ETH zürich

ETH Library

Multi-scale imaging of macromolecular complexes in environmental bacteria

Doctoral Thesis

Author(s):
Hadjicharalambous, Corina

Publication date:
2025

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-c-000784309

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

DISS. ETH NO. 31509

Multi-scale imaging of macromolecular complexes in environmental bacteria

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

CORINA HADJICHARALAMBOUS

born on 17.05.1996

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Martin Pilhofer (examiner)
Prof. Dr. Takashi Ishikawa (co-examiner)
Prof. Dr. Matthias Horn (co-examiner)
Prof. Dr. Michal Wieczorek (co-examiner)

2025

Thesis Summary

Bacteria inhabit a wide range of ecosystems from hot springs to the ocean. Their ability to survive and flourish in such diverse environments is reflected in their biological diversity and complexity. Nevertheless, the diversity of bacteria that most studies focus on is not representative of environmental diversity. Hence, bringing environmental bacteria to the forefront of scientific studies will enable us to discover even more of the existing bacteria diversity and understand novel bacterial biologies.

One contributing factor of bacterial complexity is their interactions with neighbouring microorganisms. In nature, bacteria are not isolated and in fact, their fitness is dependent on their interactions with their neighbours. These interactions can range from cooperative to antagonistic, but they are often mediated by macromolecular complexes. As a result, to fully capture and comprehend these microbial communities, environmental samples should be studied at a community, cellular and protein level. This can be achieved via a multi-scale imaging approach. Cryo-single particle analysis can provide structural and mechanistic insights into macromolecular complexes mediating cell-cell interactions. Complemented by cryo-electron tomography (cryoET), which allows cells to be imaged at a near-native state, cellular and functional context for these macromolecular complexes can be obtained.

Combined with expansion microscopy and phylogenetic analyses, the aforementioned methodologies were applied in **chapter 2** to investigate the defensive function of epixenosomes, a bacterial epibiont of a ciliate. We uncovered the presence of several macromolecular complexes including tubulin polymers, a refractile (R) body and two contractile injection systems (CISs). Based on our findings, we posited that epixenosomes undergo R-body-mediated cell lysis, releasing CISs into the environment and ultimately repel predators of the host. Cell lysis is achieved via the extension of the R body, which is likely facilitated by the tubulin polymers. Intriguingly, apart from eukaryote-like tubulins, we discovered the presence of other eukaryotic signature proteins like actin and we discuss their evolutionary implications.

To explore how bacteria interact in stratified macroscopic microbial communities, we studied the use of CISs in hot spring mats. Because of the microbial complexity of hot spring mats, in **chapter 3**, we applied cryo-focused ion beam milling and cryoET,

guided by metagenomics and proteomics. We found that the most abundant *Roseiflexus* bacteria utilise CISs to either compete with cyanobacteria or mediate their own cell death. We then discovered CISs in other thermophiles and showed that they all belong to a new lineage of CISs from thermophilic bacteria.

Overall, this thesis will hopefully encourage the study of more environmental samples as well as the incorporation of multi-scale imaging approaches to conventional environmental microbiology workflows.

Zusammenfassung

Bakterien besiedeln ein breites Spektrum von Ökosystemen, von heißen Quellen bis zum Ozean. Ihre Fähigkeit, in solchen unterschiedlichen Umgebungen zu überleben und zu gedeihen, spiegelt sich in ihrer biologischen Vielfalt und Komplexität wider. Dennoch ist die Diversität von Bakterien, auf die sich die meisten Studien konzentrieren, nicht repräsentativ für die Vielfalt in der Umwelt. Daher wird die Einbeziehung von Bakterien aus der Umwelt in wissenschaftlichen Studien es uns ermöglichen, noch mehr der existierenden bakteriellen Vielfalt zu entdecken und neuartige Bakteriologie zu verstehen.

Ein beitragender Faktor der bakteriellen Komplexität sind ihre Interaktionen mit benachbarten Mikroorganismen. In der Natur sind Bakterien nicht isoliert, sondern ihre Fitness hängt von Interaktionen mit ihren Nachbarn ab. Diese Interaktionen können von kooperativ bis antagonistisch reichen, werden aber oft durch makromolekulare Komplexe vermittelt. Um diese mikrobiellen Gemeinschaften vollständig zu erfassen und zu verstehen, sollten Umweltproben auf Gemeinschafts-, Zell- und Proteinebene untersucht werden. Dies kann durch einen mehrskaligen Ansatz bildgebender Verfahren erreicht werden. Die Kryo-Einzelpartikelanalyse kann strukturelle und mechanistische Einblicke in makromolekulare Komplexe liefern, die Zell-Zell-Interaktionen vermitteln. Ergänzt durch die Kryo-Elektronentomographie (KryoET), die es ermöglicht, Zellen in einem nahezu nativen Zustand aufzunehmen, kann der zelluläre und funktionelle Kontext für diese makromolekularen Komplexe dargestellt werden.

Kombiniert mit Expansionsmikroskopie und phylogenetischen Analysen wurden die vorgenannten Methoden in **Kapitel 2** angewandt, um die Abwehrfunktion von Epixenosomen, einem bakteriellen Epibionten eines Wimperntierchens, zu untersuchen. Wir entdeckten mehrere makromolekularer Komplexe, einschließlich Tubulinpolymeren, eines refraktilen Körpers (R-Body) und zweier kontraktiler Injektionssysteme (CISs). Basierend auf unseren Erkenntnissen postulierten wir, dass Epixenosomen eine durch R-Bodies hervorgerufene Zelllyse durchlaufen, wobei CISs in die Umgebung freigesetzt werden und letztendlich die Prädatoren des Wirts abwehren. Die Zelllyse wird durch die Ausdehnung des R-Körpers erreicht, was wahrscheinlich durch die Tubulinpolymere gefördert wird. Interessanterweise

entdeckten wir, abgesehen von Tubulinen, die Eukaryoten ähneln, die Anwesenheit weiterer eukaryotischer Signaturproteine wie Aktin und wir anaylsieren hier ihre evolutionären Implikationen.

Um zu untersuchen, wie Bakterien in geschichteten makroskopischen mikrobiellen Gemeinschaften interagieren, untersuchten wir die Anwendung von CISs in Thermalquellen-Matten. Aufgrund der mikrobiellen Komplexität der Thermalquellen-Matten wandten wir eine Kryo-Elektronenstrahlfräse und KryoET zusammen mit Metagenomik und Proteomik in **Kapitel 3** an. Wir fanden heraus, dass die am häufigsten vorkommenden Roseiflexus-Bakterien CISs nutzen, um entweder mit Cyanobakterien zu konkurrieren oder ihren eigenen Zelltod zu verhindern. Anschließend entdeckten wir CISs in anderen Thermophilen und zeigten, dass sie alle zu einer neuen Linie von CISs aus thermophilen Bakterien gehören.

Insgesamt wird diese Doktorarbeit hoffentlich die Untersuchung von mehr Umweltproben sowie die Einbeziehung mehrskaliger Ansatze von bildgebenden Verfahren in konventionelle Arbeitsabläufe der Umweltmikrobiologie fördern.

Disclaimer: the thesis summary was translated from English to German using the Artificial Intelligence assistant Google Gemini 2.5 Flash on August 26th 2025.