

Habilitierte stellen sich vor

Wahrnehmung von Umweltreizen bei Bakterien

Kirsten Jung, Abteilung Mikrobiologie der Universität Osnabrück

► Wie können Bakterien Veränderungen von Umweltparametern wie beispielsweise Osmolarität, Druck oder Temperatur, denen kein chemischer Gradient zugrunde liegt, wahrnehmen? Für die Wahrnehmung dieser Umweltreize und die zelluläre Anpassung daran sind in den meisten Fällen relativ einfach gebaute Reizleitungssysteme verantwortlich. Diese bestehen aus zwei Proteinkomponenten („Zwei-Komponenten-Systeme“): einem Sensor (Sensorkinase, Histidinkinase), der einen externen Reiz registriert und über Phosphorylierungsreaktionen in ein zytoplasmatisches (chemisches) Signal umwandelt, und einem Antwortregulator, an den das Signal weitergeleitet wird. Sensorkinase/Antwortregulator-Systeme sind bei Bacteria, Archaea, Hefen und Pflanzen gefunden worden. Der Strukturaufbau dieser Systeme ist sehr variabel, nicht zuletzt bedingt durch die Vielfältigkeit der externen Stimuli sowie der in der Zelle ausgelösten Reaktionen. Die enzymatischen Eigenschaften sind dagegen einheitlich und lassen sich wie folgt beschreiben: Sensorkinasen besitzen Autokinaseaktivität, wobei die γ -Phosphorylgruppe des ATP auf einen konservierten Histidinrest übertragen wird. In Anwesenheit des Antwortregulators wird die Phosphorylgruppe auf einen konservierten Aspartatrest in der N-terminalen Domäne dieses Proteins übertragen. Diese Phosphorylierung wiederum aktiviert die Effektor-domäne des Antwortregulators, wodurch

weitere Reaktionen in der Zelle ausgelöst werden (z.B. Veränderung der Genexpression). Die Signaltransduktionskaskade wird durch die Dephosphorylierung des Antwortregulators unterbrochen. Die Dephosphorylierung kann auf verschiedenen Wegen erfolgen: es gibt spezifische Phosphatasen, oder die Sensorkinase besitzt Phosphataseaktivität, oder der phosphorylierte Antwortregulator ist sehr instabil [1].

Wir untersuchen das Sensorkinase/Antwortregulator-System KdpD/KdpE von *Escherichia coli*. KdpD und KdpE regulieren die Expression des *kdpFABC*-Operons (Abb.1), das für das hochaffine K^+ -Aufnahmesystem KdpFABC kodiert. Das *kdpFABC*-Operon wird unter K^+ -limitierenden Wachstumsbedingungen ($< 2 \text{ mM } K^+$) induziert. In Mutanten, denen die konstitutiven K^+ -Aufnahmesysteme (TrkH, TrkG und Kup) fehlen, ist die Induktion von *kdpFABC* bereits bei höheren K^+ -Konzentrationen nachweisbar. Da K^+ -Ionen maßgeblich zur Aufrechterhaltung des Turgors beitragen, postulieren Epstein und Mitarbeiter, dass KdpD Turgoränderungen registriert. Das Turgorkontrollmodell wird dadurch unterstützt, dass eine Erhöhung der Mediumosmolarität, die mit einem transienten Turgorabfall verbunden ist, ebenfalls zur Induktion des *kdpFABC*-Operons führt [2]. Das Kdp-System ist weit verbreitet bei Bakterien und bei verschiedenen Vertretern der Proteobakterien, Actinobakterien, Gram-po-

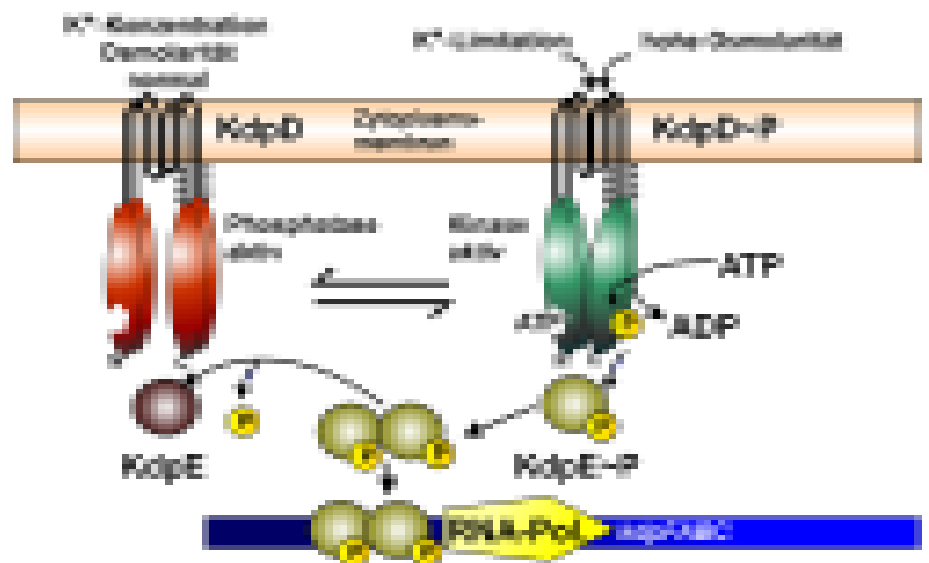


Abb. 1: Modell der Reizwahrnehmung und Signaltransduktion des Sensorkinase/Antwortregulator-Systems KdpD/KdpE von *Escherichia coli*

12th EUROPEAN CELL CYCLE CONFERENCE

EuroConference on Cell Cycle Control in Normal and Malignant Cells

February 10 – 14, 2001

MAYRHOFEN / Zillertal / Tyrol / Austria

Topics

DNA-Replication	Molecular Mechanism of Mitosis
Cell Cycle Regulated Transcription	Cell Cycle Regulation in Plants
Molecular Mechanisms of Checkpoints	Proteolysis in Cell Cycle Control
Growth and Cell Cycle Progression	Cell Cycle and Apoptosis
Cell Cycle Regulation in Development	Cell Cycle and Cancer
General Aspects of Cell Cycle Control	

Invited Speakers

Jiri BARTEK/Copenhagen	Murdoch MITCHISON/Edinburgh
Stephen P. BELL/Cambridge, MA	Kim NASMYTH/Vienna
John F.X. DIFFLEY/South Mimms	Erich NIGG/Martinsried
Bruce A. EDGAR/Seattle	Paul NURSE/London
Tim HUNT/South Mimms	Gordon PETERS/London
Gerd JÜRGENS/Tübingen	Steven REED/La Jolla
Wilhelm KREK/Basel	Conley RIEDER/Albany
Nick LaTHANGUE/Glasgow	Anders ZETTERBERG/Stockholm
Christian LEHNER/Bayreuth	

Programme CommitteeJ.M. Mitchison, K.Nasmyth,
A.Zetterberg**Local Organizers/Innsbruck:**P.Jansen-Dürr, P.Loidl,
W.Sachsenmaier**Information, Online Registration:**Secretary 12th ECCC
c/o Inst.f.Med.Chem.& Biochem., Univ.
Innsbruck,
F.-Preglstr.3/7, A-6020 Innsbruck/Austria
Telephone: xx43(0)512-507-3258,
Fax: xx43(0)512-507-2874
Homepage: <http://med-microbio.uibk.ac.at/eccc/>
E-Mail: eccc@uibk.ac.at

Active participants	€ 160 (< Oct. 31, 2000)
	€ 200 (> Oct. 31, 2000)
Students	€ 80 (< Oct. 31, 2000)
	€ 100 (> Oct. 31, 2000)

Registration fees include admission to all scientific sessions, congress folder, abstract book, farewell dinner on Feb. 14. Early registration is recommended since the total number of participants is limited to 100. "Young scientists" (€35 years) from EU-Member-States and Associated States are particularly encouraged to participate in this Conference. The organizers have applied for financial support of qualified "young scientists" from the European Commission.

Abstracts/Posters:

Deadline for submitting abstracts of oral (15 min) and poster presentations:

October 31, 2000.

All abstracts will be published in "Cell Biology International" (Academic Press).

Transduction, ASM Press, Washington D.C., 25-52

- [2] **Malli, R. and Epstein W. (1998):** Expression of the Kdp ATPase is consistent with regulation by turgor pressure. *J.Bacteriol.* 180: 5102-5108
- [3] **Jung, K. and Altendorf K. (1998):** Truncation of amino acids 12-128 causes deregulation of the phosphatase activity of the sensor kinase KdpD of Escherichia coli. *J.Biol.Chem.* 273: 17406-17410
- [4] **Jung, K., Tjaden, B. and Altendorf, K. (1997):** Purification, reconstitution, and characterization of KdpD, the turgor sensor of Escherichia coli. *J.Biol.Chem.* 272: 10847-10852
- [5] **Jung, K. and Altendorf, K. (1998):** Individual substitutions of clustered arginine residues of the sensor kinase KdpD of Escherichia coli modulate the ratio of kinase to phosphatase activity. *J.Biol.Chem.* 273: 26415-26420
- [6] **Puppe, W., Zimmann, P., Jung, K., Lucassen, M. and Altendorf K. (1996):** Characterization of truncated forms of the KdpD protein, the sensor kinase of the K⁺-translocating Kdp system of Escherichia coli. *J.Biol.Chem.* 271: 25027-25034
- [7] **Stallkamp, I., Dowhan, W., Altendorf, K. and Jung K. (1999):** Negatively charged phospholipids influence the activity of the sensor kinase KdpD of Escherichia coli. *Arch.Microbiol.* 172: 295-302

Korrespondenzadresse

PD Dr. Kirsten Jung

Universität Osnabrück
Abteilung Mikrobiologie
Barbarastr. 11
D-49069 Osnabrück
Tel.: +49-541-969-2276
Fax: +49-541-969-2870
eMail: jung_k@biologie.uni-osnabrueck.de

sitiven niedrig G+C Bakterien und Cyanobakterien gefunden worden.

Im Mittelpunkt unseres Interesses steht die Aufklärung der Natur des unmittelbaren Reizes für KdpD sowie des molekularen Mechanismus der Reizwahrnehmung und Signalweiterleitung.

KdpD ist ein bifunktionelles Enzym, das sowohl Kinase- als auch KdpE~P Phosphataseaktivität besitzt [3, 4]. Basierend auf der Analyse von KdpD-Derivaten, in denen einzelne Aminosäurereste ausgetauscht sind, wird ein Gleichgewicht zwischen Kinase- und Phosphataseaktivität postuliert, welches ganz entscheidend für den Reizaufnahmemechanismus zu sein scheint ([5] und unveröffentlichte Information). In der Eingangsdomäne von KdpD wurden folgende Strukturelemente identifiziert, die für die Reizaufnahme von großer Bedeutung sind: i) eine regulatorische ATP-Bindestelle [3], ii) eine Ansammlung positiv geladener Aminosäurereste [5] und iii) die vier Transmembrandomänen [6] (Abb. 1). Ausgehend vom Turgorkontrollmodell ist vor allem die Änderung der Membranspannung ein potentieller Reizkandidat, der zur Aktivierung von KdpD und damit zur Initiation der Signaltransduktionskaskade führt. Dar-

über hinaus haben wir deutliche Hinweise, dass negativ geladene Phospholipide [7] und Veränderungen der intrazellulären Ionenstärke, ATP- und K⁺-Konzentration ebenfalls die Aktivität von KdpD beeinflussen (unveröffentlichte Information). Möglicherweise ist das Zusammenspiel verschiedener Parameter, die zur Aktivierung oder Deaktivierung von KdpD führen, notwendig, um eine optimale Anpassung der Zellen an K⁺-limitierende Wachstumsbedingungen oder Osmostress zu erreichen.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Karlheinz Altendorf für die wohlwollende Unterstützung sowie allen momentanen und ehemaligen Mitarbeitern für die engagierte Zusammenarbeit.

Literatur

- [1] **Stock, J.B., Surette, M.G. Levit, M. and Park, P. (1995):** Two-component signal transduction systems: structure-function relationships and mechanisms of catalysis. In: Hoch J. A. and Silhavy T.J. (Hrsg.) *Two-Component Signal*

**Kirsten Jung**

(38) 1980-1985 Biochemiestudium in Leipzig. 1988 Promotion bei Prof. Dr. H.-P. Kleber am Institut für Biochemie, Universität Leipzig. 1988-1991 Familienpause. 1992-1994 Postdoktorand im Labor von Prof. Dr. H.R. Kaback, Howard Hughes Medical Institute, University of California, Los Angeles (Stipendiatin des DAAD). 1994-1999 Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Abteilung Mikrobiologie der Universität Osnabrück (Leiter Prof. Dr. K. Altendorf). 1999 Habilitation für das Fach Mikrobiologie. Seit 1999 Heisenbergstipendiatin.