

**Received:** 2010.08.09  
**Accepted:** 2010.10.21  
**Published:** 2010.11.25

## Mechanizm *quorum sensing* jako czynnik regulujący wirulencję bakterii Gram-ujemnych

Quorum sensing mechanism as a factor regulating virulence of Gram-negative bacteria

**Kamila Myszka, Katarzyna Czaczyk**

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

### Streszczenie

Aktywność metaboliczna drobnoustrojów żyjących w populacjach o dużej gęstości jest regulowana przez mechanizm *quorum sensing*. Proces komunikacji drobnoustrojów wpływa na wytwarzanie czynników wirulencji, w tym tworzenie się i różnicowanie biofilmu. W pracy opisano rolę mechanizmu *quorum sensing* w ekspresji czynników wirulencji bakterii. Omówiono również możliwości wykorzystania *quorum sensing* w medycynie.

**Słowa kluczowe:** *quorum sensing* • AHL • biofilm • patogenezą

### Summary

The metabolism of a high density population of bacteria is regulated by a quorum sensing mechanism. Cell-to-cell communication of microorganisms regulates the process of production of pathogenicity factors including formation and differentiation of bacterial biofilms. The role of the quorum sensing system in the expression of virulence features is described in this paper. The possibility of application of the quorum sensing mechanism in medicine is also discussed.

**Key words:** *quorum sensing* • AHL • biofilm • pathogenesis

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=924228>

**Word count:** 3319

**Tables:** –

**Figures:** –

**References:** 84

**Adres autora:** dr inż. Kamila Myszka, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, ul. Wojska Polskiego 48, 60-627 Poznań; e-mail: kmyszka@up.poznan.pl

## WSTĘP

*Quorum sensing* (QS), sygnalizator zagęszczenia jest systemem komunikacji między komórkami bakterii uczestniczącym w regulacji ekspresji genów w odpowiedzi na gęstość populacji drobnoustrojów [26,31,32,87]. System *quorum sensing* ma szczególne znaczenie w opanowywaniu przez bakterie nowych terytoriów i precyzuje do jakich warunków mogą zaadoptować się poszczególne drobnoustroje [79]. Mechanizm *quorum sensing* stwierdzono u bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych [80].

W systemie międzykomórkowej komunikacji pośredniczą małe cząsteczki sygnalizacyjne (autoinduktory). Po przekroczeniu progowego stężenia tych związków (co świadczy o osiągnięciu przez populację mikroorganizmów odpowiedniej liczebności, czyli kworum) dochodzi do skoordynowanej zmiany ekspresji genów, niezbędnej do efektywnego współdziałania całej populacji [81]. Zdaniem Schuster i wsp. ponad 200 genów *Pseudomonas aeruginosa* podlega kontroli przez mechanizm *quorum sensing* [53].

Bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne wykształciły, zarówno odmienne systemy autoinduktorów, jak i różne systemy regulacji ekspresji genów w odpowiedzi na cząsteczki sygnalizacyjne [42]. W niniejszym artykule opisano najbardziej rozpowszechniony mechanizm *quorum sensing* bakterii Gram-ujemnych, w którym pośredniczą cząsteczki sygnalizacyjne laktonu N-acylo-L-homoseriny (acyl-L-homoserine lactone-AHL). Bakterie Gram-dodatnie porozumiewają się za pomocą sygnałów oligopeptydowych, które powstają w wyniku trawienia większych prekursorów białkowych. Takie cząsteczki sygnalizacyjne są transportowane na zewnątrz komórki z udziałem białka transportowego zależnego od ATP (ATP-binding cassette-ABC) [73].

System *quorum sensing*, oparty na cząsteczkach AHL, zidentyfikowano u ponad 26 gatunków bakterii Gram-ujemnych należących do rodzajów: *Agrobacterium*, *Aeromonas*, *Brucella*, *Chromobacterium*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Nitrosomonas*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Ralstonia*, *Rhodobacter*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Vibrio*, *Xenorhabdus*, *Yersinia* [12,20,81]. Wymienione wyżej grupy mikroorganizmów obejmują zarówno mikroflorę saprofityczną, jak i bakterie patogenne dla ludzi, roślin i zwierząt [81]. Zjawiska *quorum sensing* nie zidentyfikowano u obligatoryjnych szczepów chorobotwórczych, takich jak: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* czy *Helicobacter pylori* [80].

## CHARAKTERYSTYKA ZJAWISKA QUORUM SENSING

*Quorum sensing* bakterii Gram-ujemnych jest systemem opierającym się na współdziałaniu następujących elementów:

- cząsteczek sygnalizacyjnych AHL, zwanych również chemicznymi sygnałami dyfuzyjnymi lub autoinduktorymi;
- białek z rodziny syntaz autoinduktora LuxI;
- rodziny białkowych regulatorów transkrypcyjnych LuxR;
- genów docelowych [18,20].

Cząsteczki sygnalizacyjne AHL są zbudowane z pierścienia laktonu homoseriny (homoserine lactone – HSL),

który jest acylowany w pozycji  $\alpha$  łańcuchem tłuszczowym. Autoinduktory bakterii Gram-ujemnych różnią się między sobą budową łańcucha kwasu tłuszczowego (obecnością wiązań nienasyconych w łańcuchu oraz stopniem jego utlenienia). Liczba atomów węgla w łańcuchu kwasu tłuszczowego może wynosić 4–18 [20].

Najlepiej poznanymi i opisanymi w literaturze przedmiotu cząsteczkami AHL, wytwarzanymi przez bakterie Gram-ujemne są cząsteczki, które zawierają 6–8 atomów węgla w łańcuchu kwasu tłuszczowego [19,20,80]. C4-HSL i 3-hydroxy-C4-HSL to najmniejsze cząsteczki autoinduktorów wytwarzane przez drobnoustroje [76]. Cząsteczki AHL, mające 14–18 atomów węgla w łańcuchu bocznym, zawierają 1 lub 2 wiązania podwójne [56,72].

Zdaniem Yatesa i wsp. budowa i właściwości cząsteczek sygnalizacyjnych, wytwarzanych przez bakterie Gram-ujemne, zależą od wartości pH środowiska [82]. Badacze odnotowali zmiany konformacyjne pierścienia HSL (otwieranie się pierścienia HSL) przy wzroście wartości odczynu obojętnego środowiska o 1–2 jednostki. Zmian w strukturze pierścienia HSL nie stwierdzono natomiast przy pH środowiska równym 7. Zależność ta może tłumaczyć powszechność zjawiska *quorum sensing* wśród mikroorganizmów żyjących w ekosystemach wodnych [82]. Cząsteczki AHL z otwartym pierścieniem HSL są nieaktywne jako chemiczne sygnały dyfuzyjne mechanizmu *quorum sensing*.

Cząsteczki AHL mogą swobodnie dyfundować przez ścianę komórkową bakterii i akumulować się w otaczającym środowisku. Cząsteczki AHL mogą być także przenoszone z udziałem pompy protonowej [50]. Sposób migracji cząsteczek AHL na zewnątrz komórki zależy od liczby atomów węgla w łańcuchu tłuszczowym. Chemiczne sygnały dyfuzyjne AHL, mające krótki łańcuch kwasu tłuszczowego (4–6 atomów węgla) swobodnie dyfundują do wnętrza i na zewnątrz błony komórkowej [30]. Autoinduktory o dłuższych łańcuchach kwasu tłuszczowego (powyżej 6 atomów węgla), są przenoszone z udziałem pompy protonowej [50]. Migracja chemicznych sygnałów dyfuzyjnych AHL jest procesem uzależnionym także od liczby komórek bakteryjnych w danym ekosystemie [18].

Białka z rodziny LuxI warunkują syntezę cząsteczek AHL u bakterii Gram-ujemnych [18]. Genom bakteryjny może zawierać ponad 100 homologów białek LuxI. Moré i wsp. wykazali, że oczyszczone białko TraI (homolog LuxI) zaopatrzone w „metkę” powinowactwa (histydynę His<sub>6</sub>), katalizuje syntezę *in vitro* cząsteczek sygnalizacyjnych u *Agrobacterium tumefaciens* [44]. Podobne zależności odnotowali Schaefer i wsp., badając wpływ oczyszczonego białka LuxI zaopatrzonego w partnera fuzyjnego – białko wiążące maltozę (MBP) – na proces wytwarzania cząsteczek sygnalizacyjnych AHL u *Vibrio fischeri* [52]. W przeprowadzonych doświadczeniach biosynteza cząsteczek sygnalizacyjnych przez komórki *Vibrio* spp. katalizowana była przez białko LuxI [54].

Gdy stężenie cząsteczek sygnalizacyjnych w otaczającym komórki bakteryjne środowisku osiągnie odpowiedni poziom, AHL wiążą się i uaktywniają rodzinę białkowych regulatorów transkrypcyjnych LuxR. W komórkach *Vibrio fischeri* LuxR łącząc się swoiście z autoinduktorem,

oddziałuje z sekwencją promotorową operonu, co prowadzi do modulacji procesu transkrypcji genów docelowych [58].

Białko LuxR jest cząsteczką złożoną z 250 aminokwasów. C-końcowy fragment łańcucha polipeptydowego jest odpowiedzialny za bezpośrednie oddziaływanie z DNA. N-końcowy fragment łańcucha jest odpowiedzialny za rozpoznawanie i wiązanie cząsteczek AHL. W większości przypadków w obecności cząsteczki AHL, białko LuxR zmienia konformację i ulega aktywacji, indukując transkrypcję genów docelowych [17].

Na podstawie filogenetycznego porównania białek z rodziny LuxI i LuxR wykazano, że w mechanizmie *quorum sensing* występuje horyzontalny transfer genów [21]. Wiele homologów białek LuxR i LuxI jest umiejscowionych na plazmidach. Takie prawidłowości zaobserwowano u *Agrobacterium* spp. (plazmid Ti) i u *Rhizobium* spp. [78,85]. Wei i wsp. wykazali, że system LuxRI u *Serratia marcescens* (nazwany SpnRI), umiejscowiony na transpozonie Tn3, może być przekazywany między plazmidami i chromosomami komórek tego gatunku i komórek *Escherichia coli*, współżyjących w jednym środowisku [77]. Nabycie systemu SpnRI przez komórki *E. coli*, które w środowisku naturalnym nie syntetyzują cząsteczek AHL, zmienia metabolizm tych drobnoustrojów. Komórki *E. coli* z nabytym system SpnRI od *S. marcescens*, poruszają się i wytwarzają barwniki w zależności od stężenia chemicznych cząsteczek dyfuzyjnych w środowisku [77].

#### BIOSYNTeza CZĄSTECZEK SYGNALIZACYJNYCH

Pierwsze doświadczenia nad wytwarzaniem cząsteczek sygnalizacyjnych AHL przez drobnoustroje *V. fischeri* przeprowadzili Eberhard i wsp. [11]. Hodowle mikroorganizmów *Vibrio* spp. prowadzono na podłożach, suplementowanych dodatkiem S-adenozylometioniny (SAM) i kwasów tłuszczowych. Stwierdzili oni, że obecność w pożywce mikrobiologicznej SAM i kwasów tłuszczowych wpływa na wzrost efektywności biosyntezy cząsteczek sygnalizacyjnych 3-okso-C6-HSL przez badane drobnoustroje [11]. Podobnie wytwarzanie cząsteczek dyfuzyjnych 3-okso-C6-HSL przez autotroficzne mutanty *E. coli* z wklonowanym *luxI*, zależy od obecności w środowisku wzrostu metioniny lub SAM [24]. Hanzelka i Greenberg zaobserwowali, że deficyt aminokwasów w podłożu hodowlanym hamuje proces konwersji metioniny do SAM [24]. Zdaniem Vala i Cronana niższe stężenie SAM wewnątrz komórek *E. coli*, obniża także wydajność procesu biosyntezy cząsteczek AHL przez badane bakterie [71]. Wewnątrzkomórkowa S-adenozylometionina wpływa na ekspresję białka TraI (homologu LuxI) w komórkach *E. coli*.

Eberhard i wsp. wykazali, że 3-oksoheksanolylo-koenzym A lub przenośnik białkowy (acyl carrier protein – ACP) są elementami przenoszącymi łańcuch tłuszczowy w procesie syntezy cząsteczek 3-okso-C6-HSL u *V. fischeri* [11]. W doświadczeniach przeprowadzonych przez Vala i Cronana stwierdzono zahamowanie syntezy cząsteczek sygnalizacyjnych AHL przez mutanty *fabD* *E. coli*, spowodowane zablokowaniem procesu  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych w cytosolu badanych komórek [71]. Powyższe wyniki badań korelują z rezultatami doświadczeń przeprowadzonych przez Hoanga i Schweizera [26]. Badacze

przeprowadzili mutację komórek *P. aeruginosa* w obrębie genu *fabI*, kodującego białko, zaangażowane w proces syntezy kwasów tłuszczowych w komórce. Delecja genu *fabI*, uniemożliwiła komórkom *P. aeruginosa* przeprowadzenie procesu biosyntezy i sekrecji cząsteczek AHL do otaczającego środowiska [26].

W procesie biosyntezy cząsteczek sygnalizacyjnych grupa aminowa homocysteiny, wchodzącej w skład SAM wiąże się z udziałem LuxI przez wiązanie amidowe z łańcuchem tłuszczowym przenoszonym przez przenośnik białkowy. Utworzenie pierścienia laktonowego z połączonych produktów zachodzi z uwolnieniem metyloioadenozyny w wyniku czego powstaje acylowany lakton homoseryny [19]. Szlak biosyntezy SAM/acyl-ACP jest konserwatywny dla różnych acylowanych laktonów homoseryny [19,42].

Biosynteza chemicznych cząsteczek dyfuzyjnych AHL zależy także od białek z rodziny LuxM. Rodzina LuxM syntetaz AHL zidentyfikowana została u przedstawicieli *Vibrio* spp. [25,43]. Geny *luxM* są powiązane z genami kodującymi białka sensorowe kinazy histydyny. Białka te w periplazmie wywołują kaskadę procesów fosforylacji, prowadząc do transkrypcyjnej aktywacji genów uczestniczących w biosyntezie cząsteczek AHL oraz genów docelowych, na które oddziałują cząsteczki AHL [4,5,8].

#### REGULACJA SYNTETY CZYNNIKÓW WIRULENCJI PRZEZ MECHANIZM QUORUM SENSING

Proces patogenezy jest zjawiskiem bardzo złożonym, wymagającym udziału wielu czynników. Do determinantów patogenezy, regulowanych przez system *quorum sensing*, należą m.in.: biosynteza pozakomórkowych proteaz, hemolizyn, egzotoksyn, tworzenie biofilmu i wzrost rozprzeczliwy komórek. Udział cząsteczek AHL w syntezie czynników wirulencji zaobserwowano u: *P. aeruginosa*, *Brukhoderia cepacia*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia pseudotuberculosis* oraz *S. marcescens* [3,60].

Komórki *P. aeruginosa* dysponują dwoma zespołami *quorum sensing* homologicznymi do LuxRI. Jest to system *las* obejmujący białka LasR i LasI oraz system *rhl*, złożony z białek RhlR i RhlI [3]. Białka LasI oraz RhlI są syntetazami odpowiedzialnymi za wytwarzanie cząsteczek sygnalizacyjnych, odpowiednio 3-okso-C12-HSL i C4-HSL [48,49,83]. Przy dużej gęstości komórek *P. aeruginosa* w tkankach gospodarza, białko receptorowe LasR rozpoznaje i łączy się z autoinduktorem 3-okso-C12-HSL. Wytworzony kompleks LasR-3-okso-C12-HSL łączy się następnie z promotorami kontrolującymi ekspresję wielu genów odpowiedzialnych za syntezę sekrecyjnych białek *P. aeruginosa*. Wydzielanie tych białek do środowiska zewnętrznego, powoduje uszkodzenie tkanki gospodarza, rozszerzając obszar bakteryjnej infekcji. Do czynników chorobotwórczości *P. aeruginosa*, których synteza indukowana jest przez kompleks LasR-3-okso-C12-HSL, należą: elastaza, proteaza, egzotoksyna i alkaliczna fosfatasa [57,83]. Stwierdzono ponadto, że kompleks LasR-3-okso-C12-HSL wpływa na ekspresję białka RhlR. Białko RhlR po związaniu z cząsteczką sygnalizacyjną C4-HSL, indukując dodatkowo geny odpowiedzialne za syntezę elastazy i alkalicznej fosfatasy, będące pod kontrolą systemu LasRI. Stwierdzono ponadto, że kompleks RhlR-C4-HSL

aktywuje ekspresję *rhlAB*, operonu kodującego ramnozylotransferazę, niezbędną w biosyntezie ramnolipidu przez *Pseudomonas* spp. [46]. Obecność tego związku obniża napięcie powierzchniowe, umożliwiając *P. aeruginosa* wzrost rozpełzliwy w środowiskach o konsystencji półstałej [34]. W syntezie czynników wirulencji *P. aeruginosa*, białka regulatorowe LasR i RhlR mechanizmu *quorum sensing*, pełnią zatem zarówno funkcję sensorów sygnałów, jak i efektorów transkrypcji genów [29].

W międzykomórkowej komunikacji *P. aeruginosa*, oprócz AHL, mogą być wykorzystywane również cząsteczki chinolonowe (*pseudomonas* quinolone signal molekule – PQS) [10]. Biosynteza PQS regulowana jest przez białko LasR. PQS poprzez indukując ekspresji *lasB* (genu kodującego elastazę), *rhlI* i *rhlR*, stanowi łącznik pomiędzy systemami *las* oraz *rhl* [23].

Czynnikami patogenności *Yersinia* spp. są inwazyjny Inv, YadA, wydzielnicze białka Yop oraz białka aparatu wydzielniczego. Na wydzielnicze białka Yop składają się białka efektorowe oraz białka związane z translokacją białek efektorowych z komórki bakteryjnej do cytoplazmy komórki eukariotycznej. Białka efektorowe, wprowadzone do komórki gospodarza, zaburzają mechanizmy przekazywania sygnału i atakują cytoszkielet komórki eukariotycznej. Zjadliwość komórek *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* oraz *Y. pestis* jest kontrolowana przez mechanizm *quorum sensing*. W systemie komunikacji komórkowej pośredniczą cząsteczki C6-HSL i 3-okso-C6-HSL, które wytwarzane są przez *Yersinia* spp. w równym stosunku molowym. [2]. Dodatkowo *Y. pseudotuberculosis* wytwarza cząsteczki C8-HSL [81]. Synteza cząsteczek AHL w komórkach *Y. enterocolitica* warunkowana jest przez *YenI*. Przerwanie genu *yenI* zakłóca biosyntezę przez drobnoustroje cząsteczek AHL [69]. Analiza proteomiczna wykazała istotną rolę *yenI* w ekspresji wydzielniczych białek Yop [1]. W komórkach *Y. pseudotuberculosis* system *quorum sensing* składa się z dwóch *loci*: *ypsII/ypsR* i *ytbII/ytbR*. Badania przeprowadzone przez Atkinsona i wsp., porównujące mechanizm *quorum sensing* szczepów dzikich *Y. pseudotuberculosis* i mutantów *ypsR* wskazały, że *ypsR* pełni funkcję negatywnego regulatora ekspresji czynników wirulencji tych bakterii [2].

Chorobotwórczość *A. hydrophila* jest związana przede wszystkim z wytwarzaniem enterotoksyn, wśród których wyróżnia się dwa typy: enterotoksyny cytotoczne oraz enterotoksyny cytotoxyczne. Toksyny cytotoxyczne, takie jak np. aerolizyna oraz alfa hemolizyna uszkadzają komórki nabłonka przewodu pokarmowego, a ich obecność stanowi o zjadliwości szczepów *A. hydrophila*. Proces biosyntezy enterotoksyn przez *A. hydrophila* jest kontrolowany przez mechanizm *quorum sensing*, w którym pośredniczą cząsteczki C4-HSL oraz C6-HSL wytwarzane w stosunku 70:1 [67]. W komórkach *A. hydrophila* za wytwarzanie cząsteczek AHL odpowiada AhyI [66]. Swift i wsp. zaobserwowali, że mutanty *ahyI* oraz *ahyR*, okazały się niezdolne do biosyntezy C4-HSL i były szczepami niezdolnymi [66].

Do determinantów patogenyzy *Serratia* spp. należą: hemolizyna, proteaza, chloroperoksydaza, alkaliczna fosfataza. Wirulencja *Serratia* spp. zależy także od wzrostu

rozpełzliwego komórek [36, 75]. Mechanizm *quorum sensing* poszczególnych gatunków *Serratia* spp. jest zróżnicowany i obejmuje system SwrIR (u *S. liquefaciens* MG1), SprIR (u *S. proteamaculans*), SpnIR (u *S. marcescens*) [6,13,27]. System SpnI u *S. marcescens* reguluje wytwarzanie czterech typów cząsteczek AHL: 3-oxo-C6-HSL, C6-HSL, C7-HSL oraz C8-HSL. W odróżnieniu od wielu homologów LuxR, SpnR pełni funkcję negatywnego regulatora ekspresji, którego inaktywacja wywołwana jest przez 3-oxo-C6-HSL. W badaniach przeprowadzonych przez Wei i in. stwierdzono, że zakłócenia w obrębie genu *spnI* uniemożliwiają rozpad wydłużonych komórek na krótkie pałeczki [77]. Wzrost rozpełzliwy *Serratia* spp. zależy od biosyntezy biosurfaktantów [38]. Rice i wsp. przeprowadzili badania mające na celu identyfikację genów kodujących syntezę serrawetyny W2 u *S. liquefaciens* MG1 [51]. Mutanty *swrI* poddano dalszej mutagenizacji transpozonomem Tn-5 niosącym *luxAB*. Uzyskane podwójne mutanty *S. liquefaciens* oceniano pod względem zdolności do wytwarzania cząsteczek AHL. W przeprowadzonych przez Linduma i wsp. badaniach wykazano, że tylko 1 z 19 testowanych mutantów *Serratia* spp. nie wykazuje zdolności do rozpełzliwego wzrostu przy zachowaniu potencjału tych komórek do biosyntezy cząsteczek AHL [38].

Zdolność przylegania bakterii do powierzchni stałych świadczy o zjadliwości drobnoustrojów. Proces tworzenia się biofilmów bakteryjnych na powierzchni komórek eukariotycznych lub materiałach abiotycznych jest regulowany przez mechanizm *quorum sensing* [57,61]. Wytwarzanie przez komórki cząsteczek AHL inicjuje proces adhezji pojedynczych drobnoustrojów do płaszczyzn stałych [74]. Komórka bakteryjna łączy się z daną powierzchnią od strony, w której tempo sekrecji cząsteczek sygnalizacyjnych uległo zmniejszeniu [7]. U drobnoustrojów, pozostających w zawieszynie, sekrecja cząsteczek AHL jest jednakowa z każdej strony komórki [7,74].

W matrycy dojrzałego biofilmu możliwa jest swobodna dyfuzja cząsteczek sygnalizacyjnych z jednej komórki do drugiej [62]. W błonach biologicznych, w przeciwieństwie do populacji wolno żyjących mikroorganizmów, kontakt z drugą komórką jest o wiele bardziej prawdopodobny, a odległości jakie muszą pokonać cząsteczki sygnalizacyjne są odpowiednio mniejsze [81]. Wpływ cząsteczek AHL na strukturę błon biologicznych stwierdzono zarówno w naturalnych, jak i laboratoryjnie wytworzonych biofilmach *B. cenocepacia*, *A. hydrophila*, *P. aeruginosa*, *P. putida* i *S. marcescens* [28,35,39,63]. Błony biologiczne, utworzone przez zmutowane szczepy *P. aeruginosa*, *B. cenocepacia* oraz *A. hydrophila*, niezdolne do syntezy cząsteczek AHL, były cienkimi warstewkami, złożonymi z mocno upakowanych komórek. Struktura biofilmów utworzonych przez bakterie niepoddane mutagenizacji, były heterogenne i składały się z mikrokolonii komórek, tworzących wypustki lub też filamenty wystające do środowiska zewnętrznego (często w kształcie grzyba), porozdzielane systemem kanałów wodnych [9,28,35,39,63].

Głównym komponentem mikrokolonii biofilmu są pozakomórkowe polisacharydy, wytwarzane przez mikroorganizmy [45]. Biosynteza i sekrecja zewnątrzkomórkowego alginianu w biofilmach *P. aeruginosa* PA14 jest procesem indukowanym przez 3-okso-C12-HSL [55]. W błonach



biologicznych *S. marcescens* MG1 wytwarzanie polisacharydu, którego mery połączone są wiązaniami  $\beta$  1,3- lub  $\beta$  1,4-glikozydowymi, jest warunkowane sekrecją przez komórki C4-HSL [35].

Oderwane od błony biologicznej drobnoustroje rozpoczynają proces kolonizacji nowych terytoriów. Zdaniem Costertona żaden ze znanych człowiekowi drobnoustrojów nie wykazuje zdolności do planktonicznej formy życia [7]. Obecność wolno pływających komórek w danym ekosystemie jest jedynie etapem pomiędzy odrywaniem się mikroorganizmów od warstwy dojrzałego biofilmu a adhezją początkową komórek do nowych płaszczyzn stałych [74].

#### ASPEKTY PRAKTYCZNE MECHANIZMU QUORUM SENSING

Badania dotyczące kontroli przez mechanizm *quorum sensing* procesów fizjologicznych bakterii oraz roli tego zjawiska w kształtowaniu interakcji między drobnoustrojami i organizmami wyższymi są dopiero w fazie początkowej. Z punktu widzenia medycznego szczególnie ważne są badania oceniające znaczenie systemu komunikacji mikroorganizmów w przebiegu procesu infekcji oraz tworzeniu się trudnych do eliminacji biofilmów bakteryjnych na materiałach medycznych.

Wpływ biosyntezy AHL na rozwój zakażeń *P. aeruginosa* początkowo zaobserwowano na mysich i szczurzych modelach ostrego i chronicznego zapalenia płuc [59]. Zdaniem Smitha i wsp. mechanizm komunikacji *P. aeruginosa* odpowiada za rozprzestrzenianie się zakażenia prowadzącego do posocznicy, sprzyja powstaniu zmian patologicznych w tkankach oraz wzrostu śmiertelności badanych zwierząt [59]. Wytwarzanie cząsteczek sygnalizacyjnych wpływa także na rozwój chronicznych zakażeń płucnych przez *P. aeruginosa* i *B. cepacia* u osób chorych na mukowiscydozę (CF). W płwocinie tych pacjentów wykazano duże stężenie transkryptów genów *las* i *rhl* oraz zidentyfikowano cząsteczki C4-HSL, C6-HSL oraz C12-HSL [16,41]. U pacjentów z CF najpierw dochodziło do infekcji i rozwoju populacji *P. aeruginosa*. Dowiedziono, że cząsteczki sygnalizacyjne C4-HSL, C6-HSL oraz C12-HSL wytwarzane w czasie tego procesu przez *P. aeruginosa* były warunkiem koniecznym w indukcji ekspresji czynników wirulencji *B. cepacia*. Powyższe zjawisko w pewnym stopniu tłumaczy porządek sukcesji chorobotwórczych gatunków, zasiedlających osoby chore na mukowiscydozę [4].

Z raportów Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego (PZH) wynika, że proces tworzenia biofilmów bakteryjnych na materiałach medycznych, jest bezpośrednią przyczyną 65–80% zakażeń u hospitalizowanych pacjentów. Problem dotyczy głównie pacjentów, u których w celach diagnostycznych lub terapeutycznych zastosowano protezy stawowe i kostne, cewniki czy zespolenia naczyniowe [70]. Zdaniem Favre-Bontéa i wsp. u pacjentów oddziałów intensywnej terapii zakażenia *P. aeruginosa* mogą być m.in. następstwem tworzenia się biofilmów bakteryjnych na powierzchni rurek intubacyjnych [16]. W badaniach przeprowadzonych przez tych badaczy wykazano, że kolonizacja rurek intubacyjnych przez *P. aeruginosa* zależy od biosyntezy 3-okso-C12-HSL. U wszystkich przebadanych kultur bakteryjnych, biosynteza 3-okso-C12-HSL wpływała także na wytwarzanie przez *P. aeruginosa* elastazy

LasB. Favre-Bonté i wsp. stwierdzili również, że biosynteza cząsteczek 3-okso-C12-HSL stymuluje wytwarzanie przez *P. aeruginosa* drugiego autoinduktora – C4-HSL, kontrolującego powstawanie ramnolipidu [16]. Zdaniem badaczy wytwarzanie dwóch rodzajów cząsteczek sygnalizacyjnych przez *P. aeruginosa* (3-okso-C12-HSL oraz C4-HSL), umożliwia rozwój biofilmu na materiałach medycznych oraz utrzymanie zmian chorobowych w tkankach [16].

Z medycznego punktu widzenia ważne są badania nad rolą systemu *quorum sensing* w układach antagonistycznych i kompetycyjnych drobnoustrojów z organizmami wyższymi. Ponieważ stosowanie antybiotyków czy środków dezynfekcyjnych przynosi ograniczony sukces w zapobieganiu lub leczeniu zakażeń bakteryjnych, badania dotyczące interferencji z *quorum sensing* nabierają szczególnego znaczenia.

W układach antagonistycznych między drobnoustrojami a organizmami wyższymi, zwalczanie systemu *quorum sensing* bakterii następuje albo wskutek niszczenia cząsteczek sygnalizacyjnych albo poprzez wytwarzanie antagonistycznych związków względem AHL [3]. Dokładnie opisanym w literaturze przedmiotu przykładem hamowania systemu *quorum sensing* drobnoustrojów i zapobieganiu tworzeniu biofilmów *S. liquefaciens* jest zdolność biosyntezy halogenowanych furanonów przez wodorost morski *Delisea pulchra* [40]. Halogenowane furanony, jako kompetycyjne analogi AHL, skutecznie zapobiegały tworzeniu biofilmu na statkach rybackich i sieciach. Zjawisko to następowało wskutek konkurencji halogenowanych furanonów z AHL o miejsce wiązania na białku receptorowym LuxR [68]. Przypuszcza się również, że przyłączenie inhibitora *quorum sensing* destabilizowało białko LuxR przez obniżenie czasu jego półtrwania lub zablokowało proces dimeryzacji cząsteczki [64].

Niszczenie cząsteczek sygnalizacyjnych mechanizmu *quorum sensing* w celu obniżenia ekspresji niektórych czynników wirulencji bakterii patogennych może być przeprowadzone metodami chemicznymi lub enzymatycznymi [3]. Chemiczna inaktywacja cząsteczek AHL może opierać się na hydrolizie alkalicznej, w wyniku której powstają pochodne acylowane homoseryny lub na reakcji z utlenionymi chlorowcami o działaniu przeciwbakteryjnym [31]. Zdaniem Summerfelta traktowanie hodowli bakteryjnych wodą zawierającą niewielkie stężenia silnie utleniających związków, takich jak ozon, może być użyteczne w leczeniu zakażeń bakteryjnych [65]. Ozon skutecznie inaktywuje cząsteczki sygnalizacyjne mikroorganizmów [65].

Enzymatyczna inaktywacja cząsteczek sygnalizacyjnych może się odbywać z udziałem dwóch typów enzymów: laktonazy AHL i acylazy AHL. Powyższe enzymy są wytwarzane przez  $\alpha$ -*Proteobacteria*,  $\beta$ -*Proteobacteria*, *Bacillus* spp. oraz organizmy eukariotyczne [47]. Laktonazy AHL i acylazy AHL, rozszczepiając pierścień laktonowy cząsteczek sygnalizacyjnych powodują, że AHL stają się niezdolne do aktywacji pokrewnych regulatorów transkrypcyjnych [19]. W kulturach mieszanych bakterii enzymatyczna degradacja cząsteczek sygnalizacyjnych umożliwia części drobnoustrojów wykorzystywanie AHL na potrzeby odżywcze. Ograniczona w ten sposób możliwość komunikowania się innych współbytujących gatunków bakterii,

pozwała uzyskać selektywną przewagę nad konkurentami w danym ekosystemie. Wykorzystywanie AHL jako potencjalnego źródła azotu i energii jest cechą komórek *Variovorax paradoxus* [37].

Acylazy wytwarzane przez organizmy wyższe mogą także powodować degradację bakteryjnych cząsteczek sygnalizacyjnych. Xu i wsp. zaobserwowali, że acylaza I nerki świni, poprzez deacylację, inaktywuje cząsteczki AHL wytwarzane przez komórki *Pseudomonas* spp. oraz *Microbacterium* spp. [84]. Inaktywacja cząsteczek sygnalizacyjnych bakterii występowała przy pH 9,0 środowiska, co mogło być spowodowane alkaliczną hydrolizą pierścienia laktonu. Acylaza wyraźnie ograniczyła potencjał adhezyjny komórek *Pseudomonas* spp. i *Microbacterium* spp. [84].

Skuteczne blokowanie lub zakłócanie mechanizmu *quorum sensing* u mikroorganizmów wykorzystujących acyl-HSL w kontroli zjadliwości ma zdecydowanie aplikacyjne znaczenie. Może bowiem doprowadzić do częściowej lub całkowitej atenuacji patogennych drobnoustrojów. Ponadto efektywna inhibicja *quorum sensing* może zapobiec zjawisku selekcji postaci opornych [4,32]. Zdaniem Kołodyńskiego i Jankowskiego rozwiązanie problemu lekooporności drobnoustrojów przez zastąpienie antybiotyków związkami blokującymi *quorum sensing*, wymaga opracowania nowych metod diagnostycznych do oceny ich skuteczności [32]. Inhibitory *quorum sensing* nie wykazują aktywności

bakteriobójczej, więc nie jest możliwe tradycyjne badanie minimalnego stężenia hamującego (minimal inhibitory concentration – MIC) w warunkach *in vitro* [32].

## PODSUMOWANIE

Atrakcyjność badań mechanizmu *quorum sensing* drobnoustrojów wynika z niezaprzeczalnego ogólnobiologicznego i biotechnologicznego znaczenia tego zjawiska. Aktywność metaboliczna drobnoustrojów żyjących w populacjach o dużej gęstości jest regulowana biosyntezą cząsteczek sygnalizacyjnych. Powyższy mechanizm kontroluje proces wytwarzania czynników wirulencji, w tym tworzenia się i różnicowania biofilmów. Zjawiska te decydują o tempie i sposobie opanowania przez drobnoustroje nowego środowiska.

Szczegółowa obserwacja i zrozumienie mechanizmu komunikacji, odbywającego się między drobnoustrojami, ma aplikacyjne znaczenie. Ingerencja w mechanizm *quorum sensing* może ułatwić opracowanie skutecznych środków higienicznych, eliminujących drobnoustroje chorobotwórcze z materiałów i urządzeń medycznych. Z medycznego punktu widzenia poznanie szczegółów procesu *quorum sensing* może się także przyczynić do odkrycia nowych klas nieantybiotykowych środków przeciwbakteryjnych. Poprzez ingerencję w komunikację między komórkami możliwe będzie opracowanie nowych strategii leczenia wielu bakteryjnych infekcji.

## PIŚMIENICTWO

- Atkinson S., Chang C.Y., Sockett R.E., Cámara M., Williams P.: *Quorum sensing* in *Yersinia enterocolitica* controls swimming and swarming motility. *J. Bacteriol.*, 2006; 188: 1451–1461
- Atkinson S., Throup J.P., Stewart G.S., Williams P.: A hierarchical *quorum-sensing* system in *Yersinia pseudotuberculosis* is involved in the regulation of motility and clumping. *Mol. Microbiol.*, 1999; 33: 1267–1277
- Bjarnsholt T., Givskov M.: *Quorum sensing* blockade as a strategy for enhancing host defences against bacterial pathogens. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.Biol. Sci.*, 2007; 362: 1213–1222
- Cámara M., Hardman A., Williams P., Milton D.: *Quorum sensing* in *Vibrio cholerae*. *Nat. Genet.*, 2002; 32: 217–218
- Cámara M., Williams P., Hardman A.: Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk. *Lancet. Infect. Dis.*, 2002; 2: 667–676
- Christensen A.B., Riedel K., Eberl L., Flodgaard L.R., Molin S., Gram L., Givskov M.: *Quorum sensing*-directed protein expression in *Serratia proteamaculans* B5a. *Microbiol.*, 2003; 149: 471–483
- Costerton J.W.: Introduction to biofilm. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 1999; 11: 217–221
- Croxatto A., Pride J., Hardman A., Williams P., Cámara M., Millton D.L.: A distinctive dual-channel *quorum-sensing* system operates in *Vibrio anguillarum*. *Mol. Microbiol.*, 2004; 52: 1677–1689
- Czaczek K.: Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. *Postepy Microbiol.*, 2004; 43: 267–283
- Diggle S.P., Winzer K., Chhabra S.R., Worrall K.E., Cámara M., Williams P.: The *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal molecule overcomes the cell density-dependency of the *quorum sensing* hierarchy regulates. *Mol. Microbiol.*, 2003; 50: 29–43
- Eberhard A., Longin T., Widrig C.A., Stranick S.J.: Synthesis of the lux gene autoinducer in *Vibrio fischeri* is positively autoregulated. *Arch. Microbiol.*, 1991; 155: 294–297
- Eberl L.: N-acyl homoserine lactone-mediated gene regulation in gram-negative bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.*, 1999; 22: 493–506
- Eberl L., Winson M.K., Sternberg C., Stewart G.S., Christiansen G., Chhabra S.R., Bycroft B., Williams P., Molin S., Givskov M.: Involvement of N-acyl-L-homoserine lactone autoinducers in controlling the multicellular behavior of *Serratia liquefaciens*. *Mol. Microbiol.*, 1996; 20: 127–136
- Egland K.A., Greenberg E.P.: *Quorum sensing* in *Vibrio fischeri*: elements of the luxI promoter. *Mol. Microbiol.*, 1999; 31: 1197–1204
- Egerbrecht J., Silverman M.: Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984; 81: 4154–4158
- Favre-Bonté S., Chamot E., Köhler T., Romand J.A., van Delden C.: Autoinducer production and *quorum-sensing* dependent phenotypes of *Pseudomonas aeruginosa* vary according to isolation site during colonization of incubated patients. *BMC Microbiol.*, 2007; 7: 33–45
- Finney A.H., Blick R.J., Murakami K., Ishohama A., Stevens A.A.: Role of the C-terminal domain of the alpha subunit of RNA polymerase in LuxR-dependent transcriptional activation of the lux operon during *quorum sensing*. *J. Bacteriol.*, 2002; 184: 4520–4528
- Fuqua C., Parsek M.R., Greenberg E.P.: Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone *quorum sensing*. *Annu. Rev. Genet.*, 2001; 35: 439–468
- Geske G.D., O'Neil J.C., Blackwell H.E.: Expanding dialogues: from natural autoinducers to non-natural analogues that modulate *quorum sensing* in gram-negative bacteria. *Chem. Soc. Rev.*, 2008; 37: 1432–1447
- González J.E., Keshavan N.D.: Messing with bacterial *quorum sensing*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2006; 70: 859–875
- Gray K. M., Garey J. R.: The evolution of bacterial LuxI and LuxR *quorum sensing* regulators. *Microbiol.*, 2001; 147: 2379–2387
- Guina T., Purvine S.O., Eugene C.Y., Eug J., Goodlett D.R., Abersold R., Miller S.I.: Quantitative proteomics analysis indicates increased isolates from cystic fibrosis airways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 2771–2776
- Hanzelka B.L., Greenberg E.P.: *Quorum sensing* in *Vibrio fischeri*: evidence that S-adenosylmethionine is the amino acid substrate for autoinducer synthesis. *J. Bacteriol.*, 1996; 178: 5291–5294
- Hanzelka B.L., Parsek M.R., Val D.L., Dunlap P.V., Cronan J.E., Greenberg E.P.: Acylhomoserine lactone synthase activity of the *Vibrio fischeri* AinS protein. *J. Bacteriol.*, 1999; 181: 5766–5770

- [25] Hoang T.T., Schweizer H.P.: Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* enoyl-acyl carrier protein reductase (FabI): a target for the antimicrobial triclosan and its role in acylated homoserine lactone synthesis. *J. Bacteriol.*, 1999; 181: 5489–5497
- [26] Horng Y.T., Deng S.C., Daykin M., Soo P.C., Wei J.R., Luh K.T., Ho S.W., Swift S., Lai H.C., Williams P.: The LuxR family protein SpnR functions as a negative regulator of N-acylhomoserine lactone-dependent quorum sensing in *Serratia marcescens*. *Mol. Microbiol.*, 2002; 45: 1655–1671
- [27] Huber B., Riedel K., Hentzer M., Heydorn A., Gotschlich A., Givskov M., Molin S., Eberl L.: The cep quorum-sensing system of *Burkholderia capacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility. *Microbiol.*, 2001; 147: 2517–2528
- [28] Jaworski A., Serwecińska L., Stączek P.: Quorum sensing – komunikowanie się komórek w populacjach bakterii przy udziale chemicznych cząsteczek sygnałowych. *Postepy Biol. Kom.*, 2005; 32: 231–256
- [29] Kaplan H.B., Greenberg E.P.: Diffusion of autoinducer is involved in regulation of the *Vibrio fischeri* luminescence system. *J. Bacteriol.*, 1985; 163: 1210–1214
- [30] Kim M.H., Choi W.K., Kang H.O., Lee J.S., Kang B.S., Kim K.J., Derewenda Z.S., Oh T.K., Lee C.H., Lee J.K.: The molecular structure and catalytic mechanism of a quorum sensing N-acyl-L-homoserine lactone hydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 17606–17611
- [31] Kołodzyński J., Jankowski S.: Systemy międzykomórkowej sygnalizacji u bakterii. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2005; 14: 343–348
- [32] Kozdrój J.: Aspekty ekologiczne i biotechnologiczna luminescencji bakterii. *Postepy Microbiol.*, 1998; 37: 349–367
- [33] Köhler T., Curly L.K., Barja F., van Delden C., Pechere J.C.: Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on cell-to-cell signaling and requires flagella and pili. *J. Bacteriol.*, 2000; 182: 5990–5996
- [34] Labbate M., Zhu H., Thung L., Bandara R., Larsen M., Willcox M., Givskov M., Rice S., Kjelleberg S.: Quorum sensing regulation of adhesion in *Serratia marcescens* MG1 is surface dependent. *J. Bacteriol.*, 2007; 189: 2702–2711
- [35] Lai H.C., Soo P.C., Wei J.R., Yi W.C., Liaw S.J., Horng Y.T., Lin S.M., Ho S.W., Swift S., Williams P.: The RssAB two-component signal transduction system in *Serratia marcescens* regulates swarming motility and cell envelope architecture in response to exogenous saturated fatty acids. *J. Bacteriol.*, 2005; 187: 3407–3414
- [36] Leadbetter J.R., Greenberg E.P.: Metabolism of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by *Variovorax paradoxus*. *J. Bacteriol.*, 2000; 182: 6921–6926
- [37] Lindum P.W., Anthoni U., Christophersen C., Eberl L., Molin S., Givskov M.: N-Acyl-L-homoserine lactone autoinducers control production of an extracellular lipopeptide biosurfactant required for swarming motility of *Serratia liquefaciens* MG1. *J. Bacteriol.*, 1998; 180: 6384–6388
- [38] Lynch N.J., Swift S., Kirke D.F., Keevil C.W., Dodd C.E., Williams P.: The regulation of biofilm development by quorum-sensing in *Aeromonas hydrophila*. *Environ. Microbiol.*, 2002; 4: 18–28
- [39] Manefield M., de Nys R., Kumar N., Read R., Givskov M., Steinberg P., Kjelleberg S.: Evidence that halogenated furanones for *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. *Microbiology*, 1999; 145: 283–291
- [40] Middleton B., Rodgers H.C., Cámara M., Knox A.J., Williams P., Hardman A.: Direct detection of N-acylhomoserine lactones in cystic fibrosis sputum. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2002; 22: 1–7
- [41] Miller M.B., Bassler B.L.: Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2001; 55: 165–199
- [42] Milton D.L., Chalker V.J., Kirke D., Hardman A., Cámara M., Williams P.: The LuxM homologue VanM from *Vibrio anguillarum* directs the synthesis of N-(3-hydroxyhexanoyl)homoserine lactone nad N-hexanoyl-homoserine lactone. *J. Bacteriol.*, 2001; 183: 3537–3547
- [43] Moré M.I., Finger L.D., Stryker J.L., Fuqua C., Eberhard A., Winans S.C.: Enzymatic synthesis of a quorum-sensing autoinducer through use of defined substrates. *Science*, 1996; 272: 1655–1658
- [44] Myszyńska K., Czaczyk K.: Characterization of adhesive exopolysaccharide (EPS) produced by *Pseudomonas aeruginosa* under starvation conditions. *Curr. Microbiol.*, 2009; 58: 541–546
- [45] Ochsner U.A., Koch A.K., Fiechter A., Reiser J.: Isolation and characterization of a regulatory gene affecting rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 1994; 176: 2044–2054
- [46] Park S.Y., Kang H.O., Jang H.S., Lee J.K., Koo B.T., Yum D.Y.: Identification of extracellular N-acylhomoserine lactone acylase from a *Streptomyces* sp. and its application to quorum quenching. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005; 71: 2632–2641
- [47] Passador L., Cook J.M., Gambello M.J., Rust L., Iglewski B.H.: Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science*, 1993; 260: 1127–1130
- [48] Pearson J.P., Passador L., Iglewski B.H., Greenberg E.P.: A second N-acylhomoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 1490–1494
- [49] Pearson J.P., van Delden C., Iglewski B.H.: Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signals. *J. Bacteriol.*, 1999; 181: 1203–1210
- [50] Rice S.A., Koh K.S., Queck S.Y., Labbate M., Lam K.W., Kjelleberg S.: Biofilm formation and sloughing in *Serratia marcescens* are controlled by quorum sensing and nutrient cues. *J. Bacteriol.*, 2005; 187: 3477–3485
- [51] Rivas M., Seeger M., Jedlicki E., Holmes D.S.: Second acyl-homoserine lactone producing system in the extreme acidophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007; 73: 3225–3231
- [52] Schaefer A.L., Greenberg E.P., Parsek M.R.: Acylated homoserine lactone detection in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by radiolabel assay. *Methods Enzymol.*, 2001; 226: 41–47
- [53] Schaefer A.L., Val D.L., Hanzelka B.L., Cronan J.E., Greenberg E.P.: Generation of cell-to-cell signals in quorum sensing: acyl homoserine lactone synthase activity of a purified *Vibrio fischeri* LuxI protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 9505–9509
- [54] Schripsema J., de Rudder K.E., van Vliet T.B., Lankhorst P.P., de Vroom E., Kijne J.W., van Brussel A.A.: Bacteriocin small of *Rhizobium leguminosarum* belongs to the class of N-acylhomoserine lactone molecules known as autoinducers and as quorum sensing transcription factors. *J. Bacteriol.*, 1996; 178: 366–371
- [55] Schuster M., Lostroh C.P., Ogi T., Greenberg E.P.: Identification timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum controlled genes: a transcriptome analysis. *J. Bacteriol.*, 2003; 185: 2066–2079
- [56] Shrouf J.D., Chopp D.L., Just C.L., Hentzer M., Givskov M., Parsek M.R.: The impact of quorum sensing and swarming motility on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation is nutritionally conditional. *Mol. Microbiol.*, 2006; 62: 1264–1277
- [57] Slock J., vanRiet D., Kolibachuk D., Greenberg E.P.: Critical regions of the *Vibrio fischeri* LuxR protein defined by mutational analysis. *J. Bacteriol.*, 1990; 172: 3974–3979
- [58] Smith R.S., Harris S.G., Phipps R., Iglewski B.: The *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule N-(3-oxododecanoyl) homoserine lactone contributes to virulence and induces inflammation *in vivo*. *J. Bacteriol.*, 2002; 184: 1132–1139
- [59] Smith R.S., Iglewski B.H.: *P. aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2003; 6: 56–60
- [60] Spoering A.L., Gilmore M.S.: Quorum sensing and DNA release in bacterial biofilms. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2006; 9: 133–137
- [61] Starikowska D., Kaca W.: Systemy komunikacji międzykomórkowej bakterii gramujemnych i ich znaczenie w ekspresji cech fenotypowych. *Postepy Microbiol.*, 2005; 44: 99–111
- [62] Steidle A., Allesen-Holm M., Riedel K., Berg G., Givskov M., Molin S., Eberl L.: Identification and characterization of an N-acylhomoserine lactone-dependent quorum-sensing system in *Pseudomonas putida* strain IsoF. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002; 68: 6371–6382
- [63] Suga H., Smith K.M.: Molecular mechanisms of bacterial quorum sensing as a new drug target. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2003; 7: 586–591
- [64] Summerfelt S.T.: Ozonation and UV irradiation – an introduction and examples of current applications. *Aquac. Eng.*, 2003; 28: 21–36
- [65] Swift S., Karlyshev A.V., Fish L., Durant E.L., Winson M.K., Chhabra S.R., Williams P., Macintyre S., Stewart G.S.: Quorum sensing in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida*: identification of the LuxRI homologues AhyRI and AsaRI and their cognate signal molecules. *J. Bacteriol.*, 1997; 179: 5271–5281
- [66] Swift S., Lynch M.J., Fish L., Kirke D.F., Tomas J.M., Stewart G.S., Williams P.: Quorum sensing-dependent regulation and blockade of exoprotease production in *Aeromonas hydrophila*. *Infect. Immun.*, 1999; 67: 5192–5199
- [67] Teplitsky M., Robinson J.B., Bauer W.D.: Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviors in associated bacteria. *Mol. Plant Microbe. Interact.*, 2000; 13: 637–648



- [68] Throup J.P., Cámara M., Briggs G.S., Winson M.K., Chhabra S.R., Bycroft B.W., Williams P., Stewart G.S.: Characterization of the *yenI*-*lyeR* locus from *Yersinia enterocolitica* mediating the synthesis of two N-acyl homoserine lactone signal molecules. *Mol. Microbiol.*, 1995; 17: 345–356
- [69] Trafny E.A. Rola biofilmów w patogenezie zakażeń człowieka. *Postepy Microbiol.*, 2008; 47: 353–357
- [70] Val D.L., Cronan J.E. Jr: *In vivo* evidence that S-adenosylmethionine and fatty acid synthesis intermediates are the substrates for the LuxI family of autoinducer synthases. *J. Bacteriol.*, 1998; 180: 2644–2651
- [71] Wagner-Döbler I., Thiel V., Eberl L., Allgaier M., Bodor A., Meyer S., Ebner S., Hennig A., Pukall R., Schulz S.: Discovery of complex mixtures of novel long-chain *quorum sensing* signals in free-living and host-associated marine alphaproteobacteria. *Chembiochem.*, 2005; 6: 2195–2206
- [72] Waters C.M., Bassler B.L.: *Quorum sensing*: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 2005; 21: 319–346
- [73] Watnick P., Kolter R.: Biofilm, city of microbes. *J. Bacteriol.*, 2000; 182: 2675–2679
- [74] Wei J.R., Lai H.C.: N-acylhomoserine lactone-dependent cell to cell communication and social behavior in the genus *Serratia*. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2006; 296: 117–124
- [75] Wei J.R., Tsai Y.H., Horng Y.T., Soo P.C., Hsieh S.C., Hsueh P.R., Horng J.T., Williams P., Lai H.C.: TnTIR, a mobile Tn3-family transposon carrying *spnIR quorum sensing* unit. *J. Bacteriol.*, 2006; 188: 1518–1525
- [76] Whitehead N.A., Barnard A.M., Slater H., Simpson N.J., Salmund G.P.: *Quorum-sensing* in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2001; 25: 365–404
- [77] Williams P., Winzer K., Chan W.C., Cámara M.: Look who's talking: communication and *quorum sensing* in the bacterial world. *Philos. Trans. R. Soc. B. Biol. Sci.*, 2007; 362: 1119–1134
- [78] Winans S.C., Bassler B.L.: Mob psychology. *J. Bacteriol.*, 2002; 184: 873–883
- [79] Winson M.K., Cámara M., Latifi A., Foglino M., Chhabra S.R., Daykin M., Bally M., Chapon V., Salmund G.P., Bycroft B.W., Lazdunsky A., Stewart G., Williams P.: Multiple N-acyl-L-homoserine lactone signal molecules regulate production of virulence determinants and secondary metabolites in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 9427–9431
- [80] Wisniewski-Dye F., Downie J.A.: *Quorum sensing* in *Rhizobium*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2003; 81: 397–407
- [81] Wu H., Song Z., Givskov M., Doring G., Worlitzsch D., Mathee K., Rygaard J., Hoiby N.: *Pseudomonas aeruginosa* mutations in *lasI* and *rhlI quorum sensing* systems result in milder chronic lung infections. *Microbiology*, 2001; 147: 1105–1113
- [82] Xu F., Byun T., Dussen H.J., Duke K.R.: Degradation of N-acylhomoserine lactones, the bacterial *quorum sensing* molecules by acylase. *J. Bacteriol.*, 2003; 101: 89–96
- [83] Yates E.A., Philipp B., Buckley C., Atkinson S., Chhabra S.R., Sockett R.E., Goldner M., Dessaux Y., Cámara M., Smith H., Williams P.: N-acylhomoserine lactones undergo lactonolysis in a pH-, temperature-, and acyl chain length-dependent manner during growth of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.*, 2002; 70: 5635–5646
- [84] Zhang L., Murphy P.J., Kerr A., Tate M.E.: *Agrobacterium* conjugation and gene regulation by N-acyl-L-homoserine lactones. *Nature*, 1993; 362: 446–448

---

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.