

ANAMMOX BAKTERIE A JEJICH UNIKÁTNÍ CHARAKTERISTIKY

PATRICIE VODIČKOVÁ

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha 6
patricie.vodickova@vscht.cz

Došlo 4.7.18, přijato 15.11.18.

Klíčová slova: anammox bakterie, *Planctomycetes*, anaerobní oxidace amoniaku, anammoxosom, ladderanové lipidy

Obsah

1. Úvod
2. Taxonomické zařazení
3. Základní charakteristiky
4. Buněčná stavba
 - 4.1. Buněčná stěna
 - 4.2. Riboplasma
 - 4.3. Anammoxosom
5. Růst a rozmnožování
6. Energetický metabolismus
7. Ladderanové lipidy
8. Aplikace v biotechnologických procesech
9. Závěr

1. Úvod

Již v období od čtyřicátých let 20. století vznikaly studie předpovídající existenci skupiny mikroorganismů, která je zodpovědná za anaerobní oxidaci amoniaku dávající vznik plynnému dusíku^{1,2}. V polovině devadesátých let pak v nizozemském městě Delft skupina vědců jako první detegovala probíhající anaerobní oxidaci amoniaku v denitrifikačním reaktoru. V návaznosti na to byl proveden první experiment³ potvrzující, že za tento proces jsou zodpovědné živé mikroorganismy pocházející z kalu ze zmíněného reaktoru⁴, pro které se od té doby rozšířilo označení „anammox bakterie“. V roce 1999 pak stejný vědecký tým identifikoval prvního zástupce těchto bakterií⁵. Vzhledem k tomu, že nebylo a stále není možné izolovat anammox bakterie pomocí konvenčních technik založených na principu izolace jednotlivých buněk, probíhala jeho kultivace metodou selektivního obohacení v sekvenčním vsádkovém reaktoru. Z bakteriální kultury, purifikované gradientovou centrifugací, byly extrahovány

molekuly DNA i RNA použité dále jako templáty pro získání sekvence genu 16S rRNA a pro návrh specifických genových sond umožňujících pozorování pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace. Na základě fylogenetické analýzy byla tato bakterie pojmenována jako *Brocadia anammoxidans*. Vzhledem k tomu, že ji nebylo možné izolovat běžnými mikrobiologickými postupy, byl jí přidělen taxonomický status *Candidatus*. Během uplynulých téměř dvaceti let bylo nalezeno relativně velké množství dalších zástupců anammox bakterií, což přispělo k získání mnoha poznatků o této skupině mikroorganismů^{1,2}.

2. Taxonomické zařazení

Do dnešní doby bylo na základě sekvenční identity genů pro 16S rRNA, pohybující se v rozmezí 87 až 99 %, identifikováno šest různých rodů anammox bakterií, kterým byl přidělen status *Candidatus*^{1,2,6}. Prvním je „*Candidatus* Brocadia“^{1,5}, ke kterému náleží i již zmíněný zástupce „*Candidatus* Brocadia anammoxidans“, dalšími pak jsou „*Candidatus* Kuenenia“^{7,8}, „*Candidatus* Anammoxoglobus“⁹ a „*Candidatus* Jettenia“¹⁰, všechny identifikovány na základě metody selektivního obohacení z aktivovaného kalu jako zdroje anammox kultur. Zástupci pátého rodu „*Candidatus* Scalindua“¹¹ byli na rozdíl od ostatních ve většině případů izolováni a identifikováni z obohacených kultur původem z přírodních zdrojů^{1,12,23}. Z časového hlediska je nejmladším identifikovaným zástupcem „*Candidatus* Anammoximicrobium moscowii“, zařazený ke skupině „*Candidatus* Anammoximicrobium“ a izolovaný z obohacené kultury z řeky Moskvy⁶.

Ačkoliv jsou od sebe někteří zástupci anammox bakterií fylogeneticky relativně více vzdáleni, všechny identifikované rody jsou společně zařazeny do skupiny označené jako „*Candidatus* Brocadiales“, která je taxonomicky na úrovni řádu a patří k bakteriálnímu kmenu *Planctomycetes*^{1,2,14}.

3. Základní charakteristiky

Ačkoliv vykazují anammox bakterie mnoho unikátních charakteristik, velikost a tvar jejich buněk je zpravidla univerzální. Mají kulovitý tvar a jejich buňky jsou v průměru asi 1 μm veliké¹⁵. Rozmezí teplot, za kterých jsou schopné přežít, se udává většinou od –2 do 43 °C (cit.²). Nicméně přítomnost anammox bakterií byla detegována i v prostředích, jako jsou hlubomořské hydrotermální průduchy či vysokoteplotní ropné rezervoáry, kde se teplota pohybuje až okolo 85 °C (cit.^{16–18}). Optimální pH pro jejich růst se pohybuje okolo hodnoty 8 (cit.¹⁹).

Mezi hlavní přírodní zdroje anammox bakterií patří především mořské a brakické vody, dále také sladkovodní a půdní ekosystémy^{1,2,20}. V případě prostředí uměle vytvořených člověkem jsou jejich významným zdrojem aktivované kaly pocházející z čističek odpadních vod²¹.

Tyto bakterie jsou řazeny mezi chemolithoautotrofy, což je pro zástupce planktomycét zcela unikátní^{1,2,19}. Z hlediska nároků na dostupnost kyslíku se jedná o skupinu obligátních anaerobů^{1,2,19,22}. Podstatou jejich metabolismu je přeměna amonných a dusitanových iontů na plynný dusík za nepřítomnosti kyslíku. Dusík ve formě amoniaku je tak z prostředí odčerpáván a přeměněn na molekulový dusík, dostupný pro své znovuzачlenění do biologického cyklu. Díky tomuto procesu jsou anammox bakterie nepostradatelným členem koloběhu dusíku v živých ekosystémech^{1,2,14,19,22}.

4. Buněčná stavba

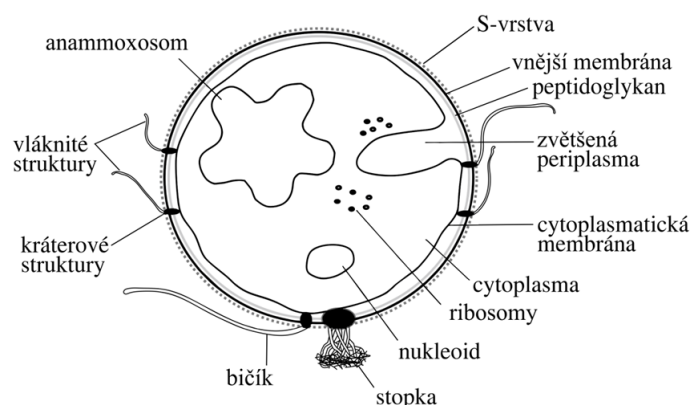
Kmen *Planctomycetes* vykazuje výrazně odlišnou buněčnou stavbu v porovnání s ostatními zástupci domény Bacteria. Typickým rysem jsou např. intracytoplasmatické membrány, které rozdělují prostor v buňce na jednotlivé segmenty lišící se svým složením a funkcí. Struktura buněčného obalu planktomycét se zdála být dlouhou dobu také zcela unikátní, a to i díky faktu, že v něm nebyla prokázána přítomnost peptidoglykanu. Zmíněné poznatky pak podporovaly hypotézu, že se tento kmen neřadí ani k jedné ze dvou základních skupin bakterií – grampozitivních ani gramnegativních – vytvořených na základě rozdílného složení jejich buněčného obalu^{1,2,14,23,24}.

V roce 2001 byl na základě pozorování „*Candidatus Brocadia anammoxidans*“ vytvořen první model podoby buňky anammox bakterií²³, který byl dále porovnán s buněčnou stavbou dalších vybraných zástupců planktomycét. U všech byla popsána shodná stavba buněčného obalu, zahrnující vně proteinovou buněčnou stěnu a pod ní uložené dvě membrány: první (vnější) nazvanou jako cyto-

plasmatická a druhou (vnitřní) označenou jako intracytoplasmatická. Prostor vymezený těmito dvěma zmíněnými membránami byl pojmenován paryphoplasm. Pod intracytoplasmatickou membránou byl identifikován buněčný kompartment – pirelulosom, resp. riboplasm, obsahující DNA a ribosomy. V případě anammox bakterie bylo zjištěno, že střed buňky vyplňuje ještě další membránou oddělený kompartment. Podle metabolického děje, který se v něm odehrává, byl nazván jako anammoxosom.

4.1. Buněčná stěna

Podoba buněčného obalu anammox bakterií byla v průběhu let upřesňována. Modelovým organismem byl téměř vždy „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“, jenž byl identifikován již v roce 2000 (cit.⁷). Jeho genom byl nejdříve podroben komparativní genomové analýze⁸. Důležitým výsledkem byla detekce přítomnosti téměř celé biosyntetické dráhy peptidoglykanu, včetně některých proteinů vázajících penicilin. Identifikovány byly později i sekvence homologní k již známým genům kódujícím např. membránové poriny a receptory, umístěné ve vnější membráně gramnegativních bakterií²⁵, nebo specifické přenašeče sloužící k exportu látek toxických pro buňku²⁶. Dlouhou dobu ale nebyl podán žádný experimentální důkaz o výskytu některé ze zmíněných makromolekul ve struktuře buněčné stěny anammox bakterií¹. Až během posledních několika let se podařilo prokázat, že buněčná stěna anammox bakterií a i ostatních planktomycét není až tak unikátní a vykazuje stejné znaky jako buněčná stěna jiných bakterií²⁴. V roce 2014 bylo zjištěno, že proteinová stěna anammox bakterie „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ je S-vrstva, jejíž přítomnost je zcela běžná pro mnoho zástupců bakterií i archeí²⁷. V roce 2015 byly vydány další dvě publikace prokazující existenci peptidoglykanu u anammox bakterií²⁸, ale i u dalších zástupců planktomycét²⁹. V nejnovější práci byl v buněčném obalu „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ identifikován membránový protein, vyskytující se typicky ve vnější lipidové



Obr. 1. Aktuální model podoby buněčné stavby anammox bakterie; přepracováno podle²⁴

membráně gramnegativních bakterií, uvnitř které vytváří porin určený pro selektivní transport molekul³⁰. Všechny tyto aktuální poznatky daly vznik novému modelu podoby anammox bakterií (obr. 1) a díky nim se celý kmen *Planctomyces* dnes již řadí mezi gramnegativní bakterie²⁴.

4.2. Riboplasma

Riboplasma anammox bakterií obsahuje ribosomy a nukleoid, takže je jasné, že úkolem tohoto kompartmentu je, stejně jako u ostatních zástupců planktomycét, uchování genetické informace a zároveň její překlad do podoby proteinů^{1,2,14}. V případě anammox bakterií byly ale v prostoru riboplasmy objeveny ještě jiné útvary. Prvním typem částic byly molekuly glykogenu^{1,15}. Ačkoliv není jeho role pro anammox bakterie objasněna, předpokládá se, že uložený glykogen slouží jako zásoba energie a uhlíku za pro buňku nepříznivých nebo stresových podmínek^{15,31}. Vzhledem k tomu, že u anammox bakterií byla prokázána schopnost tvorby biofilmu, další možnou variantou je využití glykogenu při jeho vytváření^{15,32}. U některých zástupců anammox bakterií byla potvrzena přítomnost druhého typu částic, které ještě nebyly definitivně charakterizované^{1,15}. S velkou pravděpodobností se ale jedná o polymerní molekuly polyhydroxyalkanoátů, jejichž funkce by mohla být podobná funkci uloženého glykogenu.

4.3. Anammoxosom

Největší část vnitřního prostoru buňky anammox bakterií zaujímá unikátní kompartment, pojmenovaný jako anammoxosom. Membrána, která ho odděluje od okolního obsahu buňky, je často mnohonásobně zvrásněná (podobně jako je tomu třeba u vnitřní membrány mitochondrií) a vzniklé výběžky mohou zasahovat hluboko do jeho vnitřního prostoru^{1,2,14}. Bohatá invaginace buněčných membrán může obecně přinést dva hlavní benefity^{1,33}. Prvním je možnost selektivní vazby proteinů na zakřivená místa membrány, čímž je vytvořeno mikroprostředí specifické např. pro lokalizaci iontových kanálů na membránových výstupcích. Druhým je významné zvětšení povrchu membrány, což zvýší počet míst dostupných pro metabolické děje zde lokalizované. Druhý jmenovaný bod by mohl být podstatný právě pro fungování anammoxosomu, ve kterém se velmi pravděpodobně odehrávají všechny katabolické procesy spojené s metabolismem anammox bakterií^{1,34}. Lze tak předpokládat, že tento kompartment je obdobou mitochondrie eukaryotních organismů. Nedávno vznikla i hypotéza říkající, že evoluce anammox bakterie se může podobat evoluci eukaryotní buňky, a že by se tak mohlo jednat o další případ endosymbiózy³⁵. Konkrétně se mluví o pohlcení buňky archea buňkou bakteriální, fylogeneticky možná původem z kmene planktomycét. Nahrává tomu také fakt, že přítomnost DNA byla detegována nejen v riboplasmě, ale také uvnitř anammoxosomu²³. Membrány tohoto kompartmentu, ale i ostatní membrány anammox bakterií, obsahují unikátní ladderanové lipidy, jejichž

součástí jsou zbytky mastných kyselin vázané ke glycerolu kromě esterové vazby i vazbou etherovou^{1,2}, což rovněž podporuje tuto teorii.

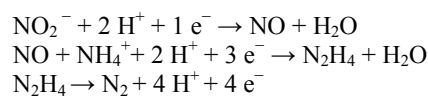
5. Růst a rozmnožování

Anammox bakterie rostou obvykle velmi pomalu, což má za následek jejich problematickou kultivaci. Doba potřebná ke zdvojení populace se běžně pohybuje přibližně mezi jedním až dvěma týdny^{2,5}.

Co se týká rozmnožování anammox bakterií a i celého kmene *Planctomyces*, ani v jednom případě není přesný mechanismus známý. V dřívějších publikacích se v souvislosti s anammox bakteriemi hovořilo o binárním dělení³⁶ a naopak v případě ostatních planktomycét o pučení³⁷. Zjištěno ale bylo, že v genomech zástupců planktomycét včetně anammox bakterií se nenachází gen kódující klíčový protein buněčného dělení – filamentární teplotně senzitivní protein Z (FtsZ), jenž je bakteriálním homologem tubulinu^{1,28,29,36}. Absence proteinu FtsZ spolu s aktuálními poznatky potvrzujícími přítomnost peptidoglykanu u obou zmíněných skupin dala vznik myšlenky, že všichni zástupci planktomycét se rozmnožují podle unikátního, zatím ale bližší nepopsaného schématu^{38,29}.

6. Energetický metabolismus

Metabolismus anammox bakterií je založen na anaerobní oxidaci amoniaku. Amoniak je za nepřístupu kyslíku oxidován až na plynný dusík, přičemž jako elektronový akceptor slouží dusitanový anion. V rámci tohoto procesu vznikají dva intermediáty – oxid dusnatý a hydrazin. Tento komplexní děj je složen ze tří na sebe navazujících reakcí^{26,38}:



První krok, katalyzovaný enzymem nitritreduktasou (Nir), zahrnuje redukci dusitanu na oxid dusnatý. Oxid dusnatý reaguje následně s amoniakem za vzniku hydrazinu. Tato reakce je katalyzovaná pro anammox bakterie specifickým enzymem hydrazinsynthasou (HZS). V posledním kroku je vzniklý hydrazin oxidován na plynný dusík, což je katalyzováno hydrazindehydrogenasou (HDH). Prokázáno bylo, že všechny tři enzymy jsou lokalizovány uvnitř anammoxosomu^{26,38}. Elektrony získané oxidací hydrazinu jsou následně využity v dalších fázích procesu. Buď se opětovně zařazují do prvních dvou reakčních kroků anaerobní oxidace amoniaku^{1,2,39} nebo se spolu s uvolněnými protony hromadí na vnitřní straně membrány anammoxosomu a vzniká tak elektrochemický protonový gradient, tedy protonmotivní síla^{1,40}. Prostřednictvím této síly přechází protony do prostoru riboplasmy, a to ve směru gradientu membránového elektrochemického potenciálu. Uvolněná energie je využita pro syntézu ATP pomocí

ATP-synthas²⁵ vázaných v membráně anammoxosomu tak, že vznikající molekuly ATP jsou uvolňované do prostoru riboplasmu.

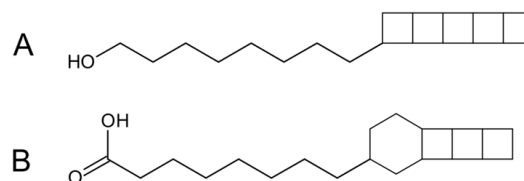
Anammox bakterie patří mezi autotrofy, neboť jako zdroj uhlíku pro syntézu vlastních organických látek používají oxid uhličitý získaný fixací ze vzduchu. Zjištěno bylo, že v genomu „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ jsou kódované veškeré enzymy katalyzující cyklus biochemických reakcí známých jako dráha acetyl-CoA (jinak také Woodova-Ljungadahlova), která fixaci CO₂ zprostředkovává^{39,40}. Potvrzena byla i aktivita klíčových enzymů tohoto procesu. Vznikající acetyl-CoA se pak může zapojit do dalších metabolických drah jako je např. glukoneogeneze nebo citrátový cyklus. Elektrony odčerpávané na fixaci CO₂ jsou doplňované činností nitritoxidoreduktasy^{38,39,42}. Tento enzym totiž katalyzuje oxidaci dusitanových iontů na dusičnanové, a to na úkor syntézy oxidu dusnatého prostřednictvím činnosti Nir.

Dosud ne zcela objasněnou kapitolou je přenos elektronů v průběhu energetického metabolismu anammox bakterií, zajišťující vznik protonmotivní síly a fixaci CO₂. V prvním případě se velmi pravděpodobně jedná o zapojení elektronových přenašečů na bázi ubichinonu, případně i nikotinamidadeninukleotid(fosfátu) (NAD(P)H)^{1,15,39}. V druhém případě se pak předpokládá, že zdrojem elektronů pro fixaci CO₂ jsou molekuly NAD(P)H nebo ferredoxinů ve své redukované formě^{39,42}. V proteomu „*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*“ byly v nedávné době identifikovány různé enzymové kotvené komplexy, zodpovědné zřejmě za syntézu redukováných forem koenzymů NAD(P)H, chinonových transportérů a ferredoxinů nebo dokonce za vznik natriummotivní síly³⁹. Mnoho z nich patří mezi proteiny, pro jejichž funkci je důležitá přítomnost železa ve struktuře, a to buď ve formě molekul hemů nebo Fe-S klastřů. Z toho vyplývá, že železo, konkrétně v podobě dvojmocného kationtu, je pro život anammox bakterií zcela klíčové. Uvnitř anammoxosomu byly dokonce pozorovány nanočástice bohaté na železo, jejichž existence tuto myšlenku potvrzuje⁴³. Přítomnost velkého množství železa uvnitř buněk těchto bakterií je evidentní i dle jejich charakteristického červeného zbarvení⁴³.

7. Ladderanové lipidy

Pro anammox bakterie je charakteristický obsah již zmíněných tzv. ladderanových lipidů, které jsou součástí jejich buněčných membrán a mají jedinečnou strukturu^{1,2,44,45} (obr. 2). Stejně jako je tomu i u jiných membránových lipidů, skládají se tyto struktury z molekuly glycerolu, ke kterému jsou připojeny zbytky mastných kyselin obsahující ladderanovou strukturu, a to hned dvěma možnými způsoby. Jedná se o esterovou vazbu (typickou pro bakteriální a eukaryotní organismy) a o vazbu etherovou (naopak typickou pro archea).

Zjištěno bylo, že podoba ladderanových mastných kyselin je zcela unikátní. Skládají se totiž z lineárního středně dlouhého nasyceného uhlovodíkového řetězce, na



Obr. 2. Příklad alkoholu a mastné kyseliny obsahujících ladderanové struktury; přepracováno podle¹. A – alkohol obsahující [5]-ladderan, B – mastná kyselina obsahující ladderan složený z [3]-ladderanu a cyklohexanu

jehož konec je připojena část složená z polycyklických uhlovodíků. Konkrétně ji tvoří buď tři, nebo pět lineárně propojených cyklobutanových jednotek označovaných také jako [3]-ladderan, resp. [5]-ladderan. K tříčlennému [3]-ladderanu bývá připojena ještě jednotka cyklohexanu. Dvě jednotky cyklohexanu mohou ve struktuře [3]-ladderanu substituovat také oba krajní cyklobutany^{44,45}. Jejich výsledná struktura pak připomíná „schodovitý“ žebřík, podle čehož byly pojmenovány jako ladderany (z angl. ladder, v překladu žebřík)⁴⁴.

Pokud jde o strukturu těchto unikátních sloučenin, podoba samotných lipidových řetězců je napříč různými druhy anammox bakterií relativně konzervativní. U každého druhu byla shodně prokázána přítomnost zbytků mastných kyselin s délkou 18 a 20 uhlíků obsahujících na konci [3]-ladderan nebo [5]-ladderan, a také přítomnost alkyly s délkou 20 uhlíků obsahujícího [3]-ladderan⁴⁶. Během strukturálních studií ladderanových fosfolipidů⁴⁷ byly identifikovány odlišné kombinace typu hydrofobního lipidového řetězce připojeného k molekule glycerolu v pozici *sn*-1 s různými typy polární hlavičky (nejčastěji se jedná o fosfocholin, fosfoethanolamin, případně fosfoglycerol⁴⁸) připojené ke glycerolu v pozici *sn*-3.

Experimentálně^{44,49} i pomocí metod počítačového modelování⁵⁰ vědci predikovali pevné sbalení ladderanových lipidů, vedoucí k vysoké hustotě membrán, ve kterých jsou tyto lipidy přítomny. Díky tomu by tak jejich hlavní funkcí mohlo být snížení propustnosti membrány pro některé klíčové molekuly metabolismu – oxid dusnatý a hydrazin, případně i pro protony. Anammox bakterie by tak mohly předcházet únikům jmenovaných metabolitů a protonů jejich přechodem přes membránu pasivní difuzí, v jehož důsledku by buňky produkovaly menší počet molekul ATP. Na počátku roku 2018 byly publikovány výsledky práce, v jejímž rámci byly uměle syntetizovány ladderanové fosfolipidy, u nichž byly potvrzeny jejich předpokládané fyzikální vlastnosti⁵¹. Tyto lipidy měly opravdu schopnost vytvořit denzní vrstvu, snižující míru difuze volných protonů přes membránu.

V rámci některých starších publikací se hovořilo o tom, že ladderanové lipidy jsou nejvíce zastoupeny v membráně anammoxosomu^{44,45}. Ovšem práce z roku 2014 tuto domněnku nepotvrdila, naopak předpokládá, že

složení všech tří membrán přítomných v anammox bakteriích se z hlediska ladderanových lipidů zásadně neliší⁴². Pro vyřešení této otázky tak bude v budoucnu zapotřebí ještě dalšího výzkumu.

Stejně tak není objasněn mechanismus syntézy ladderanových lipidů – tedy popsání všech biosyntetických drah, které se tohoto procesu účastní. Ačkoliv bylo vytvořeno již několik dílčích hypotéz^{1,8,45,52,53}, přesné vysvětlení stále není k dispozici.

8. Aplikace v biotechnologických procesech

Anammox bakterie nalezly veliký potenciál pro své uplatnění v procesu čištění odpadních vod. Jejich využití v tomto typu biotechnologické aplikace je tak alternativa k procesu biologické nitrifikace v kombinaci s následnou denitrifikací (N&DN), pomocí kterého jsou ze znečištěné vody odstraňovány odpadní dusíkaté látky^{54,55}.

Použití anammox bakterií v tomto biotechnologickém procesu přináší některé zásadní výhody^{55,56}. Patří mezi ně absence potřeby aerace bioreaktoru, nulová spotřeba organického uhlíku a také pouze minimální produkce oxidu dusného, který se řadí mezi nejvýznamnější skleníkové plyny. Další výhodou je i redukce množství vznikajícího kalu, který je produkován v rámci anammox procesu. Jejich aplikace tak může teoreticky vést k úspoře až polovičného množství spotřebované elektrické energie a tím i k výraznému snížení finančních výdajů.

Použití anammox bakterií v procesu čištění odpadních vod přináší ale i některá úskalí^{54–57}. Ta jsou spojena zejména s jejich pomalým růstem a tedy s problematickým nastartováním celého procesu. Testovány jsou proto různé techniky (např. imobilizační), které by měly podpořit růst anammox buněk v počátečních stádiích, ale i při jejich dlouhodobé kultivaci v bioreaktorech.

Druhým kritickým parametrem je poměr zastoupení dvou prvků v odpadní organické hmotě – uhlíku a dusíku (C/N)^{54,55}. V přítomnosti vysokého poměru C/N, který je typický pro běžné odpadní vody z domácností, kompetují anammox bakterie s bakteriemi denitrifikačními, avšak neúspěšně. Některé typy organických substrátů mohou jejich aktivitu i zcela inhibovat⁵⁵. Praktické využití tak prozatím našly pouze při čištění průmyslových odpadních vod bohatých na amoniak⁵⁴.

Mimoto aktivita těchto striktně anaerobních mikroorganismů může být výrazně potlačena i již nízkou koncentrací kyslíku rozpuštěného v odpadních vodách⁵⁴. Ačkoliv jsou dusitany primárním substrátem anammox metabolismu, jejich vyšší koncentrace může tento proces naopak inhibovat. Ve vysokých koncentracích mohou mít inhibiční účinky i molekuly dusičnanů a volného amoniaku⁵⁵.

Dalším zásadním bodem je i relativně nízká teplota odpadního materiálu⁵⁴. Ačkoliv u některých zástupců anammox bakterií byla potvrzena aktivita i při nižších teplotách, teplotní optimum většiny z nich se pohybuje okolo 37 °C. Zjištěno ale bylo, že anammox bakterie je

možné na nízké teploty adaptovat^{58,59}, což by mohla být do budoucna cesta pro vyřešení tohoto úskalí.

Situaci komplikuje také nízká kvalita vody na konci celého procesu čištění prostřednictvím anammox bakterií, konkrétně přítomnost reziduálních množství amoniaku či dusitanů^{54,56}. Řešením by mohlo být zařazení dalšího čistícího kroku, který by ale zvyšoval energetické a tím i finanční nároky. Proto jsou intenzivně studovány nové možnosti kombinovaných technologií čištění odpadních vod, které spojují anammox proces s dalšími druhy mikrobiologického odbourávání.

V dnešní době se na celém světě nachází přes 100 elektráren využívajících anammox proces v průmyslovém měřítku⁵⁴. Většina z nich je umístěna v Evropě, dále také v Číně a v Severní Americe. Anammox bioreaktory zpracovávají zejména průmyslové odpadní vody pocházející např. z továren produkujících glutamát a jiné aminokyseliny nebo z jatek. Nejrozšířenějším způsobem aplikace anammox bakterií v čistírnách odpadních vod je jejich kombinace s nitrifikačními bakteriemi^{54,55} (známá pod zkratkou PN&A)^{60,61}. Kromě různých variant PN&A jsou ve světě testovány i jiné postupy čištění odpadních vod, které kombinují anammox bakterie s dalšími skupinami mikroorganismů^{54,55,57,61}.

9. Závěr

Je jasné, že plošné zařazení anammox bakterií do procesu čištění odpadních vod, zvláště těch splaškových, je nelehký úkol. Proto se dnes po celém světě nachází mnoho desítek bioreaktorů, které testují použití těchto bakterií v různých konfiguracích a za různých podmínek procesu s cílem nalézt optimální způsob a ten poté využít v průmyslu v celosvětovém měřítku.

Tento příspěvek byl vypracován s finanční podporou Grantové agentury České republiky z projektu 17-25781S.

Seznam zkratk

Anammox	anaerobní oxidace amoniaku
FtsZ	filamentární teplotně senzitivní protein Z
Nir	nitritreduktasa
HZS	hydrazinsynthasa
HDH	hydrazindehydrogenasa
NAD(P)H	nikotinamidadeninukleotid(fosfát)
N&DN	kombinace biologické nitrifikace s následnou denitrifikací
C/N	poměr uhlíku a dusíku
PN&A	spojení parciální nitrifikace s anammox procesem

LITERATURA

- van Niftrik L., Jetten M. S. M.: Microbiol. Mol. Biol. Rev. 76, 585 (2012).

2. Jetten M. S. M., van Niftrik L., Strous M., Kartal B., Keltjens J. T., Op den Camp H. J. M.: *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* *44*, 65 (2009).
3. Mulder A., van de Graaf A. A., Robertson L. A., Kuenen J. G.: *FEMS Microbiol. Ecol.* *16*, 177 (1995).
4. van de Graaf A. A., Mulder A., de Bruijn P., Jetten M. S. M., Robertson L. A., Kuenen J. G.: *Appl. Environ. Microbiol.* *61*, 1246 (1995).
5. Strous M., Fuerst J. A., Kramer E. H. M., Logemann S., Muyzer G., van de Pas-Schoonen K. T., Webb R., Kuenen J. G., Jetten M. S. M.: *Nature* *400*, 446 (1999).
6. Khramenkov S. V., Kozlov M. N., Kevbrina M. V., Dorofeev A. G., Kazakova E. A., Grachev V. A., Kuznetsov B. B., Polyakov D. Y., Nikolaev Y. A.: *Microbiology* *82*, 628 (2013).
7. Schmid M., Twachtman U., Klein M., Strous M., Juretschkoi S., Jetten M., Metzger J. W., Schleifer K.-H., Wagner M.: *Syst. Appl. Microbiol.* *23*, 93 (2000).
8. Strous M. a 36 spoluautorů: *Nature* *440*, 790 (2006).
9. Kartal B. a 10 spoluautorů: *Syst. Appl. Microbiol.* *30*, 39 (2007).
10. Quan Z.-X., Rhee S.-K., Zuo J.-E., Yang Y., Bae J.-W., Park J. R., Lee S.-T., Park Y.-H.: *Environ. Microbiol.* *10*, 3130 (2008).
11. Kuypers M. M. M., Sliemers A. O., Lavik G., Lavik G., Schmid M., Jørgensen B. B., Kuenen J. G., Sinninghe Damsté J. S., Strous M., Jetten M. S. M.: *Nature* *422*, 608 (2003).
12. Kindaichi T., Awata T., Tanabe Y., Tanabe K., Hata-moto M., Ozaki N., Ohashi A.: *Microbes Environ.* *26*, 67 (2011).
13. Penton C. R., Devol A. H., Tiedje J. M.: *Appl. Environ. Microbiol.* *72*, 6829 (2006).
14. van Niftrik L.: *Antonie van Leeuwenhoek* *104*, 489 (2013).
15. van Niftrik L., Geerts W. J. C., van Donselaar E. G., Humbel B. M., Webb R. I., Fuerst J. A., Verkleij A. J., Jetten M. S. M., Strous M.: *J. Bacteriol.* *190*, 708 (2008).
16. Byrne N. a 11 spoluautorů: *ISME J.* *3*, 117 (2009).
17. Russ L., Kartal B., Op den Camp H. J. M., Sollai M., Le Bruhec J., Caprais J.-C., Godfroy A., Sinninghe Damsté J. S., Jetten M. S. M.: *Front. Microbiol.: Extreme Microbiol.* *4*, 219 (2013).
18. Li H., Chen S., Mu B.-Z., Gu J.-D.: *FEMS Microbiol. Ecol.* *60*, 771 (2010).
19. Op den Camp H. J. M., Jetten M. S. M., Strous M., v knize: *Biology of the Nitrogen Cycle* (Bothe H., Ferguson S. J., Newton W. E., ed.), kap. 16.1. Elsevier, Amsterdam 2007.
20. Oshiki M., Satoh H., Okabe S.: *Environ. Microbiol.* *18*, 2784 (2016).
21. Hu B.-L. a 10 spoluautorů: *Water Res.* *44*, 5014 (2010).
22. Kuenen J. G.: *Nat. Rev. Microbiol.* *6*, 320 (2008).
23. Lindsay M. R., Webb R. I., Strous M., Jetten M. S. M., Butler M. K., Forde R. J., Fuerst J. A.: *Arch. Microbiol.* *175*, 413 (2001).
24. Boedeker C. a 17 spoluautorů: *Nat. Commun.* *8*, 14853 (2017).
25. van Niftrik L., van Helden M., Kirchen S., van Donselaar E. G., Harhangi H. R., Webb R. I., Fuerst J. A., Op den Camp H. J. M., Jetten M. S. M., Strous M.: *Mol. Microbiol.* *77*, 701 (2010).
26. Kartal B. a 13 spoluautorů: *Nature* *479*, 127 (2011).
27. van Teeseling M. C. F., de Almeida N. M., Klingl A., Speth D. R., Op den Camp H. J. M., Rachel R., Jetten M. S. M., van Niftrik L.: *J. Bacteriol.* *196*, 80 (2014).
28. van Teeseling M. C. F., Mesman R. J., Kuru E., Espallat A., Cava F., Brun Y. V., van Nieuwenhze M. S., Kartal B., van Niftrik L.: *Nat. Commun.* *6*, 6878 (2015).
29. Jeske O. a 11 spoluautorů: *Nat. Commun.* *6*, 7116 (2015).
30. van Teeseling M. C. F., Benz R., de Almeida N. M., Jetten M. S. M., Mesman R. J., van Niftrik L.: *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* *1860*, 767 (2018).
31. Iglesias A. A., Preiss J.: *Biochem. Educ.* *20*, 196 (1992).
32. Bonafonte M. A., Solano C., Sesma B., Alvarez M., Montuenga L., García-Ros D., Gamazo C.: *FEMS Microbiol. Lett.* *191*, 31 (2000).
33. McMahon H. T., Gallop J. L.: *Nature* *438*, 590 (2005).
34. van Niftrik L., Geerts W. J. C., van Donselaar E. G., Humbel B. M., Yakushevskaya A., Verkleij A. J., Jetten M. S. M., Strous M.: *J. Struct. Biol.* *161*, 401 (2008).
35. Hong Y., Cao H., Li M., Gu J.-D.: *Am. J. Curr. Microbiol.* *2*, 18 (2014).
36. van Niftrik L. a 10 spoluautorů: *Mol. Microbiol.* *73*, 1009 (2009).
37. Fuerst J. A.: *Microbiol.* *141*, 1493 (1995).
38. de Almeida N. M., Neumann S., Mesman R. J., Ferousi C., Keltjens J. T., Jetten M. S. M., Kartal B., van Niftrik L.: *J. Bacteriol.* *197*, 2432 (2015).
39. de Almeida N. M., Wessels H. J. C. T., de Graf R. M., Ferousi C., Jetten M. S. M., Keltjens J. T., Kartal B.: *Biochim. Biophys. Acta* *1857*, 1694 (2016).
40. van Niftrik L. A., Fuerst J. A., Sinninghe Damsté J. S., Kuenen J. G., Jetten M. S. M., Strous M.: *FEMS Microbiol. Lett.* *233*, 7 (2004).
41. Schouten S., Strous M., Kuypers M. M. M., Rijpstra W. I. C., Baas M., Schubert C. J., Jetten M. S. M., Sinninghe Damsté J. S.: *Appl. Environ. Microbiol.* *70*, 3785 (2004).
42. Neumann S., Wessels H. J. C. T., Rijpstra W. I. C., Sinninghe Damsté J. S., Jetten M. S. M., van Niftrik L.: *Mol. Microbiol.* *94*, 794 (2014).
43. Ferousi C., Lindhoud S., Baymann F., Kartal B., Jetten M. S. M., Reichmann J.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* *37*, 129 (2017).
44. Sinninghe Damsté J. S., Strous M., Rijpstra W. I. C., Hopmans E. C., Geenevasen J. A. J., van Duin A. C. T., van Niftrik L. A., Jetten M. S. M.: *Nature* *419*, 708 (2002).

45. Sinninghe Damsté J. S., Rijpstra W. I. C., Geenevasen J. A. J., Strous M., Jetten M. S. M.: *FEBS J.* 272, 4270 (2005).
46. Rattray J. E., van de Vossenberg J., Hopmans E. C., Kartal B., van Niftrik L., Rijpstra W. I. C., Strous M., Jetten M. S. M., Schouten S., Sinninghe Damsté J. S.: *Arch. Microbiol.* 190, 51 (2008).
47. Lanekoff I., Karlsson R.: *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 3543 (2010).
48. Boumann H. A., Hopmans E. C., van de Leemput I., Op den Camp H. J. M., van de Vossenberg J., Strous M., Jetten M. S. M., Sinninghe Damsté J. S.: *FEMS Microbiol. Lett.* 258, 297 (2006).
49. Boumann H. A., Longo M. L., Stroeve P., Poolman B., Hopmans E. C., Stuart M. C. A., Sinninghe Damsté J. S., Schouten S.: *Biochim. Biophys. Acta* 1788, 1444 (2009).
50. Chaban V. V., Nielsen M. B., Kopec W., Khandelia H.: *Chem. Phys. Lipids* 181, 76 (2014).
51. Moss F. R., Shuken S. R., Mercer J. A. M., Cohen C. M., Burns N. Z., Boxer S. G.: *Biophys. J.* 114, 260a (2018).
52. Rattray J. E., Geenevasen J. A. J., van Niftrik L., Rijpstra W. I. C., Hopmans E. C., Strous M., Schouten S., Jetten M. S. M., Sinninghe Damsté J. S.: *FEMS Microbiol. Lett.* 292, 115 (2009).
53. Rattray J. E., Strous M., Op den Camp H. J. M., Schouten S., Jetten M. S. M., Sinninghe Damsté J. S.: *Biol. Direct* 4, 1 (2009).
54. Ali M., Okabe S.: *Chemosphere* 141, 144 (2015).
55. Lackner S., Gilbert E. M., Vlaeminck S. E., Joss A., Horn H., van Loosdrecht M. C. M.: *Water Res.* 55, 292 (2014).
56. Morales N., Val del Río Á., Vázquez-Padín J.-R., Méndez R., Mosquera-Corral A., Campos J. L.: *Chemosphere* 140, 99 (2015).
57. Kumar M., Daverey A., Gu J., Lin J.-G., v knize: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Biological Treatments of Industrial Effluents* (Lee D., Jegatheesan V., Ngo H. H., Hallenbeck P. C., Pandey A., ed.), kap. 15. Elsevier, Amsterdam 2017.
58. Dosta J., Fernández I., Vázquez-Padín J. R., Mosquera-Corral A., Campos J. L., Mata-Álvarez J., Méndez R.: *J. Hazard. Mater.* 154, 688 (2008).
59. Hu Z., Lotti T., de Kreuk M., Kleerebezem R., van Loosdrecht M., Kruit J., Jetten M. S. M., Kartal B.: *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 2807 (2013).
60. Gilbert E. M., Agrawal S., Schwartz T., Horn H., Lackner S.: *Water Res.* 81, 92 (2015).
61. Hu Z., Lotti T., van Loosdrecht M., Kartal B.: *Biotechnol. Lett.* 35, 1145 (2013).

P. Vodičková (*Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Anammox Bacteria and their Unique Characteristics**

Although anammox bacteria were discovered more than twenty years ago, the interest of scientific teams is still growing. Recent evidence of the presence of peptidoglycan in their cell walls has included this group to gram-negative bacteria. These bacteria are unique because of their metabolism based on anaerobic ammonia oxidation. They have colonized Earth on a massive scale, making themselves probably the most important producers of nitrogen gas in natural ecosystems. Ladderane lipids which are abundant in anammox bacteria cell membranes and specific to them, are also studied in detail. A huge potential lies in the possibility to integrate anammox bacteria into the wastewater treatment process, bringing thus many significant benefits.

Keywords: anammox bacteria, *Planctomycetes*, anaerobic ammonium oxidation, anammoxosome, ladderane lipids

Acknowledgements

This work was supported by grant from the Czech Science Foundation (GACR) (Grant number: 17-25781S).