

***Magnetospirillum* - Mikrobe des Jahres 2019**

Mit modernen Methoden zu magnetischen Mikroben

R. Amann¹, D. Schüler²

1 Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie Bremen,

2 Lehrstuhl für Mikrobiologie, Universität Bayreuth

Magnets, methods, and microbes have contributed to the study of magnetotactic bacteria over the past decades. On the way from an unlikely discovery to making *Magnetospirillum* the “Microbe of 2019” there has been a fruitful interaction of classical methods with emerging molecular techniques. This has turned the view of magnetotactic bacteria from microbial curiosities towards established models for prokaryotic cell biology and biomineralization.

Mikroorganismen, die auf Magnetfelder reagieren? In den sechziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts stieß der italienische Forscher Salvatore Bellini mit seinem Bericht über „magnetosensitive“ Mikroorganismen noch auf Unglauben [1]. Es dauerte ein weiteres Jahrzehnt, bis dem amerikanischen Doktoranden Richard Blakemore im berühmten mikrobiologischen Sommerkurs in Woods Hole beim Mikroskopieren von Schlammproben erneut Bakterien auffielen, deren Schwimmbewegung der Richtung eines Stabmagneten folgten. Was Bellini noch verborgen geblieben war, erkannte Blakemore mit Hilfe des Elektronenmikroskops: In allen Bakterien sah er Ketten magnetischer Kristalle. Diese richten die schwimmenden Zellen ähnlich wie eine Kompassnadel parallel zu den magnetischen Feldlinien aus. Blakemore bezeichnete die magnetischen Partikel als „Magnetosomen“ und die am Magnetfeld ausgerichtete Schwimmbewegung der Zellen als „Magnetotaxis“ [2]. Wie wir heute wissen, sind Magnetosomen komplex aufgebaute prokaryotische Organellen, die aus membranumgebenen Nanokristallen eines magnetischen Eisenminerals – entweder Magnetit (Fe_3O_4) oder Greigit (Fe_3S_4) – bestehen und entlang eines eigenen Zytoskeletts in der Zelle zu Ketten aufgereiht werden (siehe Beitrag Uebe/Schüler). Wahrscheinlich dienen diese Magnetosomenketten als Sensor für die Orientierung der Bakterien im nach unten geneigten Erdmagnetfeld und erleichtern den Sediment-bewohnenden Mikroben damit das effiziente Auffinden ihrer bevorzugten Position mittels Chemotaxis entlang der ebenfalls

vertikal verlaufenden Redox-Gradienten. Allerdings werden auch zusätzliche Funktionen diskutiert, etwa als interne „elektrochemische Batterie“ zur Energiegewinnung oder bei der zellulären Eisen-Homöostase.

Einfache Anreicherung, schwierige Isolierung

Wer magnetische Bakterien aus Schlammproben mikroskopiert, wird den Aha-Effekt nicht vergessen: Selbst eine simple Anreicherung mit einem einfachen Stabmagneten liefert häufig einen ganzen Zoo verschiedener magnetischer Morphotypen: Es gibt kleine und große Kokken, Spirillen und Stäbchen, selbst größere mehrzellige Aggregate lassen sich aus marinen Sedimenten anreichern (Abb. 1, 2).

Trotz dieser einzigartigen Anreicherungsmöglichkeit erwies es sich zunächst als schwierig, Reinkulturen zu gewinnen, und die wenigen Isolate ließen sich nur äußerst mühsam kultivieren. Die magnetischen Bakterien blieben daher für ein weiteres Jahrzehnt nach Blakemore's (Wieder-)Entdeckung mikrobiologische Kuriositäten, die sich einer vertieften Untersuchung im Labor entzogen.

Molekulare Methoden enthüllen die genetische Vielfalt

An dieser faszinierenden Thematik forschte kurz vor der deutschen Wiedervereinigung bereits das Labor von Manfred Köhler an der Universität Greifswald. Einem seiner Diplomanden – Dirk Schüler – gelang die Isolierung eines neuen magnetischen Bakteriums, das sich deutlich besser züchten und vor allem genetisch manipulieren ließ. Die Mauer fiel – und das Bakterium wurde an der TU München gemeinsam mit der Arbeitsgruppe von Karl-Heinz Schleifer als *Magnetospirillum „gryphiswaldense“* (latinisiert für „Greifswald“) beschrieben [3]. Schüler blieb in München und begann in der Arbeitsgruppe von Edmund Bäuerlein am MPI für Biochemie eine Doktorarbeit über die Biomineralisation der Magnetosomen. Und aus *Magnetospirillum* wurde Schritt für Schritt das wichtigste Modell für die Aufklärung der Magnetosomenbiosynthese – und schließlich die Mikrobe des Jahres 2019.

Parallel dazu begann Stefan Spring als Doktorand am Schleifer-Lehrstuhl in der Nachwuchsgruppe von Rudolf Amann, die Phylogenie und Ökologie der vielen noch nicht kultivierten magnetotaktischen Bakterien zu untersuchen. Dies war zu Beginn der neunziger Jahre durch den Vergleich von kultivierungsunabhängig gewonnenen 16S rRNA-Sequenzen und die Einzelzellidentifizierung mit Oligonukleotidsonden möglich geworden, und die Anreicherungen der Magnetbakterien waren dafür perfekte Untersuchungsobjekte. Die magnetischen Kokken und Spirillen erwiesen sich als verschiedene Arten von

Alphaproteobakterien. Das besondere Interesse erregte jedoch vor allem ein auffälliges, bis zu zehn Mikrometer langes Bakterium, dessen mehr als tausend Magnetosomenkristalle in mehreren Ketten angeordnet sind und das in sauerstoffarmen Sedimentschichten des oberbayerischen Chiemsees ungefähr 30% des gesamten Biovolumens ausmacht. Allerdings ließ sich dieser Mikroorganismus über zwei lange Jahre keiner der aus den magnetischen Anreicherungen gewonnenen 16S rRNA-Sequenzen zuordnen. Schließlich sind auch molekularbiologische Methoden selektiv und reichern Gene an oder ab, gerade wenn eine PCR involviert ist. Erst nach Sortierung einzelner Zellen im Durchflusszytometer gelang seine phylogenetische Identifizierung: Das Riesenstäbchen *Candidatus Magnetobacterium bavaricum* war als Vertreter des Nitrospirae-Phylums das erste magnetotaktische Bakterium außerhalb der Proteobacteria [4]. (Abb. 2)

Die Möglichkeit ihrer gezielten Anreicherung machten magnetotaktische Bakterien auch bald zu lohnenden Untersuchungsobjekten der Meta- und Einzelzellgenomik. So gelang es Christian Jogler als Postdoc am MPI für Marine Mikrobiologie in Bremen und an der LMU München durch ein ausgeklügeltes Screening von Fosmidbanken erstmals, ganze Gencluster für die Magnetosomen-Biosynthese in unkultivierten Magnetbakterien zu identifizieren [5, 6]. Nach manueller Sortierung unter dem Mikroskop analysierte Sebastian Kolinko als Doktorand wenig später nahezu komplette Genomsequenzen einzelner Magnetbakterien [7, 8]. Wie diese und weitere metagenomische Studien zeigten, ist die Fähigkeit zur Magnetosomenbildung weit verbreitet und findet sich auch unter Vertretern der Delta-, Gamma-, Lambda-, Eta- und Zetaproteobacteria, Latescibacteria, Omnitrophica und sogar Planctomycetes [9]. Die Entdeckung dieser zuvor ungeahnten Vielfalt beflügelte in den letzten Jahren wiederum die erfolgreiche Isolierung weiterer Vertreter, darunter ein Sulfat-reduzierendes Magnetbakterium, das sowohl Magnetit- als auch Greigit-Magnetosomen innerhalb einer Zelle mineralisieren kann [10]. Die vergleichende Sequenzanalyse aller bekannten Magnetosomen-Gencluster ergab neben einer Reihe von Übereinstimmungen auch Hinweise auf im Detail abweichende Biosynthesewege, die anscheinend zu der bekannten Vielfalt von Magnetosomenformen führen. Die heterologe Expression dieser Gene aus unkultivierbaren Magnetbakterien in genetisch zugänglich Wirten erscheint vielversprechend für ein molekulares Verständnis dieser Diversität.

Ökologisch bedeutsam – mit Anwendungspotenzial

Verschiedene Methoden der Mikrobiologie – Anreicherung, Mikroskopie, Kultivierung, vergleichende 16S-Genanalyse und (Meta)genomik – zeigten also, dass magnetotaktische

Bakterien keine seltenen Kuriositäten sind, sondern in großer Zahl und Vielfalt im Bodensediment der meisten Tümpel, Seen, Flüsse und im Meer vorkommen. Hier leben sie als typische Gradientenorganismen in großer Zahl in einer schmalen Schicht an der oxisch-anoxischen Übergangszone. Sie sind durch ihre Fähigkeit zur Akkumulation von größeren Eisenmengen vermutlich wichtige Teilnehmer an biogeochemischen Stoffkreisläufen. Magnetotaktische Bakterien sind jedoch nicht nur für Mikrobiologen interessant. Die nach dem Absterben der Bakterien freigesetzten Magnetosomenkristalle können als Magnetofossilien in natürlichen Sedimenten erhalten bleiben und Auskunft über frühere Veränderungen des Erdmagnetfelds geben. Isolierte Magnetosomenpartikel aus *M. gryphiswaldense* werden in biotechnologischen Anwendungen untersucht, und lebende magnetische Bakterien wurden bereits als Mikroroboter getestet. Schließlich hat der bereits erfolgreiche Transfer der Magnetosomen-Gencluster in nicht-magnetotaktische Bakterien Anstrengungen beflügelt, auch fremde Organismen genetisch zu „magnetisieren“.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei allen Mitarbeitern und Kollegen, die zu ihren Arbeiten beigetragen haben. Sie widmen diesen Artikel Karl-Heinz Schleifer zu seinem 80., Edmund Bäuerlein zu seinem 87., und Manfred Köhler zu seinem kürzlich begangenen 90. Geburtstag, verbunden mit einer herzlichen Danksagung für ihre Unterstützung der frühen Forschung an diesen faszinierenden Mikroorganismen.

Referenzen

1. Bellini S (1963) Ulteriori studi sui "Batteri Magnetosensibili." Institute of Microbiology, University of Pavia.
2. Blakemore R (1975) Magnetotactic bacteria. *Science* 190:377–379.
3. 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.
4. Spring S, Amann R, Ludwig W, et al (1993) Dominating role of an unusual magnetotactic bacterium in the microaerobic zone of a freshwater sediment. *Appl Env Microbiol* 59:2397–2403.
5. Jogler C, Wanner G, Kolinko S, et al (2011) Conservation of proteobacterial magnetosome genes and structures in an uncultivated member of the deep-branching Nitrospirae phylum. *PNAS* 108:1134–1139.
6. Jogler C, Kube M, Schübbe S, et al (2009) Comparative analysis of magnetosome gene clusters in magnetotactic bacteria provides further evidence for horizontal gene transfer. *Environ Microbiol* 11:1267–1277.
7. Kolinko S, Wanner G, Katzmann E, et al (2013) Clone libraries and single cell genome

- amplification reveal extended diversity of uncultivated magnetotactic bacteria from marine and freshwater environments. *Environ Microbiol* 15:1290–1301.
8. Kolinko S, Richter M, Glöckner FO, et al (2016) Single-cell genomics of uncultivated deep-branching magnetotactic bacteria reveals a conserved set of magnetosome genes. *Environ Microbiol* 18:21–37.
 9. Lin W, Zhang W, Zhao X, et al (2018) Genomic expansion of magnetotactic bacteria reveals an early common origin of magnetotaxis with lineage-specific evolution. *The ISME Journal* 1–12.
 10. Lefevre CT, Menguy N, Abreu F, et al (2011) A Cultured Greigite-Producing Magnetotactic Bacterium in a Novel Group of Sulfate-Reducing Bacteria. *Science* 334:1720–1723.
 11. Wenter R, Wanner G, Schüler D, Overmann J (2009) Ultrastructure, tactic behaviour and potential for sulfate reduction of a novel multicellular magnetotactic prokaryote from North Sea sediments. *Environ Microbiol* 11:1493–1505.

Abb. 1 Amann & Schüler

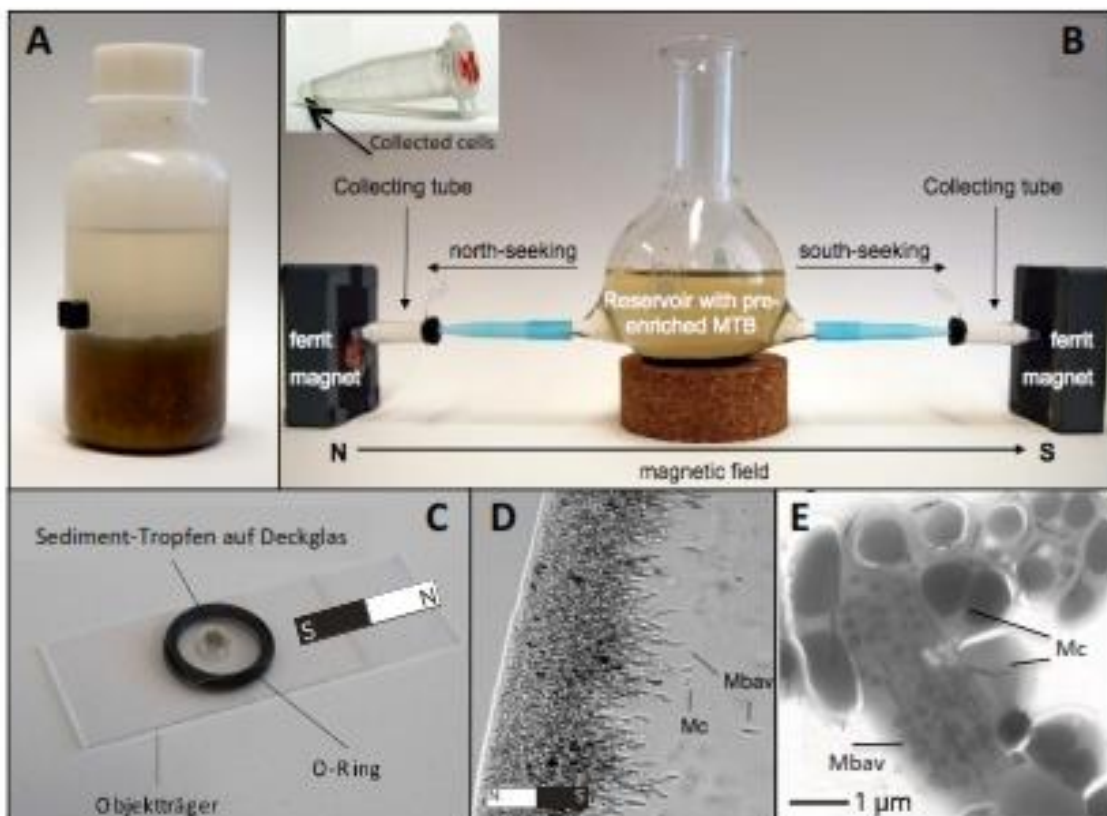


Abb. 1 Anreicherung magnetischer Bakterien aus Schlammproben, mit einem einfachen Magneten (A), einer „Magnetfalle“ (modifiziert nach [6]), in der größere Mengen von Sedimentproben „beerntet“ werden können (B), und im hängenden Tropfen für die

Mikroskopie (C). Alle drei Methoden nutzen die Möglichkeit, die aktive Schwimmbewegung der Bakterien mit Magnetfeldern zu dirigieren, sodass sich die Zellen selbst über Entfernungen von vielen Zentimetern ganz gezielt nahe des Magnetpols (A), am Tropfenrand (B) oder sogar gänzlich frei von anderen Mikroorganismen in einem Probengefäß (C) sammeln, beobachten und analysieren lassen.

D: Licht- und E: elektronenmikroskopische Aufnahme magnetisch angereicherter Bakterien am Rande eines hängenden Tropfens. Tausende verschiedene Magnetbakterien aus einer Schlammprobe schwimmen aktiv in Richtung magnetischer Norden und sammeln sich in einer dichten Schicht am Tropfenrand. Auffällige Morphotypen sind hervorgehoben (Mc: magnetischer Coccus, Mbav: „*Cand. Magnetobacterium bavaricum*“ (Aufnahmen B+D: C. Jogler; E: G. Wanner, LMU München).

Abb. 2 Amann & Schüler

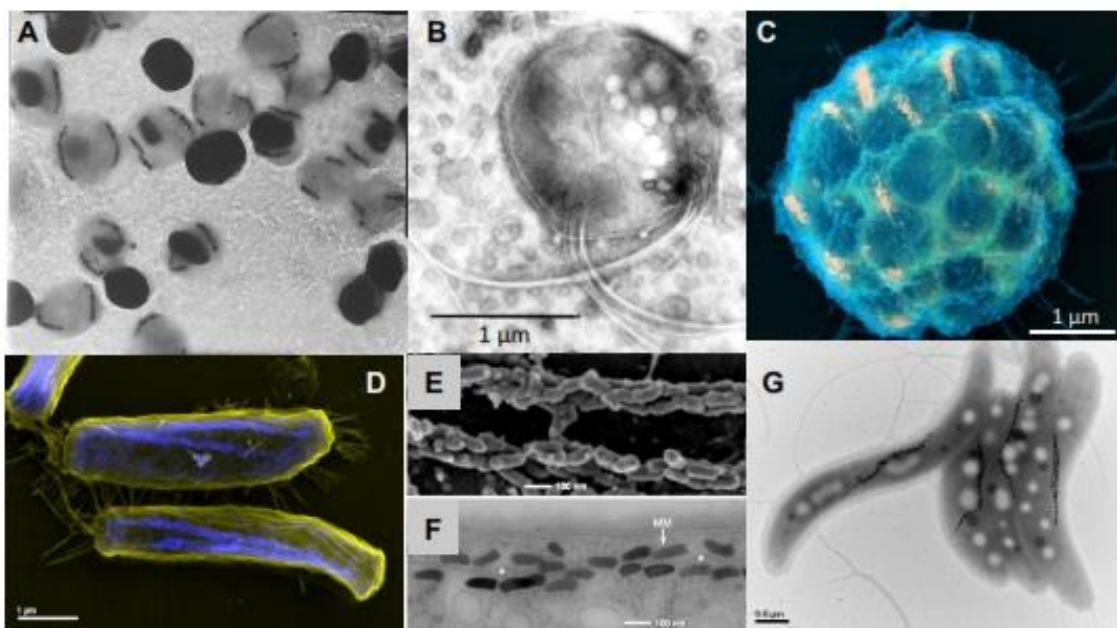


Abb. 2 Magnetisch angereicherte Morphotypen aus Sedimentproben: A, B: Magnetische Coccen (Alphaproteobakterien) aus dem Chiemsee, C: Mehrzelliges magnetotaktisches Aggregat (Deltaproteobakterien) aus dem Wattenmeer nahe Cuxhaven, von Roland Wenter et al. als *Cand. Magnetomorum litorale* beschrieben [11]. Zellen (D) und Magnetosomenketten (E, F) von *Cand. M. bavaricum* (Nitrospirae) aus dem Chiemsee. (C, D: Rückstreu-Rasterelektronenmikroskopie sowie E, F: Raster- und TEM durch Gerhard Wanner, LMU München). G: Zellen aus einer Kultur von *Magnetospirillum gryphiswaldense* (Alphaproteobakterien).

Kurzlebensläufe

Rudolf Amann



1980-1986 Studium der Biologie und Chemie an der TU München. Dort 1988 Promotion in Mikrobiologie, danach Postdoc an der University of Illinois. Ab 1990 Akademischer Rat an der TU München; 1995 Habilitation. Ab 1997 am Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie, seit 2001 als Abteilungsdirektor und Professor an der Universität Bremen.

Dirk Schüler



1990 Biologie-Diplom in Greifswald, 1994 Promotion in München, Postdoc-Aufenthalte in Iowa und Kalifornien, ab 1999 Nachwuchsgruppenleiter am MPI f. Marine Mikrobiologie in Bremen. 2006 Professor LMU München, seit 2014 Lehrstuhlinhaber für Mikrobiologie an der Universität Bayreuth.

Korrespondenzadresse:

Dirk Schüler

Lehrstuhl f. Mikrobiologie, Universität Bayreuth
Universitätsstraße 30
95447 Bayreuth
Tel: +49 (0)921/55-2729
dirk.schueler@uni-bayreuth.de
<http://www.mikrobiologie.uni-bayreuth.de>