

Wykład prof. K. Skowrona „Pogawędki drobnoustrojów, czyli słów kilka o *quorum sensing*”
Dyplomatorium analityki mdycznej i kosmetologii 19.11. 2022

Szanowna Pani Rektor, Panie Dziekanie, Panie Prezydencie, Szanowni Goście, a przede wszystkim Wy drodzy Absolwenci naszego Wydziału.

To dla mnie wielki zaszczyt móc przed Wami wystąpić w tak ważnym dla Was dniu. Zastanawiałem się nad wyborem tematu wykładu na tak podniosłą uroczystość i stwierdziłem, że nie może być nic lepszego niż wykład o umiejętności porozumiewania się w celu realizacji konkretnych założeń i osiągnięcia wytyczonych celów. Z tego względu chciałbym przybliżyć Państwu zagadnienie, którym jest *quorum sensing*, a więc sposób „rozmowy” pomiędzy drobnoustrojami. Oczywiście nie są to rozmowy wykorzystujące język i słowa, jakie znamy, ale bazują one na cząsteczkach chemicznych.

Zanim zgłębimy zagadnienia związane z *quorum sensing*, zastanówmy się najpierw w jakim celu ludzie zaczęli komunikować się werbalnie. Oczywiście można powiedzieć, że mowa powstała w celu przekazywania dziedzictwa kulturalnego, tradycji i religii. Sądzę jednak, że u podstaw rozwoju języka, spoczywają znacznie prostsze i bardziej prozaiczne powody. Ludzie chcieli sobie przekazać informacje o tym czego należy się bać, przed czym uciekać, z czym i w jaki sposób walczyć, jak polować, zdobywać pożywienie oraz jak wykonywać najprostsze narzędzia, a także jak rozpalić i podtrzymać ogień. To właśnie te przesłanki spowodowały, że ludzie odczuli potrzebę porozumiewania się. Bardzo podobnie jest w przypadku drobnoustrojów. Drobnoustroje także zaczęły się komunikować po to, aby przeprowadzić i zsynchronizować podstawowe funkcje fizjologiczne i metaboliczne. W tym właśnie celu wykształciły swój „chemiczny język” za pomocą którego porozumiewają się zarówno z przedstawicielami tego samego, jak i innych gatunków. Językiem tym jest właśnie zjawisko *quorum sensing*, czyli mechanizm regulacji ekspresji genów w populacji bakterii, w odpowiedzi na zmiany liczby komórek (gęstości populacji), obejmujący wytwarzanie przez komórki bakterii cząsteczek sygnałowych zwanych autoinduktorami i ich akumulację w środowisku wzrostu, rozpoznawanie tych sygnałów przez białka receptorowe, a w końcowym efekcie globalną, skoordynowaną odpowiedź komórek populacji w postaci zmiany ekspresji genów.

Historia badań nad *quorum sensing* sięga lat 60-tych XX wieku, a na jej łamach szczególnie ważne są dwie daty. Pierwszą z nich jest rok 1979, w którym to Nealson i Hastings badali zjawisko bioluminescencji bakterii *Vibrio fischeri* i zaobserwowali, że są one zdolne do wytwarzania światła tylko wtedy, kiedy znajdują się w odpowiednich narządach niektórych kałamarnic lub ryb (Ryc. 1. Zjawisko bioluminescencji bakterii *Vibrio fischeri* w narządach kałamarnicy; źródło: https://mmg-233-2014-genetics-genomics.fandom.com/wiki/Bacterial_Bioluminescence).

W narządach tych jest dużo substancji odżywczych dla bakterii, dzięki czemu szybko uzyskują one znaczne zagęszczenie populacji. Z kolei gdy bakterie te przebywały w środowisku morskim, w którym dostępność substancji odżywczych jest znacznie niższa a osiągnięcie dużej liczby komórek w populacji znacznie utrudnione, zjawiska bioluminescencji nie obserwowano. Z powyższych obserwacji badacze wysnuli wnioski, że musi istnieć jakiś związek, który łączy liczbę drobnoustrojów z ich zdolnością do bioluminescencji. Ten związek odkryto w 1981 roku. Były to cząsteczki sygnałowe zwane

autoinduktorami. Przeprowadzono eksperyment polegający na tym, że do hodowli zawierającej małą liczbę bakterii *Vibrio fischeri* dodano wysoki stężenie oczyszczonych autoinduktorów. Spowodowało to, że chociaż bakterie te były mało liczne, a populacja mało zagęszczona, to efekt bioluminescencji się pojawił.

Można sobie w tym miejscu zadać pytanie: Po co bakterie wykształciły zjawisko *quorum sensing*? Zjawisko *quorum sensing* służy drobnoustrojom do regulowania bardzo wielu ważnych funkcji metabolicznych i fizjologicznych. Może to być chociażby wspomniana bioluminescencja, ale może być to także: synteza antybiotyków, wytwarzanie czynników wirulencji, inwazyjność, oporność na antybiotyki, tworzenie biofilmu, sporulacja, koniugacja, oddziaływania symbiotyczne lub antagonistyczne i wiele innych (Fig. 1 w <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01535>) Dzięki *quorum sensing* bakterie mogą w sposób „świadomy” zdecydować kiedy zaatakować organizm i ujawnić się przed układem odpornościowym, aby jak najskuteczniej wywołać zakażenie. Zjawisko jednak jest także wykorzystywane do dobrych celów, jak chociażby koordynowanie rozkładu substancji zanieczyszczających środowisko naturalne.

Chciałbym Państwu także po krótko przybliżyć mechanizm działania *quorum sensing*. Niezależnie od tego czy bakterii jest w środowisku mało, czy też dużo produkują one wspomniane cząstki sygnałowe. Autoinduktory kumulują się w środowisku wzrostu drobnoustrojów, jednak kiedy komórek bakteryjnych jest niewiele, to stężenie autoinduktorów również jest niskie i w takim przypadku nie obserwujemy żadnego efektu. Jednocześnie jest to dla bakterii sygnał do namnażania się i zwiększenia liczebności populacji. Każda z nowopowstałych komórek wytwarza swoje autoinduktory, w związku z czym również stężenie cząstek sygnałowych w środowisku wzrostu bakterii będzie się zwiększało aż do momentu osiągnięcia stężenia progowego, który wywoła odpowiedź w postaci zmiany ekspresji określonych genów. U bakterii Gram-ujemnych autoinduktory stanowią acylowane laktony homoseryny, które są cząsteczkami łatwo dyfundującymi zarówno do środowiska wzrostu, jak i z tego środowiska do wnętrza komórki. Taka cząsteczka dyfundując do wnętrza komórki łączy się z białkiem receptorowym, które jednocześnie spełnia funkcję białka regulatorowego. Białko to zmienia swoją konformację, ulega multimeryzacji i przyłącza się do obszaru promotorowego danego genu, regulując jego ekspresję. Dochodzi do transkrypcji fragmentu DNA na mRNA, a następnie translacji i powstania określone białek, w tym też białek odpowiedzialnych za syntezę autoinduktorów, które dalej kumulują się w środowisku (Fig. 3.4.A w <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-981-32-9409-7.pdf>).

U bakterii Gram-dodatnich proces ten wygląda nieco inaczej. W tym przypadku cząsteczką sygnałową jest oligopetyd powstający z peptydu prekursorowego, w wyniku jego enzymatycznego skrócenia. Powstały w ten sposób oligopeptyd transportowany jest przez białko transportorowe zależne od ATP na zewnątrz komórki, do środowiska i następnie w tym środowisku się kumuluje. Gdy stężenie autoinduktora przekroczy stężenie progowe, przyłącza się on do białka receptorowego. Najczęściej białkiem tym jest kinaza histydynowa, która po połączeniu z oligopeptydem ulega fosforylacji, zapoczątkowuje cały szereg procesów fosforylacji/defosforylacji białek pośredniczących, aż wreszcie dochodzi do fosforylacji białka regulatorowego, które podobnie jak autoinduktor bakterii Gram-ujemnych przyłącza się do promotora danego genu, powoduje przepisanie informacji na mRNA, a

następnie zsyntetyzowanie białek np. enterotoksyn (Fig. 3.4.B w <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-981-32-9409-7.pdf>).

Niektóre bakterie, np. *Vibrio harveyi*, wytworzyły zdolność do porozumiewania się z bakteriami innych gatunków za pomocą uniwersalnego autoinduktora AI-2 (Fig. 3.4.C w DOI: 10.1007/978-981-32-9409-7_3; <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-981-32-9409-7.pdf>).

Bakterie produkują cały szereg różnych metabolitów. W jaki sposób możemy więc ustalić, że dana cząstka jest autoinduktorem. Musi ona spełniać cztery zasadnicze kryteria:

- synteza takiej cząsteczki powinna zachodzić w warunkach fizjologicznych w odpowiedzi na zmiany warunków środowiska,
- cząsteczka ta powinna akumulować się zewnątrzkomórkowo i być rozpoznawana przez specyficzne białko receptorowe,
- przekroczenie stężenia progowego przez taką cząsteczkę powinno wywoływać skoordynowaną odpowiedź całej populacji lub jej większości,
- fizjologiczna i metaboliczna odpowiedź komórek populacji powinna obejmować inne aktywności niż te, które są związane z detoksyfikacją lub wykorzystaniem tej cząsteczki jako źródła energii.

Oprócz tego, że istnieje takie zjawisko jak *quorum sensing* istnieje zjawisko odwrotne. Jest to *quorum quenching*, czyli wyciszanie autoinduktorów. Może one przebiegać z wykorzystaniem odpowiednich enzymów rozkładających autoinduktory, albo z wytwarzaniem cząstek, które będą blokowały przyłączanie się autoinduktorów, albo te autinduktory mogą stanowić substancje pokarmowe dla innych drobnoustrojów. Zjawisko to ma wielki potencjał do zastosowania w walce z zakażeniami.

Kończąc, chciałbym bardzo serdecznie podziękować Państwu za uwagę i korzystając z okazji chciałbym życzyć Wam Drodzy Absolwenci, abyście byli trochę jak bakterie. Żebyście umieli bardzo szybko adaptować się do nowych warunków, umieli sprostać nowym wyzwaniom i oczekiwaniom, a także umieli się porozumieć u współdziałać. Jedyne czego nie chciałbym Wam życzyć to żebyście byli wirulentni i inwazyjni wobec ludzi, których spotkacie na swojej drodze.