

- ▶ Eine bakterielle Leucht-Uhr
- ▶ *Dinoroseobacter shibae*: ein phototrophes Bakterium als Partner von Dinoflagellaten
- ▶ Das Neandertaler-Genom entschlüsselt: Elemente des Neandertaler-Genoms sind auch in modernen Menschen vorhanden
- ▶ Genomweite SNP-Analyse zur Genotypisierung von MRSA-Isolaten



Lothar Jaenicke<sup>1</sup> Jochen Graw<sup>2</sup>

## Eine bakterielle Leucht-Uhr

**Biologische Rhythmik arbeitet wie eine altmodische Uhr. Als Energiespender enthält sie die treibende Feder, die über ein Zahnradwerk auf das Gleichmaß regelnde Pendel (die „Unruhe“) wirkt, eine Art negative Rückkopplungsschleife. Sie erzeugt bei jedem Einrasten eine „Verspätung“, die wiederum als Pulserzeuger für den nächsten Pendelschlag dient. Analog sind die „inneren Uhren“ konstruiert. Diese müssen aus gleichem Grund gegenüber der „realen“ (Sonnen)Zeit nachgehen, damit sie täglich „nachgestellt“ werden können. Wie man so etwas bei Mikroorganismen „engineeren“ kann, zeigen T. Dani- no *et al.* (Nature (2010) 463:326–330).**

■ Für einen Biooszillator braucht man einen „Repressilator“ (aus drei negativ zum Kreis rückgekoppelten Genen) und einen „Ozillato-

tor“ (in dem ein Gen seine eigene Expression und die eines anderen, das wiederum das erste Gen reprimiert, aktiviert). Das Ganze wird durch einen „Metabolator“ getrieben. Dieses Konstrukt hat Schwächen, denn Frequenz und Amplituden lassen sich nicht regeln. Das wird möglich, wenn eine positive und eine negative Rückkopplungsschleife eingebaut werden. Die Bio-Uhrmacher konnten so regelfähige Bio-Uhren bauen, allerdings, da jede Zelle ihre eigene Uhr hat, ohne „Funksignal“ aus der Zentrale.

Die Autoren haben Zellen synchronisiert, indem sie vom *Quorum-Sensor*-Kommunikationssystem der *E. coli*-Zellen Gebrauch machten. Das Prinzip beruht darauf, dass die Zellen dauernd einen Signalstoff (auf der Grundlage von diffusiblen Acyl-Homoserinlactonen (AHL)) abgeben. Dadurch erkennen sie die Größe ih-

rer Population und eine dadurch gegebene Möglichkeit, diese synerg zur optimierten Stoffwech- selung und Vermehrung zu nutzen.

Im Experiment wurde AHL mit dem Rezeptor LuxR gekoppelt. LuxR startet den positiven Kopplungskreis auf LuxI, das wiederum AHL synthetisiert. LuxI wird durch eine DNA-Promotorsequenz  $P_{luxI}$  angetrieben. LuxI/AHL ist die „Unruhe“, indem es die Bildung der AHL-inaktivierenden Lactonase AiiA aktiviert. Es ist zugleich mit der Expression eines Grünfluoreszenz-Systems yemGFP verknüpelt.

→ Die Verknüpfung von positiven und negativen Kopplungsschleifen erzeugt Pulse von AHL, die die Zeitgeber dieser biomolekularen Uhr sind. Dadurch empfangen und senden alle *E. coli*-Zellen im Milieu zur gleichen Zeit und strahlen in rhythmischem Fluoreszenzlicht.

Lothar Jaenicke ■

## *Dinoroseobacter shibae*: ein phototrophes Bakterium als Partner von Dinoflagellaten

**Betrachtete man sie ursprünglich als Exoten unter den phototrophen Bakterien, so sind sie heute als häufige und weit verbreitete Vertreter in den Ozeanen bekannt. Die Rede ist von aeroben anoxygenen phototrophen Bakterien, einer physiologisch vielseitigen, chemoheterotrophen Gruppe mit *Roseobacter* als bekanntestem Vertreter.**

■ Zu dieser Gruppe zählt auch *Dinoroseobacter shibae*, von dem jetzt das Genom komplett sequenziert wurde (Wagner-Döbler *et al.*, ISME J (2010) 4:61–77). *Dinoroseobacter* kommt in der Natur zusammen mit einer Rei-

he von weit verbreiteten marinen Mikroalgen vor und wurde von dem benthischen Dinoflagellaten *Prorocentrum lima* isoliert, auf dessen Oberfläche das Bakterium siedelt. Daher wurde auch bei der Genomanalyse besonders nach Hinweisen gesucht, die auf spezifische symbiotische Eigenschaften deuten. Dazu zählt sicherlich die Fähigkeit, die Vitamine  $B_1$  und  $B_{12}$  zu synthetisieren, beides Wachstumsfaktoren für den Dinoflagellaten. Gleich für zwei Synthesewege von  $B_{12}$  gibt es genetische Vorlagen. Dadurch wird das Bakterium zu einem wichtigen Partner für den Dinoflagellat, der die Vitamine direkt vom Bakterium beziehen kann.

Andererseits wächst, wie vielfach in syntrophischen Beziehungen, *Dinoroseobacter* auf Kohlenstoffsubstraten, die die Dinoflagellaten ausscheiden.

→ Auch wenn das Genom von *Dinoroseobacter* wichtige Hinweise auf physiologische Wechselwirkungen mit Dinoflagellaten geliefert hat, so bleiben Fragen nach spezifischeren, über syntrophe Beziehungen hinausgehende Interaktionen offen. Da mikroskopische Aufnahmen zeigen, dass *Dinoroseobacter* sich an der Zelloberfläche des Dinoflagellaten anheften kann, hat möglicherweise das Genom noch nicht alle Geheimnisse preisgegeben.

Johannes F. Imhoff ■

1 Institut f. Biochemie, Universität zu Köln, Zülpicher Straße 47, D-50674 Köln

2 Helmholtz Zentrum München – Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt GmbH, Ingolstädter Landstraße 1, D-85764 Neuherberg, graw@helmholtz-muenchen.de

3 Wolfson Institute for Biomedical Research, University College London, The Cruciform Building, Gower Street, GB-London WC1E 6BT, c.schmitt@ucl.ac.uk

4 MPI für Biochemie, Am Klopferspitz 18, D-82152 Martinsried, engelhar@biochem.mpg.de

5 Pharmazeutische Mikrobiologie, Meckenheimer Allee 168, D-53115 Bonn, sahl@microbiology-bonn.de

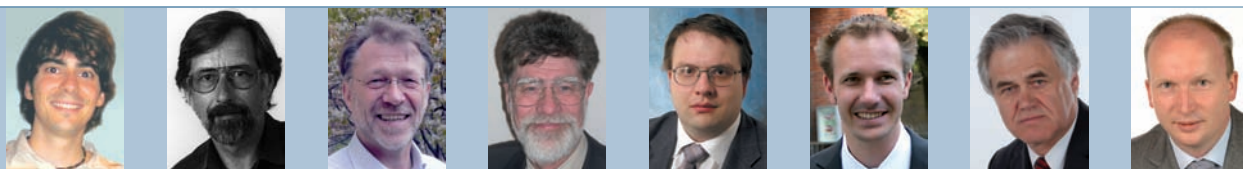
6 Marine Mikrobiologie, Leibniz-Institut für Meereswissenschaften IFM-GEOMAR, Düsternbrooker Weg 20, D-24105 Kiel, jimhoff@ifm-geomar.de

7 Falkenstraße 87, D-58553 Halver, jtmsander@gmx.de

8 Genetics and Neurobiology of *C. elegans*, Jean-Louis Bessereau Laboratory, I.N.S.E.R.M. U. 789, Ecole Normale Supérieure, 46, rue d’Ulm, F-75 005 Paris, stiglohe@biologie.ens.fr

9 Universitätsklinikum Münster, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Domagkstraße 10, D-48149 Münster, georg.peters@uni-muenster.de

10 Universitätsklinikum Münster, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Domagkstraße 10, D-48149 Münster, kbecker@uni-muenster.de



Christoph Schmitt<sup>3</sup> Harald Engelhardt<sup>4</sup> Hans-Georg Sahl<sup>5</sup> Johannes F. Imhoff<sup>6</sup> Johannes Sander<sup>7</sup> Christian Stigloher<sup>8</sup> Georg Peters<sup>9</sup> Karsten Becker<sup>10</sup>

## Das Neandertaler-Genom entschlüsselt: Elemente des Neandertaler-Genoms sind auch in modernen Menschen vorhanden

**Die Neandertaler sind die engsten Verwandten des modernen Menschen und lebten in weiten Teilen Europas und Westasiens, bevor sie vor etwa 30.000 Jahren ausgestorben sind. Dabei teilten sie sich in der späten Phase ihren Lebensraum mit dem modernen Menschen und seit langem wird darüber spekuliert, ob es in dieser Phase zu einem Austausch genetischen Materials gekommen sein könnte. Die bisherigen Vergleiche des mitochondrialen Genoms gaben allerdings keinen Hinweis darauf. Ein großes internationales Konsortium unter der Federführung von Svante Pääbo (Leipzig) hat jetzt – basierend auf drei Individuen – einen ersten „Entwurf“ für das Kerngenom des Neandertalers vorgelegt und mit dem von fünf modernen Menschen verglichen (Green RE *et al.*, *Science* (2010) 328:710–722).**

■ Dabei lassen sich theoretisch zwei Fragen klären: Haben „wir“ noch Gemeinsamkeiten mit den Neandertalern und welche Gene des modernen Menschen unterliegen einer positiven Selektion? Die Frage der Gemeinsamkeiten wird mit etwa 1–4 Prozent beantwortet – und dieses Ergebnis ist wohl nicht ganz vereinbar mit der Hypothese, dass alle modernen Menschen auf eine kleine afrikanische Population zurückgehen, die sich ohne Vermischung mit früheren hominiden Formen über die Erde ausgebreitet hat. Die Frage nach der positiven Selektion kann mit der Neandertaler-Sequenz auch in einem ersten Ansatz beantwortet werden: Es gibt 78 Nukleotid-Substitutionen in Protein-codierenden Bereichen, an denen sich das Genom des modernen Menschen von dem des Neandertalers und des Schimpansen unterscheidet; insgesamt sind es fünf Gene, in denen mehr als eine fixierte Substitution die Primärstruktur des Ur-Gens verändert.

→ *Die Veröffentlichung des Neandertaler-Genoms ist ein Meilenstein in der noch jungen Disziplin der Paläogenetik. Die Schwierigkeiten bei der Isolation der DNA aus fossilen Knochen und die Vermeidung von Kontaminationen stellen eine enorme technische Herausforderung dar. Diese ersten Daten erlauben dennoch schon bedeutende Schlussfolgerungen, die unsere bisherigen Vorstellungen von „klaren Verhältnissen“ bei unseren Vorfahren doch etwas relativieren.*

Jochen Graw ■

## Genomweite SNP-Analyse zur Genotypisierung von MRSA-Isolaten

**Typisierungsverfahren konnten bisher den Spagat zwischen paralleler Nachverfolgung von makro- und mikroevolutionären Veränderungen nur eingeschränkt lösen. Gerade für Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme (MRSA) wäre eine Zuordnung von Patientenisolaten zu globalen Linien sowie eine gleichzeitige Analyse von Infektionsketten bis hinunter in Krankenhausabteilungen ideal.**

■ Als heterogene Spezies mit klonaler Populationsstruktur besitzt *S. aureus* günstige Voraussetzungen zur Genotypisierung. Harris *et al.* (*Science* (2010) 327:469–474) sequenzierten genomweit SNPs (*single nucleotide polymorphisms*; DNA-Sequenzvariationen einzelner Basenpaare unter Angehörigen einer Spezies) in einer globalen Kollektion von

ST239-Isolaten, einer der häufigsten nosokomialen MRSA-Linien in Asien. Mit unter einem Prozent war der Anteil von gleichen, aber unabhängig voneinander evolvierten SNPs bemerkenswert gering. Neben einer klaren geografischen Zuordnung spiegelte sich deutlich die interkontinentale Ausbreitung von ST239 wider. Ausgehend von einer geschätzten Mutationsrate von  $3,3 \times 10^{-6}$  pro SNP und Jahr konnte der Ursprung dieser MRSA-Linie in die 1960er Jahre datiert werden – einer Zeit, in der Europa die erste MRSA-Welle verzeichnete. In einer zweiten, siebenmonatigen Kollektion von innerhalb eines Krankenhauses übertragenen MRSA offenbarte sich auch auf mikroevolutionärer Ebene eine erstaunliche SNP-Divergenz mit einer Mutationsrate von etwa einem SNP in sechs Wochen.

→ *Moderne Hochdurchsatz-Sequenzierungsverfahren eröffnen neue Perspektiven auch für die molekulare Epidemiologie. Erstmals ist mit vertretbarem Aufwand ein nahezu vollständiges Abdecken der mikro- und makroevolutionären Dynamik von MRSA (und anderen klonal strukturierten Mikroorganismen) zu erreichen. Essenziell wird hierbei die rasche Einführung einer einheitlichen und brauchbaren Nomenklatur sein.*

Karsten Becker und Georg Peters ■

- ▶ Schweine-Peptide gegen *Pseudomonas aeruginosa*
- ▶ Struktur der V-Typ-ATPase von *Thermus thermophilus*
- ▶ Insulinresistenz des Endothels begünstigt Arteriosklerose
- ▶ Unter Kontrolle: Montage der Rubisco aus Cyanobakterien
- ▶ Netzwerk im Netzwerk – die präsynaptische Zytomatrix

## Schweine-Peptide gegen *Pseudomonas aeruginosa*

**Neue Antibiotika mit neuen Wirkmechanismen werden dringend benötigt, um die weit verbreiteten Resistenzen zu umgehen, doch hat sich die Suche nach wirklich Neuem als äußerst schwierig herausgestellt. Antimikrobielle Peptide, die von jedem Lebewesen als wichtige Komponente der angeborenen Infektabwehr genutzt werden, gelten seit Langem als vielversprechende Kandidaten, aber bisher konnten auch hier keine nennenswerten Erfolge erzielt werden.**

■ N. Srinivas *et al.* (*Science* (2010) 327:1010–1013) berichten über zyklische Peptidomimetika, die sich von Protegrin I ableiten, einem anti-

mikrobiellen Peptid des Schweins. Diese Mimetika besitzen nicht mehr das breite antimikrobielle Wirkungsspektrum des Protegrins, das auf unspezifischer Zerstörung von Membranen beruht. Sie sind stattdessen mit hoher Aktivität und Spezifität gegen *Pseudomonas aeruginosa* wirksam. Die Effektivität beruht auf einem neuartigen Wirkmechanismus über LptD, einem integralen Protein der äußeren Membran. LptD spielt eine essenzielle, bisher nicht vollständig verstandene Rolle in der Biosynthese des Lipopolysaccharids (LPS) Gram-negativer Bakterien; seine Inhibierung durch die Protegrin-Mimetika führte zur Synthese eines modifizierten, nicht voll funktionsfähigen LPS. Die

Identifizierung von LptD als Target gelang durch Analyse hochresistenter Mutanten, bei denen eine Peptidinsertion in *lptD* den Verlust der Antibiotikabindung bewirkte.

→ *Die Entwicklung Spezies-spezifischer Antibiotika ist aus medizinischer Sicht wünschenswert, aber angesichts hoher Entwicklungskosten und vergleichsweise reduzierter Anwendungsmöglichkeiten meist unökonomisch. Die besondere Wirksamkeit der neuen Peptidomimetika und die höchst problematische Resistenzsituation bei Pseudomonaden könnten jedoch eine weitere Entwicklung rechtfertigen.*

Hans-Georg Sahl ■

## Struktur der V-Typ-ATPase von *Thermus thermophilus*

**A-, F- und V-Typ-ATPasen bilden eine eigenständige Klasse von ATP-Synthasen/ATPasen mit ähnlichem Grundaufbau, aber Unterschieden im Detail: Eine ATPase/ATP-Synthase-Domäne und eine ionentranslozierende Domäne sind über mehrere „Stäbe“ miteinander verbunden. Strukturen von vakuolären (deswegen aber nicht auf Vakuolen beschränkten) V-Typ-ATPasen lagen bisher nur in niedriger Auflösung oder für einzelne Untereinheiten oder Subkomplexe vor.**

■ Lau *et al.* (*Proc Natl Acad Sci USA* (2010) 107:1367–1372) ermittelten die 3-D-Struktur

der V-Typ-ATPase von *Thermus thermophilus*. Das Bakterium nutzt das Enzym zur ATP-Produktion; es stellt eine vereinfachte Variante einer eukaryotischen ATPase dar. Wahrscheinlich gelangen periplasmatische Protonen über einen Halbkanal zu einem Glu63-Rest und neutralisieren diesen, sodass er in die Lipiddoppelschicht eintreten kann. Ein im Uhrzeigersinn (Blickrichtung  $V_0 \rightarrow V_1$ ) gelegener zweiter Halbkanal erlaubt dann den Durchtritt des Protons ins Zytoplasma. Als Ort für diese Kanäle kommt eine kleine Kontaktzone zwischen der I-Untereinheit und dem L-Ring der ATPase infrage. Zwei (statt drei bei Eukaryo-

ten) periphere „Stäbe“ sind dabei so angeordnet, dass sie bei Verschiebung der I-Untereinheit eine exzentrische Kraft auf den L-Ring ausüben, sodass es zur Rotation kommt.

→ *Eukaryotische V-Typ-ATPasen sind an der intra- und extrazellulären Ansäuerung und damit z. B. der Verteilung und dem Abbau von Proteinen oder dem Schutz vor oxidativem Stress beteiligt. Extrazelluläre Ansäuerung durch V-Typ-ATPasen hat Einfluss auf Krankheiten wie Osteoporose, Tumordinvasion und -metastasierung. Erkenntnisse über ihre Struktur helfen daher, diese Prozesse besser zu verstehen.*

Johannes Sander ■

## Insulinresistenz des Endothels begünstigt Arteriosklerose

**Bei Diabetikern nimmt die Wirkung von Insulin im Gewebe ab. Welche Rolle die Insulinsensitivität einzelner Gewebe bei der Entstehung von Diabeteskomplikationen spielt, ist allerdings unklar. Forscher aus den USA fanden heraus, dass Insulinresistente Endothelzellen die Entwicklung von Arteriosklerose fördern.**

■ Insulin vermittelt seine Wirkung durch Bindung an Insulinrezeptoren. Bleibt der Rezeptor trotz Bildung von Insulin weitgehend stumm, spricht man von Insulinresistenz. Auf lange Sicht führen Insulinresistenz sowie ein erhöhter Blutzuckerspiegel bei Diabetikern zu Gefäß-erkrankungen. Die Gruppe um George King aus

Boston (USA) ging der Frage nach, ob die Insulinsensitivität von Endothelzellen, welche Blutgefäße an deren Innenwand auskleiden und auf im Blut zirkulierende Hormone wie Insulin reagieren, eine Rolle bei der Entstehung von Arteriosklerose spielt.

Die Autoren (Rask-Madsen *et al.*, *Cell Metab* (2010) 11:379–389) verwendeten ein Mausmodell für Arteriosklerose und entfernten den Tieren genetisch zudem deren Insulinrezeptoren in Endothelzellen. Auf Glukosetoleranz, Körpergewicht, Blutdruck und Blutfettwerte hatte diese Mutation keine unmittelbaren Auswirkungen.

Nach einigen Monaten häuften die Mäuse allerdings deutlich mehr Fett und Cholesterol

in der Gefäßwand an. Darüber hinaus war die Anheftung von Entzündungszellen an das Endothel erhöht. Die Gruppe fand heraus, dass dafür Adhäsionsmoleküle verantwortlich waren, deren Expression unter normalen Umständen durch das Insulin-Signal in Endothelzellen unterdrückt wird. Auf diese Weise begünstigt ein Insulin-resistentes Endothel die Entstehung von Arteriosklerose selbst in Abwesenheit weiterer Risikofaktoren wie z. B. Bluthochdruck.

→ *Die Studie zeigt auf, wo neue Therapien ansetzen müssten, um endotheliale Insulinresistenz bei Diabetikern zu lindern und so potenzielle Komplikationen zu vermeiden.*

Christoph Schmitt ■

## Unter Kontrolle: Montage der Rubisco aus Cyanobakterien

**Die Ribulose-bis-Phosphat-Carboxylase/Oxygenase (Rbc) der oxygenen phototrophen Organismen besteht aus acht großen und acht kleinen Untereinheiten: RbcL<sub>8</sub>-RbcS<sub>8</sub>. Ihre funktionelle Form erhält sie unter Beteiligung des Chaperonins GroEL/ES und eines Proteins RbcX (Saschenbrecker S *et al.*, Cell (2007) 129:1189–1200), dessen Rolle C. Liu *et al.* (Nature (2010) 463:197–202) jetzt in einem *In-vitro*-System und mithilfe von Kryo-Elektronenmikroskopie aufklärten.**

■ Das Protein RbcL benötigt zur korrekten Faltung GroEL/ES. Während sich in anoxygenen Phototrophen spontan aktive Dimere (Rubisco II) bilden, bleibt RbcL des Typs I

wegen eines flexiblen C-Terminus monomer und GroEL verhaftet. Erst wenn das Dimer RbcX<sub>2</sub> den Peptidstrang in einer hydrophoben Tasche bindet und „ordentlich“ faltet, fügen sich zwei RbcL-RbcX<sub>2</sub>-Komplexe antiparallel zusammen, wobei jedes RbcX<sub>2</sub> beide RbcL verklammert. Vier dieser Moleküle bilden die Zwischenform RbcL<sub>8</sub>-(RbcX<sub>2</sub>)<sub>8</sub> des Herzstücks der Rubisco I. Nun assoziiert pro RbcL das kleinere Protein RbcS, es ändert die Konformation der großen Untereinheit und bewirkt dadurch die Ablösung des Helferpaars RbcX<sub>2</sub>. Faltung und Zusammenbau des Holoenzym sind hier eng miteinander verkoppelt und durch Proteine kontrolliert. Die Beteiligung spezifischer Assemblierungs-Chaperone könnte ein

Prinzip für die Synthese komplexer Oligomere sein.

→ Die Autoren zeigen mit ihren Ergebnissen, wie eines der wichtigsten Enzyme der Biosphäre in Form gebracht wird. Dies war möglich, weil sie die Oligomerbildung *in vitro* auflaufen ließen und ihnen so die entstehenden Zwischenformen zugänglich waren. Die Rubisco ist ein schlecht arbeitendes Enzym, weil sie neben CO<sub>2</sub> auch das in der Atmosphäre 550-mal häufigere O<sub>2</sub> umsetzt. Die Autoren möchten deshalb die katalytische Effizienz durch Protein-Engineering steigern, und dafür ist es nützlich, die *in-vitro*-Synthese der Rubisco im Griff zu haben.

Harald Engelhardt ■

## Netzwerk im Netzwerk – die präsynaptische Zytomatrix

**Die zytologische Organisation der neuronalen Synapsen ist seit mehreren Jahrzehnten Gegenstand intensiver elektronenmikroskopischer Forschung. In den 1980er Jahren wurde die Zytomatrix als Bestandteil der Ultrastruktur der Präsynapse in Vertebraten beschrieben. Dabei handelt es sich um eine filamentartige Struktur, die synaptische Vesikel netzwerkartig verbindet. Im letzten Jahrzehnt wurde diese Zytomatrix mithilfe von in drei Dimensionen isotropisch hochauflösenden EM-tomografischen Techniken analysiert. R. Fernández-Busnadiego *et al.* (J Cell Biol (2010) 188:145–156) vom Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried haben in Zusammenarbeit mit Kollegen vom MRC-Labor im englischen Cam-**

**bridge nun Pionierarbeit anhand einer präzisen Beschreibung der Zytomatrix mittels kryo-elektronentomografischer Methoden in Synaptosomen und organotypischen Gewebeschnitten der Ratte geleistet.**

■ Bei der Kryo-Elektronentomografie werden die Proben tiefgefroren und dann ohne zusätzliche Kontrastierungen im Elektronenmikroskop betrachtet. Ein Hauptbestandteil der Zytomatrix sind die als *connectors* bezeichneten Verbindungen zwischen den synaptischen Vesikeln. Sie wurden für die Analyse automatisch segmentiert und so umfassend quantifizierbar gemacht. In der Umgebung des funktionalen Zentrums der Synapse, der aktiven Zone, sind mehr als 80 Prozent der synaptischen Vesikel durch *connectors* verbunden. Sie überspan-

nen meist die kürzeste Verbindung zwischen den Vesikeln.

Die Autoren analysierten auch Strukturen, die die synaptische Zellmembran mit Vesikeln verbinden. Diese *tethers* stellen einen weiteren Bestandteil des präsynaptischen Netzwerks dar. Nach pharmakologischer Aktivierung konnte eine Veränderung der präsynaptischen Ultrastruktur beschrieben werden.

→ Durch die Anwendung dieser Techniken wird ein umfassender Blick auf die strukturellen Eigenschaften der präsynaptischen Zytomatrix eröffnet, der wiederum zusammen mit den pharmakologischen Studien interessante Hypothesen für die funktionellen Rollen dieser Strukturen anbietet.

Christian Stigloher ■