

Ulasan

Pembentukan Magnetosom pada Bakteri

Magnetosome Formation in Bacteria

ARIS TRI WAHYUDI

*Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Jalan Raya Pajajaran, Bogor 16144
Tel./Fax. +62-251-345011, E-mail: aristri2003@yahoo.com*

Magnetic bacteria orient and navigate along geomagnetic field lines and are widely distributed in freshwater and marine habitat. The ability of these bacteria to respond to magnetic fields is based on the presence of intracellular magnetosome, i.e. membrane-bound magnetic particle of either magnetite (Fe_3O_4) or greigite (Fe_3S_4). The magnetosome formation is achieved by tightly controlled processes which involves the accumulation of iron and deposition of the mineral particles at a specific location in the cell. Biomineralization of magnetosome may involve intricate processes, but the exact mechanisms is still poorly understood. This review focuses on the current knowledge about biochemical, physiological as well as molecular biological aspects of the biomineralization process of magnetic bacteria, especially in the magnetosome formation.

Key words: Magnetic bacteria, magnetosome, biomineralization

Akhir-akhir ini banyak penelitian diarahkan untuk memahami biomineralisasi, suatu proses pembentukan mineral yang dikontrol secara biologi. Salah satu contoh biomineralisasi ialah pembentukan partikel magnet yang diselimuti membran, dinamakan magnetosom, pada bakteri magnet. Biomineralisasi bahan bermagnet juga telah dilaporkan pada beberapa organisme yang meliputi alga, serangga, moluska, ikan, maupun burung (Schuler & Frankel 1999). Bakteri magnet pertama kali ditemukan oleh Blakemore (1975). Penemuan ini membangkitkan penelitian interdisiplin di antara ilmuwan, termasuk pakar bidang mikrobiologi, fisika, geologi, maupun kimia. Untuk mengungkap secara jelas biomineralisasi partikel magnet oleh bakteri kelompok ini, sejumlah kelompok peneliti terutama di Jepang, Amerika, dan Jerman tengah melakukan penelitian yang menitikberatkan pada bagaimana sebenarnya biomineralisasi partikel magnet tersebut dapat dibuat pada tingkat genetika molekuler maupun biokimia dan fisiologi. Penelitian pada tingkat genetika molekuler dilakukan intensif oleh kelompok peneliti Jepang, khususnya dari Departemen Bioteknologi, *Tokyo University of Agriculture and Technology*.

Biakan Murni

Kemampuan bakteri magnet untuk bereaksi pada suatu medan magnet memungkinkan untuk mengisolasi bakteri tersebut dari habitat alamnya. Walaupun demikian, hanya beberapa isolat saja yang dapat dibiakkan di laboratorium. Kesulitan dalam hal isolasi dan pembiakannya disebabkan oleh gaya hidupnya yang telah teradaptasi pada sedimen dan kebergantungannya yang kompleks pada bahan-bahan kimia

di dalam perairan. Oleh karena itu, keadaan tiruannya sulit dibuat di laboratorium. Hanya beberapa isolat yang dapat ditumbuhkan di laboratorium dalam bentuk biakan murni, yaitu *Magnetospirillum magnetotacticum* MS-1 (Blakemore *et al.* 1979), *M. magneticum* AMB-1 dan MGT-1 (Matsunaga 1991), *Magnetospirillum* sp. RS-1 (Sakaguchi *et al.* 1993), *M. gryphiswaldense* MSR-1 (Schuler & Baeurlein 1996), satu bakteri magnet bentuk kokus, dan dua galur bakteri magnet bentuk vibrio (Bazylinski *et al.* 1988). Dari kelompok biakan murni tersebut, hanya galur AMB-1 dan MGT-1 yang dapat tumbuh dalam kondisi aerob, namun tidak membuat partikel magnet. Gambar 1A memperlihatkan morfologi *M. magneticum* AMB-1 dengan partikel magnet magnetosom yang tersusun membentuk rantai memanjang searah panjang sel (Wahyudi *et al.* 2003).

Magnetosom

Magnetosom ditemukan pada semua bakteri magnet. Magnetosom terdiri atas partikel mineral besi yang diselimuti oleh membran vesikel. Dalam banyak hal, magnetosom terorganisasi dalam rantai ikatan yang terkemas di dalam sel. Pada beberapa galur bakteri magnet, partikel mineral besi terdiri atas magnetit. Magnetit telah dikarakterisasi melalui distribusi ukuran yang sempit dan seragam (Gambar 1b). Pada beberapa bakteri magnet asal laut dari lingkungan yang bersulfida, kebanyakan partikel magnetosomnya terdiri atas mineral besi sulfida, yaitu greigit (Fe_3S_4) telah dikarakterisasi juga (Bazylinski 1995). Distribusi ukuran yang sempit dan kekhususan bentuk partikel magnet magnetit maupun greigit dalam magnetosom memperlihatkan suatu bukti bahwa

beberapa bakteri magnet penghasil magnetit tidak akan menghasilkan greigit walaupun ditumbuhkan dalam media yang mengandung H_2S (Bazylinski 1995). Hal ini mengindikasikan bahwa komposisi dan struktur kristal dari magnetosom secara tepat dikontrol secara genetika.

Pada magnetosom yang teratur dalam ikatan tunggal seperti pada *Magnetospirillum* (Gambar 1a), interaksi magnetostatik antara partikel berdomain magnetik tunggal menyebabkan momen partikel magnet akan berorientasi secara spontan paralel satu terhadap yang lain sepanjang arah rantai ikatan (Frankel & Blakemore 1980). Karena ikatan antarpartikel di dalam sel tetap, sel yang sempurna akan diorientasikan ke dalam medan magnet. Dalam hal ini bakteri dapat memecahkan masalah, yaitu bagaimana bakteri mengkonstruksi dipol magnet yang akan diorientasikan ke dalam bidang geomagnet di dalam selnya. Kemampuan ini tentunya didasarkan pada bakteri itu sendiri untuk mengontrol tipe mineral dari besi yang diperlukan, ukuran, orientasi, serta penempatannya di dalam sel (Schuler & Frankel 1999).

Semua bakteri magnet penghasil magnetit yang telah ditelaah hingga sekarang ini memiliki partikel magnet yang diselubungi oleh membran seperti terlihat pada Gambar 1b (Matsunaga 1991). Pada *M. magneticum* AMB-1, magnetit dilapisi oleh membran tipis dengan ketebalan 2-4 nm. Membran magnetosom ini terdiri atas protein dan lipid berlapis ganda yang mengandung fosfolipid 58-65% dari total lipid separohnya ialah fosfatidiletanolamin. Protein khusus yang melapisi magnetit dapat memainkan peranan penting dalam imobilisasi enzim, DNA maupun antibodi pada permukaan membran melalui residu asam aminonya. Begitu pula membran magnetosom pada *M. magnetotacticum* MS-1 terdiri atas lapisan ganda yang mengandung fosfolipid dan protein yang unik (Gorby *et al.* 1988). Walaupun pola protein membran magnetosom dapat dibedakan antara galur-galur *Magnetospirillum*, paling tidak satu protein utama dengan bobot molekul antara 22-24 kDa ternyata umum untuk semua galur. Kompartementalisasi melalui pembentukan vesikel magnetosom memungkinkan pembentukan mineral diatur melalui proses biokimia atau fisiologi. Membran mungkin berperan dalam pembentukan inti

mineral, oksidasi reduksi, dan pengontrol pH (Gorby *et al.* 1988, Mann *et al.* 1990). Akhir-akhir ini, protein yang diisolasi dari membran magnetosom *M. magneticum* AMB-1 mempunyai aktivitas GTP-ase dan enzim ini diusulkan sebagai pemula dalam pembentukan membran magnetosom (Okamura *et al.* 2001).

Biokimia dan Fisiologi

Tahap awal dalam pembentukan magnetosom ialah pengambilan besi karena besi diperlukan untuk membuat partikel magnet. Bakteri magnet dapat menggunakan sistem pengambil besi secara efisien. Banyak telaah yang menggunakan *Magnetospirillum* sebagai model dalam pengambilan besi. Siderofor berjenis hidroksamat akan diproduksi jika sel *M. magnetotacticum* MS-1 ditumbuhkan dalam kondisi konsentrasi besi yang berlebih (Paoletti & Blakemore 1986). Pada *M. magneticum* AMB-1, selain siderofor berjenis hidroksamat, siderofor berjenis katekol juga disintesis dalam kondisi konsentrasi besi yang juga berlebih (Calugay *et al.* 2003). *M. gryphiswaldense* tidak memproduksi siderofor sehingga besi diambil dalam bentuk Fe^{3+} melalui proses yang bergantung pada energi (Schuler & Baeurlein 1996). Pengambilan besi feri dalam kecepatan yang tinggi menggambarkan kebutuhan besi bagi mikroorganisme ini sungguh luar biasa.

Biomineralisasi kristal magnet tidaklah terjadi secara konstitutif, melainkan bergantung pada kondisi pertumbuhannya. Di samping ketersediaan besi (dalam jumlah mikromolar), kondisi mikroaerob sangat diperlukan untuk pembentukan magnetosom pada *Magnetospirillum* (Blakemore *et al.* 1985; Matsunaga 1991). *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 tidak membentuk magnetosom selama pertumbuhan dalam kondisi aerob, tetapi akan mulai memproduksi magnetosom dengan segera setelah ditumbuhkan dalam keadaan mikroaerob (O_2 1-3%). Dalam usaha untuk mengungkap keterkaitan antara sistem transpor elektron dalam penggunaan nitrat dan oksigen dengan pembentukan magnetosom dilakukan uji sitokrom pada



Gambar 1. Bakteri magnet *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 dengan magnetosom membentuk rantai searah panjang sel (a) (Wahyudi *et al.* 2003) dan sebuah partikel magnet, magnetit, yang diselubungi oleh membran (ditandai anak panah) (b) yang diamati menggunakan mikroskop elektron (Matsunaga *et al.* 1991).

M. magnetotacticum MS-1. Tamegai *et al.* (1993) melaporkan hemoprotein serupa sitokrom a1 dalam jumlah yang jauh lebih besar pada *Magnetospirillum* yang bersifat magnet dibandingkan dengan yang tidak bersifat magnet. Sitokrom C oksidase tipe ccb dan sitokrom cd1 nitrit reduktase telah diisolasi dan dimurnikan dari *M. magnetotacticum* MS-1 (Tamegai & Fukumori 1994; Yamazaki *et al.* 1995). Protein sitokrom cd1 ini menarik karena dapat memperlihatkan aktivitas Fe (II): nitrit oksidasi-reduksi. Sitokrom cd1 pada *M. magnetotacticum* MS-1 berperan sebagai enzim pengoksidasi Fe²⁺ dalam kondisi mikroaerob dengan menggunakan nitrit sebagai penerima elektron. Pembentukan magnetit dapat ditingkatkan jika sel ditumbuhkan melalui reduksi nitrat yang berbeda. Pada konsentrasi oksigen 1.0% akan menghasilkan magnetit paling banyak dibandingkan dengan konsentrasi O₂ kurang dari 1.0% atau lebih besar dari 1.0% (Blakemore *et al.* 1985). Dari pengamatan ini diusulkan bahwa reduksi nitrat yang berbeda pada *M. magnetotacticum* MS-1 dapat berfungsi sebagai enzim pengoksidasi untuk pembentukan magnetosom dalam kondisi anaerob.

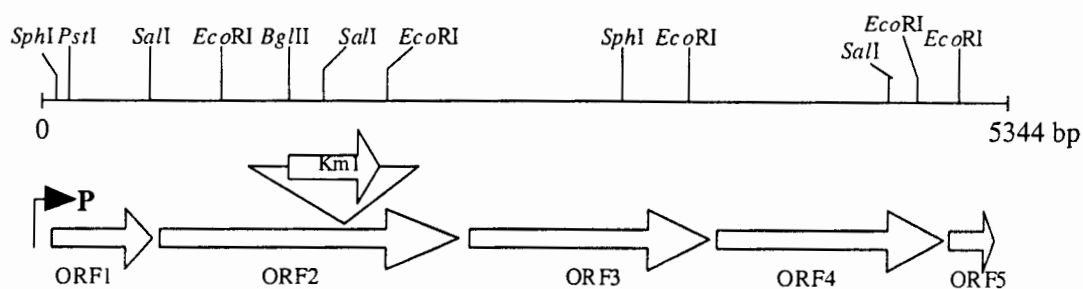
Genetika Molekuler

Telaah biologi molekuler dari pembentukan magnetosom oleh bakteri magnet dihadapkan pada beberapa masalah, yaitu tidak adanya jumlah galur bakteri magnet yang memadai jumlahnya, kemandiannya dalam pengkulturan, dan ketidakmampuan hampir semua galur tumbuh pada permukaan agar-agar yang digunakan untuk menyeleksi mutan. *M. magnetotacticum* MS-1 dan *M. magneticum* AMB-1 umumnya digunakan sebagai model dalam pembentukan magnetosom. Walaupun demikian, hanya galur AMB-1 yang mampu tumbuh pada media agar-agar sehingga dapat memfasilitasi untuk menyeleksi mutan.

Telaah awal mengenai genetika molekuler pada bakteri magnet telah dilaporkan pada *M. magnetotacticum* MS-1. Paling tidak ada beberapa gen dari bakteri ini yang dapat diklon dan diekspresikan pada *Escherichia coli*, gen *recA* dari *M. magnetotacticum* MS-1 (Berson *et al.* 1989). Mereka mengklon 2 kilo pasang basa (kb) fragmen DNA yang komplemen dengan *E. coli* yang kehilangan sistem pengambil besi dan mutan *Salmonella typhimurium* yang kehilangan sistem gen *aroD* secara fungsional. Hasil ini menunjukkan bahwa 2 kb fragmen DNA tersebut berfungsi dalam pengambilan besi pada *M. magnetotacticum* MS-1 (Berson *et al.* 1991).

Kemampuan *M. magneticum* AMB-1 tumbuh pada media agar-agar cawan merupakan fasilitas yang baik untuk menganalisis genetika molekuler pembentukan partikel magnet. Mutagenesis dengan transposon Tn5 memungkinkan untuk menyeleksi mutan-mutan yang tidak bersifat magnet (Matsunaga *et al.* 1992). Mereka berhasil mengisolasi sebuah gen, *magA*, pada *M. magneticum* AMB-1. Protein MagA terlibat dalam transpor besi dalam biosintesis magnetosom (Nakamura *et al.* 1995). Ekspresi MagA dapat ditingkatkan jika AMB-1 tipe liar ditumbuhkan pada kondisi ketersediaan besi yang terbatas (kurang dari 33 µM) dan galur ini akan dapat mentranspor besi lebih banyak daripada jika ditumbuhkan dengan ketersediaan besi yang cukup (33 µM). Dengan demikian, AMB-1 akan memproduksi magnetosom yang berlebih (Nakamura *et al.* 1995). Okuda *et al.* (1996) menggunakan sekuen N-terminal asam amino dari 22 kDa protein yang berasosiasi dengan membran magnetosom *M. magnetotacticum* MS-1, selanjutnya mengklon dan mensekuensinya. Berdasarkan pada sekuen asam aminonya menunjukkan adanya homologi dengan sejumlah protein yang termasuk kelompok tetra triko peptida. Walaupun demikian, peran protein ini dalam pembentukan magnetosom belum diketahui dengan pasti.

Paling tidak ada 10 gen atau sekuen DNA di dalam kromosom *M. magneticum* AMB-1 yang terlibat di dalam pembentukan magnetosom (Wahyudi *et al.* 2001). Metode yang digunakan untuk mengisolasi mutan-mutan yang tidak bersifat magnet ialah mutagenesis dengan transposon mini-Tn5. *Inverse polymerase chain reaction* (inversi PCR) dan sekuensing DNA dilakukan untuk mengidentifikasi gen yang disisipi transposon. Lebih lanjut, analisis mengenai gen-gen yang terlibat dalam pembentukan magnetosom menunjukkan bahwa umumnya gen-gen tersebut terorganisasi dalam operon atau kelompok gen (*gene cluster*). Hal ini mengindikasikan bahwa sintesis magnetosom pada bakteri magnet merupakan suatu proses yang kompleks dan melibatkan banyak gen. Salah satu operon tersebut telah dianalisis mengenai keterlibatannya dalam biosintesis magnetosom (Gambar 2) dan analisis homologi kerangka baca terbuka (*open reading frame*, ORF) (Tabel 1). Gen yang langsung disisipi transposon yang terlibat dalam pembentukan magnetosom dari operon tersebut homolog dengan aldehid feredoksin oksidoreduktase (AOR) dari bakteri *Pyrococcus furiosus*, kelompok bakteri archaea. Gen penyandi AOR tersebut telah diklon pada plasmid pUMP16 (Okamura *et al.* 2003) dan ditransformasikan ke galur



Gambar 2. Sebuah operon yang terdiri atas lima *open reading frame* (ORF) yang terlibat dalam sintesis magnetosom. P menunjukkan letak promotor. Panah dengan Km di atas ORF2 menunjukkan lokasi penyisipan transposon (Wahyudi *et al.* 2003).

Tabel 1. Analisis homologi dari operon yang terlibat dalam sintesis magnetosom (Wahyudi *et al.* 2003)

ORF	Ukurab (pb)	Residu asam amino	Bobot molekul (kDa)	Protein homologi	No. akses protein	Identitas/keserupaan (%)	Mikroorganisme
1	480	160	17.3	Oksidoreduktase Fe-S subunit	AAL81603	45/57	<i>Pyrococcus furiosus</i>
2	1851	617	66.3	Aldehida feredoksin oksidoreduktase	Q51739	48/64	<i>Pyrococcus furiosus</i>
3	1302	434	46.1	NADH oksidase	AAD35480	31/47	<i>Thermotoga maritima</i>
4	1251	417	44.7	Nitrat reduktase, subunit transfer elektron	P42433	27/47	<i>Bacillus subtilis</i>
5	246	82	8.3	Biosintesis protein D/E, kofaktor molibdenum	E75252	35/55	<i>Deinococcus radiodurans</i>

pb: pasangan basa

AMB-1. Ekspresi dari gen tersebut ternyata protein produknya berlokasi dalam sitoplasma. Gen tersebut diusulkan terkait dengan sistem transfer elektron yang berhubungan dengan reduksi besi selama respirasi mikroaerob pada *M. magneticum* AMB-1 (Wahyudi *et al.* 2003).

Sangat sedikit informasi yang telah diketahui mengenai pembentukan magnetosom dan genetika molekuler dari bakteri magnet. Pembentukan magnetosom merupakan proses yang kompleks. Oleh karena itu, suatu usaha untuk mengisolasi gen-gen yang terlibat baik secara langsung atau tidak langsung, yang diperlukan dalam pembentukan magnetosom beserta fungsinya merupakan jalan terbaik untuk mengungkapkan secara jelas pembentukan magnetosom di tingkat seluler. Pembentukan magnetosom merupakan salah satu fenomena biologi yang menarik namun kompleks. Walaupun demikian, dengan telah dikonstruksinya mutan-mutan yang tidak membuat partikel magnet pada *M. magneticum* AMB-1 diharapkan akan memudahkan dalam analisisnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Bazylinski DA. 1995. Structure and function of the bacterial magnetosome. *ASM News* 61:337-343.
- Bazylinski DA, Frankel RB, Janasch HW. 1988. Anaerobic magnetite production by a marine magnetotactic bacterium. *Nature* 334:518-519.
- Berson AE, Hudson DV, Waleh NS. 1989. Cloning and characterization of the *recA* gene of *Aquaspirillum magnetotacticum*. *Arch Microbiol* 152:567-571.
- Berson AE, Hudson DV, Waleh NS. 1991. Cloning of a sequence of *Aquaspirillum magneto-tacticum* that complements the *aroD* gene of *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 5:2262-2264.
- Blakemore RP. 1975. Magnetotactic bacteria. *Science* 190:377-379.
- Blakemore RP, Maratea, Wolfe RS. 1979. Isolation and pure culture of a freshwater magnetic spirillum in chemically defined medium. *J Bacteriol* 140:720-729.
- Blakemore RP, Short KA, Bazylinski DA, Rosenblatt C, Frankel RB. 1985. Microaerobic conditions are required for magnetite formation within *Aquaspirillum magnetotacticum*. *Geomicrobiol J* 4:53-71.
- Calugay RJ, Miyashita H, Okamura Y, Matsunaga T. 2003. Siderophore production by the magnetic bacterium *Magnetospirillum magneticum* AMB-1. *FEMS Microbiol Lett* 218:371-375.
- Frankel RB, Blakemore RP. 1980. Navigational compass in magnetic bacteria. *J Magnet Mater* 15-18:1562-1564.
- Gorby YA, Beveridge TJ, Blakemore RP. 1988. Characterization of the bacterial magnetosome membrane. *J Bacteriol* 170:834-841.
- Mann S, Spark NHC, Board RG. 1990. Magnetotactic bacteria: microbiology, biomineralization, palaeomagnetism and biotechnology. *Adv Microbiol Physiol* 31:125-181.
- Matsunaga T. 1991. Applications of bacterial magnets. *Trend Biotechnol* 26:91-95.
- Matsunaga T, Nakamura C, Burgess JB, Sode K. 1992. Gene transfer in magnetic bacteria: transposon mutagenesis and cloning of genomic DNA fragments required for magnetosome synthesis. *J Bacteriol* 174:2748-2753.
- Matsunaga T, Sakaguchi T, Todokoro F. 1991. Magnetite formation by a magnetic bacterium capable of growing aerobically. *Appl Microbiol Biotechnol* 35:651-655.
- Nakamura C, Burgess JB, Sode K, Matsunaga T. 1995. An iron-regulated gene, *magA*, encoding an iron transport protein of *Magnetospirillum* sp. AMB-1. *J Biol Chem* 270:28392-28396.
- Okamura Y *et al.* 2003. Design and application of a new cryptic plasmid-based shuttle vector for *Magnetospirillum magneticum*. *Appl Environ Microbiol* 69:4274-4277.
- Okamura Y, Takeyama H, Matsunaga T. 2001. A magnetosome-specific GTPase from the magnetic bacterium *Magnetospirillum magneticum* AMB-1. *J Biol Chem* 276:48183-48188.
- Okuda Y, Denda K, Fukumori Y. 1996. Cloning and sequencing of a gene encoding a new member of the tetratricopeptide protein family from magnetosomes of *Magnetospirillum magnetotacticum*. *Gene* 171:99-102.
- Paoletti LC, Blakemore RP. 1986. Hydroxamate production by *Aquaspirillum magnetotacticum*. *J Bacteriol* 167:153-163.
- Sakaguchi T, Burgess JB, Matsunaga T. 1993. Magnetite formation by sulphate-reducing bacterium. *Nature* 365:47-49.
- Schuler D, Baeuerlein E. 1996. Iron-limited growth and kinetics of iron uptake in *Magnetospirillum gryphiswaldense*. *Arch Microbiol* 166:301-307.
- Schuler D, Frankel RB. 1999. Bacterial magnetosomes: microbiology, biomineralization and biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 52:464-473.
- Tamegai H, Fukumori Y. 1994. Purification and some molecular and enzymatic features of a novel ccb-type cytochrome c oxidase from a microaerobic denitrifier, *Aquaspirillum magnetotacticum*. *FEBS Lett* 347:22-26.
- Tamegai H, Yamanaka T, Fukumori Y. 1993. Purification and properties of a cytochrome a1 like hemoprotein from a magnetotactic bacterium, *Aquaspirillum magnetotacticum*. *Biochem Biophys Acta* 1158:137-143.
- Wahyudi AT, Takeyama H, Matsunaga T. 2001. Isolation of *Magnetospirillum magneticum* AMB-1 mutants defective in bacterial magnetic particles synthesis by transposon mutagenesis. *Appl Biochem Biotechnol* 91:147-154.
- Wahyudi AT, Takeyama H, Okamura Y, Fukuda Y, Matsunaga T. 2003. Characterization of aldehyde ferredoxin oxidoreductase gene defective mutant in *Magnetospirillum magneticum* AMB-1. *Biochem Biophys Res Commun* 303:223-229.
- Yamazaki T, Oyanagi H, Fujiwara T, Fukumori Y. 1995. Nitrite reductase from the magnetotactic bacterium, *Magnetospirillum magnetotacticum* - a novel cytochrome-cd (1) with Fe(II) nitrite oxidoreductase activity. *Eur J Biochem* 233:665-670.