

Halobacterium salinarum – Mikrobe des Jahres 2017

Brachten Mikroben uns das Augenlicht?

HARALD ENGELHARDT

MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR BIOCHEMIE, MARTINSRIED

DOI: 10.1007/s12268-017-0771-y
© Springer-Verlag 2017

■ Als Heinrich Klebahn vor 100 Jahren, am 24. Januar 1917, den Belag von Fischhaut auf Fischagar übertrug, hatte er seine 181. Wachstumsreihe gestartet. Klebahn, ein Pionier der Phytopathologie, untersuchte den roten Bewuchs, der Klippfisch (in Salz gelagerter, luftgetrockneter Seefisch) des Hamburger und Cuxhavener Fischmarkts ungenießbar machte [1]. Klebahn schrieb: „Vom 12. März an treten rote Kolonien [...] auf [...]. In der photographischen Aufnahme vom 18. April heben sich rote Kolonien [...] scharf von den blassen Bakterien ab. Zugleich zeigen die Kochsalzkristallisationen [...], daß die Entwicklung bei Sättigung [...] mit Kochsalz zustande kommt.“ Er nannte sein Isolat *Bacillus halobius ruber* und hatte einen extrem salzliebenden (halophilen) Mikroorganismus kultiviert, der dem weit verbreiteten und heute als *Halobacterium salinarum* klassifizierten Archaeon entsprach (Abb. 1).

H. salinarum wächst in Salzseen, Salinen und in eintrocknenden Standorten, deren Kochsalz(NaCl)-Gehalt die Sättigungsgrenze erreicht. Seine Karotinoide (vor allem die vor UV-Strahlen schützenden Bakterioruberine) in der Zellmembran färben das Wasser rotviolett, was besonders gut aus der Luft zu erkennen ist (Abb. 2). Halobakterien überleben eingeschlossen in Salzkristallen und lassen sich daraus noch nach Jahrtausenden, aus Salzstöcken offenbar sogar nach Hundert(en) Millionen Jahren isolieren [2]. *H. salinarum* besitzt Kanalproteine in der Zellmembran, die Natrium-, Kalium- und Chloridionen transportieren und die innere Salzkonzentration mit KCl an die äußeren Verhältnisse anpassen. Sinkt der NaCl-Gehalt in der Umgebung unter etwa 150 Gramm pro Liter, kann *H. salinarum* das osmotische Ungleichgewicht nicht mehr beherrschen, beginnt sich zu verformen und aufzulösen. Auch das hatte Klebahn treffend dokumentiert [1].

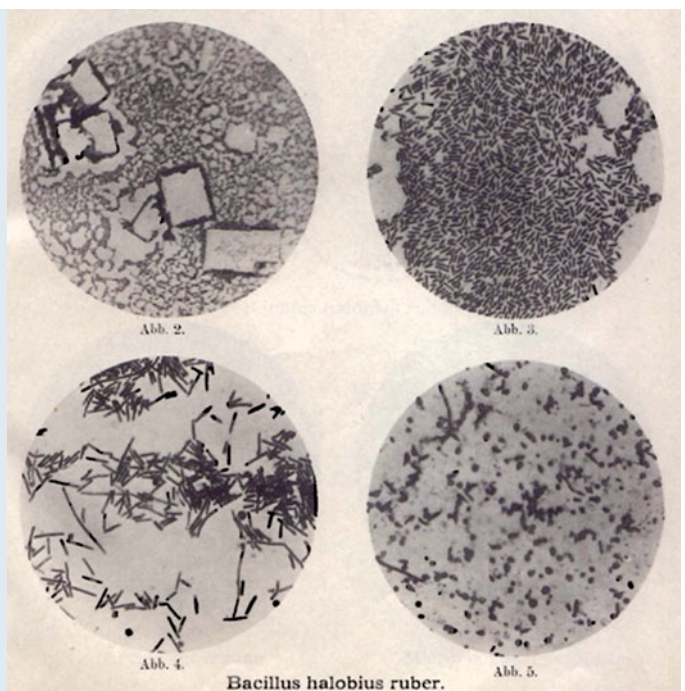
Archaeen bieten weitere Besonderheiten: Die Flagellen sind anders aufgebaut als bei Bakterien. Der Flagellenantrieb stellt neben der ATP-Synthase und dem bakteriellen Flagellenmotor ein drittes makromolekulares Drehsystem in der Natur dar. *H. salinarum* schwebt mithilfe von Gasvesikeln in günstiger Wassertiefe (siehe Artikel von F. Pfeifer auf S. 11 in dieser Ausgabe).

Die Photosynthese der Halobakterien

H. salinarum enthält ein purpurfarbenes Pigment in der Zellmembran (*purple membrane*), das sich im Licht gelb färbt (Abb. 3A). Dieter Oesterhelt entdeckte als junger Postdoktorand den Grund dafür: Die Zellen besitzen ein Rhodopsin-ähnliches Molekül [3]. Traf schon dieser Befund auf Skepsis, so fand seine Entdeckung, dass Bakteriorhodopsin eine bisher unbekannte Art der Photosynthese betreibt, noch schwerer Akzeptanz [4, 5]. Mit drei herkömmlichen Geräten und einem einfachen Experiment

gelang ihm der Nachweis [5]: Er stellte eine Kultur von *H. salinarum* im Wasserbad mit der bevorzugten Wachstumstemperatur von ca. 40 °C in einen dunklen Raum, hielt eine mit einem Schreiber verbundene pH-Elektrode in die Flüssigkultur und bestrahlte sie mit dem intensiven Licht eines Projektors. Der pH-Wert sank schlagartig – *H. salinarum* pumpte Protonen (H⁺) ins Medium. H⁺-Ionen treiben wiederum die ATP-Synthase an und liefern dem Stoffwechsel Energie (Abb. 3B). Bakteriorhodopsin erwies sich als eine lichtgetriebene Protonenpumpe und das Pigment als Schlüssel für ein neues mikrobielles Photosystem! Seit dieser Entdeckung wurden *H. salinarum*, seine Purpormembran und Bakteriorhodopsin vielfach und intensiv untersucht. In der Folge fand man weitere Rhodopsine in Archaeen und schließlich, knapp 30 Jahre später und völlig unerwartet, auch Rhodopsin-Gene in marinen Bakterien, die in lichtexponierten Wasserschichten leben (Proteorhodopsine) [6]. Heute weiß man, dass nicht nur *H. salinarum* Energie aus dem Protonentransport des Bakteriorhodopsins gewinnt, sondern auch Bakterien mit Proteorhodopsin, vornehmlich im nährstoffarmen Meereswasser und zum Erhalt der Überlebensfähigkeit. Das einfache Bakteriorhodopsin-Photosystem steht jedoch nicht in Konkurrenz zur klassischen Photosynthese. Es bildet kein NAD(P)H für die Reduktion von CO₂; die

► **Abb. 1:** Originalaufnahmen isolierter *Halobacterium*-Kulturen von Heinrich Klebahn aus dem Jahr 1917 [1]. Von links oben nach rechts unten: Zellen in gesättigter NaCl-Lösung neben Salzkristallen und deformierte Zellen in einer alten Kultur.



Organismen benötigen also organische Kohlenstoffquellen.

Der bedeutende Nebeneffekt

Bakteriorhodopsin schuf beiläufig die Basis für eine fundamentale biologische Entwicklung. *H. salinarum* enthält drei weitere Varianten Halorhodopsin für die Cl^- -Aufnahme zur Regulierung des osmotischen Innendrucks sowie die Sensorrhodopsine I und II, die auf verschiedene Farben reagieren, ihr Signal an gekoppelte Proteine weitergeben und damit phototaktische Bewegungen zum orangen Licht hin bzw. vom schädlichen UV-Licht weg bewirken.

Alle Rhodopsine, mikrobielle und von Pilzen (Typ I), ebenso wie die der Pflanzen, Tiere und Menschen (Typ II), sind mit sieben α -Helices in der Membran verankert (Abb. 3C). Der evolutionäre Weg der Rhodopsine war nicht geradlinig und dürfte eine Phase erhöhter Variabilität durchlaufen haben; neuere Analysen weisen jedoch auf einen gemeinsamen Ursprung hin [7]. Die Grundlage unseres Sehpurpurs lag wohl schon in den Genen früherer Mikroben.

Rhodopsine als Werkzeuge

Rhodopsine sind zwar eine alte Erfindung der Natur, aber sie begründen gerade ein äußerst dynamisches Forschungsfeld – die Optogenetik. In einzelligen Grünalgen (*Chlamydomonas*) entdeckte man ein Kanalrhodopsin, das mit den Sensorrhodopsinen verwandt ist [7] und lichtinduziert Kaliumionen über die Membran ins Zellinnere schleust [5, 8]. Kaliumkanäle bewirken die elektrische Depolarisation und damit die Reizleitung in Neuronen. Werden in diese mittels Gentransfer Kanalrhodopsine eingebaut, so kann man Aktionspotenziale über Lichteinfall erzeugen. Um die Erregung lichtkontrolliert zu unterbinden,



▲ **Abb. 2:** Durch Halobakterien rot gefärbte Salinen in der Bucht von San Francisco. (Bild: verändert nach © https://de.wikipedia.org/wiki/Saline#/media/File:San_Francisco_Bay_Salt_Ponds.jpg; Grombo, GFDL, cc-by-sa2.5,2.0,1.0).

fehlte noch ein entgegengesetzt wirkendes System. Mit Bakteriorhodopsin kehrt sich das Membranpotenzial wieder um (es schleust positive Ladungen aus); den Durchbruch brachte aber Halorhodopsin, das unter Lichtwirkung Cl^- -Ionen in die Zelle transportiert und das K^+ -Potenzial kompensiert (Abb. 3D). Hier setzt man das Protein aus *Natronomonas pharaonis* ein, einem Verwandten von *H. salinarum* [5, 9, 10]. Nun lassen sich Nervenzellen mit Licht gezielt steuern und ihre Rolle in Neuronennetzen untersuchen.

Die sich stürmisch entwickelnde Optogenetik hat inzwischen die Therapie neuronaler Erkrankungen zum Ziel, sofern eine lokale Stimulation der eingebauten Rhodopsine möglich ist. Man erhofft sich – und hat erste Erfolge damit – an degenerativer Netzhauterkrankung leidenden Patienten einen Teil des Sehvermögens zurückzugeben und andere Erkrankungen (wie Parkinson, Epilepsie, Taubheit, chronische Schmerzen) lindern zu können [8, 9]. Die Anwendungen weisen längst über Bakteriorhodopsin hinaus, doch ihr wissenschaftlicher Ausgang war die Entdeckung der lichtgetriebenen Ionenpumpe in *H. salinarum* vor rund 45 Jahren.

Übrigens stellte schon Klebahn fest, dass nicht der „rote Bacillus“ den Klippfisch verdarb, sondern andere Bakterien. Salzkrebse (*Artemia*) nutzen Halobakterien sogar als Nahrung und lagern die Karotinoide aus der Purpurmembran in ihren Panzer ein. Über die Nahrungskette gelangen sie bis in das Gefieder von Flamingos und färben es rosarot. Die völlig harmlosen Haloarchaeen schaffen also ästhetische Färbungen in der Natur, sind für die Optogenetik von besonderem Wert, und wir verdanken ihren einzelligen Ahnen vermutlich auch den entscheidenden evolutionären Beitrag für unseren Sehsinn. ■

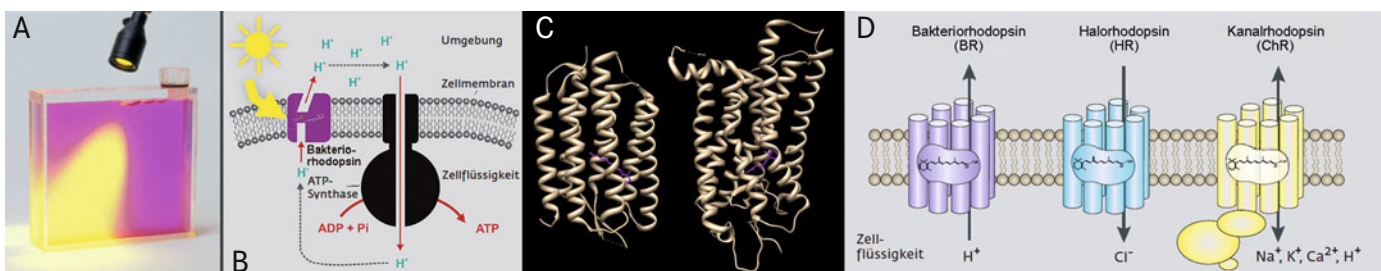
Literatur

- [1] Klebahn H (1919) Die Schädlinge des Klippfisches. Jahrbuch der Hamburgischen Wissenschaftlichen Anstalten XXXVI, 1918, Beiheft:11–69
- [2] Jaakkola ST, Pfeiffer F, Rvanti JJ et al. (2016) The complete genome of a viable archaeum isolated from 123-million-year-old rock salt. *Environ Microbiol* 18:565–579
- [3] Oesterhelt D, Stoekenius W (1971) Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. *Nat New Biol* 233:149–152
- [4] Oesterhelt D, Stoekenius W (1973) Functions of a new photoreceptor membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 70:2853–2857
- [5] Beck C (2014) Einzeller bringen Licht in die Neurobiologie. *MaxPlanckForschung* 3:18–25
- [6] Miyake S, Stingl U (2011) Proteorhodopsin. *Encyclopedia Life Sci*, doi: 10.1002/9780470015902.a0022837
- [7] Shen L, Chen C, Zheng H et al. (2013) The evolutionary relationship between microbial rhodopsins and metazoan rhodopsins. *Sci World J*, doi: 10.1155/2013/435651
- [8] Hegemann P, Möglich A (2012) Was ist Optogenetik? *Humboldt-Spektrum* 1:10–17
- [9] Pietschmann C (2014) Moleküle maßgeschneidert. *MaxPlanckForschung* 3:26–31
- [10] Falb M, Pfeiffer F, Palm P et al. (2005) Living with two extremes: conclusions from the genome sequence of *Natronomonas pharaonis*. *Genome Res* 15:1336–13343

Korrespondenzadresse:



Dr. Harald Engelhardt
Max-Planck-Institut für Biochemie
Am Klopferspitz 18
D-82152 Martinsried
Tel.: 089-8578-2650
Fax: 089-8578-2641
engelhar@biochem.mpg.de



▲ **Abb. 3:** Bakteriorhodopsin aus *Halobacterium salinarum* und Rhodopsine aus Eukaryoten. **A,** Aus der Zellmembran extrahiertes Bakteriorhodopsin (BR) wechselt bei Belichtung die Farbe von violett nach gelb, © MPG/Wolfgang Fischer. **B,** Schema der Photosynthese mit BR. Bei Belichtung werden Protonen aus der Zelle gepumpt, die durch die ATP-Synthase zur ATP-Bildung wieder in die Zelle gelangen, © Wikimedia/Darek2/Creative Commons Attribution-Share-Alike 3.0; **C,** Sekundärstruktur des BR (Typ I; PDB: 5br5) und des Rinderrhodopsins (Typ II; PDB: 2i35) mit jeweils sieben α -Helices und gebundenem Retinal (violett). **D,** Schema des Ionentransports über die Zellmembran durch BR, Halorhodopsin (HR) und Kanalrhodopsin (ChR), © Karl Deisseroth, Peter Hegemann und Feng Zhang. (Grafiken aus [5])