

- ▶ Geschlechtsabhängige Unterschiede der genomweiten Rekombinationsrate
- ▶ Lauern Phagen im Darmschleim auf ihre Opfer?
- ▶ Bakteriell Hormon kontrolliert Antibiotikaproduktion
- ▶ Allianz gegen Räuber



Jochen Graw

Klaus Hantke

DOI: 10.1007/s12268-021-1577-5
© Springer-Verlag GmbH 2021

Geschlechtsabhängige Unterschiede der genomweiten Rekombinationsrate

Die Neukombination des mütterlichen und väterlichen Erbguts durch Rekombinationsvorgänge in der Prophase I der Meiose liefert einen entscheidenden Beitrag für die Diversität einer Spezies und ihre Möglichkeit, sich rasch an veränderte Umweltbedingungen anzupassen. Da es immer wieder Hinweise darauf gibt, dass Rekombinationshäufigkeiten geschlechtsspezifisch und auch zwischen verschiedenen Arten unterschiedlich sind, gingen April Peterson und Bret Payseur (Wisconsin, USA) dieser Frage bei Mäusen nach (Peterson AL, Payseur BA, *Genetics* (2021) 217:1–11).

■ Sie untersuchten dabei insgesamt 13 Mausstämmen von fünf verschiedenen Unterarten (*Mus musculus domesticus*, *M. m. musculus*, *M. m. molossinus*, *M. spretus* und *M. spicilegus*). Peterson und Payseur bestimmten in meiotischen Zellen der weiblichen und männlichen Keimbahn die Länge des synaptonemalen Komplexes mithilfe von Anti-



© iVfotostudio/gettyimages.com

körpern gegen das synaptonemale Komplexprotein 3 (SYCP3), die Häufigkeit von Chiasmata mit Antikörpern gegen das Homolog des Mutatorproteins L (*MutL protein homolog 1*, MLH1) und Doppelstrangbrüche mit Antikörpern gegen die DNA-Rekombinase DMC1. Die Autoren konnten dabei zeigen, dass Rekombinationen bei Weibchen der meisten Mausstämmen mehr Chiasmata zeigen – nur bei zwei Stämmen war diese Zahl bei den Männchen höher. Dagegen ist die Anzahl der Chiasmata bei Männchen in der Telomer-Region deutlich höher als in anderen chromosomalen Regio-

nen – dieses Phänomen beobachtet man bei Weibchen nicht. In der Regel sind bei Weibchen die synaptonemalen Komplexe länger als bei Männchen.

→ Die hier berichteten Unterschiede der Rekombinationshäufigkeit zwischen Männchen und Weibchen und auch zwischen verschiedenen Mausstämmen bedeutet für alle diejenigen, die sich mit zellulären und molekularen Mechanismen der Rekombination beschäftigen, dass geschlechts- und stammspezifische Unterschiede zu beachten sind – eine einfache Übernahme der Ergebnisse von einem Mäusestamm auf den anderen und von einem Geschlecht auf das andere sind nicht zulässig. Unterschiedliche Rekombinationsraten zwischen Neandertalern und modernen Menschen können auch eine Erklärung für das relativ große Ausmaß homozygoter Abschnitte im Genom von Neandertalern sein – und damit für deren Aussterben.

Jochen Graw ■

Lauern Phagen im Darmschleim auf ihre Opfer?

Die Phagentherapie weckt große Hoffnung im Kampf gegen multiresistente Krankheitserreger. Vor einer breiten Anwendung müssen noch Zulassungsprobleme gelöst werden. Aber auch grundlegende Fragen sind zu bearbeiten, wie Sabrina Green et al. (mBIO (2021) 12:e03474-20) erfahren mussten.

■ Der Phage HP3 tötet im Komplexmedium extraintestinal pathogene *Escherichia coli* hervorragend ab (neun Zehnerpotenzen!), und in einem Sepsis-Modell der Maus konnten die Bakterien erfolgreich bekämpft werden. Aber Versuche, die gleichen Bakterien im Mäusedarm mit diesem Phagen zu dezimieren, blieben erfolglos. Im Darm, aber nicht in den Fäzes der Mäuse, fand sich eine hemmende Aktivität, die die Effizienz der Phagenvermehrung herabsetzte. Nach einigen Klimmzügen

wurde das Mucin des Darms als hemmender Faktor identifiziert. Mucin besteht aus Glycoproteinen, die entweder in der Zellmembran verankert sind oder sekretiert zu einem Gel vernetzt als Schleimschicht die Epithelzellen des Darms vor einem direkten Kontakt mit dem Darminhalt schützen.

Das Autorenteam suchte darum Phagen, die nicht durch Mucin gehemmt werden. Der zuvor als „ineffizient“ abqualifizierte Phage ES17 infizierte im Komplexmedium mit Mucin sogar besser als im Komplexmedium ohne Mucin. Ein kloniertes Schwanzfaserprotein des Phagen ES17 bindet an Heparan-Sulfat, ein Glycosamin-Glycan, das auf Glykoproteinen vorkommt. Im Mäusedarm können die pathogenen Bakterien mit ES17 eliminiert werden. Durch Bindung an Mucin erhöht der Phage wohl die Chance, seinen bakteriellen Wirt zu

treffen, der nur eine Minorität im Mikrobiom darstellt. Unbekannt ist noch, welcher Rezeptor auf der *E. coli*-Zelle die Infektion ermöglicht.

Die Beobachtung, dass Mucine eine Rolle bei der Phageninfektion spielen, ist nicht neu, wie der Übersichtsartikel von Amanda Carroll-Portillo et al. (*Microorganisms* (2021) 9:509) zeigt. Sie stellt u. a. die Komplexität des Lebensraums „Darm“ mit den Darmabschnittspezifischen Mucinen vor.

→ Die hohe Spezifität vieler Phagen ist vorteilhaft für die Therapie, da man sehr gezielt eingreifen kann. Andererseits aber wird es schwierig, für jedes pathogene Bakterium einen geeigneten Phagen zu finden.

Klaus Hantke ■



Wolfgang Wohlleben



Christian Kost



Johannes Sander



Hanna Klimek



Khadija Aichane



Lena Brücker



Daniela Kruck



Justus Gräf

Bakterielles Hormon kontrolliert Antibiotikaproduktion

Antibiotika-produzierende Bakterien, insbesondere Aktinomyceten, besitzen oft das genetische Potenzial, eine Vielzahl von Antibiotika zu synthetisieren. Allerdings werden unter Laborbedingungen die meisten entsprechenden Biosynthese-Gencluster nicht exprimiert. Unter welchen Bedingungen die Antibiotika im natürlichen Habitat produziert werden und wie die beteiligten Regulationskaskaden aussehen, ist weitgehend unbekannt.

■ Shanshan Zhou *et al.* (Nature (2021) 590:463–467) haben nun am Modellsystem „*Streptomyces coelicolor*: Methylenomycin“ die Regulationsmechanismen einer Antibiotika-Biosynthese auf molekularer Ebene analysiert. Es war bekannt, dass ein Repressor der TetR-Familie die Expression der Biosynthesegene auf Transkriptionsebene kontrolliert. Mit molekulargenetischen und strukturbioologischen Untersuchungen zeigen Zhou *et al.*, wie ein bakterielles Hormon (2-Alkyl-4-Hydroxy-

methylfuran-3-Carboxylsäure), dessen Biosynthese auch von Genen des Methylenomycin-Genclusters vermittelt wird, an den Repressor bindet. Mit Kryo-Elektronenmikroskopie gelang es, die durch die Bindung des Hormons an den Repressor induzierte Freisetzung des Komplexes von der Operatorsequenz zu charakterisieren.

→ Diese Arbeit liefert zum ersten Mal detaillierte strukturelle Informationen zur transkriptionellen Regulation eines Antibiotika-Biosynthese-Genclusters. Dies könnte helfen, in Zukunft die Biologie dieser Regulationsprozesse besser zu verstehen und vielleicht auch neue Verfahren zu entwickeln, mit denen sich die „stillen“ Gencluster im Labor induzieren lassen. Allerdings dürfte es nicht einfach sein, die Ergebnisse zu verallgemeinern, da die meisten Biosynthesegencluster nicht durch Repressoren, sondern durch Aktivatoren kontrolliert werden.

Wolfgang Wohlleben ■

Kurz gefasst

Bakterien helfen Ameisen bei der Kutikularsynthese

■ Zahlreiche Darmbakterien (Burkholderiales, Opitutales, Pseudomonadales, Rhizobiales, Xanthomonadales) von Schildkrötenameisen (*Cephalotes varians*) recyceln Harnstoff und erlauben ihren Wirten so mit Stickstoff-armer pflanzlicher Nahrung auszukommen. Mithilfe von ¹⁵N-markiertem Harnstoff zeigten Christophe Duplais *et al.* (Nat Comm (2021) 12:676), dass die Bakterien wesentlich zur Entwicklung der Kutikula der Insekten beitragen. Markierter Stickstoff fand sich sowohl im Chitin als auch in den Proteinen der Kutikula sowie den Katecholaminen, die sich von Thyrosin ableiten und die Proteine mit dem Chitin quervernetzen. Die ungewöhnlich große Zahl der am N-Recycling beteiligten Bakterien garantiert wahrscheinlich eine stetige und ertragreiche Stickstoffversorgung.

Johannes Sander

Mutations-Hotspots bei SARS-CoV2

■ Trotz niedriger Mutationsrate sorgen Mutationen von SARS-CoV2 für große Probleme. Verantwortlich hierfür sind u. a. Deletionen, die der *proofreading*-Funktion der RNA-abhängigen RNA-Polymerase entgegen. Laut Kevin McCarthy *et al.* (Science (2021) 371:1139–1142) treten 90 Prozent dieser Deletionen – 93 Prozent davon *in-frame* – immer wieder unabhängig an vier identischen Stellen (RDRs: *recurrent deletion regions*) der N-terminalen Domäne des S-Proteins auf, die vor der eigentlichen Rezeptorbindedomäne liegt. Diesen Deletionen, die z. T. die Bindung monoklonaler neutralisierender Antikörper verhindern können, liegt offensichtlich ein gemeinsamer Selektionsdruck zugrunde. Träger solcher Deletionen sind u. a. die bekannten Varianten B.1.1.7 und B.1.351. Damit eröffnet sich die Möglichkeit, weitere Varianten vorherzusagen und frühzeitig auf sie zu reagieren.

Johannes Sander

Allianz gegen Räuber

Bakterien leben typischerweise in taxonomisch und metabolisch sehr diversen Gemeinschaften.

Viele Bakterienarten produzieren Naturstoffe, um mit anderen Mikroorganismen zu kommunizieren und zu interagieren. Jedoch bleibt die genaue ökologische Funktion der produzierten Metabolite oft unklar.

■ Die Gruppe um Pierre Stallforth am Leibniz Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie in Jena (Zhang S *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA (2021) 118: e2013759118) beschäftigte sich mit der Frage, wie sich Bodenbakterien gegen räuberische Amöben der Art *Dictyostelium discoideum* wehren. Eine Analyse von 58 aus Bodenproben isolierten Bakterienstämmen ergab, dass 30 dieser Stämme resistent gegen bakterivore Raubangriffe waren. Interessanterweise waren auch elf paarweise Ko-Kulturen der ansonsten „fressbaren“ Stämme immun gegen Angriffe

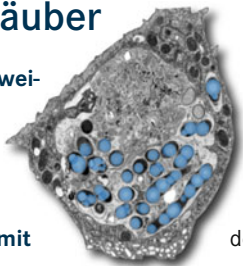


Abb.: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Amöbe *Dictyostelium discoideum*, die gerade Bakterien phagozytiert hat. Lipid-Tröpfchen (blau) dienen der Speicherung bakterieller Fettsäuren.

des Räubers. Detaillierte Untersuchungen zeigten, dass einer der beiden Partner (*Pseudomonas* sp.) den Naturstoff Syringafactin produziert. Dieser induziert im zweiten Bakterienstamm (*Paenibacillus* sp.) die Produktion einer Peptidase, die dann das Syringafactin abbaut. Die dabei entstehenden Produkte wirken stark toxisch auf *Dictyostelium discoideum* und töten diese effizient.

→ Diese Ergebnisse weisen auf eine kooperative Verteidigung zweier Bakterienstämme gegen räuberische Amöben hin. Insbesondere die Entdeckung, dass sich durch die Untersuchung ökologischer Interaktionen zwischen verschiedenen Bakterienstämmen neue Naturstoffe mit neuen Eigenschaften finden lassen, erweitert das Spektrum der Möglichkeiten bei der Suche nach pharmakologisch interessanten Biomolekülen.

Christian Kost ■

- ▶ Dreiecksbeziehung zwischen Schnecke und Endosymbionten
- ▶ Anpassung des Dünndarms an mikrobielle Enteropathogene bei unterernährten Kindern
- ▶ 3D-Gehirn-Organoid – ein neues Modell für die HIV-Neuropathogenese
- ▶ Neue Erkenntnisse über die Struktur von Primärzilien durch Kryo-ET

Dreiecksbeziehung zwischen Schnecke und Endosymbionten

Viele Tiere hydrothermaler Tiefseequellen beherbergen chemolithautotrophe Endosymbionten, mit deren Hilfe sie reduzierte anorganische Verbindungen als Energiequelle nutzen können. Hierzu gehören die Schneckengattungen *Gigantopelta* und *Chrysomalla*, die unabhängig voneinander solche Symbiosen entwickelt haben.

■ Yi Lan *et al.* (Nat Comm (2021) 12:1165) sequenzierten die Genome von *G. aegidis* und ihrer beiden Endosymbionten, einem Schwefeloxidierer (SOB) und einem Methanoxidierer (MOB: *Methylomarinum* sp.), und verglichen sie mit *C. squamiferum* und ihrem SOB-Endosymbionten. Beide Schnecken leben am Longqi-Schlot im Indischen Ozean. Spezielle Speiseröhrendrüsen beherbergen die zu den γ -Proteobakterien gehörenden Symbionten. Beide Schneckenarten besitzen viele lysosomale Gene, die wahrscheinlich beim Verdau eines Teils der Symbionten helfen. Auffallend ist der hohe Anteil an Mustererkennungsrezeptoren (PRRs) bei *G. aegidis* im Vergleich zu *C. squamiferum*. Diese dienen der Erkennung

von Pathogenen, aber auch der Interaktion mit Symbionten. Im Gegenzug exprimieren die Symbionten von *G. aegidis* und *C. squamiferum* Peptidoglykan-assoziierte Lipoproteine, die von den PRRs erkannt werden könnten. Nutzen können die Symbionten wahrscheinlich NO_3^- , NO_2^- , O_2 und H_2 sowie Methan (MOB) und $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_3^{2-} , H_2S (SOB). Die SOB von *G. aegidis* fixieren CO_2 , das die MOB bereitstellen, über den Calvin-Zyklus. Daraus ergibt sich ein interner Kohlenstoffzyklus, der die Dreierbeziehung besonders effizient macht. Anders als die SOB von *C. squamiferum* besitzen die SOB von *G. aegidis* nur einen unvollständigen Citrat-Zyklus. Wahrscheinlich empfangen sie zum Ausgleich C4-Dicarboxylate von den MOB oder der Schnecke. Wirte und Symbionten stellen sich wahrscheinlich gegenseitig einigen Aminosäuren und Vitamine zur Verfügung. → Mit zwei Partnern steht *G. aegidis* ein weiteres Spektrum an nutzbaren Substanzen zur Verfügung. Durch die Fähigkeit, auch Nitrat zu atmen, vermeiden die Symbionten wahrscheinlich bei O_2 -Mangel, in Konkurrenz zu ihrem

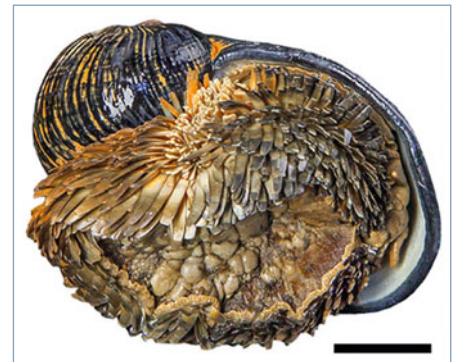


Abb.: Die Schuppenfuß-Schnecke *Chrysomallon squamiferum* vom Longqi-Schlot im Indischen Ozean. Größenmaßstab: 1 cm. Aus: Chen C *et al.*, BMC Evol Biol (2017) 17:62. CCBY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.

obligat auf O_2 angewiesenen Wirt zu treten. Eine erhöhte Zahl an Transposonen bei *G. aegidis* und seinen beiden Partnern verleiht den Genomen vermutlich die nötige Plastizität für den symbiontischen Lebensstil.

Johannes Sander ■

Anpassung des Dünndarms an mikrobielle Enteropathogene bei unterernährten Kindern

Die umweltbedingte Enteropathie ist eine chronische Entzündung des Dünndarms, die bei unterernährten Kindern in verarmten Umgebungen mit mangelnden sanitären Verhältnissen auftritt. Sind sie in den ersten Lebenswochen verschiedenen pathogenen Mikroorganismen ausgesetzt, können chronische Epithelentzündungen entstehen. Die Enteropathie äußert sich in strukturellen Veränderungen der Mukosa und der Funktionalität des Dünndarms.

■ Beatrice Amadi *et al.* (Nat Microbiol (2021) 6:445–454) beschreiben eine Studie, die zwischen August 2016 und Juni 2019 in Gemeinden in Lusaka, Sambia, durchgeführt wurde. Über 200 Kinder (bis 17 Monate alt zu Studienbeginn) mit ernährungsbedingtem Kleinwuchs wurden zwei Jahre lang begleitet. Sie bekamen täglich eine Ernährungsergänzung aus Soja-Mais-Brei, einem Ei und Mikronähr-

stoffpulver mit Vitaminen und Mineralien. Die Kontrollgruppe bildeten 46 Kinder normalen Wachstums (bis fünf Monate alt zu Studienbeginn) derselben Gemeinden.

Durchschnittlich gab es in der Kontrollgruppe eine Infektion und in der Gruppe mit ernährungsbedingtem Kleinwuchs (bis neun Monate alt) Koinfektionen mit vier Enteropathogenen. Kinder, deren Wachstum sich trotz reichhaltiger Ernährung nach sechs Monaten nicht normalisierte, wurden als nicht-reaktiv eingestuft.

Zu Beginn der Studie und zum Zeitpunkt der festgestellten Nicht-Reaktivität wurde die bakterielle Translokation vom Darmlumen in die Blutbahn anhand von Plasmakonzentrationen von Lipopolysaccharid (LPS), LPS-bindendem Protein und löslichem CD14 (sCD14) bestimmt. Dünndarm-Biopsien zeigten schwere Enteropathien. Die mikrobielle Translokation verringerte sich mit der Zeit, trotz anhalten-

der Epithelschäden und Wachstumsstörungen. Die Autorinnen und Autoren schlussfolgern daraus eine Anpassung an die Pathogen-induzierten chronischen Epithelschäden.

→ Die Ergebnisse lassen vermuten, dass eine reduzierte Absorptionsoberfläche des Dünndarms Grund für die verringerte Translokation der Bakterien sein könnte. Dies könnte die Überlebenschance kurzzeitig steigern, jedoch zum körperlichen Entwicklungsrückstand führen. Die Studie hebt die komplexe Behandlung von unterernährten Kindern hervor, da nur die Hälfte von ihnen auf die Nahrungsergänzung mit gesundem Wachstum reagiert und die Kinder frühzeitig nach der Geburt mit geeigneten Antibiotika behandelt werden müssten. Bei der Behandlung von anhaltender Mangelernährung könnte die Abheilung des Darmepithels in den Fokus rücken.

Hanna Klimek ■

3D-Gehirn-Organoid – ein neues Modell für die HIV-Neuropathogenese

Bei einer Infektion mit dem humanen Immunodefizienz-Virus 1 (HIV-1) werden Gliazellen im Gehirn infiziert, wodurch es zur Neuroinflammation und -degeneration kommt. Um die resultierende HIV-1-assoziierte neurokognitive Störung besser zu untersuchen, entwickelten R. S. dos Reis *et al.* (Sci Rep (2020) 10:15209) humane 3D-Gehirn-Organoide (hBORGs), die Neuronen und Astrozyten mit eingegliederten HIV-infizierten Mikroglia enthalten.

Die hBORGs wurden aus humanen neuronalen Vorläuferzellen (NPCs) hergestellt, die sich in verschiedene Gehirnzelltypen differenzieren und sich selbst organisieren können. Nach Einbringen von infizierten Mikroglia wurde die Modellierung der wichtigsten Merkmale der HIV-1-Neuropathologie untersucht.

Eine simultane Differenzierung von NPCs zu Neuronen und Astrozyten war genauso effizient wie ein Einzelkultur-Differenzierungsprotokoll. Die Generierung von 3D-NPC-Kulturen erfolgte durch Behandlung mit Matrigel und dem Differenzierungsmedium. Dadurch bildeten sich Neurosphären, das sind einheitliche Aggregate, mit einer durchschnittlichen Größe von etwa 370 μm . Diese zeigten eine verstärkte simultane Differenzierung in neuronale und astrozytische Linien, eine räumliche Organisa-

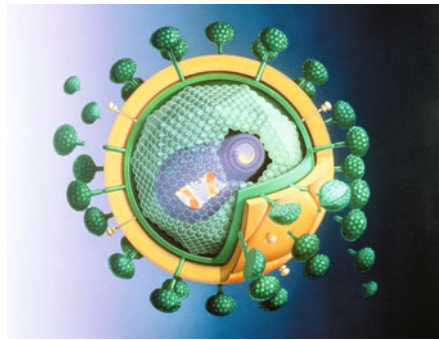


Abb.: Modell des Aids-Erregers HIV. Bild: © dpa.

tion mit komplexen zellulären Netzwerken und waren über 12 Wochen in Kultur vital. Somit wurden hBORGs in einer Hydrogel-Mikrotiterplatte im Hochdurchsatzverfahren generiert.

Anschließend wurden immortalisierte humane Mikrogliazellen (HMC3), die mit HIV-1 infiziert wurden, zu den hBORGs zugefügt, um die durch HIV-1 verursachte Neuropathologie mithilfe des Modells nachzuahmen. 24 Stunden nach der Eingliederung haften mehr als 50 Prozent der Mikroglia an den hBORGs. Diese Zelllinie zeigte die für die menschlichen Mikroglia typischen physiologischen Eigenschaften: Migration in die hBORGs, virale Replikation sowie Sekretion der Zytokine TNF- α und IL-1 β , die ein neuroinflammatorisches

Milieu schafften. Allerdings beschränkten die HMC3-Zellen die Studie aufgrund ihrer schnellen Proliferation auf bis zu 15 Tage. Daher wurden stattdessen primäre Mikroglia aus dem postmortalen humanen Gehirn eingesetzt. Auch diese infiltrierten die hBORGs und wiesen die oben genannten Eigenschaften auf. Während die Inkorporation von *mock*-infizierten Mikroglia keinen Einfluss auf die Zytotoxizität der hBORGs hatte, führte eine Eingliederung von HIV-1-infizierten Mikroglia zu einer fünffachen Erhöhung der Zytotoxizität. Weiterhin wurde der Verlust von Neuronen, eine Astrozytose und ein Rückgang der synaptischen Integrität beobachtet. All dies sind Merkmale der HIV-assoziierten Neuropathologie bei Patienten mit schweren HIV-1-assoziierten neurokognitiven Störungen.

→ Die hBORGs stellen damit ein alternatives und physiologisch akkurates Modell zur Untersuchung von Wirt-Virus-Interaktionen und zur Aufklärung molekularer Mechanismen während der Neuropathogenese dar. Zukünftige Studien mit infizierten Mikroglia könnten Einblicke in den zeitlichen Verlauf der mikroglialen Aktivierung geben und neue molekulare Akteure aufzeigen, die für Therapien potenziell interessant sein könnten.

Khadija Aichane ■

Neue Erkenntnisse über die Struktur von Primärzilien durch Kryo-ET

Primärzilien sind spezialisierte Zellfortsätze, die aufgrund ihrer Signalfunktion für die gesunde Entwicklung und Homöostase von Geweben verantwortlich sind. Die Kryoelektronentomographie (Kryo-ET) liefert nun neue Einblicke in den Aufbau von Primärzilien und trägt so maßgeblich zum Verständnis ihrer Funktionsweise bei.

Primärzilien sind aus neun kreisförmig angeordneten Mikrotubuli (MT)-Dubletts aufgebaut, die jeweils aus einem A- und einem B-Tubulus bestehen. Entlang dieser MT-Stränge werden Proteine mittels der intraflagellaren Transportmaschinerie (IFT) transportiert, die den Auf- und Abbau des Ziliums sowie seine Signalfunktion gewährleisten. Um diese ziliären Bestandteile genauer zu untersuchen, visualisierten P. Kiesel *et al.* (Nat Struct Mol Biol (2020) 27:1115–1124) zunächst die MT-

Dubletts mittels klassischer Transmissions-elektronentomographie. Hierbei wurde gezeigt, dass bereits im unteren Bereich des Ziliums einzelne MT von der kreisförmigen Anordnung abweichen und zur Mitte hinwanderten. Außerdem konnte beobachtet werden, dass der B-Tubulus der meisten MT bereits im unteren Drittel endete und somit ein Großteil des Primärziliums lediglich aus einzelnen MT-Strängen bestand. Hochauflösende Tomogramme von isolierten Zilien mittels Kryo-ET ermöglichten schließlich auch detailliertere Aufnahmen von Untereinheiten der IFT-Transportmaschinerie entlang der MT. Mithilfe von Kryo-ET konnten Kiesel *et al.* auch weitere Proteine identifizieren, die zur Stabilität des Primärziliums beitragen. Dazu zählt das Protein EB1, das über die gesamte Länge der ziliären MT sowohl auf dem A- als auch B-Tubulus

identifiziert werden konnte. Interessanterweise waren die EB1-dekorierten MT teilweise mit Aktinfilamenten verschlungen, deren Vorhandensein im Primärzilium bis dato heiß diskutiert wurde. Kiesel *et al.* ist es somit erstmalig gelungen, die Präsenz von Aktinfilamenten im Primärzilium mittels Kryo-ET eindeutig zu belegen.

→ Durch die Anwendung von Kryo-ET ist es Kiesel *et al.* gelungen, die molekulare Struktur von Primärzilien genauer aufzuschlüsseln. Dabei konnte erstmalig auch das Vorhandensein von Aktin-Filamenten in Primärzilien eindeutig bewiesen werden, was zu einem besseren Verständnis der Funktionsweise des Primärziliums beiträgt und weiterhin neue Ansatzpunkte für die Forschung auf dem Gebiet der ziliären Erkrankungen schafft.

Lena Brücker ■

- ▶ Veränderungen im zellulären Metabolismus fördern Alterungserscheinungen
- ▶ Umschaltung der Globin-Genexpression durch kompetitive Bindung von Transkriptionsfaktoren
- ▶ Charakterisierung der Proteinzusammensetzung an beschädigten Replikationsgabeln

Veränderungen im zellulären Metabolismus fördern Alterungserscheinungen

Mit fortschreitendem Alter wird das menschliche Gehirn anfälliger für diverse entzündungsbedingte Erkrankungen. Der Lipidmessenger Prostaglandin E₂ (PGE₂), der vor allem durch Binden an das Kanalprotein EP2 an der Modulation von Entzündungen beteiligt ist, gilt als ein möglicher Auslöser. Allerdings ist die Auswirkung einer stärkeren Aktivierung von EP2 auf zellulärer Ebene noch wenig erforscht.

■ Zelluläre Alterung führt zu diversen Erkrankungen sowie einer verringerten kognitiven Leistung. Eine der größten Ursachen für diese Entwicklung ist ein verändertes Entzündungsmuster bestimmter Zelltypen. Besonders die Mikrogliazellen im Gehirn und Immunzellen im Blut sind hierbei betroffen. P. S. Minhas *et al.* (Nature (2021) 590:122–128) verwendeten zunächst aus Monozyten entwickelte Makrophagen (MDM) von Individuen über 65 Jahre, um eine Beteiligung von PGE₂ an der Veränderung der zellulären Eigenschaften zu untersu-

chen. Im Vergleich zu MDMs von jüngeren Menschen (< 35 Jahre) ist PGE₂ hier stärker exprimiert. Eine dosisabhängige Stimulation von PGE₂ in MDMs verringert zudem deren zellulären Metabolismus. In Mäusen konnte diese Beobachtung repliziert werden. Zudem ist die Generierung von ATP durch einen geringeren Glucosehaushalt geschwächt.

Anschließend wurde die Bedeutung von EP2 auf den zellulären Metabolismus in Cd11bCRE;EP2^{lox/lox}-Mäusen, in denen EP2 in myeloischen Zellen um 50 Prozent schwächer exprimiert wird, genauer erforscht. Bei diesen Mäusen haben Makrophagen einen besseren Metabolismus und eine höhere phagozytotische Aktivität. Gleichzeitig weisen diese Mäuse ein ähnliches Entzündungsmuster wie Jungtiere auf. Auch die räumliche Orientierung ist durch den Knockout verbessert, was auf eine bessere kognitive Leistung hindeutet.

Durch die Beteiligung des PGE₂-EP2-Signalweges am Glukosehaushalt könnten diese Beobachtungen durch eine Veränderung in

diesem entstehen. Eine Isolation von MDMs mit anschließendem Markieren und Messen von Metaboliten belegt eine höhere Akkumulation von Glykogen und einen geringeren Glucosehaushalt in MDMs von älteren Tieren. Wird EP2 hingegen inhibiert, bzw. schwächer exprimiert, verbessern sich die ATP-Synthese und Funktionsfähigkeit der MDMs. Zudem weisen Mikroglia weniger pro-inflammatorische Faktoren auf und sorgen für bessere kognitive Fähigkeiten.

→ *Minhas et al. zeigten einen Zusammenhang zwischen der verstärkten Wirkung des PGE₂-EP2-Signalweges und einer nachlassenden kognitiven Leistung sowie einem schlechteren Energiehaushalt von Mikroglia und myeloischen Zellen. Eine gezielte Inhibition dieses Signalweges kann durch verbesserte Verfügbarkeit von Glucose und Vermeidung von Inflammation eine Verjüngung der betroffenen Zellen auslösen und als therapeutischer Ansatz verwendet werden.*

Daniela Kruck ■

Umschaltung der Globin-Genexpression durch kompetitive Bindung von Transkriptionsfaktoren

Die Umschaltung der Genexpression vom fötalen zum adulten Hämoglobin um den Geburtszeitpunkt ist eine der besonders spannenden Fragen, wie die Expression von Genen innerhalb des β-Globin-Genclusters reguliert wird. Stuart Orkin und seine Gruppe in Boston haben dazu nun ein recht einfaches Modell vorgeschlagen (Liu N et al., Nat Genet (2021), 53:511–520).

■ Sie untersuchten dabei mithilfe verschiedener CRISPR-Cas9-Methoden die Bindung von Transkriptionsfaktoren an die Promotorbereiche der beiden γ-Globin-Gene *HBG1* und *HBG2*, die für die spezifisch fötalen Untereinheiten des Hämoglobins codieren. Die beiden Promotoren sind zu 99,3 Prozent identisch

und enthalten jeweils zwei CCAAT-Boxen, die etwa 90 bzw. 115 Basenpaare oberhalb des Transkriptionsstarts liegen. Üblicherweise bindet der Transkriptionsfaktor NF-Y an jeweils eine der beiden CCAAT-Boxen und aktiviert so die Transkription. In den *HBG*-Promotoren sind beide CCAAT-Boxen zu TGACCAAT-Motiven erweitert, sodass daran das BCL11A-Protein (*B-cell lymphoma/leukemia 11A*) binden kann. Das BCL11A-Protein ist ein Zinkfingerprotein und reprimiert die *HBG*-Expression. Die Autoren konnten im Detail zeigen, dass bei dem Umschalten vom fötalen zum adulten Hämoglobin der BCL11A-Repressor an das distale TGACCAAT-Motiv (115 bp oberhalb des Transkriptionsstarts) bindet und aufgrund seiner räumlichen Ausdehnung die Bindung von

NF-Y an die proximale CCAAT-Box (90 bp oberhalb des Transkriptionsstarts) verhindert, die ja nur wenige Basenpaare voneinander entfernt sind.

→ *Die Arbeit von Liu et al. zeigt sehr schön die kompetitive Regulation der HBG-Expression durch die Transkriptionsfaktoren NF-Y und BCL11A. Dieses einfache Modell erklärt die initiale Abschaltung der HBG-Gene durch die Zunahme der BCL11A-Expression in den Vorläuferzellen der Erythrozyten (Erythroblasten) im Knochenmark. Eine mögliche Re-Aktivierung der HBG-Expression ist ein zentraler Aspekt moderner Therapien von Blutkrankheiten wie der Sichelzellanämie oder der β-Thalassämien.*

Jochen Graw ■

Charakterisierung der Proteinzusammensetzung an beschädigten Replikationsgabeln

Beeinträchtigungen im Fortschreiten der Replikationsgabel (RG) während der S-Phase des Zellzyklus können zu tiefgreifenden DNA-Schäden führen. K. Nakamura et al. (Mol Cell (2021) 81:1084–1099) nutzten Massenspektrometrie (MS)-basierte Proteomik, um die spezifische Proteinzusammensetzung an gestoppten und kollabierten RG zu charakterisieren.

■ Um die komplette und fehlerfreie DNA-Replikation zu ermöglichen, haben Zellen ein elaboriertes *DNA damage response*-Netzwerk, das die Integrität des Genoms sicherstellt und DNA-Schäden repariert. Eine Art von DNA-Schäden, die während der Replikation auftreten kann, sind replikationsassoziierte Doppelstrangbrüche (DSB). Diese sind *single-ended* (seDSB), d.h. sie weisen ein überhängendes, einzelsträngiges DNA-Ende auf. Die Reparatur von seDSB ist noch nicht vollständig erforscht.

Nakamura et al. untersuchten die Proteinzusammensetzung an Replikationsgabeln, die entweder durch Behandlung mit dem Ribonukleotidreduktase-Inhibitor Hydroxyurea gestoppt oder mittels des Topoisomerase-I-Inhibitors Camptothecin (CPT) kollabiert wurden. CPT führt zur Bildung von seDSB an den RGs. Um die nahegelegenen Proteine an den RGs zu isolieren und zu identifizieren, wurde *nascent chromatin capture* (NCC) mit quanti-

tativer Massenspektrometrie kombiniert. Die identifizierten Proteine konnten in mehrere Klassen unterteilt werden.

In Klasse 1, dem *broken fork repairome*, wurde neben den bekannten DSB-Proteinen ATM und CtIP die Kinase PLK1 identifiziert, die bisher nicht als DSB-Protein bekannt war. Experimente mit ATM-Inhibition zeigten, dass die Rekrutierung von PLK1 zu kollabierten RGs ATM abhängig ist. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Reparatur von seDSB ATM-verteilt ist. Genauer, ATM und PLK1 fördern die Reparatur der seDSB mittels homologer Rekombination (HR) durch Inhibition des *non-homologous end joining* (NHEJ)-Signalwegs, der bei der Reparatur von seDSB toxisch wirkt.

Das *stalled fork repairome* (Klasse 2) an gestoppten RG schützt die Replikationsmaschinerie vor Degradierung und fördert ihren Neustart. Hier treten keine seDSB auf, somit sind diese Prozesse ATM-unabhängig.

→ Nakamura et al. zeigen eindrucksvoll die Anwendung von Hochdurchsatz-MS in der Erforschung neuer Faktoren im sehr komplexen DNA-Reparaturnetzwerk. Durch den Einsatz von NCC und MS ist es gelungen, die Chromatinumgebung von gestoppten und kollabierten RG auf Proteom-Ebene zu charakterisieren und zu differenzieren.

Justus Gräf ■

Kurz gefasst

Synthetische Biologie erforscht Stoffwechselspezialisten

■ Feste Nährmedien erleichtern das Mutanten-Screening. Metabolisch flexible Mikroorganismen tolerieren zudem den Ausfall von Stoffwechselwegen. Das chemolithoautotrophe Bakterium *Mariprofundus ferrooxydans* PV-1 (ζ -Proteobakterien) lebt ausschließlich von der Fe(II)-Oxidation und fixiert CO₂. Nur unter mikroaeroben Bedingungen kann es mit dem Luftsauerstoff um die Fe(II)-Ionen konkurrieren. *M. ferrooxydans* wächst zudem langsam und bildet keine Kolonien auf Festmedien. Abhiney Jain und Jeffrey Gralnick (Sci Rep (2021) 11:2165) entwickelten jetzt ein Protokoll, um *M. ferrooxydans* durch Konjugation mittels *Escherichia coli* mit dem Plasmid pRK2m3 zu transformieren. Durch Einführen eines Glucokinase- und eines Glucosetransportergens konnten sie Zellen erzeugen, die mit Glucose als einziger C-Quelle (lithoheterotroph) wachsen können. Der synthetische Ansatz den Metabolismus von Stoffwechselspezialisten zu erweitern, könnte die Erforschung ähnlich schwieriger Mikroben erleichtern.

Johannes Sander

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

Prof. Dr. Klaus Hantke, Fakultät für Biologie, Universität Tübingen, Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen, hantke@uni-tuebingen.de

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. Christian Kost, Universität Osnabrück, Barbarastraße 1, D-49076 Osnabrück, christian.kost@uni-osnabrueck.de

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

Hanna Klimek, Universität Münster, Institut für Hygiene, Mendelstraße 7, D-48149 Münster, hanna.klimek@ukmuenster.de

■ Autoren aus der jGBM



Khadija Aichane, Medizinische Hochschule Hannover, Carl-Neuberg-Straße 1, D-30625 Hannover, Khadija.Aichane@stud.mh-hannover.de

Lena Brücker, Institut für Molekulare Physiologie, Universität Mainz, Hanns-Dieter-Hüsch-Weg 17, D-55128 Mainz, bruecker@students.uni-mainz.de

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

Justus Gräf, Institut für Molekulare Biologie (IMB), Ackermannweg 4, D-55128 Mainz, jugraef@students.uni-mainz.de