



Einzellige Krisenbewältiger

Wie Bakterien Umweltstress meistern

von Andreas Lorenz-Meyer

Die Biochemikerin und Mikrobiologin Inga Hänel untersucht, auf welche Weise Bakterien das lebenswichtige Element Kalium durch ihre Zellmembran transportieren – selbst wenn die Umweltbedingungen dafür äußerst ungünstig sind.



untersucht Inga Hänel am Institut für Biochemie der Goethe-Universität. Genauer erforscht sie den Transport von positiv geladenen Kaliumionen (K^+) durch Membrantransportproteine ins Zellinnere. Denn Kaliumionen brauchen Bakterien für die Aktivität verschiedener Proteinkomplexe, für die Regulation des Säuregehalts (pH-Wert) und zur Regulation ihres Salz- und Wassergehalts, der sogenannten Osmoregulation. Gerät das Kaliumionen-Gleichgewicht in Schieflage, sind also Salz- oder Wassergehalt über längere Zeit zu hoch oder zu niedrig, endet das tödlich. Daher haben Bakterien eine Art mehrstufiges Krisenreaktionsmanagement. »Für unterschiedliche Umweltbedingungen gibt es unterschiedliche Transportmechanismen, die gezielt an- und abgeschaltet beziehungsweise neu gebildet und wieder abgebaut werden können«, so Hänel.

Die Kraft des elektrischen Feldes

Dabei ermöglicht ein ausgeklügeltes System aus Kanälen und Pumpen, dass die Kaliumkonzentration im Innern der Zelle höher sein kann als außen und dass sogar Kaliumionen gegen das Konzentrationsgefälle nach innen strömen. Dabei hilft den Bakterien eine elektrische Spannung, die sie mithilfe der Zellatmung aufbauen, das sogenannte Membranpotenzial. Der Zellatmungsapparat gewinnt Energie, indem Elektronen über verschiedene Komponenten des Apparats transportiert werden. Die Energie wird dazu genutzt, um Protonen – also Wasserstoffatome, die ein Elektron abgegeben haben – durch die Membran nach außen zu befördern. Das Zellinnere verliert dadurch positiv geladene Teilchen und ist somit negativ geladen – so entsteht das Membranpotenzial. Brauchen die Bakterien dann eine frische Fuhre Kalium, öffnen sie ihren Kaliumkanal – und schon werden die Kaliumionen durch den einwärts gerichteten elektrischen Gradienten ins Zellinnere gezogen, obwohl die chemische Kaliumkonzentration innen höher ist als außen.

Einer der Kaliumkanäle bei Bakterien heißt KtrAB. Dieses Protein ist aktiv, solange Bakterien keinen größeren Stress haben, und lässt bei Bedarf Kaliumionen einströmen. Er wird über Stoffwechselprodukte (Metaboliten) aktiviert, die unter anderem den innerzellulären Kaliumionenspiegel widerspiegeln. Sobald es aber ungemütlich wird, etwa in saurer Umgebung, muss die Kaliumionenkonzentration schneller und direkt gesteuert werden. Der Kaliumkanal KtrAB legt dann die Arbeit nieder, und der Transporter KimA übernimmt. Er reagiert unmittelbar auf die innerzelluläre Kaliumionenkonzentration. Als ein sogenannter sekundär aktiver Transporter nutzt er dabei einen bereits vorhandenen chemischen Gradienten, der dadurch

Der Salzsee Lake Hillier auf der australischen Insel Middle Island erhält seine auffällige Farbe durch Mikroorganismen, deren Karotinoide den Bakterien UV-Schutz bieten. Um die hohen Salzkonzentrationen zu kompensieren, reichern die Mikroorganismen hohe Kaliumkonzentrationen in ihrem Inneren an. Spezielle Kaliumtransporter (KdpFABC) ermöglichen es ihnen, das lebenswichtige Kalium auch bei heftigem osmotischem Stress aufzunehmen.

Es gibt sie überall – im Meer, im Boden, in der Luft, in heißen Quellen, auf unserer Haut oder im Darm: Bakterien. Dass die Einzeller solch unterschiedliche Lebensräume besiedeln können, mag erstaunen. Bei Mehrzellern wie dem Menschen sind die innen liegenden Zellen ja durch Haut, Schleimhäute und den Blutpuffer gut geschützt. Zudem ist immer für konstante Temperaturen gesorgt. Bakterien können davon nur träumen. Hitze, Trockenheit, Säuren und Salze treffen ihre Zellen unmittelbar und mit voller Wucht, da sie von der zuweilen rauen Außenwelt lediglich eine hauchdünne Hülle trennt – die stabilisierende Zellwand und ein oder zwei Zellmembranen. Bakterien müssen also hart im Nehmen sein.

Welche Mechanismen sie evolutionär entwickelt haben, um auf schwierige Umweltbedingungen flexibel reagieren zu können,

Yvonne Hellmich (l.) und Jakob Silberberg diskutieren die Struktur eines 3-D-Modells des Enzyms KdpD. Es sorgt dafür, dass der hocheffektiv bakterielle Kaliumtransporter KdpFABC wirklich nur bei extremem Kaliummangel hergestellt wird – er würde die Zelle sonst mit Kalium vergiften.

entsteht, dass in saurer Umgebung die Anzahl von Protonen viel größer ist als im Inneren der Zelle, wo ein neutrales Milieu vorliegt. Die Abkürzung pH kommt ja vom Lateinischen »*potentia Hydrogenii*«, also »Konzentration des Wasserstoffs«. Die Kaliumionen wandern quasi huckepack mit den Protonen in die Zelle ein.



Tricksen mit Konzentrationen

Zu den Bakterien, denen KimA wertvolle Dienste leistet, gehört *Bacillus subtilis*, das vor allem im Boden vorkommt. Wenn sich ein solches Bodenbakterium in beispielsweise einem sauren Boden mit dem pH-Wert 4 befindet, beträgt die Protonenkonzentration um die Zellmembran herum ein Zehntausendstel (10^{-4}) Mol pro Liter. Im Innern von *Bacillus subtilis* herrscht dagegen ein neutrales Milieu mit pH-Wert 7 oder ein Zehnmillionstel (10^{-7}) Mol pro Liter. Daraus folgt, dass sich in der Umgebung eintausend Mal mehr Protonen befinden als im Bakterium – der Gradient, den KimA für den Transport von Kaliumionen benötigt. Das Bakterium schleust also Kaliumionen mit den Protonen zusammen durch die Zellmembran. Zwar gibt es eine Gegenkraft, den auswärts gerichteten Kaliumionengradienten, der existiert, weil die Kaliumionenkonzentration innen (150 bis 200 Millimol) erheblich höher ist als außen (normalerweise ungefähr 5 Millimol). Aber KimA nutzt den viel stärkeren einwärtsgerichteten Protonengradienten, um Kaliumionen in die Zelle zu transportieren. So füllt *Bacillus subtilis* in saurer Umgebung problemlos seinen Kaliumionenvorrat auf.

reich ist der Transport ins Zellinnere möglich«, so Hänelt. Auch bei starker Trockenheit oder heftigem osmotischem Stress, etwa in einem Salzsee, hält er die Bakterien am Leben. Für Mechanismus Nummer drei ist das Protein KdpFABC zuständig. FABC steht für vier Proteine, von denen A und B in puncto Kaliumionentransport entscheidend sind.

Überleben im Salzsee

Dann gibt es noch einen dritten Mechanismus, den wiederum andere Stressfaktoren aktivieren. Er kommt unter anderem bei niedrigen Kaliumkonzentrationen zum Einsatz. »Selbst bei extrem niedrigen Konzentrationen im Mikromolarbereich

Hänelt hat bei KdpFABC etwas entdeckt, das vorher niemand für möglich gehalten hat. Das Protein ist nicht nur ein Transporter, sondern Kanal und Transporter in einem. »Eine zelluläre Chimäre«, so die Biochemikerin in Anlehnung an das Mensch-Tier-Mischwesen aus der griechischen Mythologie. Der Vorgang: Protein A, der Kanal, ist selektiv, lässt also nur Kaliumionen durch. Kalium wird gebunden und innerhalb des Gesamtkomplexes an Protein B weitergereicht. Dieses ist kein sekundär aktiver Transporter wie KimA, sondern ein primär aktiver. Das heißt, er erzeugt die Energie für den Transport selbst, indem es Adenosintriphosphat (ATP) zu Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat spaltet – es handelt sich also um eine Pumpe. Protein B von KdpFABC gehört zur gleichen Familie wie die Natrium-Kalium-Pumpe, die bei uns Menschen an der Zellmembran arbeitet und der Natrium- und Kaliumhomöostase dient.

Bakterielles Transportmanagement

Viele Bakterien besitzen alle drei Mechanismen, zum Beispiel auch *Escherichia coli*, ein Bakterium, das im menschlichen Darm die Verdauung unterstützt. Außerhalb des Darms ist es der häufigste Erreger für bakterielle Infektionen beim Menschen. Kanal, Transporter und Pumpe allein nutzen den Bakterien aber wenig, wenn es keine regulativen Instanzen gäbe, die die Prozesse starten und zum richtigen Zeitpunkt wieder stoppen. Würde zum Beispiel KdpFABC ohne Unterlass weiterpumpen, obwohl längst genug Kalium vorhanden ist, würde das Bakterium vergiftet. Daher erforscht Hänelt jetzt auch



Zur Person

Seit 2021 ist Inga Hänelt Heisenberg-Professorin für Membran-Biochemie am Institut für Biochemie der Goethe-Universität Frankfurt. Nach Biologiestudium und Promotion an der Universität Osnabrück war sie DFG-Stipendiatin an der Universität Groningen in den Niederlanden und danach, 2012/13, Postdoktorandin in Frankfurt. Ab 2015 folgte die Position der Emmy Noether-Nachwuchsgruppenleiterin und Juniorprofessorin am Institut für Biochemie. Hänelt ist Ko-Sprecherin der Exzellenzcluster-Initiative SCALE (Subcellular Architecture of Life).

haenelt@biochem.uni-frankfurt.de

Foto: Stefanie Wetzel, Foto: Inga Hänelt: Uwe Dettmar

verstärkt die kontrollierenden Mechanismen für KdpFABC. Ein Pumpen-Regulator ist schon länger bekannt, es sind die sogenannten Histidin-Kinasen. Diese Enzyme merken, wenn Kaliummangel droht und setzen die Proteinbildung in Gang. Hat sich die Situation entspannt, schalten sie das Ablesen der Gene (Transkription) wieder ab, weil neue Pumpen nicht mehr gebraucht werden. Aber was ist mit den bereits installierten Pumpen? »Haben die Bakterien genug Kalium aufgenommen, müssen die ihre Arbeit ja rasch auch wieder beenden«, sagt Hänelt. Die Bakterien besitzen dafür eine zweite Regulatormöglichkeit, eine Art »Aus«-Schalter, welchen andere Enzyme, die Serin-Kinasen, betätigen. »Damit lässt sich die arbeitende Kaliumpumpe direkt stoppen.«

Was die Forscherin als Nächstes vorhat? Sie schaut sich Biofilme genauer an. Dabei handelt es sich um jene dreidimensionale Schleimschicht aus Zuckern und Proteinen, in die sich viele Bakterien gemeinsam einbetten. »Biofilme sind fast wie ein Gewebe. Da schützen die äußeren Zellen die inneren und ermöglichen so das Überleben der Gemeinschaft«, erklärt Hänelt. Denn im härtesten Fall sterben nur die äußeren Bakterien, und die inneren können sich wieder vermehren. Es ist bereits bekannt, dass in Biofilmen elektrische Signale weitergeleitet werden, über die die Einzeller miteinander kommunizieren. Allerdings sind hier noch viele Fragen offen. Daher möchte Hänelt herausfinden, wie genau diese Kommunikation funktioniert, wenn zum Beispiel die Bakterien im Innern des Biofilms hungern, weil nicht mehr genug vom Nährstoff Glutamat ins Innere des Biofilms gelangt. Einer aktuellen Hypothese zufolge lassen sie dann Kaliumionen ausströmen, wodurch das Zellinnere stärker negativ geladen wird und Glutamat dann – gekoppelt an einströmende Protonen – besser aufgenommen werden kann. Gleichzeitig sorgen die ausströmenden Kaliumionen dafür, dass die benachbarten, weiter außen liegenden Bakterien weniger negativ geladen sind, wodurch diese weniger Glutamat aufnehmen, das dann für die inneren Zellen verfügbar ist. Da nun die benachbarten Zellen hungern, schütten sie ihrerseits Kaliumionen aus. Auf diese Weise pflanzt sich das Signal immer weiter bis zum Rand des Biofilms fort und äußert sich in einem Wachstumsstopp der äußeren Zellen.

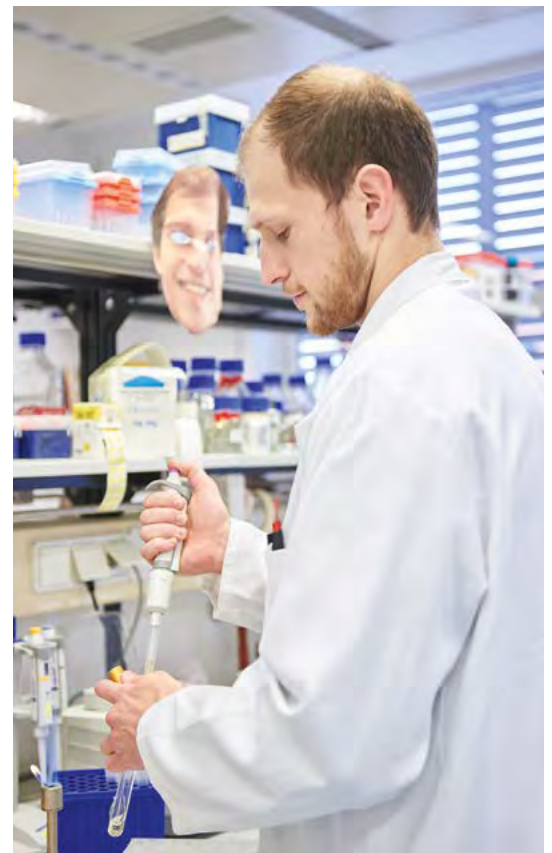
»Wir haben da einen Prozess, der dem Weiterleiten von elektrischen Signalen etwa bei Nervenzellen ähnelt, nur dass er viel langsamer abläuft«, ordnet Hänelt ein. Die Kommunikationsfunktion könne der Grund dafür sein, dass es bestimmte Kaliumkanäle bei Bakterien überhaupt gebe. Hänelt: »Das ist mein großes Ziel, dass wir einerseits auf Ebene der Moleküle

beschreiben können, wie diese Kommunikation funktioniert, und dass wir das verbinden mit der zellulären Ebene, also wie die Zelle als Ganzes reagiert.«

Der Digitale Zwilling

Hänelt ist auch bei der interdisziplinären Exzellenzcluster-Initiative SCALE dabei. Dort sollen alle gesammelten und gemessenen Daten über verschiedenste dreidimensionale Strukturen von Molekülen und deren Funktionen in das Modell eines Digitalen Zwillings einfließen. Der fungiert entsprechend als große Datenbank, in der Forschungsdaten aufbewahrt und sortiert werden können. Darüber hinaus werden die Daten miteinander verknüpft, um zelluläre Funktionen und Reaktionen simulieren zu können. »Mit dem Digitalen Zwilling möchten wir uns auch die räumliche Verteilung etwa von Proteinen in einer Zelle zu einem bestimmten Zeitpunkt ansehen«, erläutert Hänelt. »Wie kommen Proteine zu dem Ort, an dem sie gebraucht werden? Wie finden sich zwei Proteine, die miteinander interagieren? Wie müssen Moleküle zusammenspielen, damit sich die innerzellulären Strukturen und Formen herausbilden können?« Der Digitale Zwilling soll dazu Hypothesen liefern, die wiederum in Experimenten überprüft werden können. Auch Fehlfunktionen und Krankheiten, die zum Beispiel durch mutierte Proteine ausgelöst werden, soll der Digitale Zwilling simulieren können.

Auch für das Verständnis des Kaliumtransports bei Bakterien baut die Biochemikerin auf Unterstützung durch den Digitalen Zwilling. »Wir haben uns bisher nur einzelne Proteine angeschaut und wollen nun untersuchen, wie die gesamte Bakterienhülle auf osmotischen Stress reagiert. Was passiert zum Beispiel in den ersten Millisekunden nach einem Salzschock, wenn Wasser ausströmt und noch nicht durch aufgenommene Kaliumionen zurückgehalten wird?« Hänelt hofft, dass ihre Zellmembran-Forschung vielleicht irgendwann einmal Angriffspunkte für neue Wirkstoffe gegen pathogene Bakterien aufzeigt, wenn die Kaliumtransportmechanismen soweit durchschaubar sind, dass sie sich gezielt verändern lassen. ●



Um Verunreinigungen durch andere Bakterienarten zu verhindern, arbeitet Michael Fuss mit dem geöffneten Reagenzglas mit der Bakterienkultur nah an der Bunsenbrennerflamme.