



Czy te bakterie mogą kłamać? Czy ja mógłbym rzęskę złamać?

Macion Adrian
Prezes, Koło Naukowe Biologii Molekularnej
Zakład Genetyki Bakterii
Instytut Mikrobiologii
Wydział Biologii
Uniwersytet Warszawski
az.macion@student.uw.edu.pl

„Kłamca ma zaletę – wyobraźnię”

— Tadeusz Szyfer

Robin Dunbar, amerykański psycholog i antropolog, w swojej książce „Pchły, plotki a ewolucja języka. Dlaczego człowiek zaczął mówić?” wyklada czytelnikowi teorię, według której plotki i niewielkie kłamstwa uczestniczyły w tworzeniu ścisłych więzów w rozwijających się ludzkich społecznościach. Jednak naginanie prawdy towarzyszy nam nawet w czasach współczesnych, gdy bliskie relacje w rodzinie czy grupie znajomych są dla nas oczywistością. Jednak ludzie nie są jedynymi organizmami, które zdolne są do tworzenia społeczności. Tę umiejętność „opanowały” nawet bakterie, które w środowisku wodnym, glebie czy zainfekowanych przez siebie tkankach, konstruują „fizycznie i socjologicznie” wielowarstwowe układy komórek. Jak wiele psychologii możemy więc wepchnąć w pojedynczą komórkę? Okazuje się, że podstawowe modele oparte na regule zysków i strat czy też ekonomii behawioralnej po przełożeniu na formuły matematyczno-logiczne znajdują zastosowanie nawet wśród tych niemal najprostszych organizmów. Z uwagi na strukturalną złożoność biofilmów niezbędna jest czasami umiejętność podziału funkcji społeczności. Wśród tak zróżnicowanej społeczności trafiają się też niemal

pasożytnicze formy komórek-oszustów, które nie wspomagają przetrwania społeczności, a czerpią zyski z jej istnienia.

Wstęp

Bakterie charakteryzuje wspólny plan budowy, który często prezentowany jest jako „podstawowa forma życia”. Często zapominamy jednak, że formy te są w stanie przetrwać w najbardziej skrajnych i niesamowitych środowiskach. Poziom złożoności biochemicznej bakterii nierzadko jest zaskakujący. Bakterie wykrywa się w kwaśnych źródłach o temperaturze dochodzącej do 90°C, na lodowych pustyniach czy głębinach oceanów w towarzystwie kominów hydrotermalnych. Komórki żyjące więc w warunkach, które zagrażają im fizycznie i chemicznie, wykształciły wiele mechanizmów obronnych. Należą do nich te, które dotyczą specyficznej struktury czy fizjologii pojedynczego organizmu: (I) pompy usuwające jony H^+ z wnętrza komórki; (II) wytwarzanie grubych pochwów śluzowych zapobiegających toksycznemu działaniu wielkocząsteczkowych związków chemicznych; (III) detoksykacja poprzez rozkład lub modyfikację związków; (IV) wytwarzanie pomp typu efflux usuwających toksyny z wnętrza komórek; (V) ochrona przed stresem oksydacyjnym z wykorzystaniem katalaz, peroksydaz i enzymów naprawiających uszkodzone białka; (VI) synteza białek stabilizujących DNA lub zwiększona ekspresja systemów naprawiających mutacje i inne uszkodzenia materiału genetycznego. Jednak błędem byłoby rozpatrywanie bakterii jedynie na poziomie pojedynczych komórek. Bakterie nie żyją w zawieszeniu w pustej przestrzeni. Intensywnie oddziałują nie tylko z otoczeniem, ale też innymi organizmami. Szczytem złożoności takich oddziaływań jest wytworzenie biofilmu.

Biofilm, czyli jak zmieścić państwo na główce od szpilki?

Pod względem strukturalnym biofilm powinno się rozpatrywać jako trójwymiarową strukturę złożoną z trzech zasadniczych komponentów: (I) komórek bakterii, (II) białkowego lub polisacharydowego szkieletu, (III) roztworu wodnego opływającego dokładnie każdy element układu, a zwłaszcza płynącego w tzw. kanałach wodnych. Formowanie się biofilmu wymaga w pierwszej kolejności adhezji pewnej puli komórek do podłoża. Bakterie korzystają wtedy ze specjalnych białek prezentowanych na ich powierzchni, a nawet całych kompleksów białkowych. Do

takich struktur należą pile/fimbrie, które stanowią długie polimery z zamocowanymi terminalnie elementami rozpoznającymi specyficzne ligandy na powierzchni. Takimi elementami mogą być inne białka prezentowane na powierzchni tkanek roślin wodnych, skorupiaków czy infekowanych zwierząt. Następnie dochodzi do agregacji komórek poprzez oddziaływania bakteria-bakteria. Po osiągnięciu pewnego progowego poziomu zagęszczenia bakterie zaczynają wytwarzać fibrylarne białka i polisacharydy, które jeszcze silniej zlepiają je w spójny układ. Szkielet ten stanowi dodatkowy punkt zaczepienia nowo napływających komórek, które zaczynają przechodzić z wolno żyjącego stanu planktonu do rozwijającego się biofilmu. Struktura ta jednak nie może rosnąć w nieskończoność. Łatwo wyobrazić sobie stan przegęszczenia, w którym komórki znajdujące się w głębokich warstwach tracą możliwość pozyskiwania pokarmu czy też tlenu. W tym momencie biofilm wymaga przemodelowania: powstają kanały wodne ułatwiające dyfuzję gazów, białek i cukrów; a fizjologicznie homogeniczne skupisko bakterii zaczyna się różnicować. Komórki przyjmują określone i wyspecjalizowane funkcje: formy zdobywające pokarm poprzez wydzielanie do środowiska odpowiednich enzymów litycznych; komórki wytwarzające przetrwalniki pozwalające na utrzymanie ciągłości lokalnej społeczności po śmiertelnym uszkodzeniu biofilmu; bakterie przystosowane do stabilizacji struktury czy też odpowiedzialne za horyzontalny transfer genów (HGT). Pewnego rodzaju hierarchizacja i powstawanie sieci ścisłych powiązań umożliwia długotrwałe przetrwanie biofilmu. Oczywiście, że na papierze system ten wygląda idealnie. Komórki wspólnie pracują na sukces, o którym stanowi lokalna dominacja w zajmowanej przez siebie niszy i dalsza dyspersja. Jednak nawet w takim układzie zdarzają się oszuści, którzy nie współpracują, a wciąż czerpią korzyści ze współżycia w biofilmie.

Kłamać jak *Vibrio cholerae*

V. cholerae jest gramujemną bakterią, której dwa serotypy (O1 – biotyp klasyczny i El Tor, O139) stanowią czynnik etiologiczny choroby układu pokarmowego – cholery. W krótkiej historii swojej epidemiologii (około 200 lat) bakteria ta wywołała 7 wielkich pandemii, z których ostatnia rozprzestrzeniła się w 1961 roku i trwała do lat 70. Po dziś dzień *V. cholerae* wywołuje lokalne wybuchy epidemii w krajach rozwijających się. Do szczególnych czynników zagrażających kolejnymi epidemiami należy brak dostępu do czystej wody, bo to właśnie woda zanieczyszczona fekaliami

stanowi główną drogę zakażenia. Ponadto, bakteria ta chętnie rezyduje na chitynie zwierząt morskich, takich jak skorupiaki (za sprawą adhezyny GbpA). Do klasycznych objawów choroby należy wodnista biegunka, która może trwać nawet kilka dni. Sonia Shah w książce „Epidemia” pisała: „Cholera zabija szybko.” Rzeczywiście, tak obfita biegunka w ciągu kilku godzin potrafi doprowadzić człowieka do skrajnego odwodnienia i zaburzenia równowagi elektrolitycznej we krwi i płynach tkankowych. Komórki *V. cholerae* zarówno w jelicie ludzkim jak i w środowisku naturalnym tworzą biofilmy, których konstrukcja indukowana jest osiągnięciem przez populację bakterii określonego zagęszczenia. W jelicie na skutek działania soli kwasów żółciowych bakterie migrują do warstwy śluzu pokrywającego nabłonek. W takich warunkach dochodzi do wytwarzania przez komórki mikrokolonii, ścisłego oddziaływania z enterocytami i wydzielania toksyn, które zwiększają przepuszczalność bariery nabłonka i wypływ jonów z komórek (a wraz z nimi wody). W środowisku naturalnym, na przykładzie wody morskiej, bakterie osadzają się na powierzchni zwierząt bezkręgowych i roślin. Wydzielana przez makroglony poliamina: $H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_3-NH_2$, po znalezieniu się w peryplazmie oddziałuje z receptorem NspS, który następnie aktywuje białko MbaA ulokowane w błonie zewnętrznej. Cały ten proces stanowi jedną z dróg aktywacji ekspresji genów związanych z adsorpcją bakterii do podłoża. Jednak jak bakterie wyczuwają zagęszczenie komórek w środowisku? Odpowiada za to mechanizm *quorum sensing*, w którym rolę czujnika odgrywają wydzielane do otoczenia autoinduktory. Zagęszczenie tych związków koreluje z zagęszczeniem samych komórek. Kaskada reakcji związanych z transdukcją odebranego sygnału ostatecznie doprowadza do aktywacji białek z grupy DGC, które syntetyzują c-di-G (czynnik indukujący zmianę fizjologii komórki z planktonicznej na osiadłą). Cała ta kaskada stanowi pewnego rodzaju automatyczną reakcję na zaistniałe warunki. Z punktu widzenia populacji utworzenie biofilmu przynosi korzyści kosztem wydatków energetycznych i ograniczeń dla poszczególnych komórek. Czy można więc zignorować ten sygnał i udawać, że nie widzi się rosnącego zagęszczenia komórek? Czy można nie odpowiedzieć na wezwanie?

Oczywiście, że tak. Kaskada reakcji na sygnał sprowadza się do dezaktywacji czynnika transkrypcyjnego HapR, który kontroluje ekspresję całej puli genów. Wśród genów ulegających wtedy wyciszeniu są te kodujące dwie proteazy: HapA i PrtV. Komórka więc pozbawia się jednego ze sposobów zdobywania aminokwasów. Jak temu zaradzić? Mutacja genu *hapR* do formy nieulegającej represji w procesie QS.

Badania laboratoryjne wykazały, że hodowla *V. cholerae* w warunkach, gdzie jedynym źródłem węgla była kazeina (białko mleka), doprowadzały do selekcji mutantów w genie *hapR*. W przypadku deficytu glukozy z większą skutecznością przeżywały więc te bakterie, które ignorowały sygnały QS i „decydowały się” na życie planktonowe.

Jak się wzbogacić na cudzej pracy? Porady od *Pseudomonas aeruginosa*

Bakterie patogenne żyją w szczególnie niebezpiecznych dla nich środowiskach. Infekowane tkanki cechują się całym arsenałem obronnym do którego należą: (I) niskie lub wysokie pH; (II) gęsty płyn stale usuwany z błon śluzowych; (III) wydzielane przez komórki nabłonkowe peptydy o właściwościach bakteriobójczych i bakteriostatycznych. Jednak prawdziwą bronią masowego rażenia jest układ immunologiczny. Zarówno komórki o właściwościach żernych (makrofagi, neutrofile, komórki dendrytyczne) jak i wytwarzające aktywne biologicznie cytokiny i przeciwciała limfocyty niezwykle skutecznie ograniczają rozwój infekcji. Lecz bakterie mają zdolność do obrony nawet przed takim systemem reakcji organizmu. Wydzielając specyficzne białka regulujące aktywność komórek eukariotycznych, mogą wygaszać reakcje układu immunologicznego poprzez np. indukcję apoptozy komórek odgrywających kluczową rolę w odpowiedzi na infekcję.