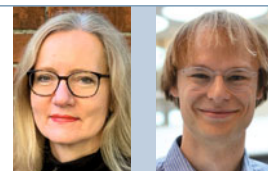


- ▶ Zyklisches di-GMP als zentraler Zeitgeber im Zellzyklus von *Caulobacter*
- ▶ Sauerstoff und zelluläre Fitness jenseits des Hypoxie-induzierten Faktors
- ▶ Bindung von CO₂ – wunschgemäß
- ▶ Der Ursprung der Masern



Regine Hengge Florian Schober

DOI: 10.1007/s12268-020-1438-7
© Springer-Verlag GmbH 2020

Zyklisches di-GMP als zentraler Zeitgeber im Zellzyklus von *Caulobacter*

Die bei der Zellteilung entstehenden flagellierten Schwärmerzellen des Modellbakteriums *Caulobacter crescentus* gehen zunächst auf Wanderschaft in die große weite Mikrowelt. Wie aber wissen sie, wann es Zeit wird, als Stämmchen sesshaft zu werden und selbst Nachwuchs zu produzieren? Mit anderen Worten, dass sie von der G1- in die S-Phase des Zellzyklus übergehen sollten?

■ Die Gruppe am Biozentrum Basel um Urs Jenal (Kaczmarczyk A et al., Nat Commun (2020) 11:816) zeigt nun, wie bei diesem Entscheidungsprozess ein ganzes Netzwerk von Proteinkinasen und anderen Regulatoren unter der Regie des von der zentralen Diguanylatcyclase PleD produzierten sekundären Botenstoffs c-di-GMP zusammenwirken. Schlüsselspieler hierbei sind drei c-di-GMP-bindende Proteine: ShkA, CckA, PopA. Steigt

die zelluläre c-di-GMP-Konzentration leicht an, aktiviert die hochsensitive Kinase ShkA zunächst eine regulatorische Kaskade, die nicht nur G1/S-Übergangsgene, sondern auch PleD zusätzlich aktiviert und damit zu einem weiteren Anstieg von c-di-GMP führt. Die Kinase CckA wird von diesem erhöhten c-di-GMP in die Phosphatase-Form überführt, welche die DNA-Replikation freigibt und zusammen mit PopA auch dafür sorgt, dass die ShkA-Kaskade proteolytisch beseitigt wird, d. h. deren Aktivität auf die kurze G1/S-Übergangszeit beschränkt bleibt. In zunächst positiven und dann negativen Rückkopplungsschleifen wird das Signal also produziert, verstärkt und dann wieder abgeschaltet.

→ Mit der Aufklärung dieses dynamisch c-di-GMP-kontrollierten

*G1/S-Schaltermechanismus ist der Schlüsselschritt des Zellzyklus verstanden, auch wenn weitere Rätsel zu lösen bleiben – z. B. welche unbekannte Kinase die ersten paar Moleküle der Diguanylatcyclase PleD aktiviert und damit eine *Caulobacter*-Zelle erkennen lässt, dass ein passendes Plätzchen zur Vermehrung gefunden ist.*

Regine Hengge ■



Abb.: *Caulobacter*-Zellen. Bild: © Urs Jenal.

Sauerstoff und zelluläre Fitness jenseits des Hypoxie-induzierten Faktors

Die Sauerstoffkonzentration in Organen unterscheidet sich je nach Lage im Kreislaufsystem massiv. Wie passen sich Zellen daran? Jenseits der klassischen O₂-sensorischen vHL-PHD-HIF-Achse identifizierten I. H. Jain et al. (Cell (2020) 181:716–727) Gene, die für die zelluläre Fitness in hohen und niedrigen O₂-Konzentrationen essenziell sind.

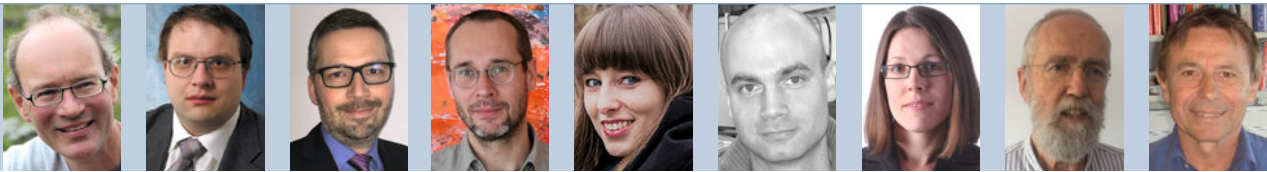
■ Neben den physiologischen Schwankungen der Sauerstoffkonzentration können extreme Hypoxie oder Sauerstoffüberschuss pathologische Folgen haben. Ausgehend von der Frage, welche genetischen Erkrankungen durch Variation der O₂-Konzentration kompensiert werden könnten, führten die Autoren ein CRISPR-Cas9-Screening in K562-Zellen bei 21, 5 und 1 Prozent O₂-Partialdruck durch. Von den 213 identifizierten Genen, die die zelluläre Fitness bei 21 Prozent begünstigten, codiert eine große Zahl für mitochondriale

Proteine, darunter Komponenten des Atmungskettenkomplexes I sowie der Synthese von Coenzym Q und Eisen-Schwefel-Clustern. Auffällig war, dass Komponenten der Komplexe II bis V der oxidativen Phosphorylierung ebenso wie die Proteine der klassischen O₂-sensorischen Kaskade und glykolytische Enzyme unterrepräsentiert waren. Als selektiv essenziell in extremer Hypoxie wurden peroxisomale Proteine sowie Enzyme des Fettsäurestoffwechsels identifiziert. Bisherige Literatur hatte bereits sauerstoffabhängige Desaturasen, die zur Produktion ungesättigter Fettsäuren beitragen, mit Membranfluidität in Verbindung gebracht. In der Tat zeigten die Autoren, dass mehrere Komponenten der ungesättigten Fettsäuresynthese bei extrem niedriger O₂-Konzentration essenziell sind. Ein Lipid-Profil von Kontrollzellen unter Hypoxie zeigte erhöhte Spiegel von gesättigten Fettsäuren sowie Lyso-Etherphospholipiden, die

in Peroxisomen produziert werden. Daraus erwächst die Hypothese, dass die peroxisomale Ether-Lipidsynthese Membranstress unter hypoxischen Bedingungen entgegenwirkt. Diese Vermutung wurde durch Screening- und Metabolomics-Daten der *Cancer Dependency Map* gestützt, wonach Zellen mit einem erhöhten Maß an gesättigten Fettsäuren stärker von Desaturasen und peroxisomalen Genen abhängen.

→ Die Arbeit von Jain et al. liefert ungewöhnliche Einblicke in die Rolle von O₂ im zellulären Metabolismus. Aufbauend auf diese Screening-Ergebnisse kann nun der Beitrag hunderter Gene in alternativen experimentellen Ansätzen validiert werden. Zusätzlich zur pathophysiologischen Relevanz eröffnen die Daten faszinierende Einblicke in die Evolution des aeroben Metabolismus.

Florian Schober ■

Andreas
Seiffert-StörikoJohannes
Sander

Ralf Heermann

Thorsten
Mascher

Miriam Herbert

Kai Thormann

Vera
Kozjak-Pavlovic

Klaus Hantke

Friedrich Götz

Bindung von CO₂ – wunschgemäß

Pflanzliche Chloroplasten fixieren Kohlendioxid enzymatisch und bauen es in Kohlenhydrate ein. Licht liefert die dafür erforderliche Energie, die von Enzymen der Thylakoid-Membranen gebunden und in chemische Energie (ATP und NADPH) umgewandelt wird.

■ Tobias Erb *et al.* (Science (2020) 368:649-654) konnten die Bindung von CO₂ für die Biosynthese anderer Kohlenstoffe nutzen. Dazu isolierten sie Thylakoid-Membranen aus Spinatzellen, verkapselten diese in Wasser-in-Öl-Mikrotröpfchen und gaben zwei CO₂-fixierende Enzyme (Crotonyl-Coenzym A-Carboxylase und Propionyl-CoA-Carboxylase) hinzu. Beide Enzyme benötigen für ihre Aktivität entweder ATP oder NADPH. In diesem zellfreien System gelang die Bildung der entsprechenden Produkte Ethylmalonyl-CoA und Methylmalonyl-CoA.

Ausgehend von diesen Erfolgen brachten die Autor/inn/en in einem weiteren Versuch

einen künstlichen Stoffwechselweg (CETCH), bestehend aus 16 Enzymen, in dieses System ein. Auch dieser fixierte CO₂ erfolgreich, wie sich an dem Produkt Glycolat zeigen ließ. Es ist der Arbeitsgruppe also gelungen, natürliche Systeme wie die Photosynthese mit synthetischen Stoffwechselwegen zu verbinden.

→ *Diese Ergebnisse sind ein erster erfolgreicher Versuch, die komplexe Photosynthese für die Fixierung von anorganischem und klimaschädlichem CO₂ und so für die Bildung von biologisch aktiven Wunsch-Molekülen zu nutzen. Es werden noch viele Experimente und Entwicklungen erforderlich sein, diese Ergebnisse aus dem derzeitigen Picoliter-Maßstab in präparative Maßstäbe zu übertragen. Diese Arbeiten sind ein faszinierendes Beispiel für die Entwicklung synthetischer Organellen und Zellen.*

Andreas Seiffert-Störiko ■

Kurz gefasst

2000 Jahre alte *Bartonella quintana*

■ Geschützt in der Zahnpulpa können Proteine und Nukleinsäuren viele Jahrtausende überdauern. So wurden bereits verschiedene Krankheitserreger, darunter Bakterien und dsDNA-Viren, wie Hepatitis B-Viren gefunden. Raquel Barbieri (Sci Rep (2020) 10:10069) gelang jetzt der Nachweis von 2000 Jahre alten Erythrozyten mit intrazellulären Erregern des Fünf-Tage-Fiebers (*Bartonella quintana*). Die Proben stammten aus einer römischen Begräbnisstätte bei Besançon in Frankreich. Sie enthielten nicht nur DNA des Erregers, sondern auch rötliche Zellen in typischer Erythrozytenform. Bei einem Individuum konnte *B. quintana* durch FISH-Analyse intrazellulär nachgewiesen werden. Einzelzell-Genomsequenzierungen alter Proben könnten in Zukunft dabei helfen, die Entstehung von *B. quintana* aus *B. henselae* durch Genomreduktion besser zu verstehen.

Johannes Sander

Der Ursprung der Masern

Nach der Etablierung von Ackerbau- und Viehzucht sind wahrscheinlich viele Krankheitserreger auf den Menschen übergesprungen. Zu diesen Erregern gehört vielleicht auch das Masernvirus (MeV). Engster Verwandter dieses besonders ansteckenden und heute beim Menschen endemischen (-)ssRNA-Virus ist das Rinderpestvirus (RPV).

■ Mithilfe der molekularen Uhr, die eine relative Chronologie liefert, und Kalibrierungspunkten in der Vergangenheit lässt sich der Zeitpunkt bestimmen, zu dem sich zwei Viren-Linien getrennt haben. RNA-Viren stellen bezüglich der Kalibrierungspunkte eine besondere Herausforderung dar, da RNA wesentlich instabiler ist als DNA und sich daher aus alten Proben nur schlecht gewinnen lässt. Ariane Düx *et al.* (Science (2020) 368:1367-1370) ergänzten jetzt den bisher ältesten Kalibrierungspunkt (1954) um drei weitere historische Stämme, davon einer aus dem Jahr 1912. Letzterer steht zu allen modernen Stämmen

in einem Schwestergruppenverhältnis. Die Einführung der Impfung führte zu einer massiven Diversitätsabnahme bei den Masernviren. Mithilfe eines komplexen Modells konnte der Trennungszeitpunkt von MeV und RPV auf 528 v. Chr. (+646/-693 Jahre) als Außengruppe diente das PPR-Virus (Pest der kleinen Wiederkäuer), das sich rund 3000 Jahre zuvor abspalten hat.

→ *Die neue Datierung liefert ein rund 1.500 Jahre früheres Datum als bisherige Datierungen. Sie passt zu historischen Quellen, die ein früheres Auftreten der Masern nahelegen, wenngleich solche rückwirkenden Diagnosen gerade bei den nicht sehr spezifischen Symptomen der Masern unsicher sind. Zu einem dauerhaften Übersprung auf den Menschen um 528 v. Chr. passt aus epidemiologischer Sicht, dass damals zum ersten Mal ausreichend große Städte entstanden sind, die eine kritische Populationsdichte für ein endemisches Auftreten boten.*

Johannes Sander ■

Mikroben können ins Auge gehen

■ Auf Mikroskop-Okularen sammeln sich Mikroorganismen: Bis zu 1.700 lebende Bakterien pro Quadratzentimeter fanden Birgit Fritz *et al.* (J Clin Med (2020) 9:1572) aus der Arbeitsgruppe von Markus Egert nach der Benutzung von Mikroskopen in Praktika. Auf den Okularen wiesen sie neben Hautbakterien wie Cutibakterien und Staphylokokken auch Umwelt- und Wasserbakterien nach, aber keine Pilze. Auch vier potenziell pathogene Bakterien waren dabei: *Staphylococcus epidermidis*, *Paracoccus yeei*, *Cutibacterium acnes* und *Brevibacterium casei* können Augenerkrankungen der Hornhaut oder des Augenlids hervorrufen. Die Forscher raten, die Okulare regelmäßig mit Isopropanol zu reinigen, auch um Biofilmbildung zu vermeiden. Zudem halten sie die Übertragung von Viren auf diesem Wege ebenfalls für wahrscheinlich.

Anja Störiko

- ▶ Bakterielle „Mehrsprachigkeit“ als Schlüssel für Infektiosität
- ▶ Evolutionärer Baukasten der bakteriellen Signaltransduktion: Phosphorylierung von ECF-Sigmafaktoren
- ▶ Epigenetische Modulatoren als Angriffspunkt für zukünftige Tuberkulose-Therapien
- ▶ Neue Strukturen der Typ-IV-Pili

Bakterielle „Mehrsprachigkeit“ als Schlüssel für Infektiosität

Bakterien kommunizieren über kleine diffusionsfähige Moleküle, ein Prozess, der als Quorum sensing (QS) bezeichnet wird. *Vibrio cholerae* hat, im Vergleich zu anderen Bakterien, ein eher ungewöhnliches QS-System etabliert: Vier Rezeptoren empfangen die QS-Signale und steuern daraufhin die Virulenzgen-Expression.

■ Über die Bedeutung dieser bakteriellen „Mehrsprachigkeit“ wurde in der Vergangenheit viel diskutiert. Das Team um Wai-Leung Ng (Watve S et al., PLoS Pathog (2020) 16:e1008313) aus New Jersey, USA, zeigt einen neuen Grund für die vier parallel existierenden QS-Rezeptoren: Demnach umgehen diese eine mögliche Signalinterferenz im Dickdarm des Wirts, was eine stabile Besiedlung der Epithelzellen gewährleistet. Die Autoren zeigen eindrucksvoll, dass der QS-Rezeptor CqsR neben einem bisher unbekanntem QS-Signal Ethanolamin bindet, das im Dickdarm von Säugetieren in hoher Konzentration vorkommt, und damit die QS-Kaskade aktiviert. Die Forscher gehen davon aus, dass unter bestimmten Bedingungen die QS-Rezeptoren im Wirt blockiert sein könnten, und die Bindung von Ethanolamin an CqsR die QS-Kaskade unabhängig von den endogenen QS-Signalen induziert.

→ Die Studie ist ein neues Beispiel für Kommunikation zwischen Bakterien und ihren Wirten. Faszinierend ist, dass die Bakterien hier der Kommunikation mit dem Wirt Vorrang gegenüber der eigenen einräumen, was zeigt, wie vielschichtig bakterielle „Sprache“ sein

kann. Außerdem ist das Inter-kingdom signaling in *V. cholerae* ein vielversprechender Wirkort für neue spezifische Medikamente gegen Cholera.

Ralf Heermann ■

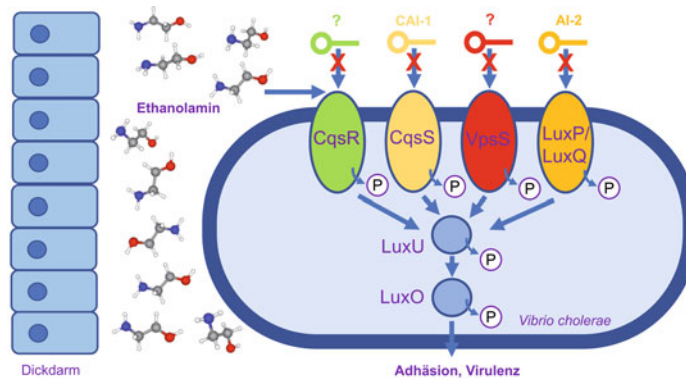


Abb. : Quorum sensing (QS) von *Vibrio cholerae* im Dickdarm. Die vier Histidinkinasen CqsR, CqsS, VpsS und LuxP/LuxQ (QS-Rezeptoren) erkennen spezifisch die QS-Moleküle, dargestellt als Schlüssel. CAI-1: Cholera Autoinduktor-1; (S)-3-Hydroxytridecan-4-on; AI-2: Autoinduktor-2, Furanosylboratdies-ter. Bei hoher Zelldichte binden die parallelen Rezeptoren die spezifischen QS-Signale und aktivieren Phosphataseaktivität gegenüber dem Phosphotransferprotein LuxU und damit dem Antwortregulator LuxO, der die Expression von Virulenz- und Adhäsionsgenen aktiviert. Im Dickdarm blockiert vermutlich eine Signalinterferenz diese Signaltransduktionskaskade trotz hoher Zelldichte (rotes Kreuz). Der Rezeptor CqsR bindet daraufhin das im Dickdarm in hoher Konzentration vorliegende Ethanolamin als alternatives Signalmolekül, was zu einer Aktivierung der Phosphataseaktivität und damit der Zielgenexpression führt, sodass eine erfolgreiche Kolonisierung des Darmepithels im Wirt gewährleistet ist.

Evolutionärer Baukasten der bakteriellen Signaltransduktion: Phosphorylierung von ECF-Sigmafaktoren

ECF-Sigmafaktoren stellen ein wesentliches Prinzip bakterieller Signaltransduktion dar. Zu einer stetig wachsenden Zahl molekularer Aktivierungsmechanismen gesellt sich nun erstmals auch die Phosphorylierung, die einem gänzlich anderen Prinzip der Regulation zugeordnet wird. Mal wieder zeigt uns die Natur, dass einmal bewährte Funktionen sich stetig neu kombinieren lassen.

■ Das Überleben bakterieller Zellen verlangt eine kontinuierliche Überwachung kritischer Umweltparameter, um bei Vorliegen entsprechender extrazellulärer Reize eine adäquate intrazelluläre Reaktion auszulösen. Neben Ein-

und Zweikomponentensysteme spielen alternative Sigmafaktoren der ECF-Familie (*Extra Cytoplasmic Function*) als dritte Säule bakterieller Signaltransduktion eine ganz wesentliche Rolle, z. B. bei der Vermittlung von Stressantworten. Sie sind normalerweise intrinsisch aktiv und werden in Abwesenheit induzierender Bedingungen von zugehörigen Anti-Sigmafaktoren gebunden und inaktiv gehalten. In einer aktuellen Studie beschreibt die Arbeitsgruppe von Simon Ringgardd (Marburg) nun einen völlig neuartigen ECF-Kontrollmechanismus, bei dem ein intrinsisch inaktiver ECF in Antwort auf die Anwesenheit des Antibiotikums Polymyxin durch eine Proteinkinase

phosphoryliert und somit überhaupt erst aktiviert wird, um dann in *Vibrio parahaemolyticus* Polymyxinresistenz auszuprägern (Iyer SC et al., Na Microbiol (2020) 5:395-406).

→ Die vorliegende Arbeit bestätigt einmal mehr, dass ECFs das mechanistisch diverseste Prinzip bakterieller Signaltransduktion darstellen. Sie ist aber auch ein sehr schöner Hinweis auf die Modularität biologischer Funktionseinheiten, die es erlaubt, dass einmal bewährte biochemische Mechanismen im Zuge der Evolution immer wieder neu kombiniert wurden, um neue Funktionalitäten zu generieren.

Thorsten Mascher ■

Epigenetische Modulatoren als Angriffspunkt für zukünftige Tuberkulose-Therapien

Weltweit stellen Infektionen mit *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) immer noch ein enormes gesundheitliches Problem dar, an dem jährlich über eine Million Menschen sterben. Da multiresistente *Mtb*-Stämme immer häufiger vorkommen und vielseitige Angriffspunkte innerhalb des Erregers von Medikamenten bereits genutzt werden, müssen neue Wege begangen werden.

■ *Mtb* ist ein Krankheitserreger, der der Immunantwort des Wirts entkommt, da er sich in bestimmten Immunzellen, den Makrophagen, einnistet. J. D. Moreira *et al.* (Front Immunol (2020) 11:36) gehen in ihrem Artikel der Frage nach, wie sich bestimmte epigenetische Modulatoren auf die anti-mykobakterielle Aktivität von Makrophagen auswirken, und ob sich diese als Angriffspunkte für eine auf den Wirt und nicht den Erreger gerichtete Therapie eignen würden.

Mtb manipuliert erfolgreich die Signalwege seines Wirts. Dabei werden u. a. auf transkriptioneller Ebene Veränderungen verursacht, die die angeborene und adaptive Immunab-

wehr beeinflussen. Da bereits bekannt war, dass epigenetische Modulatoren die Immunantwort gegen Mikroorganismen auf transkriptioneller Ebene mitbestimmen, nahmen die Autoren Histon-Deacetylasen (HDACs) in den Blick. Diese hemmen durch das Entfernen von Acetylresten auf Histonen die lokale Gentranskription. Durch qPCR und Analyse von bereits publizierten RNA-Sequenzierungsdaten konnten die Autoren zeigen, dass eine *Mtb*-Infektion von humanen Makrophagen die Transkriptionsmuster von HDACs stark verändert. Dies gilt sowohl für pro- als auch anti-inflammatorische Makrophagen, die als Extreme des Makrophagenspektrums exemplarisch untersucht wurden. Die Behandlung mit selektiven Klasse-II-HDACs-Inhibitoren oder einem pan-HDAC-Inhibitor konnte die intrazelluläre Überlebensrate von *Mtb* signifikant senken, ohne die Viabilität der Makrophagen zu reduzieren. Inkubation mit diesen Wirkstoffen, noch während der Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen, konnte die bakteriostatischen Eigenschaften sogar noch erhöhen.

Außerdem stellten die Autoren fest, dass eine HDAC-Inhibitor-Behandlung die *Mtb*-assoziierte Zytokin-Produktion in pro-inflammatorischen Makrophagen reduziert. Mithilfe des etablierten Zebrafisch-*Mycobacterium marinum* (*Mmar*)-Modells wurden die Ergebnisse der *in vitro*-Studien untermauert, denn auch mit HDAC-Inhibitoren behandelte Zebrafischembryonen hatten eine verringerte Bakterienlast.

→ *Mit ihrer Arbeit konnten Moreira et al. zeigen, dass HDACs wichtige Regulatoren für die anti-mykobakterielle Aktivität von Makrophagen sind. Da es sich bei diesen um Enzyme handelt und diese potenziell manipulierbar sind, eröffnet die Studie eine Möglichkeit für zukünftige Tuberkulose-Therapien, die auf den Wirt abzielen und daher auch für multiresistente *Mtb* vielversprechend sind. Erste Hinweise, dass sich HDACs erfolgreich mit Inhibitoren modulieren lassen, liefert die Studie gleich mit.*

Miriam Herbert ■

Neue Strukturen der Typ-IV-Pili

Viele Prokaryoten bilden Typ-IV-Pili, extrazelluläre Proteinfilamente, die ein weites Spektrum an Funktionen aufweisen. So können sie an der Bewegung der Zellen über Oberflächen hinweg beteiligt sein (*twitching motility*), bei der Aufnahme extrazellulärer DNA helfen und Zell-Zell- oder Zell-Oberflächenkontakte vermitteln. In den letzten Jahren wurden große Fortschritte bei der Aufklärung der Funktionen und des Aufbaus dieser faszinierenden Nanomaschinen, den Schweizer Taschenmessern der Bakterien, gemacht. Genaue Strukturdaten, etwa des Filaments, fehlten aber bislang.

■ Zu dieser Fragestellung untersuchten Alexander Neuhaus *et al.* (Nat Commun (2020) 11:2231) die Filamente der Typ-IV-Pili des Bakteriums *Thermus thermophilus* mittels ver-

schiedener Techniken der Cryo-Elektronenmikroskopie und durch Funktionsanalysen anhand entsprechender Mutanten. Interessanterweise stellte sich heraus, dass *T. thermophilus* die gleiche Aufbaumaschinerie nutzt, um zwei verschiedene, breite (*wide*) und schmale (*narrow*), Filamente zu bilden. Weitere Analysen zeigten, dass der breite Pilus aus einem bereits bekannten Baustein, dem Pilin PiliA4, aufgebaut ist, wohingegen die schmalere Variante aus einem bisher unbekanntem Pilin, jetzt PiliA5 benannt, besteht. Diese schmalere Pili sind für die *twitching motility* essenziell, während das breitere Pilusfilament bei der Aufnahme von DNA eine wichtige Rolle spielt. Die cryo-elektronenmikroskopische Analysen erlaubten, die Struktur beider Filamente mit zuvor unerreichter Auflösung (3,2 Å bzw. 3,5 Å) bis annähernd auf Atomebene zu

analysieren. Die Autoren konnten so den Aufbau von zwei verschiedenen Pili-Filamenten aus ihren jeweiligen Bausteinen deutlich genauer als bisher beschreiben und auch die Position diverser Modifikationen, wie z. B. Glykosylierungen, bestimmen.

→ *Diese Arbeit zeigt eindrucksvoll, wie die Filamente der Typ-IV-Pili aus ihren Bausteinen, den Pilinen, zusammengesetzt sind. Sie ermöglicht damit neue Einblicke in die Mechanismen der Pili und erlauben weitere Untersuchungen, wie deren Funktion, z. B. bei pathogenen Bakterienspezies, womöglich unterdrückt werden könnte. Interessant ist ebenfalls die Frage, wie *T. thermophilus* mit einem Grundsystem zwei verschiedene Filamente für verschiedene Funktionen ausbilden kann und ob dies auch auf die entsprechenden Systeme anderer Bakterien zutrifft.*

Kai Thormann ■

- ▶ *Neisseria* fördert mit Stickstoffmonoxid die Besiedlung des Epithels
- ▶ Wie der BAM-Komplex β -Barrel-Proteine in die Membran integriert
- ▶ Neue PET-Depolymerase ermöglicht Recycling von Plastikflaschen
- ▶ Die dynamische Architektur lebender Zellen

Neisseria fördert mit Stickstoffmonoxid die Besiedlung des Epithels

***Neisseria gonorrhoeae*, der Erreger der Gonorrhoe, ist ein obligat humanpathogenes Bakterium. Es interagiert mit dem Wirt an den Schleimhäuten, wo die Infektion die Ablösung infizierter Epithelzellen von der Oberfläche verursachen kann. Diese Exfoliation dient als Abwehrmechanismus gegen die bakterielle Besiedlung. Eine unterdrückte Exfoliation fördert die Infektion und ist abhängig von der Bindung von Mikroben an die zellulären karzinoembryonalen Antigen-verwandten Zelladhäsionsmolekülen (CEACAM-Rezeptoren).**

■ Petra Muenzner und Christof Hauck (Cell Host Microbe (2020) 27:793–808) beschreiben den Mechanismus, der der Unterdrückung der Exfoliation durch *N. gonorrhoeae* zugrunde liegt. Ihre früheren Arbeiten hatten gezeigt, dass die Interaktion von Opacity (Opa)-Adhäsins-exprimierenden Gonokokken mit den CEACAM-Rezeptoren die Expression eines bestimmten Oberflächenproteins, CD105, aus-

löst. Dies wiederum erhöht die Zelladhäsion an die extrazelluläre Matrix durch Integrinaktivierung.

Nun zeigen die Autoren, dass Bakterien die Signalkaskade aktivieren, die mit der Aktivierung der löslichen Guanylatcyclase (sGC) beginnt, die cGMP produziert und die Protein-

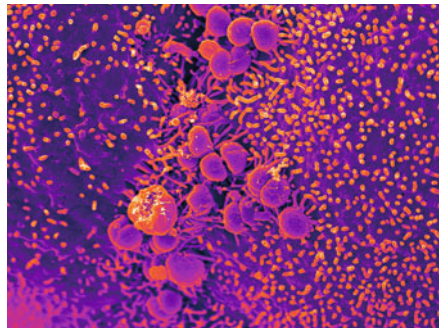


Abb.: *Neisseria gonorrhoeae* auf der Oberfläche von infizierten Hec-1-B-Zellen. Bild: © Motaharehsadat Heydarian und Vera Kozjak-Pavlovic.

kinase G (PKG) aktiviert. Phosphorylierung des CREB-Transkriptionsfaktors führt zur Bindung an den Promotor von CD105 und zur Hochregulierung seiner Transkription. Faszinierenderweise wird sGC durch Stickstoffmonoxid (NO) aktiviert, das nicht von den Wirtszellen, sondern von den Bakterien produziert wird. Die Hemmung von sGC oder PKG sowie die Blockierung der NO-Produktion hebt die Unterdrückung des Epithelzell-Exfoliation auf und reduziert die bakterielle Besiedlung des Wirts.

→ Diese Arbeit zeigt zum ersten Mal, dass Bakterien die Signalwege der Wirtszellen durch die Produktion des gasförmigen Moleküls NO manipulieren können. Die in dieser Veröffentlichung vorgestellten Ergebnisse beleuchten nicht nur die Vielseitigkeit der Anpassung von Krankheitserregern an den Wirt, sondern eröffnen auch neue Möglichkeiten für die Behandlung von Infektionen.

Vera Kozjak-Pavlovic ■

Wie der BAM-Komplex β -Barrel-Proteine in die Membran integriert

β -Barrel-Proteine sind charakteristische Bestandteile der äußeren Membranen von Gram-negativen Bakterien, Mitochondrien und Chloroplasten. Viele β -Barrel-Proteine sorgen mit ihrer Porenfunktion für die Durchlässigkeit der Membran. Der Einbau dieser Proteine in die Membran erfolgt bei den Bakterien über den BAM-Komplex (β -barrel assembly machine). Das Wunderbare an dieser Maschine ist, dass sie keine Energiequelle wie etwa ATP braucht.

■ David Tomasek *et al.* (Nature (2020) 583:473–478) untersuchten molekulare Details der Arbeitsweise dieser Maschine bei *Escherichia coli*. Mit aufwendiger Technik (Cryo-EM, pBPA-Technik u. a.) fingen sie Intermediate des Einbauprozesses ab und charakterisierten ihre Struktur. Die Wand dieser Fassproteine wird durch β -Faltblattstrukturen gebildet, wobei N-terminale und C-terminale Aminosäureketten durch Ausbildung eines abschließenden β -Faltblatts wie eine Naht das Fass schließen. Das für den Einbauprozess

zentrale BamA-Protein hat selbst eine Fass-Struktur. Den Einbau in die Membran untersuchten die Autoren anhand von veränderten BamA-Substrat-Proteinen (BamA^S), wobei sie durch Quervernetzung Zwischenstufen des Prozesses charakterisieren konnten.

Wesentlich ist die Ausbildung einer β -Faltblattstruktur zwischen der N-terminalen Aminosäurekette des katalytischen, in der Membran lokalisierten BamA-Proteins (BamA^M) und der C-terminalen Aminosäurekette des neuen BamA^S-Proteins. Diese Konfiguration führt zur sequentiellen Ausbildung der weiteren β -Faltblätter vom C-Terminus zum N-Terminus bei BamA^S. Bei diesem Vorgang öffnet sich die Naht des BamA^M-Fasses etwas. Seine C-terminale Außenseite interagiert mit der N-terminalen Außenseite des neuen BamA^S-Proteins, bei dem die β -Faltblätter dann schon ein an der Seite offenes Fass bilden. Die Ablösung des nun in der Membran befindlichen BamA^S-Proteins aus dem Komplex mit BamA^M geschieht wohl durch eine schrittweise Auf-

lösung der verbindenden β -Faltblattstruktur unter Ausbildung des Naht-Faltblatts von BamA^S, was in Folge auch das Fass an der Seite schließt.

→ Vermutlich verlaufen diese Vorgänge auch bei Mitochondrien und Chloroplasten ähnlich, was den grundlegenden Charakter der Arbeit unterstreicht. Diverse Beobachtungen aus vorhergehenden Arbeiten wurden bestätigt, sodass nicht alle Befunde völlig neu und unerwartet sind. Im letzten Jahr erschien aus derselben Arbeitsgruppe eine Studie (Lee J *et al.*, eLIFE (2019), doi: 10.7554/eLife.49787) zur Insertion des deutlich größeren LptD-Proteins (ein β -Barrel mit 22 Faltblattstrukturen; BamA hat 16), wobei die katalytische Rolle der Innenseite des BamA^M-Barrels besonders betont wurde. Dies wurde bei der Integration des deutlich kleineren BamA^S-Proteins wohl noch nicht näher untersucht.

Klaus Hantke ■

Neue PET-Depolymerase ermöglicht Recycling von Plastikflaschen

Aktuelle Schätzungen gehen von einer Jahresproduktion von weltweit rund 359 Mio. Tonnen Kunststoffen aus, davon landen 150 bis 200 Mio. Tonnen in der Umwelt. Polyethylenterephthalat (PET) ist der am häufigsten hergestellte Polyester; er wird meistens thermomechanisch recycelt. Das recycelte PET besitzt allerdings nicht mehr dieselben mechanischen Eigenschaften. Daher wird die *de novo*-Herstellung bevorzugt.

■ Hydrolytische Enzyme könnten eine Alternative sein, die Monomere wiederzugewinnen, allerdings sind die bislang gefundenen nicht ausreichend aktiv. Vincent Tournier *et al.* (*Nature* (2020) 580:216–219) haben nun eine PET-Hydrolyase aus einem nicht näher genannten Organismus gefunden und optimiert, die 90 Prozent des PET binnen zehn Stunden in seine Monomere spaltet. Die Produktivität

liegt dabei bei 16,7 g/l·h⁻¹. Das entspricht einer Bildung von 200 g Terephthalat/kg PET-Suspension in 10 h. Die bisher aktivste PETase aus *Ideonella sakaiensis* wird damit deutlich übertroffen.

Es gelang den Forschern, mithilfe der Sättigungsmutagenese die Thermostabilität und die spezifische Aktivität der neuen PETase LCC (*leaf-branch compost cutinase*) zu verbessern. Das Temperaturoptimum stieg von 84 auf 94 °C. Die höhere Temperatur ist wichtig für eine erfolgreiche Depolymerisation.

Tournier *et al.* nutzten mit gängigen Methoden (Extrusion und Mikronisierung) zur Oberflächenvergrößerung vorbehandelten PET-Abfall bei einem Scale-up im 150 l-Maßstab, den sie anschließend bei 72 °C enzymatisch behandelten. Die gebildeten Monomere wurden gereinigt, polymerisiert und zu Flaschen geformt. Sie unterschieden sich chemisch nicht von

PET aus fossilen Quellen, und auch die mechanischen Eigenschaften der Flaschen waren vergleichbar.

→ *Es war nur noch eine Frage der Zeit, wann eine geeignete PETase entwickelt und in entsprechenden Pilot-Maßstabsversuchen eingesetzt werden würde. In der Studie wurde bislang nur Terephthalat isoliert. Ethylenglycol, das zweite Monomer, wurde noch nicht aus der Mischung aufgearbeitet. Es bleibt abzuwarten, ob sich dieses neue enzymatische Verfahren tatsächlich zu einer Alternative zum bisherigen thermomechanischen Recycling durchsetzt. Die Enzymkosten belaufen sich auf vier Prozent des Preises für neues PET. Durch die Aufreinigung (Entfärbung) entstehen 0,6 kg Natriumsulfat pro Kilogramm recyceltes PET. Für den erhöhten Preis sowie für die Verwendung des Natriumsulfats muss eine Lösung gefunden werden.*

Andreas Seiffert-Störiko ■

Die dynamische Architektur lebender Zellen

L. Pasquina-Lemonche *et al.* (*Nature* (2020) 582:294–297) untersuchten die dreidimensionale Architektur der relativ dicken Zellwand Gram-positiver Bakterien (*Staphylococcus aureus* und *Bacillus subtilis*). Die einzigartige Visualisierung der Zellwandstrukturen mit hoher Auflösung erzielten sie mittels einer Kombination aus Atomic force microscopy (AFM), Cryo-electron microscopy (cryo-EM) und Transmission electron microscopy (TEM).

■ Mit dieser Kombination aus High-Tech-Methoden analysierten die Autoren nicht nur

die Architektur von isolierter Zellwand, sondern auch die von lebenden Zellen. Sie zeigen eindrucksvoll, dass die Zellwand Gram-positiver Bakterien keine homogene Struktur darstellt, wie bislang angenommen. Sie ist durchsetzt mit großen (bis zu 60 nm Durchmesser) und tiefen (bis zu 23 nm) Poren, die ein ungeordnetes Peptidoglykan-Gel bilden. Während die innere Peptidoglykan-Schicht relativ dicht ist, erstrecken sich nach außen zahlreiche sich trichterförmig öffnende Poren.

Diese neue Erkenntnis könnte für einige ungelösten Fragen der Mikrobiologie eine Erklärung

bieten. Wie kommen z. B. Bakteriophagen so nahe an die Cytoplasmamembran heran, um ihre DNA in Zellen zu injizieren, oder, wie können Antikörper an membranlokalisierte Antigene gelangen?

→ *Mit den hier verwendeten High-Tech-Methoden werden in Zukunft auch Fragen behandelt, wie die dynamische Struktur der Zellwand Wachstum und Teilung ermöglicht. Diese Arbeit entstand aus einer sehr erfolgreichen interdisziplinären Zusammenarbeit von Mikrobiologen, Physikern und Informatikern an der Universität Sheffield.*

Friedrich Götz ■

Prof. Dr. Regine Hengge, Institut für Biologie, HU Berlin, Philippstraße 11-13, D-10115 Berlin, regine.hengge@hu-berlin.de

Dr. Andreas Seiffert-Störiko, Sanofi GmbH, Industriepark Höchst, D-65926 Frankfurt a. M., Andreas.Seiffert-Stoeriko@sanofi.com

Dr. Johannes Sander, Falkenstraße 87, D-58553 Halver, jtsander@gmx.de

Prof. Dr. Ralf Heermann, Institut für Mikrobiologie und Weinforschung, Universität Mainz, Johann-Joachim-Becherweg 15, D-55128 Mainz, heermann@uni-mainz.de

Prof. Dr. Thorsten Mascher, Institut für Mikrobiologie, TU Dresden, Zellescher Weg 20b, D-01217 Dresden, thorsten.mascher@tu-dresden.de

Prof. Dr. Kai Thormann, Universität Gießen, Institut für Mikro- und Molekularbiologie, Heinrich-Buff-Ring 26, D-35392 Gießen, Kai.Thormann@mikro.bio.uni-giessen.dek

PD Dr. Vera Kozjak-Pavlovic, Lehrstuhl für Mikrobiologie, Universität Würzburg, Am Hubland, D-97074 Würzburg, vera.kozjak@uni-wuerzburg.de

Prof. Dr. Klaus Hantke, Fakultät für Biologie, Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen, hantke@uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Friedrich Götz, Interfakultäres Institut für Mikrobiologie und Infektionsmedizin Tübingen (IMIT), Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 28/E7, D-72076 Tübingen, friedrich.goetz@uni-tuebingen.de

■ **Autoren aus der jGBM** 

Florian A. Schober, Karolinska Institutet, Division of Molecular Metabolism, Solnavägen 9, SE-171 77 Stockholm, florian.schober@ki.se
Miriam Herbert, Life & Medical Sciences (LIMES) Institut, Carl-Troll-Straße 31, D-53115 Bonn, miriam.herbert@uni-bonn.de