

TRANSPORT TOKSYN BAKTERYJNYCH Z WYKORZYSTANIEM PĘCHERZYKÓW BŁONOWYCH



UNIwersytet
Warszawski

ADRIAN MACION
ZAKŁAD GENETYKI BAKTERII
INSTYTUT MIKROBIOLOGII
WYDZIAŁ BIOLOGII
UNIwersytet Warszawski
OPIEKUN NAUKOWY:
PROF. DR HAB. DARIUSZ BARTOSIK

PODZIAŁ PĘCHERZYKÓW BŁONOWYCH I STRUKTUR HOMOLOGICZNYCH

Wraz z rozwojem technik izolacji i analizy oraz dzięki przebadaniu znacznej liczby gatunków bakterii udało się zaobserwować ogromną różnorodność pęcherzyków błonowych (MVs – Membrane Vesicles). Ich budowa jest zdeterminowana mechanizmem powstawania. Najnowsze modele dzielą MVs na klasy ze względu na ogólny schemat struktury i pochodzenie.

1. OMVs (Outer-Membrane Vesicles)

Odkryte jako pierwsze, stanowią modelowy przykład bakterierynych MVs. Zbudowane są z błony zewnętrznej, zawierają LPS i białka błonowe. Ich wnętrze wypełnione jest cieczą zawierającą materiały obecne w peryplazmie komórki: zdegradowany peptydoglikan, białka, polisacharydy peryplazmatyczne.

2. OIMVs (Outer-Inner Membrane Vesicles)

Zaobserwowane po raz pierwszy dla hodowli *Pseudomonas aeruginosa* w stanie stacjonarym. Charakterystyczne są dla bakterii Gram(-). Stanowią klasę MVs podwójnie obłonionych, w ich skład wchodzi błona zewnętrzna i błona wewnętrzna przedzielone warstwą zdegradowanego peptydoglikanu i roztworem peryplazmy. W centrum OIMVs znajduje się roztwór zawierający składniki cytoplazmy (białka, RNA, DNA)

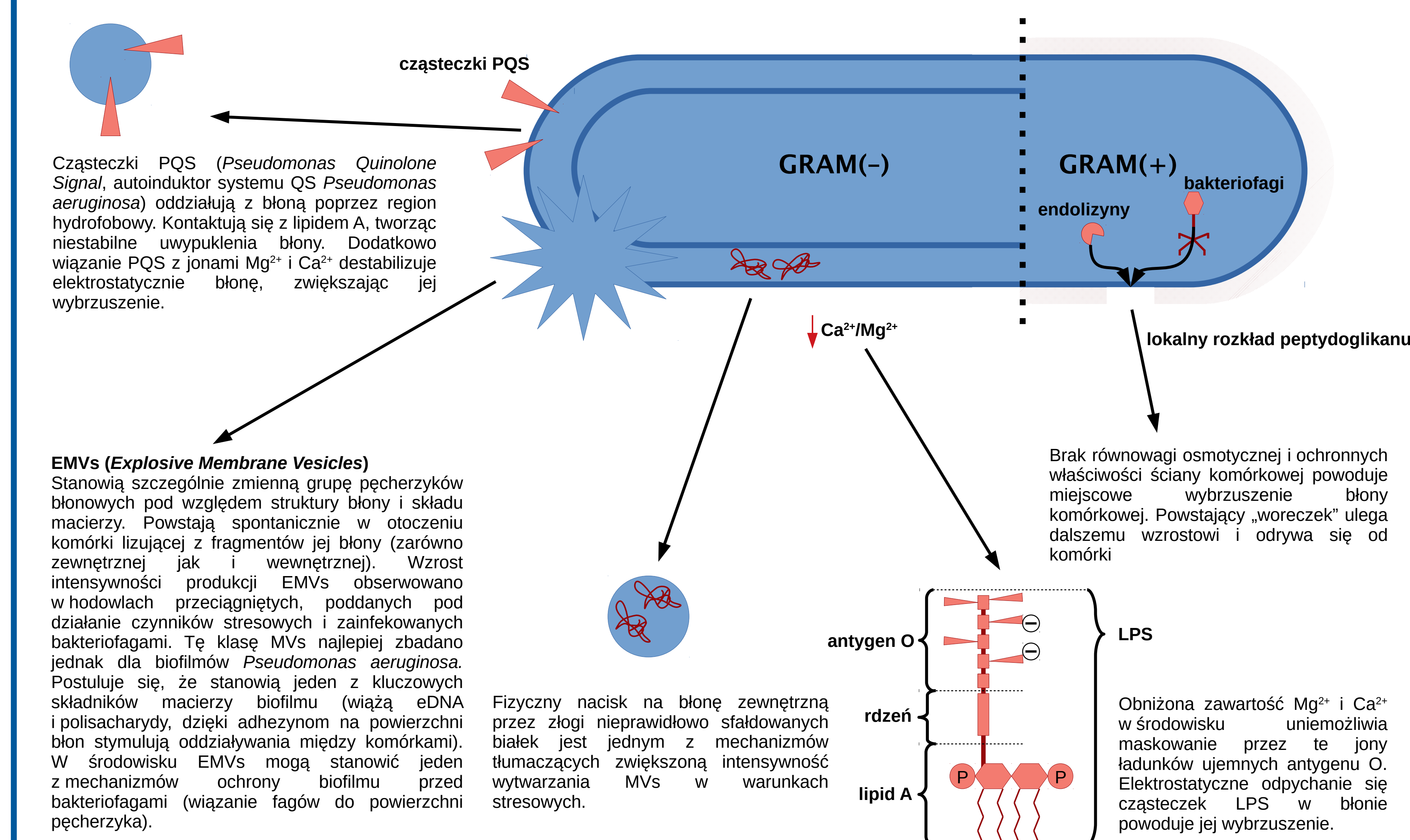
3. CMVs (Cytoplasmic Membrane Vesicles)

Na skutek obecności grubej ściany komórkowej MVs wydzielane przez bakterie Gram(+) należą do klasy najmniej poznanych. Ich produkcja wymaga lokalnego rozkładu peptydoglikanu (np. za sprawą autolizy) co sprawia, że ten typ MVs jest obecny w hodowli starych i poddanych wysokiemu stresowi środowiskowemu.

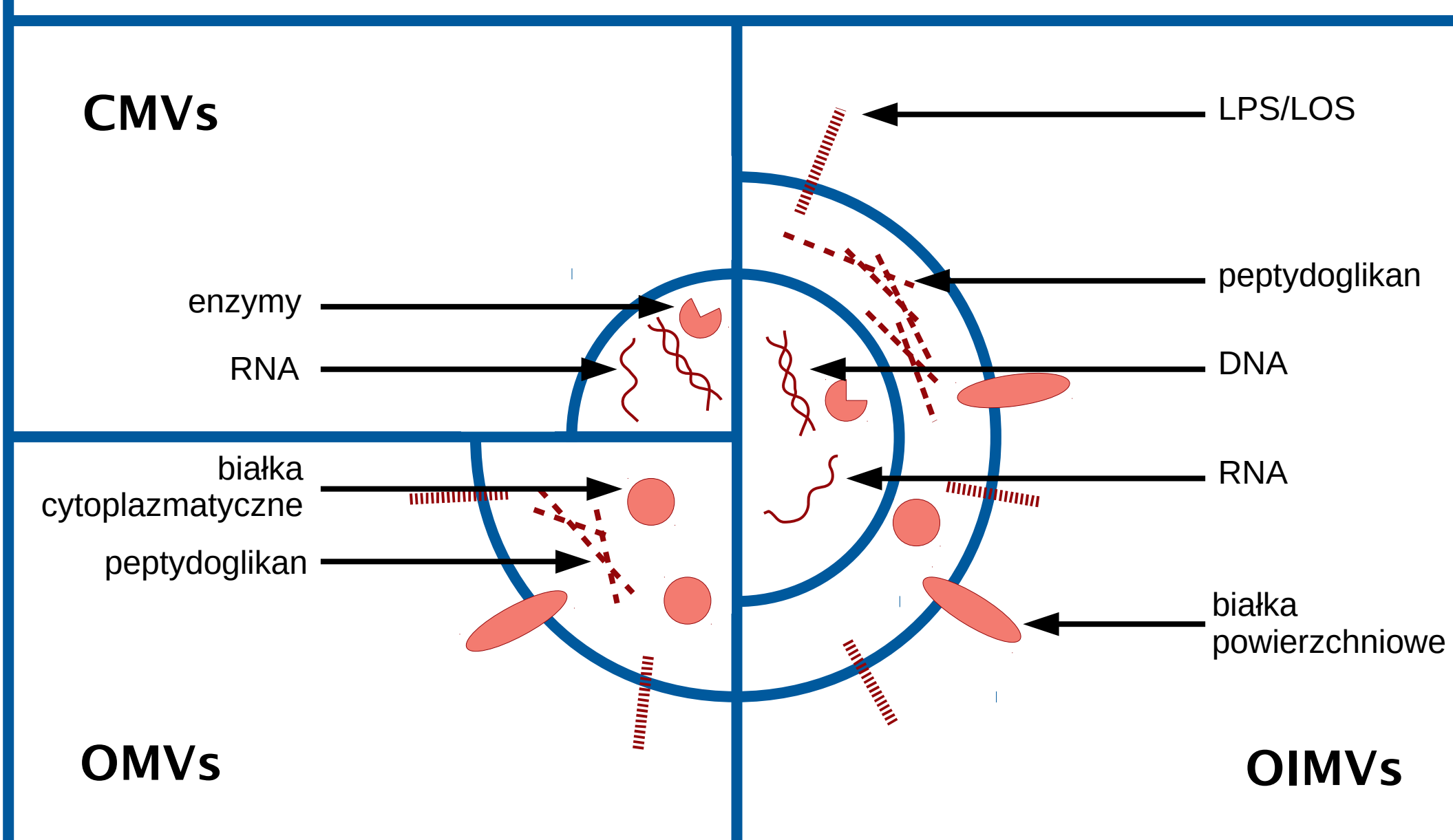
4. TSMs (Tube-Shaped Membranous Structures)

Struktury te nazywane też nanorurkami zaobserwowano dla kilku gatunków (w tym modelowy *Bacillus subtilis* i *Myxococcus xanthus*). Charakterystyczne są dla bakterii tworzących złożone struktury, takie jak biofilmy czy ciała owocujące.

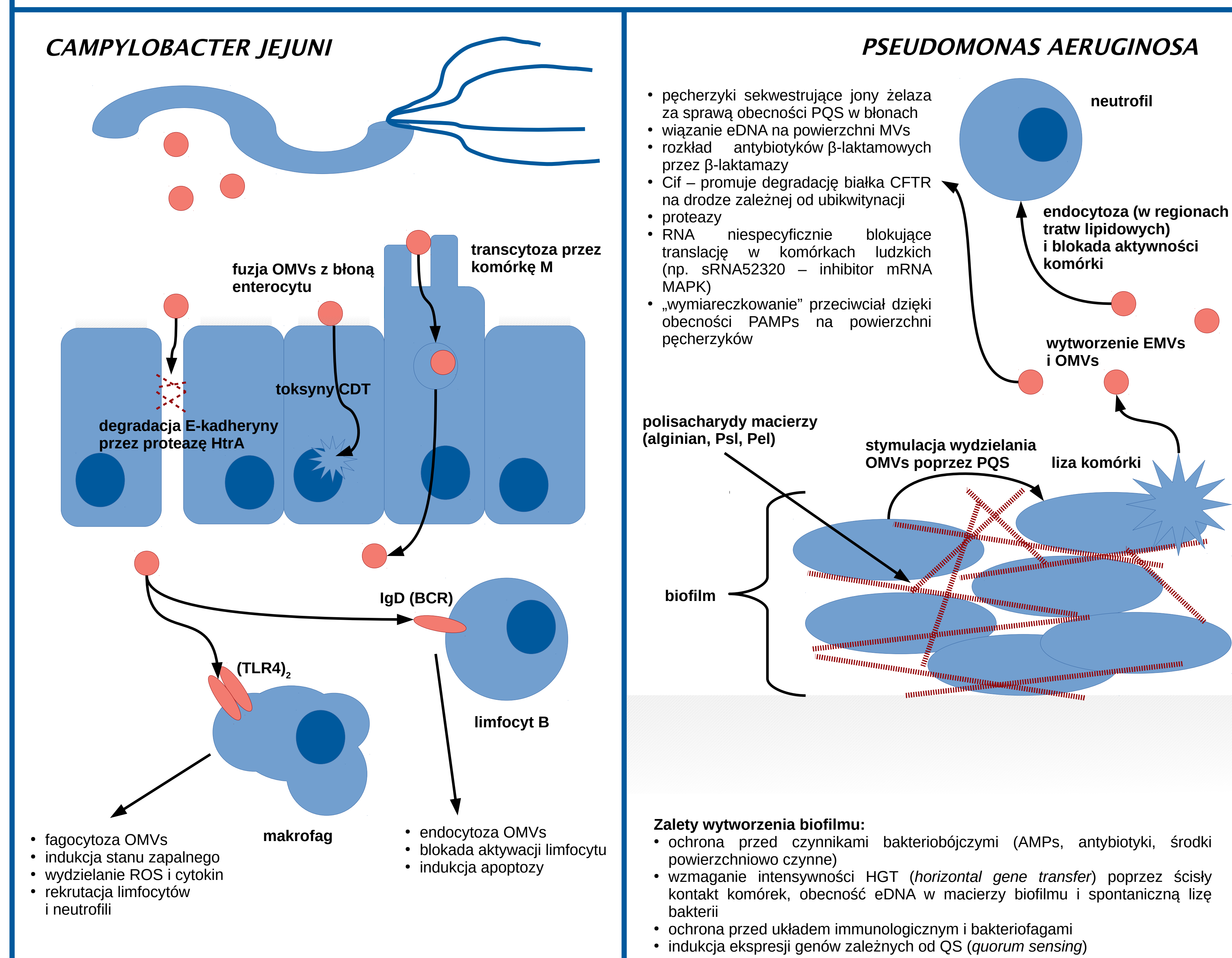
BIOGENEZA PĘCHERZYKÓW BŁONOWYCH



MODELOWA STRUKTURA MVs



ODDZIAŁYWANIE MVs-KOMÓRKA GOSPODARZA



PRZYKŁADY CZYNNIKÓW WYKRYWANYCH W MVs

Gatunek bakterii	Czynnik aktywny transportowany w MVs i jego rola
<i>Acinetobacter baumannii</i>	• AmpC – β-laktamaza • OmpA – potencjalnie cytotoksyczne białko błonowe
<i>Bartonella henselae</i>	• HbpC – białko wiążące heminę; umożliwiła sekwestrację heminy, chroniąc bakterię przed jej toksycznymi stężeniami
<i>Borrelia burgdorferi</i>	• enolaza – enzym rozkładający plazminogen do aktywnej plazminy • OspA/BD – lipoproteina; czynnik adhezji OMVs do śródbłonnki
<i>Escherichia coli</i> O157: H7	• toksyna Shiga (Stx1/2) – toksyna z rodzaju AB ₅ ; wykazuje aktywność RNA-N-glikozylazy, hamuje translację białek eukariotycznych
EHEC (enterokrotoczna <i>E. coli</i>)	• ClyA – cytolizyna tworząca pory; redukcyny charakter wnętrza OMVs ułatwia oligomeryzację ClyA do aktywnych kompleksów • HlyA – α-hemolizyna; wykazano, że uszkadza błonę mitochondrialną enterocytów
<i>Legionella pneumophila</i>	• Map – kwaśna fosfataza • ProA1 – metaloproteaza • LasB – elastaza • kwas legionaminowy – składnik antygeny O; inhibitory fuzji fagosomów z lizosomami
<i>Moraxella catarrhalis</i>	• MID – białko wiążące IgD, superantigen • UspA1/2 – blokuje białko C3 (składnik układu dopełniacza) • Bro1/2 – β-laktamaza
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	• gingipainy – niespecyficzne proteazy degradujące elementy tkanki gospodarza i cytokiny • HmuY – lipoproteina wiążąca hem; wspomaga tworzenie biofilmu • czynniki pośredniczące w koagregacji <i>T. denticola</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	• toksyna cholery (CTx) – toksyna z rodzaju AB ₅ ; zaburza transport jonów przez błonę i gospodarkę wodną komórki
<i>Bacillus anthracis</i>	• antrolizyna (ALO) – cytolizyna zależna od cholesterolu • czynnik martwicy (LF) – proteaza cynkowa; rozkłada niektóre kinazy MAPK (MAPKK), prowadzi do zakłócenia wielu szlaków sygnalowych i śmierci komórki • czynnik obrzękowy (EF) – cyklaza adenylanowa zależna od kaimoduliny i Ca^{2+} ; wywołuje niekontrolowany wzrost cAMP w komórkach fagocytycznych, zmniejsza zapas ATP
<i>Clostridium perfringens</i>	• sekwencje DNA genów <i>pfoA</i> (perfringolizyna O) i <i>plc</i> (α-toksyna) w formie pofragmentowanego chromosomu • N-acetyloglukozamina – czynnik zapalny
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	• TatD – DNaza umożliwiająca rozkład NETs (sieci DNA związane z białkami o aktywności bakteriobójczej: LL37, mieloperoksydaza, elastaza neutrofilowa) • EndA – DNaza ułokowana na powierzchni pęcherzyków • PspC – białko wiążące czynnik H; blokuje alternatywny szlak aktywacji układu dopełniacza • pneumolizyna (Ply) – egzotoksyna o aktywności cytolitycznej

BIBLIOGRAFIA

- Batrakova EV, Kabanov AV. Pluronic block copolymers: evolution of drug delivery concept from inert nanocarriers to biological response modifiers. *J Control Release*. 2008;130(2):98–106. doi:10.1016/j.jconrel.2008.04.013
- Beveridge TJ. Structures of gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles. *J Bacteriol*. 1999;181(16):4725–4733.
- Bielaszewska M, Rüter C, Künsmann L, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin employs outer membrane vesicles to target mitochondria and cause endothelial and epithelial apoptosis. *PLoS One*. 2011;6(11):e27958. doi:10.1371/journal.pone.0027958
- Bishop AL, Tarique AA, Palmella B, Calderwood SB, Qadri F, Camilli A. Immunization of mice with vibrio cholerae outer-membrane vesicles protects against hyperinfectious challenge and blocks transmission. *J Infect Dis*. 2012;205(3):412–421. doi:10.1093/infdis/jir756
- Bombberger JM, Maceachran DP, Coultermarsh BA, Ye S, O'Toole GA, Stanton BA. Long-distance delivery of bacterial virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane vesicles. *PLoS Pathog*. 2009;5(4):e1000382. doi:10.1371/journal.ppat.1000382
- Bombberger JM, Ye S, Maceachran DP, et al. A *Pseudomonas aeruginosa* toxin that hijacks the host ubiquitin proteolytic system. *PLoS Pathog*. 2011;7(7):e1001325. doi:10.1371/journal.ppat.1001325
- Choi CH, Lee JS, Lee YC, Park TI, Lee JC. Acinetobacter baumannii invades epithelial cells and outer membrane protein A mediates interactions with epithelial cells. *BMC Microbiol*. 2008;8:216. Published 2008 Dec 10. doi:10.1186/1471-2180-8-216
- Deathage BL, Cookson BT. Membrane vesicle release in bacteria, eukaryotes, and archaea: a conserved yet underappreciated aspect of microbial life. *Infect Immun*. 2012;80(6):1948–1957. doi:10.1128/IAI.06014-11
- Donato GM, Goldsmith CS, Padisak CS, Eby JC, Gray MC, Hewlett EL. Delivery of *Bordetella pertussis* adenylate cyclase toxin to target cells via outer membrane vesicles. *FEBS Lett*. 2012;556(4):459–465. doi:10.1016/j.febslet.2012.01.032
- Dorward DW, Garon CF, Judd RC. Export and intercellular transfer of DNA via membrane blebs of *Neisseria gonorrhoeae* [published correction appears in *J Bacteriol*. 1989;171(5):2499–2505. doi:10.1128/jb.171.5.2499-2505.1989
- Ellis TN, Leiman SA, Kuehn MJ. Naturally produced outer membrane vesicles from *Pseudomonas aeruginosa* elicit a potent innate immune response via combined sensing of both lipopolysaccharide and protein components. *Infect Immun*. 2010;78(9):3822–3831. doi:10.1128/IAI.00439-10
- Gamazo C, Moryón I. Release of outer membrane fragments by exponentially growing *Brucella melitensis* cells. *Infect Immun*. 1987;55(3):609–615.
- Gankema H, Wiersink J, Guinée PA, Jansen WH, Wittholt B. Some characteristics of the outer membrane material released by growing enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 1980;29(2):704–713.
- Jan AT. Outer Membrane Vesicles (OMVs) of Gram-negative Bacteria: A Perspective Update. *Front Microbiol*. 2017;8:1053. Published 2017 Jun 9. doi:10.3389/fmicb.2017.01053
- Gyorgy B, Szabó TG, Pászti M, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68(16):2667–2688. doi:10.1007/s00018-011-0689-3
- Hong SW, Kim MR, Lee EY, et al. Extracellular vesicles derived from *Staphylococcus aureus* induce atopic dermatitis-like skin inflammation. *Allergy*. 2011;66(3):351–359. doi:10.1111/j.1365-0774.2010.02483.x
- Köling GL, Matthews KR. Export of virulence genes and Shiga toxin by membrane vesicles of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*. 1999;65(5):1843–1848.
- MacDonald IA, Kuehn MJ. Offense and defense: microbial membrane vesicles play both ways. *Res Microbiol*. 2012;163(9-10):607–618. doi:10.1016/j.resmic.2012.10.020
- Oliverson A, Vallsström A, Petzold K, et al. Biochemical and functional characterization of *Helicobacter pylori* vesicles. *Mol Microbiol*. 2010;77(6):1539–1555. doi:10.1111/j.1365-2958.2010.07307.x
- Rivera J, Cordero RJ, Nakouzi AS, Frases S, Nicola A, Casadevall A. *Bacillus anthracis* produces membrane-derived vesicles containing biologically active toxins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(44):19002–19007. doi:10.1073/pnas.1008843107
- Rumbo C, Fernández-Moreira E, Merino M, et al. Horizontal transfer of the OXA-24 carbapenemase gene via outer membrane vesicles: a new mechanism of dissemination of carbapenem resistance genes in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(7):3084–3090. doi:10.1128/AAC.00929-10
- Schild S, Nelson EJ, Camilli A. Immunization with *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles induces protective immunity in mice. *Infect Immun*. 2008;76(10):4554–4563. doi:10.1128/IAI.00532-08
- Schilling SR, Beveridge TJ. Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms. *J Bacteriol*. 2006;188(16):5945–5957. doi:10.1128/JB.00257-06
- Thay B, Wai SN, O'Scarson J. *Staphylococcus aureus* α-toxin-dependent induction of host cell death by membrane-derived vesicles. *PLoS One*. 2013;8(1):e54661. doi:10.1371/journal.pone.0054661
- Yonezawa H, Osaki T, Kurata S, et al. Outer membrane vesicles of *Helicobacter pylori* TK1402 are involved in biofilm formation. *BMC Microbiol*. 2009;9:197. Published 2009 Sep 15. doi:10.1186/1471-2180-9-197