

Zellbiologie

Planctomyceten – außergewöhnlich, aber bakteriell: ein Paradigmenwechsel

SANDRA WIEGAND, CHRISTIAN JOGLER
RADBOUD UNIVERSITÄT NIJMEGEN, NIEDERLANDE

Amongst the kingdom bacteria, the phylum Planctomycetes is most conspicuous. Planctomycetes seemed to lack the universal bacterial peptidoglycan cell wall, while their cytosol appeared compartmentalized, including a nucleus-like structure. Thus, Planctomycetes were seen as ‘missing link’ between pro- and eukaryotes. However, with the advent of genetic tools for this phylum, recent results led to a paradigm shift: Planctomycetes are the most exceptional bacteria, but bacteria after all.

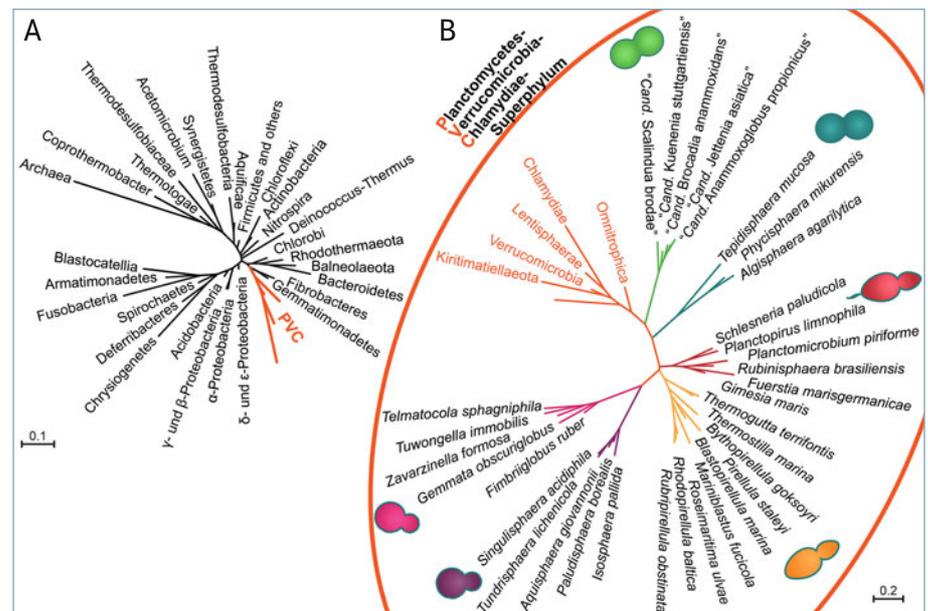
DOI: 10.1007/s12268-018-0958-x
© Die Autoren

■ Von 30 der bekannten bakteriellen Phyla sind Reinkulturen verfügbar, sodass nur diese Phyla umfassend experimentell zellbiologisch, physiologisch und genetisch charakterisiert werden können. Unter diesen Phyla sind die Planctomyceten besonders bemerkenswert [1]. Sie bilden unter anderem mit den Chlamydiae das PVC-Superphylum (**Abb. 1**), dabei könnten die beiden Phyla vordergründig nicht unterschiedlicher sein. Wie es typisch für pathogene Bakterien ist, sind Chlamydien auf ihren Wirt spezialisiert, können nicht frei leben und haben ein kleines, reduziertes Genom. Im Gegensatz dazu sind Planctomyceten das Schweizer Taschenmesser unter den Umweltbakterien. Sie kommen ubiquitär in nahezu allen Habitaten vor, haben große, komplexe Genome und verfügen über außergewöhnliche Stoffwechsellösungen [2].

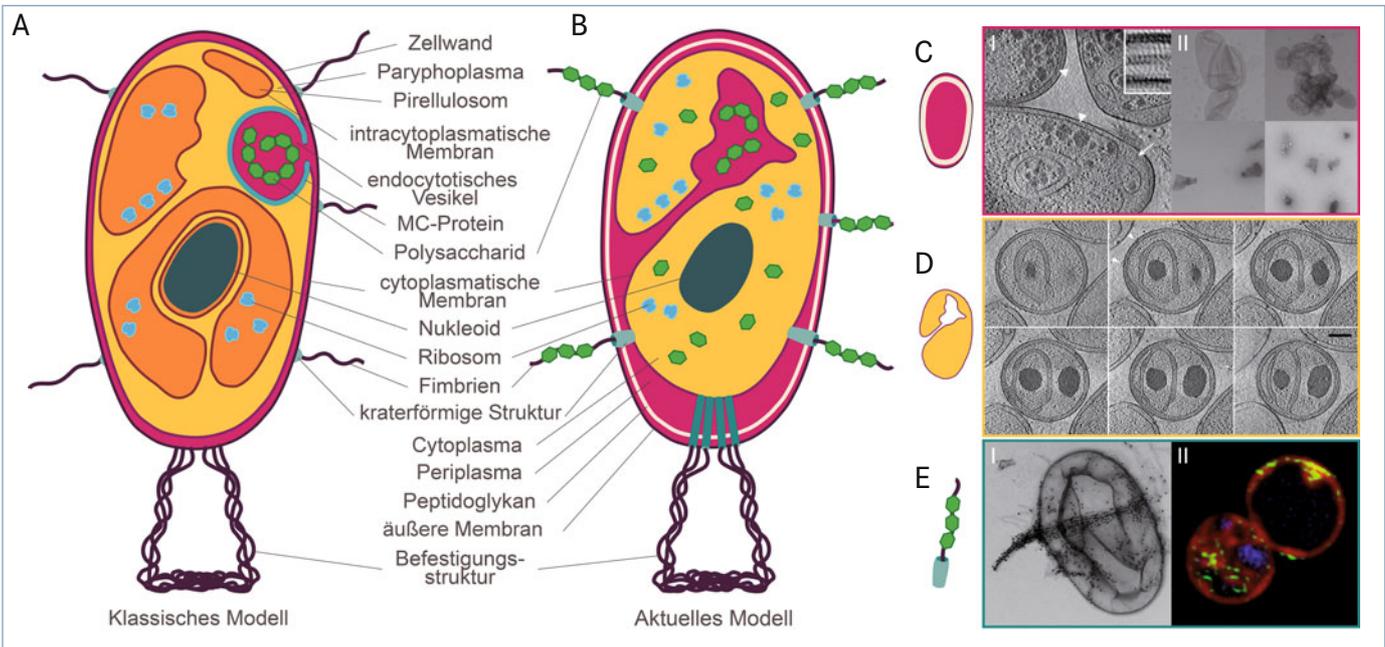
Planctomyceten sind auf Oberflächen in aquatischen Habitaten besonders verbreitet. So kann die bakterielle Gemeinschaft in Biofilmen auf Makroalgen beispielsweise zu mehr als 70 Prozent aus Planctomyceten bestehen. Während im Erdreich eukaryotische Pilze den Abbau organischer Moleküle dominieren, sind diese in aquatischen Habitaten deutlich weniger erfolgreich. Es ist vorstellbar, dass in diesen Habitaten Planctomyceten die ökologische Rolle der Pilze erfüllen [2]. So können Planctomyceten vielfältige komplexe Kohlenstoffverbindungen, wie etwa

Chitin, abbauen. Außerdem enthalten ihre bis 12,4 Megabasen großen Genome unter allen Bakterien die meisten *hypothetical proteins* und bergen so ein noch unbekanntes metabolisches Potenzial [1].

Trotz der Gegensätze zwischen den minimalistischen Chlamydien und den generalistischen Planctomyceten haben beide Gruppen die Andersartigkeit ihrer Zellteilung gemeinsam. Normalerweise teilen alle bakteriellen Phyla wesentliche Aspekte ihrer Biologie: den Aufbau der Zelle, die Grundlagen der Translation und Transkription und die Zellteilung. Letztere beruht im Wesentlichen auf demselben molekularen Mechanismus: Zwölf essenzielle Proteine bilden das Divisom, wobei das dem Tubulin homologe Strukturprotein FtsZ die zentrale Rolle einnimmt. Ohne FtsZ kann sich keine natürliche bakterielle Zelle teilen – keine, außer die Zellen von Chlamydien und Planctomyceten. Auch zehn der anderen essenziellen bakteriellen Zellteilungsproteine fehlen den Planctomyceten [2]. Lediglich FtsK – ein Protein, das als „am wenigsten essenziell“ für die bakte-



▲ **Abb. 1:** Phylogenie und Zellteilung der Planctomyceten. **A**, Stark kondensierter phylogenetischer Baum der Bakterien, beruhend auf 16S-rRNA-Genen (*All-Species Living Tree Project*, LTPs132_SSU, Juni 2018 [7]). **B**, Taxonomie des Planctomycetes-Verrucomicrobia-Chlamydiae (PVC)-Superphylums mit speziellem Augenmerk auf die bekannten planctomycetalen Typstämme und ausgewählte Anreicherungskulturen. Die einzelnen monophyletischen Gruppen lassen sich unter anderem durch ihre verschiedenen Zellteilungsmechanismen unterscheiden. Während die meisten isolierten Vertreter sich durch Knospung (rot, orange, pink, lila) vermehren, teilen sich die tiefer abzweigenden Gruppen – typisch bakteriell – durch binäre Spaltung (grün, türkis).



▲ Abb. 2: Zellbiologie der Planctomyceten vor und nach dem Paradigmenwechsel. **A**, klassisches Modell der planctomycetalen Zelle: Kompartimentierung unterteilt das Cytoplasma in Paryphoplasma und Pirellulosom. In *Gemmata* soll das Nukleoid zusätzlich von Membranen umgeben sein. Eine Peptidoglykanschicht fehlt, und die Zelle ist von einer Proteinhülle umgeben. Komplexe Makromoleküle können mittels Endocytose aufgenommen werden. **B**, aktuelles Modell der planctomycetalen Zellbiologie: Der Grundaufbau der planctomycetalen Zelle ist typisch Gram-negativ, mit einer äußeren Membran, einer Zellwand aus Peptidoglykan und einer Cytoplasmamembran (C, I: Kryo-Elektronentomographie (KET) der planctomycetalen Zellohülle zeigt diese drei Schichten; II: Präparation von Peptidoglykansakkuli (oben), die durch Lysozym zerstört werden können (unten) [4]). **D**, Außergewöhnlich sind die Invaginationen in das Cytoplasma, die den periplasmatischen Raum vergrößern. **E**, Einige Arten bilden mithilfe von kleinen kraterförmigen Strukturen (Poren) einen Stiel und eine Befestigungsstruktur aus. Die Aufnahme von Makromolekülen erfolgt möglicherweise mithilfe der Fimbrien und großen kraterförmigen Strukturen (I: Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)-Analyse von *Planctopirus limnophila*; goldmarkiertes hochmolekulares Dextran bindet an die Fimbrien). Im periplasmatischen Raum werden Makromoleküle eingelagert (II: grün fluoreszierendes Dextran in *super-resolution*-Mikroskopie [5]), abgebaut und Monomere über die Cytoplasmamembran transportiert.

rielle Zellteilung gilt – wird von allen bis heute bekannten Planctomyceten codiert.

Der Ablauf der planctomycetalen Zellteilung ist dabei durchaus unterschiedlich (**Abb. 1**). Einige Gruppen vermehren sich wie andere Bakterien durch Zweiteilung (**Abb. 1**). Im Gegensatz dazu bilden die meisten Vertreter der Planctomyceten Knospen aus, ein Mechanismus, der ansonsten nur bei wenigen Proteobakterien beobachtet werden kann. Die Diversität der planctomycetalen Vermehrung spiegelt sich ebenfalls in deren Morphologie (rund bis länglich) wider. Einige Vertreter des Phylums durchlaufen sogar einen dimorphen Lebenszyklus. Ein ähnlicher Lebenszyklus ist vom gut charakterisierten Proteobakterium *Caulobacter* bekannt. Im Gegensatz zu diesem Modellorganismus ist der Stiel z. B. von *Planctopirus limnophila* nicht von der Zellohülle umgeben, sondern wird von kraterförmigen Strukturen (Poren) gebildet – Strukturen, die einzigartig unter allen bekannten Bakterien sind (**Abb. 2**).

Kontroverse Interpretationen

Neben den genannten unstrittigen Einzigartigkeiten in der planctomycetalen Biologie

gab es noch weiter reichende Betrachtungsweisen: Im Gegensatz zu eukaryotischen Zellen ist das Cytosol von Bakterien meist nicht unterteilt, ein Zellkern fehlt, und ihre Zellwand besteht aus Peptidoglykan. Planctomyceten galten lange als Ausnahme von dieser Regel. Ihr Cytosol erschien kompartmentalisiert, und eine zellkernartige Struktur sowie die Trennung von Transkription und Translation wurden postuliert (**Abb. 2A**). Darüber hinaus erschien die Abwesenheit einer Zellwand aus Peptidoglykan in Zusammenhang mit planctomycetalen *membrane coat-like proteins* Endocytose zu ermöglichen (**Abb. 2A**). Folglich wurden Planctomyceten als *missing link* zwischen der pro- und eukaryotischen Zelle gesehen [2].

Der Paradigmenwechsel

Erste Zweifel an dieser Interpretation entstanden durch den gleichzeitigen, unabhängigen Nachweis einer Peptidoglykanschicht bei verschiedenen Planctomyceten-Arten durch Gruppen in Nijmegen [3] und Braunschweig [4]. So gelang es, planctomycetale Peptidoglykansakkuli zu isolieren, die durch Lysozym verdaut werden konnten [4]. Mittels

Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC-MS) wurde Diaminopimelinsäure nachgewiesen, ein diagnostischer Marker für Peptidoglykan [4]. Die einzelnen Zuckerbestandteile wurden in einem Kinase-Assay nachgewiesen, und modernste bildgebende Verfahren, wie beispielsweise die Kryo-Elektronentomographie, erlaubten die Visualisierung der Peptidoglykanschicht [4].

Für weiter reichende Analysen musste zunächst ein wichtiges Hindernis überwunden werden: Planctomyceten galten als genetisch nicht manipulierbar. Nachdem wir die grundlegenden genetischen Werkzeuge für dieses Phylum entwickelt hatten, konnten wir eine Mutante von *Planctopirus limnophila* (unserem Modellorganismus) konstruieren, die grün fluoreszierendes Protein (GFP) im Cytosol akkumuliert. Mittels (*super-resolution*-)Lichtmikroskopie konnten wir zeigen, dass die vermeintlichen Kompartimente im Cytosol in Wirklichkeit zusammenhängende Einstülpungen der Cytoplasmamembran darstellen [5]. Diese Beobachtungen wurden elektronenmikroskopisch verifiziert.

Verschiedene Planctomyceten verfügen demnach über ein vergrößertes Periplasma;

ihr Cytosol weist allerdings keine Kompartimentierung auf [5]. Weiterhin konnten wir zeigen, dass der Aufbau der planctomycetale Zelle im Wesentlichen allen anderen Gram-negativen Bakterien gleicht. So wurde beispielsweise die äußere Membran bildgebend, bioinformatisch und proteinbiochemisch nachgewiesen [5]. Vor diesem Hintergrund erschien eine planctomycetale Endocytose schwer vorstellbar. Um Gewissheit zu erlangen, erzeugten wir eine Deletion des *membrane coat-like protein*, das zuvor mit der Endocytose in Verbindung gebracht wurde [5]. Die Mutante konnte immer noch fluoreszenzmarkierte Makromoleküle, die eigentlich zu groß waren, um über die äußere Membran transportiert zu werden, innerhalb von Minuten aktiv aufnehmen. Erste Hinweise deuten darauf hin, dass Planctomyceten ein einzigartiges Zusammenspiel aus kraterförmigen Strukturen und Fimbrien nutzen, um große Makromoleküle in das erweiterte Periplasma zu transportieren, wo diese dann abgebaut werden (Abb. 2, [5]). Die außergewöhnlichen Abbauleistungen der Planctomyceten könnten daher dem erweiterten Periplasma und einem einzigartigen Aufnahmemechanismus geschuldet sein [5].

Neben unseren Arbeiten wurden in den letzten Jahren weitere Hinweise gefunden, dass Planctomyceten zwar außergewöhnliche Bakterien sind, aber keine Mischung aus Pro- und Eukaryoten [2]. Auch nach dem Paradigmenwechsel sind Planctomyceten Ausnahmemebakterien, die noch viele Überraschungen bereithalten.

Die Zukunft der Planctomyceten in der Anwendung

Die planctomycetale Zellbiologie – vor allem die Zellteilung – ist unstrittig ein wichtiger Aspekt der zukünftigen Forschung an diesem Phylum. Darüber hinaus rückt auch die biotechnologische Nutzung von Planctomyceten

immer weiter in den Fokus: Anammox-Stämme sind seit Jahren biotechnologisch im Einsatz, um Abwässer durch die Anammox-Reaktion von Ammonium und Nitrit zu befreien [6]. Enzyme von Planctomyceten wurden erfolgreich biotechnologisch eingesetzt, und immer mehr Hinweise deuten auf Planctomyceten als Produzenten neuartiger bioaktiver, kleiner Moleküle hin [2]. Selbst erste Hinweise auf die Produktion von Antibiotika wurden erbracht [2]. Vor dem Hintergrund der aktuell verzweifelten Suche nach neuen Antibiotika ist in diesem Bereich ein weiterer wesentlicher Aspekt der zukünftigen Forschung an Planctomyceten zu sehen.

Danksagung

Wir danken all unseren Kooperationspartnern, ohne die der beschriebene Paradigmenwechsel undenkbar gewesen wäre. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (JO 893/1-1 bis 4-1) und der Volkswagenstiftung (Experiment! Nr. 89256) danken wird für die großzügige Förderung. ■

Literatur

- [1] Overmann J, Abt B, Sikorski J (2017) Present and future of culturing bacteria. *Annu Rev Microbiol* 71:711–730
- [2] Wiegand S, Jogler M, Jogler C (2018) On the maverick Planctomycetes. *FEMS Microbiol Rev*, doi: 10.1093/femsre/fuy029
- [3] van Teeseling MC, Mesman RJ, Kuru E et al. (2015) Anammox Planctomycetes have a peptidoglycan cell wall. *Nat Commun* 6:6878
- [4] Jeske O, Schüler M, Schumann P et al. (2015) Planctomycetes do possess a peptidoglycan cell wall. *Nat Commun* 6:7116
- [5] Boedeker C, Schuler M, Reintjes G et al. (2017) Determining the bacterial cell biology of Planctomycetes. *Nat Commun* 8:14853
- [6] Kartal B, de Almeida NM, Maalcke WJ et al. (2013) How to make a living from anaerobic ammonium oxidation. *FEMS Microbiol Rev* 37:428–461
- [7] Yarza P, Richter M, Peplies J et al. (2008) The All-Species Living Tree project: a 16S rRNA-based phylogenetic tree of all sequenced type strains. *Syst Appl Microbiol* 31:241–250

Open Access:

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits use, duplication, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

Open access funding provided by Radboud University, Nijmegen, Netherlands.

Korrespondenzadresse:

Dr. Christian Jogler
Department of Microbiology
Faculty of Science
Radboud University Nijmegen
Heyendaalseweg 135
NL-6525 AJ Nijmegen
christian@jogler.de

AUTOREN



Sandra Wiegand

2004–2009 Studium Bioingenieurswesen in Jülich und Aachen. 2009–2013 Promotion am Göttingen Genomics Laboratory über die *Omic*s verschiedener Bacilli. 2013–2016 nicht-wissenschaftliche Tätigkeit im Projektmanagement. Seit Anfang 2016 als Postdoc in der Arbeitsgruppe Jogler an der DSMZ in Braunschweig und in Nijmegen, Niederlande.



Christian Jogler

Jahrgang 1977. 1997–2002 Biologiestudium an der Universität Kaiserslautern. 2002–2005 Promotion an der Universität Bochum. 2005–2006 Postdoc am Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie in Bremen. 2007–2009 Assistent von Prof. Dr. D. Schüler an der LMU München. 2010–2012 Postdoc an der Harvard Medical School, Boston, USA. 2012–2016 unabhängiger Nachwuchsgruppenleiter an der DSMZ in Braunschweig. Seit 2017 *Radboud Excellence Fellow* in Nijmegen, Niederlande.