

## Hochdurchsatz-3D-Tracking

# Mikrobielle Navigation in natürlichen Umgebungen ermitteln

KATJA M. TAUTE  
BIOZENTRUM, LMU MÜNCHEN, MARTINSRIED

**How bacteria navigate the complex environments they inhabit in nature impacts a wide range of processes from climate change to agriculture, health, and disease. High-throughput 3D-tracking is increasingly taken on the challenge to reveal the underlying behavioral mechanisms. Artificial intelligence (AI) offers the perspective of not only massive increases in tracking efficiency, but also of unbiased categorization of behavioral strategies.**

DOI: 10.1007/s12268-023-1980-1  
© Die Autorin 2023

■ Viele Bakterien und Archaeen können schwimmen. Die meisten nutzen dazu spiral-förmige Flagellen bzw. Archaellen, die sie wie Propeller drehen oder auch wie Ruder zur Richtungsänderung nutzen können [1]. Die meisten flagellierten Spezies scheinen auch navigieren zu können: Sie schwimmen relativ zu Gradienten von Reizen in ihrer Umgebung, z. B. löslichen Chemikalien (Chemotaxis), Licht (Phototaxis) oder Temperatur (Thermotaxis). Chemotaxis trägt maßgeblich zum Kohlenstoffumsatz vieler Meeresbakterien bei und wird sowohl von pathogenen als auch von symbiotischen Mikroben genutzt, um zu oder in ihrem Wirt zu navigieren [2].

Bakterielle Motilität als klassisches Forschungsfeld hat in den letzten Jahrzehnten durch ihren vertieften Fokus auf ein spezifisches Modellsystem, die Chemotaxis von *Escherichia coli* in Wasser (Abb. 1), bahnbrechende biophysikalische und systemtheoretische Einsichten generiert. Erst innerhalb des letzten Jahrzehnts rückte vermehrt der Anspruch in den Fokus, mikrobielle Navigation innerhalb ihres natürlichen Kontexts zu analysieren. Dieser Anspruch bringt mehrere Herausforderungen mit sich.

### Wie sieht die natürliche Umgebung aus?

Obwohl das Darmbakterium *E. coli* als etabliertes mikrobielles Modellsystem gilt, ist die Rolle von Motilität in der natürlichen Ökolo-

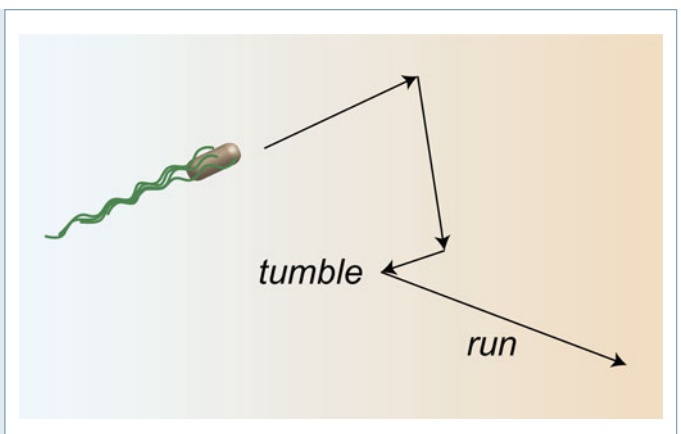
gie dieser Spezies nicht gut verstanden. Wir wissen nicht, ob Motilität für *E. coli* eher innerhalb des Darms eine Rolle spielt oder während einer Lebensphase außerhalb des Wirts. Auch bei pathogenen Bakterien mit bekanntem Zusammenhang zwischen Schwimmverhalten und Pathogenität ist nicht immer klar, von wo, nach wo, durch welches Material und relativ zu welchen Reizen das Bakterium im Wirt schwimmt. Viele Wirt-Mikroben-Interaktionen spielen sich an Schleimhäuten ab. Bakterien müssen hier typischerweise eine schützende Schleimschicht überwinden, die größtenteils aus einem Hydrogel aus dem Glykoprotein Mucin besteht. Im Speichel dagegen begegnen Bakterien gelösten Mucinpolymeren. Wundpathogene interagieren wahrscheinlich mit

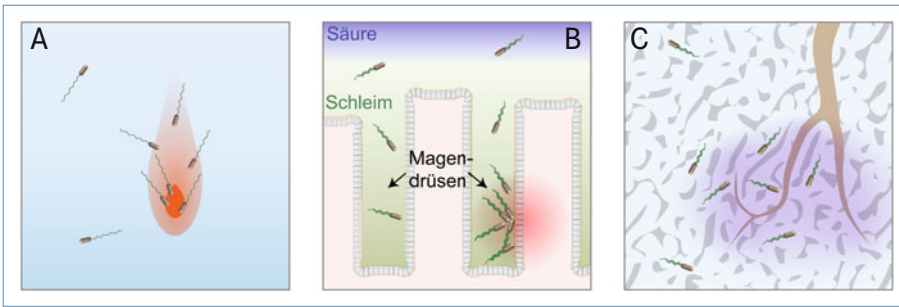
Blutgerinnungsproteinen, von gelöstem Fibrinogen bis zu dichten Fibrinnetzwerken. Bodenbakterien dagegen navigieren durch poröse Strukturen mit variablem Wassergehalt. Die natürlichen Umgebungen schwimmender Bakterien decken also wahrscheinlich eine weite Bandbreite an biologischer, chemischer und physikalischer Komplexität ab (Abb. 2), von einfachen Flüssigkeiten bis zu Polymerlösungen und -gelen sowie porösen Strukturen.

### Die Natur im Labor imitieren

Die Nachbildbarkeit natürlicher Umgebungen im Labor ist nicht nur durch unser mangelndes Wissen um deren Identität und Eigenschaften begrenzt, sondern auch durch praktische Einschränkungen in der Herstellbarkeit von Materialien. Aus diesem Grund werden meist Modellmaterialien eingesetzt, die einfach und reproduzierbar hergestellt werden können, und von denen man erwartet, dass sie wesentliche Eigenschaften von natürlichen Umgebungen wiedergeben. Während durch mikroskopische Hindernisse strukturierte Umgebungen vielleicht die Porosität von Erdboden imitieren [3], werden die mechanischen Eigenschaften rein organischer Umgebungen, z. B. von Wirtskörpern, oft von Biopolymeren in Lösung oder als Hydrogel dominiert (Abb. 2). Weil die Isolierung sowie die rekombinante Herstellung von Mucinen aufwendig ist [4], werden stattdessen auch oft synthetische Polymerlö-

► **Abb. 1:** Chemotaxis von *Escherichia coli* in Wasser. Die Bakterien bewegen sich im Mittel den chemischen Gradienten hoch, indem sie auf Änderungen in der Konzentration von Chemikalien durch eine dynamische Anpassung der Häufigkeit von Re-Orientierungen, den *tumbles*, reagieren.





▲ **Abb. 2:** Bakterielle Navigation in natürlichen Umgebungen verschiedener Komplexität. **A,** Marine Bakterien nutzen Chemotaxis, um sinkende organische Partikel zu besiedeln und zu zersetzen. **B,** Pathogene Bakterien – wie hier *Helicobacter pylori* – nutzen Chemotaxis, um Infektionsherde zu schaffen. **C,** Bodenbakterien navigieren relativ zu Wurzelauausscheidungen, um Pflanzenwurzeln zu besiedeln.

sungen verwendet. So konnten wir beispielsweise zeigen, wie der Durchfallerreger *Vibrio cholerae* sein Schwimmverhalten an die verschiedenen Umgebungen anpasst, die er in seinem Lebenszyklus erlebt [5].

**Die Welt ist 3D**

Mikroskopie ist das Tor zur mikrobiellen Welt, doch die Fokusebene eines Mikroskops ist zwei- und die Welt dreidimensional. Wäh-

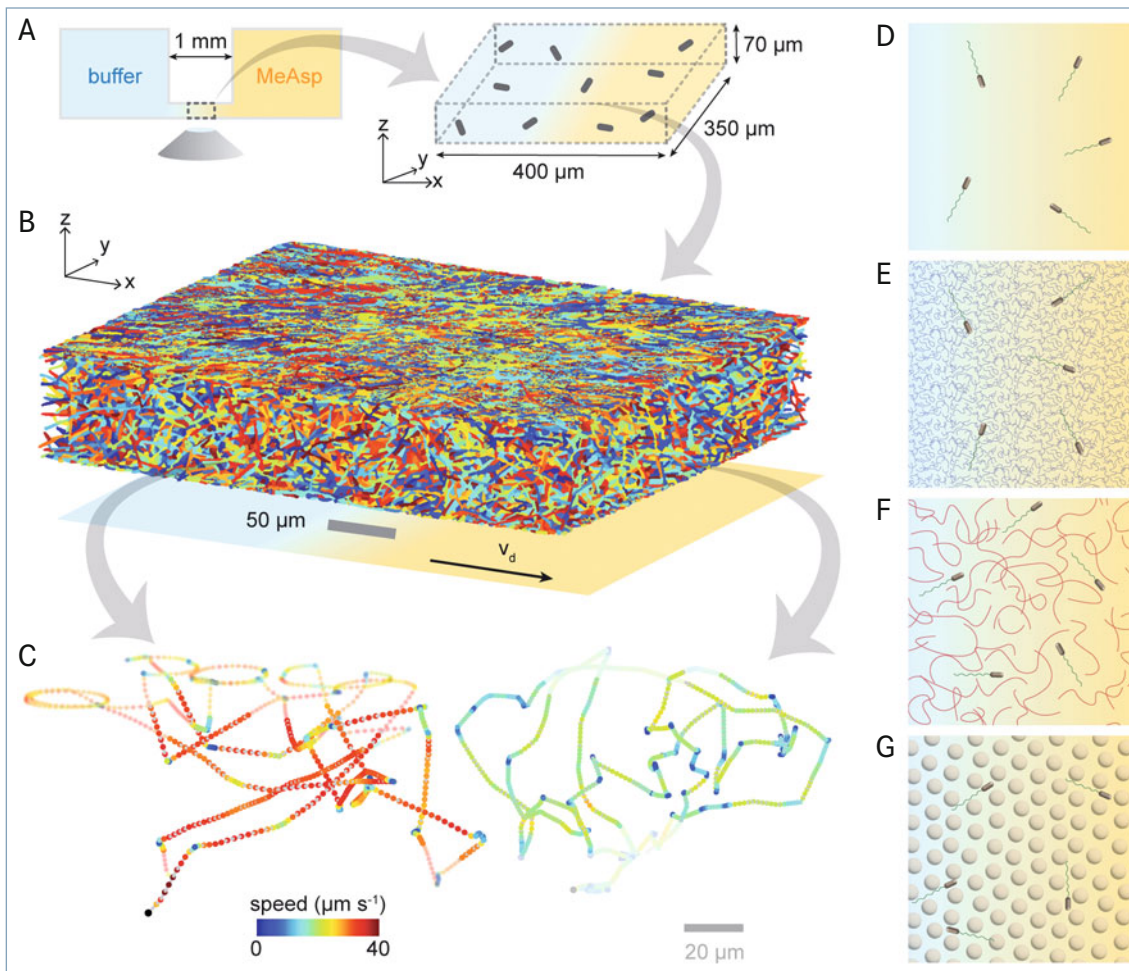
rend viele mikrobielle Phänomene sich auch in zweidimensionalen Geometrien untersuchen lassen, erfordert gerade Navigation in strukturierten Umgebungen die Berücksichtigung von Dimensionalität, denn ein Hindernis in einer Ebene kann durch einen Sprung in eine andere Ebene umgangen werden.

Innerhalb des letzten Jahrzehnts wurden verschiedene Hochdurchsatzmethoden zum 3D-Zell-Tracking entwickelt. Hierzu wird

meist anhand von Beugungsrings, die entstehen, wenn das Bakterium sich von der Fokusebene entfernt, der Abstand zur Fokusebene bestimmt und so eine dreidimensionale Position zugewiesen. Während die digitale holographische Mikroskopie [6] analytisch vorgeht, um aus dem Muster des gestreuten Lichtes die Position des streuenden Objekts zu berechnen, nutzen andere Ansätze [7, 8] empirisch ermittelte Zusammenhänge zwischen Beugungsmuster und Position. Beide Ansätze sind rechenaufwändig.

**3D-Navigation in komplexen Umgebungen**

Wie navigieren Bakterien in komplexen Umgebungen mit räumlicher Struktur oder besonderen mechanischen Eigenschaften? Mittels Hochdurchsatz-3D-Tracking konnten wir chemotaktische Bakterien in chemischen Gradienten verfolgen, die in mikrofluidischen Kammern hergestellt werden (**Abb. 3**, [9]). Die resultierenden Datensätze erlauben dank ihrer Größe eine sehr genaue Quantifizierung der chemotaktischen Fähigkeiten auf Populationsebene. Gleichzeitig ermöglichen



▲ **Abb. 3:** Bakterien navigieren in einem mikrofluidisch erzeugten chemischen Gradienten des Attraktants Methylaspartat (MeAsp) in einer Pufferlösung (*buffer*) (**A**) und werden mittels Hochdurchsatz-3D-Tracking [7] verfolgt (**B**) und ihr Navigationsverhalten analysiert (**C**). Die Farbe der Trajektorien in **C** entspricht der Schwimgeschwindigkeit (*speed*). Das Navigationsverhalten kann in Modellumgebungen verschiedener mechanischer Komplexität analysiert werden: Wasser (**D**), Polymerlösungen (**E**), Hydrogele (**F**), Hindernisse (**G**). A–C entnommen aus [9].

die individuellen bakteriellen Trajektorien Einsicht in das zugrunde liegende Navigationsverhalten. Durch die Kombination mit komplexen Materialien konnten wir damit erstmals die Verhaltensmechanismen ermitteln, die Bakterien chemotaktische Navigation in komplexen Umgebungen ermöglichen [10]. Eine erste spannende Einsicht ist, dass chemotaktische Fähigkeiten stark durch die Art der Flagellierung bestimmt werden: Bakterien mit nur einem Flagellum navigieren sehr gut in Wasser, aber Bakterien mit mehr Flagellen besser in komplexen Materialien [10].

### Perspektive KI

Die rapide Entwicklung von künstlicher Intelligenz (KI) bietet die Perspektive, in Zukunft neuronale Netzwerke einzusetzen, um 3D-Zellverfolgung recheneffizienter zu gestalten und vielleicht sogar routinemäßig in Echtzeit durchzuführen. Empirisch oder analytisch bekannte Zuordnungen von Bewegungsmustern zu 3D-Positionen ließen sich z. B. durch neuronale Netzwerke lernen und automatisiert zur Positionsbestimmung anwenden. Solche Methoden finden bereits für nicht-biologische Systeme Anwendung [11, 12].

Jenseits effizienterer 3D-Zellverfolgung eröffnet KI auch Perspektiven für die Auswertung des 3D-Schwimmverhaltens. Bisherige Arbeiten nutzen größtenteils die automatische Detektion von durch die Forschenden vorgegebenen Verhaltenskategorien (z. B. *run* und *tumble* für *E. coli* in Wasser).

Unüberwachtes maschinelles Lernen (*unsupervised machine learning*) bietet jedoch die Perspektive, zukünftig Verhaltenskategorien automatisch zu definieren, um Verzerrungen durch die Erwartungen der Forschenden zu vermeiden. ■

### Literatur

- [1] Xie L, Altindal T, Chattopadhyay S, Wu X-I (2011) Bacterial flagellum as a propeller and as a rudder for efficient chemotaxis. *Proc National Acad Sci* 108: 2246–2251
- [2] Keegstra JM, Carrara F, Stocker R (2022) The ecological roles of bacterial chemotaxis. *Nat Rev Microbiol*: 20: 491–504
- [3] Bhattacharjee T, Datta SS (2019) Bacterial hopping and trapping in porous media. *Nat Commun* 10: 1–9
- [4] Park S, Kuo JC-H, Reesink HL, Paszek MJ (2023) Recombinant mucin biotechnology and engineering. *Adv Drug Deliv Rev* 193: 114618
- [5] Grognot M, Mittal A, Mah'moud M, Taute KM (2021) *Vibrio cholerae* Motility in Aquatic and Mucus-Mimicking Environments. *Appl Environ Microbiol* 87: e0129321
- [6] Molaei M, Sheng J (2014) Imaging bacterial 3D motion using digital in-line holographic microscopy and correlation-based de-noising algorithm. *Opt Express* 22: 32119–32119
- [7] Taute KM, Gude S, Tans SJ, Shimizu TS (2015) High-throughput 3D tracking of bacteria on a standard phase contrast microscope. *Nat Commun* 6: 1–9
- [8] Wu M, Roberts JW, Kim S, Koch DL, DeLis MP (2006) Collective bacterial dynamics revealed using a three-dimensional population-scale defocused particle tracking technique. *Appl Environ Microbiol* 72: 4987–4994
- [9] Grognot M, Taute KM (2021) A multiscale 3D chemotaxis assay reveals bacterial navigation mechanisms. *Commun Biology* 4: 669

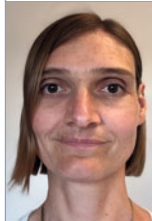
- [10] Grognot M, Nam JW, Elson LE, Taute KM (2023) Physiological adaptation in flagellar architecture improves *Vibrio alginolyticus* chemotaxis in complex environments. *PNAS* (im Druck)
- [11] Shimobaba T, Takahashi T, Yamamoto Y et al. (2019) Digital holographic particle volume reconstruction using a deep neural network. *Appl Opt* 58: 1900
- [12] Shao S, Mallery K, Kumar SS, Hong J (2020) Machine learning holography for 3D particle field imaging. *Opt Express* 28: 2987–2999

**Funding note:** Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.  
**Open Access:** Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Katja M. Taute  
 Bereich Mikrobiologie  
 LMU München Biozentrum  
 Großhaderner Straße 2-4  
 D-82152 Planegg-Martinsried  
 taute@bio.lmu.de  
 www.tautelab.org

### AUTORIN



#### Katja M. Taute

2001–2006 Studium der Physik an den Universitäten Leipzig und Canterbury, Neuseeland. 2006–2011 Forschungsaufenthalt University of Texas, Austin, USA. 2012 Promotion in Physik, Universität Leipzig. 2012–2015 Postdoc am AMOLF, Niederlande. 2016–2021 Rowland Fellow, Harvard University, Cambridge, MA, USA. 2021–2023 Vertretungsprofessur Mikrobiologie, LMU München. Ab 2023 Professur für Quantitative Mikrobielle Populationsbiologie, Universität Leipzig.

# Hier steht eine Anzeige.



Springer