

Zelluläre Regulation

Bakterielle Überlebensstrategien – Zellzykluskontrolle als Stressantwort

KRISTINA HEINRICH, KRISTINA JONAS

LOEWE-ZENTRUM FÜR SYNTHETISCHE MIKROBIOLOGIE (SYNMIKRO), UNIVERSITÄT MARBURG

The cell cycle is an important physiological process, underlying the proliferation and growth of all living organisms. In bacteria, most research has focused on understanding cell cycle progression under standard growth conditions. However in nature, bacteria are exposed to drastic environmental changes. Recent work shows that bacteria have evolved a variety of mechanisms transducing environmental information into the cell cycle engine to ensure their survival.

DOI: 10.1007/s12268-016-0656-5
© Springer-Verlag 2016

■ Bakterien zeichnen sich durch eine hohe Anpassungsfähigkeit aus. Während sie sich unter optimalen Bedingungen exponentiell vermehren, können sie unter ungünstigen Bedingungen ihr Wachstum und ihre Teilungen komplett einstellen und in einer inaktiven Form Tage oder Wochen überdauern. Eine verlangsamte Teilungsrate führt zu einer erhöhten Toleranz gegenüber harschen Bedingungen, etwa gegenüber Antibiotika [1]. Ein besseres Verständnis der Mechanismen, die es Bakterien erlauben, ihr Wachstum und ihre Teilungsrate dynamisch an die äußeren Bedingungen anzupassen, ist daher von zentraler Bedeutung.

Der Zellzyklus ist die Abfolge von zellulären Ereignissen, die schlussendlich zur Teilung einer Zelle in zwei Tochterzellen führt (Abb. 1). Er beginnt mit der Initiation der DNA-Replikation, die in Bakterien vom Initiatorprotein DnaA abhängt. DnaA ist eine ATPase, die an den Replikationsursprung bindet und dort die DNA-Duplex öffnet. Diese Öffnung erlaubt es der DNA-Polymerase und weiteren Komponenten des Replisoms, mit der DNA zu assoziieren und daraufhin das Chromosom zu kopieren. Bereits während sich die Verdopplung des Chromosoms vollzieht, beginnen sich die beiden resultierenden Chromosomenkopien auf die gegenüberliegenden Zellhälften zu verteilen. Nach Beendigung der Replikation formiert sich zwischen

den zwei komplett replizierten Chromosomen der Z-Ring, ein Polymer aus dem Protein FtsZ, das die zukünftige Position der Scheidewand vorgibt. An den Z-Ring lagern sich nach und nach weitere Zellteilungsfaktoren zu einem Multiproteinkomplex zusammen, dem Divi-

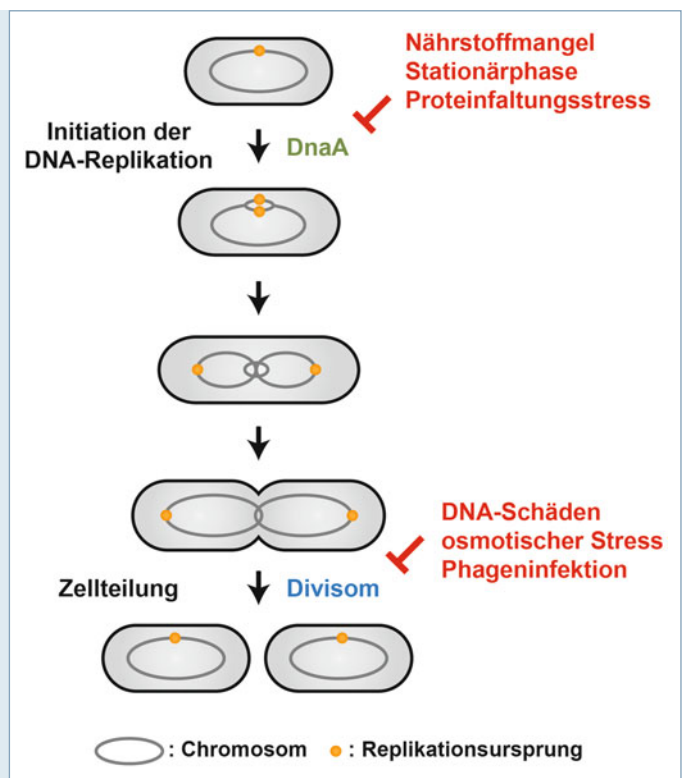
som. Das Divisom führt dann die Trennung der Zelle in die zwei Tochterzellen herbei.

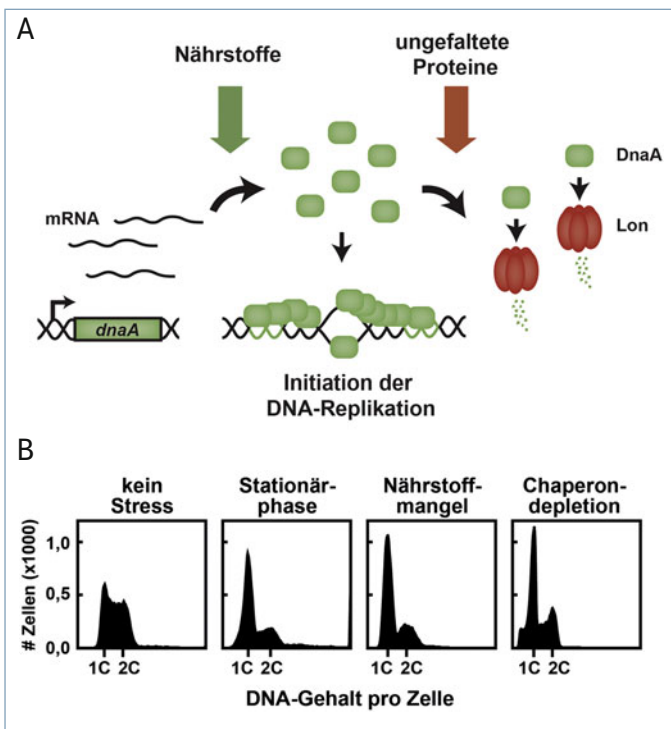
Während die Zellzyklusphasen in langsam wachsenden Bakterien recht deutlich voneinander getrennt sind, kommt es in schnell wachsenden Bakterien zu einer Überlappung der Replikations- und Zellteilungsvorgänge. *Escherichia coli* und *Bacillus subtilis* beginnen erneut Runden der DNA-Replikation zu initiieren, bevor die Teilung abgeschlossen ist, sodass Tochterzellen mit bereits replizierenden Chromosomen entstehen. Aktuelle Arbeiten zeigen, dass unter ungünstigen Bedingungen der Zellzyklus in verschiedenen Stadien angehalten wird [2, 3]. In welcher Zellzyklusphase dies geschieht, hängt dabei von der Art des Umweltstresses ab.

Umweltabhängige Kontrolle der DNA-Replikation

Ein wichtiger Punkt, an dem die kritische Entscheidung fällt, ob eine neue Runde des Zell-

► **Abb. 1:** Schematische Darstellung des bakteriellen Zellzyklus. Verschiedene Stressbedingungen (rot) können in unterschiedlichen Bakterien den Zellzyklus anhalten.





◀ **Abb. 2:** Umweltbedingte Kontrolle der DNA-Replikation in *Caulobacter crescentus*. **A**, Nährstoffverfügbarkeit und Proteinfaltungstress beeinflussen die Synthese- bzw. Abbauraten des Replikationsinitiators DnaA. Während Nährstoffmangel zu einer Abnahme der Syntheserate von DnaA führt, verstärkt Proteinfaltungstress die DnaA-Proteolyse durch die Protease Lon. **B**, Durchflusszytometriedaten zeigen, dass bestimmte Stressbedingungen die Chromosomenzahl pro Zelle reduzieren. Unter optimalen Bedingungen enthalten *Caulobacter*-Zellen ein bis zwei Chromosomen (1C/2C). Bei Nährstoffmangel oder Proteinfaltungstress infolge einer Depletion des Chaperons DnaK erhöht sich die Anzahl von Zellen mit nur einem Chromosom, was anzeigt, dass in diesen Zellen die DNA-Replikation inhibiert ist.

zyklus eingeleitet werden soll, ist die Initiation der DNA-Replikation. Die Replikation der DNA ist ein relativ lang andauernder und aufwendiger Prozess. Wird er gestört oder plötzlich unterbrochen, kann es zu einem Zusammenbruch der Replikationsgabeln kommen, was wiederum den Verlust der Genomintegrität zur Folge hätte. Bakterien scheinen daher genau abzuwägen, ob die Bedingungen gut genug sind, um die Replikation in Gang zu setzen. In dem sich asymmetrisch teilenden Bakterium *Caulobacter crescentus* – ein beliebtes Modell für bakterielle Zellzyklusstudien – ist für die umweltbedingte Kontrolle der DNA-Replikation eine präzise Regulation der Synthese- und Abbauraten von DnaA verantwortlich [4, 5]. Verschiedene Umweltreize modulieren dabei die Produktion und den Abbau dieses Proteins auf unterschiedliche Weise (**Abb. 2A**). Eine Anreicherung ungefalteter Proteine, z. B. infolge von Hitzestress, begünstigt eine Zunahme der DnaA-Abbauraten durch die Protease Lon [4]. Andererseits führt Nährstoffmangel zu einer Abnahme der DnaA-Syntheserate durch einen posttranskriptionellen Mechanismus [5]. Sowohl eine Zunahme der DnaA-Proteolyse als auch eine Verminderung der Syntheserate führen zu einer raschen Abnahme des Replikationsinitiators und damit zu einer Blockade der DNA-Replikation (**Abb. 2B**).

DnaA ist hochkonserviert und in nahezu allen Bakterien für die Initiation der DNA-Replikation verantwortlich. Ob die Regulation

in anderen Bakterien ähnlich verläuft wie in *Caulobacter*, ist noch ungewiss. In *E. coli* ist die DNA-Replikation ebenfalls als Antwort auf Nährstoffmangel blockiert und die DnaA-Konzentrationen hängen vom Nährstoffgehalt ab [2]. Im symbiontischen Bakterium *Sinorhizobium meliloti* wurde kürzlich eine Stress-induzierte kleine regulatorische RNA nachgewiesen, die die Expression verschiedener Zellzyklusfaktoren, darunter auch DnaA, moduliert [6]. Weitere Studien sind jedoch notwendig, um die genauen Mechanismen der umweltbedingten Regulation von DnaA in verschiedenen Bakterien zu untersuchen.

Neben einer präzisen Kontrolle der Initiation kann bei plötzlich einsetzendem Nährstoffmangel auch die Elongation der Replikation blockiert werden. Nährstoffmangel führt zur Bildung des kleinen Signalmoleküls (p)ppGpp. Durch eine Interaktion mit der RNA-Polymerase beeinflusst (p)ppGpp die Expression zahlreicher Gene. In *B. subtilis* interagiert dieses Molekül auch mit der Primase des Replisoms und hemmt auf diese Weise den Elongationsprozess der Replikation [7]. Die Blockade der Replikationselongation scheint insbesondere unter akutem und kurz andauerndem Stress eine Rolle zu spielen. Während anhaltender Perioden des Nährstoffmangels differenziert sich *B. subtilis* zu resistenten Sporen.

Stress-induzierte Blockade der Zellteilung

Neben der Replikationsmaschinerie ist der Zellteilungsapparat ein wichtiger Angriffspunkt für die umweltbedingte Zellzykluskontrolle [2, 3]. Den am besten untersuchten Mechanismus stellt die Inhibition der Zell-

teilung infolge von DNA-Schäden dar, die z. B. durch ionisierende Strahlung oder DNA-verändernde chemische Substanzen entstehen und die SOS-Antwort auslösen. In verschiedenen Bakterien sind unter den SOS-induzierten Faktoren auch kleine Proteine, die direkt an Komponenten des Zellteilungsapparats binden und dadurch die Zellteilung temporär blockieren (**Abb. 3A**). Auf diese Weise wird vermutlich sichergestellt, dass ausreichend Zeit bleibt, um die Chromosomenschäden vor der Zellteilung zu reparieren und die Integrität des genetischen Materials zu bewahren. In *E. coli* wurde bereits in den 1980er-Jahren das Protein Sula, ein Zellteilungsinhibitor, entdeckt, das mit FtsZ interagiert und dessen Polymerisierung verhindert (**Abb. 3A**, [8, 9]). In *C. crescentus* wurden kürzlich zwei Proteine identifiziert, SidA und DidA, die ebenfalls die Zellteilung blockieren, jedoch zu einem späteren Zeitpunkt durch eine Interaktion mit den Zellteilungsfaktoren FtsW und FtsI (**Abb. 3A**, [10, 11]). Während die SOS-Antwort SidA, ähnlich wie Sula, induziert (**Abb. 3B**), ist die Produktion von DidA SOS-unabhängig. In diesem Fall scheint ein anderer Signalweg die Produktion von DidA in Abhängigkeit von DNA-Schäden zu steuern. Auch in anderen Bakterien wurde die Existenz unterschiedlicher Zellteilungsinhibitoren beschrieben [2].

Eine spezifische Blockade der Zellteilung hat bei fortschreitendem Längenwachstum eine starke Veränderung der Zellmorphologie zur Folge. Ohne Zellteilung zeigen stabförmige Bakterien ein filamentöses Erscheinungsbild (**Abb. 3B**). Dieser auffällige Phänotyp führte in Mutanten wichtiger Zellteilungsproteine zu ihrer „Fts“-Bezeichnung (Fts: *filamentation temperature sensitive*). Stress-induziertes Filamentieren in Wildtyp-Bakterien wird häufig unter natürlichen Umweltbedingungen beobachtet [3]. In vielen Fällen ist das Ausbleiben der Zellteilung auf durch DNA-Schäden ausgelöste Mechanismen zurückzuführen. Unter vielen weite-

ren Umweltbedingungen filamentieren Bakterien, ohne dass DNA-Schäden die primäre Ursache zu sein scheinen [3]. So wurde berichtet, dass die Infektion mit Phagen zu einer Zellteilungsblockade der Wirtszelle führen kann. Auch osmotischer Stress oder Wachstum in die stationäre Phase scheinen in einigen Bakterien mit der Zellteilung zu interferieren. Die genauen Mechanismen sind bislang allerdings noch unklar. Ebenso bleibt es noch ungewiss, ob die stressbedingte Veränderung der Zellform möglicherweise das Verhalten und die Physiologie bakterieller Zellen beeinflusst und so unter gewissen Umständen zu einem Selektionsvorteil führt. Beispielsweise wurde postuliert, dass elongierte pathogene *E. coli*-Zellen vor Phagozytose geschützt sind [12]. Eine andere Hypothese besagt, dass eine Anreicherung mehrerer Kopien des Chromosoms in elongierten Zellen homologe Rekombination fördern und so einen Ort der schnellen Evolution darstellen könnte [13].

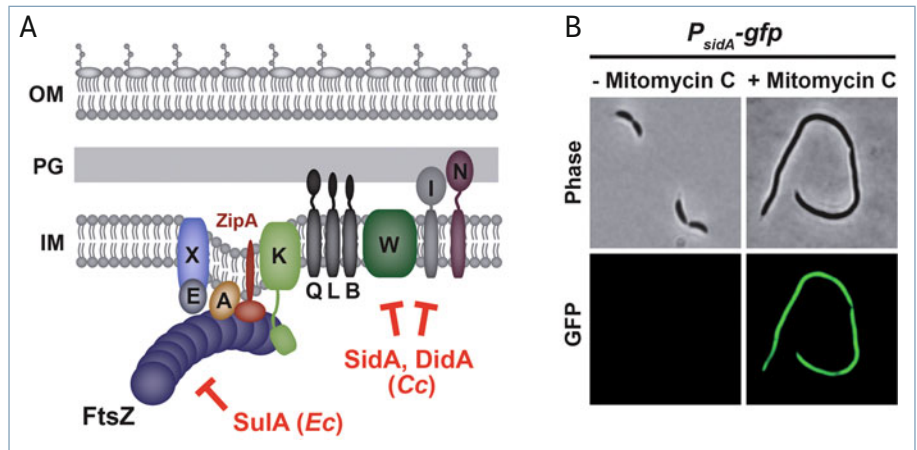
Trotz dieser neuen Erkenntnisse bleibt noch viel Raum für weitere Untersuchungen jener Mechanismen, die den Zellzyklus als Antwort auf Umweltsignale regulieren. Dieses Verständnis wird nicht nur die Grundlagenforschung bereichern, sondern auch Relevanz für eine verbesserte Behandlung bakterieller Infektionen mit Antibiotika haben. Nicht zuletzt wird ein grundlegendes Verständnis der Zellvermehrung auch dabei helfen, bakterielles Wachstum in industriellen Prozessen zu optimieren.

Danksagung

Die Arbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und das LOEWE-Programm des Landes Hessen gefördert. ■

Literatur

- [1] Gilbert P, Collier PJ, Brown MR (1990) Influence of growth rate on susceptibility to antimicrobial agents: biofilms, cell cycle, dormancy, and stringent response. *Antimicrob Agents Chemother* 34:1865–1868
- [2] Jonas K (2014) To divide or not to divide: control of the bacterial cell cycle by environmental cues. *Curr Opin Microbiol* 18:54–60
- [3] Heinrich K, Leslie DJ, Jonas K (2015) Modulation of bacterial proliferation as a survival strategy. *Adv Appl Microbiol* 92:127–171
- [4] Jonas K, Liu J, Chien P et al. (2013) Proteotoxic stress induces a cell-cycle arrest by stimulating Lon to degrade the replication initiator DnaA. *Cell* 154:623–636
- [5] Leslie DJ, Heinen C, Schramm FD et al. (2015) Nutritional control of DNA replication initiation through the proteolysis and regulated translation of DnaA. *PLoS Genet* 11:e1005342



▲ **Abb. 3:** DNA-Schäden hemmen die Zellteilung. **A,** Inhibitorische Proteine (rot) aus *Escherichia coli* (*Ec*) oder *Caulobacter crescentus* (*Cc*) blockieren wichtige Komponenten des Divisoms infolge von DNA-Schäden. Die Fts-Proteine des Divisoms sind mit Buchstaben gekennzeichnet, z. B. X = FtsX. **B,** Durch Mitomycin C verursachte DNA-Schäden induzieren eine P_{sidA} -*gfp*-Promotorfusion und eine Zellteilungsblockade in *C. crescentus*, was sich in einer filamentösen Zellmorphologie zeigt.

- [6] Robledo M, Frage B, Wright PR et al. (2015) A stress-induced small RNA modulates alpha-rhizobial cell cycle progression. *PLoS Genet* 11:e1005153
- [7] Wang JD, Sanders GM, Grossman AD (2007) Nutritional control of elongation of DNA replication by (p)ppGpp. *Cell* 128:865–875
- [8] Huisman O, D'Ari R (1981) An inducible DNA replication-cell division coupling mechanism in *E. coli*. *Nature* 290:797–799
- [9] Mukherjee A, Cao C, Lutkenhaus J (1998) Inhibition of FtsZ polymerization by SulA, an inhibitor of septation in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:2885–2890
- [10] Modell JW, Hopkins AC, Laub MT (2011) A DNA damage checkpoint in *Caulobacter crescentus* inhibits cell division through a direct interaction with FtsW. *Genes Dev* 25:1328–1343
- [11] Modell JW, Kambara TK, Perchuk BS et al. (2014) A DNA damage-induced, SOS-independent checkpoint regulates cell division in *Caulobacter crescentus*. *PLoS Biol* 12:e1001977

- [12] Justice SS, Hunstad DA, Cegelski L et al. (2008) Morphological plasticity as a bacterial survival strategy. *Nat Rev Microbiol* 6:162–168

- [13] Bos J, Zhang Q, Vyawahare S et al. (2015) Emergence of antibiotic resistance from multinucleated bacterial filaments. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:178–183

Korrespondenzadresse:

Dr. Kristina Jonas
 LOEWE-Zentrum für Synthetische Mikrobiologie (SYNMIKRO)
 Philipps-Universität Marburg
 Hans-Meerwein-Straße 06C13
 D-35043 Marburg
 Tel.: 06421-28-25321
 Kristina.Jonas@synmikro.uni-marburg.de
 www.synmikro.com/jonas

AUTORINNEN



Kristina Heinrich

2008–2013 Biologiestudium an der Universität Marburg. 2012–2013 Masterarbeit am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie. Seit 2013 Doktorandin am LOEWE-Zentrum SYNMIKRO an der Universität Marburg.



Kristina Jonas

1999–2004 Biologiestudium an der Universität Tübingen und an der Universität Uppsala, Schweden. 2005–2009 Promotion am Karolinska-Institut, Stockholm, Schweden. 2009–2013 Postdoktorandin am Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA. Seit 2013 Nachwuchsgruppenleiterin am LOEWE-Zentrum SYNMIKRO an der Universität Marburg.