

- ▶ Zwei Antibiotika mit neuer Zielstruktur
- ▶ Phosphorylierung des Histons H2A ist wichtig für die Stabilität des Genoms während der Mitose
- ▶ Struktur und Funktion des Typ VII-Exportsystems in Mykobakterien
- ▶ Doppelte Energiekonservierung



Wolfgang Wohlleben

Jochen Graw

Roland Benz

Johannes Sander

DOI: 10.1007/s12268-020-1352-z
© Springer-Verlag GmbH 2020

Zwei Antibiotika mit neuer Zielstruktur

Trotz intensiver Anstrengungen in den letzten Jahren lieferte die Suche nach neuen Antibiotika zur Bekämpfung speziell Gram-negativer Erreger bisher wenig Verbindungen. Mit unterschiedlichen Strategien haben nun zwei Forscherverbände Verbindungen identifiziert, die eine bisher ungenutzte Struktur in der äußeren Membran zum Ziel haben.

■ Ein Konsortium aus Forschern der Universitäten Zürich und Basel entwickelte zusammen mit einem Industriepartner „chimäre peptidomimetische Antibiotika“ (Luther A et al., *Nature* (2019) 576:452–458). Dazu kombinierten sie synthetische Peptidfragmente mit den zyklischen Peptidanteilen von Naturstoffen (Colistin bzw. Polymyxin). So verknüpften sie die bekannte Eigenschaft der Lipid A-Bindung von Colistin/Polymyxin mit der Aktivität der synthetischen β -Hairpin-Fragmente, an Proteine der äußeren Membran

(OMP) zu binden. Die entstandenen Hybridmoleküle besitzen bakteriozide Eigenschaften und binden sowohl an Lipopolysaccharide als auch an die Hauptkomponente (BamA) des Bam-Komplexes. Dieser ist essenziell für die Faltung und Insertion von β -Barrel-Proteinen in die äußere Membran Gram-negativer Bakterien. Diese Struktur nutzt bisher kein angewendetes Antibiotikum als Wirkort. Durch Optimierung der Peptidmimetika gelang es, Antibiotika zu generieren, die auch multiresistente Erreger der ESKAPE-Gruppe abtöten.

Mit einem vollkommen anderen Ansatz isolierte und charakterisierte ein internationales Konsortium, unter anderem mit Beteiligung von Forschern aus Heidelberg und Gießen, ein Peptid (Darobactin), das ebenfalls BamA inhibiert (Imai Y et al., *Nature* (2019) 576:459–464). Ausgangspunkt für die Isolierung war ein klassischer Screening-Ansatz von 67 *Pho-*

torabodus- und *Xenorabodus*-Stämmen gegen *Escherichia coli*. Dabei fiel nach Konzentrierung der Extrakte eine Probe auf, die einen kleinen Hemmhof erzeugte. In diesem Extrakt wurde ein Heptapeptid identifiziert. Die Suche nach den Biosynthesegenen führte überraschenderweise nicht zur Isolierung eines Clusters für ein nicht-ribosomal codiertes Peptid (NRP), sondern zu einem Cluster für ein ribosomal codiertes Peptid (RiPP), das posttranslational durch Bildung einer C-C- und einer C-O-C-Brücke modifiziert wird. Darobactin zeigt im Mausmodell Aktivität gegen relevante Antibiotika-resistente Gram-negative Erreger. → Die laufenden Studien müssen nun zeigen, ob aus diesen Verbindungen Antibiotika entwickelt werden können zur Bekämpfung bedrohlicher Infektionen durch Gram-negative Pathogene.

Wolfgang Wohlleben ■

Phosphorylierung des Histons H2A ist wichtig für die Stabilität des Genoms während der Mitose

Die Trennung der Schwesterchromatiden in der Anaphase der Mitose ist ein wichtiger Prozess, um die gleichmäßige Verteilung des Erbguts auf die beiden Tochterzellen zu gewährleisten. Dabei wird zunächst zu Beginn der Anaphase der Cohesin-Komplex an den Centromeren proteolytisch gespalten – allerdings bleiben die DNA-Fäden noch miteinander verschlungen und müssen durch die Topoisomerase II entwunden werden. Die Gruppe um Fangwei Wang (Hangzhou, China) hat die Regulation dieses Prozesses in humanen Osteosarkomzellen (U2OS) untersucht (Zhang M et al., *EMBO J* (2019) e101863).

■ Durch siRNA haben die Autoren zunächst das Gen *BUB1* (*budding uninhibited by benzimidazoles 1*) ausgeschaltet – es codiert für

eine Serin/Threonin-Kinase und ist für die Lokalisation der Topoisomerase II an den mitotischen Centromer-Regionen essenziell. Durch Verwendung eines Inhibitors für die BUB1-Kinaseaktivität konnten die Autoren zeigen, dass dadurch nicht nur die Lokalisation der Topoisomerase II am Centromer verhindert wird, sondern auch die Phosphorylierung des Histons H2A unterbleibt. Die Phosphorylierung von H2A erfolgt jedoch nicht im N-terminalen Bereich (wie wir das von manchen epigenetischen Prozessen her kennen), sondern am C-Terminus (Thr 120). Diese BUB1-abhängige Phosphorylierung des H2A an der Position T120 ist ausreichend, um die Topoisomerase II an die mitotischen Centromer-Regionen heranzuführen. Dadurch werden die DNA-Stränge der Geschwister-Chromatiden so entwunden, dass sie in der

Anaphase zu den entgegengesetzten Polen gezogen und später auf die Tochterzellen verteilt werden können.

→ Es gibt für alle Histone mehrere Gene: beim Menschen kennen wir Cluster für H2A-codierende Gene auf dem Chromosom 6p22-p21 (12 H2A-codierende Gene) und darüber hinaus drei H2A-codierende Gene auf dem Chromosom 1q21 und ein weiteres auf dem Chromosom 1q42 (OMIM 613499); dazu kommen noch Gene für „Spezialhistone“ wie H2AX und H2AZ. Die Datenbank über klinische Variationen zeigt keine Daten über Mutationen dieser Gene (www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar) – wahrscheinlich sind sie mit dem Leben nicht vereinbar. Dennoch wäre es interessant (in der Maus) zu sehen, welche Konsequenzen Punktmutationen hätten, die die Aminosäure Thr 120 betreffen.

Jochen Graw ■

Jonathan
Wolf MuellerChristoph
von BallmoosMiriam
Herbert

Daniela Kruck

Martin
ThanbichlerGottfried
Wilharm

Kai Thormann



Thilo M. Fuchs

Natalia
TschowriEric J. N.
Helfrich

Struktur und Funktion des Typ VII-Exportsystems in Mykobakterien

Mykobakterien verursachen weitverbreitete Infektionskrankheiten, darunter Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis*) und Lepra (*Mycobacterium leprae*). Die Zellwand von Mykobakterien hat eine geringe Permeabilität. Dies führt im Zusammenwirken mit Exportsystemen zu einer geringen Empfindlichkeit für die Wirkung von Antibiotika. Seit einiger Zeit sind auch multiresistente Mykobakterien bekannt.

Sebastian Geibel und Kollegen verschiedener Institute der Universität Würzburg sowie des Spanischen National Cancer Research Centres in Madrid (Famelis N et al., *Nature* (2019) 576:321–325) untersuchten die Struktur des TypVII-Exportsystems von *Mycobacterium smegmatis* mithilfe der Kryoelektronenmikroskopie. *M. smegmatis* ist der bestuntersuchte Prototyp für Mykobakterien. Dabei stellten die Autoren fest, dass vier verschiedene konservierte Membranproteine die Exportmaschinerie des ESX-3/TypVII-Exportsystems bilden. Diese vier großen Komponenten EccB3, EccC3, EccD3 und EccE3 sind im System in der Stöchiometrie 1:1:2:1 vorhanden. Ihre Struktur ist im Wesentlichen

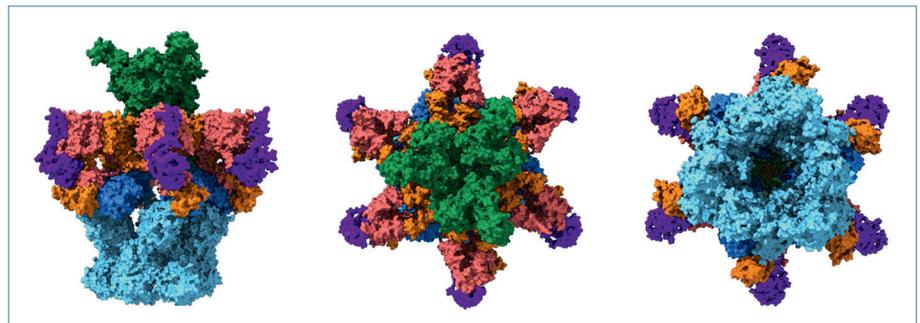


Abb.: Modell des jetzt entschlüsselten Typ VII-Sekretionssystems von *Mycobacterium tuberculosis*. Gut zu erkennen ist die Pore der Nanomaschine im Zentrum. **Links:** Seitenansicht des ESX-3/Typ-VII-Sekretionssystems, **Mitte:** Sicht vom Periplasma aus, **rechts:** Sicht vom Cytoplasma. Die vier Komponenten sind verschieden eingefärbt: Grün: EccB3, Hellblau: EccC3, Violett: EccE3, Braun/Orange: EccD3-Dimer. © Sebastian Geibel.

durch α -Helices dominiert. Die vier Membranproteine bilden zwei identische Oligomere, zwischen denen sich der Export der für das Bakterium unerwünschten Substanzen in das Periplasma abspielt. Das EccC3-Membranprotein enthält vier ATPase-Domänen und bildet die Pore in der Cytoplasmamembran. Kontakte zwischen EccC3 und EccB3 begünstigen die Kopplung an ATP-Hydrolyse und Substratbindung im Zusammenhang mit

Konformationsänderungen zur Öffnung der Pore im Komplex.

→ Die Autoren leiten aus der dreidimensionalen Struktur des Typ VII-Exportsystems wichtige Hinweise auf die Funktion des Transports ab. Zusätzlich erhoffen sie Informationen über die Struktur von Inhibitoren der Exportsysteme, mit deren Hilfe die Antibiotika-Resistenz von Mykobakterien überwunden werden könnte.

Roland Benz ■

Doppelte Energiekonservierung

Acetogene Bakterien nutzen entweder eine $\text{Fd}^{2+}:\text{NAD}^{+}$ -Oxidoreduktase (Rnf-Komplex) oder eine $\text{Fd}^{2+}:\text{H}^{+}$ -Oxidoreduktase (Ech-Komplex: Hydrogenase), um reduziertes Ferredoxin zu oxidieren. Dabei wird jeweils ein Na^{+} - (meist Rnf-Komplex) bzw. ein H^{+} -Gradient (meist Ech-Komplex) erzeugt. *Thermoanaerobacter kivui* erzeugt mit seinem Ech-Komplex zwar auch einen Na^{+} -Gradienten, zur Energiekonservierung nutzt er aber nur den Protonengradienten durch eine H^{+} -abhängige ATPase.

Aus dem Pansen sind Organismen bekannt, deren Genome sowohl für einen Rnf- als auch für einen Ech-Komplex codieren. Marie Schoelmerich et al. (*Proc Natl Acad Sci USA* (2020) 117:1167–1173) haben jetzt *Pseudobutyrvibrio ruminis*, der im Pansen unter anaeroben Bedingungen Zucker über Glykolyse

und Pentosephosphatweg in kurzkettige Fettsäuren umsetzt, auf Ech- bzw. Rnf-Aktivität hin untersucht. Sie konnten zeigen, dass Na^{+} im Medium das Wachstum deutlich stimuliert, während bei Abwesenheit von Na^{+} weniger organische Stoffwechselprodukte, dafür aber mehr H_2 gebildet werden. Genexpressionsanalysen zeigten zudem, dass bei Abwesenheit von Na^{+} das ech-Cluster sowie ein Gencluster, das laut *in silico*-Analyse für eine H^{+} -abhängige ATPase codiert (*atpase2*), hochreguliert werden. *In vitro* wurde in der Membranfraktion von Rohextrakten Na^{+} -abhängige Rnf-Aktivität und Ech-Hydrogenaseaktivität nachgewiesen. Letztere war deutlich höher bei Abwesenheit von Na^{+} . Darüber hinaus wurde auch die Na^{+} -, bzw. H^{+} -abhängige Aktivität zweier ATPasen (*atpase1* und *atpase2*) biochemisch belegt. *ech*-, *rnf*-, *atpase1*- und *atpase2*-Gene treten in den Genomen von 13 verschiedenen Firmi-

cutes aus den Gattungen *Pseudobutyrvibrio* und *Clostridium* auf.

→ Erstmals wurde hier ein Organismus beschrieben, der sowohl Ech- als auch Rnf-Komplexe und damit einen H^{+} - und einen Na^{+} -Ionengradienten zur chemiosmotischen Energiekonservierung nutzt. Sind viele Na^{+} -Ionen verfügbar, so wird NADH vom Rnf- und H_2 vom Ech-Komplex gebildet. Es entstehen zwei Ionengradienten, die beide zur ATP-Gewinnung dienen. Mehr NADH wiederum stimuliert durch die im Rahmen der Butyratbildung ablaufende Elektronenbifurkation die Bildung von reduziertem Ferredoxin und damit wiederum die NADH-Bildung. Fehlen die Natriumionen, so geht es den Zellen zwar schlechter, dank ihrer Ech-Hydrogenase können sie aber dennoch überschüssige Reduktionsäquivalente entsorgen.

Johannes Sander ■

- ▶ Die Struktur eines Proteinriesen – Thyroglobulin
- ▶ Verkehrte Welt im Bakterienkraftwerk
- ▶ Mit leeren MHC-I Molekülen zur besseren T-Zellidentifizierung
- ▶ Hitzeresistenz in Säugetieren: Neues zur hitzeinduzierten Desensibilisierung

Die Struktur eines Proteinriesen – Thyroglobulin

Das Schilddrüsenhormon Thyroxin wird aus zwei iodierten Tyrosin-Aminosäuren zusammgebaut. In Lehrbüchern findet man oft noch zwei Buchstaben daneben gedruckt – TG. Die kleine Abkürzung steht für Thyroglobulin, ein riesiges Protein mit fast dreitausend Aminosäuren. Die Biosynthese von Thyroxin findet innerhalb des Thyroglobulins statt. Wo genau und wie war aber bisher ein Rätsel.

■ Eine aktuelle Studie aus dem englischen Cambridge (Coscia F et al., Nature (2020), doi:10.1038/s41586-020-1995-4) bringt mittels Kryoelektronenmikroskopie endlich Licht ins Dunkel. Die 3D-Struktur des humanen Thyroglobulin zeigt bei einer Auflösung von etwa 3,5 Ångström die innige Umarmung der beiden Protein-Untereinheiten. Dieses ovalförmige Dimer ist ein mehr als 600 kDa-großer Proteinriese. Erstmals konnten alle hormonogenen Tyrosin-Paare identifiziert und auch durch Mutagenese und Aktivitätstests bestätigt werden. Bemerkenswerterweise konnten einige Tyrosin-Donor/Akzeptor-Paare auch auf ein nicht verwandtes, bakterielles Protein übertragen werden. Dort lief dann die Hormonsynthese mit einer Effizienz ab, die mit der des Thyroglobulins vergleichbar war.

Nur sehr wenige Thyroxin-Moleküle entstehen aus einem der riesigen Thyroglobulin-Dimere. Was für ein Aufwand, mag man da

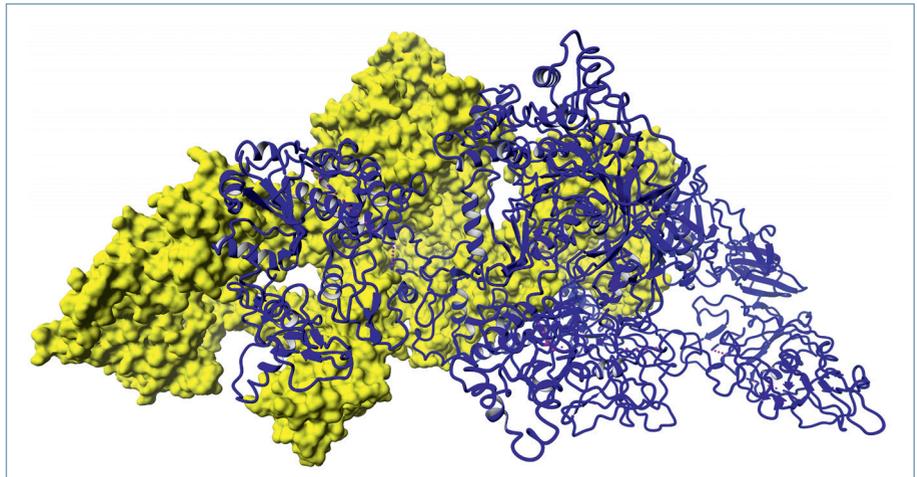


Abb.: In der Abbildung ist die 3D-Struktur 6SCJ von humanem Thyroglobulin zu sehen. Eine Dimer-Untereinheit ist mit gelber Oberfläche dargestellt, die andere in blauer Ribbon-Darstellung.

eventuell denken. Das Ganze auch noch mit radikalem Reaktionsmechanismus, der eigentlich auch bei ungefalteten Peptiden funktionieren müsste. Thyroglobulin ist allerdings hochgradig wasserlöslich – es bildet also das Colloid und beeinflusst somit maßgeblich die molekulare Umgebung. Außerdem enthält Thyroglobulin so einige Oberflächen-exponierte Tyrosin-Reste, die zwar iodiert werden, aber nicht zur Hormonsynthese dienen. Hier erfüllt Thyroglobulin auch eine Funktion als Iod-Speicher.

→ Die von Jan Löwe geleitete Studie bringt die Schilddrüsenforschung ein gutes Stück voran. Die Struktur sollte deutlich zum Verständnis von genetisch bedingter Schilddrüsenunterfunktion beitragen. Besonders interessant sind aber die eindeutige Identifizierung der hormonbildenden Tyrosin-Paare und deren biotechnologischer Transfer auf ein nicht verwandtes Protein. Werden wir bald hochwertiges Schilddrüsenhormon Thyroxin aus biotechnologischer Produktion haben?

Jonathan Wolf Mueller ■

Verkehrte Welt im Bakterienkraftwerk

Cytochrom-*bd*-Oxidasen katalysieren unter Oxidation von Quinolen die Reduktion von Sauerstoff zu Wasser und tragen damit zur Umwandlung der Energie aus Nährstoffen in den zellulären Energieträger ATP bei. *Bd*-Oxidasen finden sich ausschließlich in Prokaryoten und sind essenziell für viele humanpathogene Bakterien, und eine gezielte Inhibition stellt einen möglichen Angriffspunkt für wirkungsvolle Medikamente dar.

■ Ende 2019 lösten sowohl A. TheBelting et al. (Nat Commun (2019) 10:5138) als auch S. Saffarian et al. (Science (2019) 366:100–104) mittels Kryoelektronenmikroskopie die atomare Struktur der relativ kleinen Cytochrom-*bd*-Oxidase (~90 kDa) von *Escherichia coli*. *bd*-

Oxidasen werden entsprechend der Länge ihres substratbindenden Q-Loops in zwei Klassen unterteilt – S(hort) und L(ong) –, wobei das Enzym von *E. coli* als auch die der meisten humanpathogenen Bakterien zur L-Klasse gehören. Im Vergleich zur bereits gelösten Struktur einer S-Klasse-*bd*-Oxidase fällt die Gesamtstruktur sehr ähnlich aus, beinhaltet aber einige wichtige Unterschiede: So enthält die Untereinheit CydB des *E. coli*-Enzyms ein strukturelles Ubiquinon-8, das zwar zur Stabilität beiträgt, aber nicht am enzymatischen Zyklus teilnimmt, der in der Untereinheit CydA abläuft. Des Weiteren wurde eine bisher unbekannte, sich nicht im Operon befindende Untereinheit (Gen *ynhf*) identifiziert, die spezifisch für die L-Klasse-Oxidasen ist und den beschrie-

benen Sauerstoffkanal der S-Klasse-Oxidase verdeckt. Stattdessen wird ein neuer Sauerstoffzugang mit Selektivitätsfilter innerhalb der Membran vorgeschlagen, in Übereinstimmung mit der vertauschten Anordnung des *high-spin*-Häm *b*₅₉₅ und des sauerstoffbindenden Häm *d*. → Die neuen Strukturen zeigen auf, dass sich *bd*-Oxidasen trotz gemeinsamen Ursprungs und einer ähnlichen Gesamtstruktur den Bedingungen des entsprechenden Organismus angepasst haben. Aufgrund der Strukturen werden mögliche Inhibitoren nicht im langen dynamischen Q-Loop, sondern durch Kompetition des stabilisierenden Ubiquinon-8 in CydB oder durch gezielte Blockierung des Sauerstoffkanals diskutiert.

Christoph von Ballmoos ■

Mit leeren MHC-I Molekülen zur besseren T-Zellidentifizierung

T-Zellen mit einer bestimmten Antigen-spezifität zu erkennen ist in einigen Ansätzen der personalisierten Krebstherapie essenziell. Bisherige Verfahren dafür sind sehr aufwendig und kostspielig. S. K. Saini *et al.* (Sci Immunol (2019) 4:eaa9039) stellen hier ein neues Verfahren vor, um die entscheidenden MHC-I-Moleküle schneller, einfacher und günstiger herstellen zu können.

■ MHC-Klasse I-Moleküle werden auf fast allen Zellen des menschlichen Körpers exprimiert. Sie präsentieren kurze Peptide cytosolischer Proteine und ermöglichen es T-Zellen so beispielsweise Mutationen eigener Proteine, oder die Anwesenheit viraler Proteine durch diese Oberflächenproteine zu erkennen. Jeder T-Zellrezeptor erkennt dabei nur einen bestimmten Antigen-MHC-I-Komplex. Mit MHC-Multimeren, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff konjugiert sind, lassen sich T-Zellen mit einer bestimmten Antigen-spezifität anfärben.

Da MHC-I-Moleküle im „leeren“ Zustand unter physiologischen Bedingungen sehr instabil sind und sich nur korrekt falten, wenn sie mit einem Peptid beladen werden, ist die Herstellung großer MHC-Multimer-Bibliotheken sehr aufwendig. Saini *et al.* beschreiben, wie sie durch das Einfügen einer Disulfidbrücke die beiden Helices ($\alpha 1$ und $\alpha 2$) in der Nähe der Peptidbindetasche stabilisieren konnten. Die Moleküle werden *in vitro* mithilfe von Dipeptiden gefaltet und mit Größenausschluss-Chromatographie aufgereinigt. Bei dieser Aufreinigung dissoziieren die Dipeptide und man erhält ein leeres MHC-I-Molekül, das durch die Disulfidbrücke stabilisiert wird. Funktionelle Tests ergaben, dass die leeren MHC-Moleküle direkt empfänglich für Peptide sind und die gleiche Konformation aufwiesen, wie der Wildtyp. Die neu beladenen MHC-I-Moleküle wurden als Multimere genutzt, um in mononukleäre Zellen des peripheren Bluts von gesunden Probanden einige virus-spezifische

T-Zellen nachzuweisen. Außerdem konnten Lymphozyten aus Melanoma-Proben identifiziert werden, die tumorspezifische Antigene erkennen. Der Herstellungsprozess kann sogar noch beschleunigt werden, denn die Autoren konnten zeigen, dass auch bereits konjugierte, leere MHC-Tetramere schnell mit Peptiden beladen werden können, um sie dann zur T-Zellidentifizierung zu nutzen.

→ *Mit ihren Disulfidbrücken-stabilisierten MHC-I-Molekülen haben die Autoren die Möglichkeiten zur schnellen und umfangreichen Erkennung von beispielsweise virus- oder tumorspezifischen T-Zellen enorm verbessert. Die leeren MHC-Tetramere müssen nur mit dem gewünschten Peptid beladen werden, was die kosteneffiziente Herstellung einer großen Bandbreite von MHC-Tetrameren in kurzer Zeit erlaubt und für einige Strategien in der personalisierten Medizin von großem Vorteil ist.*

Miriam Herbert ■

Hitzeresistenz in Säugetieren: Neues zur hitzeinduzierten Desensibilisierung

Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)-Ionenkanäle werden in Teilen der peripheren und zentralen Neuronen von Säugetieren exprimiert und können sowohl die Umgebungstemperatur wahrnehmen als auch an der Thermoregulation beteiligt sein. Trotz ihrer Bedeutung für die Anpassung von Säugetieren an extreme klimatische Bedingungen ist über den Mechanismus der schnellen, hitzeinduzierten Desensibilisierung (Dh) bisher wenig bekannt.

■ Ein grundlegender Mechanismus der Thermoregulation ist die Wahrnehmung der internen und externen Temperatur. Hierbei spielen Ionenkanäle wie TRPV1 eine wichtige Rolle, da sie direkt an der Wahrnehmung der Umgebungstemperatur beteiligt sind. Nach Aktivierung von TRPV1 findet eine Konformationsänderung und Desensibilisierung bei anhaltender Hitze statt. Die Desensibilisierung von TRPV1 ist eng an den Vorgang der hitzeinduzierten Aktivierung (Ah) gekoppelt und daher bisweilen nicht isoliert untersucht worden. L. Luo *et al.* (Nat Commun (2019) 10:2134) haben daher den Dh-Vorgang isoliert studiert, indem zunächst eine spezielle Variante von TRPV1 ohne Dh (pV1) in Schnabeltieren (*Ornithorhynchus anatinus*) festgestellt wurde. Diese wurde

anschließend mit TRPV1-Kanälen von Mäusen (mV1) in HEK293T-Zellen verglichen, um die Entstehung der Anpassung an noxische Wärme durch Dh besser nachvollziehen zu können. Zudem wurde die Auswirkung von pV1 auf die Anpassung an noxische Wärme mittels Knock-In in Mäusen ohne TRPV1 untersucht. Eine Überexpression von chimären Konstrukten aus mV1 und pV1 zeigte nach Anregung bei 40 °C, dass nur eine Substitution von N- und C-Terminus von mV1 in pV1 eine Desensibilisierung bewirken konnte. Dementsprechend scheinen beide Termini gleichermaßen am Fehlen von Dh in pV1 beteiligt zu sein. Aus vorherigen kryoelektronenmikroskopischen Untersuchungen ist bekannt, dass der N- und C-Terminus anhand ihrer Strukturen miteinander interagieren können. Diese Vermutung wurde durch eine Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der Interaktion des N-Terminus mit C-terminalen Peptiden in Abhängigkeit zu der Umgebungstemperatur mittels Oberflächenplasmonenresonanz bestätigt. Bei einer Temperatur von 35 °C erhöht sich die Affinität von N- und C-Terminus zueinander, Temperaturen unter 30 °C zeigen hingegen keine signifikant gesteigerte Interaktion.

Untersucht wurde die Interaktion der beiden Termini zudem mittels FRET durch den

Einbau der unnatürlichen Aminosäure ANAP an den N-Terminus von mV1 und pV1, sowie den Einbau von YFP und GFP am C-Terminus von mV1, bzw. pV1. Der Übergang zu Dh durch Anregung durch das Toxin RhTx ging mit einer erhöhten FRET-Intensität einher, was eine Interaktion der beiden Termini unter Wärmeeinwirkung impliziert. Ein Knock-In des Schnabeltier-spezifischen p-trpv1-Gens in Mäusen mit TRPV1-Knockout bewirkte in den Tieren eine fehlende Adaption an noxische Wärme sowie ein erhöhtes Verletzungs- und Entzündungsrisiko. Interessanterweise konnte nach einem Knockout des p-trpv1-Gens keine erhöhte Gewebeschädigung in den Mäusen festgestellt werden. Dies deutet auf eine protektive Funktion von Dh für Zellen im Zusammenhang mit noxischer Wärme hin.

→ *Luo et al. konnten einen Zusammenhang zwischen der Interaktion des N- und C-Terminus in TRPV1 mit der Desensibilisierung von Dh in Bezug auf noxische Wärme nachweisen. Gleichzeitig scheint das Fehlen von Dh für die Gewebeschädigung durch noxische Wärme verantwortlich zu sein. Aus evolutiver Sicht trägt die Ausbildung von Dh somit zum Überleben von hochentwickelten Säugetieren unter harschen klimatischen Bedingungen bei.*

Daniela Kruck ■

- ▶ Neuartige Chromosomendynamik in bakteriellen Ektosymbionten
- ▶ Hefezellen bewältigen oxidativen Stress durch die Aufnahme von Lysin
- ▶ Neue Strukturen des Archaeallums
- ▶ Intrazelluläre Stickstoffquellen des Tuberkulose-Erregers
- ▶ (p)ppApp-Produktion als Waffe in bakterieller Kriegsführung

Neuartige Chromosomendynamik in bakteriellen Ektosymbionten

Stäbchenförmige Bakterien teilen sich in der Regel entlang ihrer Querachse unter Entstehung von zwei jeweils halb so langen Tochterzellen. Ektosymbiotisch lebende Gammaproteobakterien der Gattung *Candidatus Thiosymbion* vermehren sich dagegen durch Längsteilung, um so eine dichte, palisadenartig gepackte Zellschicht auf der Cuticula ihres Wirts zu bilden.

■ Die Arbeitsgruppe um Silvia Bulgheresi von der Universität Wien verfolgte erstmals die Dynamik der Chromosomensegregation in der Spezies *Ca. Thiosymbion oneisti* (Weber PM et al., *Curr Biol* (2019) 29: 3018–3028). Es zeigte sich, dass der Replikationsursprung und -terminus zu Beginn des Zellzyklus in der Zellmitte liegen, während die beiden Arme des zirkulären Chromosoms beiderseits entlang der Längsachse der Zelle ange-

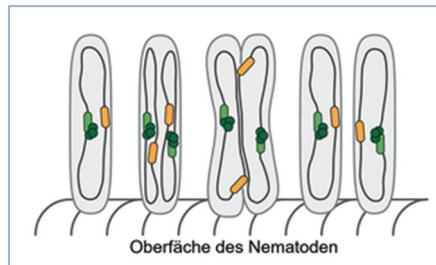


Abb.: Längsteilung und Chromosomen-Segregation in *Ca. Thiosymbion oneisti*. Die Abbildung zeigt die Lokalisationsdynamik des Replikationsursprungs (hellgrün), des damit assoziierten ParB-Proteins (dunkelgrün) sowie des Replikationsterminus (orange). Modifiziert nach P. M. Weber et al., *Curr Biol* (2019) 29:3018–3028.

ordnet sind. Während der DNA-Replikation segregieren zuerst die Replikationsursprünge und dann die Termini diagonal. Nach dem Ein-

setzen der Zellteilung interagieren dann die Termini mit dem sich in Längsrichtung kontrahierenden Septum, sodass sie am Ende der Cytokinese wieder in der Zellmitte zu liegen kommen. Interessanterweise gibt es Hinweise darauf, dass dieser ungewöhnliche Segregationsprozess ebenfalls das ParABS-System involvieren könnte, das sonst die aktive Verteilung der Replikationsursprünge in Spezies mit transverser Zellteilung vermittelt.

→ Diese Arbeit verdeutlicht, wie dramatisch sich die subzelluläre Organisation von Bakterienzellen durch Anpassung an eine symbiotische Lebensweise verändern kann. Es bleibt jetzt zu klären, wie genau die Längsteilung von *Ca. Thiosymbion* erreicht wird und wie es den Zellen gelingt, das konservierte ParABS-System für die diagonale Segregation der Replikationsursprünge zu adaptieren.

Martin Thanbichler ■

Hefezellen bewältigen oxidativen Stress durch die Aufnahme von Lysin

Oxidativer Stress entsteht als Nebenprodukt metabolischer Aktivität oder unter Einfluss externer Faktoren und gefährdet die zelluläre Integrität. Entsprechend vielfältig und von grundlegender Bedeutung sind Mechanismen der Entgiftung und Redox-Homöostase.

■ Tpo1 ist ein Polyamin-Exporter in Hefen und an der Toleranz gegen oxidativen Stress beteiligt. Viridiana Olin-Sandoval et al. (*Nature* (2019) 572:249–253) hatten durch Proteomik festgestellt, dass in *Saccharomyces cerevisiae* Enzyme zur Biosynthese von Lysin schnell auf oxidativen Stress reagieren, wenn *tpo1* deletiert ist. Eine Verbindung zwischen Polyamin- und Lysinstoffwechsel ergibt sich aus der Decarboxylierung von Lysin, die zur Bildung des Polyamins Cadaverin führt. Da in *S. cerevisiae* kein Enzym zur Lysin-Decarboxylierung bekannt war, vermuteten die Au-

toren, dass ein anderes Enzym wechselnde Substrate nutzt. Die Ornithin-Decarboxylase Spe1, die die Bildung des Polyamins Putrescine katalysiert, decarboxyliert Lysin zu Cadaverin, wenn die Lysin-Konzentration entsprechend hoch ist. Dies führte die Autoren auf die Spur exzessiver Lysin-Aufnahme durch die Hefe, die die Synthese von Cadaverin durch Spe1 ermöglicht. Cadaverin ist an der Regulation der Lysin-Aufnahme und -Biosynthese beteiligt und ermöglicht eine Reprogrammierung des Stoffwechsels. So erbringt die Aufnahme von Lysin anstelle der Biosynthese Einsparungen an NADPH, die zur Bereitstellung von reduziertem Glutathion (GSH) genutzt werden können, das entscheidend an der Redox-Homöostase beteiligt ist. Besonders bemerkenswert ist, dass die Konzentration von GSH dadurch um das Achtfache steigen kann, mehr als bei anderen bislang bekannten Schutzmechanismen

gegen oxidativen Stress. Wichtig ist auch zu betonen, dass die Autoren ähnliche Mechanismen nicht nur bei unterschiedlichen Hefen, sondern auch bei *Bacillus subtilis* nachweisen konnten, was illustriert, dass es sich um eine entwicklungsgeschichtlich ursprüngliche Stressantwort handelt.

→ Die Autoren erzählen eine sehr packende Forschungsgeschichte und haben einen potenten neuen Mechanismus zur Toleranz gegen oxidativen Stress identifiziert, der offensichtlich verbreitet ist. Entsprechend spannend wird es sein, zu erfahren, ob solche Mechanismen auch bei der Wirkung von Antibiotika und Antimykotika eine Rolle spielen und so neue Möglichkeiten der Wirkstoffentwicklung eröffnen.

Gottfried Wilharm ■

Neue Strukturen des Archaellums

Viele Archaeen bewegen sich mithilfe von Proteinfilamenten, den Archaellen, deren Komponenten und Struktur denen der Typ-IV-Pili ähneln. Während letztere allerdings durch Extension und Retraktion Bewegung über Oberflächen vermitteln, erlauben Archaellen das Schwimmen der Zellen durch schnelle Rotation des Filaments. Die Mechanismen, die in Aufbau und Rotation der Archaellen eine Rolle spielen, sind noch weitgehend unverstanden.

■ Zu dieser Fragestellung untersuchten C.-L. Tsai *et al.* (Nat Microbiol (2020) 5:216–225) die Rolle der archaellen Proteine FlaF und FlaG insbesondere von *Sulfolobus acidocaldarius*, die essenziell für die Bildung eines funk-

tionellen Archaellums sind. Sie zeigen, dass sowohl FlaF als auch FlaG in das Periplasma transportiert und dort partiell prozessiert werden. Beide Proteine formen einen Komplex im Periplasma, der durch FlaF effektiv an die starre Zellwandstruktur des S-Layers in *Sulfolobus* binden kann. Mutanten, in denen die Bindung zwischen FlaF und dem S-Layer unterdrückt wird oder denen die Hauptkomponente des S-Layers fehlt, bilden zwar noch ein Archaellum, dies ist jedoch nicht mehr beweglich. Generell benötigen alle rotierenden Motoren, ob biologisch oder technisch, zwei Hauptkomponenten: die rotierende Komponente, den Rotor, und eine statische Komponente, den Stator, um zwischen diesen ein Drehmoment zu erzeugen. Die Ergebnisse lassen vermuten,

dass der FlaF-FlaG-Komplex das Periplasma zwischen Basalstruktur im Cytoplasma und S-Layer in der Zellwand überbrückt und damit durch die feste Verankerung in der Zellhülle das bisher unbekannte statische Element des Motors bilden könnte.

→ *Die Nanomaschinen der Typ-IV-Pili und Archaellen besitzen eine Reihe einander ähnliche Hauptkomponenten und etliche Gemeinsamkeiten im Aufbau; dennoch haben sich daraus faszinierenderweise komplett unterschiedliche Mechanismen der Bewegung entwickelt. Diese Studie ist ein großer Schritt hin zum Verständnis der Funktionsweise des Archaellums und der Frage, wie die Unterschiede im Mechanismus zustande kommen.*

Kai Thormann ■

Intrazelluläre Stickstoffquellen des Tuberkulose-Erregers

Der Metabolismus pathogener Erreger kann maßgeblich zum Erfolg einer Infektion beitragen. Hierbei setzen die Bakterien häufig spezifische Stoffwechselwege ein, die ihnen ein Überleben unter starker Konkurrenz beispielsweise im Darm oder im Inneren einer Immunzelle ermöglichen. Beispiele hierfür sind die Nutzung von Ethanolamin oder Inosit durch Salmonellen oder die Verstoffwechslung von Glycerol durch Listerien.

■ Eine Gruppe um John Joe McFadden von der University of Surrey in Guildford, UK, entwickelte in Zusammenarbeit mit dem Forschungszentrum Jülich (Borah K *et al.*,

Cell Rep (2019) 29:3580–3591) die ¹⁵N-flux spectral ratio-Analyse, die u. a. atomare Umlagerungen im Rückgrat von Aminosäuren zu detektieren erlaubt. Damit zeichnen die Autoren den metabolischen Fluss von ¹⁵N-Atomen aus Aminosäuren, die eine Wirtszelle *Mycobacterium tuberculosis* zur Verfügung stellt, nach. Sie können belegen, dass intrazelluläre Tuberkulose-Erreger insbesondere Glutamin, aber auch Glutamat, Aspartat, Alanin, Glycin und Valin aus dem Zellinneren von Makrophagen assimilieren können, Serin aber selbst herstellen müssen. Da die markierten Stickstoff-Atome jeder einzelnen dieser Aminosäuren in einen spezifischen Pool von

de novo synthetisierten Aminosäuren eingebaut werden, sprechen die Autoren der Studie von einem kompartmentalisierten Metabolismus von *M. tuberculosis*.

→ *Dies ist die erste systematische Studie zum Stickstoffmetabolismus eines Pathogens während seiner Replikation in Makrophagen. Als ein wichtiges Ergebnis kann auch die intrazelluläre Attenuation (Abbruch der Transkription) einer Serin-auxotrophen Mutante von *M. tuberculosis* angesehen werden, was zur Identifikation des Enzyms Phosphoserin-Transaminase als Zielmolekül für ein mögliches neues Anti-Tuberkulose-Medikament führte.*

Thilo M. Fuchs ■

(p)ppApp-Produktion als Waffe in bakterieller Kriegsführung

Ein weitverbreitetes Alarmon zur bakteriellen Anpassung an Nährstoffmangel und Stress ist das von RSH-Proteinen synthetisierte polyphosphorylierte Guanin-Ribonukleotid (p)ppGpp. Die erste Synthetase des seit langem in der Literatur kursierenden Adenin-Derivats (p)ppApp entdeckten nun S. Ahmad *et al.* (Nature (2019) 575:674–678) und beschrieben sie als neues sekretiertes Toxin in interbakteriellem Gefecht.

■ Pathogene *Pseudomonas aeruginosa* PA14 haben einen Wachstumsvorteil, wenn sie das mittels TypVI-Sekretionssystem ausgeschleuste Tas1-Protein produzieren. Erst Strukturanalysen des Tas1-Toxins im Komplex

mit dem Anti-Toxin Tis1 offenbaren die starke Ähnlichkeit von Tas1 zu (p)ppGpp-produzierenden RSH-Enzymen. Doch entgegen den Erwartungen produziert Tas1 nicht (p)ppGpp, sondern (p)ppApp – und zwar rasend schnell: Ein Molekül Tas1 konvertiert 180.000 ATP-Moleküle pro Minute zu (p)ppApp. Da ATP ein zentraler Energieträger in der Zelle ist, kann angenommen werden, dass derartige ATP-Schwund schwerwiegende Konsequenzen für anabolische Prozesse und die zelluläre Vitalität hat. Doch was ist die Funktion des (p)ppApp-Moleküls *per se*? Die Autoren zeigen, dass es einen Komplex mit dem (p)ppGpp-bindende Protein PurF bildet, der die Purinbiosynthese hemmt. Auf Grund der

strukturellen Ähnlichkeit wird vermutet, dass (p)ppApp und (p)ppGpp an die gleichen Zielproteine binden und so überlappende physiologische Prozesse beeinflussen.

→ *Vor dieser Studie hätte niemand die Synthese eines Nukleotid-basierten Signalmoleküls in die Riege der für Bakterien tödlichen Toxine eingeordnet. Nun stellt sich die Frage, ob Tas1 als neues anti-Metabolit-Antibiotikum Anwendung finden könnte. Spannend bleibt auch zu klären, ob Hydrolasen existieren, die (p)ppApp zur Regeneration von ADP spalten, und zu welchem Zweck einige Bakterien (z. B. *Bacillus subtilis*) (p)ppApp offensichtlich als Teil ihrer Physiologie produzieren.*

Natalia Tschowri ■

► Kultivierung vernachlässigter Bakterien mit neuartigen Eigenschaften

Kultivierung vernachlässigter Bakterien mit neuartigen Eigenschaften

Die wenigsten Bakterien sind im Labor kultivierbar. Daher werden hauptsächlich kultivierungsunabhängige Ansätze verwendet, um erste Rückschlüsse über die Lebensweise nicht-kultivierter Bakterien zu erlangen. Da die Züchtung von Bakterien in Reinkultur eine weitaus umfassendere Charakterisierung der Lebensweise von Bakterien ermöglicht, ist dies das Ziel vieler Wissenschaftler.

■ Nun gelang es einem internationalen Team unter der Leitung von Christian Jogler von der Universität Jena, das wenig erforschte Phylum der Planktomyceten um 79 kultivierte Isolate aus unterschiedlichen aquatischen Lebensräumen und verschiedenen geografischen Lokalisationen zu erweitern (Wiegand S et al., *Nat Microbiol* (2020) 5:126–140). Sie iden-

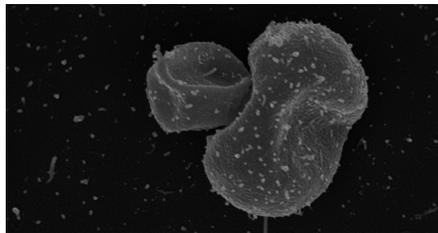


Abb.: Laterale Knospung: Eine neue Form der Zellteilung. Bild: Christian Jogler.

tifizierten nah verwandte Bakterienstämme in nahezu allen untersuchten Lebensräumen, was auf eine Omnipräsenz dieser Bakterien im aquatischen Milieu schließen lässt.

Mittels mikroskopischer Untersuchungen beschrieben sie mit der lateralen Knospung eine neue Form der Zellteilung sowie zwei un-

terschiedliche Mechanismen der Zellteilung bei ein und demselben Organismus. Die Analyse der Genominformationen der kultivierten Bakterien offenbart ein sehr heterogenes Phylum und erlaubt erste Hypothesen über potenziell neuartige Mechanismen, die der Zellteilung, der Ausprägung der charakteristischen Zellform und der Signaltransduktion zu Grunde liegen.

→ *Analysen der Genomsequenzen ermöglichen erste Einsichten in das Potenzial der Bakterien, bisher unbeschriebene niedermolekulare Substanzen mit möglicherweise vielversprechenden pharmakologischen Eigenschaften herzustellen. Diese, durch bioinformatische Untersuchungen, aufgestellten Hypothesen gilt es in nachfolgenden Studien zu verifizieren.*

Eric J. N. Helfrich ■

Prof. Dr. Wolfgang Wohlleben, Universität Tübingen, Interfaculty Institute of Microbiology and Infection Medicine (IMIT), Auf der Morgenstelle 28, wolfgang.wohlleben@biotech.uni-tuebingen.de

Prof. Dr. Jochen Graw, Unterschleißheim, jochen.graw@tum.de

Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Roland Benz, Jacobs University Bremen, Campusring 1, D-28759 Bremen, r.benz@jacobs-university.de

Dr. Johannes Sander, Falkenstraße 87, D-58553 Halver, jtmsander@gmx.de

Dr. habil. Jonathan Wolf Mueller, Institute of Metabolism and Systems Research (IMSR), University of Birmingham, Birmingham B15 2TT, UK, j.w.mueller@bham.ac.uk

Prof. Dr. Christoph von Ballmoos, Universität Bern, Department für Chemie und Biochemie, Freiestraße 3, CH-3012 Bern, christoph.vonballmoos@dcb.unibe.ch

Prof. Dr. Martin R. Thanbichler, Fachbereich Biologie, Universität Marburg, Hans-Meerwein-Straße 4, D-35043 Marburg, thanbichler@uni-marburg.de

Dr. habil. Gottfried Wilharm, Robert Koch Institut, Burgstraße 37, D-38855 Wernigerode, WilharmG@rki.de

Prof. Dr. Kai Thormann, Universität Gießen, Institut für Mikro- und Molekularbiologie, Heinrich-Buff-Ring 26, D-35392 Gießen, Kai.Thormann@mikro.bio.uni-giessen.de

Prof. Dr. Thilo M. Fuchs, Friedrich-Loeffler-Institut, Naumburger Str. 96 a, D-07743 Jena, thilom.fuchs@fli.de

Dr. Natalia Tschowri, HU Berlin, Institut für Biologie, Philippstraße 13, D-10115 Berlin, natalia.tschowri@hu-berlin.de

Dr. Eric J. N. Helfrich, Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard Medical School, 240 Longwood Ave., 02115 Boston, USA, Eric_Helfrich@hms.harvard.edu

■ Autoren aus der jGBM

Miriam Herbert, Life & Medical Sciences (LIMES) Institut, Carl-Troll-Straße 31, D-53115 Bonn, miriam.herbert@uni-bonn.de

Daniela Kruck, Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Neurophysiologie, Carl-Neuberg-Straße 1, D-30625 Hannover, kruck.daniela@mh-hannover.de