

***Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia modellrendszer a bakteriális kommunikációban**

Irodalmi összefoglaló Keller Nóra diplomadolgozata és Márton Rita szakdolgozata (2018) alapján

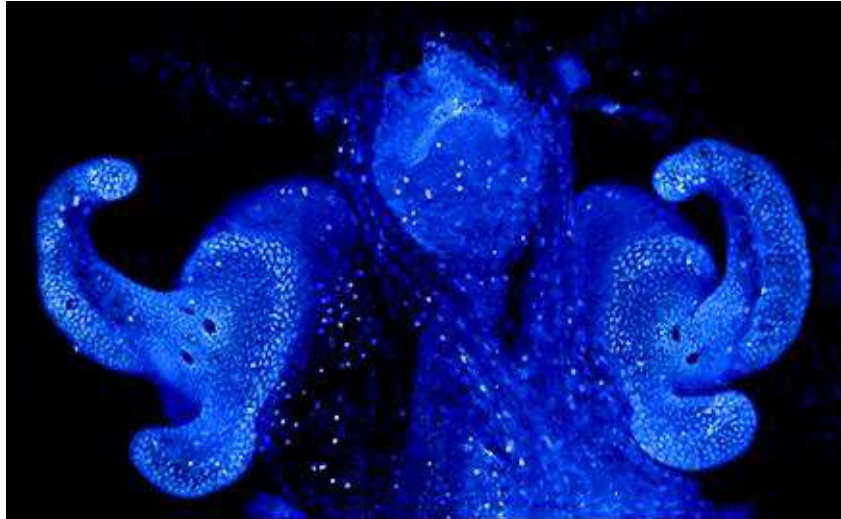
***Aliivibrio fischeri* baktérium és szimbiontájának kapcsolata**

A tengerek mélyén élő, 3 mikrométer hosszú, Gram-negatív *Aliivibrio fischeri* baktérium, főként a biolumineszcenciája kapcsán vált ismertté. Bár a szakirodalmakban gyakran találkozunk *Vibrio fischeri* elnevezéssel, hivatalosan ma már az új rendszertani besorolás szerinti *Aliivibrio fischeri* nevet viseli a baktérium (Urbanczyk és mtsai, 2007).

A kvórum érzékelés (QS, Quorum Sensing) jelenségét először az *Aliivibrio fischeri* baktériummal végzett kísérletek során fedezték fel (Nealson, 1970). A kísérletek kimutatták, hogy a fénykibocsátást okozó luciferáz enzim szintézise frissen átoltott tenyészetben nem aktív, csak bizonyos idő elteltével indul be a biolumineszcencia. Azóta számos más baktériumfajnál igazolták, hogy egyéb folyamatokat is a kvórum érzékelés befolyásol, ám az *Aliivibrio fischeri*-t a mai napig modellorganizmusként alkalmazzák a bakteriális sejt-sejt közötti kommunikációval foglalkozó kutatásokban.

Az *Aliivibrio fischeri* természetes élőhelye a nyílt tengervíz mellett a hawaii kurtafarkú tintahal (*Euprymna scolopes*) fényszerve (1. ábra). A tintahal Hawaii sekély vizű tengeri részein őshonos, éjjel aktív élőlény. Éjszaka fényt bocsát ki a fényszervén keresztül, melynek célja a ragadozók megtévesztése. A kibocsátott fény a csillag-, és holdfényhez hasonlatos, általa a tintahal teste nem vet árnyékot, így az ellenségek számára láthatatlan marad (Norsworthy és Visick, 2013, Nyholm és McFall-Ngay, 2004).

Az élőlény ezt a fényt nem maga képezi, hanem a fényszervében található lumineszkáló baktériumok. A tintahalak megszületésükkor még nem kolonizáltak, a szimbionták úgynevezett horizontális géntszferrel jutnak az új gazdaszervezetbe. A tengervízben megtalálható baktériumokat az állat érzékeli, mely hatására kültakaróján nyálkát kezd el kiválasztani.

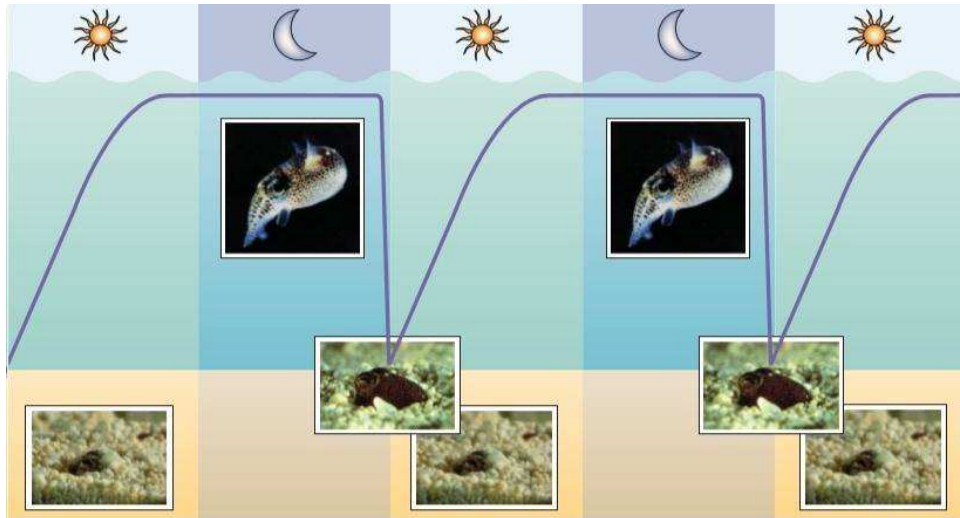


1. ábra: *Aliivibrio Fischeri* az *Euprymna scolopes* fény szervében

Forrás: http://bio.pisceswebdesign.com/sites/default/files/Image_Species_Bacteria/aliivibrio-fischeri_2.jpg

Ehhez a nyálkához tapadnak a szimbionták és sűrű aggregátumot képeznek. A tintahal szignálokkal vonzza a testébe a baktériumokat, amik így néhány órával a megtapadás után a fény szervbe kerülnek. A bejutást a gazdaszervezet külön erre az eseményre növesztett csillókkal segíti, melyek a sikeres kolonizáció után visszafejlődnek (Norsworthy és Visick, 2013, Nyholm és McFall-Ngay, 2004). A pórusokon keresztül más baktériumfajok is bekerülhetnek, de feltehetően a nyálka olyan baktericid szignál anyagokat választ, mint például a nitrogénmonoxid vagy halid-peroxidáz, amit csak a szimbionták élnek túl. A kolonizáció után a fény szerv aktiválódik – tápanyaggal és oxigénnel telik meg – így a továbbiakban már képes a baktériumok életteréül szolgálni (Norsworthy és Visick, 2013, Nyholm és McFall-Ngay, 2004).

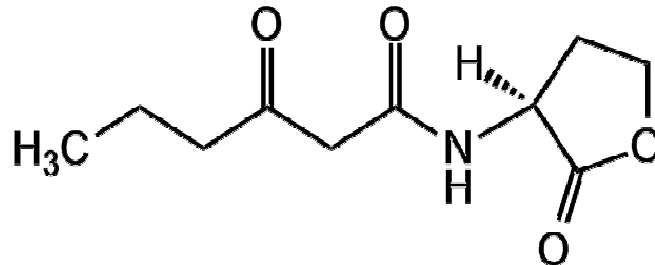
A tintahal éjjeli állat, a nappalokat a homokba fúrva tölti. Mivel nappal nincsen szüksége a szimbiontáira, ezért a hajnali órákban a felnövesztett populáció megközelítőleg 95%-át a tengervízbe eresztí, mely hatására a világítása megszűnik. A maradék 5% baktérium a nap folyamán szaporodik, míg a gazdaszervezet a sekély vizek homokjában pihen (2. ábra). A szimbionták késő délutánra érik el a maximális egyedsűrűséget, ekkorra újra elkezdi világítani a fény szerv, és a tintahal készen áll az éjszakai életre. Ez a tintahal és baktérium közötti mechanizmus, mely megközelítőleg 24 óránként ismétlődik, a bakteriális sejt-sejt közötti kommunikációval foglalkozó tudományok meghatározó történetévé vált, és ennek nyomán kezdtek el kutatni a kvórum érzékelés jelenségét (Norsworthy és Visick, 2013), Nyholm és McFall-Ngay, 2004).



2. ábra: A biolumineszcencia ciklikussága
Forrás: (Nyholm és McFall-Ngay, 2004)

***Aliivibrio fischeri* által termelt szignál molekula**

A kommunikáció folyamataihoz a baktérium N-(3-oxohexanoil)-L-homoszerin-lakton (OHHL, OC6-HSL) molekulákat termel (3. ábra) és diffúzióval bocsátja környezetébe (Chan és mtsai, 2007).



3. ábra OHHL molekula

Az N-acil-homoszerin-lakton molekulák egy homoszerin-lakton molekularészből és hozzá kapcsolódó 4–18 szénatom hosszúságú acil láncból állnak, melyek meghatározzák a molekulák szerkezeti sokféleségét. A molekulák három fő típusba sorolhatók aszerint, hogy acil, 3-hidroxi-acil- vagy 3-oxo-acil oldalláncot tartalmaznak (Savka és mtsai, 2011).

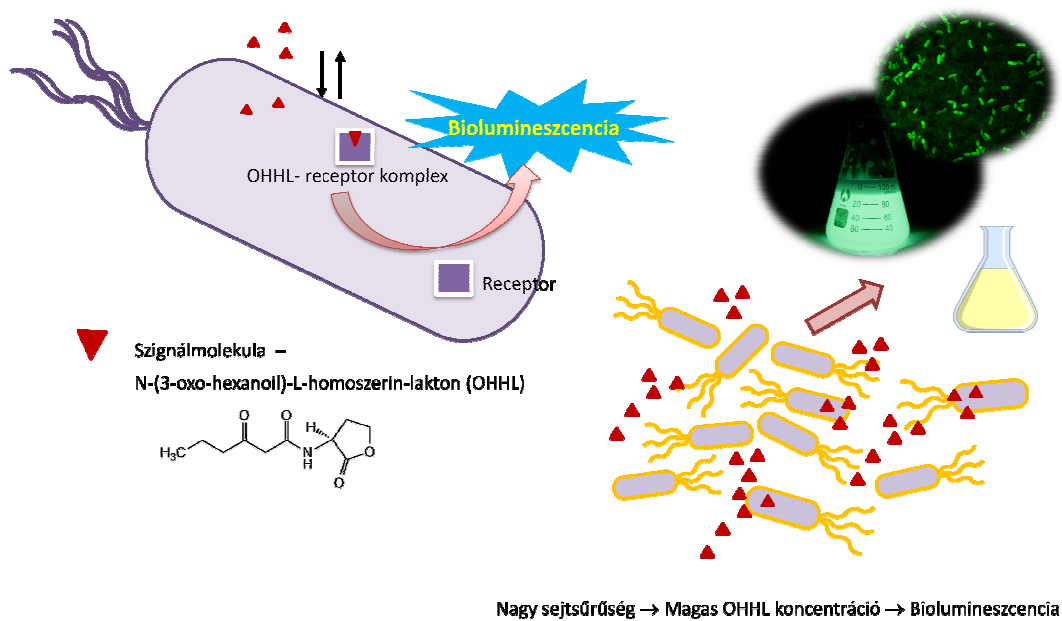
A N-acil-homoszerin lakton típusú molekula termelődése a LuxI-LuxR rendszereken történik. A LuxI-LuxR rendszer (3. ábra) az *Aliivibrio fischeri* fény kibocsátásáért felelős fehérjét állítja elő.

Az *Aliivibrio fischeri* LuxI-LuxR rendszere volt az első, melyet a bakteriális kommunikáció kapcsán feltérképeztek, melyet manapság is az egyik legjobban karakterizált rendszerként tartanak számon. Azóta számos Gram-negatív mikroorganizmusnál felfedeztek LuxI-LuxR homológokat, melyek kvórum érzékelés mediálta folyamatokat irányítanak: pl.: az *Agrobacterium tumefaciens* növénypatogén TraI-TraR rendszere vagy a *Pseudomonas*

aeruginosa kettős rendszere a LasI-LasR és Rh1I-Rh1R, amelyek mind bizonyos virulencia faktorok termeléséért felelősek (Waters és Bassler, 2005).

***Aliivibrio fischeri* kvórum érzékelő mechanizmusa**

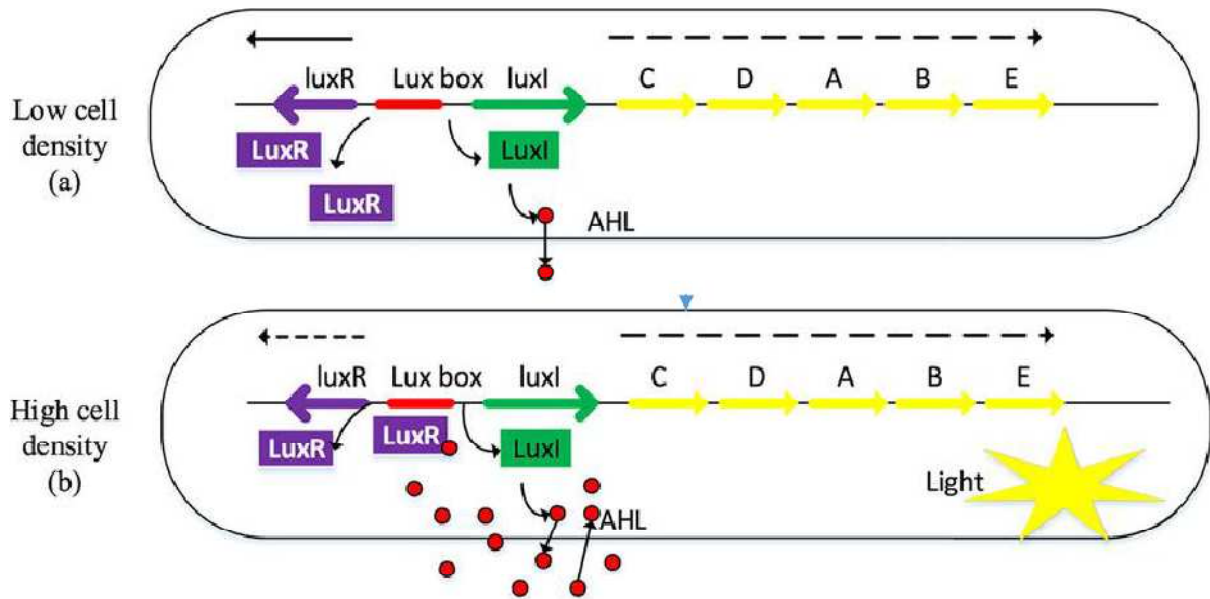
A bakteriális kommunikáció az *Aliivibrio fischeri* mikroorganizmusban a kémiai szignálmolekulák előállításával, környezetbe bocsátásával és érzékelésével valósul meg. Ezen molekulák koncentrációja egyenesen arányos a baktériumok mennyiségével, vagyis közvetlen kapcsolat van a kémiai jelátviteli molekulák és az adott környezetben jelen lévő baktériumok koncentrációja között (4. ábra).



4. ábra Kvórum érzékelés az *Aliivibrio fischeri* mikroorganizmusban

A kvórum érzékelés genetikai háttere az *Aliivibrio fischeri*-ben

A fénykibocsátást előidéző gének a LuxCDABE expressziós kazettán belül helyezkednek el, melyet luciferáz operonnak is hívnak. A LuxI fehérje egy autoinducer szintáz, ami a jelmolekulát termeli. A szignál szabadon diffundál a sejtől a sejtől kívüli térbe, aminek befogadását a LuxR citoplazmatikus autoinducer receptor végzi, mely egy transzkripció aktivátor is egyben. Kellően nagy sejtsűrűség esetén nagy mennyiségű szignál molekula kerül a sejtől kívüli térbe, ami bekapcsolódva a LuxR receptorba kialakítja a LuxI-LuxR komplexet. A komplex létrejötte indukálja az expressziós kazettát, melyről megindul a luciferáz enzim gének átíródása és a baktérium elkezd világítani. Maga az operon is tartalmazza a LuxI fehérje géneket, tehát az expresszió beindulásával a szignál molekula termelődése is intenzívebbé válik (5. ábra).



5. ábra: LuxI-LuxR rendszer
 Forrás: <https://www.researchgate.net>

Az *Aliivibrio fischeri*t nem csak a kvórum érzékelés kapcsán vizsgálják, hanem emellett jelentős szerepe van az ökotoxikológiai tesztekben. A biolumineszcencia-gátlási tesztekkel különböző anyagok (toxikus fémek, szerves szennyezőanyagok) toxicitását lehet mérni, ugyanis a fénykibocsátás a toxikus hatással arányosan csökken (Bulich, 1979).

Irodalmi hivatkozások

- Bulich, A. A., (1979) Use of luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments. In: *Aquatic Toxicology Hazard Assessment*. In: ASTM STP 667, pp. 98–106.
- Chan, Y. Y., Bian, H. S., Tan, T. M. C., Igarashi, J., Hatano, T., Suga, H., Blackwell, H. E. (2007) "Control of Quorum Sensing by a Burkholderia pseudomallei Multidrug Efflux Pump" *Journal of Bacteriology* 4320–4324.
- Nealson, K. H.; Platt, T; Hastings, J. W. (1970) Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial bioluminescent system, *J Bacteriol*, 104(1), 313-22.
- Norsworthy, A.N.; Visick, K.L.(2013) Gimme shelter: how *Vibrio fischeri* successfully navigates an animal's multiple environments, *Front Microbiol* 4 (356), 1-14.
- Nyholm, S. V.; McFall-Ngay, M. (2004) The winnowing: establishing the squid vibriosymbiosis *Nat Rev Microbiol*, 2 (8), 632–642.
- Savka, M.A., Le,P.T., Burr,T.J. (2011) LasR receptor for detection of long- chain quorum-sensing signals: identification o fN-acyl-homoserine lactones encoded by the avsI locus of *Agrobacterium vitis*. *Current Microbiology* 62:101–110.

Urbanczyk, H.; Ast, J. C.; Higgins, M. J.; Carson, J., Dunlap, P. V. (2007) Reclassification of *Vibrio fischeri*, *Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibriosalmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov., *Int J Syst Evol Micr*, 57 2823–2829.

Waters, C.M. and Bassler, B.L. (2005) Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21, 319-346.
<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001>

Wei, J. R., Lai, H.C. (2006) N-acyhomoserine lactone-dependent cell-to-cell communication and social behavior in the genus *Serratia*, *International Journal of Medical Microbiology*, 296 (2-3): 117–124.