

## Magnetospirillum – Mikrobe des Jahres 2019

# Mit modernen Methoden zu magnetischen Mikroben

RUDOLF AMANN<sup>1</sup>, DIRK SCHÜLER<sup>2</sup>

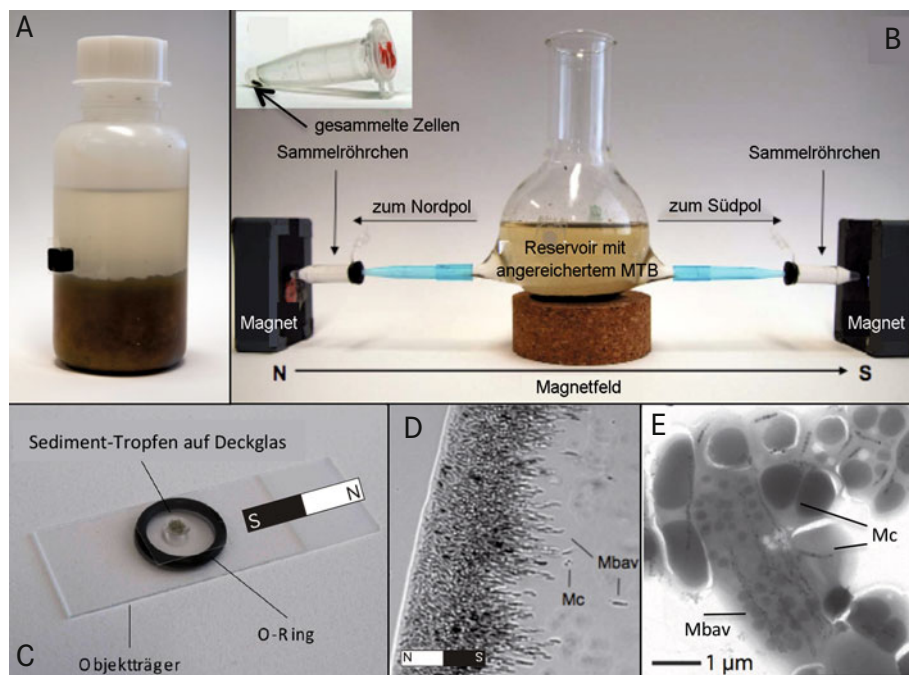
<sup>1</sup> MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR MARINE MIKROBIOLOGIE, BREMEN

<sup>2</sup> 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 microbiological 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.

DOI: 10.1007/s12268-019-0993-2

© Springer-Verlag 2019



▲ **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 (C) oder sogar gänzlich frei von anderen Mikroorganismen in einem Probengefäß (B) sammeln, beobachten und analysieren lassen. Licht- (D) und elektronenmikroskopische Aufnahme (E) 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 Koccus; Mbav: *Candidatus Magnetobacterium bavaricum*. Aufnahmen B, D: Christian Jogler; E: Gerhard Wanner, LMU München.

■ Mikroorganismen, die auf Magnetfelder reagieren? In den 1960er-Jahren 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 folgte. Was Bellini noch verborgen geblieben war, erkannte Blakemore mithilfe des Elektronenmikroskops: In allen Bakterien sah er Ketten magnetischer Kristalle. Diese richteten 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 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) oder Greigit ( $\text{Fe}_3\text{S}_4$ ) – bestehen und entlang eines eigenen Cytoskeletts in der Zelle zu Ketten aufgereiht werden (siehe Beitrag Schüler/Uebe in dieser Ausgabe, S. 22). Wahrscheinlich dienen diese Magnetosomenketten als Sensor für die Orientierung der Bakterien im nach unten geneigten Erdmagnetfeld und erleichtern den Sedimentbewohnenden Mikroben damit das effiziente Auffinden ihrer bevorzugten Position mittels Chemotaxis entlang der ebenfalls vertikal verlaufenden Redoxgradienten. Allerdings werden auch zusätzliche Funktionen diskutiert, etwa als interne „elektrochemische Batterie“ zur Energiegewinnung oder bei der zellulären Eisenhomöostase.

### 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, Abb. 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 Blakemores (Wieder-)Entdeckung mikrobiologische Kuriositäten, die sich einer vertieften Untersuchung im Labor entzogen.

### Molekulare Methoden enthüllen die genetische Vielfalt

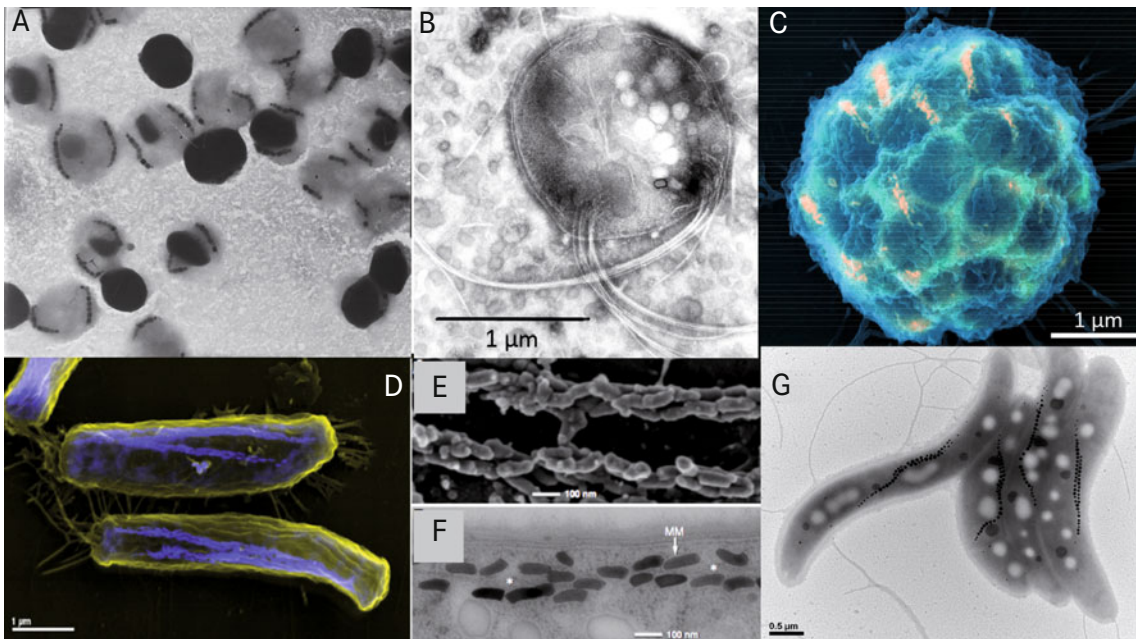
An dieser faszinierenden Thematik forschte kurz vor der deutschen Wiedervereinigung bereits das Labor von Manfred Köhler an der Universität Greifswald. Einem seiner Diplomanden – Dirk Schüler – gelang die Isolierung eines neuen magnetischen Bakteriums, das sich deutlich besser züchten und vor allem genetisch manipulieren ließ. Die Mauer fiel – und das Bakterium wurde an der Technischen Universität 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 Max-Planck-Institut 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 1990er-Jahre durch den Vergleich von kultivierungsunabhängig gewonnenen 16S-rRNA-Sequenzen und die Einzelzellidentifizierung mit Oligonukleotidsonden möglich geworden, und die Anreicherungen der Magnet-

bakterien 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 1.000 Magnetosomenkristalle in mehreren Ketten angeordnet sind

und das in sauerstoffarmen Sedimentschichten des oberbayerischen Chiemsees einen großen Teil 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



▲ **Abb. 2:** Magnetisch angereicherte Morphotypen aus Sedimentproben. **A, B,** magnetische Kokken (Alphaproteobakterien) aus dem Chiemsee. **C,** mehrzelliges magnetotaktisches Aggregat (Deltaproteobakterien) aus dem Wattenmeer nahe Cuxhaven, von Roland Wenter *et al.* als *Candidatus Magnetomorom litorale* beschrieben [11]. **D–F,** Zellen (**D**) und Magnetosomenketten (**E, F**) von *Candidatus Magnetobacterium bavaricum* (Nitrospirae) aus dem Chiemsee. **C, D:** Rückstreu-Rasterelektronenmikroskopie; **E, F:** Raster- und TEM durch Gerhard Wanner, LMU München). **G:** Zellen aus einer Kultur von *Magnetospirillum gryphiswaldense* (Alphaproteobakterien). MM: Magnetosomenmembran.

Methoden selektiv und reichern Gene an oder ab, gerade wenn eine Polymerasekettenreaktion (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 (**Abb. 2, [4]**).

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 Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie in Bremen und an der Ludwig-Maximilians-Universität München durch ein ausgeklügeltes Screening von Fosmidbanken erstmals, ganze Gencluster für die Magnetosomenbiosynthese 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 zugänglichen Wirten erscheint vielversprechend für ein molekulares Verständnis dieser Diversität.

### Ökologisch bedeutsam – mit Anwendungspotenzial

Verschiedene Methoden der Mikrobiologie – Anreicherung, Mikroskopie, Kultivierung, vergleichende 16S-rRNA-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 größerer Mengen von Eisen, Schwefel und auch Phosphor vermutlich wichtige Teilnehmer an biogeochemischen Stoffkreisläufen [12].

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 Erdmagnetfeldes 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 Mitarbeiter/innen und Kolleg/innen, 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. ■

### Literatur

- [1] Bellini S (1963) Ulteriori studi sui "Batteri Magnetosensibili." Institut für Mikrobiologie, Universität 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 Environ 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. Proc Natl Acad Sci USA 108:1134–1139
- [6] Jogler C, Lin W, Meyerdierks A et al. (2009) Towards cloning of the magnetotactic metagenome: Identification of magnetosome island gene clusters in uncultivated magnetotactic bacteria from different aquatic sediments. Appl Environ Microbiol 75: 3972–3979
- [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. ISME J 12:1508–1519
- [10] Lefevre CT, Menguy N, Abreu F et al. (2011) A cultured greigite-producing magnetotactic bacterium in a novel group of sulfite-reducing bacteria. Science 334:1720–1723
- [11] Wenter R, Wanner G, Schüler D et al. (2009) Ultrastructure, tactic behaviour and potential for sulfate

reduction of a novel multicellular magnetotactic prokaryote from North Sea sediments. Environ Microbiol 11:1493–1505

[12] Schulz-Vogt HN, Pollehe F, Jürgens et al. (2019) Effect of large magnetotactic bacteria with polyphosphate inclusions on the phosphate profile of the suboxic zone in the Black Sea. ISME J, im Druck.

#### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Dirk Schüler  
Lehrstuhl für Mikrobiologie  
Universität Bayreuth  
Universitätsstraße 30  
D-95447 Bayreuth  
Tel.: 0921-55-2729  
dirk.schueler@uni-bayreuth.de  
www.mikrobiologie.uni-bayreuth.de

#### AUTOREN



##### Rudolf Amann

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



##### Dirk Schüler

1990 Biologie-Diplom an der Universität Greifswald. 1994 Promotion an der LMU München, Postdoc-Aufenthalte an der Iowa State University und dem Scripps Institute of Oceanography, La Jolla, CA, USA. Ab 1999 Nachwuchsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie in Bremen. 2006 Professor an der LMU München. Seit 2014 Lehrstuhlinhaber für Mikrobiologie an der Universität Bayreuth.