

Was sich Einzeller zuflüstern

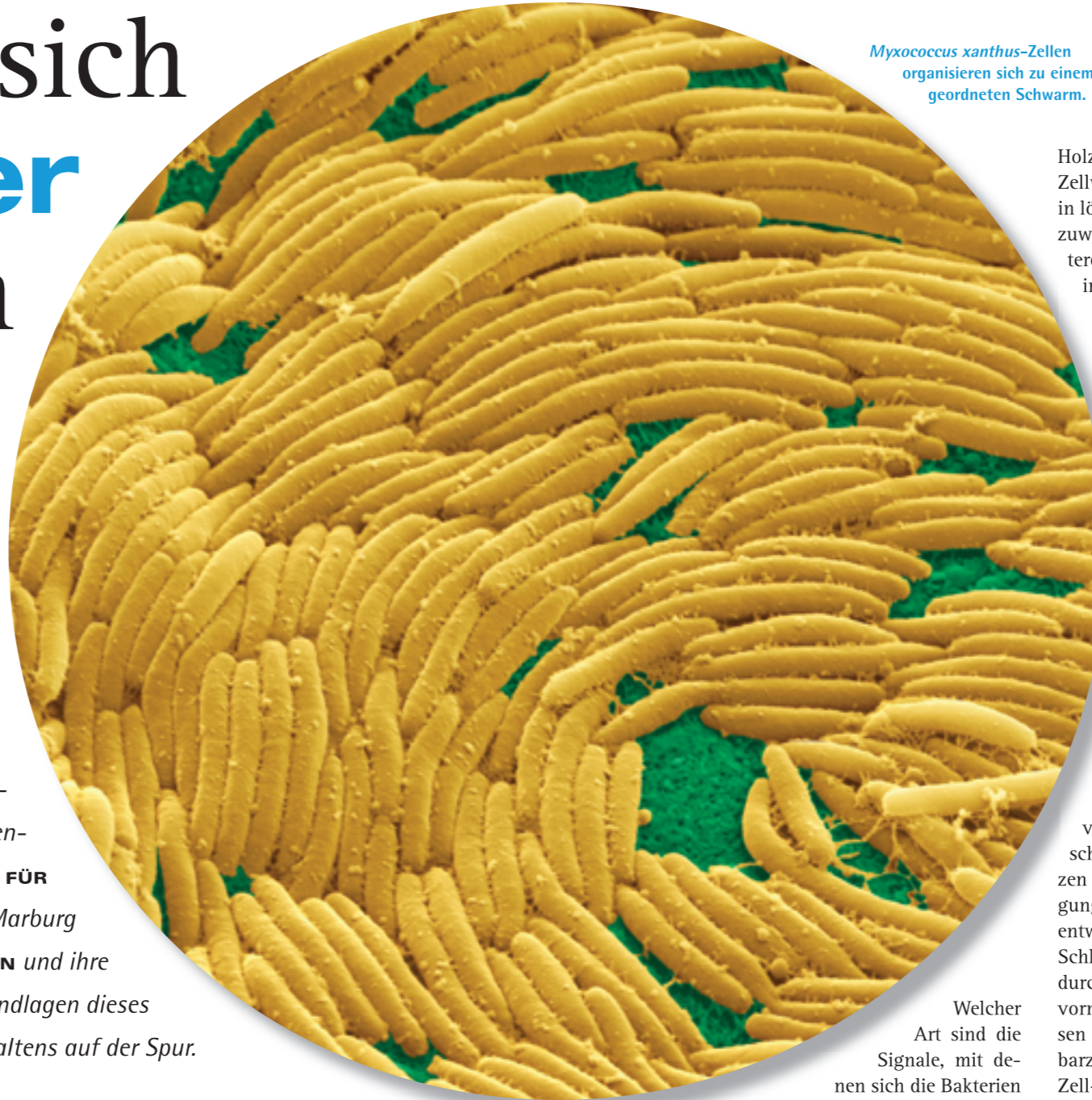
Sie sind bisweilen mit bloßem Auge zu erkennen: kleine gelb-orange gefärbte kugelige Strukturen. Bei genauerem Hinsehen entpuppen sie sich als eine Ansammlung unzähliger Bakterien der Gattung *Myxococcus*. Die Fähigkeit, bei Nahrungsknappheit solche Fruchtkörper bilden zu können, erfordert ein ausgeklügeltes interzelluläres Kommunikationssystem – schließlich müssen hunderte Einzelzellen koordiniert zusammenwirken. Am **MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR TERRESTRICHE MIKROBIOLOGIE** in Marburg sind **LOTTE SØGAARD-ANDERSEN** und ihre Mitarbeiter den molekularen Grundlagen dieses komplexen Sozialverhaltens auf der Spur.

Bakterien sind Einzeller und pflegen eher ein Single-Dasein. Als autonome Individuen folgen sie ihrem eigenen Programm und legen auf Kommunikation untereinander keinen großen Wert – so die bisherigen Vorstellungen. Doch diese Sichtweise musste in den vergangenen Jahrzehnten revidiert werden: Tatsächlich können Bakterien miteinander kommunizieren, sowohl innerhalb einer Art als auch zwischen verschiedenen Arten. Sie tauschen

dabei keine Worte miteinander aus, sondern Signalmoleküle. Es handelt sich also um eine chemische Kommunikation. Und es gibt eine Vielzahl typischer bakterieller Prozesse, wie die Infektion von Menschen, Tieren und Pflanzen oder die Stimulation des Pflanzenwachstums, die entscheidend von der Kommunikationsfähigkeit der Bakterien abhängen.

Meine Arbeitsgruppe am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg bearbeitet

Fragen zur Kommunikation von Bakterien an einem einzigartigen interzellulären Signalsystem von *Myxococcus xanthus*. Innerhalb der Myxobakterien ist *M. xanthus* am besten untersucht. Die Sequenzierung seines Genoms wurde vor Kurzem abgeschlossen. Das erlaubt uns, funktionelle Genomanalysen detailliert durchzuführen. Wir haben also die Möglichkeit, das soziale Verhalten dieses Bakteriums tatsächlich auf molekularer Ebene zu erforschen.



Myxococcus xanthus-Zellen organisieren sich zu einem geordneten Schwarm.

Holz, abgestorbene Pflanzen oder die Zellwände von Bakterien und Pilzen in lösliche Stoffwechselprodukte umzuwandeln. Doch das eigentlich Interessante ist, dass Myxobakterien immer wieder die Grenze zwischen Einzellern und vielzelligen Organismen überschreiten: Solange es Nährstoffe in ausreichender Menge gibt, wachsen die stäbchenförmigen Bakterien als Einzelzellen und bilden auf festen Oberflächen sich gemeinschaftlich ausbreitende und ernährende Kolonien. Diese Schwärme aus Tausenden von Zellen werden durch interzelluläre Signale zusammengehalten. Bei Nährstoffmangel bilden sie jedoch einen vielzelligen Fruchtkörper.

Ihre Fähigkeit, sich zu bewegen und diese Bewegung zu regulieren, erlaubt den Zellen von *M. xanthus* sich so unterschiedlich zu formieren. Sie besitzen zwei unterschiedliche Fortbewegungsmechanismen: Sie können sich entweder durch die Abgabe von Schleim nach vorne schieben oder durch fadenförmige Strukturen nach vorne ziehen, indem sie sich mit diesen sogenannten Pili an eine Nachbarzelle anheften (das erfordert Zell-Zell-Kontakte und funktioniert daher nur in großen Gruppen und Schwärmen). Allerdings ist eine effektive Fortbewegung nur möglich, wenn sich die beiden Antriebssysteme an den entgegengesetzten Zellpolen befinden. Will die Zelle ihre Bewegungsrichtung umkehren, so muss sie deren Aktivität gleichzeitig an den jeweils entgegengesetzten Zellpol verlagern.

Bei der Fruchtkörperbildung strömen die Zellen etwa vier bis sechs Stunden nach Beginn des Hungerzustands zusammen und bilden erste kleine Aggregationszentren. Diese

vergrößern sich durch Hinzukommen weiterer Zellen und türmen sich auf. Schließlich entstehen symmetrische Hügel. Nach etwa 24 Stunden ist der Aggregationsprozess abgeschlossen. Die entstandenen Fruchtkörper enthalten jetzt an die hunderttausend dicht gepackte Zellen. Alle hungrigen Zellen besitzen das Potenzial, sich zu einer Spore zu entwickeln. Aber nur Zellen im Innern der Fruchtkörper differenzieren sich zu Sporen, Zellen außerhalb bleiben stäbchenförmig oder lösen sich auf. Nährstoffmangel sowie andere chemische und physikalische Stressfaktoren können den Sporen nichts anhaben – und das sichert das Überleben der *Myxococcus*-Zellen auch unter widrigen Bedingungen.

CHEMISCHE KOMMANDOS – DAS ABC DER BAKTERIEN

Sobald wieder ausreichend Nährstoffe vorhanden sind, keimen die Tausenden von Sporen zu stoffwechselaktiven Zellen aus und erzeugen so auf einen Schlag eine neue, sich gemeinschaftlich ausbreitende und ernährende Kolonie von Bakterienzellen. Der Fruchtkörper stellt also sicher, dass der neue vegetative Zyklus mit einer großen Zellgemeinschaft und nicht nur mit einer Einzelzelle beginnt. Doch damit es zur Fruchtkörperbildung kommt, müssen die Zellen untereinander Signale austauschen, auf deren Basis ihre Aktivitäten dann koordiniert und synchronisiert werden.

Welcher Art sind diese interzellulären Signale? Zwei von ihnen wurden bisher biochemisch sowie funktionell untersucht: das A- und das C-Signal. Das A-Signal gibt gleichsam das Startzeichen für die Fruchtkörperbildung, nachdem sich die Zellen etwa zwei Stunden im Hungerzustand befunden haben. Es ist Teil eines Systems, das die Zelldichte der hungernden Zellen misst. Und es garantiert, dass die Fruchtkörperbildung

Welcher Art sind die Signale, mit denen sich die Bakterien verständigen? Wie werden sie ausgegeben, empfangen und schließlich beantwortet? Um zu verstehen, wie die Zellen miteinander kommunizieren, müssen wir alle vier Stufen dieses Kommunikationsprozesses analysieren.

ÜBERLEBENSSTRATEGIE IN HUNGERZEITEN

Myxobakterien leben in den oberen Bodenschichten, wo sie sich von organischem Material und anderen Mikroorganismen ernähren. Sie scheiden Enzyme aus, um verrottendes

Foto: Jürgen Berger, MPI für Entwicklungsbiologie

nicht eingeleitet wird, bevor eine genügend große Zahl an Zellen hungert. Denn die Fruchtkörperbildung ist ein kostspieliger Prozess, da letztendlich nur etwa 10 bis 20 Prozent der Zellen zu Sporen differenzieren. Das A-Signal-System soll deshalb sicherstellen, dass die Zellen den Weg der Fruchtkörperbildung nur dann einschlagen, wenn der Hungerzustand wirklich schwerwiegend ist.

Das C-Signal tritt erst in Aktion, wenn die Zellen diesen Kontrollpunkt erfolgreich passiert haben. Es koordiniert drei verschiedene Prozesse: Zunächst löst es die Aggregation von Zellen zu Fruchtkörpervorläufern aus, trommelt die Zellen also quasi zusammen. Wie das geschieht, werden wir noch sehen. In der späten Phase der Fruchtkörperbildung startet das C-Signal dann die Sporulation, also die Umwandlung der Zellen, die sich im Innern der Fruchtkörper angehäuft haben, zu widerstandsfähigen Sporen. Gleichzeitig schaltet das C-Signal eine Vielzahl von Entwicklungsgenen an. Diese werden nun abgelesen und der Abschrift folgend die entsprechenden Proteine produziert.

SIGNALÜBERTRAGUNG NUR BEI KÖRPERKONTAKT

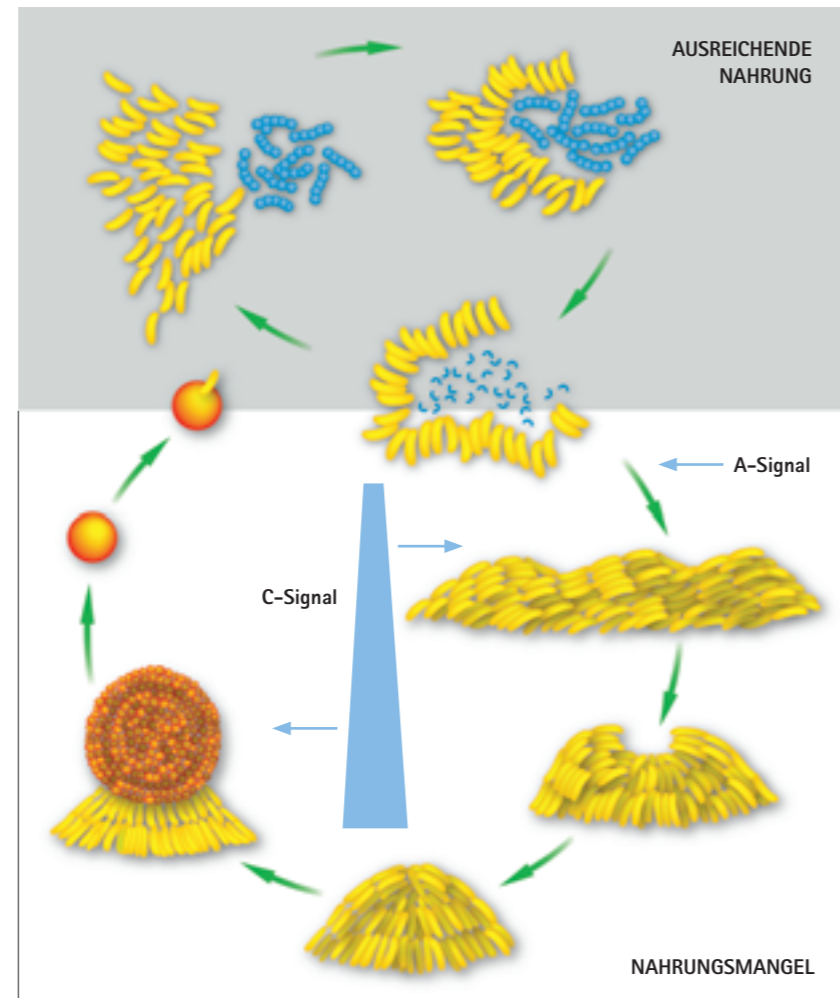
Um zu verstehen, wie ein Signal drei verschiedene Prozesse koordiniert, die zeitlich und räumlich voneinander getrennt sind, haben wir uns zunächst auf die Aufklärung des Signalwegs konzentriert. Was passiert hier im Detail? Zunächst muss das C-Signal hergestellt werden – wie schon gesagt, unterhalten sich Bakterien nicht mit Worten, sondern mit Molekülen. Die Synthese des C-Signalmoleküls hängt vom sogenannten *csqA*-Gen ab. Interessanterweise existiert das entsprechende Protein in zwei Formen: einer Langversion, die eine Masse von 25 Kilodalton hat und deshalb als p25 bezeichnet wird, und einer kürzeren Variante von nur 17 Kilodalton, als p17 bezeichnet. Wir konnten zeigen, dass p17 das eigentliche C-Signal darstellt. Es wird mithilfe eines Enzyms aus p25 he-

rausgeschnitten und dann in der äußeren Membran der Bakterienzelle verankert. Beim C-Signal handelt es sich also um ein nicht diffusionsfähiges, auf der Zelloberfläche lokalisiertes Protein.

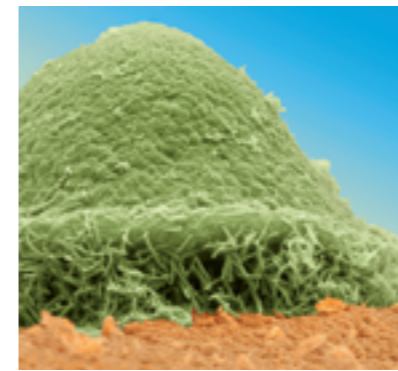
Das überrascht insofern, als die meisten interzellulären Signale, die in Bakterien identifiziert wurden, kleine diffusionsfähige Moleküle mit einer Masse von weniger als 1000 Dalton sind. Sie sind in der Regel Teil eines Quorum-Messsystems, das den Bakterien hilft, ihre Populationsgröße abzuschätzen: Wenn die Zelldichte in der Bakterienkolonie zunimmt, häufen sich die von den Bakterien abgegebenen Sig-

nalmoleküle nämlich an. Wird ein bestimmter Schwellenwert überschritten, so wird eine Signalkaskade ausgelöst, in deren Verlauf die unterschiedlichsten Gene geschaltet werden. Um beispielsweise zu verhindern, dass der Wirtsorganismus frühzeitig auf den Befall mit Bakterien reagiert, können diese durch ein Quorum-Messsystem die Produktion von Virulenzfaktoren solange hinauszögern, bis die Zahl der Zellen hoch genug ist, um eine wirksame Infektion auszulösen.

Warum verwendet *M. xanthus* ein Zelloberflächen-assoziiertes anstelle eines frei diffusionsfähigen Signalmoleküls? Die Antwort: Das Bakte-



Bei ausreichend Nahrung organisieren sich *Myxococcus xanthus*-Zellen zu Schwärmen, die sich gemeinschaftlich bewegen und ernähren (unter anderem von anderen Bakterien). Bei Nahrungsmangel aggregieren die Zellen und bilden schließlich einen mit Sporen vollgepackten Fruchtkörper. Diese keimen bei entsprechendem Nahrungsangebot wieder aus. Der Lebenszyklus wird durch das A-Signal und – in Abhängigkeit von den erreichten Schwellenwerten – durch das C-Signal gesteuert.



In Zeiten von Nahrungsknappheit bildet *Myxococcus xanthus* vielzellige Fruchtkörper.

FOTO: JÜRGEN BERGER, MPI FÜR ENTWICKLUNGSBIOLOGIE

rium ist einfach zu langsam! Die Zellen können sich nur mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeit von zwei bis fünf Mikrometern pro Minute fortbewegen (das entspräche einer Strecke von maximal sieben Millimetern am Tag). Diese Geschwindigkeit ist so gering, dass die wegweisenden Signale eines diffusionsfähigen Signals verfliegen wären, bevor die Zellen sich im Konzentrationsgradienten, also an der unterschiedlichen Konzentration des Signals an unterschiedlichen Stellen, orientieren könnten. Um dieses Problem zu umgehen, hat sich *M. xanthus* ein Signalmolekül zugelegt, das sich – weil in der Zellmembran verankert – zwangsläufig mit der gleichen Geschwindigkeit wie die Zelle selbst bewegt. Es erlaubt den Zellen, sich neu zu orientieren, ohne die Richtungswahrnehmung zu verlieren.

Für die Übertragung des C-Signals müssen zwei Zellen allerdings in direkten Kontakt miteinander treten. Das Empfängermodul, also der C-Signal-Rezeptor auf der Empfängerseite, konnte bislang noch nicht identifiziert werden. Die erste Komponente auf Empfängerseite, die wir kennen, ist ein DNA-bindendes Protein, FruA genannt. Das schon erwähnte A-Signal startet mit der Abschrift des Gens die Synthese des Proteins, das C-Signal löst vermutlich seine Phosphorylierung (durch Anhängen einer Phosphatgruppe) aus. Das nehmen wir zumindest an, auch wenn das entsprechende Enzym (eine Kinase) noch nicht identifiziert wurde. Denn Phosphorylierung ist ein weit verbreiteter Mechanismus, um Proteine zu aktivieren.

An dieser Stelle verzweigt sich das Signalsystem. Es können nun zwei verschiedene Wege eingeschlagen werden: Ein Weg führt zur Aggregation. Dabei wird ein Protein verändert, das im Verbund mit anderen Proteinen das Verhalten der Bakterienzelle reguliert, genauer gesagt kontrolliert es seine Umkehrfrequenz. Normalerweise wechseln *M. xanthus*-Zellen nämlich ihre Bewegungsrichtung. In Zellen jedoch, in denen das C-Signal geschaltet ist, sinkt die Zellumkehrfrequenz und diese bewegen sich direkt auf das Aggregationszentrum zu. Der zweite Weg führt zur Sporulation. C-Signal und FruA regulieren dabei gemeinschaftlich etwa 50 verschiedene Gene und indirekt auch die Expression eines Sporulationsgens.

ANREGENDE UNTERHALTUNG MIT NACHBARZELLEN

Die Aggregation geht der Sporulation voraus: Die Zellen beginnen erst mit der Sporulation, wenn der Aggregationsprozess abgeschlossen ist – und dazu müssen sich die Zellen innerhalb der Fruchtkörper in hoher Dichte angereichert haben. Da das C-Signal sowohl die Aggregation als auch die Sporulation kontrolliert, stellt sich also die Frage, wie es diese beiden Prozesse zeitlich und räumlich koordiniert. Der Mechanismus funktioniert vergleichsweise einfach. Wir konnten zeigen, dass Aggregation und Sporulation bei unterschiedlichen Schwellenwerten ausgelöst werden. Die Verstärkung des C-Signals erfolgt dabei über zwei Regelkreise: Bei zunehmender Zelldichte treten immer mehr Nachbarzellen untereinander in Kontakt und übertragen ihr C-Signal. Das führt in der Empfängerzelle zu einer verstärkten Abschrift des *csqA*-Gens und so zu einer vermehrten Bildung des C-Signals. Die Zelle kann nun ihrerseits verstärkt das C-Signal auf ihre Nachbarn übertragen. Alle an der C-Signalübertragung beteiligten Zellen werden somit einer stetig steigenden Signalaktivität ausgesetzt, die bei mittlerem Signallevel zunächst die

Aggregation und bei höherem Level dann die Sporulation einleitet.

Dieser Mechanismus stellt sicher, dass die C-Signalaktivität die Zelldichte und damit auch die Position der einzelnen Zelle widerspiegelt. Nur die Zellen im Innern des Fruchtkörpers verfügen über eine hinreichende Anzahl von Kontakten mit Nachbarzellen. Nur bei ihnen wird die hohe Signalaktivität erreicht, die schließlich zur Umwandlung in eine Spore führt. Mithilfe des C-Signals kann eine Zelle also ihre Position relativ zu anderen Zellen entschlüsseln und die Genexpression und Sporulation entsprechend ihrer Position anpassen.

Um den ganzen C-Signalweg verstehen zu können, versuchen wir nun im Labor die weiteren Komponenten zu identifizieren. Dazu gehören vor allem die Protease, die das Protein p25 zum eigentlichen C-Signalmolekül p17 zurechtschneidet, der C-Signal-Rezeptor und die Kinase, die das Protein FruA phosphoryliert. ●



FOTO: PRIVAT

PROF. DR. LOTTE SØGAARD-ANDERSEN, 48, hat das Bakterium *Myxococcus xanthus* quasi zu ihrem Haustierchen auserkoren. Sie befasst sich mit der Kommunikation der Bakterien untereinander, der Weiterleitung der Signale in der Zelle, den morphogenetischen Zellbewegungen sowie der Fähigkeit der Bakterien zur Musterbildung. Die gebürtige Dänin ist seit 2004 Direktorin am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg. Zuvor hatte sie eine Professur an der Universität Southern Denmark inne.



FOTO: PRIVAT

DR. CHRISTINA BECK, 42, hat Biologie in Hamburg studiert und ihre Doktorarbeit Mitte der 1990er-Jahre am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried angefertigt – seither kennt sie sich mit Einzellern aus. Seit 1998 arbeitet sie als Wissenschaftsredakteurin im Pressereferat der Max-Planck-Gesellschaft und schreibt dort unter anderem regelmäßig für die MAXPLANCKFORSCHUNG. Ein besonderes Anliegen ist ihr, die Wissenschaft an die Schulen zu bringen – mit der MAX-Reihe; der BIOMAX stammt aus ihrer Feder.