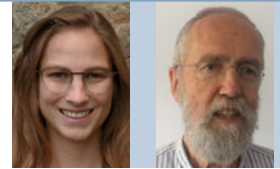


- ▶ Humane Pseudoinseln und Mikrofluidiksystem für die Diabetes-Forschung
- ▶ FeS-Cluster und die Fur-Eisenregulation in Bakterien
- ▶ Sekretion von Passagierproteinen durch modifiziertes Typ VI-Sekretionssystem



Marisa Schübel

Klaus Hantke

DOI: 10.1007/s12268-020-1502-3
© Springer-Verlag GmbH 2020

Humane Pseudoinseln und Mikrofluidiksystem für die Diabetes-Forschung

Der Einsatz humaner Langerhans-Inseln zur Diabetes-Forschung ist von einem entscheidenden Nachteil geprägt: Genetische Modifikationen und damit vielerlei Studien sind selbst *ex vivo* nicht effizient umzusetzen. Aus diesem Grund sind murine Langerhanssche Inseln wesentlich weiter verbreitet – trotz einiger physiologischer Unterschiede.

■ Um genetische Modifikationen und somit Studien z. B. an Ionenkanälen auch mit humanen Inseln durchführen zu können, entwickelten J. T. Walker *et al.* (JCI Insight (2020) 5:e137017) eine Methode zur Generierung von „Pseudo-Inseln“. Hierbei werden isolierte, humane Inselzellen enzymatisch aus dem Zellverband gelöst, damit sie einzeln vorliegen. Durch anschließende Reaggregation entstehen Pseudoinseln. Diese sind mit nativen Inseln sowohl morphologisch als auch funktionell vergleichbar. Die genetische Modifikation der Zellen ist mit gängigen Methoden (z. B. adenoviral, CRISPR) effizienter zu bewerkstel-

ligen, wenn die Zellen einzeln vorliegen. Um diese Methode unter Beweis zu stellen, transduzierten Walker *et al.* Inselzellen mit DREADDs (*designer receptors exclusively activated by designer drugs*) und analysierten so die Rolle von G_i - und G_q -Protein gekoppelten Rezeptoren, die essenziell für die Signaltransduktion in der Hormonsekretion sind. Der sekundäre Botenstoff G_q -Protein gekoppelter Rezeptoren ist Calcium. Intrazelluläres Calcium wird daher oft zusätzlich zur Hormonsekretion gemessen – bisher in einem separaten Experiment. Durch Nutzung eines eigens entwickelten Mikrofluidiksystems und der Kotransduktion des G_q -gekoppelten DREADDs hM3Dq sowie dem Ca^{2+} -Biosensor GcaMP6f konnte sowohl die Hormonsekretion von Insulin und Glucagon als auch simultan durch Konfokalmikroskopie intrazelluläres Calcium gemessen werden. In dieser einzigartigen Studie wurde so erstmals mithilfe humaner Inseln die Rolle von G_q -Protein gekoppelten Rezeptoren untersucht, die bei steigender Glucose-Kon-

zentration einen anhaltend stimulatorischen Effekt auf die Sekretion von Glucagon durch α -Zellen haben. Bei β -Zellen und damit der Sekretion von Insulin zeigte sich ein vorübergehender stimulatorischer Effekt bei geringer Glucose-Konzentration, mit steigender Glucose-Konzentration dann aber eine stabile Inhibition. Diese Effekte spiegelten sich auch im Ca^{2+} -Signal wider.

→ Was bisher nur durch getrennte Experimente, etwa einem ELISA zur Analyse der Hormonsekretion und Ca^{2+} -imaging zur Überwachung intrazellulärer Vorgänge möglich war, ist mithilfe der neu entwickelten Plattform aus humanen Pseudoinseln und einem Mikrofluidiksystem nun auch simultan möglich. Das ist nicht nur effizienter, sondern ermöglicht auch die Erforschung intrazellulärer Prozesse in verschiedenen humanen endokrinen Zelltypen mit dem Ziel neue bzw. bessere Therapeutika zu finden.

Marisa Schübel ■

FeS-Cluster und die Fur-Eisenregulation in Bakterien

Das Fur-Protein ist ein bei Bakterien weit verbreiteter Regulator des Eisenstoffwechsels. Es wurde als Repressor von Eisenaufnahmesystemen entdeckt, wirkt aber auch bei der Regulation von Eisenspeicherung, oxidativem Stress und Virulenz mit. Strukturen des Proteins sind für sieben Bakterienarten beschrieben. Die rekombinant isolierten Proteine enthalten C-terminal an Cysteinen gebundenes Zn^{2+} . Wenn man Fe^{2+} zum Kristallisationsansatz gibt, findet man das Metallion an Histidin- und Carboxylatgruppen gebunden. Mit diesen Proteinen wurden *in vitro* die Bindestellen an der DNA bestimmt.

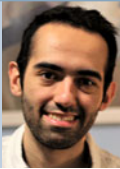
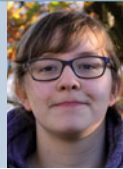
■ Chelsey R. Fontenot *et al.* (J Biol Chem (2020), doi:10.1074/jbc.RA120.01481) untersuchten rekombinant überproduziertes Fur

aus einer *iscA-sufA-Escherichia coli*-Doppelmutante. IscA oder SufA sind notwendig für die Synthese von $[4Fe-4S]$ -Clustern; in der Doppelmutante werden daher nur noch $[2Fe-2S]$ -Cluster synthetisiert, und es reichert sich Eisen in der Zelle an. Deshalb erwarteten Fontenot *et al.*, ein mit Fe^{2+} beladenes natives Fur-Protein zu erhalten. Erstaunlicherweise isolierten sie ein rötlich gefärbtes Fur-Protein, das zu 31 Prozent mit einem $[2Fe-2S]$ -Cluster besetzt war. Ein unter Sauerstoff-Ausschluss isoliertes Fur-Protein hatte einen ähnlichen $[2Fe-2S]$ -Cluster-Gehalt. Sie konnten zeigen, dass die oben erwähnten Cysteine für die Bindung des Clusters essenziell sind und dass entsprechend weniger Zink im FeS-Cluster enthaltenden Fur gebunden ist.

→ Diese Entdeckung wirft Fragen zur Regulation *in vivo* auf. Wie stark ist das Fur-Protein

ohne Überproduktion mit einem FeS-Cluster besetzt, wie sieht ein Dimer mit FeS-Cluster aus, spielt die Bindung von Fe^{2+} an Histidin/Carboxylat-Reste und/oder der Cys-gebundene FeS-Cluster regulatorisch eine Rolle? Es ist erstaunlich, dass mit dem isolierten Protein ohne FeS-Cluster *in vitro* die Fur-Bindestellen an der DNA erfolgreich identifiziert werden konnten. Roland Lill (Highlight in J Biol Chem, *in press*) weist in seinem Kommentar zu der Arbeit darauf hin, dass bei Eukaryoten schon länger bekannt ist, dass einige FeS-Cluster-enthaltende Proteine wesentlich an der Eisenregulation beteiligt sind und dass dies wohl ein allgemeines, evolutionär altes Eisen-Regulationsprinzip ist.

Klaus Hantke ■

Javier Garcia
VaroPetra
Neumann-
StaubitzTheresa
Gewering

Daniela Kruck

Sylvia
SchnellMichael
Steinert

Sekretion von Passagierproteinen durch modifiziertes Typ VI-Sekretionssystem

Das Typ VI-Sekretionssystem (T6SS) ist in Gram-negativen Bakterien der molekulare Injektionsapparat, der Effektoren über einen Stachel (*spike*) direkt in pro- oder eukaryotische Zielzellen transferiert. Dieses modular aufgebaute Konstrukt konnte angepasst werden, um neben Effektoren auch weitere, nicht-toxische Passagierproteine sekretieren zu lassen.

■ Bakterielle Toxine und andere Effektoren werden über den T6SS-Injektionsapparat transloziert. Dieses besteht aus einem an der Cytoplasmamembran verankerten Membrankomplex, einer membrangebundenen Basalplatte und einem im Cytosol lokalisierten, kontraktilen Mantel. Innerhalb des Mantels ist ein Hcp(*haemolysin-coregulated proteine*)-Hexamer zu finden, der als Rohr fungiert. Auf diesem wiederum befindet sich ein fakelähnliches VgrG(*Valine-glycine repeat protein G*)-Trimer, dessen Spitze mit einem konisch geformtem PAAR(*proline-alanine-alanine-arginine repeat*)-Protein dekoriert ist. Diese Komplexe verleihen dem T6SS-Stachel die nötige Form zum Durchdringen von Ziel-Zellen. Die komplette Struktur des Mantels ist für die Sekretion der Effektoren essenziell, denn beim Kontrahieren wird der gesamte Mantelinhalt entweder in den extrazellulären Raum oder in die Zielzelle hinausgepresst. Die VgrG-PAAR-Nadelstruktur assistiert beim Durchstechen der Membran der Zielzelle. VgrG können am C-terminalen Ende durch eine Effektor-Protein-Domäne ergänzt werden, die schlussendlich ins Zelläußere sekretiert werden kann. Sarah Wettstadt *et al.* (PLoS ONE (2020) 15:e0228941) versuchten das Spektrum der durch das T6SS ausgeschleusten VgrG-Protein-Chimäre zu vergrößern, indem sie die C-Termini von VgrG 1a bei *Pseu-*

domonas aeruginosa-Stämmen mit verschiedenen Passagier-Proteinen fusionierten. Dabei wiesen sie nach, dass heterologe Domänen im Zellüberstand sekretiert werden können, allerdings gab es Unterschiede in der Translokations-Effizienz zwischen den fusionierten Domänen. So zeigte beispielsweise eine Domänenfusion mit β -Lactamase (ein Enzym ohne Bezug zum T6SS) im Vergleich zu einem Bakterientoxin Tse2 (ein T6SS-Effektor) starke Schwankungen in der Effizienz. Obwohl die Fusion zu VgrG-Chimären und deren Sekretion erfolgreich etabliert wurde, konnte die Gruppe keine Translokation in eukaryotische Zellen oder anderen Bakterienzellen erhalten.

→ *Diese Studie hebt die flexible und anpassbare Natur des T6SS hervor, da sich hinter dem Injektionsapparat ein hohes Potenzial für Proteintransfer verbirgt. Das einfache Engineering des Sekretionssystems zeigt, dass die Modifikation in erster Linie keine Hürde darstellt. Jedoch muss der letzte Schritt der erfolgreichen Targetierung überwunden werden, was durch ein tieferes Verständnis der molekularen Interaktionen der einzelnen Elemente erreicht werden kann.*

Javier Garcia Varo ■

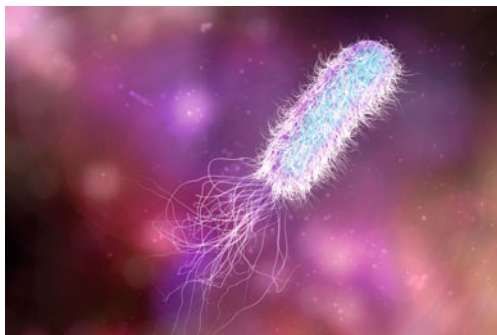


Abb.: 3D-Illustration von *Pseudomonas aeruginosa*. Die Flagellen sind polar angeordnet, und auf der Oberfläche des Bakteriums befinden sich Pili. © Dr_Microbe / Getty Images / iStock.

Kurz gefasst

Virus-Kontaminationen im Zellkulturfemter

■ Rekombinante Proteintherapeutika und Impfstoffe werden in Säugetier-Zellkulturen industriell hergestellt. 20 Unternehmen gaben Paul Barone *et al.* (Nat Biotechnol (2020) 38:563–572) Auskunft über Viruskontaminationen solcher Fermenter. Sie nannten 18 Kontaminationen in 35 Jahren. Die meisten betrafen Fermentationen mit CHO-Zellen, zudem Primaten- und humane Zelllinien. Die Kontaminationen stammten entweder aus den Bestandteilen der Nährmedien (z. B. Serum) oder vom Personal. Erkannt wurden die Kontaminationen über auffällige Kultivierungen oder durch Nachweis (PCR oder *in-vitro*-Tests). Diese Viren können auch Menschen infizieren. Dies, zeigt die Studie, muss bei der Auswahl der geeigneten Zelllinie für die Produktion stärker bedacht werden. Bislang unbekannt Viren (wie SARS-CoV-2) werden von den gängigen Tests nicht immer erkannt. Produktionsbegleitende Tests auf Viren sind nötig, um zu verhindern, dass kontaminiertes Produkt in der Produktionsanlage weiterbearbeitet wird und sich so ausbreitet. Diese Ergebnisse sind wichtig, um lebensrettende Wirkstoffe sicher produzieren zu können. Sollten eines Tages Zelltherapien möglich werden, bekommt die Virussicherheit dieser Wirkstoffe eine völlig neue Bedeutung.

Andreas Seiffert-Störiko

Funktionelle Vielfalt stabilisiert organischen Kohlenstoff

■ Die Kapazität des Bodens, organischen Kohlenstoff langfristig zu speichern, spielt eine entscheidende Rolle für den Klimawandel. Um das Gleichgewicht aus Kohlenstoffbindung und -freisetzung besser vorhersagen zu können, stellen Johannes Lehmann *et al.* (Nat Geosci (2020) 13:529–534) ein neues Konzept vor. Es berücksichtigt insbesondere die funktionelle Komplexität des Bodens. Demzufolge wird die Verweildauer des Kohlenstoffs im Boden durch die gemeinsame räumliche und zeitliche Lokalisierung der Mikroorganismen und Kohlenstoffverbindungen im Boden bestimmt sowie durch die chemische Komplexität der Kohlenstoffverbindungen und die Zusammenarbeit der mikrobiellen Gemeinschaft bei der energieeffizienten Verwertung der Verbindungen. Diese Zusammenhänge sollten in zukünftigen Klimavorhersagemodellen sowie in landwirtschaftlichen Managementempfehlungen berücksichtigt werden.

Stefanie Schulz

- ▶ Blockierte Wirtstranslation durch den Virulenzfaktor Nsp1 von SARS-CoV-2
- ▶ Klassifizierung von Antikörpern zur Behandlung von COVID-19
- ▶ Die Rolle der SUMOylierung in der Entstehung hypoxischer Arrhythmien
- ▶ Helferbakterien kämpfen gegen Pathogene in der Champignonkultur

Blockierte Wirtstranslation durch den Virulenzfaktor Nsp1 von SARS-CoV-2

Viren haben verschiedene Strategien entwickelt, die Translationsmaschinerie ihres Wirtes für die Produktion ihrer eigenen, viralen Proteine zu nutzen, z. B. die Expression der Wirtspoteine zu inhibieren oder deren mRNAs zu spalten. Das *nonstructural protein 1* (Nsp1) von SARS-CoV-2 und anderen Coronaviren inhibiert ebenfalls die Translation von Wirtspoteinen, was ihm auch den Beinamen „host shut-off factor“ eingebracht hat. Diese Eigenschaft macht ihn zu einem gefragten Kandidaten für eine antivirale Therapie.

■ In zwei unabhängigen Publikationen (Thoms M et al., *Science* (2020) 369:1249–1255 und Schubert K et al., *Nat Struct Mol Biol* (2020) 27:959–966) wurde mithilfe von hochauflösender Kryo-EM die Struktur von Nsp1 an 80S Ribosomen aufgeklärt. Der C-terminus von Nsp1 bindet mit dem KH-motif an bestimmte Reste der Helix 18 der rRNA der kleinen ribosomalen Einheit, und verschließt so den Zugang zum mRNA-Eingangstunnel. Diese struktur-basierte Erklärung, warum Nsp1 von SARS-CoV2 die Proteinbiosynthese

des Wirtes hemmt, wurde durch *in vitro*- und *in vivo*-Experimenten mit Luciferasereportern untermauert. Interessanterweise geht die Translation viraler Proteine in der Zelle weiter, obwohl die Transkripte ähnlich denen des Wirtes aufgebaut sind (5'cap und polyA tail). Als Grund dafür vermutet man eine strukturelle Besonderheit in der 5'-UTR der SARS-CoV-mRNAs. Tatsächlich konnten die Autoren zeigen, dass eine Reporter-mRNA mit dieser

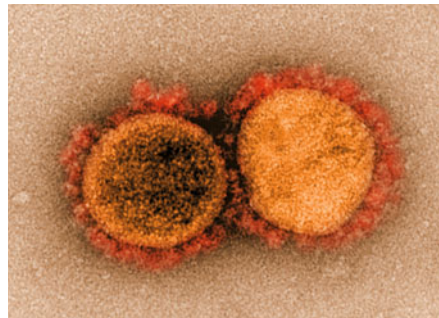


Abb.: Mikroskopische Aufnahme des SARS-CoV-2-Virus. Die Viren (rot) treten an der Oberfläche der Zellen aus. Bild: © NIAID-RML / ZUMAPRESS.com / picture alliance.

speziellen 5'-UTR *in vitro* wesentlich effizienter translatiert wird als normale 5'-UTR-enhaltende mRNA. In Titrationsexperimenten mit Nsp1 wurde allerdings die Translation von normaler und viraler 5'-UTR enthaltender mRNA inhibiert. Es scheint also die Kombination aus (kontrollierter) Ribosomeninhibition und bevorzugter Translation viraler Transkripte zu sein, die Nsp1 zu einem wichtigen Virulenzfaktor für alpha- und beta-Coronaviren macht. Die Blockade der Proteinbiosynthese von Wirtspoteinen führt auch dazu, dass keine Interferone oder proinflammatorische Cytokine mehr produziert werden können, insbesondere das IFN-Signaling ist dadurch gestört. Damit können die Viren der Immunantwort bis zu einem bestimmten Grad entkommen.

→ Die Erkenntnisse aus der Nsp1-Ribosomenstruktur können nun als Grundlage für die Entwicklung von Medikamenten dienen. Dies scheint im Hinblick auf das epidemiologische (SARS, MERS) und pandemische Potenzial (COVID-19) von Coronaviren eine wichtige Option zu sein.

Petra Neumann-Staubitz ■

Klassifizierung von Antikörpern zur Behandlung von COVID-19

Die weltweite Pandemie durch SARS-CoV-2 betrifft momentan 189 Länder. Insgesamt gibt es über 40 Mio. bestätigter Fälle, von denen bisher über 1 Mio. tödlich verlaufen sind. Seit Entdeckung des Virus arbeiten Wissenschaftler an Behandlungsmethoden wie einer Antikörpertherapie, um die Infektion zu bekämpfen. In dieser Studie präsentieren C. O. Barnes et al. eine Klassifizierungsgrundlage verschiedener Antikörper aufgrund ihrer biophysikalischen Eigenschaften (Barnes CO et al., *Nature* (2020), <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2852-1>).

■ Ausschlaggebend für die Infektion mit SARS-CoV-2 ist die Bindung des Spike-Proteins an der Oberfläche des Virus mit dem ACE2 (*angiotensin-converting enzyme 2*) der Wirtszelle. Das virale Protein ist ein Trimer mit insgesamt drei S1-Untereinheiten, die je eine Rezeptorbindedomäne (RBD) beinhalten. Diese Domänen sind sehr flexibel und können

entweder in einer *up*- oder einer *down*-Konformation vorliegen. Erstere ist für die Bindung des Virus an der Wirtszelle erforderlich.

Zur Erforschung eines möglichen Therapieansatzes wurden in dieser Studie die neutralisierenden Antikörper von geheilten COVID-19-Patienten analysiert. Häufig interagiert diese Art von Antikörper mit den RBDen und verhindert so beispielsweise die Interaktion zwischen Virus und Wirtszelle. Die biophysikalische Analyse dieser Antikörper in Komplex mit dem viralen Protein zeigte, dass die Interaktionen sehr unterschiedlich sind und nicht immer eine direkte Blockade der ACE2-Bindestelle beinhalten. Als zentraler Punkt dieser Arbeit wurden die Antikörper aufgrund der Analyseergebnisse insgesamt in vier Klassen eingeteilt. Unterschieden werden diese Klassen z. B. in Hinblick darauf, ob sie die *up*- oder die *down*-Konformation der RBDen binden können. Ein Teil der Antikörper hat die Eigenschaft, mit benachbarten RBDen zu interagie-

ren, weshalb eine isolierte Betrachtung eines Spike-Monomers mit einem Antikörper nicht zwangsläufig Aufschluss über den vorliegenden Wirkmechanismus gibt. Aus therapeutischer Sicht ist die Klassifizierung der Antikörper interessant, weil unterschiedliche Bindungsstellen und -winkel eine Mischung verschiedener Antikörper als Therapieansatz ermöglicht. Wird mehr als ein Antikörper verwendet, erhöht dies die Toleranz gegenüber eventueller Punktmutationen im Spike-Protein.

→ Durch das Pandemie-bedingte Interesse an Therapiemöglichkeiten gegen SARS-CoV-2 werden immer mehr Strukturen und Analysen von Antikörpern als Therapiekandidaten bekannt. Die hier entwickelte Unterteilung bietet eine Möglichkeit, diese Kandidaten zu ordnen und ihre eventuelle Wirksamkeit in Kombination mit anderen Antikörpern als Therapiemöglichkeit für SARS-CoV-2 zu untersuchen.

Theresa Gewering ■

Die Rolle der SUMOylierung in der Entstehung hypoxischer Arrhythmien

Im menschlichen Herzen tragen spannungsgesteuerte Na_v 1.5 Natrium-Kanäle zur Generierung und Steuerung des Aktionspotenzials bei. Gleichzeitig bewirken sie den Erhalt der Plateauphase der Herzellen nach ihrer Erregung durch Leitung eines späten Natriumeinstroms (I_{LATE}). Während I_{LATE} in gesunden Herzen nur ca. 0,5 Prozent des Höchstwerts des Natriumeinstroms ausmacht, ist dieser Wert bspw. unter akuter Hypoxie stark erhöht. Zudem werden Arrhythmien des Herzens durch eine Erhöhung von I_{LATE} gefördert.

■ Es ist bekannt, dass die SUMOylierung von Na_v 1.2 im menschlichen Gehirn zur Entstehung von Gewebeschäden während einer akuten Hypoxie beiträgt. Daher untersuchten L. D. Plant *et al.* (Cell Rep (2020) 30:2225–2236), ob Na_v 1.5 im Herzen unter Hypoxie durch einen ähnlichen Mechanismus beeinflusst wird. Menschliche Kardiomyozyten aus induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-CMs) und *Chinese hamster ovary* (CHO)-Zellen

wurden hierbei als Modelle verwendet. In iPS-CMs wurde mittels Voltage-Clamp unter hypoxischen Bedingungen mit 1,5 Prozent O_2 nach 100 sec eine starke Erhöhung von I_{LATE} gemessen. Diese Erhöhung bleibt nach Reperfusion mit 21 Prozent O_2 für 3 min stabil und kehrt dann zum Basalwert zurück. In Anwesenheit des Peptids SUMO1 zeigt sich dieselbe Veränderung in I_{LATE} wie unter hypoxischen Bedingungen. Eine zusätzliche Nutzung von hypoxischem Medium bewirkt keinen weiteren Einfluss auf I_{LATE} . Wird die DeSUMOylase SENP1 hinzugefügt, unterdrückt sie die Erhöhung von I_{LATE} , was wiederum die Bedeutung der SUMOylierung von Na_v 1.5 bestätigt. Anhand von CHO-Zellen wurden die strukturellen Eigenschaften der Na_v 1.5-Kanäle untersucht. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen bestätigen hierbei, dass nur die Aminosäure Lysin an Stelle 442 (K442) für die Interaktion mit SUMO1 benötigt wird. Eine Substitution von K442 durch Glutamin (K422Q) bewirkt, dass sich I_{LATE} weder unter hypoxischen Bedingungen noch in Präsenz von SUMO1 verän-

dert. Zudem wird die Öffnungsrate der Na_v 1.5-Kanäle mit der K442Q Mutante unter Hypoxie nicht erhöht. Die Bedeutung von K442 als einzige Bindungsstelle von SUMO1 erklärt zudem die beobachtete 1:1 Stöchiometrie zwischen SUMO1 und Na_v 1.5-Untereinheiten. Wie unter akuter Hypoxie verlängert sich auch die Dauer des Aktionspotenzials in Anwesenheit von SUMO1. Eine Hinzugabe des Na_v 1.5-Blockers Ranolazin stellt auch in Anwesenheit von SUMO1 den Basalwert wieder her.

→ Plant *et al.* konnten beweisen, dass die SUMOylierung von Na_v 1.5-Kanälen unter Hypoxie maßgeblich an der Erhöhung von I_{LATE} und dadurch entstehenden Arrhythmien beteiligt ist. Dieser Vorgang lässt sich durch SUMO-Antagonisten sowie spezifische Kanalblocker umkehren. Zukünftig können weitere Untersuchungen des SUMO-Signalwegs im Zusammenhang mit I_{LATE} unter Hypoxie für eine bessere Behandlung hypoxischer Schäden in Herzgewebe genutzt werden.

Daniela Kruck ■

Helferbakterien kämpfen gegen Pathogene in der Champignonkultur

Die zwei Bakterienarten *Mycetocola tolaasinivorans* und *M. lacteus* isolierten Takanori Tsukamoto *et al.* bereits 1998 (Mycoscience (1998) 39:273–278) von Austernseitlingen, welche die Braunfleckenkrankheit aufwiesen. Die Autoren beschrieben eine Unterdrückung der Krankheit in Anwesenheit von *M. tolaasinivorans* und *M. lacteus*, ohne jedoch den Wirkmechanismus aufzuklären. Jetzt beleuchteten Ron Hermenau *et al.* (Proc Natl Acad Sci (2020) 117:23802–23806) die Aktivität der beiden Helferbakterien erneut, diesmal jedoch im Zusammenspiel mit dem pathogenen Bakterium *Pseudomonas tolaasii* und dem Kulturchampignon und identifizierten zwei wichtige Wirkmechanismen.

■ Ein Virulenzfaktor von *P. tolaasii* besteht in der Synthese verschiedener Zyklolipopeptiden, zu denen auch das Tolaasin gehört. Dieses Toxin bilden Poren in der Cytoplasmamembran von Champignons, wodurch diese

Zellen absterben. *P. tolaasii* ist in der Lage, sich sehr schnell schwärmend zu bewegen und kann dadurch in der Pilzzucht, in feuchter Umgebung, großen Schaden verursachen. Mittels verschiedener chemischer und bioinformatischer Methoden (Analyse des Metabolitenprofils, Massenspektroskopie, Strukturaufklärung und verschiedenen Bioassays) gelang es Hermenau *et al.* nun, die antagonistische Wirkung von *M. tolaasinivorans* und *M. lacteus* aufzuklären. Beide Helferbakterien können das zy-



Abb.: Mischkultur aus dem Pilzpathogen *Pseudomonas tolaasii* und dem Helferbakterium *Mycetocola tolaasinivorans*. Bild: © Leibniz-HKI.

klische Tolaasin aufspalten, wodurch ein lineares Lipopeptid entsteht. Zusätzlich vermögen die Helferbakterien den Schwarmfaktor Pseudodesmin von *P. tolaasii* zu spalten und somit die schnelle Ausbreitung zu verhindern, obwohl die Beweglichkeit nicht komplett verhindert wird.

→ Die Helferbakterien nehmen dem Krankheitserreger zwei Angriffswaffen ab und verhindern so seine massive Infektion, ohne ihn komplett zurückzudrängen. Das Gleichgewicht zwischen den mikrobiellen Partnern bleibt bestehen. Die Arbeit zeigt, dass ein Verständnis der molekularen Interaktion zwischen Mikroorganismen nicht nur von akademischem Interesse ist, sondern auch praktische Anwendungen aufzeigen kann, etwa indem eine Behandlung von Schaderregern in der Lebensmittelproduktion nicht nur mit Antibiotika möglich ist, sondern auch, indem die bakterielle Interaktion von antagonistischen Bakterien mit dem Pathogen stimuliert wird.

Sylvia Schnell ■

► Horizontale Übertragung macht intrazelluläre Bakterien infektiöser

Horizontale Übertragung macht intrazelluläre Bakterien infektiöser

Parachlamydien leben intrazellulär in Amöben und können durch zwei verschiedene Wege auf ihre Wirte übertragen werden. Bei der vertikalen Übertragung gelangen die intrazellulären Bakterien durch Zellteilung der Amöben in die entstehenden Tochterzellen. Bei der horizontalen Übertragung infizieren freigesetzte extrazelluläre Bakterien bislang uninfizierte Amöben. Ein Forschungsteam um Matthias Horn konnte durch ein Evolutionsexperiment zeigen, wie die unterschiedlichen Übertragungswege zu Veränderungen im Genom und der Genexpression der Bakterien führen (Herrera P *et al.*, *Proc Natl Acad Sci* (2020) 117:21658–21666).

■ *Parachlamydien* durchlaufen einen biphasischen Entwicklungszyklus. Die infektiösen Elementarkörper werden von Acanthamoeben durch Endocytose aufgenommen und entwickeln sich zu metabolisch aktiven Retikularkörpern, die mehrere Teilungen durchlaufen. Nach der Vermehrungsphase differenzieren sich die *Parachlamydien* wieder in die meta-

bolisch inaktiven, infektiösen Elementarkörper und werden durch Exocytose oder die Lyse der Amöbenzelle freigesetzt. Alternativ können die Erreger auch vertikal an die Tochterzellen der Amöbe weitergegeben werden. Hierbei verbleiben die Bakterien intrazellulär in ihrem Wirt. Um den Einfluss der Übertragung auf die Infektiosität zu untersuchen, wurden die Bakterien unter Bedingungen vermehrt, die entweder nur den vertikalen oder nur den horizontalen Weg zulassen. Offensichtlich verändert sich die Infektiosität der vertikal weitergegebenen Bakterien nach 14 Monaten nicht. Im Gegensatz hierzu, zeigen die horizontal übertragenden *Parachlamydien* eine gesteigerte Infektiosität. Diese äußerte sich in einer höheren Aufnahme rate der Elementarkörper, einer verstärkten Bildung und Vermehrung von Retikularkörpern, einer gesteigerten Freisetzung der Elementarkörper und einer besseren Anpassung der Bakterien an extrazelluläre Phasen. Um diese Veränderungen der Bakterien auf molekulare Ebene zu verstehen, verglichen die Autoren die Genome der Bakterien zu Beginn des Evolutionsprozesses

und nach 500 Bakterien-Generationen. Da die identifizierten genetischen Variationen nicht ausreichten, um die Unterschiede in der Infektiosität zu erklären, analysierten sie zusätzlich die Genexpression während der Infektion. Die starken Veränderungen in der Expression von Überlebens- und Virulenzgenen zeigen, dass Selektionsdruck auf der Ebene der Übertragungswege zu einer neuen Positionierung der Bakterien im Parasitismus-Mutualismus-Kontinuum führen kann.

→ *Die Arbeit legt nahe, dass die Wirtszelldichte einen wichtigen Einflussfaktor darstellt. Hohe Wirtszelldichten favorisieren den horizontalen Übertragungsweg und eine erhöhte Infektiosität der Erreger. Durch den Überfluss an Wirtsorganismen kann der Erreger seine erhöhte Virulenz nutzen, ohne sich seiner Existenzgrundlage zu berauben. Bei einer niedrigen Wirtszelldichte dominiert hingegen die vertikale Übertragung. Hierbei schont die niedrigere Virulenz die limitierte Wirtszellpopulation und sichert so die Überlebensgrundlage der Bakterien.*

Michael Steinert ■

Prof. Dr. Klaus Hantke, Fakultät für Biologie, Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen, hantke@uni-tuebingen.de
 Dr. Petra Neumann-Staubitz, Universität Göttingen, Institut für Mikrobiologie und Genetik, Grisebachstraße 8, D-37077 Göttingen, lpneuman3@gwdg.de
 Theresa Gewering, Max Planck Institut für Biophysik, Max-von-Laue-Straße 3, D-60438 Frankfurt a. M., thgeweri@biophys.mpg.de
 Prof. Dr. Sylvia Schnell, Institut für Angewandte Mikrobiologie, Universität Gießen, IFZ, Heinrich-Buff-Ring 26–32, D-35392 Gießen, sylvia.schnell@umwelt.uni-giessen.de
 Prof. Dr. Michael Steinert, Institut für Mikrobiologie, TU Braunschweig, Spielmannstraße 7, D-38106 Braunschweig, m.steinert@tu-bs.de

■ Autoren aus der jGBM 

Marisa Schuebel, LMU München, Fakultät für Biologie, Großhaderner Straße 2, D-82152 Planegg-Martinsried, marisa.schuebel@campus.lmu.de
 Javier Garcia Varo, Karlsruhe Institut für Technologie (KIT), Postfach 6980, D-76049 Karlsruhe javier.varo@student.kit.edu
 Daniela Kruck, Universität Duisburg-Essen, Fakultät Chemie, Universitätsstraße 5, D-45141 Essen, danikruck@googlemail.com