

Magnetospirillum – Mikrobe des Jahres 2019

Nanokristalle für die Magnetfeldorientierung – Biogenese von Magnetosomen

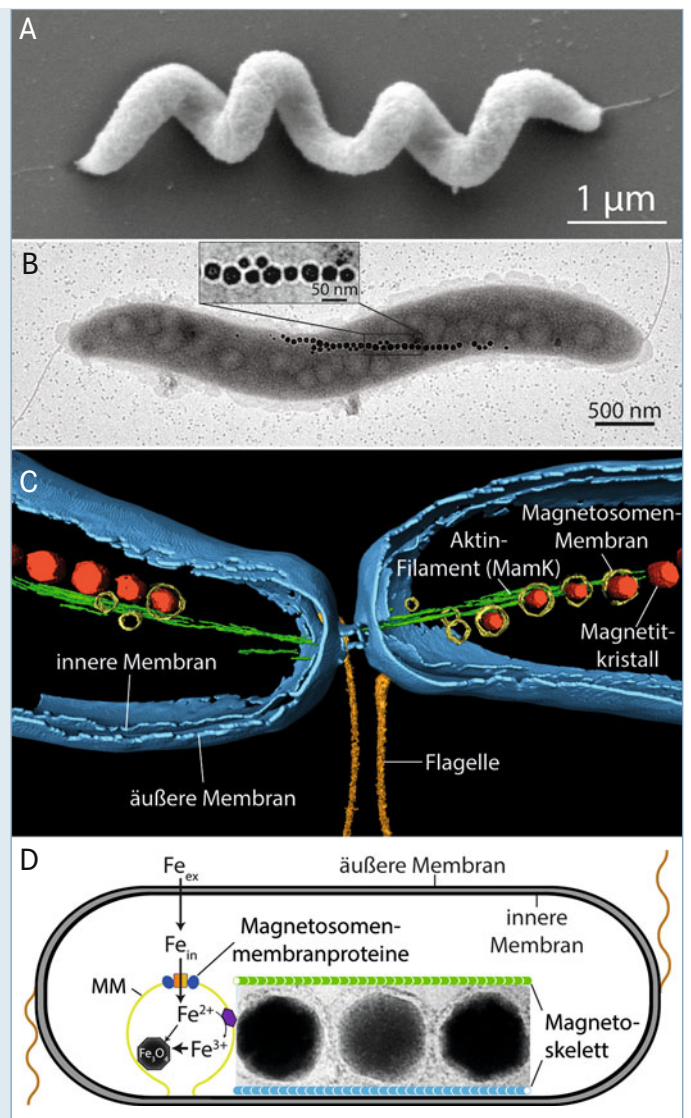
DIRK SCHÜLER, RENÉ UEBE
LEHRSTUHL FÜR MIKROBIOLOGIE, UNIVERSITÄT BAYREUTH

Alphaproteobacteria of the genus *Magnetospirillum* use dedicated organelles, the magnetosomes, to navigate along geomagnetic field lines in their natural environment. Magnetosomes are nanocrystals of magnetite (Fe_3O_4) which are biomineralized within specific membrane vesicles and become aligned into chains by a dedicated cytoskeleton. This article also highlights the potential for functionalization and application of these bacterial magnetic nanoparticles.

DOI: 10.1007/s12268-019-0997-y
© Springer-Verlag 2019

Mithilfe von Sensorproteinen können viele Bakterien chemische Gradienten erkennen und gezielt in Richtung von Nährstoffquellen schwimmen – oder auch vor Schadstoffen flüchten. Neben dieser Chemotaxis können sich einige Mikroorganismen im Erdmagnetfeld orientieren. Das bekannteste dieser magnetotaktischen Bakterien ist *Magnetospirillum*, die diesjährige Mikrobe des Jahres, die weltweit im Schlamm vieler Gewässer lebt. Der bestuntersuchte Vertreter dieser Gattung, *M. gryphiswaldense*, verdankt seinen Namen neben seinen magnetischen Eigenschaften der spiraligen Zellform sowie seiner Herkunft nahe der Stadt Greifswald [1]. Wie alle Magnetospirillen besitzt *M. gryphiswaldense* im Zellinneren besondere Organellen, die Magnetosomen, die aus membranumhüllten, etwa 45 Nanometer großen Nanokristallen des magnetischen Eisenoxids Magnetit (Fe_3O_4) bestehen (Abb. 1). Viele grundlegende Erkenntnisse zur Biosynthese und Funktion der Magnetosomen wurden an *M. gryphiswaldense* und engen Verwandten gewonnen, da diese im Unterschied zu den meisten anderen Magnetbakterien im Labor kultivierbar und genetisch manipulierbar sind. Aus diesem Grund dient *Magnetospirillum* mittlerweile auch als wichtiger Modellorganismus für die Biogenese prokaryotischer Organellen sowie der Biomineralisation von Eisenmineralen.

► **Abb. 1:** Zellform, Ultrastruktur und Modell der Magnetosomenbildung in *Magnetospirillum*. **A**, **B**, Raster- und transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von *M. gryphiswaldense*-Zellen. **C**, Kryo-Elektronentomogramm einer sich teilenden Zelle (Aufnahmen **D**, vereinfachtes Modell der Magnetosomenbiosynthese. Aus der Zellemembran werden Magnetosomenvesikel abgeschnürt, in die durch Transportproteine Eisen aus der Umgebung über das Cytoplasma aufgenommen wird. Redoxaktive Proteine steuern im Inneren das Verhältnis von Fe^{2+} zu Fe^{3+} , das für die Biomineralisation von Magnetit erforderlich ist. Reife Magnetosomenpartikel werden schließlich durch das „Magnetoskelett“ exakt in der Zellmitte in Ketten von 15–25 Partikeln angeordnet. **A:** Frank Müller, Universität Bayreuth; **C:** Mauricio Toro-Nahuelpan, Universität Bayreuth, Jürgen M. Plietzko, MPI Martinsried.



Magnetosomenbildung: genetisch komplex, vom Cytoskelett organisiert

Die Bildung von Magnetosomen hat sich als unerwartet komplexer und exakt gesteuerter Prozess erwiesen, an dem eine Vielzahl von Genfunktionen sowie spezifische zelluläre Strukturen beteiligt sind [2]. Die Biosynthese geht zunächst einher mit der Bildung von Vesikeln, die aus der inneren Membran der Bakterien abgeschnürt werden und als „Nano-Reaktor“ für die kontrollierte Biomineralisation von strukturell perfekten, monokristal-

linen Magnetitpartikeln mit nahezu einheitlicher Größe und Form dienen [3]. Die Magnetosomenmembran besteht neben Phospholipiden aus spezifischen Proteinen. Darunter befinden sich verschiedene Eisentransporter, die Eisenionen ins Innere der Membranvesikel pumpen [4]. Dabei kann die Zelle Eisen aus der Umgebung von sehr niedrigen extrazellulären Konzentrationen aufnehmen und auf mehr als fünf Prozent des Trockengewichts der Zelle aufkonzentrieren. Am Biomineralisationsprozess sind besondere Cytochrome beteiligt: Diese Magnetochrome sorgen für die Einstellung der exakten Balance von Fe^{2+} - zu Fe^{3+} -Ionen, die für die Kristallisation des gemischtvalenten Eisenoxids Magnetit erforderlich ist. Zudem ist die Redoxsteuerung der Magnetitbiosynthese eng verbunden mit der aeroben und anaeroben (Nitrat-)Atmung der Zelle [5, 6].

Jeder einzelne Magnetitkristall ist ein winziger Dauermagnet, der jedoch nicht kräftig genug ist, um die Zelle im schwachen Erdmagnetfeld zu orientieren. Daher müssen die Kristalle in linearen Ketten von typischerweise 15 bis 30 Partikeln aufgereiht werden, deren magnetische Dipole sich dann zu einer ausreichend starken „Kompassnadel“ addieren. Dies erfolgt durch ein besonderes Cytoskelett, das aus mehreren Komponenten, darunter einem Aktin-ähnlichen, Filament-bildenden Protein besteht. Dieses „Magnetoskelett“ sorgt nicht nur für die lineare Anordnung der Kristalle, sondern auch für die korrekte intrazelluläre Positionierung der entstehenden Ketten, nämlich exakt in der Zellmitte sowie parallel zur Achse der Fortbewegung mithilfe der beiden polaren Flagellen. Weiterhin bewirkt es durch seine Dynamik die exakte Gleichverteilung und den Transport der Magnetosomen während der Zellteilung [7].

Effiziente Navigation im Sediment durch Magneto-Aerotaxis

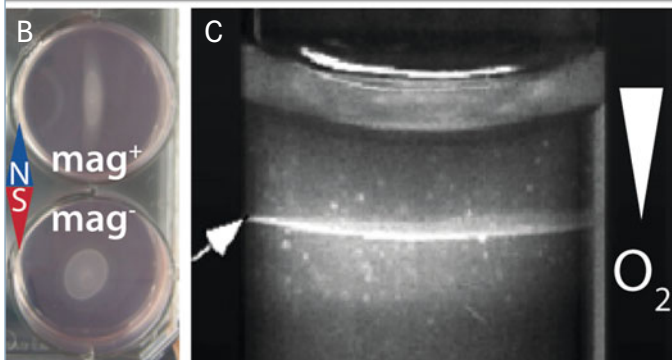
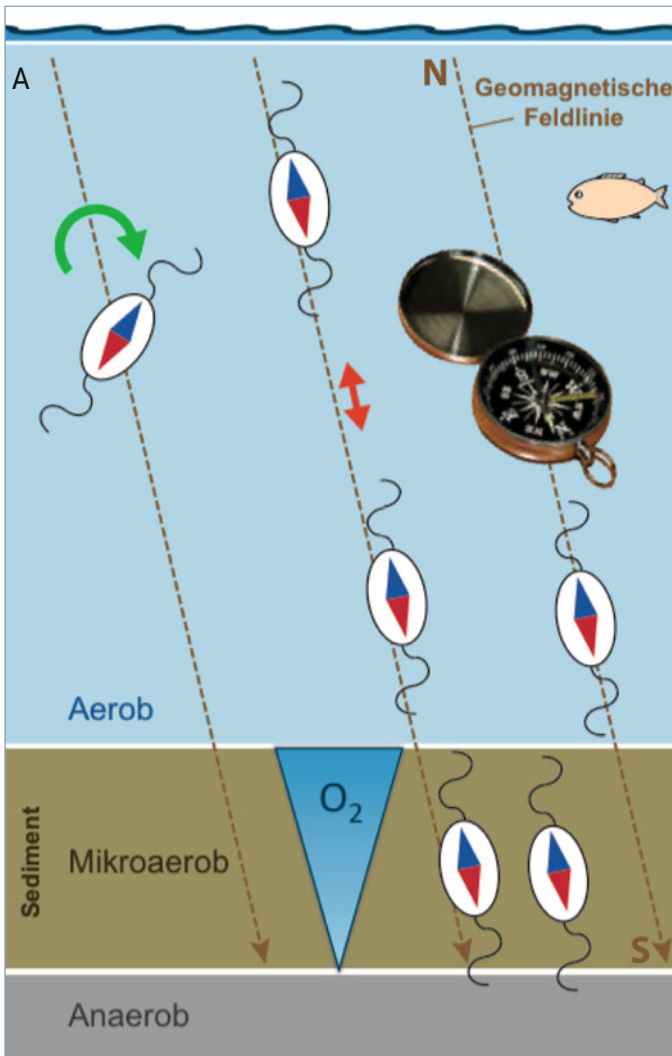
Diese bemerkenswerten Eigenschaften machen Magnetosomen zu einer der komplexesten Organellen, die aus Bakterien bekannt sind. Ihre Biosynthese und Organisation erfordert mehr als 30 Gene, die zum größten Teil in einer kompakten genomischen „Magnetosomeninsel“ angeordnet sind. Neben dieser fällt im Genom von *M. gryphiswaldense* die

außergewöhnlich hohe Zahl von Chemotaxisgenen auf. Zusätzlich zu den vier Chemotaxisoperons lassen sich z. B. Gene für nahezu 60 mutmaßliche Chemosensoren identifizieren. Von diesen wird angenommen, dass sie eine fein abgestimmte Reaktion vor allem gegenüber Sauerstoff vermitteln.

In O_2 -Gradienten, wie sie im natürlichen Lebensraum in aquatischen Sedimenten vorherrschen, sammeln sich die sehr beweglichen Bakterien mithilfe ihrer ausgeprägten Aerotaxis gezielt bei ihrer bevorzugten niedrigen Konzentration an. Dabei kehren sie ihre präferierte Schwimmrichtung (entweder in Richtung des magnetischen Nord- oder des Südpols) abrupt um, wenn sie in Zonen höherer O_2 -Konzentration gelangen. Durch diese „Magneto-Aerotaxis“ ist gewährleistet, dass die mikroaerophilen Zellen entlang der nach unten geneigten geomagnetischen Feldlinien effizient und gewissermaßen wie auf einer Schiene abwärts und damit in Richtung sauerstoffarmer Schichten schwimmen (**Abb. 2**, [8]). Diese an Magnetbakterien gewonnenen Einsichten inspirierten auch die Suche nach dem noch unbekanntem, möglicherweise aber den Magnetosomen ähnlichen magnetischen Sensor in Tieren, die sich im Magnetfeld orientieren können [9].

Multifunktionale Magnetnanopartikel für biotechnische Anwendungen

Magnetosomen sind Magnetnanopartikel mit perfekten Materialeigenschaften, die von synthetisch hergestellten Nanopartikeln bisher unerreicht sind. Schon seit Längerem hat dies Ideen beflügelt, Magnetosomen in verschiedenen biotechnologischen Anwendungen zu nutzen. Die Magnetosomenmembran bietet zudem die Möglichkeit, fremde Polypeptide und Biomoleküle an die Magnetosomenpartikel zu koppeln, z. B. durch genetische Fusionen mit Magnetosomenproteinen. Für *M. gryphiswaldense* steht dazu mittlerweile ein ganzer Baukasten von Expressionskassetten für die Herstellung von multifunktionalen Magnetosomen zur Verfügung. So können flexible Kopplungsgruppen, Fluorophore, Antikörperfragmente, ganze Arrays aus verschiedenen Enzymproteinen oder sogar Hüllen aus Spinnenseideproteinen auf der Ober-

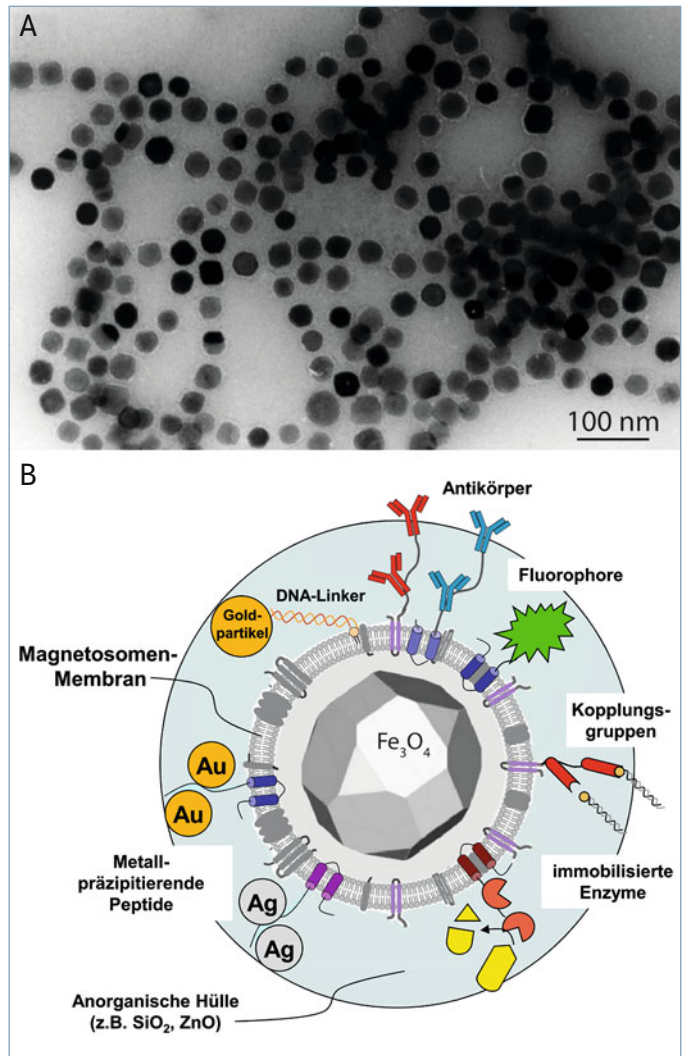


▲ **Abb. 2:** Magneto-Aerotaxis in *Magnetospirillum*. **A**, Modell der Magneto-Aerotaxis. **B**, Schwarmhöfe vom Wildtyp (mag^+) und einer unmagnetischen Mutante (mag^-) von *M. gryphiswaldense* in Weichagar im Magnetfeld; nur Zellen des Wildtyps richten sich entlang der Feldlinien aus. **C**, aerotaktische Bakterienbänder in Hochschichtweichagar (weißer Pfeil); die Bakterien sammeln sich gezielt bei einer für sie idealen O_2 -Konzentration. **A:** Illustration D. Schüler/Christian Göppner, Universität Bayreuth.

fläche der Magnetosomen exprimiert und aus den Zellen gewonnen werden (**Abb. 3**, [10]).

Funktionalisierte Magnetosomen erwiesen sich zudem als geeignete Bausteine für die präzise Kopplung mit anderen Nanostruktu-

sowie zusätzliche Funktionen – genetisch codierbar sind. Mithilfe von Methoden der synthetischen Biologie können so magnetische Nanopartikel mit maßgeschneiderten Eigenschaften und ganz neuen Funktionalitäten hergestellt werden. Isolierte Magneto-



▲ **Abb. 3:** Magnetosomen: Bakterielle Nanopartikel mit Anwendungspotenzial. **A**, Elektronenmikroskopische Aufnahme isolierter Magnetosomen aus *Magnetospirillum gryphiswaldense*. **B**, Beispiele für Funktionalisierungen von Magnetosomen, bei denen häufige Magnetosomenproteine als Anker für die genetische Fusion mit verschiedenen funktionellen Gruppen dienen (z. B. Fluorophore, Enzymproteine, Kopplungsgruppen wie Streptavidin oder Antikörperfragmente). Zusätzliche Ummantelungen durch Silika oder genetisch fusionierte Spinnenseideproteine können die Oberflächeneigenschaften der aus den Zellen gewonnenen Partikel verbessern. Illustration: Frank Mikoleit, Universität Bayreuth.

ren zum Aufbau von geordneten Mikro- und Mesostrukturen. Aus biotechnologischer Sicht erscheint es besonders reizvoll, dass alle Eigenschaften – Form, Größe, Magnetisierung

somen übertreffen kommerziell verfügbare Kontrastmittel in magnetischen bildgebenden Verfahren in ihrer Wirksamkeit deutlich [11]. Tierversuche deuten darauf hin, dass magnetische Hyperthermieanwendungen mit bakteriellen Magnetosomen zur Rückbildung von Tumoren führen könnten [12]. Die Möglichkeit, mittels magnetosomaler Nanopartikel durch hochfrequente Magnetfelder in Zellen oder Geweben Wärme zu erzeugen, könnte besonders in der Grundlagenforschung im noch jungen Feld der „Magnetogenetik“ attraktiv sein, z. B. für die gezielte Stimulierung von thermosensitiven Ionenkanälen. Es wird daher gegenwärtig versucht, Zellen frem-

der, vielleicht sogar höherer Organismen durch Verwendung genetischer Bausteine aus Magnetbakterien künstlich zu „magnetisieren“. Bereits gelungen ist die erfolgreiche genetische „Transplantation“ des kompletten Biosyntheseweges aus *M. gryphiswaldense* in ein fremdes Bakterium [13].

Die Mikrobe des Jahres 2019 hat in den beinahe 30 Jahren seit ihrer Entdeckung somit nicht nur eine beeindruckende Karriere in der Grundlagenforschung absolviert, sondern zeigt auch erhebliches Potenzial für künftige nutzbringende Anwendungen aufgrund ihrer einzigartigen Eigenschaften. ■

Referenzen

- [1] Schleifer K-H, Schüler D, Spring S et al. (1991) The genus *Magnetospirillum* gen. nov. description of *Magnetospirillum gryphiswaldense* sp. nov. and transfer of *Aquaspirillum magnetotacticum* to *Magnetospirillum magnetotacticum* comb. nov. Syst Appl Microbiol 14:379–385
- [2] Uebe R, Schüler D (2016) Magnetosome biogenesis in magnetotactic bacteria. Nat Rev Micro 14:621–637
- [3] Raschdorf O, Forstner Y, Kolinko I et al. (2016) Genetic and ultrastructural analysis reveals the key players and initial steps of bacterial magnetosome membrane biogenesis. PLoS Genet 12:e1006101
- [4] Uebe R, Keren-Khadmy N, Zeytuni N et al. (2018) The dual role of MamB in magnetosome membrane assembly and magnetite biomineralization. Mol Microbiol 107:542–557
- [5] Li Y, Raschdorf O, Silva KT et al. (2014) The terminal oxidase cbb3 functions in redox control of magnetite biomineralization in *Magnetospirillum gryphiswaldense*. J Bacteriol 196:2552–2562
- [6] Li Y, Katzmann E, Borg S et al. (2012) The periplasmic nitrate reductase Nap is required for anaerobic growth and involved in redox control of magnetite biomineralization in *Magnetospirillum gryphiswaldense*. J Bacteriol 194:4847–4856

- [7] Toro-Nahuelpan M, Müller FD, Klumpp S et al. (2016) Segregation of prokaryotic magnetosomes organelles is driven by treadmilling of a dynamic actin-like MamK filament. BMC Biol 14:88
- [8] Popp F, Armitage JP, Schüler D (2014) Polarity of bacterial magnetotaxis is controlled by aerotaxis through a common sensory pathway. Nat Commun 5:5398
- [9] Nordmann GC, Hochstoeger T, Keays DA (2017) Magnetoreception – a sense without a receptor. PLoS Biol 15:e2003234
- [10] Mickoleit F, Schüler D (2017) Generation of multifunctional magnetic nanoparticles with amplified catalytic activities by genetic expression of enzyme arrays on bacterial magnetosomes. Adv Biosys, doi: 10.1002/adbi.201700109
- [11] Kraupner A, Eberbeck D, Heinke D et al. (2017) Bacterial magnetosomes – nature’s powerful contribution to MPI tracer research. Nanoscale 9:5788–5793
- [12] Le Fèvre R, Durand-Dubief M, Chebbi I et al. (2017) Enhanced antitumor efficacy of biocompatible magnetosomes

for the magnetic hyperthermia treatment of glioblastoma. Theranostics 7:4618–4631

[13] Kolinko I, Lohße A, Borg S et al. (2014) Biosynthesis of magnetic nanostructures in a foreign organism by transfer of bacterial magnetosome gene clusters. Nat Nanotech 9:193–197

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Dirk Schüler
Lehrstuhl für Mikrobiologie
Universität Bayreuth
Universitätsstraße 30
D-95447 Bayreuth
Tel.: 0921-55-2729
dirk.schueler@uni-bayreuth.de
<http://www.mikrobiologie.uni-bayreuth.de>

AUTOREN



René Uebe

2001–2006 Biologiestudium an der Universität Greifswald; 2007–2012 Promotion und 2012–2014 Postdoc an der LMU München. Seit 2014 Akademischer Rat auf Zeit und Gruppenleiter am Lehrstuhl für Mikrobiologie der Universität Bayreuth.



Dirk Schüler

1990 Biologie-Diplom an der Universität Greifswald. 1994 Promotion in München, Postdoc-Aufenthalte an der Iowa State University und dem Scripps Institute of Oceanography, La Jolla, CA, USA. Ab 1999 Nachwuchsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie in Bremen. 2006 Professor an der LMU München. Seit 2014 Lehrstuhlinhaber für Mikrobiologie an der Universität Bayreuth.