

## Quorum Sensing

İnci Başak KAYA<sup>1</sup>, Hakan YARDIMCI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara

Geliş Tarihi / Received: 18.02.2014, Kabul Tarihi / Accepted: 10.06.2014

**Özet:** Günümüzde hücreler arası iletişim ve işbirliğinin sadece ökaryotlarda olmadığı prokaryotlarda da hücreler arası iletişimin var olduğu anlaşılmıştır. Bakteriler arası bu iletişim quorum sensing (QS) olarak tanımlanmaktadır. Quorum sensing bakteriye çok hücreli organizma gibi davranma yeteneği kazandırmaktadır. Bakteriler, diğer bakteriler tarafından üretilen ve oto indükleyici olarak adlandırılan küçük hormon benzeri molekülleri spesifik deteksiyon sistemleri kullanarak uyarıcı düzeydeki konsantrasyonlarını tespit eder. Böylece gen ekspresyonlarını ve dolayısıyla davranışlarını değiştirirler. Bakteri, bu sinyal-yanıt sistemini kullanarak, popülasyon düzeyinde bireysel davranışlarını sekronize eder ve çok hücreli organizma gibi davranır. Bu makale de prokaryotik hücreler arası ve prokaryot ile ökaryotik hücreler arası quorum sensing mekanizmaları derlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Quorum sensing, prokaryot, regülön, ökaryot, iletişim.

### Quorum Sensing

**Summary:** Nowadays, cell to cell communication and co-operation has been proved to be not only found in eukaryotes, but also in prokaryotes. In bacteria, this communication is termed quorum sensing (QS). QS enables bacteria to act as multicellular organisms. Bacteria determine small hormone-like molecules termed auto inducer which produced by another bacteria by using specific detection systems. Thus, they transform gene expression, and therefore behavior. Using these signal-response systems, bacteria synchronize particular behavior on a population wide scale and function as multicellular organisms. In this article, mechanism of cell to cell communication between prokaryotic cell and prokaryote and eukaryotic cells are considered.

**Key words:** Communication, eukaryote, prokaryote, regulon, quorum sensing.

### Giriş

Yakın zamana kadar hücreler arası iletişim ve işbirliğinin sadece ökaryotlarda olduğuna inanılmaktayken, günümüzde bu durum prokaryotlarda da tanımlanmıştır. Bakteriler arası bu iletişim quorum sensing (QS) olarak tanımlanmaktadır. Quorum sensing sadece aynı türe ait hücreler arasında değil aynı zamanda farklı türler, bakteriler ve gelişmiş organizmalar arasında da gözlenmektedir. Bakteriler arası iletişim, kimyasal sinyal molekülleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Gelişmiş organizmalarda olduğu gibi bu moleküller, büyük hücre topluluklarının aktivitesinin senkronizasyonunda önemli role sahiptir. Bakterilerde bu kimyasal iletişim, "oto indükleyici" olarak adlandırılan küçük hormon benzeri moleküllere verilen yanıtı, bu moleküllerin üretimini, salınımını ve algılanması kapsamaktadır. Quorum sensing, ökaryotlar ve prokaryotlar arasında bilinen tüm farklılıkları ortadan kaldırır. Çünkü

QS, bakteriye çok hücreli organizma gibi davranma yeteneği kazandırmaktadır. Quorum sensing, bakterilerin oto indükleyici olarak isimlendirilen bu küçük kimyasal sinyal moleküllerini üretip dış ortama salması sonucu ortamdaki hücre yoğunluğunun artmasına neden olan mekanizmalar bütünü olarak da tanımlanabilir. Bakteriler spesifik tanı sistemleri kullanarak, oto indükleyicilerin minimal eşik düzeyindeki uyarıcı konsantrasyonlarını tespit eder. Böylece gen ekspresyonlarını ve dolayısıyla davranışlarını değiştirirler. Bakteri, bu sinyal-yanıt sistemini kullanarak, popülasyon düzeyinde bireysel davranışlarını sekronize eder ve çok hücreli organizma gibi davranır [10].

Quorum sensing, ilk defa 1970 yılında Nealson ve ark. (1970) tarafından *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi* biyoluminesansları araştırılırken bulunmuştur. O zamandan beri QS'in biyofilm formasyonu, virulens adaptasyonu, antimikrobiyal madde üretimi

mi, hareket, sporulasyon gibi gen düzenlenmesinin çok çeşitli mekanizmalarında rol aldığı belirlenmiştir.

## Quorum Sensing Mekanizmaları

Quorum sensing molekülleri Gram negatif bakterilerde açıl homoserin lakton (AHL), Gram pozitif bakterilerde küçük peptitler ve her iki grupta bulunabilen “oto indükleyici-2” (AI-2) olarak adlandırılan çeşitli gruplardan oluşmaktadır.

### 1. Gram Negatif Bakterilerde Quorum Sensing

Quorum Sensing sistemi, ilk olarak biyoluminesans üreten deniz bakterisi *Vibrio fischeri* de tanımlanmış ve birçok Gram negatif bakteri için paradigma olarak değerlendirilmiştir. *Vibrio fischeri*, bir kısa kuyruklu Havai mürekkep balığının (*Eupeymna scolopes*) ışık üreten organında kolonize olarak, bu organda yüksek hücre yoğunluğu oluşturmak için gelişir ve biyoluminesans için geçerli olan gen ekspresyonuna neden olur. Mürekkep balığı ise bakteri tarafından oluşturulan bu ışığı kendisinin açığa çıkmasını engelleyen bir koruma mekanizması olarak kullanır. Bu ışık üretimini sağlayan, Lusiferaz operonunun (luxICDABE) ekspresyonunu kontrol eden LuXI ve LuXR olmak üzere iki protein bulunur. LuXI oto indükleyici proteini, açıl homoserin lakton (AHL) üretilmesine neden olurken LuXR sitoplazmik oto indükleyici reseptörü ise transkripsiyonel aktivatör olarak görev yapar. Üretimi takiben AHL hücrenin içine ve dışına nüfus eder ve hücre yoğunluğunu arttırarak konsantrasyonunu da arttırır. Sinyal kritik bir konsantrasyon değerine ulaştığında AHL, LuXR tarafından bağlanır ve bu kompleks lusiferazı kodlayan operonun transkripsiyonunu aktive eder. LuxR-AHL kompleksi aynı zamanda LuxI geninin ekspresyonuna neden olur. Çünkü LuxI lusiferaz operonunda kodlanır. Bu düzenleyici durum, tüm çevreyi sinyalle doldurur. Bu şekilde oluşan pozitif geri bildirim, tüm popülasyonda QS moduna geçmeye neden olarak ışık üretir [14].

Gram negatif proteobakterilerin birçoğu LuxIR tip proteine sahiptir ve AHL sinyalleriyle iletişim kurar. Bu sistemler LuxR proteini ve AHL sinyalleri arasında var olan aşırı spesifikite gibi, ağırlıklı olarak türler arasında ki iletişim için kullanılır. LuxI tip proteinler açıl-açıl karakterdeki proteinlerin taşıdığı

belirli yağ açılı zincirleri için S-adenosilmetionin (SAM)’den metionin parçaları bağlar. Değişik uzunluktaki, çeşitli yağ açılı yan zincirleri, temel satürasyonlar ve yan zincir ekleri AHL sinyallerine dahil edilir. Bu farklılıklar sinyal spesifitesi açısından çok önemlidir. LuxI tip proteinler ile yapılan çalışmalar; her bir açıl bağlayıcı paketin belirli bir yan zincir kısmına tam olarak uyduğunu göstermektedir. Bu yapısal özellik, sinyal üretiminde spesifikite kazandırır. Bu yüzden her LuxI proteini, yüksek uyumda doğru sinyal molekülünü üretir. Biyolojik olarak ilişkili olup olmadığı bilinmemesine rağmen, çeşitli AHL’ler üreten LuxI tip proteinleri vardır. LuxR proteinlerinin yapıları, sadece kendi eşleniği olan sinyali aktive eden ve ona bağlanan, spesifik açılı bağlayıcı paketlere sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, çeşitli AHL sinyallerinin bulunduğu karışık türler içinde her tür sadece kendisine ait sinyal birikimine cevap oluşturabilir, ayırt edebilir, ölçülebilir [4,12].

### 2. Gram Pozitif Bakterilerde Quorum Sensing

Gram pozitif bakteriler iletişim kurarken modifiye oligopeptitleri QS sinyali; membrana bağlı iki komponentli sensör histidin kinazı ise reseptör olarak kullanırlar. Sinyalleşme, yanıt düzenleyici olarak adlandırılan DNA bağlayıcı transkripsiyonel düzenleyici proteinin aktivasyonunu etkileyen fosforilasyon basamağı tarafından yönetilir.

Gram negatif bakterilerin LuxIR QS sistemlerinde kullandığı mekanizmalara benzer olarak, her bir Gram pozitif bakteri, diğer bakteriler tarafından kullanılan sinyalden farklı sinyaller kullanır ve aynı kökenli reseptörler, sinyal yapılarına duyarlıdır. Bu nedenle LuxIR sistemlerinde olduğu gibi, peptit QS döngülerinin türler arasındaki iletişimi sağladığı anlaşılmaktadır. Peptit sinyalleri membranı geçemezler. Bu yüzden sinyal salınımı özel oligopeptit taşıyıcılar tarafından yönetilir. Biyokimyasal olarak, bu olaylar tam olarak tanımlanamazken QS peptitlerinin, lakton, tiolakton zincirleri, lantianis ve izopronil grupları içeren daha büyük modifiye haberci peptitlerden ayrıldığı bilinmektedir. Birçok Gram pozitif bakteri, diğer tür QS sinyalleriyle kombinasyon halinde, birden fazla peptitle iletişim kurar [1,7,14].

Peptit QS’e en ilginç örnek, insanlarda komensal olarak bulunan ancak konak dokulara

penetre olarak ölümcül infeksiyonlara yol açabilen *Staphylococcus aureus*'da bulunmaktadır. *Staphylococcus aureus*, hastalığa neden olan biyofazik bir strateji kullanır. Düşük hücre yoğunluğunda iken bakteri, bağlanma ve kolonizasyonu arttıran protein faktörlerini sentezler. Ancak yüksek hücre yoğunluğunda bu tarz özelliklerini baskılar ve disseminasyonu sağlayabilmek için gerekli olduğu düşünülen toksin ve proteazların sekresyonunu başlatır. Gen ekspresyon programlarındaki bu değişim, Agr QS sistemi ile regüle edilir. Sistem, *S. aureus*'a ait, agrD tarafından kodlanan bir otoindükleyici peptid (AIP) ile iki komponentli sensör kinaz-yanıt regülatör çifti, AgrC ve AgrA'dan oluşmaktadır. AgrB proteini ise *S.aureus*'un oto indükleyici peptitlerine tiolakton halkası ekleyerek ve çıkararak modifiye eder. AIP'nin AgrC'ye bağlanması AgrA'nın fosforilasyonuna neden olur. Fosfo-AgrA, salgılanan faktörlerin ekspresyonunun indüklendiği sırada hücre adezyon faktörünün ekspresyonunu baskılayan, RNA3 olarak adlandırılan, düzenleyici RNA'nın ekspresyonuna neden olur. Aktive olan AgrA aynı zamanda AgrBDCA'nın ekspresyonuna da neden olur. Artan AIP seviyelerinde ki bu sonuç, tüm popülasyonda düşük hücre yoğunluğundan yüksek hücre yoğunluğuna geçişi sağlamaktadır [14].

## Quorum Sensing Ağının Yapısı

Quorum sensing'e dahil olan sinyal transdüksiyon mekanizmaları, hedef genler, reseptörler ve kimyasal sinyallerin identifikasyonu, bakterilerde hücreler arası iletişimin geniş kapsamlı olarak anlaşılmasına olanak sağlamaktadır.

### 1. Paralel Quorum Sensing Döngüleri

Bakterilerin çoklu QS sinyalleri ile iletişim kurabildiği ilk kez, Gram negatif, biyoluminesans deniz bakterisi olan *V. Harveyi*'de gösterilmiştir. *Vibrio harveyi* QS sistemi üç oto indükleyici ve paralelinde üç eşlenik reseptör işleyicisinden oluşmaktadır. Diğer Gram negatif bakterilere benzer şekilde, *V.harveyi* HAI-1 olarak adlandırılan bir AHL sinyali üretir. Sentezi olan LuxM, LuxI tip enzimlere hiçbir benzerlik göstermez fakat spesifik AHL'leri oluşturmak için benzer biyokimyasal reaksiyonları katalizler. Membrana bağlı sensör histidin kinazlara (LuxN) bağlanan HAI-1, Gram pozitif QS sinyal döngülerindeki sensörlere benzerdir. İkinci

*V.harveyi* sinyali, LuxS enzim üretimi için gerekli olan ve AI-2 olarak bilinen furanosil borat diesterleridir. AI-2 LuxP proteinleri ile periplazmaya bağlıdır. LuxP- AI-2 kompleksi başka bir membrana bağlı histidin kinaz sensörü LuxQ ile etkileşim içindedir. Üçüncü *V.harveyi* sinyali, CAI-1 olarak adlandırılan, fakat identifiye edilememiş, CqsA enzimi tarafından üretilen moleküldür. CAI-1 yine membrana bağlı histidin kinaz sensörü CqsS ile etkileşim içindedir (14).

Düşük hücre yoğunluğunda oto indükleyicilerin önemli ölçüde azaldığı durumlarda da, üç sensör LuxN-LuxQ ve CqSA kinazlar gibi davranır, otofosforile olur ve fosfatı sitoplazmik protein LuxU'ya aktarır. LuxU, fosfatı DNA-bağlayan yanıt düzenleyici protein olan LuxO'ya aktarır. Fosfo-LuxO transkripsiyon faktör o54 ile birlikte Qrr1-5 olarak isimlendirilen, 5 adet düzenleyici küçük RNA [sRNA) molekülünün transkripsiyonunu aktive eder. Qrr sRNA'lar mRNA ayrılmasında rol alan ökaryotik RNA şaperonlarının Sm ailesi üyesi olan ve Hfq olarak isimlendirilen bir RNA şaperonu ile ilişki kurar. sRNA'lar Hfq ile birlikte LuxR (*V.fischeri*'nin LuxR'sine benzemeyen) olarak isimlendirilen transkripsiyonel aktivatörü kodlayan mRNA'ya bağlanır ve de-stabilize eder. LuxR lusiferaz operonu, luxCD-ABE'nin transkripsiyonunun aktivasyonu için gereklidir. Böylece, düşük hücre yoğunluğunda, LuxR mRNA'sı indirildiği için bakteri biyoluminesans özelliğini ortaya koyamaz. Yüksek hücre yoğunluğunda oto indükleyiciler, deteksiyon için gerekli olan seviyeye ulaştıkça, üç sensör kinaz olmaktan çıkıp fosfataz olurlar ve LuxO ile LuxU'dan fosfatı uzaklaştırırlar. De-fosforalize LuxO, sRNA'ların ekspresyonunu indükleyemez. Bu durum, luxR mRNA'sının translasyonunu, LuxR'nin üretimini ve biyoluminesansın ekspresyonunu sağlar. Bu yol lusiferaz kodlayan genlere ek olarak birçok geni kontrol eder [14].

### 2. Seriler Halinde Düzenlenmiş Quorum Sensing Döngüleri

Vibriolarda olduğu gibi, *Pseudomonas aeruginosa* QS döngüsü birden çok oto indükleyiciye cevap oluşturabilmektedir. Bununla birlikte, vibriolardan farklı olarak, *P.aeruginosa* düzenleyici sistemleri paralel değil seriler halinde düzenlenmiştir. *Pseudomonas aeruginosa*, kistik fibrozisli (CF) has-

talarda tahrip edici etkisiyle bilinen önemli oportunistik bir bakteridir. Quorum sensing, *P.aeruginosa* nedenli kronik solunum sistemi infeksiyonlarında oldukça önemlidir. Çünkü adezyon, biyofilm oluşumu ve virulens faktörlerinin ekspresyonunu kontrol eder. Bütün bu mekanizmalar etkenin akciğerde uzun süre kalması ve hastalığın ilerlemesi için gereklidir [11].

*Pseudomonas aeruginosa* QS ağı, LasIR ve Rh1IR olarak isimlendirilen iki LuxIR döngüsünü kapsamaktadır. Bir LuxI homoloğu olan LasI, LasR'ye bağlanan bir AHL oto indükleyicisini (3OC12-homoserin lakton) üretir. LasR-oto indükleyici kompleksi, sistemi daha ileri aşamasına aktive eden karakteristik pozitif geri bildirim döngüsünü kuran LasI'nın da bulunduğu çeşitli hedef genleri aktive eder. LasR oto indükleyici kompleksi aynı zamanda diğer QS döngülerinin kodladığı Rh1R ve Rh1I ekspresyonunu da aktive eder. Rh1I, AHL C4-homoserin laktonunu üretir. Akümüasyonu takiben, Rh1R, Rh1I yönlendirilmiş sinyaline bağlanır, bu kompleks kendi hedef genlerini aktive eder. Önemli ölçüde, LasIR sistemi her iki Rh1I ve Rh1R'yi tetiklediği için Las1IR kontrolü altındaki genlerin indüksiyonunu ve takiben LasIR kontrolü altındaki genlerin indüksiyonunu meydana getirir [14].

### 3. Yarışmacı Quorum Sensing Döngüleri

Yukarıda bahsedilen QS ağı, sinerjistik olarak davranış gösteren çoklu sinyallere dayanır. Diğer QS ağları, sinyallerden birinin diğeri üzerine antagonistik etki göstermesi şeklinde düzenlenmiştir. Örneğin, *Bacillus subtilis*, ağ düzlenmesinde görev yapan ve birbirinden ayrı iki çok özel yaşam döngüsünden birini sağlayan; kompetans (eksojen DNA'yı elde etme kabiliyeti) ve sporulasyon; iki oto indükleyici peptite sahiptir. *ComQ* tarafından işlenmiş ve saklanmış, 10 aminoasit büyüklüğünde olan *ComX* peptiti, membrana bağlı histidin sensör kinaz *ComP* tarafından saptanır. *ComX* bağlanması, DNA bağlayıcı yanıt regülatörü *ComA*'ya otofosforilasyon ve fosfat transferi için *ComP*'yi uyarır. Fosforile *ComA*, kompetans gelişimi için gerekli olan faktörleri kodlayan çeşitli genlerin transkripsiyonunu regüle eder. *Bacillus subtilis*'in kompetans ve sporulasyon faktörü olan ikinci bir oligopeptit oto indükleyici (CSF), Opp peptit taşıyıcı ile yeniden içe alınır ve sitoplazma içinde görevini yapar.

Düşük iç konsantrasyonda, CSF, RapC isimli proteine bağlanır ve *ComA*'ya bağlanan RapC'yi bozar. RapC'nin *ComA*'ya bağlanması kompetans gelişimini inhibe eder. Çünkü *ComA* tarafından DNA'ya bağlama önlenir. Böylece RapC'ye bağlanan CSF kompetans gelişimini destekler. Ancak, yüksek konsantrasyonda, içe alınan CSF, bilinmeyen bir mekanizma ile *ComP-ComA* sinyal akışını engelleyerek sporulasyonun lehine kompetans gelişimini azaltır. Aynı zamanda CSF, fosforile durumdaki Spo0F olarak adlandırılan yanıt regülatörünün RapB aracılı defosforilasyonunu inhibe ederek sporulasyonu artırır [14].

### 4. Açma Kapama Yöntemi ile Quorum Sensing Döngüleri

Yukarıda bahsedilen QS döngüleri, bakterinin düşük hücre yoğunluğunda sergilediği davranışlarının yüksek hücre yoğunluğunda farklılaşmasına izin vermektedir. Ancak, QS döngüleri, burada, bakterinin orijinal davranışlarına dönmesini takiben, belirli özellikleri arasında geçişi destekler. Hücre yoğunluğunu izlemek için, kompetans stimule peptit (CSP) olarak adlandırılan oligopeptit oto indükleyici kullanan Gram pozitif bakteri *Streptococcus pneumoniae*'de kompetans gelişimi için bir açma kapama kontrol sistemi bulunur. CSP *ComC* tarafından kodlanır. Taşıyıcı *ComAB* CSP'nin salınımını ve modifiye edilmesini sağlar. CSP, sitoplazmik yanıt düzenleyici *ComE*'ye fosfat transfer eden membrana bağlı histidin kinaz *ComD* tarafından algılanır. Bu döngü geçici bir düzende alt grup genlerin transkripsiyonunu kontrol eder. Erken eksprese olan genler CSP akümüasyonundan maksimum 6-7 dakika sonra, geç eksprese olan genler ise maksimum 9-10'uncu dakikada uyarılır. *ComAB* ve *ComCDE*'leri içeren erken eksprese olan genlerin transkripsiyonu *ComE* ile direkt olarak aktif hale gelir; artmış sinyal üretimine ve algılanmasına sebep olur. Bu pozitif geri bildirim döngüsü, bakteri kritik hücre yoğunluğuna ulaştığında etkileyici popülasyon boyutunda ortaya çıkan kompetans ile sonuçlanır. *ComE* aynı zamanda, DNA "uptake" mekanizması için temel protein kodlayıcı geç eksprese olmuş genlerin transkripsiyonunda gerekli olan *ComW*, alternatif sigma kodlayıcı gen ve *ComX*'in transkripsiyonunu aktive eder [2,14].

## 5. Konak İşaretine Yanıt Olarak Gelişen Quorum Sensing Sistemleri

*Agrobacterium tumefaciens*, tümör indükleyici (TI) plasmidinin bitki hücrelerine transferi ve entegrasyonu ile bitkilerde "crown gall" tümörüne neden olur. Tümörler, bakterinin besin yerine kullandığı, opin olarak adlandırılan molekülleri üretir. *Agrobacterium tumefaciens* QS döngüsü oldukça ilginçtir çünkü mekanizma sadece bakteri ve bitkinin her ikisinin ürettiği sinyale ihtiyaç duymaktadır. TI plasmidi mobilize olabilmek için bitkiye yakın olmaya ihtiyaç gösterir. Çünkü bu plasmid, AccR veya OccR olarak adlandırılan sitoplazmik reseptörler tarafından opinlerin algılanmasına gereksinim duymaktadır. AccR/OccR-opin bağlanması, *V.fischeri* benzeri LuxR homologu TraR ekspresyonunu uyarır. TraR, *V.fischeri* LuxI tip enzim TraI tarafından üretilen bir AHL oto indükleyicisine cevap verir. Bunun sonucu olarak, bakteri sayısı TI transferini kontrol eder. Çünkü TraR, popülasyonun infektivitesinin artmasına yol açan bakteriler arası konjugasyon ve TI plasmid replikasyonunu uyararak kendi oto indükleyicisine bağlanır. TraR aktivitesini sınırlayan anti-TraR aktivatörleri bulunmaktadır. Böylece bakteriden bakteriye, bakteriden bitkiye TI transfer oranını optimize eder [14].

## Global Kontrol: Quorum Sensing Regülönları

Genomik görüntülemenin ortaya çıkışı, dünya çapında QS'in birçok bakteride gen ekspresyonunu kontrol ettiğini göstermiştir. İki transkripsiyon görüntüleme çalışmasında, *S.pneumoniae*'da erken, geç, ertelenmiş-indüksiyon ve bastırılmış olarak kategorize edilmiş 150'nin üzerinde kompetans düzenleyici gen identifiye edilmiştir. Daha önce belirtildiği gibi, erken eksprese olan genler sinyal üretimi, dışarıya aktarım ve deteksiyon için gereklidir. Bunun yanı sıra bazı geç eksprese olan genler DNA internalizasyonu için gereklidir. Ertelenmiş genlerin çoğu bakteriyel stres yanıtıyla ilgilidir [2,8]. Yüz yirmi dört QS kontrollü genin analiz edildiği araştırmalarda, sadece 23'ünün kompetans için gerekli olduğu bulunmuştur. *Streptococcus pneumoniae* QS mutanı ve benzer streptokoklar biyofilm formasyonunu, asit toleransı, bakteriyosin üretimi

ve virulens gibi özellikleri kapsayan birden fazla defekti ortaya koymaktadır.

Diğer bir kanıt ise QS'in, regülönun 616 genlik bir parçasının belirlendiği, *P.aeruginosa*'nın transkriptom analizlerinden elde edilen büyük bir alt grup genin kontrolünü koordine ettiğinin görülmesidir. Yapılan bir çalışmada, oto indükleyicilerin eklenmesinin 222 geni baskıladığı görülmüştür [13]. Eş zamanlı yapılan başka bir çalışma da, sadece 38 tanesi baskılanmış QS kontrollü 315 hedef gen identifiye edilmiştir [9]. Farklı gelişme ve oto indüktör koşulları altında yapılan bu iki deneye rağmen, çelişkilerin nedenleri belirsizliğini korumaktadır. Daha da önemlisi, bu görüntüleme analizlerinin öncesinde, QS bastırılmış hedef genleri *P.aeruginosa*'da identifiye edilmemiştir. Benzer şekilde, *V.cholerae* QS mutantlarının transkripsiyonel analizleri tüm virulens regülönlarının (>70 gen) QS tarafından baskılandığını göstermektedir [15].

Yakın zamanda yapılan tüm genom QS çalışmaları iki önemli fikri vurgulamaktadır. İlk olarak, QS, bakteriye farklı genom çapındaki programlar arasında değişime izin verir. Bu bulgular, QS ağının karmaşıklığı göz önüne alınarak, ilkel tek hücreli organizma olarak bilinen bakterinin temelde algısını değiştirmiş; bakterinin, pek çok açıdan ökaryotik organizmalar gibi, benzer karmaşık gelişim programları geçirdiğini ortaya koymuştur. İkinci olarak, büyük bir gen grubu QS tarafından baskılanmaktadır. Bu bulgu, QS'in, grup aktivitelerinde bakteriyel katılıma sadece yararlı olan aktiviteleri başlatmasının primer fonksiyonu olduğu fikrine karşı çıkmaktadır [14].

## Bakteri Türleri Arasında Komünikasyon

Quorum sensing, gen ekspresyonunun kontrolü dışında, bakterilere kendi aralarında ve türler arasında iletişim kurmalarını sağlar. Bu kavram, *V.harveyi*'nin QS'de kullandığı sinyallerinden biri olan AI-2 oto indükleyicisi üzerine yapılan çalışma ve buluşlarla ortaya çıkmıştır. Spesifik olarak, AI-2 sentezi kodlayan LuxS, sekanslanmış bütün bakteriyel genomun kabaca yarısında bulunur. AI-2 üretimi bu türlerin birçoğunda tespit edilmiş olup çeşitli bakterilerde gen ekspresyonunu kontrol eder. Tüm bunlar bir arada bakterilerin türler arası iletişimi

için AI-2 molekülünü kullandığı hipotezini doğrular [14].

Temel hücrel metil donörü olan SAM'nin metabolizması için LuxS fonksiyon gösterir. Çeşitli substratlara metil parçasının transferi, toksik ara ürün olan S-adenosilhomosistein (SAH) üretir. LuxS bulunmayan bakteri ve ökaryotlarda, SAH hidrolaz enzimi SAH'yi adenozin ve homosisteine parçalar. Bununla birlikte, LuxS içeren bakterilerde, Pfs ve LuxS enzimleri sıralı halde etki ederek, SAH'yi adenin, homosistein ve sinyal molekülü 4,5-dihidroksi-2,3-pentonedion (DPD)'a dönüştürür [5]. DPD, bakteri türlerinin AI-2 gibi algıladıklarından farklı, ek reaksiyonlar altında yeniden düzenleme yapabilen, oldukça duyarlı bir üründür. *Vibrio harveyi* ve *S.Typhimurium*'da DPD'den elde edilmiş iki farklı sinyal kendi yapıları çözülerek, kompleksleri kristalleştirerek, kendi reseptörlerinde (LuxP için *V.harveyi* ve LsrB için *S.Typhimurium*) aktif moleküller izlenerek identifiye edilmiştir. *Vibrio harveyi*'de AI-2, 2-metil-2,3,3,4-tetrahidroksitetrahidrofur borat (S-THMF borat), *S.Typhimurium*'da AI-2, 2-metil-2,3,3,4-tetrahidroksitetrahidrofur borat (R-THMF)'dir. Bu iki açık kimyasal zincir molekülü ile DPD'nin yapabildiği gibi streokimya da iki eşit denklem ile düz zincir moleküllerinden çember bileşiklere dönüşmek mümkündür. *Vibrio harveyi* AI-2 molekülünde birkaç biyolojik rolü bilinen boronun identifikasyonu şaşırtıcıdır. Ancak, *V.harveyi*'de uygun AI-2 sinyal elementi yapmasını sağlayan boron, deniz çevresinde yüksek konsantrasyonda bulunurken, karasal çevrede düşük konsantrasyonda bulunur. Bu durum boronu, *S.Typhimurium* AI-2 sinyalinin beklenmedik komponenti yapar. Önemli ölçüde, dengeli ve hızlıca oluşan karşılıklı dönüşüm mevcuttur. Buna ek olarak, her bir molekülün konsantrasyonu boron konsantrasyonunun manipülasyonu ile değiştirilebilir. Örneğin, DPD'ye boron eklenmesi *S.Typhimurium* sinyalinde *V.harveyi* AI-2 molekülünün oluşumunu arttırmaktadır. Bu değişim biyolojik bir durumu ortaya koyar. Çünkü boron ilave edilmiş DPD *V.harveyi*'nin maksimum biyoluminesans üretmesine neden olur. Ancak aynı molekül *S.Typhimurium*'un AI-2 yanıtını inhibe eder. Buna karşılık, boron için tükenen DPD, beraberinde bulunan hasarlı *V.harveyi* AI-2 ile *S.Typhimurium* sinyal oluşumunu destekler. Bu kimya, iki bakteriyel türde

AI-2'nin, sorumlu olduğu gen ekspresyonuna olan etkisini kanıtlamıştır [6].

Bu ilk AI-2 araştırmaları gösteriyor ki, bakteri, kimyasal bir sinyal sentezlemek için korunmuş bir biyosentetik yol kullanır ve diğer DPD türevlerinin biyolojik olarak aktifliği mevcuttur. Buna ek olarak, bazı bakteriler, DPD'nin farklı türevlerinin tanımlanması için iki veya daha fazla AI-2 reseptörlerine sahiptir ve bu bakteriler her bir sinyal ile iletilen yanıtı göre belirli davranışları değiştirir. Çünkü sadece bir enzim (LuxS) birbirine dönüşebilen sinyal molekülleri için gereklidir. Bu yol, gelişen kompleks bakteriyel veri kütüphanesinin geliştirilmesi için, özel ekonomik bir metot ortaya koyabilir.

### Rhomboid: Prokaryotlar ve Ökaryotlar Arasında Ortak Kullanılan Kimyasal İletişim Mekanizması

Yeni veriler, bazı bakteri ve ökaryotik sinyal mekanizmalarının ortak bir evrimsel kökene sahip olduğunu göstermektedir. *Providencia stuartii*'nin iç membran proteini AarA, yapısı henüz tanımlanmamış hücre dışı QS sinyalini ortaya koymak için gereklidir. AarA, hücre içi bölünme, epidermal büyüme faktörü reseptör ligandının aktivasyonu ve salınım için gerekli serin proteazı olan *Drosophila melanogaster*'in sahip olduğu RHO (rhomboid protein)'nin homologudur. Rhomboid protein, *D.melanogaster*'de, sinek gözünün oluşumu ve uygun kanat gelişimini de kapsayan birçok gelişim süreci için zorunlu olan proteindir. Bu düşüncüyü destekleyici olarak, AarA ve RHO ortak sinyal fonksiyonuna sahiptir. Bunun gibi, *P.stuartii* AarA mutantında RHO'nun ekspresyonu QS sinyal defektini tamamlar. RHO/AarA'nin homologları neredeyse yaşamın tüm üç krallığında; bakteri, arkea ve ökaryotlarda bulunur. Bu durum, RHO mekanizmasının bakteriyel homologlarıyla birlikte yaygın bir şekilde korunumunu sağlar. Bu büyüleyici sonuçlar, bakteri ve gelişmiş ökaryotların ortak hücreler arası iletişimi paylaştıklarını gösterir. Ancak, RHO ve onun homologlarının alemler arası iletişimine aracılık edip edemediği belirlenmemiştir [14].

Son biyoinformatik çalışmalarda, RHO/AarA bulguları anomali değildir fakat birçok sinyalleşme mekanizması prokaryotlar ve ökaryotlar tarafından

paylaşılabilir. Vertebralılardaki hücreden hücreye sinyalleşmeye yarayan moleküllerin üretiminde yer alan enzimlerin bakterilerde homoloğu bulunur ancak bitki ve arkealarda bulunmaz. Örneğin, feniletanolamin metiltransferaz (norepinefrini epinefrine dönüşümünü katalize eden), histidin dekarboksilaz (histidini histamine katalize eden), glutamat dekarboksilaz (glutamatı  $\gamma$ -aminobutirik aside katalize eden) enzimlerini kodlayan genlerin bakterilerden ökaryotlara bir dizi horizontal gen transferi ile geçtiği hipotezi öne sürülmektedir. Bu bulgu, bakteri ve ökaryotların hücreden hücreye sinyalleşme yollarından sorumlu enzimleri paylaştıklarını göstermektedir. Prokaryotik hücreler ile ökaryotik hücreler arasındaki bu iletişimin şu anda kabul edilenden daha gelişmiş ve yaygın olabileceği düşüncesi heyecan vericidir [2].

Tüm bu bilgiler ışığında, QS'in keşfi ile türe özgü sinyal molekülleri bilirse, konakta infeksiyonun gözlemlendiği bölgeden bu moleküllerin tespitinin hastalıkların tanısında kullanılabileceği, bu moleküllerin inaktivasyonu sağlanarak ise patojenite azaltılması ile hastalıkların tedavisinde kullanılabileceği ve bu inaktivasyonu sağlayan QS inhibitörlerinin antibiyotiklere bir alternatif olabileceği, aynı zamanda QS sayesinde bazı bakterilerde ki biyoluminesans ve pigment üretme özellikleri, kanser hücrelerinin belirlenmesinde QS'in biyosensör olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

## Kaynaklar

1. Ansaldi M, Marolt D, Stebe T, Mandic-Mulec I, Dubnau D, (2002). *Specific activation of the Bacillus quorum-sensing systems by isoprenylated pheromone variants*. Mol Microbiol. 44, 1561-73.
2. Dagkessamanskaia A, Moscoso M, Henard V, Guiral S, Overweg K, Reuter M, Martin B, Wells J, Claverys JP, (2004). *Interconnection of competence, stress and CiaR regulons in Streptococcus pneumoniae: competence triggers stationary phase autolysis of ciaR mutant cells*. Mol Microbiol. 51, 1071-86.
3. Gallio M, Sturgill G, Rather P, Kylsten P, (2002). *A conserved mechanism for extracellular signaling in eukaryotes and prokaryotes*. Proc Natl Acad Sci. USA 99, 12208-13.
4. Gould TA, Schweizer HP, Churchill ME, (2004). *Structure of the Pseudomonas aeruginosa Acyl-homoserine lactone synthase LasI*. Mol Microbiol. 53, 1135-46.
5. Hornby JM, Jensen EC, Lisec AD, Tasto JJ, Jahnke B, Shoemaker R, Dussault P, Nickerson KW, (2001). *Quorum-sensing in the dimorphic fungus Candida albicans is mediated by farnesol*. Appl Environ Microbiol. 67, 2982-2992.
6. Miller ST, Xavier KB, Campagna SR, Taga ME, Semmelhack MF, Bassler BL, Hughson FM, (2004). *Salmonella typhimurium recognizes a chemically distinct form of the bacterial quorum-sensing signal AI-2*. Mol Cell. 15, 677-87.
7. Nakayama J, Cao Y, Horii T, Sakuda S, Akkermans AD, De Vos WM, Nagasawa H, (2001). *Gelatinase biosynthesis-activating pheromone: a peptide lactone that mediates a quorum sensing Enterococcus faecalis*. Mol. Microbiol. 41, 145-54.
8. Peterson SN, Sung CK, Cline R, Desai BV, Snesrud EC, Luo P, Walling J, Li H, Mintz M, Tsegaye G, Burr PC, Do Y, Ahn S, Gilbert J, Fleischmann RD, Morrison DA, (2004). *Identification of competence pheromone responsive genes in Streptococcus pneumoniae by use of DNA microarrays*. Mol Microbiol. 51, 1051-70.
9. Schuster M, Lostroh Cp, Ogi T, Greenberg EP, (2003). *Identification, timing, and signal specificity of Pseudomonas aeruginosa quorum-controlled genes: a transcriptome analysis*. J Bacteriol. 185, 2066-79.
10. Schuster M, Sexton DJ, Diggle SP, Greenberg EP, (2013). *Acyl-homoserine lactone quorum-sensing: from evolution to application*. Annu Rev Microbiol. 67, 43-63.
11. Smith RS, Iglewski BH, (2003). *Paeruginosa quorum-sensing systems and virulence*. Curr Opin Microbiol. 6, 56-60.
12. Vannini A, Volpari C, Gargioli C, Muraglia E, Cortese R, De Francesco R, Neddermann P, Marco SD, (2002). *The crystal structure of the quorum sensing protein TraR bound to its autoinducer and target DNA*. EMBO J. 21, 4393-401.
13. Wagner VE, Bushnell D, Passador L, Brooks AI, Iglewski BH, (2003). *Microarray analysis of Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing regulons: effects of growth phase and environment*. J Bacteriol. 185, 2080-95.
14. Waters CM, Bassler BL, (2005). *Quorum-sensing: cell-to-cell communication in Bacteria*. Annu Rev Cell Dev. Biol. 21, 319-46.
15. Zhu J, Miller MB, Vance RE, Dziejman M, Bassler BL, Mekalanos JJ, (2002). *Quorum-sensing regulators control virulence gene expression in Vibrio cholerae*. Proc Natl Acad Sci. USA 99, 3129-34.