

Liv, nu med arsen?

Om bakterien der – måske - ændrer vores opfattelse af betingelserne for liv.

I december offentliggjorde NASA fundet af en bakterie med usædvanlige egenskaber. Bakterien kan inkorporere arsen i sit DNA i stedet for phosphor. Men er det muligt for en bakterie at overleve med så store kemiske ændringer i arvemassen?

Af biologi-bioteknologistuderende Mia T. Lundsager, Nanna B. Jungersen og Signe Holm Nielsen og lektor Peter W. Thulstrup, Institut for Grundvidenskab og Miljø, LIFE, Københavns Universitet

Den 2. december 2010 udsendte NASA en pressemeddelelse, der afslørede, at man i Mono Lake i Californien havde fundet en bakterie, som var i stand til at optage og inkorporere arsen i stedet for phosphor i sine biologiske molekyler, heriblandt DNA. Opdagelsen af bakterien blev gjort af et forskerteam under ledelse af Felisa Wolfe-Simon og publiceret i Science [2]. Hun navngav den GFAJ-1. Forsøg viste, at bakterien var i stand til at vokse og dele sig på et arsenholdigt medium, hvor P kun fandtes som sporstof. Ud fra efterfølgende analyser med bl.a. massespektrometri og radioaktivt mærket arsenat blev det rapporteret, at As fandtes i bakteriens DNA og proteiner.

Opdagelsen er revolutionerende fordi den gør op med den nuværende definition af, hvad liv består af: carbon, hydrogen, nitrogen, oxygen, svovl og phosphor. Dermed åbnes for nye muligheder for liv i rummet [2].

Arsen har ligheder med phosphor

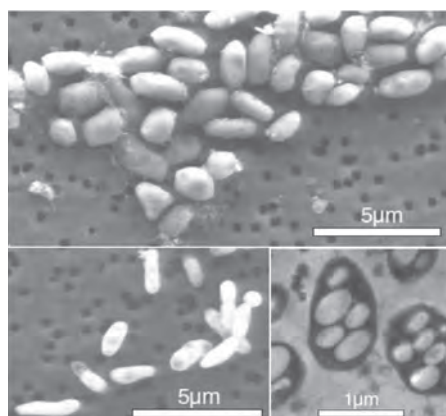
P har stor betydning og findes i mange vigtige biologiske molekyler. Blandt disse biologiske molekyler er DNA og RNA, hvor

phosphat spiller en afgørende rolle i molekylnes backbone via de phosphatgrupper, der forbinder sukkerenhederne via phosphat-esterbindinger. P og As findes i samme hovedgruppe i det periodiske system, og de har flere fælles kemiske egenskaber: P og As har næsten samme elektronegativitet, og de har lignende atomradius. I oxidationstrin (V) findes arsenationen (AsO_4^{3-}), der opfører sig meget lig phosphat (PO_4^{3-}), som er den mest almindelige form for P i biologien, og pKa-værdierne ligger meget tæt på hinanden. Det betyder, at arsenat kan optages i cellen via phosphat-transportører i cellemembranen, og det kan indgå i de første trin i flere metabolismeveje i cellen [4]. Da inkorporation af arsenat i metabolismeveje ofte medfører dysfunktion er arsen toksisk for mange organismer [5], ligesom forskelle mellem P og As i oxidationstrin (III) kan spille en rolle.

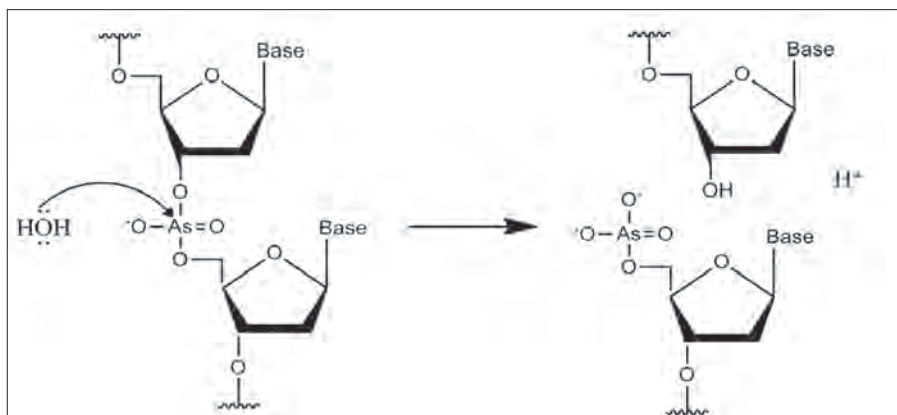
På den anden side var de store ligheder mellem de to grundstoffer motiverende for at eftersøge organismer, der kan substituere P med As – og leve med det [5].

DNA med arsen går let i stykker

Kvantemekaniske beregninger indikerer, at DNA med As på P's plads vil have næsten samme bindingslængder og -vinkler som det native DNA og dermed i det store hele vil bevare sin overordnede struktur [6]. Så langt så godt, men grunden, til at mange forskere er skeptiske over for tanken om "arsenbaseret DNA", er, at de bin-



Figur 1. Billeder af bakterien GFAJ-1. Reproduceret med tilladelse fra Science (AAAS) [2]. Øverst: Bakterierne der voksede i tilstedeværelsen af As og fravær af P blev større end samme bakterie under betingelser i fravær af As og tilstedeværelse af P (nederst til venstre). GFAJ-1-bakterier dannede under tilstedeværelsen af As nogle store intracellulære strukturer (nederst til højre). Navnet GFAJ-1 skulle i øvrigt henføre til, at opdageren Felisa Wolfe-Simon gerne ville have en forskerstilling (GFAJ = Give Felisa A Job [3]).



Figur 2. Illustration af hydrolysen af en arsenat diesterbinding i et stykke arsenholdigt DNA. I modsætning til de korresponderende phosphatestre er arsenatestre kinetisk labile, sandsynligvis fordi der er bedre plads på As end P til det angribende vandmolekyle.



Mono Lake i Californien. Pænt ser det ud, men under overfladen er Mono Lake ikke et særligt behageligt sted: pH er ca. 9,8, saliniteten 90 g/L og arsenindholdet 200 μM [1].

dingen, der dannes, spontant hydrolyserer, hvilket resulterer i en brudt esterbinding og deling af DNA backbone. Den samme reaktion sker også for normalt P-baseret DNA. Men med en halveringstid på ca. 30 mio. år, er almindeligt DNA meget robust [7].

Et andet vigtigt phosphatholdigt biomolekyle er adenosin triphosphat (ATP), der benyttes til at lagre kemisk energi i cellerne: Kobles hydrolysen af ATP (til adenosin diphosphat) til en energikrævende biokemisk proces kan denne drives – f.eks. som det er tilfældet for Na^+/K^+ -pumpen. Der er her essentielt, at der er en kinetisk barriere for ATP-hydrolysen, som til gengæld kan kontrolleres via enzymatisk katalyse.

Hidtidige forsøg udført på arsenestre har vist betydeligt kortere halveringstider end for de korresponderende phosphatestre [4,8,9]. Da en bakteriecelle af gode grunde normalt indeholder store mængder vand, virker det meget uhensigtsmæssigt at danne strukturer, der er så labile ift. hydrolyse, især når det gælder noget så vigtigt som organismens gener og energibalance.

Måske bare en veludviklet mekanisme?

Med dette er selvfølgelig ikke sagt, at Wolfe-Simons opdagelse ikke kan være reel. For det første savnes mere omfattende undersøgelser af arseniestres opførsel under fysiologiske betingelser (det beskrevne forsøg er udført i acetonitril ved 25°C og omregnet til 55 M vand [4]). For det andet har naturen ofte en evne til at gøre det tilsyneladende umulige muligt. Wolfe-Simons gruppe foreslår bl.a. en mekanisme, som anbringer bakteriens DNA i en vandfri "boble" – sandsynligvis inspireret af de intracellulære strukturer, der ses i bakterien på figur 1. Denne metode benyttes bl.a. af bakteriesporer, hvis DNA kan tåle helt ekstreme påvirkninger, samt vira hvis arvemasse består af det mere skrøbelige RNA [10,11]. En mere sandsynlig mekanisme til at beskytte DNA imod hydrolyse og samtidig tillade reproduktion kunne være specielle proteiner, som binder sig til DNA og beskytter det, eller at DNA foldes så vands adgang til de arsenholdige områder begrænses. Herved kunne DNA gøres tilgængeligt ved kopiering men i øvrigt være beskyttet. Endelig kunne man forestille sig, at bakterien havde meget veludviklede reparationsmekanismer, som sætter det ødelagte DNA sammen i en fart. Denne type mekanismer ses i forvejen hos de fleste bakterier som reaktion på stress [11], og så længe det kun er en lille del af DNA, der har P erstattet (bemærk, at det aldrig har været eksplicit påstået, at al bakteriens DNA indeholder arsen), kan det godt være muligt, om end mere krævende for bakterien.

Forsøgene kritiseres for at være mangelfulde

Siden data for forsøget blev offentliggjort på internettet i december 2010, har det givet meget debat. Mange forskere tvivler på Wolfe-

Simons konklusioner og mener ikke, at data er fyldestgørende nok til at bakke dem op.

Et af de forhold, der påpeges, er, at der er sporstofkoncentrationer af P i det anvendte vækstmedie. Argumentet er, at selvom P-indholdet er lavt, så er det nok til at forklare den cellevækst, der finder sted [12,13]. Der er fundet flere bakterier med lavt indhold af P i forskellige miljøer, der har tilpasset sig ekstreme P-begrænsninger [13]. En situation som ikke gør sig gældende i Mono Lake, hvor P-indholdet (0,4 mM) såvel som As-indholdet (0,2 mM) er højt [1].

Wolfe-Simon skriver selv, at bakterien kan have en mekanisme til at stabilisere RNA og DNA indeholdende arsenat diestre. Denne formodning er ikke underbygget af forsøgsresultater, der sandsynliggør, hvordan bakterien undgår hydrolysen. Det er også blevet kritiseret, at de DNA-prøver Wolfe-Simon beskriver ikke er blevet oprenset omhyggeligt nok. Dermed kan rester af As have været associeret til DNA og dermed haft indflydelse på resultaterne uden at have substitueret P. Der rejses tvivl om, hvorvidt As rent faktisk er bundet i biologisk aktive molekyler [12].

Fokus på opfølgende forsøg

For at kunne afgøre om Wolfe-Simons konklusioner vedr. GFAJ-1's egenskaber er reelle, skal der opfølgende forsøg til. Undersøgelsen af arsens kemi i vandig opløsning har således aldrig været mere aktuel. De opfølgende forsøg er nu givetvis i gang med at blive udført, både af Wolfe-Simon og andre forskere. Det bliver spændende at følge den videre historie, så vi kan erkende om der er nye steder at lede efter liv, både på denne planet og andre.

E-mail-adresse:

Peter W. Thulstrup: pwt@life.ku.dk

Referencer

1. R. S. Oremland, J. F. Stoltz, J. T. Hollibaugh, 2004, FEMS Microbiology Ecology **48**, 15-27: "The microbial arsenic cycle in Mono Lake, California"
2. F. Wolfe-Simon, J. S. Blum, T. R. Kulp, G. W. Gordon, S. E. Hoefft, J. Pett-Ridge, J. F. Stolz, S. M. Webb, P. K. Weber, P. C. W. Davies, A. D. Anbar, R. S. Oremland, 2010, Science: "A Bacterium That Can Grow By Using Arsenic Instead Of Phosphorus". Publiceret online i Science Express d. 2. december 2010, [DOI:10.1126/science.1197258], Den trykte udgave udkom i Science vol. **332** den 3. juni 2011 (s. 1163-1166) og den pågældende udgave af Science indeholder desuden 8 kritiske kommentarer (blandt dem ref. 12 og 13) samt forfatterens egen respons på disse.
3. P. Davies, 4. December 2010, Wall Street Journal: "The 'Give Me a Job' Microbe"
4. M. Fekry, P. A. Tipton, K. S. Gates, 2011, ACS Chemical Biology **6**, 127-130: "Kinetic Consequences of Replacing the Internucleotide Phosphorus Atoms in DNA with Arsenic"
5. F. Wolfe-Simon, P. C. W. Davies, A. D. Anbar, 2009, International Journal of Astrobiology **8**, 69-74: "Did nature also choose arsenic?"
6. E. J. Denning, A. D. MacKerell, 2011, Journal of the American Chemical Society **133**, 5770-5772: "Impact of Arsenic/Phosphorus Substitution of the Intrinsic Conformational Properties of the Phosphodiester Backbone of DNA Investigated Using ab Initio Quantum Mechanical Calculations"
7. G. K. Schroeder, C. Lad, P. Wyman, N. H. Williams, R. Wolfenden, 2006, Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA **103**, 4052-4055: "The time required for water attack at the phosphorus atom of simple phosphodiester and of DNA"
8. C. D. Baer, J. O. Edwards, P. H. Rieger, 1981, Inorganic Chemistry **20**, 905-907: "Kinetics of the Hydrolysis of Arsenate(V) Triesters"
9. S. A. Moore, D. M. C. Moennich, M. J. Gresser, 1983, Journal of Biological Chemistry **258**, 6266-6271: "Synthesis and Hydrolysis of ADP-Arsenate by Beef Heart Mitochondrial Particles"
10. F. H. Westheimer, 1987, Science **235**, 1173-1178: "Why Nature Chose Phosphates"
11. T. Lindahl, 1993, Nature **362**, 709-715: "Instability and Decay of the Primary Structure of DNA"
12. R. J. Redfield, 2011, Science **332**, 1149: "Comment on 'A Bacterium That Can Grow by Using Arsenic Instead of Phosphorus'"
13. J. B. Cotner, E. K. Hall, 2011 Science **332**, 1149: "Comment on 'A Bacterium That Can Grow by Using Arsenic Instead of Phosphorus'"