitate übertragen.

## 3 Origin of Life und Lithopanspermie

### 3.1 Entstehung des Sonnensystems

Man geht davon aus, dass sich das Sonnensystem vor 4,568 Milliarden Jahren aus dem Interstellaren Nebel zu entwickeln begann [3]. Innerhalb weniger Millionen Jahre bildeten sich die ersten Protoplaneten, darunter die Protoerde. Nach der gängigsten Theorie (Great Impact Theory) folgte nach 62 (-10,+90) Millionen Jahren nach Entstehung des Sonnensystems der Zusammenstoß eines Mars-großen Körpers mit der Protoerde [4–7]. Mond und Urerde entstanden. Die Urerde, wie auch auf ähnliche Weise entstandene Körper im Sonnensystem, wiesen damals andere Eigenschaften auf als heute. Der Großteil war noch geschmolzen (oder zumindest thermisch höchst aktiv) und besaß andere Atmosphärenzusammensetzungen als heute. Außerdem enthielt das Sonnensystem Eiskometen in großer Zahl, die regelmäßig Wasser und organische Moleküle auf die Planeten brachten [8]. So ist es durchaus möglich, dass so gut wie jeder Planet des Sonnensystems in der Anfangsphase eine warme Kruste und flüssiges Wasser besaß, bevor dies durch schwache Gravitation entwich oder mit der Zeit gefror.

### 3.2 Late Heavy Bombardement und Lithopanspermie

Über die ersten 700 Millionen Jahre bestand das Sonnensystem aus weit mehr Asteroiden und Kometen als heute. Die Einschlagfrequenz während des "Late Heavy Bombardement" war drastisch erhöht. Dadurch bestand die Gefahr, dass Leben auf Planeten und Planetoiden immer wieder (zumindest teilweise) ausgelöscht wurde [9]. Auf der anderen Seite ermöglichten die Einschläge die Lithopanspermie [10]. Durch Asteroid-Einschläge wurden seit jeher Gesteinsbrocken aus der Oberfläche herauskatapultiert, die auf anderen Planeten landeten (und auch heute noch landen). Dass Mikroorganismen innerhalb eines Gesteins die Fähigkeit besitzen die Beschleunigung durch den Einschlag und die Strahlung während der Reise durchs Sonnensystem zu überleben, haben Experimente gezeigt [11; 12]. Folgt man diesen Hypothesen weiter, besteht durchaus die Wahrscheinlichkeit, dass, neben der Möglichkeit Leben sei überall unabhängig voneinander "*de novo*" entstanden, es zu Anfangszeiten sogar regen Austausch zwischen den Planeten gegeben haben könnte. Die Annahme, Leben und die darauf folgende Evolution könnte zu Beginn auf jedem Körper des Sonnensystems mit entsprechenden Voraussetzungen gestartet haben, scheint vor diesem Hintergrund nicht mehr abwegig. Welche Planeten Mikroorga-

nismen unter welchen Bedingungen bis heute beherbergen könnten, wird im folgenden Abschnitt erläutert.

## 4 Extraterrestrische Habitate

In unserem Sonnensystem gibt es drei Kandidaten, die möglicherweise Leben, wie wir es kennen, bis heute ermöglichen: Mars, Venus und Europa, auf die einzeln eingegangen wird. Der vierte Kandidat, Titan (Mond des Saturns), wurde zwar mit sehr hohen Erwartungen u.a. mit einem „Lander“ erkundet (Huygens-Mission, Dez. 2004). Hier stellte sich jedoch heraus, dass bei  $-180^{\circ}\text{C}$  statt  $\text{H}_2\text{O}$  ein Methan-Kreislauf in einer Stickstoffatmosphäre vorliegt [13; 14]. Die Bilder vermitteln eine entfernte Vertrautheit, jedoch mit Flüssen und Regen aus Methan und vermutlich  $\text{H}_2\text{O}$ -Brocken als Geröll. Sollte dort Leben existieren, müsste es in Methan als Lösungsmittel entstanden sein und hätte mit uns wenig gemein.

### 4.1 Mars

Der Mars ist ein Gesteinsplanet, der ca. 1,5 AE (die Distanz Erde - Sonne ist gleich 1 Astronomische Einheit) von der Sonne entfernt ist. Er besitzt nur eine dünne Atmosphäre von etwa 6 mbar, bestehend aus 95,9%  $\text{CO}_2$ , 1,9% Ar und 1,9%  $\text{N}_2$  [15]. Messungen und Beobachtungen lassen vermuten, dass unter der Oberfläche gefrorenes Wasser vorliegen kann [16].

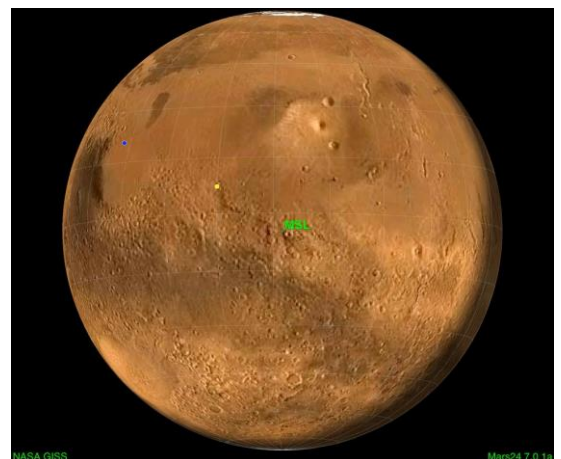


Abbildung 1 – Der Mars, zentriert auf die Landungsstelle von Curiosity (MSL). [17]

Die Temperatur liegt zwar durchschnittlich bei  $-53^{\circ}\text{C}$ , in den Sommermonaten, mittags am Äquator, kann es jedoch bis zu  $20^{\circ}\text{C}$  warm werden [18]. Wegen der Trockenheit und der ungefilterten Strahlung könnte Leben heute auf dem Mars nur knapp unter der Oberfläche vorhanden sein. Entweder existiert es im Bereich des periodisch auftauenden Äquators als chemolithotrophe psychrophile Endolithe<sup>2</sup>, die periodisch zwischen Frost und flüssigem Wasser wechseln. Oder es lebt, wie auf der Erde kilometer-tief in der Kruste (Endolithe), wo die Wärme des Kerns das Wasser verflüssigt. Dass Leben bei  $0^{\circ}\text{C}$  und entsprechender Atmosphärenzusammensetzung des Mars wachsen kann, zeigen neueste Studien an *Carnobacterium* ssp. und der Flechte *Circinaria gyrosa* [19; 20].

---

<sup>2</sup> Psychrophile Mikroorganismen leben bei niedrigen Temperaturen bis unter den Gefrierpunkt. Endolithe leben tief in den Gesteinsschichten.

## 4.2 Venus



Abbildung 2 – Venus. [22]

Die Venus liegt mit 0,723 AE auf einer näheren Umlaufbahn um die Sonne als wir. Durch die relative Nähe, als auch einen starken Treibhauseffekt, hat sich die Oberfläche auf eine Durchschnittstemperatur von 453°C aufgeheizt. Die Atmosphäre weist einen Druck von ca. 92 bar auf mit einer Zusammensetzung von 96% CO<sub>2</sub> und 3% N<sub>2</sub> [21]. Während diese Bedingungen für Leben, wie wir es kennen, nicht zuträglich sind, ändert sich das, je weiter man in der Atmosphäre aufsteigt.

Es gibt zwei Wolkenschichten, deren Temperaturen lebensfreundliche ~70°C haben. Schulze-Makuch fasste 2013 eigene und andere Veröffentlichungen über die Bewohnbarkeit der unteren Wolkenschicht zusammen [23]. Diese beinhalten unter anderem, dass die Wolken in größerem Maßstab und längeren (evtl. geologischen) Zeiträumen vorhanden sind als auf der Erde. Sie enthalten Wasserdampf in einer Konzentration von mehreren hundert ppm<sup>3</sup> und ein chemisches Ungleichgewicht, bestehend aus H<sub>2</sub> und O<sub>2</sub>, neben H<sub>2</sub>S und SO<sub>2</sub>. Die Temperaturen schwanken von 27°C bis 77°C, weisen einen Druck von 10<sup>5</sup> Pa (=1 bar) auf und einen pH von 0. Desweiteren wurden nicht-sphärische Partikel von mikrobieller Größe entdeckt, COS<sup>4</sup> und geringere Mengen von CO<sup>5</sup> als erwartet [23].

Während diese Indizien für sich noch lange keinen Beweis für Leben darstellen, gibt es für jede extreme Eigenschaft der Venus-Atmosphäre vergleichbare, reichlich bewohnte Habitate auf der Erde. H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S und SO<sub>2</sub> kann von Chemolithotrophen metabolisiert werden. Thermophile leben bei über 100°C und Xerophile bei einer Wasseraktivität  $a_w$  von 0,7 (Trockenheit von Frühstückscerealien). Schlussendlich können Acidophile auch die Hürde von pH 0 problemlos überwinden. Wenn man annimmt, dass Leben auf der Venus im Laufe der atmosphärischen Veränderung (von evtl. gemäßigt auf 400°C) über Selektionsprozesse die Möglichkeit hatte sich an diese Bedingungen anzupassen, könnten sich diese gefundenen Partikel tatsächlich als Mikroorganismen erweisen. Welche molekularen Anpassungen notwendig wären, um diese Bedingungen zu überleben, werden in den entsprechenden Kapiteln über Extremophile behandelt.

<sup>3</sup> 1 ppm = 1 parts per million = 0,0001%

<sup>4</sup> Carbonylsulfid

<sup>5</sup> Kohlenmonoxid

### 4.3 Europa

Europa befindet sich im Orbit um Jupiter, die beide ~5,2 AE von der Sonne entfernt sind. Durch die Distanz herrscht auf ihr durchschnittlich  $-170^{\circ}\text{C}$  [24; 25]. Hypothesen über das Innenleben des Mondes mit einem Durchmesser von ~1560 km (ähnlich wie der Erdenmond) sagen einen Silikat/Metallkern voraus, der von einer ~100 km dicken Schicht aus  $\text{H}_2\text{O}$  umgeben ist [26]. Es gilt als am wahrscheinlichsten, dass ein Großteil des Wassers flüssig sein könnte [27]. Dies entspricht doppelt so viel Wasser wie in den Ozeanen der Erde enthalten ist.

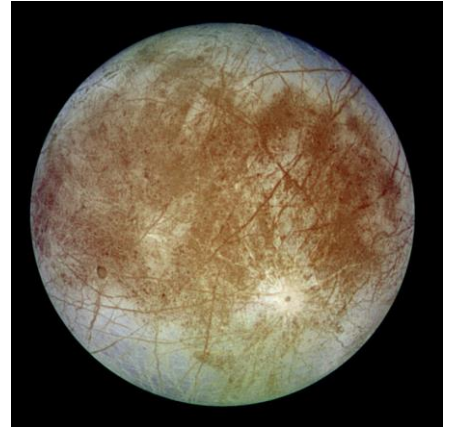


Abbildung 3 – Europa (Mond von Jupiter). [28]

Leben könnte auf Europa auf zwei Energiequellen zurückgreifen. Einerseits befindet sich Europa direkt am Rand des Magnetfelds von Jupiter. Die Strahlung erreicht innerhalb des ersten Zentimeters der Oberfläche eine Dosis von 3000 Gy/Monat [27; 29]. Dadurch entstehen durchgehend Oxidationsmittel wie  $\text{H}_2\text{O}_2$  und  $\text{O}_2$  im Eis der Oberfläche. Durch ständige Grabenbildung und Konvektion des Eises können diese Partikel über geologische Zeiträume ins Innere gelangen. Andererseits können (wie auch auf der Erde) durch thermale Flüsse aus dem Kern  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$  oder Fe in den Ozean strömen. All das könnte zu einem chemischen Ungleichgewicht führen, welches chemolithotrophen Extremophilen als Energiequelle dient. Hier wären vor allen Dingen psychrophile (Kälte an der Oberfläche), thermophile (Hitze des Kerns), radiophile (Strahlung der Oberfläche), piezophile<sup>6</sup> (überall) und halophile (je nach Salzgehalt) Eigenschaften benötigt.

Es gibt noch weitere planetare Kandidaten im Sonnensystem, die mit ihren Habitaten die Grenzen Erd-Extremophiler schneiden könnten. Dies wäre z.B. Jupiters Mond Ganymed, Saturns Mond Enceladus oder der Zwergplanet Ceres im Asteroidengürtel. Aufgrund von fehlenden Daten über flüssiges Wasser begäbe man sich (derzeit) jedoch noch zu weit in den Bereich der Spekulation. Grundsätzlich scheinen sie jedoch Bedingungen aufzuweisen, die denen Europas ähneln.

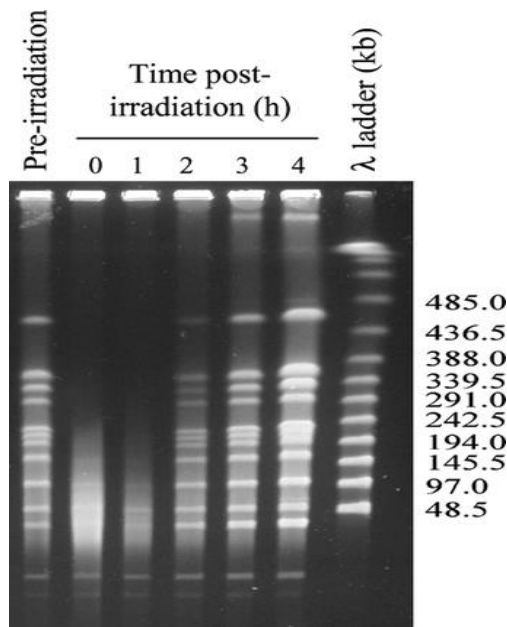
## 5 Molekulare Anpassungen terrestrischer Extremophiler

### 5.1 Radiophile und Xerophile

Während der Mensch eine Strahlungs-dosis von 5 Gy kaum überlebt, können radiophile Mikroorganismen Dosen von 5000 Gray (Gy) problemlos vertragen. Experimente haben gezeigt, dass diese Strahlungsmenge ca. 200 dsDNA Brüche, 3000 ssDNA Brüche und 1000 veränderte Basen der Nukleotide

<sup>6</sup> Piezophile = Barophile: An hohen Druck angepasste Mikroorganismen

innerhalb eines *Deinococcus radiodurans* Genoms verursachen [30]. Vor dem Hintergrund, dass wenige Doppelstrangbrüche selbst Mikroorganismen wie *Escherichia coli* signifikant dezimieren, wirkt diese Regenerationsfähigkeit erstaunlich [31]. Noch erstaunlichere Erkenntnisse liefert ein Experiment an *D. radiodurans*. Der Radiophile wurde mittels 6800 Gy regelrecht fragmentiert. Nach Gelelektrophorese der Genom-DNA zeigte sich ein Schmier von ca. 50-100kbp großen Fragmenten (Abbildung 4). Ließ man *D. radiodurans* jedoch 4 Stunden Regenerationszeit, dann fügten sich nicht nur die



Bruchstücke in korrekter Reihenfolge wieder aneinander, die DNA Menge erhöhte sich auch noch signifikant [32].

Kurze, hochenergetische Strahlungsdosen, die *D. radiodurans* überstehen kann, reichen bis 15.000 Gray. Selbst bei 25.000 Gray überleben noch 1% der ursprünglichen Zellmenge [33].

Daher ist es bis heute der Musterorganismus der Radiophilie und wurde schon 1999 sequenziert [34].

**Abbildung 4 - Verlauf der Doppelstrangbruch-Reparatur von *Deinococcus Radiodurans* (von Blasius et al., [32]).** *D. radiodurans* R1 Bakterium wurde in TGY2X-Medium bis zu einer OD<sub>650</sub> von 2 inkubiert, zehnfach konzentriert und einer Strahlung von 6.800 Gy  $\gamma$ -Strahlung ausgesetzt. Danach wurde es in TGY2X auf eine OD<sub>650</sub> auf 0,2 verdünnt und bei 30°C zur Regeneration im Schüttelinkubator inkubiert. Proben der DNA wurde jeweils nach 0 – 4 Stunden (Abszisse) entnommen, mit Not1 geschnitten und zusammen mit Hilfe von Pulsed-Field Gelelektrophorese aufgetrennt. Die Banden, die vor der

Fragmentierung zu sehen waren, haben sich exakt zurückgebildet.

Die molekularen Anpassungsmechanismen sind bis heute nicht gänzlich erforscht. Was jedoch auffällt, ist, dass *D. radiodurans* in der stationären Phase 4 homologe Chromosomen, in der exponentiellen Phase sogar 10 homologe Chromosomen nebeneinander vorliegen hat [35]. Die gesamte genetische Information ist somit nicht 4-mal (diploid), sondern 8 bis 20 mal gespeichert. Zusätzlich liegt das Genom in vielen Radiophilen nicht größtenteils frei im Bakterium, sondern kondensiert vor [36; 37]. Die Möglichkeit von DNA, sich nach Doppelstrangbrüchen räumlich voneinander zu entfernen, wird reduziert. Dies wiederum spielt auch eine wichtige Rolle bei den Reparaturmechanismen. Erst durch die räumliche Nähe führt eine Reparatur durch "non-homologous endjoining" (NHEJ) deutlich seltener zur Mutation. Hierbei werden zwei dsDNA Enden direkt miteinander ligiert. Die Verifikation über Homologie, ob diese Enden denn auch zusammengehören, bleibt aus. Obwohl der Mechanismus noch nicht experimentell nachgewiesen wurde, scheint es indirekte Hinweise für dessen Existenz in radiophilen Bakterien zu geben [36; 33]. Zum Beispiel wurde das Protein PprA des NHEJ-Mechanismus entdeckt, das nur bei Strahlungsüberdosen exprimiert wurde. Entfernte man es gentechnisch, erhöhte sich die Strahlungsempfindlichkeit [38; 39]. Neben allgemein bekannten Mechanismen, wie homologe Rekombination und "single-strand annealing", vermuten Zahradka et al. 2006 den "extended synthesis-dependent strand annealing"-Mechanismus, kurz ESDSA. Nachdem sich durch Strahlung oder Aus-

trocknung nur noch chromosomale Fragmente in der Zelle befinden, dienen diese mit überlappenden Homologen gegenseitig sowohl als Primer, als auch als Template für die Synthese von komplementären Einzelsträngen [40]. Über RecA-abhängiges Crossing-Over entstehen schlussendlich zirkuläre Chromosomen, die aus einem Flickenteppich von alter, sowie neu synthetisierter DNA bestehen [40]. Die Beobachtung im Beispiel oben, dass es zu einer massiven DNA-Zunahme nach erfolgreicher Reparatur kommt, lässt sich über diesen Mechanismus erklären.

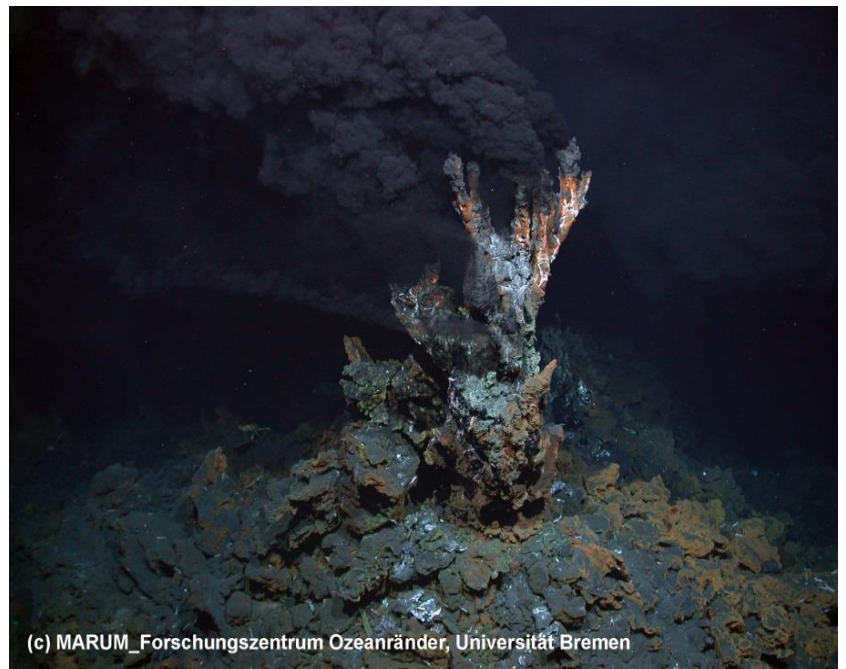
UV-Strahlung, aber auch Austrocknung, führt zur Bildung von Oxidationsmitteln wie Hydroxylradikalen ( $\text{OH}^*$ ), Superoxid ( $\text{O}_2^-$ ) oder auch das vergleichsweise etwas weniger reaktive Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Diese beschränken sich nicht nur auf DNA, sondern greifen auch alle anderen Bestandteile der Zellen an. Radiophile Mikroorganismen besitzen deswegen eine Reihe von Enzymen mit antioxidativer Wirkung: Katalase wandelt Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff um ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ), Peroxidase reduziert Wasserstoffperoxid mit Hilfe von NADH ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+$ ), Superoxiddismutase katalysiert die Entschärfung von Superoxid-Molekülen zu Wasserstoffperoxid ( $\text{O}_2^- + \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$ ) und Superoxidreduktase aus dem Archaeon *Pyrococcus furiosus* reduziert Superoxid zu  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{cyt } c_{\text{red.}} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{cyt } c_{\text{ox.}}$ ), wobei gleichzeitig anoxische Bedingungen aufrecht erhalten werden [41]. Mutanten von *Deinococcus radiodurans* ohne Katalase oder Superoxiddismutase büßen an Strahlungsresistenz ein [42]. Dieser Mechanismus wird durch eine weitere Anpassung unterstützt, indem die resistentesten Radiophilen oftmals 300-fach höhere Mangan-Konzentrationen aufweisen und gleichzeitig die Eisen-Konzentration auf ein Drittel reduzieren. Mangan wirkt u.a. als Co-Faktor der Superoxiddismutase, während Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) die Fenton-Reaktion katalysiert (Spaltung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  in Hydroxidion ( $\text{HO}^-$ ) und das reaktive Hydroxyl-Radikal:  $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{OH}^* + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$ ) [43].

Da es auf der Erde kaum Habitate mit hoher Strahlung gibt, geht man davon aus, dass extreme Toleranz gegenüber ionisierender Strahlung vormals eine Anpassung an oxidativen Stress durch Austrocknung darstellte [44; 45]. Radiophile und Xerophile haben somit fundamental ähnliche molekulare Anpassungsmechanismen.

## 5.2 Thermophile

In die Kategorie der Thermophilen gehören alle Organismen, die bei Temperaturen über  $45^\circ\text{C}$  optimal wachsen können. Ab einer Grenze von  $80^\circ\text{C}$  nennt man sie Hyperthermophile, wobei sich in dieser Gruppe ausschließlich Archaeen und Bakterien befinden. Die bekanntesten Vertreter wurden in 3500 Meter Tiefe in hydrothermalen Quellen („Black Smoker“) entdeckt. *Pyrolobus fumarii* benötigt für optimales Wachstum  $106^\circ\text{C}$  und überlebt maximal  $113^\circ\text{C}$  bei 25MPa. Unter  $90^\circ\text{C}$  ist kein Wachstum zu verzeichnen [46]. Strain 121 (*Geogemma barossii*), der derzeitige Spitzenreiter, wurde 2003

identifiziert und kann bei 121°C wachsen [47]. Dies entspricht Bedingungen des Autoklaven, der unter normalen Umständen alles Leben eliminieren sollte. Wo genau die physikalische Grenze für Leben, wie wir es kennen, liegt, ist schwer einzuschätzen. Auf der einen Seite stehen kurze Halbwertszeiten vieler essentieller Moleküle, auf der anderen Seite effiziente molekulare Anpassungen, die die Zelle vor thermischen Auswirkungen schützen.



**Abbildung 5 – Schwarzer Raucher. Bis zu 400°C heißes Wasser fließt aus den Schloten. Die schwarze Farbe entsteht durch die Fällung von Eisensulfid [48].**

Betrachtet man die zwei wichtigsten Stoffwechselwege von Mikroorganismen, den Embden-Meyerhof-Weg (EMW, bzw. Glykolyse) und den Entner-Doudoroff-Weg (EDW), so enthalten sie Metabolite, die bei entsprechenden Temperaturen innerhalb von Minuten hydrolysieren. Glycerinaldehyd-3-Phosphat (GAP) hat eine Halbwertszeit von 3,4 Minuten bei 80°C [49], Phosphoenolpyruvat (PEP) von 6 Minuten bei 90°C [50] und 1,3-Bisphosphoglycerat (1,3BPG) gerade einmal 1,6 Minuten bei 60°C [51]. Ohne entsprechende Mechanismen wäre Leben über 100°C unmöglich. Ein Ansatz liegt darin, die labilsten Moleküle ganz aus dem Stoffwechsel zu entfernen oder möglichst schnell zu verstoffwechseln. Dafür wird z.B. von hyperthermophilen Archaeen wie *Pyrococcus furiosus* ein modifizierter EMW/EDW verwendet [52; 53]. Der nicht-phosphorylierende EDW verzichtet gänzlich auf die Phosphorylierung von Glucose zu Beginn [54]. Dadurch entsteht im Verlauf 2-Keto-3-Desoxy-Gluconat ohne Phosphat, und statt GAP Glycerinaldehyd. Das thermisch hochlabile GAP, wie auch Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) und 1,3BPG, wird nicht gebildet. Die Energiebilanz verschlechtert sich dahingehend, dass NAD(P)H zwar reduziert wird, die ATP-Bilanz jedoch ohne Netto-Gewinn auskommen muss.

Die wichtigsten Energiespeicher weisen höhere Halbwertszeiten auf: NADH liegt bei 80°C bei 112 Minuten [49], ATP bei 90°C bei 115 Minuten [55]. Das liegt zwar deutlich über GAP, vergleicht man ATP jedoch mit ADP (750 Minuten bei 90°C), so macht es Sinn, dass Hyperthermophile zumindest teilweise auf ADP zurückgreifen - wie *P. furiosus* bei der „ADP-abhängigen Glucokinase“ [56]. Man sieht, dass mit höherer Temperatur auch höherer Aufwand betrieben werden muss, um den thermischen Kräften entgegen zu wirken. Burgess et al. gehen davon aus, dass die Grenze für Leben, wie wir es kennen, allein aufgrund der Instabilität der Moleküle bei maximal ~150°C anzusetzen ist [57; 58].

Die Membran der Hyperthermophilen muss bei erhöhter molekularer Bewegung Stabilität gewährleisten, die flüssigkristalline Struktur aufrechterhalten und für Ionen und Protonen undurchlässig bleiben. Letzteres ist besonders wichtig, da der Energiegewinn u.a. durch Atmung größtenteils von einem Protonengradienten abhängt. Hier weisen Archaeen und Bakterien unterschiedliche strukturelle Lösungen auf. Bakterien besitzen die uns bekannte Phospholipiddoppelschicht. Als Anpassung an die Hitze sind die Fettsäure-Ketten jedoch länger und gesättigt. Dadurch liegen die längeren Ketten mit stärkeren hydrophoben Wechselwirkungen ohne Unterbrechung durch Doppelbindung nebeneinander und der Schmelzpunkt erhöht sich. Bei hohen Temperaturen behält die Membran dadurch ihre Integrität, bei niedrigeren Temperaturen härtet sie jedoch wie Wachs aus und macht ein Leben entsprechend unmöglich. Archaeen hingegen setzen ihre Kohlenstoffketten aus Isopreneinheiten zusammen. 4 davon ergeben eine Kette von 16 Kohlenstoffatomen mit 4 Methyl-Resten. Zwei dieser Ketten sind an ein Glycerin über eine Etherbindung gebunden (=Glyceroldiether) [59]. Dadurch (also Ether statt Ester) sind Archaeen besser gegen thermische Prozesse und Oxidationsprozesse geschützt. In einigen Hyperthermophilen sind die zwei Kohlenstoffketten sogar kovalent zu einer Kette gebunden. Dadurch entsteht eine stabilere Monolipidschicht aus Bis-Glycerol-Tetraether. Interessant hierbei ist, dass diese Schicht ohne Phasenübergang im Bereich zwischen -10°C bis über 100°C flüssigkristallin bleibt [60]. Auch generell zeigt die Monolipidschicht geringere Durchlässigkeit für Protonen und Ionen [61]. Die Membran der hyperthermophilen Archaeen *Sulfolobus solfataricus* und *Thermoplasma* bestehen zu 90% aus Bis-Glycerol-Tetraether. Zusätzlich zyklisieren sie Isopreneinheiten zu 2 Cyclopentanringen innerhalb einer C40-Kette (englisch crenarchaeol), was zusätzlich mehr Festigkeit in die Membran bringt [62].

Proteine in Hyperthermophilen sind ebenfalls gezwungen eine kompaktere Form anzunehmen. Kumar et al. fassen einige Anpassungen zusammen: insgesamt eine größere Hydrophobie, verstärktes Auftreten von Aminosäure-Resten, bzw. Strukturen mit einer  $\alpha$ -helikalen Konformation, Deletion bzw. Verkürzung von Loops, vermehrtes Auftreten von größeren, verzweigten und geladenen funktionellen Gruppen, verbessertes Packen im Proteinkern, kleinere und insgesamt weniger Hohlräume und verstärkte polare und geladene Interaktion zwischen den Aminosäure-Resten [63]. Die hydrophoben Abschnitte im Inneren werden somit verdichtet, um die van-der-Waals Kräfte zu optimieren. Ionenbindungen gewinnen u.a. aufgrund der größeren Reichweite von 4 Å bei Temperaturen ab 100°C an Wichtigkeit [64]. Darum wird in den äußeren Abschnitten vermehrt auf Ionenbindungen, in Tertiär- und Quartärstruktur, gesetzt [65].

Wenn man bedenkt, dass 95°C in einer PCR ausreichen, um DNA vollständig zu denaturieren, so wird ersichtlich, welche Herausforderungen Hyperthermophile bei 121°C zu bewältigen haben. Die Wasserstoffbrücken werden vollständig getrennt. Aber auch die Nukleotide selbst erleiden chemische Verän-

derungen, die die Information zerstören. Zwischen (Desoxy-)Ribose und entsprechender Base kann die N-glycosidische Bindung gespalten werden. Aber auch hydrolytische Desaminierung von Cytosin und Adenin zu Uracil und Hypoxanthin findet statt. RNA ist durch die 2'-Hydroxygruppe an der Ribose anfälliger für hydrolytische Spaltungen der Esterbindung am Phosphat.

Insgesamt ist ein Prozess zu beobachten, in welchem die Zusammensetzung der RNA (nicht aber DNA) Richtung G:C geht. Durch drei statt zwei Wasserstoffbindungen steigt der Schmelzpunkt und damit die Stabilität in hydrothermalen Gewässern. Die Stämme von untersuchter tRNA in Hyperthermophilen bestehen fast ausschließlich aus G:C Basenpaaren [66]. Die erhöhte G:C Basenpaarung korreliert eindeutig mit der optimalen Wachstumstemperatur entsprechender Mikroorganismen [67].

Als weiteren Schutz besitzen Hyperthermophile erhöhte  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  und  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentrationen. Die Kationen schützen dsDNA, indem sie das negativ geladene Phosphat-Rückgrat stabilisieren [68]. Auch die tRNA Stabilität steigt durch die Präsenz von  $\text{Mg}^{2+}$  [69]. Weit verbreitet sind lange und verzweigte Polyamine. Auch hier wirkt die positive Ladung der Amine als Stabilisator der DNA [70]. Mit einem quartären Polyamin (englisch tetrakis[3-aminopropyl]ammonium) in Verbindung mit tRNA konnte der höchste Schmelzpunkt erreicht werden [70]. Es wird angenommen, dass die „Ballstruktur“, bzw. die positiven Ladungen des Polyamins stabilisierend mit den drei-dimensionalen Begebenheiten der tRNA interagieren. Solche Polyamine wurden bisher nur in Hyperthermophilen entdeckt; bei genetischer Entfernung entsprechender Syntheseeenzyme verlieren sie an Hitzeresistenz.

Auch die posttranskriptionelle Modifikation von RNA-Molekülen spielt bei Hyperthermophilen eine wichtige Rolle. So kann zum Beispiel Cytidin zu „N4-acetyl-2'-O-methylcytidin“ (kurz ac4Cm in der Datenbank für RNA Modifikationswege<sup>7</sup>) zweifach modifiziert werden. Durch die Methylierung am 2'-OH der Ribose wird die Hydrolyse der daneben liegenden Phosphodiester-Bindung erschwert. Weiters wird am N4 des Cytosin ein Acetyl-Rest angehängt. Die Polarität verschiebt sich leicht, wodurch die Kraft der Wasserstoffbrücke zum gegenüberliegenden Guanin verstärkt wird. Auch andere Nukleotide erfahren ähnliche Modifikationen. So kann eine einzige Modifikation in *Bacillus subtilis* die Schmelztemperatur im Bereich der Modifikation um 20°C erhöhen. Dabei wird ein Nukleotid (T54) der Tryptophan-tRNA thioliert [69; 71].

Zum Thema Topologie sei schlussendlich noch die Reverse Gyrase erwähnt, die in allen Hyperthermophilen unter Hitzestress exprimiert wird. Dabei handelt es sich um ein Fusionsprotein aus einer Typ IA DNA Topoisomerase, die *positive* Supercoils in dsDNA einführt, und einer Helikase. Weiters partizipiert sie bei DNA-Reparaturprozessen und interagiert mit SSB (single-strand-binding protein) [72; 73]. Ob die Reverse Gyrase, bzw. positives Supercoiling, direkt zu erhöhter Thermostabilität

---

<sup>7</sup> <http://modomics.genesilico.pl/modifications/ac4Cm/> (Stand September 2013)

führt, oder ob es als Regulator, bzw. eine Art Signaltransduktion für die Aktivierung von thermorelevanten Enzymen dient, ist derzeit noch nicht gänzlich geklärt und Ziel intensiver Forschung [74].

### 5.3 Psychrophile

Psychrophile Mikroorganismen leben an der Grenze zu gefrorenem Eis. Das Temperatur-Optimum liegt bei maximal 12°C, die maximale Überlebenstemperatur bei 20°C und die minimale Temperatur, bei der derzeit metabolische Aktivität gemessen werden konnte, bei -20°C [75]. Die minimale Grenze ist jedoch nicht absolut, sondern fließend. Mit der richtigen Salzkombination und -konzentration ist auch bei niedrigeren Temperaturen (Bereich -30°C bis -40°C) flüssiges Wasser möglich. Die extremen Psychrophilen müssen entsprechend auch gegen hohe Salzkonzentrationen (Halophile) und Wasserentzug gerüstet sein. Der Großteil der habitablen Zone innerhalb Europas (Mond) dürfte psychrophile Anpassungen erfordern. Interessant hierbei ist, dass zu diesem Thema ein überprüfbares Versuchslabor auf der Erde existiert: der Wostoksee in der Antarktis. Näheres dazu folgt im Ausblick.

Niedrigere Temperaturen bedeuten geringere thermische Energie und somit langsamere Teilchenbewegungen. Hydrophobe Wechselwirkungen, die unter mesophilen Bedingungen z.B. eine flüssigkristalline Phase in der Membran erlauben, können durch die niedrigere thermische Energie höhere intermolekulare Kräfte entwickeln. Die Phase wird viskoser, bzw. verfestigt sich gänzlich. Daraus folgt, dass alles, was dynamische Flexibilität benötigt, somit loser und lockerer werden muss.

Die Anpassungen der Enzyme folgen diesem Grundtenor. Studien, zusammengefasst von Collins et al., haben ermittelt, dass eine hohe spezifische Aktivität bei niedrigen Temperaturen einhergehen mit einer deutlich reduzierten Thermostabilität. Obwohl es auch Experimente mit Enzymen gegeben hat, die in der Tat sowohl Thermostabilität als auch spezifische Aktivität mittels Mutation steigern konnten, so gehen Collins et al. davon aus, dass die Destabilisierung notwendig zu sein scheint. Der Proteinkörper erhält dadurch die entsprechende Flexibilität, um Energiekosten beim Induced Fit Mechanismus zu sparen und um eine erleichterte Unterbringung des Substrats im Aktiven Zentrum zu erreichen [76]. Diese Anpassung scheint in vielen Fällen plausibel, wenn man die Arrhenius-Gleichung<sup>8</sup> betrachtet. Danach führt die Reduktion der Temperatur zu einer *exponentiellen* Erniedrigung der Katalysegeschwindigkeit. Hohe Aktivierungsenergien müssen somit unter allen Umständen verhindert werden. Die entsprechenden Modifikationen beinhalten z.B. die Reduktion der Zahl, bzw. Stärke von Wasserstoffbrücken, ionischen Bindungen und hydrophoben Wechselwirkungen. Genomanalysen zeigen signifikant erhöhte Mengen an nicht geladenen, polaren Aminosäuren (z.B. Glutamin und Threonin) und

---

<sup>8</sup>  $k = A * \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$  | k=Reaktionsgeschwindigkeitskonstante, A=Präexponentieller Faktor, E<sub>a</sub>=Aktivierungsenergie, R=Gaskonstante, T=absolute Temperatur

weniger hydrophobe Aminosäuren (wie Leucin), bzw. Hydrophobizität bei Bakterien wie Archaeen [77; 78].

Vergleicht man psychrophile Genome mit mesophilen, so fallen neben der Zusammensetzung der Proteine auch andere Aspekte auf. Da die Transkriptions- und Translationsgeschwindigkeit kältebedingt reduziert ist - z.B. Arrest der Ribosomen in der Phase der Translations-Initiation [79] - reagieren Psychrophile mit einer größeren Zahl an Kopien der rRNA und tRNA Gene. Auch die Zahl der RNA Helikasen ist deutlich erhöht, um Prozesse rund um RNA-Faltung und –Abbau zu beschleunigen [80]. Die Kombination von niedriger Temperatur und dadurch erhöhtem Sauerstoffpartialdruck des Wassers führt dazu, dass auch ROS<sup>9</sup> stabiler und langlebiger sind. Der erhöhte oxidative Stress zwingt manche Psychrophile dazu ganze Stoffwechselwege (Molybdopterin-abhängiger Metabolismus in *Pseudoalteromonas haloplanktis* [80]) zu eliminieren, um den dadurch normalerweise entstehenden ROS auszuweichen.

Organismen mit einer Phospholipiddoppelschicht müssen die Membran für die Kälte deutlich umbauen. Je tiefer die Temperatur sinkt, desto kürzer die Fettsäuren. Die Grenze liegt bei minimal 12 Kohlenstoffatomen. Darunter kann die Doppelschicht-Struktur nicht mehr aufrechterhalten werden [81]. Zusätzlich steigt der Anteil an *cis*-Doppelbindungen, um den flüssigkristallinen Zustand zu erhalten. Auch Methylierungen helfen die Fluidität beizubehalten. Diese Änderungen führen dazu, dass die Ketten nicht mehr dicht nebeneinander gepackt vorliegen. Die hydrophoben Wechselwirkungen fallen geringer aus und lassen sich auch von einer geringeren Menge thermischer Energie auseinander halten.

Der wichtigste Schritt liegt jedoch darin, unter 0°C nicht zu Eis zu erstarren. Mikroorganismen reagieren auf extreme Kälte, indem sie massiv Exopolysaccharide (EPS) sekretieren [82]. Dies tritt vor allen Dingen dann auf, wenn die Temperatur eine kritische Marke erreicht (bei *Colwellia psychrerythraea* z.B. -8°C bis -14°C) [83]. Dies dient u.a. der Adhäsion, der Bindung von Wasser und Nährstoffen und hat wahrscheinlich Schutzwirkungen gegen die Bildung von Eiskristallen. Innerhalb der Zelle bilden die Mikroorganismen Frostschutzmittel u.a. in Form von Antifreeze Proteinen (AFP) und Trehalose [84]. Dabei binden AFPs Wasser und verhindern die Ausbildung von Eiskristallen. Trehalose hat einen ähnlichen Effekt, der den Schmelzpunkt erniedrigt.

## 5.4 Halophile

Normale Bereiche in Bezug auf Salzgehalt liegen zwischen 0,1% (Massenanteil, entspricht 1g pro Liter) in Süßwasser und 3,5% in Meerwasser (35g pro Liter). Halophile Organismen können jedoch in Umgebungen überleben, die bis an die Sättigungsgrenze von 365 g NaCl pro Liter geht. Die Hauptproblematik liegt darin, dem Entzug von Wasser aus dem Cytosol mit Hilfe von gelösten Stoffen ent-

---

<sup>9</sup> Reactive Oxygen Species, bzw. Sauerstoffradikale

gegenzuwirken. Dabei gibt es zwei verschiedene Methoden: erstens die Ansammlung von KCl innerhalb des Cytosols als Gegengewicht zum osmotischen Druck außerhalb, und zweitens die Produktion von organischen, osmotischen Molekülen. Die molare Ansammlung von KCl innerhalb des Cytosols verlangt strukturelle Anpassungen vieler intrazellulärer Elemente. Proteine besitzen vermehrt saure Oberflächen, spezifische Ionenbindungsstellen und Wasserstoffbrücken [85]. Dies limitiert entsprechende Mikroorganismen auf genau spezifizierte Salzkonzentrationen und macht sie für Abweichungen intolerant. Das verhält sich jedoch anders bei den Organismen, die auf osmotische Moleküle setzen. Anorganische Ionen werden größtenteils aus dem Cytosol ferngehalten und stattdessen einfache ungeladene, oder zwitterionische, organische Moleküle produziert [86]. Dazu gehören u.a. Glycerin (Eukaryonten) oder Saccharose, Trehalose, Aminosäurederivate und andere (Prokaryonten).

## 5.5 Acidophile

Acidophile Mikroorganismen tolerieren oder benötigen saures Milieu unter einem pH-Wert von 3. Auch hier sind die Grenzen nicht präzise in Stein gemeißelt. Nur Mikroorganismen (Pro- und Eukaryoten) überleben in extrem acidophilen Umgebungen bei pH = 0.

Der pH-Wert<sup>10</sup> zeigt die  $H^+$ -Konzentration des Lösungsmittels an. Bei pH=7 (also neutrophile Bedingungen) entspricht das einer Konzentration von  $10^{-7}$  mol ( $H^+$ ) pro Liter. Das sind 0,1 µg Protonen pro Liter. In einem Liter Wasser mit einem pH von 0 befinden sich  $10^7$ -fach mehr Protonen, also näherungsweise 1 g. Wo sonst nur ein Proton anzutreffen ist, müssen extrem Acidophile 10 Millionen Protonen tolerieren. Das verlangt natürlich entsprechende Anpassungen.

Ein wichtiger Teil der Atmungskette ist die Energiegewinnung. Dies erfolgt allgemein darin, Protonen über die Energie einer Elektronenkette aus Raum A in Raum B zu pumpen. Daraus entsteht ein Ungleichgewicht, das sich wieder ausgleichen möchte. Wenn man nun in Raum B eine Schleuse baut (ATP-Synthase), die wie ein Wasserrad den Rückstrom (protonenmotorische Kraft) der Protonen für die Energiegewinnung nutzt, kann man dadurch ATP gewinnen. Prokaryonten pumpen Protonen aus dem Cytosol in den extrazellulären Raum und gewinnen Energie, wenn diese wieder kontrolliert zurückströmen.

In extrem saurer Umgebung müssen die Acidophilen die Protonen gegen den hohen Protonengradienten pumpen, was dementsprechend aufwendig ist. Undurchlässigkeiten der Membran, die in neutrophilen Umgebungen wenig Konsequenzen hätten, würden in einem Milieu mit pH = 0 gleich einen sauren Schock auslösen. Gleichzeitig bedeuten Protonen, die außerhalb der ATP-Synthase die Membran durchqueren, Verlust an Energie. Archaeen setzen deswegen auf die Protonen-undurchlässigere Tetraether-Monomembran, die auch Hyperthermophile verwenden [87; 88]. Bakterien können sich über die

---

<sup>10</sup>  $pH = -\log_{10} * c(H^+[mol/l]) \dots c(H^+[mol/l]) = 10^{-pH}$

S-Layer (Proteinhülle) oder EPS (extrazelluläre Polysaccharide) zusätzlich schützen. Weitere Mechanismen sind die Umkehr des inneren Membranpotentials ins Positive und der massive Import von Kaliumionen ( $K^+$ ) [89].

Zum Problem für Acidophile werden auch niedermolekulare, organische Säuren. Wenn die Säuren erhöhte  $pK_a$ -Werte aufweisen (was sie häufig tun), liegen sie bei niedrigem pH-Wert protoniert vor. Dadurch werden sie für Membranen durchlässig und wandern in die Zelle. Nun sind sie einem weit neutralerem pH-Wert ausgesetzt, wodurch sie sofort deprotonieren. Die daraus entstehende Versauerung des Cytosols ist für Acidophile oft toxisch.

Meistens besitzen acidophile Bakterien und Archaeen einen neutralen intrazellulären pH-Wert. Die bis dato bekannte Untergrenze zeigt *Picrophilus torridus*. Dieses Archaeon ist extrem acidophil ( $pH=0$ ) und moderat thermophil ( $T_{opt} = 60^\circ C$ ). Der intrazelluläre pH-Wert liegt bei 4,6.

Ein interessanter Effekt ist zu beobachten, wenn man acidophile und gleichzeitig thermophile Mikroorganismen betrachtet. Diese *Polyextremophilen* besitzen in vielen Fällen ein kleineres Genom, das gleichzeitig zu einem Großteil codierend ist. Riesige Mengen an Junk-DNA können sie sich nicht leisten [89].

## 6 Ausblick

Wie eingangs erwähnt, könnten chemolithotrophe methanogene Psychrophile unter der Oberfläche des Mars wachsen, sofern sie dort vorhanden sind und das existierende Wasser mindestens periodisch verflüssigt wird. Ein messbares Ausscheidungsprodukt solcher Mikroorganismen auf der Erde ist dabei Methan. Frühere Messungen der Atmosphäre hatten Spuren von Methan vermeintlich entdecken können. Im Laufe dieser Bachelorarbeit wurde jedoch eine erste, ernüchternde Nachricht veröffentlicht. *Curiosity*, der Rover, der derzeit den Mars *in situ* erforscht, konnte an seinem Aufenthaltsort (siehe Mars-Bild) kein Methan finden [90]. Wäre diese Erkenntnis für den gesamten Mars final, so würde das die Wahrscheinlichkeit für *methanogenes* Leben deutlich reduzieren.

2016 startet die NASA den Lander „InSight“, der mittels seismischer Instrumente die Zusammensetzung des Kerns und eventuelle Plattentektonik untersuchen soll. Positive Ergebnisse könnten die Wahrscheinlichkeit von Endolithen erhöhen. Für 2020 ist von der NASA ein weiterer Rover geplant (aktuelle News siehe [91]). Folgende Ziele sollen erfüllt werden: die Suche nach Zeichen von Leben, die Sammlung von Proben, die zur Erde zurückgeschickt werden sollen, und die technologische Vorbereitung für die Landung von Menschen auf dem Mars zu einem späteren Zeitpunkt. Durch diese Mission könnten extraterrestrische, lebende oder fossile Mikroorganismen nachgewiesen werden.

Ein anderes Habitat, das dem von Europa (Jupitermond) ähnelt, unterliegt derzeit intensiven Forschungsarbeiten: der Wostoksee in der Antarktis. Er befindet sich unter einer 3750-4150 m dicken Schicht aus Eis, das tief unten bis zu 15 Millionen Jahre alt sein könnte. Das Wasser darunter ist flüssig und reicht bis in eine Tiefe von über 1000 m. Während auf der Oberfläche Temperaturen von bis zu  $-55^{\circ}\text{C}$  erreicht werden, ist der See selbst  $-2,65^{\circ}\text{C}$  kalt. Es herrscht ein Druck von 400 bar und die absolute Abwesenheit von Licht [92; 93]. Leben im „Lake Vostok“ müsste somit ohne Licht (Photosynthese) und ohne organische Moleküle (Heterotrophie) auskommen, die im Ozean ständig von oben herabsinken. Zusammenfassend lässt sich der See wie folgt charakterisieren: niedrige Temperatur, hoher Druck, hoher (50 facher) Sauerstoffpartialdruck und ausschließlich chemische Energie (sofern hydrothermale Quellen existieren). Der See kann als Generalprobe für Planeten wie Europa angesehen werden. Wenn dort etwas lebt und gleichzeitig die Hypothesen über die Zusammensetzung von Europa zutreffen, dann könnte auch Leben innerhalb Europas möglich sein.

Ein russisches Team hat es zwar bis dato geschafft den Wasserspiegel zu erreichen und „Ablagerungseis“ zu entnehmen. Bisherige Proben, in denen vermeintlich Leben gefunden wurde, werden leider von der Möglichkeit überschattet, dass es sich hier lediglich um Kontaminationen handeln könnte. Deswe-

gen beschränke ich mich auf den neusten Stand. Hierbei wurde bei der Bohrung (zwischen 2011 und 2013) auf den letzten Metern auf einen mechanischen Bohrkopf verzichtet und stattdessen ein thermischer Bohrkopf verwendet. Nachdem die Grenze durchstoßen wurde, floss das Wasser in den Bohrgang hinein und gefror über Monate. Aus diesem Eis wurden schließlich Proben entnommen, welche derzeit von Vladimir Lipenkov untersucht werden. Veröffentlichungen werden Ende 2013, Anfang 2014 erwartet [94].

Die nächste Mission für Europa wird ESAs „JUICE“ sein (Jupiter, ICy moons Explorer), die 2022 startet. Ergebnisse sind aber keine vor 2030 zu erwarten.

Es konnten in dieser Arbeit auf der einen Seite die Grenzen und wichtigsten Mechanismen der Extremophilen, und auf der anderen Seite die Grenzen potentieller solarer Habitate entsprechend des heutigen Kenntnisstandes kennengelernt werden. Mikroorganismen auf dem Level der heutigen Evolution wären in der Lage die Beschleunigung, die durch einen Asteroid-Einschlag entsteht, innerhalb des Gesteins zu überleben und viele Millionen Jahre durchs All zu reisen (Radiophile). Das Genom, selbst wenn fraktioniert, könnte wieder zusammengesetzt werden. Auch eine „sanfte“ Landung auf einem Planeten mit einer Atmosphäre wäre möglich. Auf der Venus könnten hyperthermophile Mechanismen die Temperatur ertragen, acidophile den hohen Protonengehalt, xerophile den niedrigen Wassergehalt. Auf Europa könnten, besonders wenn Lake Vostok Leben beherbergt, sowohl die oberen, kalten Areale nahe der gefrorenen Planetenoberfläche von psychrophilen, als auch evtl. heiße Gebiete nahe der Meeresoberfläche von thermophilen Mikroorganismen bewohnt sein. Der Mars könnte heute vielleicht noch endolithes Leben in der Kruste aufweisen, obwohl methanogenes Leben wahrscheinlich nicht vorliegt.

Dies setzt jedoch voraus, dass entsprechende Mikroorganismen auf dem heutigen Stand der Evolution stehen. Frühe chemolithotrophe Zellen mit rudimentären Membranen, ohne DNA-Schutz, -Ordnung und -Kondensation, mit geringer Energieausbeute, ohne die Möglichkeit auf aerobe Atmung und Photosynthese zurückzugreifen, könnten weder einen Doppelstrangbruch überleben, noch energieeffizient schwierige Habitate besiedeln. Lithopanspermie kommt vor dem Hintergrund in den ersten Millionen Jahren wahrscheinlich nicht in Frage. Es wäre interessant das entsprechende Zeitalter genauer zu ergründen, sprengt aber den Rahmen dieser Bachelorarbeit.

Betrachtet man die Komplexität der Anpassungsmechanismen an extreme Habitate, so muss man feststellen, dass (i) in allen Fällen zusätzlicher Energieaufwand betrieben und (ii) gleichzeitig auf molekularbiologisch „hochmoderne Technik“ zurückgegriffen werden muss. Es braucht hocheffiziente Molekularmaschinen, um Leben, wie wir es kennen, bei 110°C überhaupt zu ermöglichen. Es ist nicht

anzunehmen, dass Protozellen oder frühes Leben die Fähigkeit besaßen, ihr Genom nach Fraktionierung einfach wieder zusammenzusetzen. Sie hätten außerdem spezifische Ionenkonzentrationen gebraucht, einen Mechanismus, der DNA/RNA vor Denaturierung schützt, Stoffwechselwege, die keine thermolabilen Metabolite enthalten, und eine Enzym- und Membranmaschinerie, die die hochkomplizierte (anaeroben) Atmung ermöglicht.

Abgesehen davon, dass die chemische Evolution noch immer größtenteils aus Spekulationen besteht, könnte man von dem Standpunkt der Komplexität der Anpassungsmechanismen frühes oder entstehendes Leben, wie wir es kennen, in diesen Grenzgebieten ausschließen. Ein Beispiel zur Visualisierung: der Mensch, der auch zum Leben gehört, könnte heute auch längerfristig im Weltraum leben. Wir sind sozusagen „Vakuumophile“. Das bedeutet jedoch nicht, dass sowohl Entstehung, als auch frühe Entwicklung in diesem Habitat möglich sind. Wir müssen unsere ursprüngliche Umgebung mitnehmen und anpassen. Genauso komplex sehen die Anpassungen der Extremophilen auf molekularer Ebene aus. Vor diesem Hintergrund ist anzuraten, die Protozelle mit höchster Wahrscheinlichkeit in mesophilen und neutrophilen Habitaten zu suchen.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Silvia Hocks. (2013). *Thermophile Bakterien*. Retrieved from [http://www.fotocommunity.de/pc/pc/display/21988476\\*](http://www.fotocommunity.de/pc/pc/display/21988476*)- zuletzt besucht am: 29.09.2013.
2. Wolfe-Simon, F., Blum, J. S., Kulp, T. R., Gordon, G. W., Hoefft, S. E., Pett-Ridge, J., Stolz, J. F., ... (2011). A Bacterium That Can Grow by Using Arsenic Instead of Phosphorus. *Science*, 332(6034), 1163–1166
3. Bouvier, A., & Wadhwa, M. (2010). The age of the Solar System redefined by the oldest Pb–Pb age of a meteoritic inclusion. *Nature Geoscience*, 3(9), 637–641
4. Canup, R. M., & Asphaug, E. (2001). Origin of the Moon in a giant impact near the end of the Earth's formation. *Nature*, 412(6848), 708–712
5. Hartmann, W. K., & Davis, D. R. (1975). Satellite-sized planetesimals and lunar origin. *ICARUS*, 24(4), 504–515
6. Kleine, T. (2005). Hf-W Chronometry of Lunar Metals and the Age and Early Differentiation of the Moon. *Science*, 310(5754), 1671–1674
7. Touboul, M., Kleine, T., Bourdon, B., Palme, H., & Wieler, R. (2007). Late formation and prolonged differentiation of the Moon inferred from W isotopes in lunar metals. *Nature*, 450(7173), 1206–1209
8. Delsemme, A. H. (1991). Cometary origin of carbon, nitrogen and water on the Earth. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 21(5-6), 279–298
9. Abramov, O., & Mojzsis, S. J. (2009). Microbial habitability of the Hadean Earth during the late heavy bombardment. *Nature*, 459(7245), 419–422
10. Houtkooper, J. M. (2011). Glaciopanspermia: Seeding the terrestrial planets with life? *Planetary and Space Science*, 59(10), 1107–1111
11. Horneck, G., Stöffler, D., Ott, S., Hornemann, U., Cockell, C. S., Moeller, R., Meyer, C., ... (2008). Microbial Rock Inhabitants Survive Hypervelocity Impacts on Mars-Like Host Planets: First Phase of Lithopanspermia Experimentally Tested. *Astrobiology*, 8(1), 17–44
12. La Torre, R. de, Sancho, L. G., Horneck, G., Ríos, A. d. l., Wierzbos, J., Olsson-Francis, K., Cockell, C. S., ... (2010). Survival of lichens and bacteria exposed to outer space conditions – Results of the Lithopanspermia experiments. *ICARUS*, 208(2), 735–748

13. Lebreton, J.-P., Witasse, O., Sollazzo, C., Blancquaert, T., Couzin, P., Schipper, A.-M., Jones, J. B., ... (2005). An overview of the descent and landing of the Huygens probe on Titan. *Nature*, 438(7069), 758–764
14. Lunine, J. I., & Rizk, B. (2007). Titan. In W. T. Sullivan & J. A. Baross (Eds.), *Planets and life. The emerging science of astrobiology* (pp. 424–443). Cambridge: Cambridge University Press.
15. Mahaffy, P. R., Webster, C. R., Atreya, S. K., Franz, H., Wong, M., Conrad, P. G., Harpold, D., ... (2013). Abundance and Isotopic Composition of Gases in the Martian Atmosphere from the Curiosity Rover. *Science*, 341(6143), 263–266
16. Vincendon, M., Forget, F., & Mustard, J. (2010). Water ice at low to midlatitudes on Mars. *Journal of Geophysical Research*, 115(E10)
17. Goddard Institute for Space Studies, NASA. (2013). *Bild des Mars*. Retrieved from [http://www.giss.nasa.gov/tools/mars24/\\*](http://www.giss.nasa.gov/tools/mars24/*)- zuletzt besucht am: 29.09.2013.
18. Jakosky, B. M. (2007). Mars. In W. T. Sullivan & J. A. Baross (Eds.), *Planets and life. The emerging science of astrobiology* (pp. 357–387). Cambridge: Cambridge University Press.
19. Nicholson, W. L., Krivushin, K., Gilichinsky, D., & Schuerger, A. C. (2013). Growth of *Carnobacterium* spp. from permafrost under low pressure, temperature, and anoxic atmosphere has implications for Earth microbes on Mars. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(2), 666–671
20. Sánchez, F., Mateo-Martí, E., Raggio, J., Meeßen, J., Martínez-Frías, J., Sancho, L., Ott, S., ... (2012). The resistance of the lichen *Circinaria gyrosa* (nom. provis.) towards simulated Mars conditions—a model test for the survival capacity of an eukaryotic extremophile. *Planetary and Space Science*, 72(1), 102–110
21. The Planetary Data System of NASA. (2013). *Venus: Planet Profile*. Retrieved from <https://pds.jpl.nasa.gov/planets/special/venus.htm>\*- zuletzt besucht am: 03.09.2013.
22. NASA. (2013). *Venus*. Retrieved from <http://solarsystem.nasa.gov/multimedia/gallery/Venus.jpg>\*- zuletzt besucht am: 29.09.2013.
23. Schulze-Makuch, D., Irwin, L. N., & Fairen, A. G. (2013). Drastic environmental change and its effects on a planetary biosphere. *ICARUS*, 225(1), 775–780.
24. National Space Science Data Center (NSSDC) der NASA. (2013). *Galilean Sattelite Fact Sheet: Europa*. Retrieved from [http://nssdc.gsfc.nasa.gov/planetary/factsheet/galileanfact\\_table.html](http://nssdc.gsfc.nasa.gov/planetary/factsheet/galileanfact_table.html)\*- zuletzt besucht am: 09.09.2013.
25. Spencer, J. R. (1999). Temperatures on Europa from Galileo Photopolarimeter-Radiometer: Night-time Thermal Anomalies. *Science*, 284(5419), 1514–1516

26. Anderson, J. D. (1998). Europa's Differentiated Internal Structure: Inferences from Four Galileo Encounters. *Science*, 281(5385), 2019–2022
27. Chyba, C. F., & Phillips, S. B. (2007). Europa. In W. T. Sullivan & J. A. Baross (Eds.), *Planets and life. The emerging science of astrobiology* (p. 403). Cambridge: Cambridge University Press.
28. NASA, JPL, DLR. (2013). *Europa (Jupiter)*. Retrieved from <http://www.sciencenewsforkids.org/wp-content/uploads/2011/12/europa2.jpg>\* - zuletzt besucht am: 29.09.2013.
29. Cooper, J. (2001). Energetic Ion and Electron Irradiation of the Icy Galilean Satellites. *ICARUS*, 149(1), 133–159
30. Cox, M. M., & Battista, J. R. (2005). *Deinococcus radiodurans* — the consummate survivor. *Nature Reviews Microbiology*, 3(11), 882–892
31. E., G., E., J., D., P., & P., F. (2001). DNA protection mechanisms are not involved in the radiore-sistance of the hyperthermophilic archaea *Pyrococcus abyssi* and *P. furiosus*. *Molecular Genetics and Genomics*, 266(1), 72–78
32. Blasius, M., Hübscher, U., & Sommer, S. (2008). *Deinococcus radiodurans*: What Belongs to the Survival Kit? *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 43(3), 221–238
33. Toueille, M., Sommer, S., Gargaud, M., López-García, P., & Martin, H. (2011). Life in extreme conditions: *Deinococcus radiodurans*, an organism able to survive prolonged desiccation and high doses of ionizing radiation. In M. Gargaud, P. López-García, & H. Martin (Eds.), *Origins and Evolution of Life* (pp. 347–358). Cambridge: Cambridge University Press.
34. White, O. (1999). Genome Sequence of the Radioresistant Bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. *Science*, 286(5444), 1571–1577
35. Hansen, M. T. (1978). Multiplicity of Genome Equivalents in the Radiation-Resistant Bacterium *Micrococcus Radiodurans*. *Journal of Bacteriology*, (134), 71–75.
36. Lieber, A., Leis, A., Kushmaro, A., Minsky, A., & Medalia, O. (2009). Chromatin Organization and Radio Resistance in the Bacterium *Gemmata obscuriglobus*. *Journal of Bacteriology*, 191(5), 1439–1445
37. Zimmerman, J. M., & Battista, J. R. (2005). A ring-like nucleoid is not necessary for radiore-sistance in the *Deinococcaceae*. *BMC Microbiology*, 5(1), 17
38. Narumi, I., Satoh, K., Cui, S., Funayama, T., Kitayama, S., & Watanabe, H. (2004). PprA: a novel protein from *Deinococcus radiodurans* that stimulates DNA ligation. *Molecular Microbiology*, 54(1), 278–285

39. Tanaka, M. (2004). Analysis of *Deinococcus radiodurans*'s Transcriptional Response to Ionizing Radiation and Desiccation Reveals Novel Proteins That Contribute to Extreme Radioresistance. *Genetics*, 168(1), 21–33
40. Zahradka, K., Slade, D., Bailone, A., Sommer, S., Averbeck, D., Petranovic, M., Lindner, A. B., ... (2006). Reassembly of shattered chromosomes in *Deinococcus radiodurans*. *Nature*
41. Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Brock, T. D. (2009). *Brock Mikrobiologie* (11., aktualisierte Aufl). *Bio - Biologie*. München u.a: Pearson Studium.
42. Markillie, L. M., & Varnum, S. M. (1999). Targeted Mutagenesis by Duplication Insertion in the Radioresistant Bacterium *Deinococcus*... *Journal of Bacteriology*, 181(2), 666–669.
43. Daly, M. J. (2004). Accumulation of Mn(II) in *Deinococcus radiodurans* Facilitates Gamma-Radiation Resistance. *Science*, 306(5698), 1025–1028
44. Mattimore, V., & Battista, J. R. (1996). Radioresistance of *Deinococcus radiodurans*: functions necessary to survive ionizing radiation are also necessary to survive prolonged desiccation. *Journal of Bacteriology*, 178(3), 633–637.
45. Potts, M. (1994). Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiological Reviews*, (58), 755–805.
46. Blöchl, E., Rachel, R., Burggraf, S., Hafenbradl, D., Jannasch, H. W., & Stetter, K. O. (1997). *Pyrolobus fumarii* gen. and sp. nov., represents a novel group of archaea, extending the upper temperature limit for life to 113°C. *Extremophiles*, 1(1), 14–21
47. Kashefi, K. (2003). Extending the Upper Temperature Limit for Life. *Science*, 301(5635), 934
48. MARUM Forschungszentrum. (2013). *Schwarzer Raucher*. Retrieved from [http://www.mpi-bremen.de/Binaries/Binary5561/black\\_Smoker1.jpg](http://www.mpi-bremen.de/Binaries/Binary5561/black_Smoker1.jpg)\*- zuletzt besucht am: 29.09.2013.
49. Schramm, A., Kohlhoff, M., & Hensel, R. (2001). [6] Triose-phosphate isomerase from *Pyrococcus woesei* and *Methanothermus fervidus*. In *Methods in Enzymology. Hyperthermophilic enzymes Part B* (pp. 62–77). Elsevier.
50. Schramm, A., Siebers, B., Tjaden, B., Brinkmann, H., & Hensel, R. (2000). Pyruvate Kinase of the Hyperthermophilic Crenarchaeote *Thermoproteus tenax*: Physiological Role and Phylogenetic Aspects. *Journal of Bacteriology*, 182(7), 2001–2009
51. Dörr, C., Zaparty, M., Tjaden, B., Brinkmann, H., & Siebers, B. (2003). The Hexokinase of the Hyperthermophile *Thermoproteus tenax*: ATP-dependent Hexokinases and ADP-dependent Glucokinases, Two Alternatives for Glucose and Phosphorylation in Archaea. *Journal of Biological Chemistry*, 278(21), 18744–18753

52. Ronimus, R. S., & Morgan, H. W. (2003). Distribution and phylogenies of enzymes of the Embden-Meyerhof-Parnas pathway from archaea and hyperthermophilic bacteria support a gluconeogenic origin of metabolism. *Archaea*, 1(3), 199–221
53. Verhees, C., Koot, D., Ettema, T., Dijkema, C., Vos, W. de, & Van der Oost, John. (2002). Biochemical adaptations of two sugar kinases from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*. *Biochemical Journal*
54. Ahmed, H., Tjaden, B., Hensel, R., & Siebers, B. (2004). Embden–Meyerhof–Parnas and Entner–Doudoroff pathways in *Thermoproteus tenax*: metabolic parallelism or specific adaptation? *Biochemical Society Transactions*, (32), 303–304. Retrieved from <http://www.biochemsoctrans.org/bst/032/0303/bst0320303.htm>
55. Kengen, S., Stams, A. J., & Vos, W. M. (1996). Sugar metabolism of hyperthermophiles. *FEMS Microbiology Reviews*, 18(2-3), 119–137
56. Kengen, S. W., De Bok, F. A., Van Loo, N. D., Dijkema, C., Stams, A. J., & De Vos, W. M. (1994). Evidence for the operation of a novel Embden-Meyerhof pathway that involves ADP-dependent kinases during sugar fermentation by *Pyrococcus furiosus*. *Journal of Biological Chemistry*, (269(26)), 17537–17541. Retrieved from <http://www.jbc.org/content/269/26/17537.short>
57. Burgess, E. A., Wagner, I. D., & Wiegel, J. (2007). Thermal Environments and Biodiversity. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles*. Washington, DC: ASM Press.
58. White, R. H. (1984). Hydrolytic stability of biomolecules at high temperatures and its implication for life at 250 °C. *Nature*, 310(5976), 430–432
59. Relini, A., Cassinadri, D., Fan, Q., Gulik, A., Mirghani, Z., Rosa, M. de, & Gliozzi, A. (1996). Effect of physical constraints on the mechanisms of membrane fusion: bolaform lipid vesicles as model systems. *Biophysical Journal*, 71(4), 1789–1795
60. Blöcher, D., Gutermann, R., Henkel, B., & Ring, K. (1990). Physicochemical characterization of tetraether lipids from *Thermoplasma acidophilum*. V. Evidence for the existence of a metastable state in lipids with acyclic hydrocarbon chains. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1024(1), 54–60
61. Elferink, M. G., de Wit, Janny G., Driessen, A. J., & Konings, W. N. (1994). Stability and proton-permeability of liposomes composed of archaeal tetraether lipids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1193(2), 247–254
62. Driessen, Arnold J. M., & Albers, S.-V. (2007). Membrane Adaptions of (Hyper)Thermophiles to High Temperatures. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 104–116). Washington, DC: ASM Press.

63. Kumar, S., Arya, S., & Nussinov, R. (2007). Temperature-Dependent Molecular Adaption Features in Proteins. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 75–85). Washington, DC: ASM Press.
64. Robb, F. T., & Clark, D. S. (1999). Adaption of Proteins from Hyperthermophiles to High Pressure and High Temperature. *J. Molec. Microbiol. Biotechnol.*, (1), 101–105.
65. Das, R., & Gerstein, M. (2000). The stability of thermophilic proteins: a study based on comprehensive genome comparison. *Functional & Integrative Genomics*, 1(1), 76–88
66. Marck, C., & Grosjean, H. (2002). tRNomics: Analysis of tRNA genes from 50 genomes of Eukarya, Archaea, and Bacteria reveals anticodon-sparing strategies and domain-specific features. *RNA*, 8(10), 1189–1232
67. Galtier, N., & Lobry, J. R. (1997). Relationships Between Genomic G+C Content, RNA Secondary Structures, and Optimal Growth Temperature in Prokaryotes. *Journal of Molecular Evolution*, 44(6), 632–636
68. Marguet, E., & Forterre, P. (2001). [17] Stability and manipulation of DNA at extreme temperatures. In *Methods in Enzymology. Hyperthermophilic Enzymes, Part C* (pp. 205–215). Elsevier.
69. Gong, Q., Guo, Q., Tong, K.-L., Zhu, G., Wong, T.-F., & Xue, H. (2002). NMR Analysis of Bovine tRNA<sup>Trp</sup>. conformation dependence of Mg<sup>2+</sup> binding. *Journal of Biological Chemistry*, 277(23), 20694–20701
70. Terui, Y., Ohnuma, M., Hiraga, K., Kawashima, E., & Oshima, T. (2005). Stabilization of nucleic acids by unusual polyamines produced by an extreme thermophile, *Thermus thermophilus*. *Biochemical Journal*, 388(2), 427
71. Grosjean, H., & Oshima, T. (2007). How Nucleic Acids Cope with High Temperature. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (p. 45). Washington, DC: ASM Press.
72. Atomi, H., Matsumi, R., & Imanaka, T. (2004). Reverse Gyrase Is Not a Prerequisite for Hyperthermophilic Life. *Journal of Bacteriology*, 186(14), 4829–4833
73. Napoli, A. (2004). Reverse Gyrase Recruitment to DNA after UV Light Irradiation in *Sulfolobus solfataricus*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(32), 33192–33198
74. Valenti, A., Perugini, G., Rossi, M., & Ciaramella, M. (2011). Positive supercoiling in thermophiles and mesophiles: of the good and evil. *Biochemical Society Transactions*, 39(1), 58–63
75. Junge, K., Eicken, H., & Deming, J. W. (2004). Bacterial Activity at -2 to -20°C in Arctic Wintertime Sea Ice. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(1), 550–557

76. Collins, T., D'Amico, S., Marx, J.-C., Feller, G., & Gerday, C. (2007). Cold-Adapted Enzymes. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 165–179). Washington, DC: ASM Press.
77. Methe, B. A. (2005). The psychrophilic lifestyle as revealed by the genome sequence of *Colwellia psychrerythraea* 34H through genomic and proteomic analyses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(31), 10913–10918
78. Saunders, N. F. (2003). Mechanisms of Thermal Adaptation Revealed From the Genomes of the Antarctic Archaea *Methanogenium frigidum* and *Methanococcoides burtonii*. *Genome Research*, 13(7), 1580–1588
79. Phadtare, S., Alsina, J., & Inouye, M. (1999). Cold-shock response and cold-shock proteins. *Current Opinion in Microbiology*, 2(2), 175–180
80. Medigue, C. (2005). Coping with cold: The genome of the versatile marine Antarctica bacterium *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC125. *Genome Research*, 15(10), 1325–1335
81. Suutari, M., & Laakso, S. (1994). Microbial Fatty Acids and Thermal Adaptation. *Critical Reviews in Microbiology*, 20(4), 285–328
82. Nichols, C. M., Guezennec, J., & Bowman, J. P. (2005). Bacterial Exopolysaccharides from Extreme Marine Environments with Special Consideration of the Southern Ocean, Sea Ice, and Deep-Sea Hydrothermal Vents: A Review. *Marine Biotechnology*, 7(4), 253–271
83. Marx, J. G., Carpenter, S. D., & Deming, J. W. (2009). Production of cryoprotectant extracellular polysaccharide substances (EPS) by the marine psychrophilic bacterium *Colwellia psychrerythraea* strain 34H under extreme conditions. *Canadian Journal of Microbiology*, 55(1), 63–72
84. Jia, Z., & Davies, P. L. (2002). Antifreeze proteins: an unusual receptor–ligand interaction. *Trends in Biochemical Sciences*, 27(2), 101–106
85. Vellieux, F., Madern, D., Zaccai, G., & Ebel, C. (2007). Molecular Adaption to High Salt. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 240–253). Washington, DC: ASM Press.
86. Oren, A. (2007). Biodiversity in Highly Saline Environments. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 223–231). Washington, DC: ASM Press.
87. Golyshina, O. V., & Timmis, K. N. (2005). *Ferroplasma* and relatives, recently discovered cell wall-lacking archaea making a living in extremely acid, heavy metal-rich environments. *Environmental Microbiology*, 7(9), 1277–1288

88. Johnson, D. B. (2007). Physiology and Ecology of Acidophilic Microorganisms. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 257–270). Washington, DC: ASM Press.
89. Angelov, A., & Liebl, W. (2007). Genomics of Acidophiles. In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 279–292). Washington, DC: ASM Press.
90. Webster, C. R., Mahaffy, P. R., Atreya, S. K., Flesch, G. J., & Farley, K. A. (2013). Low Upper Limit to Methane Abundance on Mars. *Science*
91. Jet Propulsion Laboratory at NASA. (2013). *Mars - Future Rover Plans*. Retrieved from [http://mars.jpl.nasa.gov/mars2020/\\*](http://mars.jpl.nasa.gov/mars2020/*)- zuletzt besucht am: 27.09.2013.
92. Di Prisco, G. (2007). Lake Vostok and Subglacial Lakes of Antarctica: Do They Host Life? In C. Gerday & N. Glansdorff (Eds.), *Physiology and biochemistry of extremophiles* (pp. 145–154). Washington, DC: ASM Press.
93. Sievert, M. J., Ellis-Evans, J. C., Tranter, M., Mayer, C., Petit, J.-R., Salamatin, A., & Prisco, J. C. (2001). Physical, chemical and biological processes in Lake Vostok and other Antarctic subglacial lakes. *Nature*, 414(6864), 603–609
94. Alexey Eremenko. (2013). 'Intrigue' Persists In Hunt For Antarctic Subglacial Life. Retrieved from [http://www.eurasiareview.com/01032013-intrigue-persists-in-hunt-for-antarctic-subglacial-life/\\*](http://www.eurasiareview.com/01032013-intrigue-persists-in-hunt-for-antarctic-subglacial-life/*)- zuletzt besucht am: 27.09.2013.