

Zytologie

Das bakterielle Zytoskelett

RAPHAEL GASPER, JAN LÖWE

MRC LABORATORY OF MOLECULAR BIOLOGY, CAMBRIDGE, UK

Lange galt die Abwesenheit eines Zytoskeletts in Prokaryoten als ein wichtiger Unterschied zu Eukaryoten. Forschungen zeigen nun, dass auch Prokaryoten Aktin und Tubulin besitzen, mit Aufgaben in der Plasmid-trennung, Zellteilung oder -formgebung.

Historically, one of the criteria for distinguishing eukaryotes from prokaryotes was the presence of a cytoskeleton. Research now shows that prokaryotes possess actin- and tubulin-like proteins driving plasmid segregation, cell division and shape.

■ Bis in die 1990er-Jahre wurde angenommen, dass Bakterien keine Kontrolle über die Position ihrer Proteine und Enzyme besäßen. Mit der Entdeckung des bakteriellen Zytoskeletts hat sich diese Sichtweise geändert [1]. Das prokaryotische Zytoskelett besteht aus Filament-bildenden Aktin-, Tubulin- und Intermediärfilament-verwandten (IF-) Proteinen, die für eine Subkompartimentalisierung, Zellpolarisierung und -formgebung sorgen. Sie können in dynamische (Nukleotid-bindende) oder statische Filamente eingeteilt werden. Die dynamischen Filamente verrichten ihre Arbeit als lineare Motoren, indem sie Objekte durch die Zelle ziehen oder schieben und werden auch als *cytomotive filaments*

bezeichnet [2]. Bisher sind noch keine herkömmlichen Motorproteine wie Kinesin, Myosin oder Dynein in Bakterien gefunden worden, sodass davon ausgegangen werden kann, dass der lineare Motoraspekt der prokaryotischen Filamente evolutionär der ältere ist. Erst im Laufe der Evolution wurden die Filamente statischer und das „Skelett“ rückte mehr in den Vordergrund, wie wir es heutzutage von den eukaryotischen Proteinen kennen.

Die prokaryotische Tubulin-Proteinfamilie

Der eukaryotische Prototyp ist $\alpha\beta$ -Tubulin als Baustein der Mikrotubuli. Zu den prokaryo-

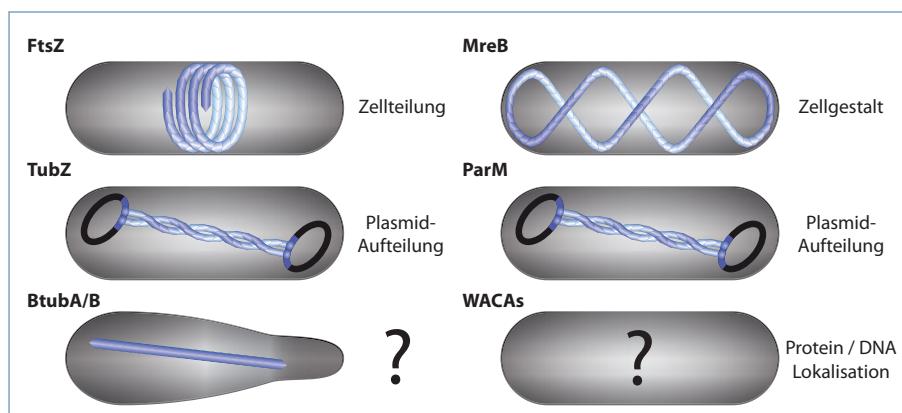
tischen Tubulinproteinen gehören bislang drei Vertreter: FtsZ, BtubA/B und TubZ (Abb. 1 und 2).

FtsZ findet sich nahezu ubiquitär in Bakterien und Archaeen. Zusätzlich besitzen *Verrucomicrobia* BtubA/B und einige *Bacillus*-Plasmide TubZ. Trotz beträchtlicher Unterschiede in der Sequenz sind allen Tubulinproteinen die Rossmann-Faltung und die GTP-abhängige Polymerisierung gemein (Abb. 2, [3, 4]). Die longitudinalen Kontaktflächen sind für alle Proteine nahezu identisch. Die laterale Interaktion von Protofilamenten unterscheidet sich jedoch grundlegend zwischen den einzelnen Proteinen dieser Klasse, und es sind diese Unterschiede, die die biologische Vielfalt erzeugen (Abb. 2).

Tubulin bildet hohle Zylinder aus parallelen Protofilamenten, die Mikrotubuli. Für FtsZ hingegen werden, je nach Versuchsanordnung, ringförmige, lineare oder gebündelte Filamente beobachtet. FtsZ-Filamente bilden den sogenannten Z-Ring in der Zellmitte und definieren so den Ort der Zellteilung (Abb. 2B), an den weitere Proteine rekrutiert werden (Divisom). Es besitzt die Fähigkeit, eigenständig eine konstriktive Kraft auf die Zelle auszuüben [5], indem es an membranverankerte Proteine bindet und die Membran während der Zellteilung einschnürt.

Auch TubZ besitzt die konservierten Tubulin-ähnlichen longitudinalen Kontakte, trotzdem bildet es ein vollkommen anderes Polymer (Abb. 2A, [3]). Eine geringe Neigung innerhalb eines Monomers induziert einen Twist des gesamten Filaments, sodass eine Doppelhelix gebildet wird, die nicht Tubulin, sondern der Struktur polymerisierten F-Aktins entspricht. Als Bestandteil des TubZ/TubR/tubC-Plasmid-Partitionierungssystems (Typ III) schiebt TubZ replizierte Plasmide in die Tochterzellen (Abb. 2B).

BtubA/B bilden *in vitro* dimere Filamente, die sich zu einem Komplex aus 20 bis 30 Filamenten bündeln können. BtubA- und BtubB-Dimere sind den Tubulin-Dimeren in ihrer Aminosäuresequenz sowie strukturell erstaunlich ähnlich, weshalb angenommen wird, dass BtubA/B das Resultat horizontalen Gentransfers ist. Trotz dieser Ähnlichkeit benötigen sie keine Kofaktor-Maschinerie zur



▲ Abb. 1: Die *cytomotive filament*-Systeme des bakteriellen Zytoskeletts. Links: Tubulin-ähnliche Proteine; rechts: Aktin-ähnliche Proteine. FtsZ bildet einen Ring um die Mitte der Zelle. MreB-Filamente sind möglicherweise helikal und kleiden die Membraninnenseite aus. TubZ und ParM bilden doppelhelikale Filamente, die Plasmide durch die Zelle schieben. Die Filamentstrukturen von BtubA/B und der WACAs sind noch unbekannt.

Proteinfaltung, die für Tubulin so essenziell ist. Die biologische Funktion von BtubA/B ist unbekannt, und es ist auch unklar, welche Filamente BtubA/B in Zellen bildet.

Die prokaryotische Aktin-Proteinfamilie

Der prokaryotischen Aktin-Klasse gehören folgende Proteine an: MreB, ParM, FtsA, MamK, Alfa und Alps. Die strukturelle Verwandtschaft zu Aktin wurde zuerst für MreB berichtet (Abb. 3, [6]). Aktinproteine erfahren eine deutliche Konformationsänderung während der Hydrolyse, nach der – aufgrund der dann geöffneten Monomerstruktur – keine Polymerisation mehr möglich ist.

Die longitudinalen Protofilamentkontakte von MreB sind nahezu identisch zu denen von polymerisiertem Aktin (Abb. 3A). MreB ist in allen „nicht-runden“ Bakterien zu finden und zeigt in einigen Studien Spiralen, die sich entlang der Innenseite der Zellmembran erstrecken (Abb. 3B, [7]). Hierdurch werden die Integrität der Zelle von innen stabilisiert und gleichzeitig Proteinkomplexe assembliert, die für die Zellwandsynthese und damit das laterale Zellwachstum verantwortlich sind (Elongasom).

Zwei ParM-Protofilamente bilden eine Doppelhelix, die (im Gegensatz zu Aktin) linksgängig ist (Abb. 3A, [8]). Die Polymerisation folgt jedoch nicht dem Aktin-*tread-milling*-Prinzip, stattdessen bildet ParM durch NTP-Kappen stabilisierte Polymere. Diese sind wie Tubulin dynamisch instabil und zerfallen bei Hydrolyse der Kappen. ParM ist Teil des ParM/ParR/parC(ParMRC)-Plasmid-Partitionierungssystems (Typ II) und damit verantwortlich für die korrekte Verteilung von Plasmiden in die Tochterzellen [8]. Von großem Vorteil ist dabei die dynamische Instabilität der ParM-Filamente: Die sich schnell wiederholende Abfolge von Filamentbildung und -zerfall (ungefähr 200-mal schneller als bei Aktin) ermöglicht es ParM, nach den Plasmiden zu „suchen“ (*search and capture*-Modell, Abb. 3B, [9]). Das ParMRC-System hat viele Gemeinsamkeiten mit TubZRC einschließlich der doppelhelikalen Filamente, jedoch bestehen die Filamente aus Aktin-ähnlichen Proteinen. Dies ist ein offensichtliches Beispiel für konvergente Evolution, die doppelhelikalen Filamente scheinen sich sehr gut für die Plasmidverteilung in der Zelle zu eignen und sind gleich zweimal, unter der Benutzung verschiedener Proteine, während der Evolution entstanden.

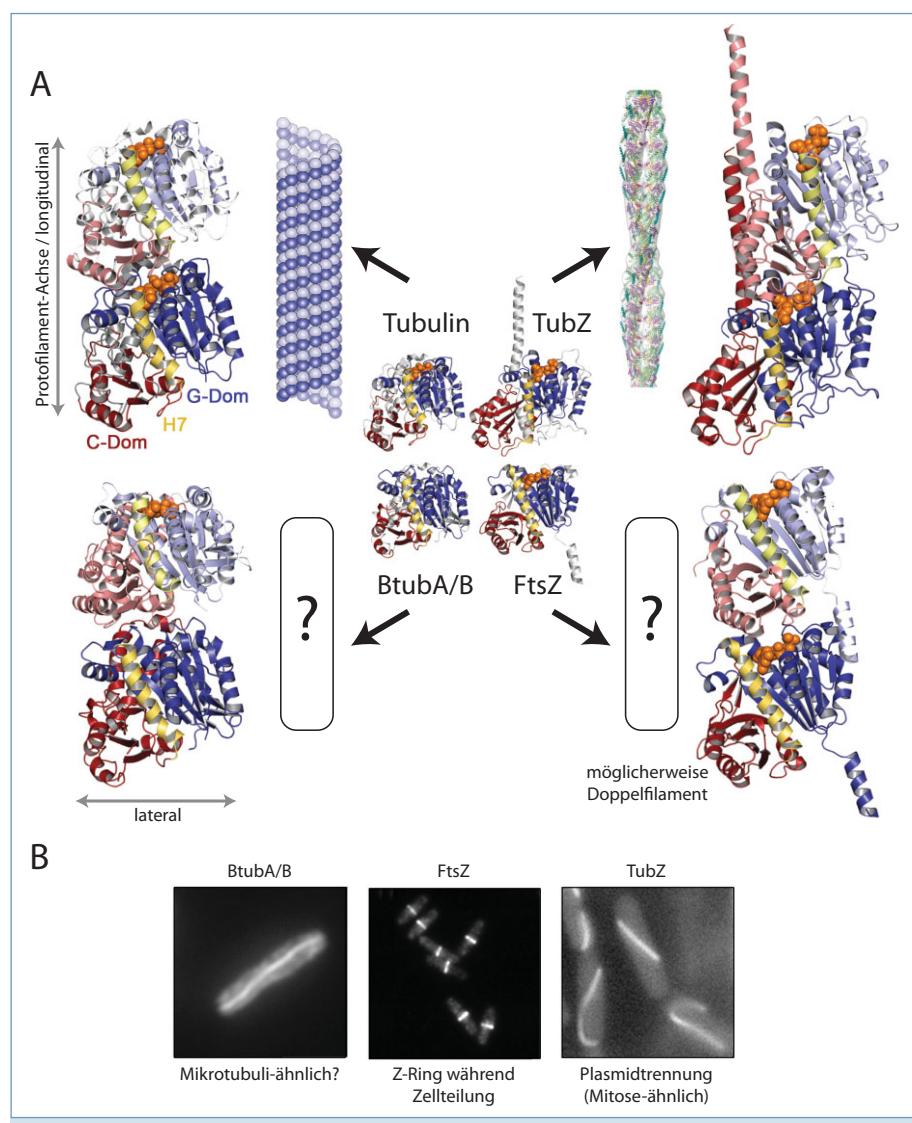


Abb. 2: Tubulin-ähnliche Proteine und Filamentsysteme. A, Strukturen der Tubulin-ähnlichen Proteine. Die 3D-Struktur und longitudinale Interaktionen sind strikt konserviert. Die divergenten lateralen Interaktionen führen zur Vielfalt der Filamente. B, Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von verschiedenen prokaryotischen Tubulin-ähnlichen Filamentsystemen. (Bilder aus Sontag et al. (2005) J. Cell. Biol. 169, den Blaauwen et al. (2003) Mol. Microbiol. 47 und Larsen et al. (2007) Genes Dev. 21.)

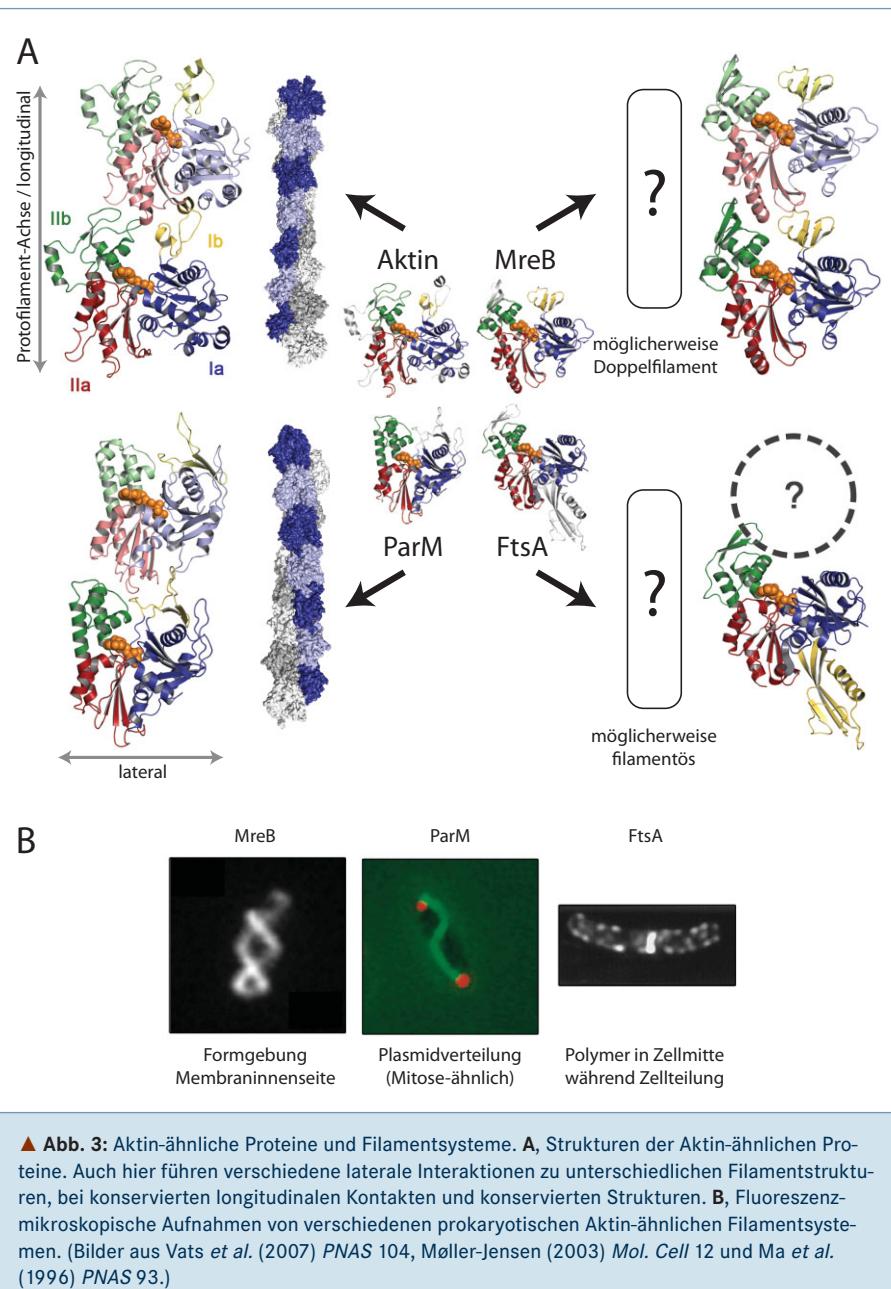
Über die Funktion der weiteren bakterielten Aktinproteine ist bislang wenig bekannt. FtsA zeigt, von einer Subdomäne abgesehen, die gleiche Aktinstruktur und bildet wahrscheinlich auch Aktin-ähnliche Filamente (Abb. 3A, [10]). Alfa und Alps (*actin-like proteins*) sind ebenfalls an Plasmidpartitionierungen beteiligt. MamK bildet in *Magnetospirillum* eine Doppelhelix, die für die lineare Anordnung von Magnetosomen zur Magnetfeld-Sensorik benötigt wird.

Gibt es weitere prokaryotische Zytoskelett-Proteine?

Crescentinfilamente verursachen die typische Bananenform von *Caulobacter crescentus*

durch Ausbildung eines Polymers auf einer Seite der Zelle, dessen *coiled coil*-Struktur an eukaryotische Intermediärfilamente wie Vimentin erinnert [11]. Eine andere Klasse, Bactofilin, bildet ebenfalls IF-ähnliche Strukturen und ist in *C. crescentus* an der Regulation der Mureinsynthese beteiligt.

Die große Klasse der WACA-Proteine (*Walker A cytoskeletal proteins*: Soj, ParA, MinD etc.) führen durch Nukleotid-abhängige Polymerisation komplexe Aufgaben wie Chromosomsegregation (Soj), Plasmidaufteilung (Typ I, ParA) oder Definition der Zellmitte für die Ausbildung des Z-Rings (MinD) aus. Entsprechend müssen sie ebenfalls den *cytoskeletal filaments* zugeordnet werden [12].



▲ Abb. 3: Aktin-ähnliche Proteine und Filamentsysteme. A, Strukturen der Aktin-ähnlichen Proteine. Auch hier führen verschiedene laterale Interaktionen zu unterschiedlichen Filamentstrukturen, bei konservierten longitudinalen Kontakt und konservierten Strukturen. B, Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von verschiedenen prokaryotischen Aktin-ähnlichen Filamentsystemen. (Bilder aus Vats et al. (2007) PNAS 104, Möller-Jensen (2003) Mol. Cell 12 und Ma et al. (1996) PNAS 93.)

Fazit

Das Zytoskelett von Bakterien ist ein hoch-dynamischer Verbund aus einer Vielzahl von Proteinen. Die Evolution verfolgte hier einen eher pragmatischen Ansatz: Die Strukturen

der *cytomyotic filaments* [2] sind entweder Aktin- oder Tubulin-ähnlich und die Protofilamentstrukturen sind in allen Fällen konserviert. Die Eigenschaften wurden jedoch so modifiziert, dass sie nicht mehr eindeutig

einer Proteingruppe zuzuordnen sind, sondern optimal der jeweiligen Funktion angepasst wurden.

Demnach entstand die Vielfalt der Proteine wahrscheinlich aus den gleichen zwei Urfaltung (Aktin und Tubulin), die sich anschließend bei Prokaryoten durch konvergente und divergente Evolution eine Vielzahl neuer Eigenschaften erschlossen haben. Bei den Eukaryoten erfolgte stattdessen eine Reduktion der *cytomyotic filaments* auf zwei Struktur-bildende Filamente (Aktinfilamente und Mikrotubuli) bei gleichzeitiger Explosions in der Anzahl der Bindungspartner, die eine überwältigende Vielfalt an regulierenden Faktoren und Motorproteinen hervorbrachte. ■

Literatur

- [1] van den Ent F, Amos L, Löwe J (2001) Bacterial ancestry of actin and tubulin. Curr Opin Microbiol 4:634–638
- [2] Löwe J, Amos LA (2009) Evolution of cytomyotic filaments: the cytoskeleton from prokaryotes to eukaryotes. Int J Biochem Cell Biol 41:323–329
- [3] Aylett CH, Wang Q, Michie KA et al. (2010) Filament structure of bacterial tubulin homologue TubZ. Proc Natl Acad Sci USA 107:19766–19771
- [4] Löwe J, Amos LA (1998) Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ. Nature 391:203–206
- [5] Osawa M, Anderson DE, Erickson HP (2008) Reconstitution of contractile FtsZ rings in liposomes. Science 320:792–794
- [6] van den Ent F, Amos LA, Löwe J (2001) Prokaryotic origin of the actin cytoskeleton. Nature 413:39–44
- [7] Jones LJ, Carballido-Lopez R, Errington J (2001) Control of cell shape in bacteria: helical, actin-like filaments in *Bacillus subtilis*. Cell 104:913–922
- [8] Salje J, Gayathri P, Löwe J (2010) The ParMRC system: molecular mechanisms of plasmid segregation by actin-like filaments. Nat Rev Microbiol 8:683–692
- [9] Garner EC, Campbell CS, Weibel DB et al. (2007) Reconstitution of DNA segregation driven by assembly of a prokaryotic actin homolog. Science 315:1270–1274
- [10] van den Ent F, Löwe J (2000) Crystal structure of the cell division protein FtsA from *Thermotoga maritima*. EMBO J 19:5300–5307
- [11] Ausmees N, Kuhn JR, Jacobs-Wagner C (2003) The bacterial cytoskeleton: an intermediate filament-like function in cell shape. Cell 115:705–713
- [12] Michie KA, Löwe J (2006) Dynamic filaments of the bacterial cytoskeleton. Annu Rev Biochem 75:467–492

Korrespondenzadresse:

Dr. Jan Löwe
MRC Laboratory of Molecular Biology
Hills Road
Cambridge CB2 0QH, UK
Tel.: +44-(0)1223-252969
Fax: +44-(0)1223-213556
jyl@mrc-lmb.cam.ac.uk

AUTOREN



Raphael Gasper

Jahrgang 1980. 2000–2005 Biochemiestudium an der Universität Bochum. 2009 Promotion in der Gruppe von Prof. Dr. Wittinghofer am Max-Planck-Institut Dortmund. Seit Dezember 2009 Postdoc am MRC Laboratory of Molecular Biology (LMB) in Cambridge, UK.



Jan Löwe

Jahrgang 1967. 1986–1992 Chemiestudium an der Universität Hamburg. 1996 Doktorarbeit in der Gruppe von Prof. Dr. Huber am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried. 1996–1998 Postdoc mit Linda Amos am LMB in Cambridge, UK. Seit 1998 Gruppenleiter am LMB und 2008 Fellow of the Royal Society, London, UK.