

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

Nanokristalle für die Magnetfeldorientierung: Die Biogenese von Magnetosomen in Bakterien

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 (Fe₃O₄) which are biomineralized within specific membrane vesicles and become aligned into chains by a dedicated cytoskeleton. The article also highlights the potential for functionalization and application of these bacterial magnetic nanoparticles.

Mit Hilfe 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 im Schlamm vieler Gewässer weltweit 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 nm großen Nanokristallen des magnetischen Eisenoxids Magnetit (Fe₃O₄) 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.

Magnetosomenbildung: Genetisch komplex, von einem 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 „Nanoreaktor“ für die kontrollierte Biomineralisation von strukturell perfekten, monokristallinen 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 5% 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 15-30 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 mit Hilfe 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 Chemotaxis-Genen auf. Neben vier Chemotaxis-Operons 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 O₂-Gradienten, wie sie im natürlichen Lebensraum in aquatischen Sedimenten vorherrschen, sammeln sich die sehr beweglichen Bakterien mit Hilfe ihrer ausgeprägten Aerotaxis gezielt bei ihrer bevorzugten niedrigen Konzentration an. Dabei kehren sie ihre bevorzugte Schwimmrichtung (entweder in Richtung des magnetischen Nord- oder des Südpols) abrupt um, wenn sie in Zonen höherer O₂-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 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 Expressionkassetten 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 Oberfläche 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 Nano-Strukturen zum Aufbau von geordneten Mikro- und Mesostrukturen. Aus biotechnologischer Sicht erscheint es besonders reizvoll, dass alle Eigenschaften - Form, Größe, Magnetisierung sowie zusätzliche Funktionen - genetisch kodierbar sind. Mit Hilfe von Methoden der synthetischen Biologie können so magnetische Nanopartikel mit maßgeschneiderten Eigenschaften und ganz neuen Funktionalitäten hergestellt werden. Isolierte Magnetosomen übertreffen kommerziell verfügbare

Kontrastmittel in magnetischen bildgebenden Verfahren in ihrer Wirksamkeit deutlich [11]. Tierversuche deuten darauf hin, dass magnetische Hyperthermie-Anwendungen 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 „Magneto-Genetik“ attraktiv sein, z. B. für die gezielte Stimulierung von thermosensitiven Ionenkanälen. Es wird daher gegenwärtig versucht, Zellen fremder, vielleicht sogar höherer Organismen durch Verwendung genetischer Bausteine aus Magnetbakterien künstlich zu „magnetisieren“. Bereits gelungen ist die erfolgreiche genetische „Transplantation“ des kompletten Biosynthesewegs 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:e1006101–23.
4. Uebe R, Keren-Khadmy N, Zeytuni N, et al (2018) The dual role of MamB in magnetosome membrane assembly and magnetite biomineralization. *Molecular Microbiology* 107:542–557.
5. Li Y, Raschdorf O, Silva KT, Schüler D (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, Schüler D (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 Biology* 1–24.
8. Popp F, Armitage JP, Schüler D (2014) Polarity of bacterial magnetotaxis is controlled by aerotaxis through a common sensory pathway. *Nature Communications* 5:5398.
9. Nordmann GC, Hochstoeger T, Keays DA (2017) Magnetoreception—A sense without a receptor. *PLoS Biol* 15:e2003234–10.
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* 63:1700109–10.
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. *Nature Nanotech* 9:193–197. doi: 10.1038/nnano.2014.13

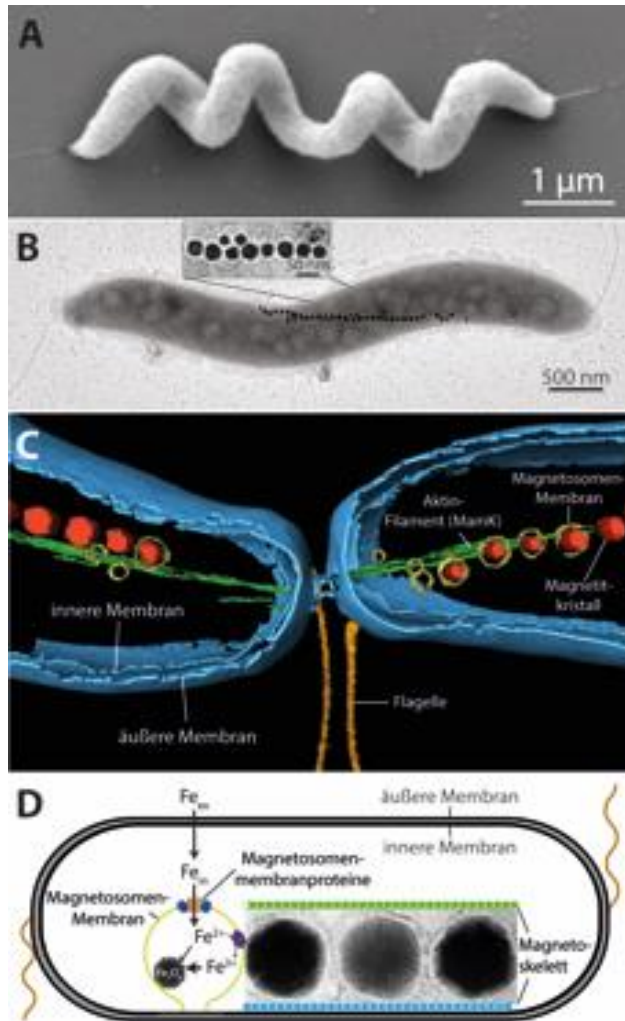


Abb. 1: A, B: Raster- und transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von *M. gryphiswaldense*-Zellen. C: Cryo-Elektronentomogramm einer sich teilenden Zelle (Aufnahmen: A: Frank Müller, Universität Bayreuth; C: Mauricio Toro-Nahuelpan, Univ. Bayreuth & Jürgen M. Plitzko, MPI Martinsried). D: Vereinfachtes 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.

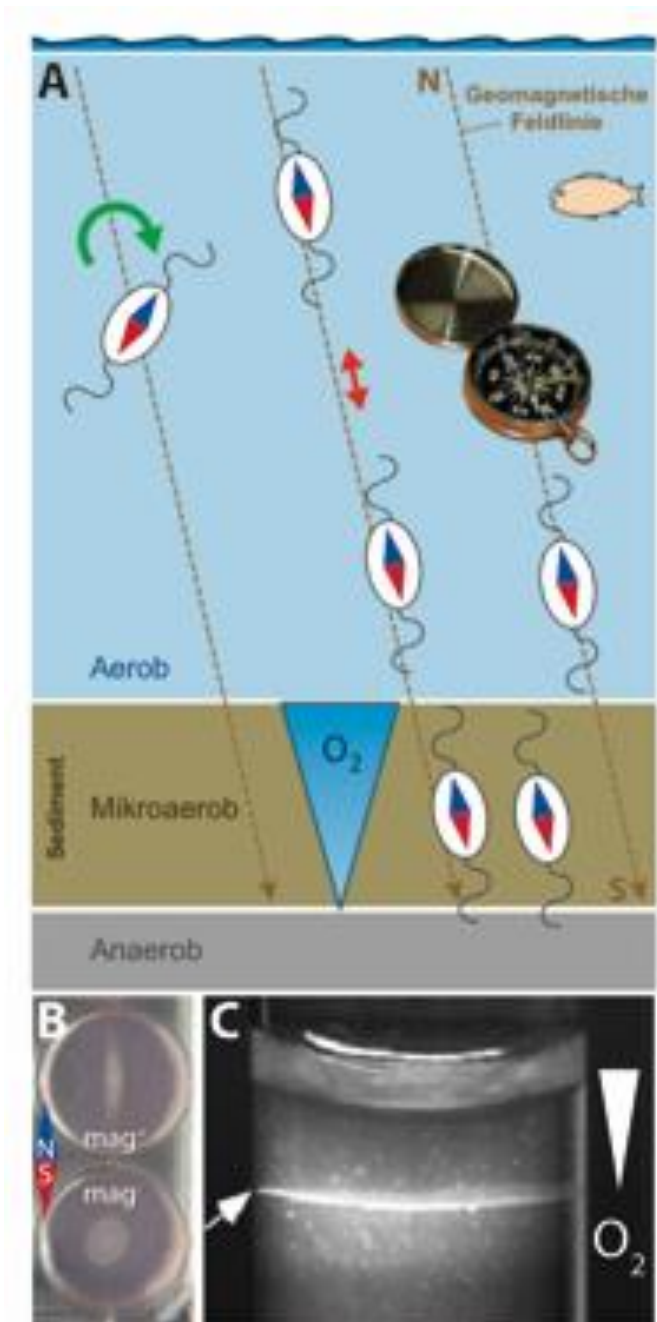


Abb. 2: A: Modell der Magneto-Aerotaxis. B: Schwarmhöfe von Wildtyp (mag^+) und einer unmagnetischen Mutante (mag^-) von *M. gryphiswaldense* in Weichagar im Magnetfeld; nur erstere richten sich am Magnetpol aus. C: Aerotaktische Bakterienbände in Hochschicht-Weichagar (weißer Pfeil) – die Bakterien sammeln sich gezielt bei einer für sie idealen Konzentration.

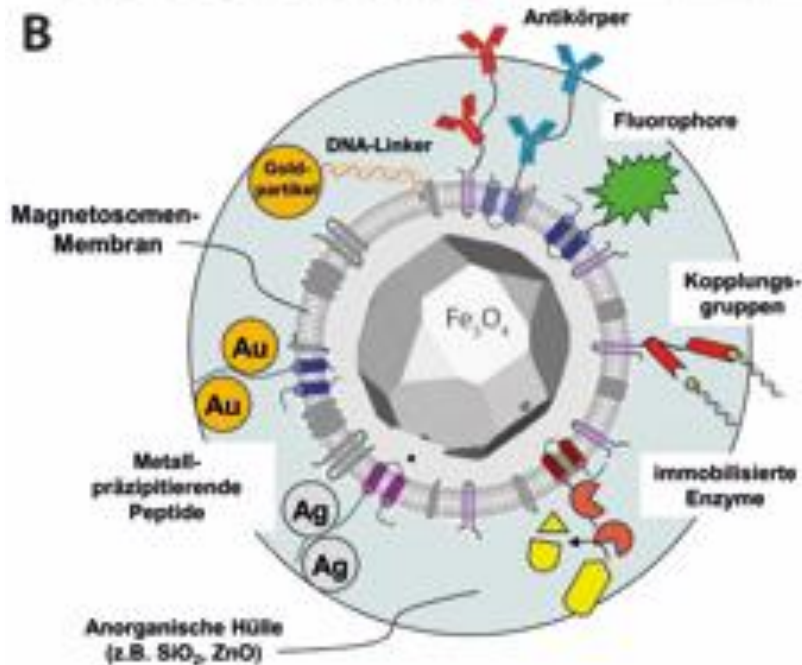
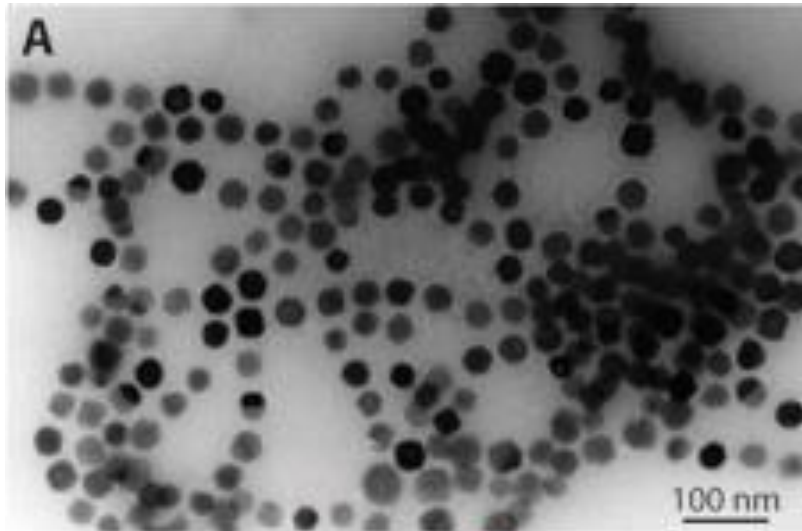


Abb. 3: A: Elektronenmikroskopische Aufnahme isolierter Magnetosomen aus *M. gryphiswaldense*. B: Beispiele für Funktionalisierungen von Magnetosomen, bei der häufige Magnetosomenproteine als Anker für die genetische Fusion mit verschiedenen funktionellen Gruppen dienen (z. B. Fluorophore, Enzymproteine, Kopplungsgruppen wie Streptavidin oder Antikörperfragmente). Zusätzliche Ummantelungen durch Silika oder genetisch fusionierte Spinnenseideproteine

können die Oberflächeneigenschaften der aus den Zellen gewonnenen Partikeln verbessern. (Illustration: Frank Mikoleit, Univ. Bayreuth).

Autoren

René Uebe



Biologiestudium 2001-2006 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 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:

Prof. Dr. 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>