



VNiVERSIDAD  
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

GRADO EN BIOLOGÍA (2019-2020)  
TRABAJO DE FIN DE GRADO

ORIGEN Y DIVERSIFICACIÓN DE LAS PRIMERAS FORMAS DEL  
METABOLISMO ENERGÉTICO

ORIGIN AND DIVERSIFICATION OF THE FIRST FORMS OF THE ENERGY  
METABOLISM

Luis Carlos González Rodríguez.

## ÍNDICE

Resumen	
1-Introducción	1
2-Respiraderos hidrotérmicos alcalinos	3
2.1-Serpentinización	4
3-Origen de LUCA	6
3.1- Bifurcación de electrones dependiente de flavinas	6
3.2-Vía del Acetil-CoA	8
4-Metanógenos y acetógenos	10
4.1- Metanogénesis	11
4.2-Acetogénesis	12
4.3-Hipótesis de la fijación del carbono	13
5-Bombeo activo de protones	14
6-Conclusiones	18
Bibliografía	18

## ABSTRACT

The origin of life requires energy, which could be provided by alkaline hydrothermal systems in the form of chemical energy, thanks to the process of serpentinization. Through the study of current acetogens and methanogens we have been able to understand how this energy could be harnessed by the first forms of life, which, coinciding with the synthesis of the first molecules with catalytic and replicative capacity, gave rise to LUCA (Last Universal Common Ancestor) whose metabolism uses the Acetyl-CoA pathway. The fact that one of the two branches of this pathway is not preserved, make us think that a different process in the origin of active ion pumping explains the first diversification between bacteria and archaea.

## RESUMEN

El origen de la vida requiere energía, esta pudo ser aportada por los sistemas hidrotermales alcalinos en forma de desequilibrio químico, gracias al proceso de serpentinización. El estudio de los acetógenos y metanógenos modernos nos permite comprender cómo esta energía pudo ser aprovechada por las primeras formas de vida, que al coincidir con la síntesis de las primeras moléculas con capacidad catalítica y replicativa originó a LUCA (Last Universal Common Ancestor) cuyo metabolismo utilizaba la vía del Acetil-CoA. El hecho de que una de las dos ramas de esta vía no esté conservada, nos hace pensar que un proceso diferente en el origen de un bombeo activo de protones explique la primera diversificación entre bacterias y arqueas.

## 1. INTRODUCCIÓN

La enorme diversidad de procesos metabólicos vinculados a la obtención de energía, que conocemos hoy en día son el resultado de la diversificación de procesos metabólicos primordiales de carácter universal. Posiblemente el origen y evolución de estos procesos bioquímicos primordiales estuvieron condicionados a la disponibilidad de una fuente de energía geotérmica en un ambiente que favoreciese de manera natural la creación de desequilibrios químicos en presencia de catalizadores inorgánicos, de modo que una estrategia biológica permitió de algún modo imitar esos mecanismos geoquímicos para la propia obtención de energía, dando lugar así, al paso de la geoenergética a la bioenergética <sup>1</sup>, que al coincidir en el tiempo y el espacio con la formación de las primeras moléculas con capacidad catalítica y replicativa, dieron lugar a LUCA<sup>15</sup> (Last Universal Common Ancestor) constituyendo la forma de vida a partir de la cual han evolucionado el resto de los seres vivos. Por tanto, para entender el origen y diversificación de las primeras formas de metabolismo energético es necesario abordar cómo surgió la vida. Hay varias hipótesis sobre el origen de la vida. Por un lado, las génicas o replicativas, que intentan explicar la química de las primeras reacciones de síntesis y los mecanismos de procesamiento de la información en los ciclos replicativos primordiales. Mientras que, por otro lado, las hipótesis energéticas o metabólicas, que son en las que nos vamos a centrar, buscan dar una explicación al problema del origen de la bioenergética, sin prestar demasiada atención en los procesos relacionados con la polimerización de las moléculas informativas. Actualmente la hipótesis más aceptada es la hipótesis tridimensional desarrollada inicialmente por Michael J. Russell que sugiere que la vida se podría haber desarrollado dentro de microporos rodeados por finas paredes de FeS presentes en las chimeneas hidrotermales submarinas alcalinas.

Pero la única certeza sobre el origen de la vida es que requiere energía <sup>2</sup>, sin liberación de energía, no pueden producirse reacciones químicas que puedan conducir a metabolismos primitivos. Estas consideraciones mitigan muchos entornos para el origen de la vida, especialmente los sistemas de alta entropía y baja entalpía, como la sopa primordial (ya sea formada por rayos, radiación UV o la entrega de compuestos orgánicos desde el espacio) así como sistemas microcompartimentados que no se reponen continuamente en precursores químicamente activos, como hielo o piedra pómez. A pesar de la diversidad casi ilimitada de la vida, solo hay dos formas en que los sistemas vivos

conservan energía en forma de ATP, en primer lugar, por acoplamiento quimiosmótico a través de ATP sintasas integrales de membrana y, en segundo lugar, por fosforilaciones a nivel de sustrato. Hoy en día, toda la energía que usan los sistemas biológicos se aprovecha, en última instancia, a través del acoplamiento quimiosmótico porque todas las fosforilaciones a nivel de sustrato usan sustratos generados por organismos quimiosmóticos. Pero el acoplamiento quimiosmótico requiere proteínas capaces de generar y aprovechar gradientes a través de membranas, y esto supone un problema del tipo del huevo y la gallina, ya que la síntesis de proteínas supone un 75 % del consumo de energía total de la célula, y sin estas proteínas no se podría obtener dicha energía <sup>3</sup>. Entonces ¿De dónde surgió la energía que dio lugar a las primeras proteínas?

Los respiraderos hidrotermales alcalinos pueden responder esta pregunta<sup>4</sup>. Estos ambientes generan energía mediante un proceso denominado serpentización, generando gradientes de magnitud y orientación igual a los acetógenos y metanógenos actuales (que son los organismos con el metabolismo que más se acerca al que pudo existir algún día en estos ambientes) de forma que favorecen la actividad de un metabolismo primitivo, además estos ambientes eran estables y bastante comunes en la Tierra primitiva<sup>5</sup>. Aun así, sigue habiendo problemas por resolver como la permeabilidad de las paredes de FeS de estos respiraderos, lo que supondría que se disipara el gradiente, o el problema del potencial de reducción que complica la posibilidad de que tenga lugar la reducción de CO<sub>2</sub> a partir de H<sub>2</sub>, pero todos estos problemas parecen tener solución ya que las corrientes de convección oceánicas y el flujo hidrotermal mantendrían continuamente el gradiente, y en cuanto al problema del potencial de reducción, el estudio sobre el metabolismo de acetógenos y metanógenos desvela un mecanismo que haría esto posible, la bifurcación de electrones dependiente de flavina.

El objetivo del presente trabajo de revisión bibliográfica es intentar responder de forma coherente cómo la energía requerida para el origen de la vida fue aportada por los respiraderos hidrotermales alcalinos, cómo pudo ser aprovechada esta energía por las primeras formas de vida dando lugar al origen de LUCA y qué influencia tuvo el origen de un bombeo activo de electrones en la diversificación.

## 2. RESPIRADEROS HIDROTERMALES ALCALINOS

Según la lógica de Christian de Duve la única explicación científicamente plausible para explicar el paso de la geoenergética a la bioenergética, es la selección, lo que quiere decir que algún entorno tuvo que presentar características similares a las de los metabolismos que conocemos hoy en día, más concretamente al de los acetógenos y metanógenos<sup>22</sup>. Encontrar un ambiente con estas características parecía difícil hasta que Russell propuso los respiraderos hidrotermales alcalinos. Son el ambiente con más probabilidades de haber sido el lugar donde se originó la vida, ya no solo por ser un ambiente estable en la Tierra primigenia y con una distribución casi continua sino por dos razones importantes.

En primer lugar, el desequilibrio químico (que aporta la energía necesaria para la vida). La ausencia de esta característica descarta muchas hipótesis como la sopa primigenia, pero a priori no descarta las fumarolas negras ya que también generan este desequilibrio, aunque otros factores los hacen menos probables que los respiraderos alcalinos. Específicamente, los respiraderos volcánicos tienen una vida útil mucho más corta que los respiraderos alcalinos, sus temperaturas son mucho más altas, por encima de 250 °C, donde el carbono es estable como CO<sub>2</sub>, a diferencia del rango de vida compatible de 50–90 °C de los respiraderos, y tienen un pH muy ácido, típicamente pH 1. Este es un valor que el contenido celular moderno nunca ve, a diferencia del pH 9-10 en los sistemas alcalinos<sup>6</sup>.

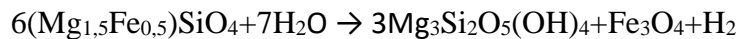
La segunda razón para favorecer los respiraderos alcalinos como reactores para la vida es la sorprendente similitud general entre la química en los respiraderos hidrotermales alcalinos, por un lado, y el metabolismo central de carbono y energía de los metanógenos y acetógenos modernos por el otro. Ningún otro entorno geoquímico se acerca tanto a cerrar la brecha entre la geoquímica y la química biológica<sup>1</sup>.

Para poder explicar cómo surge este desequilibrio, es necesario conocer las condiciones que había en la Tierra primigenia, las concentraciones atmosféricas de CO<sub>2</sub> probablemente fueron hasta mil veces superiores a los niveles actuales, y el oxígeno molecular estaba ausente, dando una química oceánica muy diferente a la actual. El alto contenido de CO<sub>2</sub> hizo que los océanos fueran ligeramente ácidos, pH 5,5–6 en comparación con el pH 8 actual, lo que, en ausencia de O<sub>2</sub>, permitió que los metales de transición, más

significativamente  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Ni}^{2+}$  se acumularan en los primeros océanos <sup>7</sup>. Esto les permitió actuar como reactores electroquímicos.

## 2.1. SERPENTINIZACIÓN

La serpentinización es importante en el contexto de los orígenes bioquímicos porque es la fuente de electrones para reducir el  $\text{CO}_2$  en los sistemas hidrotermales<sup>8</sup>. A las altas presiones y temperaturas moderadamente altas de la corteza oceánica, minerales como el olivino reaccionan con agua para formar un mineral hidroxilado, serpentinita, y concentraciones de  $\text{H}_2$ , disuelto en fluidos alcalinos, la reacción de este proceso es la siguiente:

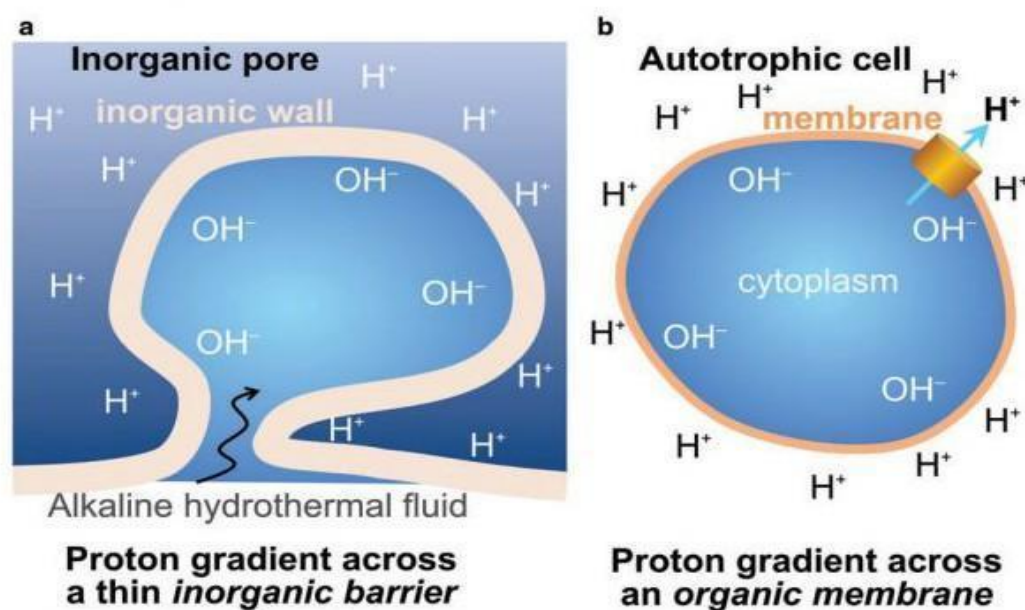


Se produce cuando las rocas derivadas del manto superior (ricas en olivino) se exponen al agua del océano, que se filtra por las fracturas a lo largo de varios kilómetros para reaccionar con las rocas que se encuentran bajo el fondo del mar. Esta reacción exotérmica, combinada con el calor geotérmico, genera un fluido hidrotérmico alcalino (pH 9-11) cargado de minerales, que se eleva hasta el fondo del mar y exhala a 70-90 °C.

Un ejemplo es lo que ocurre hoy en Lost City (un respiradero hidrotérmico alcalino en el océano Atlántico) donde el exhalado se precipita en grandes espirales de minerales microporosos que consisten en carbonato de calcio y magnesio <sup>9,10</sup>. Sus delgadas paredes minerales forman barreras osmóticas que separan los fluidos alcalinos cálidos ricos en  $\text{H}_2$ , de las aguas oceánicas más frías y oxidadas. Los fluidos alcalinos cálidos y reducidos se filtran continuamente a través de los laberintos de microporos, sosteniendo gradientes térmicos, redox y de pH dentro de los respiraderos. La convección secundaria en las aguas oceánicas adyacentes garantiza un suministro constante de  $\text{CO}_2$  y otros solutos a los márgenes del montículo. Los montículos hidrotérmicos de la Tierra temprana no habrían sido espirales de carbonato como en

Lost City hoy en día, sino que habrían sido ricos en sulfuros de metales de transición.

Los fluidos hidrotérmicos se filtran a través de laberintos de microporos interconectados con diámetros de decenas a cientos de micrómetros, que recuerdan a una esponja mineralizada<sup>10,11</sup>. Los gradientes de redox y pH dan lugar a una química vectorial que es notablemente similar, tanto en magnitud como en polaridad, a la de las células autótrofas modernas. Concretamente, cada poro podría tener diferencias de pH de 3 unidades a través de las barreras inorgánicas de paredes finas que lo limitan, lo que daría una fuerza motriz de protones de alrededor de 200 mV, con el interior alcalino y fuertemente reductor y el exterior relativamente ácido y oxidante. Esta estructura es precisamente análoga a la de las células autótrofas<sup>12-14</sup>. Las barreras en sí mismas, sin embargo, están lejos de ser análogas a las membranas celulares. Las membranas fosfolipídicas modernas tienen un diámetro de unos 5 nm, mientras que las paredes inorgánicas de los poros de ventilación suelen tener un grosor de varios micrómetros (Fig. 1)<sup>4</sup>.



**Figura 1. Representación esquemática de los poros de ventilación los respiraderos hidrotermales y las células autótrofas.** Ambas estructuras tienen una topología análoga. **a)** Los poros de los respiraderos hidrotermales alcalinos tienen paredes inorgánicas relativamente gruesas, que deberían haber incorporado minerales semiconductores de Fe(Ni)S. Estas barreras separan los fluidos hidrotérmicos alcalinos (pH 11) de las aguas oceánicas ligeramente ácidas (pH 5-7). Las paredes con fugas no impiden la mezcla, el flujo hidrotérmico continuo y la convección oceánica mantienen los gradientes de pH. **b)** La topología es



precisamente análoga en esencialmente todas las células autótrofas, incluidas las bacterias y las arqueas. La membrana celular orgánica (compuesta de lípidos) es mucho más delgada (5 nm frente a 1 o varios  $\mu\text{m}$ ) pero la diferencia de pH es exactamente equivalente tanto en magnitud (unas 3 unidades de pH) como en polaridad (exterior ácido). En el caso de las células autótrofas, el gradiente de protones se genera continuamente por las bombas de membrana, que extruyen activamente los protones (flecha) para mantener la diferencia de pH y así la fuerza protón motriz.<sup>4</sup>

### 3. ORIGEN DE LUCA

En esta situación en la que los respiraderos hidrotermales proporcionaban energía, empiezan a prosperar las primeras formas de vida, cuando estos metabolismos energéticos primitivos coinciden en el tiempo y en el espacio con la síntesis de las primeras moléculas con capacidad catalítica y replicativa. Éstas empiezan a concentrarse por gradientes de temperatura (termoforesis) dentro de los laberintos microporosos facilitando la polimerización de aminoácidos y nucleótidos, la precipitación de lípidos y en última instancia los ciclos replicativos. Por lo que se puede prever el origen de genes, proteínas y selección natural en los sistemas hidrotermales alcalinos<sup>15</sup>.

Así es como surgió LUCA, el antecesor común, anaerobio y autótrofo, cuyo metabolismo utilizaba la vía del acetyl-CoA para obtener energía en forma de ATP (gracias a la ATP sintasa) y para la fijación del carbono. Utilizaba el mecanismo de bifurcación de electrones dependiente de flavinas para la reducción de  $\text{CO}_2$  a partir de  $\text{H}_2$ . Poseía enzimas ricas en grupos FeS y una girasa inversa (típica de termófilos) lo que indica que habitaba en un ambiente con altas temperaturas, lo cual encaja perfectamente con los respiraderos hidrotermales alcalinos. Vamos a ir viendo todo esto con más detenimiento<sup>16</sup>.

#### 3.1. BIFURCACIÓN ELECTRONES DEPENDIENTE DE FLAVINAS

¿Cómo puede reducirse el  $\text{CO}_2$ ? El potencial de reducción de la pareja de  $\text{CO}_2/\text{HCOOH}$  ( $-430$  mV) es inferior al de la pareja  $2\text{H}^+/\text{H}_2$  ( $-414$  mV)<sup>17</sup>. La solución de algo que parece imposible la encontramos en el metabolismo de los acetógenos y metanógenos actuales. Se trata de un mecanismo, la bifurcación de electrones dependiente de flavinas, que se basa en la reducción exergónica de  $\text{CO}_2$  a partir de  $\text{H}_2$  para dar metano/acetato (metanógenos/acetógenos respectivamente). El problema es que,

aunque esta reacción es exergónica, requiere que se supere una barrera termodinámica <sup>18</sup> de forma que, para conseguirlo, se acopla la reducción endergónica de ferredoxina a partir de H<sub>2</sub> a la reducción exergónica de un aceptor de alto potencial (un heterodisulfuro para metanógenos y NAD<sup>+</sup> para acetógenos). El potencial de membrana generado se utiliza para la síntesis de ATP y la asimilación de carbono.

Este mecanismo explicado es el que utilizan los autótrofos modernos, recreando los gradientes de los respiraderos, pero ¿podría tener lugar en estos respiraderos? Se requieren proteínas para llevarse a cabo, lo cual supone un problema en un origen en el que aún no habrían surgido dichas proteínas. Podemos pensar que los minerales ferrosulfurados podrían desempeñar la función de la ferredoxina. Además, los respiraderos hidrotermales favorecerían este proceso, pues los potenciales de reducción del H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> varían con el pH <sup>19</sup>; el H<sub>2</sub> es más reductor en condiciones alcalinas, y el CO<sub>2</sub> se reduce más fácilmente en condiciones ácidas. Debido a que el CO<sub>2</sub> se repone en la fase ácida del océano y el H<sub>2</sub> se repone en la fase hidrotermal alcalina se baja la barrera termodinámica y conduce así a la asimilación de carbono. Tal reducción es posible por el hecho de que este sistema está naturalmente compartimentado, con diferentes potenciales de reducción que actúan en lados opuestos de paredes delgadas y semiconductoras de FeS. Pero también presentan un inconveniente, ya que estos minerales son donantes de un electrón y el CO<sub>2</sub> se reduce mejor con dos electrones a la vez.

¿De donde se aportan los electrones si no es el H<sub>2</sub> ni los minerales FeS? La respuesta es que los metales nativos pueden reducir eficientemente el CO<sub>2</sub> con las condiciones que había en los respiraderos hidrotermales alcalinos. Se desconoce el proceso por el cual se obtienen los electrones de estos metales, pero como vemos en la (Fig. 2)<sup>20</sup>, en el laboratorio se ha probado que estas reacciones son posibles.



unos pocos pasos desde el H<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub> hasta el acetil-CoA, molécula que está en el centro del metabolismo en todas las células, incluido en el resto de vías de fijación del carbono. Esto hace que sea más fácil de evolucionar que en un ciclo complejo, con sus problemas de disminución del rendimiento en cada paso. En tercer lugar, a diferencia de otras vías, una gran proporción de las enzimas implicadas dependen de cofactores simples de Fe(Ni)S, con estructuras similares a las de minerales presentes en los sistemas alcalinos, que ofrecen una ruta plausible para pasar de los catalizadores inorgánicos que impulsan la química abiótica a los cofactores enzimáticos codificados genéticamente, lo que es especialmente importante para una ruta en la que se basa todo el resto del metabolismo. En cuarto lugar, la vía depende estrictamente del acoplamiento quimiosmótico, pero en este caso el circuito electroquímico de los iones es extremadamente simple, carente de las quinonas y los citocromos responsables de la transferencia de electrones y el bombeo de iones activos en los otros grupos <sup>22</sup>. Por último, la vía del acetil-CoA es única en el sentido de que está presente en los dos dominios primarios de la vida, las bacterias y las arqueas, lo que implica que era la única vía de fijación del carbono en el último antepasado común universal (LUCA). Pero esta última afirmación lleva directamente a dos grandes problemas.

Primero que todavía hay poco acuerdo sobre la profunda ramificación del "árbol de la vida" en bacterias y arqueas. La prevalencia de la transferencia lateral de genes entre procariotas, incluso a través de dominios, significa que las ramas más profundas del árbol de la vida pueden ser irresolubles sólo por la filogenética <sup>23</sup>. Podría ser que la vía del acetil-CoA fuera efectivamente la vía ancestral o que evolucionara más tarde por evolución convergente a medida que diferentes grupos se adaptaban o que evolucionara en un dominio y se adquiriera en el otro por transferencia lateral de genes.

Esto nos lleva al segundo problema. Si la vía del acetil-CoA era genuinamente ancestral tanto de las arqueas como de las bacterias, entonces la arquitectura básica de la vía debería conservarse en ambos grupos. Sin embargo, ese no es el caso.

Existen profundas diferencias filogenéticas en los cofactores, que desempeñan una función central y universal en el transporte de unidades C1 entre acetógenos y metanógenos (tetrahidrofolato -H4F y tetrahidrometanopterina -H4MPT, respectivamente). Además, las distintas enzimas implicadas en la síntesis del grupo

metilo<sup>24</sup> son completamente diferentes a nivel de estructura primaria en ambos grupos. Existen además diferencias en el "cableado" general de las vías entre estos dos tipos de metabolismo, en particular en el proceso de bifurcación de los electrones y en las proteínas de membrana que intervienen en el bombeo de iones activos.

Por lo tanto, los puntos comunes y las diferencias en la vía del acetyl-CoA en los metanógenos y los acetógenos plantean un enigma. Ambos dependen de varias proteínas FeS clave, como la ferredoxina, y emplean el "truco" de la bifurcación electrónica dependiente de flavina para impulsar la reducción de una ferredoxina de bajo potencial por H<sub>2</sub>, que es una reacción fuertemente endergónica. En ambos casos, la bifurcación de electrones emplea flavinas e hidrogenasas para separar el par de electrones del H<sub>2</sub>. Además, en los dos casos, la reducción endergónica de la ferredoxina va unida a una reducción exergónica, de manera que la reducción exergónica impulsa la endergónica, con un aumento general de la entropía.

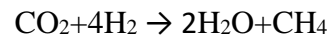
Pero también hay otras similitudes. En ambos casos, la vía del acetyl-CoA comprende dos ramas convergentes, en las que una de ellas genera CO y la otra forma un grupo metilo unido a un cofactor<sup>18,25</sup>. Los grupos CO y -CH<sub>3</sub> son reaccionados conjuntamente por la enzima común CODH/ACS (monóxido de carbono deshidrogenasa/acetyl-CoA sintasa), que cataliza el mismo par de reacciones en los metanógenos y los acetógenos. Así que hay fuertes similitudes generales que denotan raíces comunes de la vía del acetyl-CoA en ambos dominios. Pero las diferencias son igualmente significativas. Esto sugiere que esta vía haya tenido dos fases de evolución. Por un lado, la rama de la síntesis de CO y de la convergencia de ambas ramas, que es la más primitiva y se mantiene en bacterias y arqueas, y por otro lado, la rama de la síntesis de -CH<sub>3</sub> que supone la primera divergencia al surgir de forma independiente en ambos bandos.

#### 4. ACETÓGENOS Y METANÓGENOS

En los siguientes apartados se va a describir el metabolismo de acetógenos que no utilizan citocromos ni quinonas y el de los metanógenos sin citocromos ni metanofenazina. Es decir, los que se acercan más a los metabolismos primitivos, siendo los que poseen citocromos, quinonas y metanofenazina metabolismos posteriores en la evolución.

#### 4.1. EL PROCESO DE LA METANOGÉNESIS

Los metanógenos utilizan la siguiente reacción para obtener energía:



La metanogénesis en arqueas tiene la reducción endergónica de la ferredoxina acoplada a la reducción exergónica de un enlace de un heterodisulfuro (CoM-SS-CoB) a dos tioles <sup>26,27</sup> utilizando el complejo enzimático Hdr (Hidrogenasa). Este proceso tiene lugar gracias a Ech (hidrogenasa convertidora de energía) que permite la entrada de protones a través de la membrana (Fig. 3)<sup>20</sup>.

La ferredoxina se utiliza entonces para reducir el CO<sub>2</sub> en la rama de la síntesis de metilo. La energía se conserva cuando el grupo metilo se transfiere de un cofactor a otro (específicamente de un grupo N a un grupo S) por la enzima metiltransferasa (Mtr) que extrae un ión Na<sup>+</sup> a través de la membrana plasmática. Por último, el grupo metilo recoge un par de electrones de los dos tioles formados por bifurcación de electrones, lo que regenera el enlace de heterodisulfuro y libera CH<sub>4</sub> como producto de desecho.

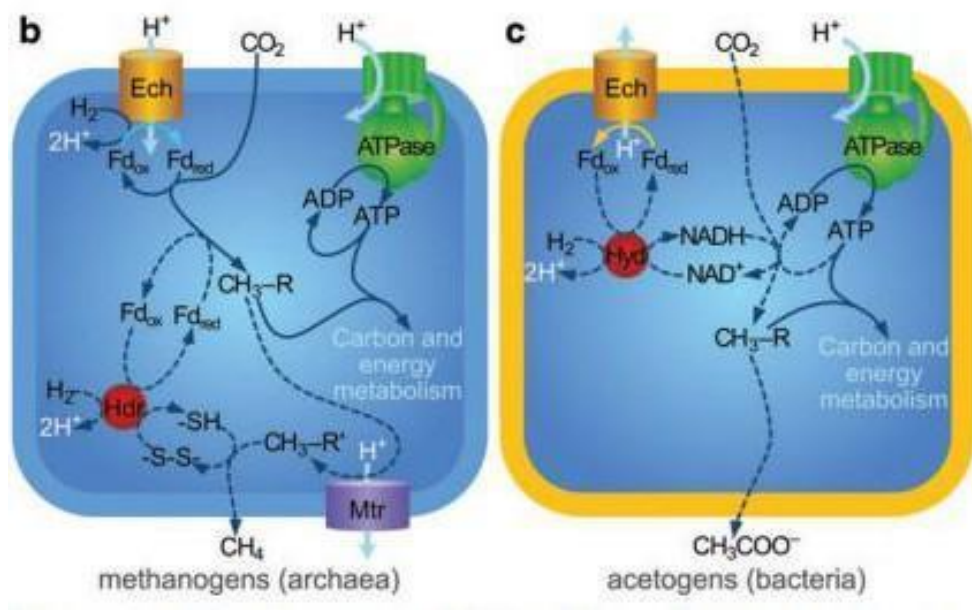
En general, la metanogénesis conserva la energía en forma de un gradiente iónico electroquímico a través de la membrana, lo que significa que la energía liberada por la generación de metano a partir de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> se utiliza para bombear los iones a través de una membrana, y nada más.

Mientras que los metanógenos típicamente bombean iones de Na<sup>+</sup>, el gradiente de Na<sup>+</sup> es totalmente intercambiable con el H<sup>+</sup> a través del antiportador Na<sup>+</sup>/H, que parece ser necesario para el crecimiento <sup>28,29</sup>.

Una vez establecida una fuerza motriz de protones de esta manera, los metanógenos la utilizan para impulsar la reducción directa de la ferredoxina por H<sub>2</sub>. Al igual que antes, la ferredoxina impulsa los difíciles pasos iniciales de la reducción del CO<sub>2</sub>, para sintetizar un grupo metilo. Pero esta vez (al ser una reducción directa impulsada por la fuerza motriz de los protones, y no por la bifurcación de los electrones) no hay necesidad de regenerar ningún enlace heterodisulfuro para el equilibrio redox, por lo que el grupo metilo puede utilizarse para la síntesis de acetil-CoA. Esto a su vez impulsa

el metabolismo intermedio. El gradiente iónico también se utiliza para impulsar la síntesis de ATP directamente a través de la ATP sintasa.

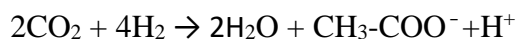
En resumen, la metanogénesis conserva la energía en forma de gradiente de protones y la utiliza para impulsar tanto el metabolismo del carbono como el de generación de la energía.



**Fig 3. Esquema del metabolismo de metanógenos (izquierda) y acetógenos (derecha)** En la imagen podemos ver las diferencias entre metanógenos y acetógenos, los primeros tienen acoplada la reducción de la ferredoxina a un heterodisulfuro mientras que los acetógenos la tienen acoplada al NAD<sup>+</sup> y para ello ambos utilizan complejos enzimáticos diferentes, Hdr y Hyd, respectivamente. La dirección de flujo de protones a través de Ech es inversa, los metanógenos introducen protones, mientras que los acetógenos los extruyen (por ello los metanógenos utilizan Mtr para expulsar protones) además el producto de desecho de ambos es distinto, unos metano y otros acetato. Pero también observamos similitudes como la utilización de la ATP sintasa o el mecanismo de bifurcación de electrones <sup>20</sup>.

#### 4.2. EL PROCESO DE LA ACETOGÉNESIS

Los acetógenos utilizan la siguiente reacción para obtener energía:



En este caso, la difícil reducción de la ferredoxina se logra de nuevo mediante la bifurcación de electrones dependiente de flavinas <sup>22</sup>. Sin embargo, en la acetogénesis, la reducción de la ferredoxina va unida a la reducción exergónica de NAD<sup>+</sup> a NADH, utilizando un complejo diferente de hidrogenasa FeS (Hyd). La ferredoxina se vuelve a oxidar inmediatamente, y sus electrones se transfieren a más NAD<sup>+</sup>, y la energía liberada impulsa la extrusión de iones Na<sup>+</sup> o H<sup>+</sup> a través de la membrana plasmática en un solo lugar de acoplamiento, Ech (hidrogenasa convertidora de energía) o Rnf (ferredoxina:NAD<sup>+</sup> oxidorreductasa), según la especie <sup>30</sup>.

Por lo tanto, la síntesis del grupo metilo en los acetógenos se logra por una vía completamente diferente, impulsada por el ATP y la NADH en lugar de la ferredoxina, y catalizada por enzimas y cofactores que no están relacionados con los de los metanógenos. El acetil-CoA se produce a partir de la misma reacción del grupo metilo con el CO, como en los metanógenos; pero en este caso el producto de desecho, formado más tarde, es el acetato. La excreción de acetato impulsa todo el proceso en dirección hacia adelante, manteniendo el equilibrio redox. Así pues, en los acetógenos, nunca se recurre a una fuerza motriz de los protones para reducir directamente la ferredoxina, sino que un gradiente de Na<sup>+</sup> impulsa la síntesis de ATP, que a su vez impulsa la fijación del carbono utilizando el NADH.

#### 4.3. HIPÓTESIS DE FIJACIÓN DE CARBONO

Estas profundas diferencias en la vía del acetil-CoA son desconcertantes, pero podrían tener la respuesta en los respiraderos hidrotérmicos alcalinos. Estas predicciones tienen mucho que decir acerca de la divergencia más profunda en el árbol de la vida, entre los dos dominios primarios: las arqueas (representadas por los metanógenos) y las bacterias (representadas por los acetógenos). La pregunta es simple: ¿por qué la síntesis de los grupos metilo a partir del CO<sub>2</sub> es tan diferente en los metanógenos y los acetógenos?

La hipótesis más simple es que en los respiraderos no había necesidad de una vía de síntesis de metilo codificada genéticamente: la serpentinización proporcionaba grupos de metilo reactivos en forma de moléculas como el metanol o sulfuro de metilo en abundancia <sup>24</sup>. En otras palabras, la reducción de CO<sub>2</sub> fue básicamente un proceso



geológico a temperaturas y presiones más altas, catalizadas por metales nativos. Si el  $\text{CH}_3\text{SH}$  era realmente abundante en los respiraderos, no habría necesidad de que las células evolucionaran una vía para la síntesis de metilo hasta más tarde, cuando escaparan de los respiraderos; entonces, presumiblemente, los metanógenos y acetógenos evolucionaron la rama de la síntesis de metilo de forma independiente, al igual que otros rasgos. Pero el requisito de sintetizar CO (por la otra rama de la vía del acetil-CoA) y reaccionarlo con un grupo metilo para formar acetil-CoA permaneció, lo que explica la conservación del resto de la vía.

Los "fósiles" bioquímicos sugieren que los grupos metilo podrían haber sido alguna vez muy abundantes. Sin embargo, se informa de que la principal fuente de  $\text{CH}_3\text{SH}$  en al menos algunos sistemas modernos de ventilación es un producto de la bioquímica y no de la geoquímica. Con la muy limitada información actual, parece poco probable que el  $\text{CH}_3\text{SH}$  se produzca en cantidades suficientes para impulsar la bioquímica primordial. No obstante, es factible que el  $\text{CH}_3\text{SH}$  se produjera más abundantemente por la reducción de  $\text{CO}_2$  en los sistemas anóxicos de la Tierra primigenia y una vez formado, era ciertamente menos probable que se oxidara rápidamente en los sistemas anóxicos de ventilación temprana. O bien el  $\text{CH}_3\text{SH}$  abiótico podría ser más abundante en sistemas modernos aún no descubiertos, o bien podría ser consumido en gran medida hoy en día por las células que viven en las profundidades de la corteza, especialmente dado que los respiraderos modernos están limitados por el carbono <sup>31</sup>. Todas estas son predicciones comprobables, y todavía es demasiado pronto para sacar conclusiones.

## 5. BOMBEO ACTIVO DE PROTONES

En las células modernas, la bioenergética depende de la impermeabilidad de las membranas <sup>32</sup>. En los respiraderos ni las paredes inorgánicas ni las primeras membranas orgánicas podrían mantener el potencial electroquímico por mucho tiempo. En este entorno esto no era ningún problema ya que la convección de los océanos y el flujo hidrotérmico mantendría de forma ininterrumpida estos gradientes. En este contexto las protocélulas, más impermeables, sufrían una desventaja, ya que disipaban la fuerza protón motriz a no ser que fueran capaces de bombear protones activamente. Esta situación les condujo a una crisis y resultó ser muy costosa (pues suponía regenerar un gradiente que ya existía en los respiraderos) desviando la energía de la fijación de carbono (metabolismo del carbono) al bombeo de protones

(metabolismo energético). Si además tenemos en cuenta que las primeras bombas serían menos eficientes que las actuales, y que las membranas aún serían algo permeables, entendemos el gran costo que esto supuso y el gran desafío evolutivo. Pero lo que por un lado parece un inconveniente, por otro lado puede ser una ventaja, pues estas protocélulas podrían escapar de los respiraderos y vivir de forma independiente mientras que las que seguían siendo permeables eran dependientes de estos entornos y murieron con ellos. Pero ¿cómo fueron capaces de solucionar esta crisis que se planteaba tan costosa?

La hipótesis más plausible es que se volvieran impermeables al  $\text{Na}^+$  antes que al  $\text{H}^+$ , por tanto, el flujo de protones podría impulsar la salida de  $\text{Na}^+$  gracias a un antiportador similar a los actuales.

Esto era capaz de transducir un gradiente geoquímico de  $\text{H}^+$  en un gradiente bioquímico de  $\text{Na}^+$  aportando beneficios inmediatamente al acoplamiento. Sólo cuando el bombeo era ventajoso, había algún beneficio al reducir la permeabilidad de la membrana <sup>33</sup>. La estereoquímica opuesta de los grupos de cabeza de fosfato de glicerol en los lípidos de la membrana de las arqueas y las bacterias <sup>34</sup> implica que las membranas surgieron independientemente, posiblemente de dos poblaciones distintas de células que vivían en gradientes naturales de protones. Si es así, y la evolución de las membranas estaba supeditada a la invención previa del bombeo activo, ¿podría haberse producido también la evolución del bombeo de forma independiente? Esa parece ser la posibilidad más probable, porque las diferencias entre metanógenos y acetógenos pueden explicarse por las distintas formas en que se "cablean" la bifurcación de los electrones al bombeo de iones.

Si suponemos que el metabolismo ancestral de las células era análogo al de los metanógenos, en el que los gradientes naturales de los protones impulsaban la reducción de la ferredoxina a través de la Ech, ¿cuál habría sido la bomba más sencilla de evolucionar?

La bomba más simple no requirió ningún invento. Ya existía: Ech, la hidrogenasa convertidora de energía <sup>35</sup>. Los metanógenos utilizan el flujo interno de  $\text{H}^+$  para reducir la ferredoxina, pero algunos acetógenos simplemente invirtieron la dirección del flujo iónico, utilizando la energía de la oxidación de la ferredoxina para bombear los iones hacia afuera a través de la membrana<sup>22</sup>. La ferredoxina había sido utilizada hasta ahora para reducir el  $\text{CO}_2$  a un grupo metilo, impulsando todo el metabolismo del carbono y de la energía; ahora se

estaba poniendo en otro uso, el bombeo activo. Esto supuso que ya no había ninguna ferredoxina para reducir el CO<sub>2</sub>, por lo que la vía ancestral de la síntesis de metilo tenía que ser reemplazada. Pero la oxidación de la ferredoxina generó NADH, y el nuevo gradiente iónico generado impulsó la síntesis de ATP. Así es precisamente como los acetógenos reducen el CO<sub>2</sub> para formar un grupo metilo: utilizan el NADH y el ATP. Esto se puede ver como una vía novedosa que hizo uso de los recursos que estaban presentes.

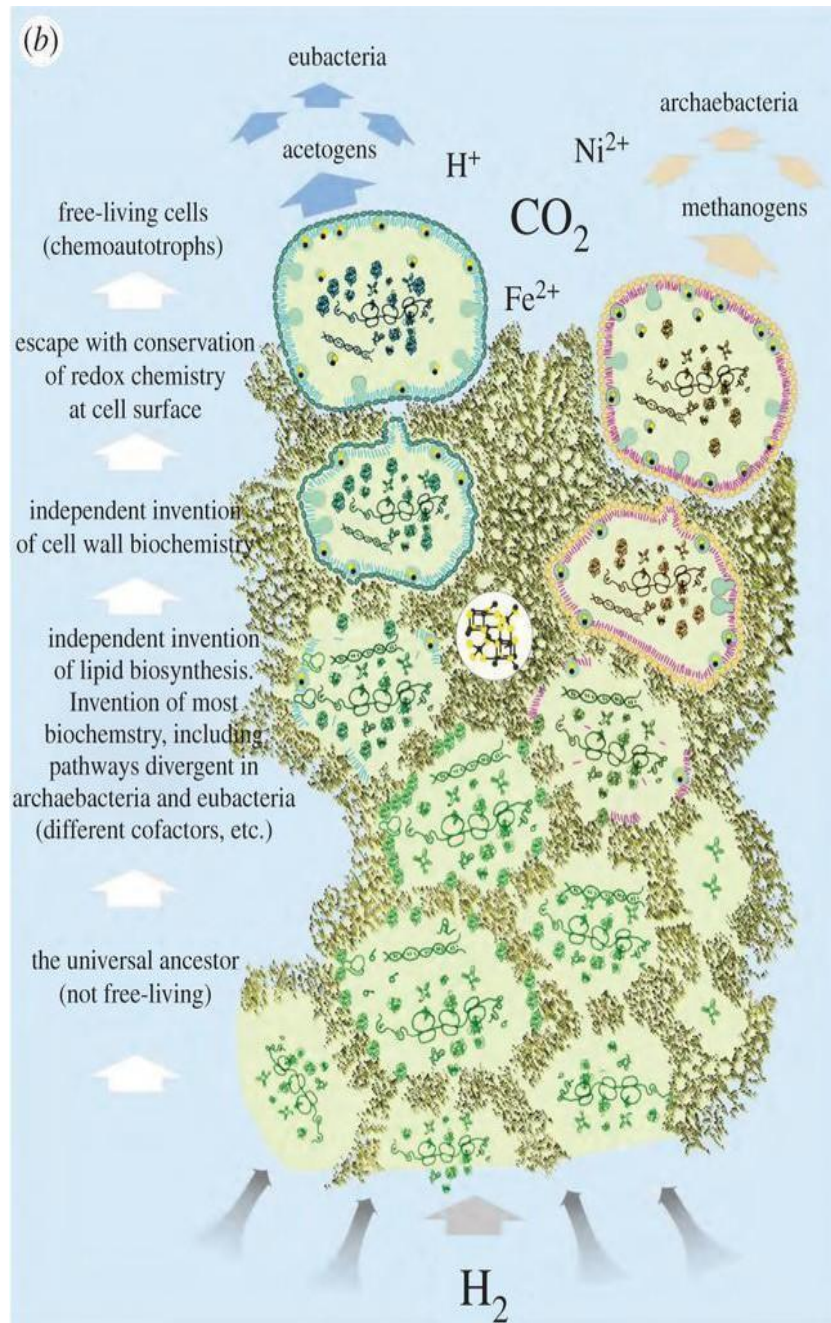
Cabe señalar que muchos acetógenos utilizan Rnf como su bomba de iones en lugar de Ech, pero estos dos complejos proteínicos son funcionalmente equivalentes y relativamente sencillos <sup>22</sup>, por lo que es fácil imaginar que uno reemplaza al otro.

Entonces, ¿qué hicieron los metanógenos? Siguieron haciendo lo que siempre hicieron, recurriendo a la fuerza motriz de los protones para reducir la ferredoxina a través de la Ech. Pero eso significaba que tenían que desarrollar una nueva bomba, recogiendo suficiente energía de algún lugar para alimentar la extrusión activa de iones. Ese lugar resultó ser la transferencia de un grupo metilo a un nuevo cofactor <sup>26,27</sup>.

Esta transferencia es catalizada por la enzima Mtr, que parece haber evolucionado a partir de un antiportador de membrana <sup>30</sup>. El cambio conformacional de Mtr extrae un ión de Na<sup>+</sup> a través de la membrana, que como se ha señalado anteriormente se convierte en un gradiente H<sup>+</sup> a través del antiportador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>. Si bien la transferencia de un grupo metilo conserva la energía en forma de gradiente de iones, ya no es capaz de formar el acetyl-CoA intermedio de alta energía. En su lugar, recoge un último par de electrones y se libera como metano <sup>22</sup>. Ese último par de electrones proviene de H<sub>2</sub>, pero no directamente. Los metanógenos requirieron más proteínas de Fe(Ni)S para desarrollar su propia forma de bifurcación de electrones basada en la flavina, en la que la reducción endergónica de la ferredoxina es impulsada por la reducción exergónica de un heterodisulfuro, para formar dos tioles. Estos tioles, a su vez, transmiten sus electrones al grupo metilo agotado energéticamente, para generar el producto de desecho, metano.

Si este razonamiento es correcto, entonces la profunda diferencia en la síntesis de metilo entre los metanógenos y los acetógenos se explica simplemente en términos de una decisión binaria sobre la dirección del flujo de protones a través de Ech. Los metanógenos tienen un flujo hacia el interior que impulsa la reducción de la ferredoxina, mientras que los acetógenos

invierten ese flujo, impulsando un flujo hacia el exterior por la oxidación de la ferredoxina (Fig 4)<sup>36</sup>. Esto no deja de ser una hipótesis, pero comprobable tanto en el laboratorio como por la filogenética.



**Figura 4. Esquema de la divergencia entre acetógenos (arqueas) y metanógenos (bacterias).** En la imagen podemos ver como una evolución distinta de dos poblaciones de células que vivían en el mismo ambiente pudo impulsar el origen de dos metabolismos distintos a partir de un ancestro común. Las primeras diferencias tuvieron que ver con la síntesis de los lípidos de membrana, lo que supuso que pudieran tener rutas bioquímicas diferentes. Más adelante se aprecian diferencias en la pared celular, para finalmente abandonar el ambiente del que provenían, como células diferentes <sup>36</sup>.

## 6. CONCLUSIONES

Como hemos visto, algo indiscutible para el origen de la vida es que requiere energía. Aquí proponemos que fue aportada por los respiraderos hidrotérmicos alcalinos en forma de desequilibrio químico mediante el proceso de serpentización. Podemos intuir cómo esta energía fue aprovechada para la fijación del CO<sub>2</sub> por las primeras formas de vida gracias al estudio del metabolismo de acetógenos y metanógenos actuales, que utilizan el mecanismo de bifurcación de electrones a base de flavina. Pero la ausencia de algunas proteínas necesarias para este sofisticado mecanismo nos planteaba la duda de si pudo tener lugar en un origen donde aún no existían dichas proteínas. Consideramos que los metales nativos pudieron ser la solución, realizando la fijación de CO<sub>2</sub> gracias a las condiciones que brindaban los respiraderos hidrotermales alcalinos.

La coincidencia en el tiempo y el espacio de esta obtención de energía y la síntesis de las primeras moléculas con capacidad catalítica y replicativa dieron lugar al origen de LUCA (último antecesor común universal) cuyo metabolismo utilizaba la vía del Acetil-CoA para obtener energía en forma de ATP (gracias a la ATP sintasa) y para la fijación de carbono (Figura 4). Pero el hecho de que una de las dos ramas de esta vía (la rama de la síntesis de metilo) no esté conservada en acetógenos y metanógenos nos supone un problema. Lo explicamos con la hipótesis de que, en un origen, esta síntesis no era necesaria porque los respiraderos hidrotermales alcalinos lo proporcionaban de forma gratuita. Una evolución independiente del bombeo activo de protones, basada en una decisión binaria en la dirección de flujo de iones a través de la proteína de membrana “Ech” puede explicar que esta vía sea diferente en acetógenos (arqueas) y metanógenos (bacterias) suponiendo así la primera diversificación a partir de LUCA.

## BIBLIOGRAFIA

1. Martin, W. & Russell, M. J. On the origin of biochemistry at an alkaline hydrothermal vent. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (2007) doi:10.1098/rstb.2006.1881.
2. Schultz, V. & Morowitz, H. J. Energy Flow in Biology. *J. Wildl. Manage.* (1969) doi:10.2307/3799355.
3. Harold, F. The Vital Force. *A Study Bioenerg.* WHFreeman Co., New ... (1986) doi:10.1108/eb044683.
4. Sojo, V., Herschy, B., Whicher, A., Camprubí, E. & Lane, N. The Origin of Life in Alkaline Hydrothermal Vents. *Astrobiology* (2016) doi:10.1089/ast.2015.1406.
5. Martin, W., Baross, J., Kelley, D. & Russell, M. J. Hydrothermal vents and the origin of life. *Nature Reviews Microbiology* (2008) doi:10.1038/nrmicro1991.

6. Kelley, D. S., Baross, J. A. & Delaney, J. R. Volcanoes, Fluids, and Life at Mid-Ocean Ridge Spreading Centers. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* (2002) doi:10.1146/annurev.earth.30.091201.141331.
7. Arndt, N. T. & Nisbet, E. G. Processes on the Young Earth and the Habitats of Early Life. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* (2012) doi:10.1146/annurev-earth-042711-105316.
8. Herschy, B. *et al.* An Origin-of-Life Reactor to Simulate Alkaline Hydrothermal Vents. *J. Mol. Evol.* (2014) doi:10.1007/s00239-014-9658-4.
9. Kelley, D. S. *et al.* An off-axis hydrothermal vent field near the mid-atlantic ridge at 30° n. *Nature* (2001) doi:10.1038/35084000.
10. Kelley, D. S. *et al.* A serpentinite-hosted ecosystem: The Lost City hydrothermal field. *Science* (80-. ). (2005) doi:10.1126/science.1102556.
11. Geptner, A., Kristmannsdóttir, H., Kristjánsson, J. & Marteinson, V. Biogenic saponite from an active submarine hot spring, Iceland. *Clays Clay Miner.* (2002) doi:10.1346/000986002760832775.
12. Nitschke, W. & Russell, M. J. Hydrothermal focusing of chemical and chemiosmotic energy, supported by delivery of catalytic Fe, Ni, Mo/W, Co, S and Se, forced life to emerge. *Journal of Molecular Evolution* (2009) doi:10.1007/s00239-009-9289-3.
13. Lane, N., Allen, J. F. & Martin, W. How did LUCA make a living? Chemiosmosis in the origin of life. *BioEssays* (2010) doi:10.1002/bies.200900131.
14. Lane, N. & Martin, W. F. The origin of membrane bioenergetics. *Cell* (2012) doi:10.1016/j.cell.2012.11.050.
15. Weiss, M. C., Preiner, M., Xavier, J. C., Zimorski, V. & Martin, W. F. The last universal common ancestor between ancient Earth chemistry and the onset of genetics. *PLoS Genetics* (2018) doi:10.1371/journal.pgen.1007518.
16. Koonin, E. V. & Martin, W. On the origin of genomes and cells within inorganic compartments. *Trends Genet.* (2005) doi:10.1016/j.tig.2005.09.006.
17. Ducluzeau, A. L., Schoepp-Cothenet, B., Baymann, F., Russell, M. J. & Nitschke, W. Free energy conversion in the LUCA: Quo vadis? *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* (2014) doi:10.1016/j.bbabi.2013.12.005.
18. Edward, B. & Maden, H. Tetrahydrofolate and tetrahydromethanopterin compared: Functionally distinct carriers in C1 metabolism. *Biochemical Journal* (2000) doi:10.1042/0264-6021:3500609.
19. Corrado, M. E., Aliverti, A., Zanetti, G. & Mayhew, S. G. Analysis of the oxidation-reduction potentials of recombinant ferredoxin-NADP<sup>+</sup> reductase from spinach chloroplasts. *Eur. J. Biochem.* (1996) doi:10.1111/j.1432-1033.1996.0662u.x.
20. Sousa, F. L., Preiner, M. & Martin, W. F. Native metals, electron bifurcation, and CO<sub>2</sub> reduction in early biochemical evolution. *Current Opinion in Microbiology* (2018) doi:10.1016/j.mib.2017.12.010.
21. Fuchs, G. Alternative Pathways of Carbon Dioxide Fixation: Insights into the Early Evolution of Life? *Annu. Rev. Microbiol.* (2011) doi:10.1146/annurev-micro-090110-102801.
22. Buckel, W. & Thauer, R. K. Energy conservation via electron bifurcating ferredoxin reduction and proton/Na<sup>+</sup> translocating ferredoxin oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* (2013) doi:10.1016/j.bbabi.2012.07.002.
23. Martin, W. F. Early evolution without a tree of life. *Biology Direct* (2011) doi:10.1186/1745-6150-6-36.
24. Sousa, F. L. & Martin, W. F. Biochemical fossils of the ancient transition from geoenergetics to bioenergetics in prokaryotic one carbon compound metabolism. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* (2014) doi:10.1016/j.bbabi.2014.02.001.
25. Maden, B. E. H. No soup for starters? Autotrophy and the origins of metabolism. *Trends Biochem. Sci.* (1995) doi:10.1016/S0968-0004(00)89069-6.
26. Li, F. *et al.* Coupled ferredoxin and crotonyl coenzyme A (CoA) reduction with NADH catalyzed by the butyryl-CoA dehydrogenase/Etf complex from *Clostridium kluveri*. *J. Bacteriol.* (2008) doi:10.1128/JB.01417-07.
27. Kaster, A. K., Moll, J., Parey, K. & Thauer, R. K. Coupling of ferredoxin and heterodisulfide reduction via electron bifurcation in hydrogenotrophic methanogenic archaea. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2011) doi:10.1073/pnas.1016761108.

28. Šurín, S. *et al.* Isolation and characterization of an amiloride-resistant mutant of *Methanothermobacter thermautotrophicus* possessing a defective Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport. *FEMS Microbiol. Lett.* (2007) doi:10.1111/j.1574-6968.2007.00655.x.
29. Vidová, M., Bobál'ová, J. & Šmigào, P. Harmaline-resistant mutant of *Methanothermobacter thermautotrophicus* with a lesion in Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport. *Gen. Physiol. Biophys.* (2011) doi:10.4149/gpb-2011-SI1-54.
30. Harms, U., Weiss, D. S., Gärtner, P., Linder, D. & Thauer, R. K. The Energy Conserving N5-Methyltetrahydromethanopterin:Coenzyme M Methyltransferase Complex from *Methanobacterium thermoautotrophicum* is Composed of Eight Different Subunits. *Eur. J. Biochem.* (1995) doi:10.1111/j.1432-1033.1995.0640m.x.
31. Bradley, A. S., Hayes, J. M. & Summons, R. E. Extraordinary <sup>13</sup>C enrichment of diether lipids at the Lost City Hydrothermal Field indicates a carbon-limited ecosystem. *Geochim. Cosmochim. Acta* (2009) doi:10.1016/j.gca.2008.10.005.
32. Martin, W. *et al.* On the origins of cells: A hypothesis for the evolutionary transitions from abiotic geochemistry to chemoautotrophic prokaryotes, and from prokaryotes to nucleated cells. in *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (2003). doi:10.1098/rstb.2002.1183.
33. Sojo, V., Pomiankowski, A. & Lane, N. A Bioenergetic Basis for Membrane Divergence in Archaea and Bacteria. *PLoS Biol.* (2014) doi:10.1371/journal.pbio.1001926.
34. Koga, Y., Kyuragi, T., Nishihara, M. & Sone, N. Did archaeal and bacterial cells arise independently from noncellular precursors? A hypothesis stating that the advent of membrane phospholipid with enantiomeric glycerophosphate backbones caused the separation of the two lines of descent. *J. Mol. Evol.* (1998) doi:10.1007/PL00006283.
35. Hedderich, R. Energy-Converting [NiFe] Hydrogenases from Archaea and Extremophiles: Ancestors of Complex I. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* (2004) doi:10.1023/B:JOB.0000019599.43969.33.
36. Sousa, F. L. *et al.* Early bioenergetic evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (2013) doi:10.1098/rstb.2013.0088.