

# Zjawisko *Quorum Sensing* bakterii Gram-ujemnych: cząsteczki sygnałowe i inhibitory oraz ich potencjalne zastosowanie terapeutyczne

Paulina Lipa\*

Marta Koziel\*

Monika Janczarek✉

Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin

✉ Zakład Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin; tel.: (81) 537 59 74, e-mail: mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl

Artykuł otrzymano 30 października 2017 r.  
Artykuł zaakceptowano 15 listopada 2017 r.

**Słowa kluczowe:** autoinduktory; bakterie Gram-ujemne; ekspresja genów; inhibitory; *Quorum sensing*

**Wykaz skrótów:** AI – autoinduktor; AHL – lakton N-acylo-L-homoseryny; QS – ang. *Quorum Sensing*; QQ – ang. *Quorum Quenching*; QSI – inhibitor *Quorum Sensing*

\*Paulina Lipa i Marta Koziel w jednakowym stopniu były zaangażowane w przygotowanie niniejszej pracy przeglądowej.

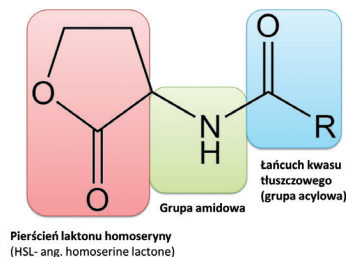
## STRESZCZENIE

*Quorum Sensing* (QS) to zjawisko chemicznego porozumiewania się komórek bakterii polegające na syntezie i wydzielaniu do otoczenia cząsteczek sygnałowych zwanych autoinduktorami, które uczestniczą w regulacji różnych procesów fizjologicznych. Zjawisko QS wykryto u wielu gatunków bakterii, w tym bakterii symbiotycznych i patogennych. Systemy QS odgrywają istotną rolę w regulacji ekspresji genów, które kontrolują m.in. ruchliwość komórek, tworzenie biofilmów oraz syntezę czynników wirulencji przez patogenne bakterie. Systemy te rozpoznają cząsteczki sygnałowe o różnej specyficzności należące do kilku grup, które zapewniają komunikowanie się komórek bakterii tego samego gatunku, jak również porozumiewanie się międzygatunkowe lub z komórkami organizmów wyższych (gospodarzy). Hamowanie działania systemów QS zwane *Quorum Quenching* (QQ) jest obecnie uważane za obiecującą strategię zwalczania infekcji bakteryjnych. Dotychczas została poznana duża liczba substancji naturalnego i syntetycznego pochodzenia o funkcji inhibitorów zjawiska QS, które mogą mieć potencjalne zastosowanie terapeutyczne.

## WPROWADZENIE

*Quorum Sensing* (QS) to mechanizm umożliwiający komunikację między komórkami bakterii, w którym dochodzi do regulacji ekspresji genów w sposób zależny od zagęszczenia komórek występujących w danym środowisku. Zjawisko QS zostało wykryte po raz pierwszy 47 lat temu u morskiej bakterii *Vibrio fischeri* [1]. Od tego czasu zjawisko QS zostało opisane u wielu gatunków bakterii, zarówno Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich [2-5]. Początkowo uważano, że mechanizm QS uczestniczy w komunikowaniu się komórek wyłącznie tego samego gatunku bakterii. Późniejsze badania wykazały, że ten mechanizm jest zaangażowany również w komunikację międzygatunkową bakterii, a nawet ich oddziaływania z organizmami wyższymi. Mechanizm QS jest zaangażowany w wiele różnych procesów komórkowych, takich jak: replikacja bakteryjnego DNA, koniugacyjny transfer plazmidów, bioluminescencja, synteza toksyn, enzymów, polisacharydów i antybiotyków oraz ruchliwość mikroorganizmów [6]. W komunikacji pomiędzy komórkami w dynamicznie zmieniającej się populacji bakteryjnej kluczową rolę odgrywają cząsteczki sygnałowe, zwane autoinduktorami (AI) [4]. Cząsteczki te przemieszczają się z cytoplazmy na drodze dyfuzji lub są aktywnie transportowane na zewnątrz komórki i wraz ze wzrostem liczby bakterii w danym środowisku dochodzi do ich akumulacji. Gdy stężenie AI przekroczy wartość progową, dochodzi do zmiany ekspresji genów i efekt metaboliczny jest obserwowany we wszystkich komórkach populacji bakteryjnej. Liczba genów kontrolowanych przez zjawisko QS jest bardzo duża i może stanowić nawet do 10% genomu bakteryjnego [7]. Wśród nich zidentyfikowano geny należące do kilku różnych grup funkcjonalnych, tj. geny niezbędne do życia i wzrostu bakterii, adaptacji do danego środowiska, horyzontalnego transferu genów, monitorowania umiejscowienia bakterii w grupie komórek (np. biofilmie), syntezy czynników wirulencji i innych składników uczestniczących w interakcji z innymi organizmami [7,8]. Molekularne mechanizmy działania zjawiska QS u poszczególnych gatunków bakterii różnią się pod względem chemicznej natury cząsteczek sygnałowych oraz sposobów wewnątrzkomórkowego przekazywania tych sygnałów. Największe różnice zaobserwowano między Gram-ujemnymi a Gram-dodatnimi bakteriami. Rolę cząsteczek sygnałowych w przypadku bakterii Gram-dodatnich pełnią oligopeptydy, powstające w wyniku trawienia większych prekursorów białkowych [2,9].

W niniejszej pracy scharakteryzowano molekularne mechanizmy działania systemów QS u Gram-ujemnych bakterii, ze szczególnym uwzględnieniem zróżnicowania strukturalnego autoinduktorów (AI) oraz inhibitorów zjawiska QS.



Rycina 1. Schemat budowy cząsteczki sygnalowej AHL. Opracowano na podstawie [10].

## BUDOWA CHEMICZNA CZĄSTECZEK SYGNAŁOWYCH ZJAWISKA QS SYNTETYZOWANYCH PRZEZ GRAM-UJEMNE BAKTERIE

W literaturze funkcjonuje podział cząsteczek sygnalowych na trzy grupy oznaczone jako: AI-1, AI-2 oraz AI-3. Najlepiej poznanymi cząsteczkami sygnalowymi wytwarzanymi przez Gram-ujemne bakterie są laktony N-acylo-L-homoseryny (AHL, ang. *acyl-homoserine lactones*). Zbudowane są one z laktonu homoseryny (HSL, ang. *homoserine lactone*), który jest podstawiony w pozycji  $\alpha$  kwasem tłuszczowym (grupa acylowa) (Ryc. 1). Cząsteczki te zostały nazwane autoinduktorami pierwszej klasy (AI-1).

Różnice strukturalne AHL syntetyzowanych przez poszczególne Gram-ujemne bakterie dotyczą przede wszystkim liczby atomów węgla wchodzących w skład kwasu tłuszczowego oraz stopnia utlenienia i liczby wiązań nienasyconych w nim występujących (Tab. 1) [10].

Długość łańcuchów kwasów tłuszczowych obecnych w AHL wynosi od 4 do 18 atomów węgla. Do najmniejszych cząsteczek AI wytwarzanych przez bakterie Gram-ujemne należą: lakton N-butyrylo-L-homoseryny ( $C_4$ -HSL), wytwarzany przez oportunistyczny patogen *Pseudomonas aeruginosa* oraz lakton N-(3-hydroksy-butyrylo-L-homoseryny (3-hydroksy- $C_4$ -HSL) syntetyzowany przez *Vibrio harveyi* [13,14]. Najczęściej spotkanymi cząsteczkami sygnalowymi zaangażowanymi w zjawisko QS są AHL zawierające od 6 do 8 atomów węgla. AHL zawierające dłuższe łańcuchy kwasów tłuszczowych (od 14 do 18 atomów węgla) posiadają również w swojej strukturze 1 lub 2 wiązania podwójne. Cząsteczki tego typu są syntetyzowane przez wiele gatunków bakterii, jak np.: *P. aeruginosa*, *Rhodobacter capsulatus*, *Escherichia coli*, *E. asburiae* i *E. cloacae* [15-18]. Wartość pH środowiska, w którym przebywają mikroorganizmy, istotnie wpływa na właściwości cząsteczek AHL. Prawidłowe funkcjonowanie AI wykazano przy wartości pH 7, które jest charakterystyczne dla ekosystemów wodnych. Obniżenie lub wzrost wartości pH o 1 do 2 jednostek powoduje zmiany konformacyjne w pierścieniu HSL, które skutkują przerwaniem ciągłości pierścienia, co w konsekwencji przyczynia się do utraty jego funkcji jako cząsteczki sygnalowej [19].

Wielkość cząsteczek AHL wpływa na sposób ich transportu z cytoplazmy na zewnątrz komórki bakteryjnej. Największe znaczenie w tym procesie ma długość łańcucha kwasu tłuszczowego. Cząsteczki AHL zawierające krótkie

łańcuchy kwasów tłuszczowych (do 6 atomów węgla) mogą swobodnie przemieszczać się na zewnątrz komórki na drodze dyfuzji. Natomiast autoinduktory, zawierające powyżej 6 atomów węgla w swej strukturze, wymagają obecności wyspecjalizowanych transporterów (np. pomp protonowych czy pompy MexAB-OprM u *P. aeruginosa*), pozwalających na ich aktywny transport przez błony komórkowe do środowiska zewnętrznego [20,21].

Przykładem cząsteczki sygnalowej klasy 2 (AI-2) jest diester boranowy furanozyli, który jako pierwszy został wykryty u *V. harveyi* (Tab. 1) [22]. W przeciwieństwie do AHL syntetyzowanych przez tę bakterię i wykorzystywanych do komunikowania się komórek bakterii tego samego gatunku, AI-2 uczestniczy w komunikacji międzygatunkowej.

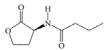
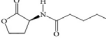
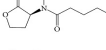
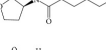
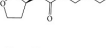
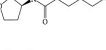
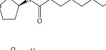
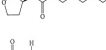
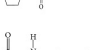
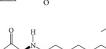

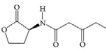
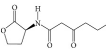
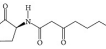
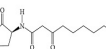
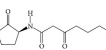
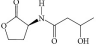
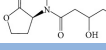


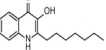
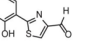
Natomiast cząsteczki sygnalowe klasy 3 (AI-3) są wykorzystywane do komunikowania się bakterii z komórkami organizmów eukariotycznych (gospodarzy), jak też bakterii należących do innych gatunków. Aktywność AI-3 została wykazana w supernatantach enteropatogenicznych szczepów *E. coli* (serogrupa O26:H11 i O111ac:H9), *Shigella* sp. i *Salmonella* sp., jak też u normalnej jelitowej flory bakteryjnej (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *E. cloacae*) [23].

## SYNTEZA AUTOINDUKTORÓW (AI)

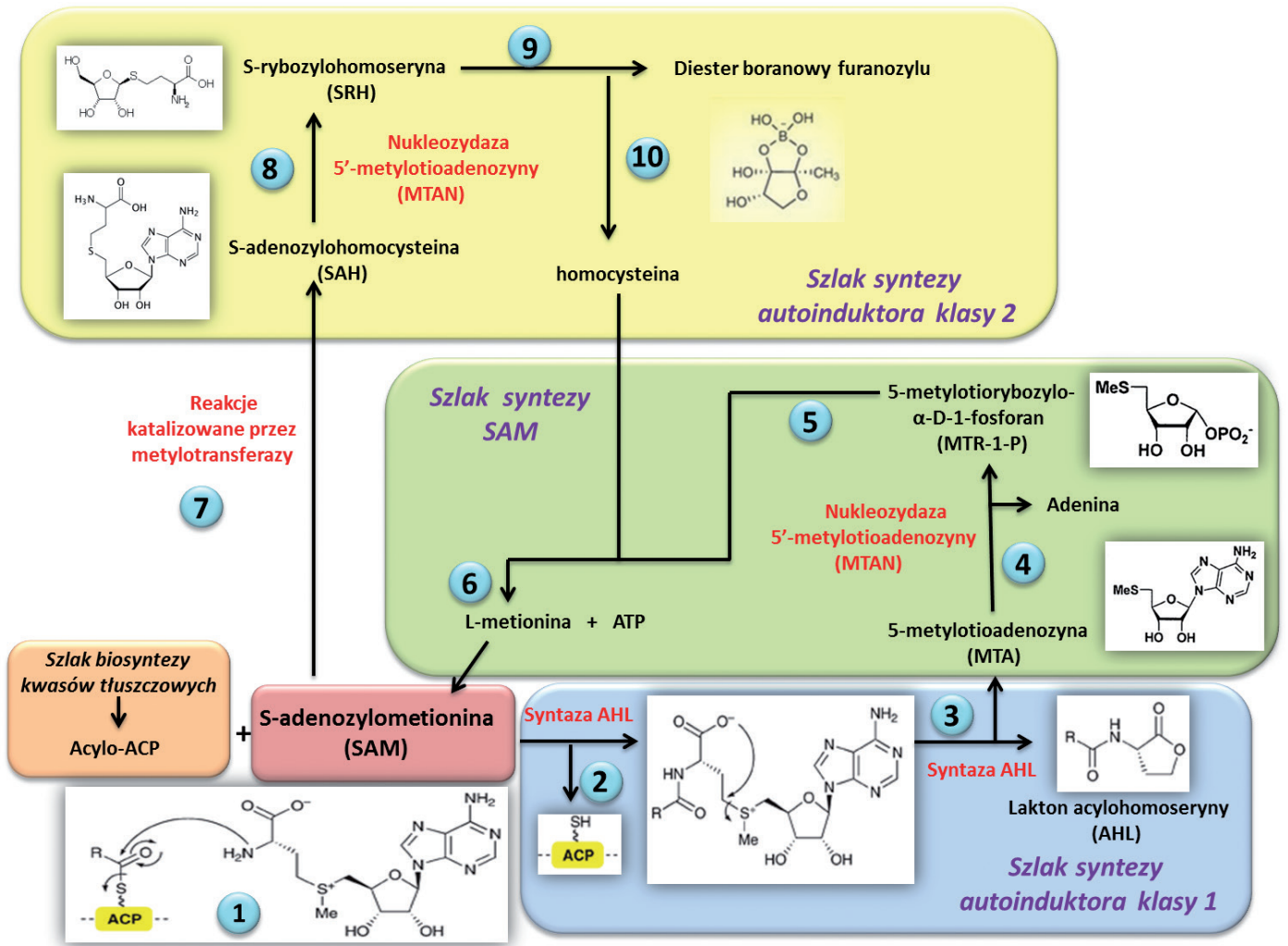
Zdolność syntezy AHL wykazano u ponad 90 różnych gatunków mikroorganizmów. Enzymy uczestniczące w syntezie AHL należą do trzech rodzin: LuxI, LuxM i HdtS [24]. Gen kodujący enzym LuxI został odkryty po raz pierwszy w operonie *lux* u *V. fischeri*. Syntazy AHL LuxI katalizują tworzenie AHL z substratów: S-adenozyl-L-metioniny (SAM, ang. *S-adenosylmethionine*) i kwasu tłuszczowego przenoszonego przez białko nośnikowe ACP (ACP, ang. *acyl carrier protein*) (Ryc. 2) [10]. Tylko kilka gatunków bakterii należących do  $\gamma$ -Proteobakterii syntetyzuje przedstawicieli drugiej rodziny enzymów należących do LuxM. Po raz pierwszy gen *luxM* kodujący tego typu białko zidentyfikowano u *Vibrio harveyi* i potwierdzono, że jest ono zaangażowane w syntezę określonych cząsteczek AHL [25]. W przypadku *V. fischeri* oraz innych pokrewnych gatunków (*Vibrio* spp.) ustalono, że enzymy VanM i AinS są również zaangażowane w syntezę określonych cząsteczek AHL i wykazują duże podobieństwo sekwencji aminokwasowej do LuxM. Wymagania substratowe tych enzymów są podobne do syntaz LuxI (SAM i acylo-ACP), ale mogą również wykorzystywać acylo-koenzym A (acylo-CoA) jako potencjalny substrat [10,25].

Pierwszy enzym należący do HdtS zidentyfikowano w szczepie *Pseudomonas fluorescens* F113 [26]. Ustalono, że białko to bierze udział w syntezie niepodstawionych cząsteczek AHL, takich jak:  $C_6$ -HSL,  $C_8$ -HSL czy  $C_{10}$ -HSL, ale również odpowiada za wytwarzanie znacznie bardziej złożonego AI, jakim jest N-(3-OH-7-cis-tetradecenoil)-HSL. HdtS wykazuje podobieństwo do acylotransferazy kwasu lizofosfatydylowego *P. fluorescens*. Enzym ten jest zdolny do wykorzystywania acylo-CoA i acylo-ACP jako substratów do acylowania kwasu lizofosfatydylowego, a jego homologi występują powszechnie u wielu bakterii i organizmów eukariotycznych. Jednakże mechanizm syntezy AHL przez HdtS jest dotychczas nieznan [10].

Tabela 1. Rodzaje i właściwości autoinduktorów (AI) syntetyzowanych przez bakterie Gram-ujemne [11,12]

| Nazwa  | Wzór  |   | Masa (g/mol) | Mikroorganizm syntetyzujący cząsteczkę sygnałową  |
|--|---|---|--------------|---|
| <b>Niepodstawione AHL</b>                                  |   |   |              |   |
| C <sub>4</sub> -HSL  | C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>  |    | 171,19       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,<br><i>Aeromonas hydrophila</i>                              |
| C <sub>6</sub> -HSL  | C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>3</sub> |    | 199,25       | <i>Burkholderia cepacia</i> ,<br><i>Serratia marcescens</i>                                 |
| C <sub>7</sub> -HSL  | C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> |    | 213,30       | <i>Serratia marcescens</i>  |
| C <sub>8</sub> -HSL  | C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub> |    | 227,30       | <i>Burkholderia cepacia</i>   |
| C <sub>9</sub> -HSL  | C <sub>13</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub> |    | 241,30       | <i>Erwinia carotovora</i>   |
| C <sub>10</sub> -HSL                                       | C <sub>14</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub> |    | 255,35       | <i>Erwinia carotovora</i> ,<br><i>Burkholderia vietnamensis</i>                             |
| C <sub>11</sub> -HSL                                       | C <sub>15</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>3</sub> |    | 269,40       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   |
| C <sub>12</sub> -HSL                                       | C <sub>16</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>3</sub> |    | 283,41       | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i>                             |
| C <sub>13</sub> -HSL                                       | C <sub>17</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>3</sub> |    | 297,40       | <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>  |
| C <sub>14</sub> -HSL                                       | C <sub>18</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>3</sub> |    | 311,46       | <i>Yersinia tuberculosis</i> ,<br><i>Proteus mirabilis</i>                                  |
| C <sub>15</sub> -HSL                                       | C <sub>19</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>3</sub> |   | 325,50       | <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>  |
| <b>3-okso-AHL</b>  |   |   |              |   |
| 3-okso-C <sub>6</sub> -HSL                                 | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub> |  | 213,20       | <i>Vibrio fischeri</i> ,<br><i>Erwinia carotovora</i> ,<br><i>Erwinia agglomerans</i>       |
| 3-okso-C <sub>8</sub> -HSL                                 | C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub> |  | 241,30       | <i>Yersinia pestis</i> ,<br><i>Escherichia coli</i>   |
| 3-okso-C <sub>10</sub> -HSL                                | C <sub>14</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>4</sub> |  | 269,34       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,<br><i>Pseudomonas putida</i> ,<br><i>Vibrio anguillarum</i> |
| 3-okso-C <sub>12</sub> -HSL                                | C <sub>16</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>4</sub> |  | 297,39       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,<br><i>Pseudomonas putida</i>                                |
| 3-okso-C <sub>14</sub> -HSL                                | C <sub>18</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>4</sub> |  | 325,44       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   |
| <b>3-hydroksy-AHL</b>                                      |   |   |              |   |
| 3-hydroksy-C <sub>4</sub> -HSL                             | C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>  |  | 187,19       | <i>Vibrio harveyi</i>   |
| 3-hydroksy-C <sub>6</sub> -HSL                             | C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub> |  | 215,25       | <i>Vibrio anguillarum</i> ,<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                |
| <b>AI-2</b>  |   |   |              |   |
| Diester boranowy furanozylu                                | C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> BO <sub>7</sub>  |  | 192,94       | <i>Vibrio harveyi</i>   |
| (2R, 4S)-2-metylo-2,3,4-tetrahydroksy-tetrahydrofuran      | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>   |  | 148,12       | <i>Salmonella enterica</i> sv. typhimurium,<br><i>Escherichia coli</i>                      |
| <b>AI-3</b>  |   |   |              |   |
| AI-3 wykazujące podobieństwo do epinefryny i norepinefryny | struktura nie zdefiniowana                      |   | ----         | <i>Escherichia coli</i> O157:H7   |
| <b>Pozostałe</b>   |   |   |              |   |
| PQS  | C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> NO <sub>2</sub> |  | 258,32       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   |
| IQS  | C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> SO <sub>2</sub>  |  | 191,21       | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   |



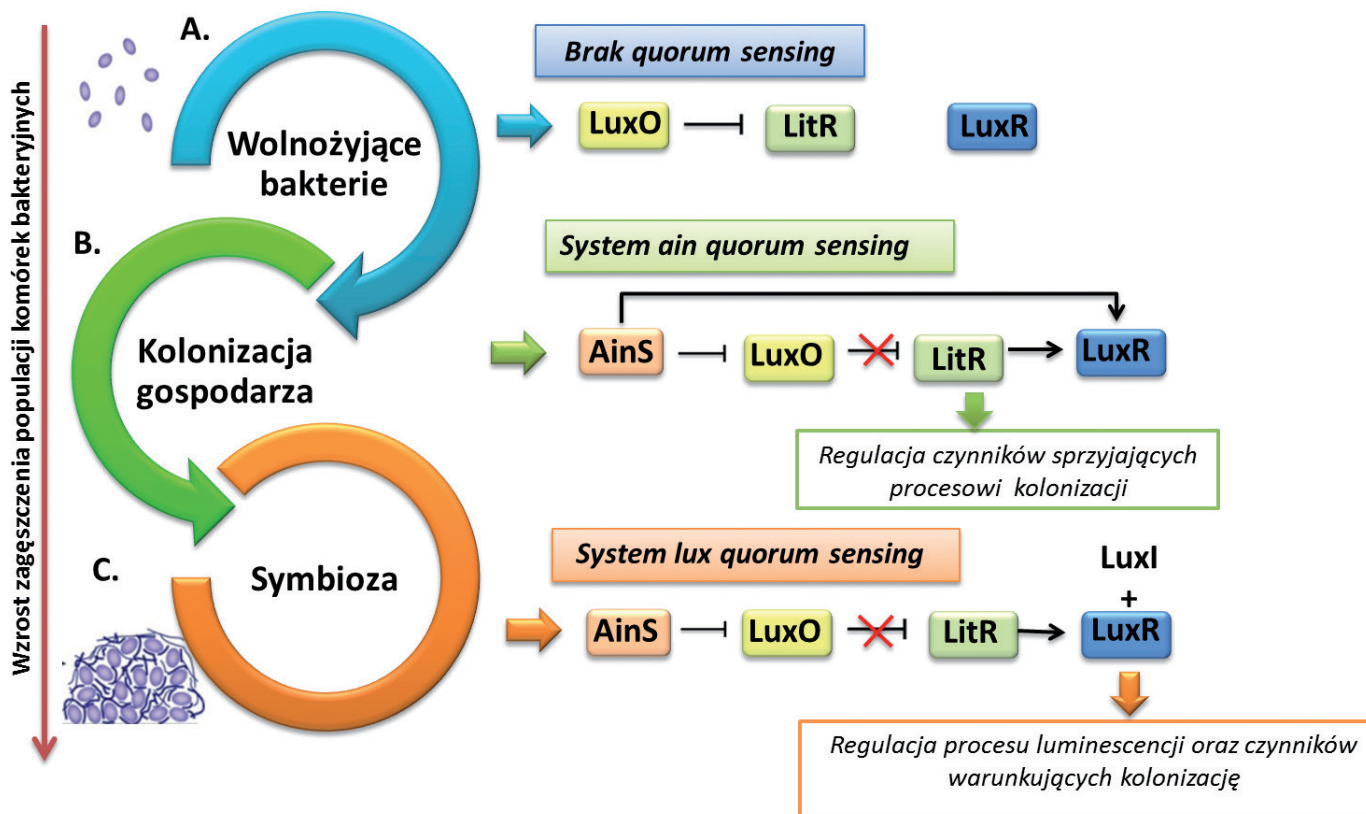


Rycina 2. Schemat syntezy AI klasy 1 i 2. Opracowano na podstawie [10,22,25,26].

Proces biosyntezy AHL wymaga obecności dwóch substratów: SAM i grupy acylowej przenoszonej przez białko ACP. SAM jest cząsteczką pełniącą istotną rolę w różnych procesach komórkowych, będąc substratem dla wielu enzymów (np. metylotransferazy i reduktazy rybonukleotydowej), niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Związek ten powstaje z połączenia L-metioniny oraz ATP i jest syntetyzowany przez adenozylotransferazę metioniny (Ryc. 2) [27]. Drugim substratem jest acylo-ACP, który zawiera białko ACP będące nośnikiem grup acylowych. ACP składa się z około 78 reszt aminokwasowych oraz grupy fosfopanteteinowej, występującej także w koenzymie A [28]. Podstawową funkcją tego białka w organizmie jest transport rosnącego łańcucha kwasu tłuszczowego pomiędzy domenami syntaz kwasów tłuszczowych (FAS, ang. *fatty acids synthase*) w czasie biosyntezy tych cząsteczek. Enzymy FAS wykorzystują grupy acylowe z acylo-ACP i ten białkowy nośnik grup acylowych bierze udział w stabilizowaniu i transporcie rosnącego łańcucha lipidowego [29].

W pierwszym etapie biosyntezy AHL, SAM jest przyłączany do centrum aktywnego syntazy AHL. Następnie grupa acylowa z acylo-ACP jest przenoszona na kompleks

SAM-syntazy AHL i dochodzi do utworzenia wiązania amidowego z grupą aminową SAM (Ryc. 1-2). W kolejnym etapie jest tworzone wiązanie estrowe w cząsteczce homoseryny, czego wynikiem jest powstanie laktonu N-acylo-L-homoseryny (AI klasy 1) oraz 5'-metylo-tioadenozyny (MTA, ang. *5'-methylthioadenosine*) jako produktu ubocznego reakcji. U wielu bakterii enzym nukleozydaza 5'-metylotioadenozyny (MTAN, ang. *5'-methylthioadenosine nucleosidase*) wykorzystuje MTA do syntezy adeniny i fosforanu 5-metylotiorybozy (MTR-1-P, ang. *5-methylthioribose- $\alpha$ -D-1-phosphate*), który jest niezbędny do syntezy SAM [30]. Część cząsteczek SAM jest wykorzystywana do syntezy S-adenozylhomocysteiny (SAH, ang. *S-adenosylhomocysteine*), która jest następnie przekształcana przez enzym MTAN w S-rybozylohomoserynę (SRH, ang. *S-ribosylhomoserine*), związek będący prekursorem tetrahydrofuranu w cząsteczkach AI klasy 2 (AI-2 jest diestrem boranowym furanozylu) [22]. Tego typu cząsteczkę sygnałową po raz pierwszy zidentyfikowano u *V. harveyi*. AI-2 są wytwarzane i rozpoznawane przez wiele bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Sygnały te są wytwarzane przez syntazy LuxS i są rozpoznawane przez dwuskładnikowe systemy transdukcji sygnału. Ze względu na wielkość tych cząsteczek są one uwalniane



Rycina 3. Schemat działania systemów QS u *V. fischeri*. Opracowano na podstawie [32-34].

do środowiska na drodze aktywnego transportu (za pośrednictwem transporterów typu ABC) [31,32].

#### MOLEKULARNY MECHANIZM DZIAŁANIA SYSTEMU QS U BAKTERII GRAM-UJEMNYCH

##### ZJAWISKO QS U *Vibrio fischeri*

*V. fischeri* to morska bakteria, która posiada zdolność nawiązywania symbiotycznych relacji z kałamarnicą *Euprymna scolopes* należąca do rodziny *Sepiolidae*. Mikroorganizm ten bytuje i namnaża się w organie świetlnym gospodarza, wyspecjalizowanej strukturze zlokalizowanej w obrębie skóry, która zawiera rozległą sieć naczyń krwionośnych i połączeń nerwowych wykazujących duże zapotrzebowanie na tlen. *V. fischeri* po adhezji do nabłonka kałamarnicy efektywnie zasiedla ten narząd gospodarza, tworząc w jego obrębie gęste skupiska bakterii. Korzystając ze składników odżywczych dostarczanych przez makrosymbionta, bakterie te uzyskują maksymalny poziom kolonizacji organu świetlnego po upływie 24 godzin od momentu zasiedlenia [33]. Wiele czynników ma wpływ na przebieg symbiozy *V. fischeri* z *E. scolopes*. Do najważniejszych z nich należy mechanizm QS, który reguluje m.in. ruchliwość komórek, proces pozyskiwania żelaza niezbędnego do kolonizacji tkanek gospodarza oraz ekspresję genów związanych z luminescencją [34]. Gdy populacja bakterii osiągnie progową gęstość, następuje ekspresja genów regulowanych przez mechanizm QS. Taka regulacja ekspresji genów czynników kolonizacji jest wyrażana tylko wtedy, kiedy jest ona korzystna dla komórek bakteryjnych (tj. po adhezji do nabłon-

ka kałamarnicy), co pozwala na unikanie kosztownych procesów metabolicznych podczas ich normalnego bytowania w środowisku wodnym [33].

Bakteria *V. fischeri* posiada dwa systemy QS: *lux* (LuxR/LuxI) i *ain* (AinS/AinR), wykorzystujące AHL jako cząsteczki sygnałowe, które odgrywają istotną rolę w symbiozie tej bakterii z kałamarnicami [33]. Cząsteczki AI-1 są syntetyzowane przez enzymy LuxI lub LuxM, a cząsteczki AI-2 przez enzym LuxS. Syntaza LuxI wytwarza 3-okso-C<sub>6</sub>-HSL, który następnie wiąże się z białkiem aktywatorowym LuxR. Powstały kompleks 3-okso-C<sub>6</sub>-HSL-LuxR oddziałuje z promotorem operonu *luxICDABEG* i indukuje ekspresję tych genów [35]. System LuxR/LuxI odpowiada za wyrażanie luminescencji w warunkach *in vivo* i utrzymanie się mikrosymbionta wewnątrz narządu gospodarza. Drugi system QS tej bakterii oparty jest na białku AinS o aktywności syntazy AHL, które należy do rodziny LuxM. Enzym ten syntetyzuje lakton N-oktanoilo-homoseryny (C<sub>8</sub>-HSL), który jest rozpoznawany przez czynnik transkrypcyjny AinR [36]. Przy niskim zagęszczeniu populacji komórek bakteryjnych znajdujących się wewnątrz organu świetlnego kałamarnicy, geny odpowiedzialne za zjawisko luminescencji podlegają represji za pośrednictwem białka LuxO, które jest negatywnym regulatorem genu kodującego transkrypcyjny regulator LitR (Ryc. 3A). Wraz ze wzrostem gęstości populacji bakterii (średnie zagęszczenie populacji) cząsteczka sygnałowa syntetyzowana przez AinS wywołuje dwa efekty: (i) indukcję ekspresji genów luminescencji poprzez jej bezpośrednie oddziaływanie z LuxR i inaktywację białka LuxO

oraz (ii) zwiększenie transkrypcji genu *litR* (Ryc. 3B). LitR pozytywnie reguluje transkrypcję *luxR* i w ten sposób białko to łączy funkcjonalnie oba systemy QS (*lux* i *ain*), umożliwiając stopniową indukcję ekspresji genów związanych z luminescencją wraz ze wzrostem gęstości populacji bakteryjnej w warunkach symbiotycznych (Ryc. 3C). System *ain* jest niezbędny do rozpoczęcia procesu kolonizacji organizmu gospodarza oraz odpowiada za ruchliwość bakterii, natomiast system *lux* zaangażowany jest dopiero w późniejszych etapach interakcji symbiotycznych. W znacznie mniejszym stopniu wpływa na proces kolonizacji i symbiozy cząsteczka typu AI-2 syntetyzowana przez syntazę LuxS [33,34,36].

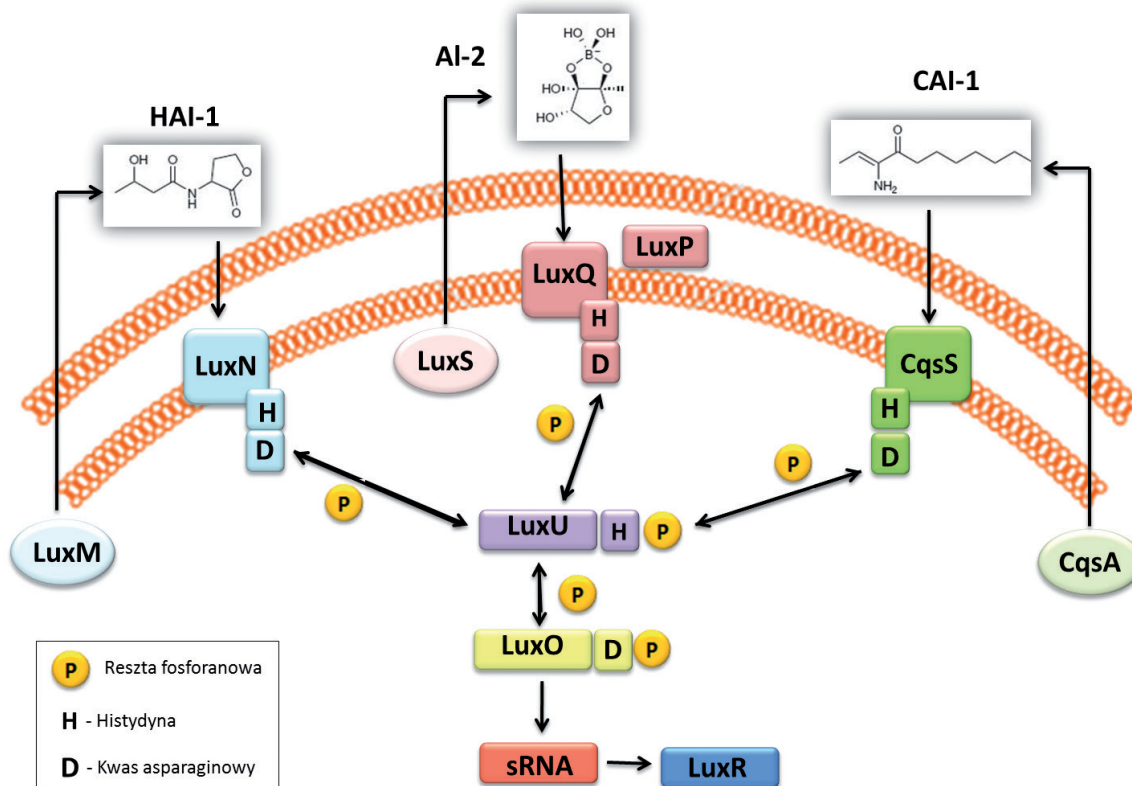
#### ZJAWISKO QS U *Vibrio harveyi*

Drugą Gram-ujemną bakterią morską zdolną do bioluminescencji jest *V. harveyi*. Ten spokrewniony z *V. fischeri* mikroorganizm posiada dużo bardziej rozbudowany system QS typu *lux* (Ryc. 4). Złożoność tego systemu polega w dużej mierze na wykorzystywaniu wielu cząsteczek sygnałowych typu AI-1 w celu regulowania procesu luminescencji. Dominującym sygnałem jest 3-hydroksy-C<sub>4</sub>-HSL (HAI-1, ang. *V. harveyi* autoinducer-1) syntetyzowany przez LuxM [37,38]. Receptorem dla tej cząsteczki jest białko LuxN, będące błonową kinazą histydynową, należącą do dwuskładnikowego systemu transdukcji sygnału. Białko to ulega autofosforylacji na skutek przeniesienia reszty fosforanowej z ATP na konserwatywną resztę histydyny (H1). W następstwie tego dochodzi do kaskadowej fosforylacji, w której reszta fosforanowa jest przenoszona z pierwszej histydyny (H1) na pierwszy kwas asparaginowy (D1) zlokalizowany w C-końcowej domenie tego białka. Następnie reszta fosforanowa

jest przenoszona na resztę histydyny H2 znajdującą się w białku LuxU, a z niego zostaje przeniesiona na resztę kwasu asparaginowego (D2) białka LuxO (Ryc. 4). Fosforylacja LuxO indukuje ekspresję genów kodujących pięć małych regulatorowych RNA (sRNA), które wraz z chaperonem Hfq wiążą się i blokują translację mRNA *luxR*. Białko LuxR *V. harveyi* nie jest członkiem rodziny białek LuxR, które występowały u *V. fischeri*, i tym samym nie ma zdolności wiązania HSL. LuxR *V. harveyi* bezpośrednio aktywuje transkrypcję genów lucyferazy i odpowiada za regulację blisko 100 innych genów [32]. Gęstość populacji komórek bakteryjnych jest w pełni skorelowana ze stężeniem HAI-1. W obecności wysokiego poziomu HAI-1 aktywność enzymatyczna LuxN ulega przekształceniu z kinazy w fosfatazę, co powoduje defosforylację LuxU, czego konsekwencją jest defosforylacja LuxO, które w tym stanie nie jest zdolne do aktywacji transkrypcji genów sRNA, w efekcie czego dochodzi do ekspresji *luxR* i syntezy lucyferazy [6,32,37,38].

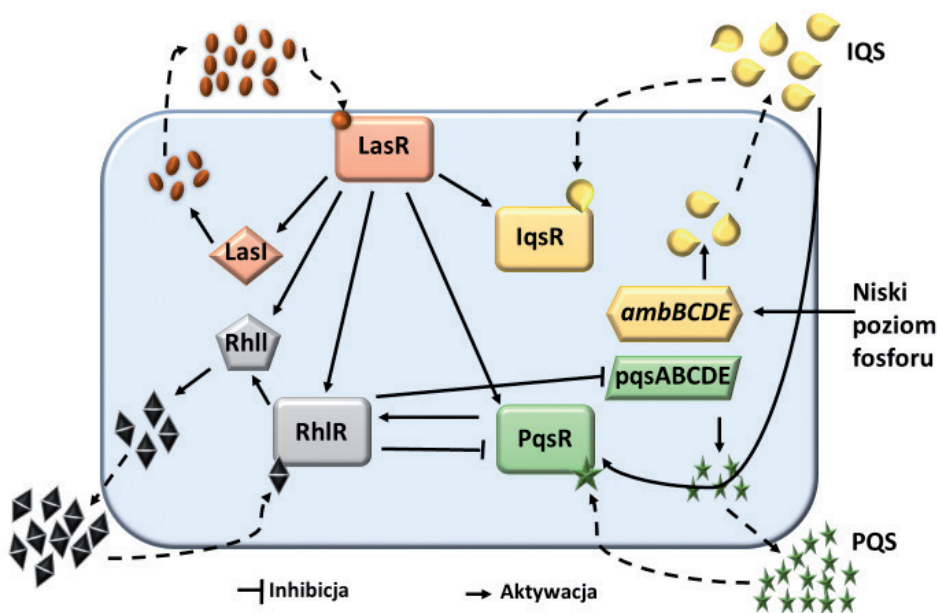
W przypadku braku HAI-1, *V. harveyi* ma nadal zdolność kontrolowania syntezy lucyferazy (i tym samym procesu bioluminescencji), za pośrednictwem cząsteczki sygnałowej typu 2 (AI-2), wytwarzanej przez syntazę LuxS (Ryc. 4) [39]. W skład drugiego systemu QS wchodzi peryplazmatyczne białko wiążące LuxP oraz kinaza histydynowa LuxQ, wykazująca podobieństwo do LuxN. Zasada funkcjonowania i regulacji tego systemu jest bardzo zbliżona do systemu QS opartego na HAI-1 [32,40].

Trzecią cząsteczką sygnałową u *V. harveyi* jest CAI-1 (ang. *cholera* autoinducer-1). Związek ten jest syntetyzowany przez większość przedstawicieli rodziny *Vibrionaceae*, co może sugerować, że pełni on rolę uniwersalnego autoinduktora w



Rycina 4. Mechanizm działania systemu QS u *V. harveyi*. Opracowano na podstawie [36-38].





Rycina 5. Schemat hierarchicznej organizacji systemów QS u *P. aeruginosa*. Opracowano na podstawie [4,46,51,52].

obrębie tej grupy bakterii. Synteza CAI-1 przeprowadzana jest przez enzym CqsA, a receptorem dla tego sygnału jest białko CqsS, stanowiące element dwuskładnikowego systemu transdukcji sygnału [41,42]. W przypadku *V. cholerae* CAI-1 to (S)-3-hydroksytridekan-4-on ( $C_{10}$ -CAI-1). Natomiast *V. harveyi* syntetyzuje podobną cząsteczkę o nieznacznie mniejszej wielkości (Z)-3-amino-undek-2-en-4-on (Ea- $C_8$ -CAI-1), która uczestniczy w regulacji procesu tworzenia biofilmu oraz syntezy czynników wirulencji [14,41,42].

#### ZJAWISKO QS U *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* jest powszechnie występującym oportunistycznym patogenem człowieka. Bakteria ta cechuje się dużymi zdolnościami adaptacyjnymi oraz opornością na liczne antybiotyki ( $\beta$ -laktamowe, aminoglikozydowe i chinolony) [43-45]. Z tych powodów *P. aeruginosa* jest jednym z najczęstszych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych, rozwijających się u pacjentów z obniżoną odpornością. Antybiotykooporność, liczne czynniki wirulencji oraz niezwykła zdolność tworzenia biofilmów przez *P. aeruginosa* powodują, że zakażenia wywołane przez ten gatunek bakterii są trudne do leczenia i często przechodzą w formę przewlekłą [46-48]. Patogen ten powoduje głównie infekcję dróg moczowych, bakteriemię oraz ostre bądź przewlekłe zakażenia układu oddechowego, występujące zwłaszcza u osób chorych na mukowiscydozę [43,47,49].

W procesie infekcji wywołanym przez *P. aeruginosa* jest zaangażowanych wiele czynników wirulencji [46,50]. Do czynników wirulencji, których synteza jest kontrolowana przez system QS należą m.in.: proteaza (*lasA*), elastaza (*lasB*), proteaza alkaliczna (*aprA*), egzotoksyna A (*toxA*), ramnozylotransferaza (*rhlAB*), piocyjanina (*phzABCDEFGF, phzM*) i lektyny (*lecA*) [46].

*P. aeruginosa* posiada cztery zorganizowane w sposób hierarchiczny i współpracujące ze sobą systemy QS: *las*, *rhl*, *pqs* oraz *iqs* (Ryc. 5) [4,46,51,52]. Na szczycie tej hierarchii znajduje się system *las*, który jest wymagany do aktywacji trzech pozostałych systemów QS.

System *las* składa się z białek LasI i LasR, natomiast system *rhl* zawiera białka RhII i RhIR. LasI i RhII to syntazy katalizujące reakcje, których produktem są specyficzne dla danego systemu QS cząsteczki sygnałowe. W przypadku *las* jest to lakton 3-okso-dodekanylo-homoseryny ( $3OC_{12}$ -HSL), natomiast dla systemu *rhl* jest lakton N-butyrylo-homoseryny ( $C_4$ -HSL) [3,4]. Wraz ze wzrostem liczności bakteryjnej populacji dochodzi do akumulacji tych cząsteczek sygnałowych w środowisku. Po przekroczeniu stężenia progowego,  $3OC_{12}$ -HSL

jest pobierany do wnętrza komórki, gdzie wiąże się z białkiem LasR, będącym aktywatorem systemu *las*. Podobną sekwencję zdarzeń obserwuje się w przypadku systemu *rhl*. Po osiągnięciu przez  $C_4$ -HSL stężenia progowego, cząsteczka ta ulega swobodnej dyfuzji do wnętrza komórki, gdzie jest rozpoznana i wiązana przez białko RhIR [3,4,54]. LasR oraz RhIR pełnią funkcję regulatorów transkrypcji. Wykazują one podobieństwo sekwencji do białka LuxR *V. fischeri*. Podobieństwo to jest szczególnie widoczne w dwóch odrębnych regionach, tj. na N-końcu i C-końcu tego białka. N-końcowa domena uczestniczy w wiązaniu specyficznego autoinduktora, zaś C-końcowa domena zawiera motyw helisa-zwrot-helisa, odpowiadający za wiązanie się tych białek do DNA. Białka z rodziny LuxR, aby funkcjonowały jako aktywatory transkrypcji, muszą ulec oligomeryzacji. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, iż zdolność tworzenia kompleksów białkowych przez LasR koreluje z jego funkcją jako aktywatora transkrypcji, przy czym multimery te powstają jedynie w obecności  $3OC_{12}$ -HSL. Nie ustalono dotychczas czy  $3OC_{12}$ -HSL inicjuje tworzenie tych form czy jedynie wpływa na ich stabilność [54].

Powstałe kompleksy LasR- $3OC_{12}$ -HSL oraz RhIR- $C_4$ -HSL wiążą się do odpowiednich sekwencji w DNA, tzw. *las*-box i *rhl*-box, obecnych w promotorach docelowych genów i aktywują ich transkrypcję [4,46,55]. Kompleks LasR- $3OC_{12}$ -HSL aktywuje transkrypcję *lasI*, co prowadzi do zwiększenia syntezy  $3OC_{12}$ -HSL. Kompleks ten indukuje również ekspresję genów *rhlR*, *rhlI* oraz aktywuje układ IQS [46]. Także w przypadku kompleksu RhIR- $C_4$ -HSL zaobserwowano występowanie dodatniego sprzężenia zwrotnego. Szacuje się, że geny kontrolowane przez te dwa systemy QS stanowią około 10% całego genomu *P. aeruginosa*. Przykłady genów regulowanych przez systemy *las* i *rhl* zostały przedstawione w tabeli 2 [4,46,55].

**Tabela 2.** Przykłady genów regulowanych przez systemy QS *P. aeruginosa*; na podstawie [46,51,56]

| System QS | Gen   | Produkt                            |
|-----------|---|------------------------------------|
| las       | lasB  | Elastaza                           |
|           | aprA  | Proteaza alkaliczna                |
|           | toxA  | Egzotoksyna A                      |
|           | rhIR  | RhIR                               |
| rhl       | lecA  | Lektyna typu I                     |
|           | lecb  | Lektyna typu II                    |
|           | rhlAB   | Ramnozylotransferazy (ramnolipidy) |
|           | hcnABC  | Syntaza cyjanowodoru               |
|           | phzA1-G1, phzM, phzS  | Piocyanina                         |
| pqs       | phnAB pqsE  | Piocyanina                         |
|           | pqsE  | Lektyny                            |
|           | pqsE  | Syntaza cyjanowodoru               |
|           | pqsE  | Ramnolipidy                        |
| iqs       | lasA  | Proteaza                           |
|           | LasB  | Elastaza                           |
|           | phzC2, phzD2, phzE2, phzF2, phzG2, phzM, phzA1, phzB1, phzS | Piocyanina                         |
|           | hcnA, hcnB  | Cyjanowodór                        |
|           | pchABCDREFG   | Piochelina                         |
|           | rhlAB   | Ramnolipidy                        |

Trzeci system QS *P. aeruginosa* – *pqs* został odkryty w 1999 r. przez Pesci i współpracowników [57]. System ten rozpoznaje dużą liczbę związków, z których najbardziej aktywną cząsteczką jest 2-heptylo-3-hydroksy-4-chinolon, określane jako sygnał PQS (PQS, ang. *Pseudomonas quinolone signal*) [46,58-60]. Geny *pqsABCDE*, *phnAB* i *pqsH* odpowiadają za syntezę tego autoinduktora. W pierwszym etapie syntezy PQS uczestniczy ligaza PqsA, która syntetyzuje antranoilo-CoA (ang. *anthraniloil-coenzyme A*). W dalszych etapach biorą udział syntazy 3-oksoacylowe, będące produktami genów *pqsBCD*. W wyniku ich aktywności powstaje 2-heptylo-chinolon (HHQ), który jest prekursorem PQS. W reakcji katalizowanej przez monooksygenazę PqsH zależną od mononukleotydu flawinowego, HHQ ulega przekształceniu do PQS. Pozostałe geny kodują białka, których rola nie została jeszcze poznana [46,55,61,62]. Xiao i współpracownicy [60] sugerują rolę PqsE w kontrolowaniu syntezy kilku czynników wirulencji, takich jak: piocyanina, lektyny, cyjanowodór i ramnolipidy. Powstały PQS po przekroczeniu stężenia progowego wiąże się ze swoistym receptorem PqsR (określanym również jako MvfR). Białko to jest regulatorem transkrypcji i odgrywa kluczową rolę w wirulencji *P. aeruginosa* [61]. Powstały kompleks PQS-PqsR moduluje ekspresję blisko 200 genów związanych z wirulencją, m.in. odpowiedzialnych za biosyntezę ramnolipidów, piocyaniny (*phnAB*), PQS (*pqsABCDE*), formowanie biofilmu, transport małych cząsteczek i odporność na stres oksydacyjny [52,55,57,63]. Badania wskazują, że również HHQ stanowi ligand dla PqsR, chociaż wiąże się z tym białkiem ze 100-krotnie mniejszym powinowactwem niż PQS. Tym samym, HHQ podobnie jak PQS, może odgrywać istotną rolę w patogenezie *P. aeruginosa* [46,60].

Aktywność genów odpowiedzialnych za syntezę PQS podlega również kontroli przez system *las*. Do syntezy PQS wymagana jest obecność 3OC<sub>12</sub>-HSL, która pozytywnie reguluje syntezę C<sub>4</sub>-HSL. Dane te sugerują, że 3OC<sub>12</sub>-HSL jest główną cząsteczką sygnałową biorącą udział w komunikacji pomiędzy komórkami *P. aeruginosa*, która wraz z LasR jest odpowiedzialna za inicjację działania całego systemu QS tej bakterii [57]. Geny *pqsR* i *pqsH* są pozytywnie regulowane przez LasR [46,59,63]. Z kolei białko RhIR hamuje ekspresję *pqsR* i *pqsA* poprzez wiązanie się z ich regionami promotorowymi [55,63].

Czwarty system QS *P. aeruginosa*, *iqs* został scharakteryzowany stosunkowo niedawno [51]. Wykorzystuje on cząsteczki sygnałowe nowej klasy, których struktura została określona jako 2-(2-hydroksyfenilo)-tiazolo-4-karboaldehydy (IQS). Za syntezę tego autoinduktora odpowiadają geny *ambBCDE*. Synteza IQS jest ściśle kontrolowana przez system *las*. W konsekwencji nieprawidłowej ekspresji *lasR*, bądź *lasI* dochodzi do całkowitego zahamowania ekspresji *ambBCDE* oraz obniżenia aktywności IQS [51]. Ponadto wykazano, że system IQS jest aktywowany w warunkach niedoboru fosforanu i może częściowo wtedy przejąć funkcję systemu *las*. IQS ma istotne znaczenie dla bakteryjnej wirulencji, co zostało wykazane na czterech różnych modelach zwierzęcych (*Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Danio rerio* oraz *Mus musculus*). O istotności tego sygnału świadczy fakt, że brak funkcjonalnego genu *ambB* obniża zjadliwość *P. aeruginosa* o około 32-40% w porównaniu do szczepu rodzicielskiego [51].

Rola QS w infekcjach wywołanych przez *P. aeruginosa* została potwierdzona w wielu badaniach na modelach zwierzęcych. Prace badawcze z wykorzystaniem mysich noworodków wykazały, iż szczep *P. aeruginosa* zawierający mutację w genie *lasR* cechuje się dużo mniejszą wirulencją w porównaniu do szczepu rodzicielskiego, który powoduje ostre zapalenie płuc [64]. Rumbaugh i współpracownicy [65,66] wykazali znaczne osłabienie zjadliwości mutantów w genach *lasI*, *lasR*, *rhl1*, przy czym największe zmiany uzyskano dla szczepu zawierającego jednocześnie mutację w dwóch genach *lasI* i *rhl1*. Li i współpracownicy [50] wykazali korelację między systemami *las* i *rhl* a zdolnością do ruchliwości komórek, tworzenia biofilmów czy syntezy piocyaniny przez szczepy *P. aeruginosa* wyizolowane od pacjentów z zapaleniem płuc [50].

#### ZJAWISKO QS U BAKTERII Z RODZAJU *Yersinia*

Bakterie z rodzaju *Yersinia* mogą bytować jako mikroorganizmy wolnożyjące w środowisku wodnym i lądowym, a także jako wewnątrzkomórkowe patogeny człowieka. Są one czynnikiem etiologicznym takich chorób jak: zapalenie jelita grubego, zapalenie jelita krętego czy krezkowe zapalenie węzłów chłonnych [67]. Bakterie te dostają się do organizmu gospodarza drogą pokarmową (na skutek spożywania skażonej żywności) lub przez krew w wyniku bezpośredniej inokulacji mikroorganizmów. W adaptacji do zmieniających się warunków bytowania i patogenności tych bakterii istotną rolę pełnią takie czynniki wirulencji jak: białka zewnątrzkomórkowe, inwazyjne oraz ruchliwość komórek.



Ekspresja genów odpowiedzialnych za syntezę tych czynników jest ściśle skorelowana z warunkami środowiskowymi, w jakich egzystuje patogen. Kluczową rolę w tym procesie odgrywa zjawisko QS [68]. Wszystkie patogenne dla człowieka gatunki *Yersinia*: *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* oraz *Y. pestis* wytwarzają cząsteczki sygnałowe w postaci AHL ( $C_6$ -HSL oraz 3-okso- $C_6$ -HSL), które biorą udział w regulacji ekspresji genów dla czynników wirulencji, a także syntezie metabolitów wtórnych i tworzeniu dojrzałego biofilmu [69]. System QS u *Yersinia* oparty jest na elementach wykazujących podobieństwo do białek systemów *lux*: YenI, będącego odpowiednikiem syntazy LuxI i odpowiadającym za syntezę cząsteczki sygnałowej oraz regulatora YenR podobnego do białka LuxR. W przypadku *Y. pseudotuberculosis* opisano dwa systemy QS typu *lux* nazwane *ypsR/ypsl* oraz *ytlR/ytlI*, które warunkują fenotyp patogenu zależny od temperatury, związany z ruchliwością jego komórek. Wykazano zwiększoną ruchliwość komórek mutantów *ypsR* i *ypsl*, co było spowodowane zwiększoną ekspresją genu kodującego główną flagelinę w tych szczepach [70].

#### ZJAWISKO QS U BAKTERII Z RODZAJU *Serratia*

Komensalne bakterie z rodzaju *Serratia* stanowią część naturalnego mikrobiomu człowieka, a ich patogenność zależy przede wszystkim od stopnia upośledzenia funkcjonowania układu odpornościowego gospodarza. Najczęstszymi infekcjami wywołanymi przez te mikroorganizmy są zakażenia dróg moczowych oraz zapalenia spojówki i rogówki u osób z osłabioną odpornością. *S. marcescens* jest jednym z czynników etiologicznych wielu zakażeń szpitalnych spowodowanych pooperacyjnymi zakażeniami ran u pacjentów oraz lekoopornością na szereg antybiotyków i dużą opornością na preparaty dezynfekujące [71]. U bakterii z rodzaju *Serratia* wykryto cztery systemy QS typu LuxI/LuxR: SwrI/SwrR (*S. liquefaciens*), SmaI/SmaR (*Serratia* sp. ATCC 39006), SprI/SprR (*S. proteamaculans*) oraz SpnI/SpnR (*S. marcescens* SS-1). Dotychczas najlepiej poznanym systemem jest SpnI/SpnR, który odpowiada za regulację migracji bakterii niezależną od rzęsek, a także syntezę niektórych czynników (prodigiozyny, biosurfaktantu i nukleazy). Białko SpnI będące odpowiednikiem syntazy LuxI syntetyzuje co najmniej cztery rodzaje AHL (m. in.  $C_6$ -HSL,  $C_7$ -HSL,  $C_8$ -HSL oraz 3-okso- $C_6$ -HSL). W przeciwieństwie do większości innych homologów LuxR, SpnR działa jako negatywny regulator i jego działanie jest hamowane przez 3-okso- $C_6$ -HSL [72,73].

#### ZJAWISKO QS U *Escherchia coli*

Kolejnym gatunkiem wykorzystującym zjawisko QS w kontroli ekspresji genów czynników wirulencji jest ludzki patogen *E. coli*, który powoduje głównie infekcje układu pokarmowego. Bakteria ta posiada trzy systemy QS. Pierwszy z tych systemów wykorzystuje białko SdiA należące do rodziny LuxR, które posiada zdolność wiązania cząsteczek AHL wytwarzanych przez inne gatunki bakteryjne (np. *Y. enterocolitica*). Dzięki temu system ten zapewnia komunikację między różnymi gatunkami bakterii [74,75]. Szczep *E. coli* (jak również *Salmonella*) nie mają homologa genu *luxI* i nie syntetyzują własnych AHL. SdiA jest najsilniej aktywowany przez sygnały 3O-AHL posiadające łańcuchy

o długości od 6 do 8 atomów węgla [75]. Pierwotnie rola tego AI została potwierdzona w regulacji ekspresji genów *ftsQAZ* biorących udział w podziałach komórkowych *E. coli* [75,76]. Wykazano także negatywną rolę tego sygnału w regulacji ekspresji genów czynników wirulencji EHEC (tj. intiminy oraz EspD). Nadekspresja genu kodującego SdiA przyczynia się także do hamowania ruchliwości komórek tej bakterii [77]. Natomiast w niepatogennych szczepach *E. coli* ten AI w połączeniu z indolem uczestniczy w regulacji procesu tworzenia biofilmu [78].

Kolejnym systemem QS u *E. coli* jest LsrR/LuxS, w którym rolę AI pełni diester boranowy furanozyli, cząsteczka należąca do klasy AI-2, pierwotnie zidentyfikowana jako sygnał u *V. harveyi* [79]. Wraz ze wzrostem stężenia tego AI w środowisku, dochodzi do jego związania przez białko LsrB zlokalizowane w przestrzeni peryplazmatycznej bakterii, a następnie transportu do wnętrza komórki [80]. Ta cząsteczka sygnałowa wykazuje największą aktywność w fazie wykładniczej bakteryjnego wzrostu, po czym następuje gwałtowne obniżenie jej aktywności w pierwszych etapach fazy stacjonarnej. Zanikanie aktywności jest konsekwencją wychwytu tego AI przez transportery typu ABC (Lsr) wiążące ATP, których aktywność jest regulowana przez syntazę typu LuxS [79,81]. Białka transporterowe są kodowane przez geny znajdujące się w operonie *lsrABCD*, który podlega represji katabolicznej z udziałem kompleksu białka CRP z cyklicznym AMP (CRP-cAMP) [82]. Kompleks ten wiąże się do motywu CRP-box zlokalizowanego w promotorze operonu *lsr* i „współpracuje” z represorem LsrR w regulacji wychwytu AI-2 [79,82]. W wyniku fosforylacji AI-2 przez cytoplazmatyczną kinazę LsrK dochodzi do aktywacji tej cząsteczki. Następnie wiąże się ona z LsrR, powodując jego inaktywację, co w konsekwencji prowadzi do derepresji transkrypcji genów *lsr*. W rezultacie dochodzi do zwiększenia pobierania sygnału typu AI-2 ze środowiska [83]. Rola AI-2 w patogenezie *E. coli* nie jest do końca poznana. Dotychczasowe prace badawcze wskazują, iż ten AI wpływa na ekspresję genów odpowiedzialnych za ruchliwość oraz funkcjonowanie systemu sekrecji typu III, który jest jednym z najistotniejszych czynników wirulencji enterokrwotocznych oraz enteropatogennych szczepów *E. coli* (EHEC). Jednak badania przeprowadzone przez Sperandio i współpracowników sugerują, że inna cząsteczka sygnałowa, zaklasyfikowana do trzeciej grupy (AI-3), dodatkowo bierze udział w tych procesach [84-87].

Ustalono, że białko LuxS odpowiada za regulację ekspresji genów systemu sekrecji typu III, który jest niezbędny do wywołania zmian typu A/E (ang. *Attaching and Effacing*) [88]. Badania prowadzone na szczepie *E. coli* O157:H7 wykazały, iż LuxS jest globalnym regulatorem kontrolującym ekspresję ponad 400 genów zaangażowanych w patogenezę i metabolizm komórki [84]. Wśród genów regulowanych przez LuxS są geny położone na wyspie patogenności LEE (ang. *Locus of Enterocyte Effacement*). Na podstawie uzyskanych danych założono, iż fenotyp mutantu LuxS jest konsekwencją braku cząsteczki sygnałowej AI-2. Jednak Sperandio i współpracownicy [86] wykazali, że AI-2 nie jest odpowiedzialny za regulację genów LEE, gdyż mutant ten nadal posiadał zdolność wywoływania zmian typu A/E. Sugerowało to, że ekspresja wymienionych genów jest re-

gulowana przez inną niż AI-2 cząsteczkę sygnałową, którą nazwano AI-3 [86,87]. Struktura i szlak syntezy tego sygnału nie została dotychczas poznana. Sugeruje się, że cząsteczka ta może być podobna strukturalnie do epinefryny(epi)/norepinefryny (NE), gdyż hormony te mogą skutecznie zastąpić AI-3 w regulacji ekspresji genów wirulencji. Efekt działania epi/NE oraz AI-3 może być hamowany poprzez antagonistów receptorów adrenergicznych [86,87]. AI-3 została po raz pierwszy opisana w szczepach *E. coli* EHEC jako związek, który aktywował ekspresję genów zaangażowanych w kolonizację oraz proces rearanżacji aktywny w komórkach eukariotycznych [86]. Kolejne badania wykazały, że również wiele bakterii komensalnych, takich jak niepatogenne szczepy *E. coli* czy *E. cloacae*, a także patogenne gatunki *Shigella* sp., *Salmonella* sp. i *Klebsiella* sp., syntetyzują cząsteczki typu AI-3. Sugeruje to, że AI-3 może pełnić funkcję sygnału, który umożliwi międzygatunkową komunikację bakteria-bakteria, ale także komórka bakteryjna-gospodarz [86]. Rozpoznanie AI-3 odbywa się przy udziale dwuskładnikowego systemu transdukcji sygnału składającego się z białka QseC o funkcji kinazy histydynowej i regulatora odpowiedzi QseB. QseC jest bakteryjnym receptorem adrenergicznym, który bezpośrednio oddziałuje z AI-3 i epi/NE. W obecności peryplazmatycznego AI-3, QseC ulega autofosforylacji, a następnie przenosi resztę fosforanową na QseB, który aktywuje geny odpowiedzialne za biosyntezę rzęsek i ruchliwość komórek typu „swimming”, syntezę toksyny Shiga oraz geny kodujące system QseEF zaangażowany w powstawanie zmian typu A/E [23,89-91]

## INHIBITORY ZJAWISKA QS (QSI)

Już w 2014 roku Światowa Organizacja Zdrowia ogłosiła, że wizja ery postantybiotykowej może być jednym z najważniejszych zagrożeń XXI wieku. Obecnie łagodne infekcje mogą stać się w przyszłości przyczyną poważnych komplikacji zdrowotnych, a nawet śmierci wielu ludzi. Dlatego tak ważne jest poszukiwanie nowych metod leczenia infekcji bakteryjnych. Okazuje się, że jedną z takich alternatywnych terapii może być zastosowanie związków będących inhibitorami systemów QS, występujących u wielu gatunków wielolekoopornych bakterii, które są przyczyną śmierci około 16 milionów pacjentów rocznie. Jedną z cech tych mikroorganizmów jest m.in. zdolność tworzenia biofilmów, w którym to procesie istotną rolę odgrywają systemy QS. Patogeny żyjące w tej wyspecjalizowanej strukturze wykazują znacznie większą odporność na środki przeciwbakteryjne niż ich odpowiednie formy planktoniczne [92]. Przeprowadzono liczne prace doświadczalne mające na celu identyfikację czynników wpływających na zaburzenie prawidłowego funkcjonowania biofilmów bakteryjnych. Efektem tych badań było odkrycie wielu naturalnych oraz syntetycznych związków mających zdolność wyciszania systemów QS, co jest określane angielskim terminem *quorum quenching* (QQ) [92].

Efektywny inhibitor systemu QS (QSI) powinien: (i) być cząsteczką o małej masie, wykazującą zdolność do efektywnej redukcji ekspresji genów regulowanych przez zjawisko QS, (ii) wykazywać wysoką specyficzność w stosunku do konkretnego autoinduktora, (iii) cechować się brakiem toksyczności względem komórek gospodarza i (iv) nie oddzia-

ływać z elementami szlaków metabolicznych występującymi w organizmie gospodarza [9,92]. Terapie ukierunkowane na działanie systemów QS są dużo korzystniejsze w porównaniu do tradycyjnych strategii terapeutycznych, gdyż wpływają one jedynie na mechanizm komunikacji bakteryjnej. Konsekwencją tego jest redukcja tempa nabywania odporności przez bakterie na środki przeciwbakteryjne.

Aktywność systemów QS może być modulowana przez związki, które: (i) hamują syntezę AHL (np. poprzez blokowanie działania białek typu LuxI), (ii) inaktywują lub degradują AI lub (iii) blokują tworzenie się kompleksów cząsteczki sygnałowej z jej receptorem [93-94]. Syntazy typu LuxI katalizują reakcję syntezy AHL, w której jednym z substratów jest SAM, będący związkiem niezbędnym do produkcji tych AI. Zastosowanie różnorodnych analogów SAM stanowi skuteczny mechanizm blokowania syntezy AHL. Podobny efekt można uzyskać przez zastosowanie analogów nukleotydów purynowych czy pochodnych laktonów homoseryny. Degradacja AHL prowadząca do zakłócenia szlaku komunikacji bakteryjnej jest zwykle przeprowadzana w sposób chemiczny, enzymatyczny, bądź metaboliczny. Natomiast blokowanie oddziaływania LuxR-AHL jest najczęściej powodowane przez cząsteczki będące antagonistami AHL zdolnymi konkurować z tymi cząsteczkami sygnałowymi o miejsce wiązania w receptorze [95].

Wśród inhibitorów systemów QS wyróżniamy naturalne związki wytwarzane przez różne organizmy oraz szereg substancji pochodzenia syntetycznego [92,96].

## INHIBITORY ZJAWISKA QS NATURALNEGO POCHODZENIA (QSI) QSI SYNTETYZOWANE PRZEZ MORSKIE ORGANIZMY

Pierwsze związki pełniące funkcje QSI wykryto wśród substancji wytwarzanych przez różne morskie bakterie, grzyby, glony, koralowce i gąbki. Wśród nich, najbogatszym źródłem biologicznie aktywnych i strukturalnie unikatowych cząsteczek są morskie cyanobakterie (Tab. 3). Przykładem związków zaliczanych do tej grupy QSI są halogenowane furanony wytwarzane przez *Delisea pulchra*. Związki te wykazują strukturalne podobieństwo do krótkołańcuchowych AI i są określane mianem kompetycyjnych analogów AHL. Zakłócają one prawidłowy przebieg zjawiska QS poprzez konkurowanie ze swoistymi cząsteczkami sygnałowymi o miejsce wiązania w receptorze. Badania bezpośrednich interakcji pomiędzy halogenowanymi furanonami a białkiem LuxR wykazały, że związki te hamują ekspresję genów zależną od AHL poprzez przyspieszenie tempa degradacji tego aktywatora transkrypcyjnego. W rezultacie związki te skutecznie hamują tworzenie biofilmu bakteryjnego [93,94]. Halogenowane furanony hamują działanie systemów QS u wielu gatunków bakterii (m.in. *V. harvei* i *P. aeruginosa*). Jednakże związki te w wyższych stężeniach wykazują toksyczność względem komórek gospodarza [94].

Innym przykładem glonu morskiego będącego źródłem QSI jest *Laminaria digitata*. Wytwarza ona peroksydazę inaktywującą AHL (3O-C<sub>6</sub>-HSL) w procesie oksydacji [93]. Głon *Ahnfeltopsis flabelliformis* jest producentem betonicyny, kwasu izotioionowego oraz floridozydu, których synergistyczne

działanie skutecznie hamuje aktywność systemu QS u *Agrobacterium tumefaciens* (Tab. 3) [97,98].

#### INHIBITORY ZJAWISKA QS POCHODZENIA ROŚLINNEGO

Ze względu na występujące w strukturze chemicznej podobieństwa do AHL oraz zdolność degradacji białkowych regulatorów transkrypcyjnych (LuxR/LasR), związki roślinne uważane są za jedną z najważniejszych grup QSI [92]. Wykazano, że związki te występują powszechnie w licznych gatunkach warzyw, owoców czy ziół i są zdolne do hamowania procesów, których aktywność jest regulowana przez systemy QS. Mimo licznych badań, których celem było poszukiwanie nowych środków terapeutycznych i antybakteryjnych pochodzenia roślinnego, mechanizm działania wielu z nich nie został jeszcze dokładnie poznany [99].

Największą grupę inhibitorów systemów QS pochodzenia roślinnego stanowią flawonoidy, zaliczane do metabolitów wtórnych i odgrywające istotną rolę jako antyoksydanty, czynniki przeciwnowotworowe i przeciwzapalne. Przedstawicielami tej grupy są m.in: kwercetyna, apigenina, naringenina i kempferol, które hamują działanie

systemów QS wykorzystujących sygnał HAI-1 *Vibrio* sp., bioluminescencję zależną od AI-2 u *V. harveyi* oraz tworzenie biofilmu przez *E. coli* 0157:H7 i *V. harveyi* [92,100]. Badania Truchado i współpracowników [101] przyczyniły się do wykazania znaczącej roli flawanonów w wyciszaniu bakteryjnych systemów QS. Udowodniono, że ekstrakt z pomarańczy bogaty w O-glikozylowane flawanony (takie jak: naringenina, hesperydyna, neohesperydyna), w znaczący sposób obniża poziom AHL wytwarzanych przez *Y. enterocolitica* oraz hamuje zdolność tej bakterii do tworzenia biofilmu. Związki te modulują procesy regulowane przez system QS w sposób zależny od ich stężenia i rodzaju komórki bakteryjnej [101]. Oprócz pomarańczy, także inne jadalne rośliny i owoce zawierają QSI. Wodne ekstrakty z ananasa zwyczajnego (*Ananas comosus*), pigwicy właściwej (*Manilkara zapota*) oraz banana zwyczajnego (*Musa paradisiaca*), w znaczący sposób obniżają syntezę piocyjaniny, elastazy, proteazy oraz hamują tworzenie biofilmu przez *P. aeruginosa* [102]. Ekstrakty pochodzące z niektórych odmian jabłek wykazują zdolność wyciszenia aktywności systemu QS, głównie ze względu na obecność w nich polifenoli, takich jak: kwasy hydroksycynamonowe, rutyny czy epikatechiny. Wykazują one synergistyczne działanie przeciwko *C. violaceum* (Tab. 3) [99].

Tabela 3. Przykłady naturalnych inhibitorów bakteryjnych systemów QS

| Inhibitor  | Producent                            | Bakterie na które działa inhibitor   | Mechanizm działania  | Piśmiennictwo          |
|--|--------------------------------------|--|--|------------------------|
| Halogenowane furanony  | <i>Delisa pulchra</i>                | <i>P. aeruginosa</i><br><i>V. fischeri</i><br><i>V. harveyi</i><br><i>E. coli</i><br><i>S. liquefaciens</i><br><i>P. mirabilis</i> | Konkurencja z AHL o miejsce wiązania w receptorze; hamowanie tworzenia biofilmu                                | [94]<br>[119]<br>[120] |
| Peroksydaza  | <i>Laminaria digitata</i>            | <i>C. violaceum</i>  | Inaktywacja 3O-C <sub>12</sub> -HSL przez oksydację  | [121]                  |
| Betonicyna<br>Kwas izotionowy<br>Floridozyd                        | <i>Ahnfeltiospsis flabelliformis</i> | <i>A. tumefaciens</i>  | Blokowanie systemu QS  | [97]<br>[98]           |
| Kurkumina  | <i>Curcuma longa</i>                 | <i>P. aeruginosa</i>   | Hamowanie ekspresji genów wirulencji   | [105]                  |
| Aldehyd cynamonowy   | <i>Cinnamomum Scheffer</i>           | <i>Vibrio</i> spp.   | Hamowanie aktywności AI-2, syntezy proteaz i pigmentu oraz tworzenia biofilmu                                  | [117]<br>[118]         |
| Ekstrakt z goździkowca korzennego                                  | <i>Syzygium aromaticum</i>           | <i>P. aeruginosa</i>   | Obniżenie wzrostu rozpełzliwego (swarming); obniżenie syntezy piocyjaniny                                      | [115]                  |
| Limonen  | <i>Citrus reticulate</i>             | <i>P. aeruginosa</i>   | Hamowanie tworzenia biofilmu   | [122]                  |
| Karwakrol<br>Tymol   | <i>Thymus vulgaris</i>               | <i>P. fluorescens</i>  | Zmniejszenie ruchliwości i syntezy AHL   | [123]                  |
| Kwas elagowy   | <i>Terminalia chebula</i>            | <i>B. cepacia</i>  | Hamowanie tworzenia biofilmu   | [110]                  |
| Kwas rozmarynowy   | <i>Ocimum basilicum</i>              | <i>P. aeruginosa</i>   | Hamowanie tworzenia biofilmu, syntezy proteazy i elastazy  | [114]                  |
| Ajoen  | <i>Allium sativum</i>                | <i>P. aeruginosa</i>   | Obniżenie syntezy ramnolipidów i proteazy przez oddziaływanie z RhIR; obniżenie aktywności C <sub>4</sub> -HSL | [124]                  |
| Ekstrakt z owoców <i>C. spinosa</i> (pochodne fenolowe i waniliny) | <i>Capparis spinosa</i>              | <i>P. aeruginosa</i><br><i>E. coli</i><br><i>S. marcescens</i><br><i>C. violaceum</i><br><i>P. mirabilis</i>                       | Obniżenie syntezy wiołaceiny i egzopolisacharydu; hamowanie tworzenia biofilmu                                 | [113]                  |
| Flawan-3-ole (katechiny)   | <i>Combretum albiflorum</i>          | <i>P. aeruginosa</i>   | Hamowanie wytwarzania piocyjaniny, aktywności elastazy i tworzenia biofilmu                                    | [125]                  |



Inhibitorami bakteryjnych systemów QS są również furukumaryny, substancje naturalnie występujące w grejpfrucie, które hamują w ponad 95% aktywność systemów QS AI-1 oraz AI-2 u *V. harveyi* oraz tworzenie biofilmu przez *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa* i *S. typhimurium* [103].

Ważnymi producentami QSI są również liczne gatunki warzyw. Lee i współpracownicy [104] wykazali, że składniki ekstraktu z brokuła w istotny sposób hamują ekspresję genów regulowanych przez system QS, co przyczynia się do osłabienia wirulencji szczepu *E. coli* O157:H7 [104]. Ponadto, rośliny z rodziny *Brassicaceae* (m.in. brokuł, kalafior, kalarepa, jarmuż) wytwarzają sulforafan, który jest silnym inhibitorem regulatora transkrypcji LasR oraz wykazuje aktywność antagonistyczną wobec naturalnych AI. Właściwości te zostały potwierdzone w przypadku *P. aeruginosa* [94].

Źródłem substancji biorących udział w mechanizmie QQ są także byliny z rodziny imbirowatych, których przedstawicielem jest ostryż długi (*Curcuma longa*). Jest on producentem kurkuminy hamującej ekspresję genów wirulencji *P. aeruginosa* PA01, uczestniczących w takich procesach jak: tworzenie biofilmu, biosynteza piocyjaniny oraz HSL [105].

Zdolność rozkładu AHL odnotowano w przypadku dużej liczby roślin strączkowych (m.in. lucerna, koniczyna, grochu i fasoli szparagowej) [106-108]. Również kwas salicylowy, będący roślinnym metabolitem wtórnym, powoduje degradację AHL poprzez stymulację syntezy laktonaz [109].

Istotną grupą organizmów roślinnych będących źródłem QSI są rośliny lecznicze. Należą do nich m.in.: *Syzygium aromaticum*, *Glycyrrhiza glabra*, *Psoralea corylifolia*, *Piper bredemeyeri*, *Cocos nucifera* czy *Terminalia catappa*. Zawierają one liczne związki, takie jak: terpenoidy, polifenole, flawonoidy, taniny, antycyjaniny, poliaminy, polisachardy, cytokiny, które skutecznie modulują działanie systemów QS. Rośliny lecznicze, takie jak: *Citrus reticulate*, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus radiata* oraz *Thymus vulgaris*, wytwarzają również olejki eteryczne wykazujące aktywność anty-QS [110].

Obecność związków pełniących funkcję inhibitorów zjawiska QS wykazano także w szeregu innych organizmach roślinnych, m.in. w: czosnku (*Allium sativum*) [111,112], owocach kaparów ciernistych (*Capparis spinosa*) [113], bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum*) [114], goździkowcu korzennym (*Syzygium aromaticum*) [115], muszkatalowcu (*Myristica cinnamomea*) [116] i cynamonowcu cejlońskim (*Cinnamomum verum*) [117,118] (Tab. 3).

Należy zaznaczyć, iż omówione przykłady stanowią zaledwie niewielką część roślinnych inhibitorów zjawiska QS. Więcej informacji dotyczących roślinnych QSI można znaleźć w publikacjach przeglądowych [92,110].

#### ENZYMY O FUNKCJI QSI WYTWARZANE PRZEZ BAKTERIE I ZWIERZĘTA

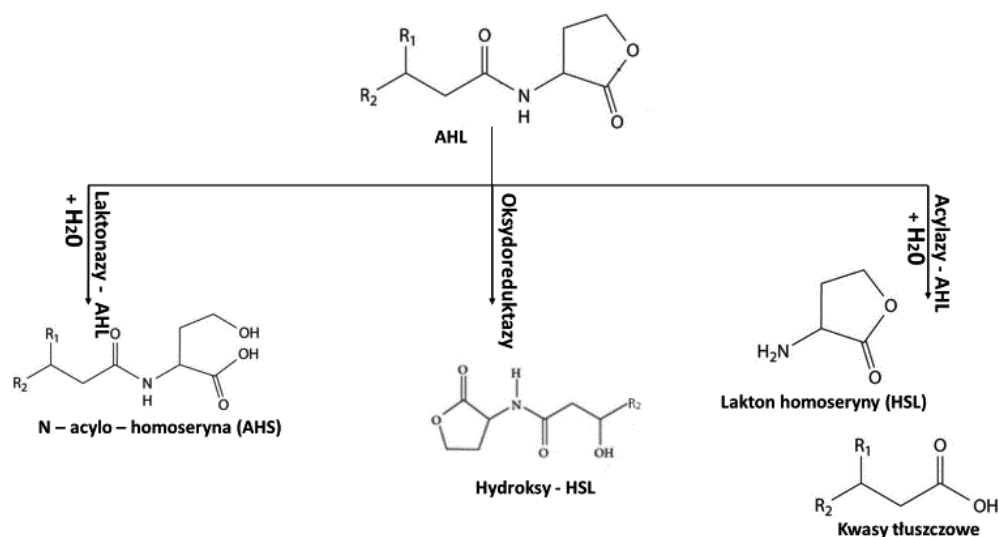
Degradacja cząsteczek AHL to kolejna strategia terapeutyczna wykorzystywana w walce z drobnoustrojami antybiotykopornymi. Rozkład bakteryjnych AI może przebie-

gać na drodze chemicznej, metabolicznej, bądź enzymatycznej [95]. W wyniku chemicznej degradacji AHL zachodzącej w środowisku zasadowym dochodzi do otwarcia pierścienia laktonowego i w konsekwencji do inaktywacji cząsteczki sygnałowej. Jednak efekt ten jest odwracalny w kwaśnych wartościach pH [95,126]. AHL mogą ulegać degradacji także na drodze metabolicznej. Wykazano, iż niektóre szczepy bakteryjne (m.in. *Variovorax paradoxus*) rozkładają cząsteczki AHL, wykorzystując je jako źródło azotu i energii [127]. Najistotniejszym mechanizmem degradacji autoinduktorów wydaje się być rozkład przebiegający z udziałem enzymów, wytwarzanych zarówno przez bakterie jak i zwierzęta. W enzymach tych upatruje się skutecznego narzędzia, które może być wykorzystane w terapiach mających na celu zwalczanie drobnoustrojów patogennych poprzez hamowanie ich systemów QS [92,128].

Organizmy zdolne do wytwarzania enzymów będących inhibitorami QS zaliczamy do różnych grup bakterii: (i) promieniowców (*Rhodococcus*, *Streptomyces*), (ii) Firmicutes (*Arthrobacter*, *Bacillus*, *Oceanobacillus*), (iii) Cyjanobakterii (*Anabaena*), (iv) Bacteroides (*Tenacibaculum*) i (v) Proteobakterii (*Acinetobacter*, *A. tumefaciens*, *Alteromonas*, *Comomonas*, *Halomonas*, *Hyphomonas*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *V. paradoxaus*, *Ralstonia*, *Stappia*) [92]. Wyróżniamy trzy główne typy enzymów zdolnych do degradacji AHL: (i) laktonazy AHL, (ii) acylazy AHL i (iii) oksydoreduktazy AHL [92,95]. Mechanizm działania poszczególnych grup enzymów został przedstawiony na rycinie 6. Obecność enzymów hamujących działanie systemów QS wykazano także w niektórych organizmach zwierzęcych, np. myszach, szczurach oraz słodkowodnej rybie *Danio rerio* [92].

#### LAKTONAZY AHL

Laktonazy AHL w sposób odwracalny hydrolizują wiązanie estrowe obecne w pierścieniu laktonowym homoseryny, co powoduje powstanie produktów będących pochodnymi acylo-homoseryny (AHS) [95]. Obecność tych enzymów wykazano w różnych gatunkach bakterii, m.in. *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *A. tumefaciens* i *K. pneumoniae* [92]. Pierwsza laktonaza AHL została wyizolowana z komórek szczepu *Bacillus* sp. 240B1 [129]. Białko to jest kodowane przez gen *aiiA*. *AiiA* jest enzymem stabilnym w temperaturze poniżej 37°C i wykazuje optymalną aktywność przy pH 8. Laktonaza AHL w swojej strukturze zawiera konserwatywną, krótką sekwencję HXHXDH charakterystyczną dla motywu wiążącego jony  $Zn^{2+}$  występującego w metaloenzymach [129-131]. Jednak wyniki badań Wang i współpracowników wykazały, iż laktonaza *AiiA* nie wymaga do swojej aktywności obecności jonów cynku i innych metali, a więc nie jest zaliczana do rodziny metaloenzymów, mimo obecności wspomnianego motywu [131]. Badania te były podstawą do wyodrębnienia nowej grupy laktonaz, określanej jako nadrodzina metalo- $\beta$ -laktamaz zdolnych do degradacji AHL [131,132]. Do rodziny tej, oprócz laktonazy *AiiA*, należą m.in. homologi *AiiA* pochodzące ze szczepów *Bacillus* A24, *B. thuringiensis*, *B. cereus*, a także laktonazy *AttM/AiiB* z *A. tumefaciens*, *AhID* z *Arthrobacter* sp. IBN110, *AidC* z *Chryseobacterium* sp. StRB126, *AhIS* z *Solibacillus silvestris* [132]. Laktonazy te cechują się dość szerokim zakresem substratowym, preferując średnio- i długołańcuchowe AHL.



Rycina 6. Schemat przedstawiający mechanizm działania enzymów zjawiska QQ. Opracowano na podstawie [95,130-132,134,137].

Przedstawicielem drugiego typu laktonaz AHL, określanych jako laktonazy fosfotriesterazo-podobne (ang. *phosphotriesterase-like lactonases*), jest enzym QsdA wyizolowany z *R. erythropolis*. Białko to hydrolizuje pierścień laktonowy w AHL posiadających acylowy łańcuch boczny o długości od 6 do 14 atomów węgla [132,133].

#### ACYLAZY AHL

Acylazy AHL w sposób nieodwracalny hydrolizują wiązanie amidowe pomiędzy laktonem L-homoseryny a acylowym łańcuchem bocznym. W wyniku tej reakcji dochodzi do uwolnienia laktonu homoseryny i odpowiednich kwasów tłuszczowych [95]. Obecność acylaz AHL wykazano w takich szczepach bakteryjnych, jak: *Ralstonia* sp. XJ12B, *P. aeruginosa*, *P. syringae*, *V. paradoxus*, *Comamonas* sp., *Shewanella* sp., *Ochrobactrum* sp., *R. erythropolis* [92,132]. Enzymy te należą do rodziny N-końcowych hydrolaz nukleofilowych. Specyficzność substratowa acylaz ogranicza się głównie do długołańcuchowych AHL [132]. *P. aeruginosa* syntetyzuje acylazy, które degradują 3O-C<sub>12</sub>-HSL, natomiast nie wykazują aktywności wobec AI z krótkimi łańcuchami bocznymi (np. C<sub>4</sub>-HSL) [134]. Przykładem mogą być acylazy AhlM wytwarzane przez *Streptomyces* sp., które degradują jedynie AI posiadające 6-węglowe bądź dłuższe acylowe łańcuchy boczne. Wykazano, że dodatek acylazy AhlM do podłoża obniża stężenie AHL i zmniejsza syntezę elastazy oraz proteazy LasA przez *P. aeruginosa* [135]. W przeciwieństwie do reakcji katalizowanej przez laktonazy AHL, produkt powstający w wyniku hydrolizy przebiegającej z udziałem acylaz AHL, nie ulega spontanicznemu przekształceniu do funkcjonalnej cząsteczki AI. Dlatego też z praktycznego punktu widzenia wydaje się, iż korzystniejsze jest stosowanie acylaz AHL jako inhibitorów systemów QS niż laktonaz [132].

#### OKSYDOREDUKTAZY AHL

Autoinduktory mogą ulegać również inaktywacji w wyniku działania oksydoreduktaz [95]. Przedstawicielem tej

grupy enzymów jest reduktaza wyizolowana z *R. erythropolis* [136]. Enzym ten redukuje grupę ketonową w cząsteczkach 3-okso-AHL, posiadających acylowy łańcuch boczny o długości od 8 do 14 atomów węgla. Drugim, dobrze poznanym przedstawicielem tej grupy enzymów, jest monoooksygenaza cytochromu P450 syntetyzowana przez *B. megaterium*, która utlenia długołańcuchowe AHL (m.in. C<sub>12</sub>-HSL i 3O-C<sub>12</sub>-HSL) [132,137].

#### PARAOKSONAZY

Oprócz bakterii, źródłem enzymów zdolnych do inaktywacji AHL są ludzkie komórki nabłonkowe syntetyzujące laktonazy zwane paraoksonazami (PON1, PON2, PON3), które wykazują aktywność hydrolytyczną związaną z metabolizmem leków i detoksykacją toksyn. Chun i in. wykazali, że ludzkie komórki górnych dróg oddechowych są zdolne do hydrolizy 3O-C<sub>12</sub>-HSL, będącej cząsteczką sygnałową charakterystyczną dla *P. aeruginosa* [138]. Wykazano, iż degradacja tego AI jest zależna od obecności enzymów PON, które w odróżnieniu od prokariotycznych laktonaz nie posiadają motywu HXHXDH, a ich aktywność zależna jest od obecności jonów Ca<sup>2+</sup> [92]. Białka PON1 i PON3 są zlokalizowane głównie w wątrobie oraz surowicy, gdzie występują w formie związanej z lipoproteinami o wysokiej gęstości (HDL), natomiast PON2 jest enzymem wewnątrzkomórkowym występującym w wielu tkankach. I to właśnie PON2 przypisuje się największe znaczenie w walce z drobnoustrojami posiadającymi systemy QS [132].

SYNTETYCZNE INHIBITORY ZJAWISKA QS

Ograniczenia dotyczące stosowania niektórych naturalnych QSI wynikające z ich toksyczności w stosunku do komórek gospodarza oraz niewielkich stężeń, w których związki te są wytwarzane, były podstawą do poszukiwania syntetycznych inhibitorów zjawiska QS [92]. Syntetyczne QSI można uzyskać poprzez: (i) substytucję odpowiednich atomów w acylowym łańcuchu bocznym AHL, (ii) wprowadzenie zmian w strukturze pierścienia laktonowego, (iii) hamowanie syntezy funkcjonalnych cząsteczek sygnałowych i (iv) syntezę cząsteczek o właściwościach antagonistycznych względem określonych receptorów (np. białek LuxR, LuxO, LasR, RhIR) [92,128,137].

#### SYNTETYCZNE INHIBITORY ZJAWISKA QS

BLOKOWANIE SYNTEZY CZĄSTECZEK SYGNAŁOWYCH

Strategia ta opiera się na hamowaniu syntezy AI poprzez zastosowanie analogów substratów niezbędnych w procesie wytwarzania tych cząsteczek. Przykładem może

być analog SAM, butyrylo-S-adenozylometionina, który w warunkach *in vitro* skutecznie zakłóca syntezę AHL poprzez hamowanie aktywności RhlI [139]. Natomiast antranilan metylu, analog antranilat - jednego z prekursorów PQS, hamuje syntezę tego AI oraz elastazy, nie wywierając jednocześnie negatywnego wpływu na wzrost bakterii *P. aeruginosa*. Dane te wskazują, iż prekursorzy sygnałów międzykomórkowych mogą być istotnymi celami dla opracowania nowych terapii skierowanych przeciwko czynnikom wirulencji *P. aeruginosa* [92,140].

#### MODYFIKACJE ŁAŃCUCHA BOCZNEGO AHL

Aktywność sygnałowych AHL zależy od ich prawidłowej geometrii i chiralności. Aktywne AI naturalnego pochodzenia są izomerami L, które nie zawierają w swojej strukturze wiązań nienasyconych [92]. Modyfikacja struktury acylowego łańcucha bocznego AHL przez wprowadzenie wiązania nienasyconego w pobliżu wiązania amidowego, powoduje obniżenie zdolności AI do wiązania się ze swoistym receptorem [92,128,141]. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem długości acylowego łańcucha bocznego następuje spadek aktywności cząsteczki sygnałowej. Z tego powodu analogi AHL posiadające dłuższy łańcuch boczny niż ich naturalne odpowiedniki są skutecznymi QSI.

Przykładem zastosowania cząsteczek sygnałowych ze zmienionymi strukturalnie łańcuchami bocznymi jest wygaszanie bioluminescencji *V. fischeri*. Emitowanie światła przez te bakterie jest skutecznie hamowane przy użyciu 3O-C<sub>6</sub>-HSL lub C<sub>6</sub>-HSL, zmodyfikowanych poprzez wprowadzenie rozgałęzionych podstawników alkilowych w pozycji C4 acylowego łańcucha bocznego [142]. Podobny efekt uzyskano w przypadku wprowadzenia wiązania sulfonamidowego do struktury AHL [143].

#### MODYFIKACJE PIERŚCIENIA LAKTONOWEGO AHL

Inną strategią tworzenia QSI jest zastąpienie pierścienia laktonowego w AHL aminokwasowymi ketonami zawierającymi pięcio- bądź sześcioczłonowe pierścienie lub cyklicznymi grupami funkcyjnymi (np. tiolaktonami) [137]. Syntetyczne QSI można otrzymać także w wyniku podstawienia odpowiednich atomów w układzie cyklicznym. Przykładem mogą być analogi 3O-C<sub>8</sub>-HSL otrzymane poprzez podstawienie atomów w pozycji 3 oraz 4 pierścienia laktonowego, które wykazują strukturalne podobieństwo do furanonów i są skuteczne w hamowaniu działania systemu QS *P. aeruginosa* [92,144].

#### BLOKOWANIE ODDZIAŁYWANIA LIGAND-RECEPTOR

Mechanizm działania większości QSI polega na hamowaniu prawidłowego oddziaływania pomiędzy ligandem a receptorem. Zaburzenia w rozpoznaniu i przekazywaniu sygnału przez specyficzny aktywator transkrypcji (np. białka LuxR, LuxO, LasR i RhlR) są konsekwencją obecności antagonistycznej cząsteczki zdolnej do konkrowania z sygnałowym AHL o miejsce wiązania w receptorze [145].

Przykładem syntetycznych QSI, których działanie jest ukierunkowane na regulatory transkrypcyjne są m.in.:

- N-(fenylo-sulfonylo-acetylo)-L-HSL, N-(benzylo-sulfonylo-acetylo)-L-HSL, N-cyklopentylo-2-heptylosulfonyloacetamid, będące antagonistami LasR. Związki te hamują systemy QS zależne od LasR, ekspresję *gfp* regulowaną przez LuxR oraz aktywność 3O-C<sub>6</sub>-HSL [92,146];
- syntetyczne furanony; np. 4-bromo-5-(bromometyleno) furano-2(5H)-ny i 5-(bromometyleno) furano-2(5H)-ny hamują wirulencję *P. aeruginosa* regulowaną przez AI-1. Furanon C30 obniża ekspresję genów kodujących czynniki wirulencji *P. aeruginosa* (m.in. syntezę proteazy, elastazy, ramnolipidów, chitynazy i cyjanowodoru) [92];
- tetrazole zawierające 12-węglowy łańcuch alkilowy (PD12) oraz fenolowy pierścień z przyłączonym 12-węglowym łańcuchem alkilowym (V-O6-O18) powodują zmniejszenie syntezy piocyjaniny w wyniku oddziaływań z receptorem LasR [147];
- N-oksido-4-nitro-pirydyna, która oddziałuje z białkiem receptorowym RhlR i obniża ekspresję takich genów, jak: *lasB*, *lasA*, *chiC* (kodującego chitynazę) oraz *rhlAB*. Ponadto, związek ten w istotny sposób zmniejsza tolerancję *P. aeruginosa* w biofilmie na tobramycynę [111].

#### NANOCZĄSTECZKI

Blokowanie aktywności systemów QS przy użyciu nanomateriałów, zwłaszcza nanocząsteczek metali, to skuteczna strategia wykorzystywana w walce z drobnoustrojami chorobotwórczymi. Nowoczesne metody biotechnologiczne umożliwiają syntezę nanocząsteczek, które wykazują wysoką specyficzność względem systemów QS i ich AI. Przy czym cząsteczki te w bardzo małym stopniu wpływają na podstawowe funkcje życiowe bakterii [9,148]. Już od dawna wskazuje się na istotną rolę srebra jonowego w leczeniu infekcji bakteryjnych. Jednakże, jony srebra bardzo szybko ulegają inaktywacji, co stanowi istotne ograniczenie ich wykorzystywania jako środka antybakteryjnego. Dlatego też coraz większe znaczenie w terapii zakażeń bakteryjnych przypisuje się nanocząsteczkom srebra (AgNPs, ang. *Ag nanoparticles*). Wykazano, że AgNPs posiadają aktywność farmakologiczną [148]. Singh i współpracownicy uzyskali AgNPs w wyniku „zielonej syntezy”, wykorzystując ekstrakt z biomasy grzyba *Rhizopus arrhizus* BRS-07 (BAE) zawierający m.in. oksydoreduktazy. Składniki tego ekstraktu odgrywały istotną rolę w redukcji jonów metali oraz stabilizacji otrzymanych nanocząsteczek AgNPs. Wykazano ich wysoką skuteczność w hamowaniu syntezy AHL oraz ekspresji genów kodujących czynniki wirulencji *P. aeruginosa*. Ponadto udowodniono, iż AgNPs nie tylko hamują tworzenie biofilmu, ale również formowanie się mikrokolonii i tym samym przyczyniają się do zmiany morfologii biofilmu bakteryjnego [148]. Skuteczność AgNPs wykazano także wobec biofilmu tworzego przez *E. coli*. Zaobserwowano, że w obecności wyższych stężeń tych nanocząsteczek dochodzi do eradykacji powstałego biofilmu [149].



Przykładem kolejnego QSI, wykazującego wysoką skuteczność względem szczepu *P. aeruginosa* PAO1, są nanocząsteczki ZnO, które powodują obniżenie syntezy piocyjaniny, piocheliny oraz autoinduktora PQS. Wykazano również ich wysoką efektywność w stosunku do szczepów klinicznych *P. aeruginosa* wyizolowanych od pacjentów chorujących na mukowiscydozę. Nanocząsteczki ZnO skutecznie obniżały syntezę piocyjaniny, elastazy oraz tworzenie biofilmu w przypadku większości badanych szczepów [150].

Kolejną bakterią wrażliwą na działanie nanocząsteczek jest *V. fischeri*. Wykazano, że nanocząsteczki dwutlenku silikonu opłaszczony β-cyklodekstryną powodują u tej bakterii zmniejszenie intensywności luminescencji zależnej od mechanizmu QS [151].

## PERSPEKTYWY

Przewiduje się, że związki wykazujące aktywność QSI staną się w najbliższym czasie jednym z najefektywniejszych narzędzi w leczeniu zakażeń bakteryjnych [152]. Chorobotwórcze drobnoustroje cechują się bardzo często zdolnością do tworzenia biofilmów, co przyczynia się do ich zwiększonej odporności na powszechnie stosowane antybiotyki. Zaburzenie tworzenia i struktury biofilmu, m.in. poprzez zastosowanie QSI, przyczynia się do zwiększenia wrażliwości bakterii na niższe dawki antybiotyków. Wykazano synergistyczne działanie QSI oraz antybiotyków w regulacji patogenezy *P. aeruginosa*. QSI, takie jak np. Furanon C30, skutecznie zwiększają wrażliwość *P. aeruginosa* na tobramycynę, fagocytozę oraz wybuch tlenowy wywołany przez leukocyty [111,112,153,154]. Biorąc pod uwagę fakt, iż zdecydowana większość bakterii posiada systemy QS, które są zaangażowane w regulację tworzenia biofilmów, zastosowanie QSI może okazać się bardziej skuteczne niż terapie wykorzystujące środki bakteriobójcze czy bakteriostatyczne. Wysoka efektywność tej strategii umożliwia jej zastosowanie także w szeregu innych dziedzinach (np. oczyszczaniu ścieków, biotransformacji) [92,137]. Stosowanie QSI w przemyśle spożywczym przyczynia się do wydłużenia czasu przydatności żywności do spożycia oraz redukuje możliwość wystąpienia zakażeń produktów podczas ich produkcji [155,156]. Szczególną rolę przypisuje się enzymom degradującym AHL, które biorą udział m.in. w biokontroli bakterii będących patogenami roślin, co może być podstawą do opracowania nowych form ochrony roślin [132,137]. Syntetyczne homologii AHL mogą w przyszłości znaleźć również zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej. Wykazano, że cząsteczka sygnałowa *P. aeruginosa* 3O-C<sub>12</sub>-HSL hamuje proliferację komórek raka piersi i indukuje ich apoptozę. Jednakże bezpośrednie wykorzystanie tych AI budzi obawę, iż mogą one indukować ekspresję genów wirulencji *P. aeruginosa*, zwłaszcza u osób z obniżoną odpornością [157,158].

Jednakże należy pamiętać, że stosowanie QSI ma liczne ograniczenia wynikające przede wszystkim z ich toksyczności w stosunku do komórek gospodarza. Przykładem mogą być halogenowane furanony wykazujące silne właściwości toksyczne i zwiększające ryzyko rozwoju chorób nowotworowych [159].

## PIŚMIENNICTWO

1. Neelson KH, Platt T, Hastings JW (1970) Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol* 104: 313-322
2. Williams P (2007) Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology* 153: 3923-3938
3. Miller MB, Bassler BL (2001) Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 55: 165-199
4. Rutherford ST, Bassler BL (2012) Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2: 1-25
5. Steindler L, Venturi V (2007) Detection of quorum-sensing N-acyl homoserine lactone signal molecules by bacterial biosensors. *FEMS Microbiol Lett* 266: 1-9
6. Pappenfort K, Bassler BL (2016) Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol* 14: 576-588
7. Wagner VE, Bushnell D, Passador L, Brooks AI, Iglewski BH (2003) Microarray analysis of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing regulators: effects of growth phase and environment. *J Bacteriol* 7: 2080-2095
8. Platt TG, Fuqua C (2010) What's in a name? The semantics of quorum sensing. *Trends Microbiol* 18: 383-387
9. Wolska KI, Grudniak AM, Markowska K (2016) Związki interferujące z bakteryjnymi systemami wyczuwania liczebności i ich potencjalna funkcja terapeutyczna. *Post Mikrobiol* 55: 300-308
10. Churchill ME, Chen L (2011) Structural basis of acyl-homoserine lactone-dependent signaling. *Chem Rev* 111: 68-85
11. Lade H, Paul D, Kweon JH (2014) N-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing with special reference to use of quorum quenching bacteria in membrane biofouling control. *BioMed Res Int* 2014: 1625841
12. Kendall MM, Sperandio V (2014) Cell-to-cell signaling in *E. coli* and *Salmonella*. *EcoSal Plus* 6: 10.1128/ecosalplus.ESP-0002-2013
13. Boşgelmez-Tinaz G, Ulusoy S (2008) Characterization of N-butanoyl-L-homoserine lactone (C4-HSL) deficient clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Pathogenesis* 44: 13-19
14. Werner KM, Perez LJ, Ghosh R, Semmelhack MF, Bassler BL (2014) *Caenorhabditis elegans* recognizes a bacterial quorum-sensing signal molecule through the AWCON neuron. *J Biol Chem* 289: 26566-26573
15. Schaefer AL, Taylor TA, Beatty JT, Greenberg EP (2002) Long-chain acyl-homoserine lactone quorum-sensing regulation of *Rhodobacter capsulatus* gene transfer agent production. *J Bact* 184: 6515-6521
16. Yin WF, Purmal K, Chin S, Chan XY, Chan KG (2012) Long chain N-acyl homoserine lactone production by *Enterobacter* sp. isolated from human tongue surfaces. *Sensors* 12: 14307-14314
17. Lau YY, Sulaiman J, Chen JW, Yin WF, Chan KG (2013) Quorum sensing activity of *Enterobacter asburiae* isolated from lettuce leaves. *Sensors* 13: 14189-14199
18. dos Reis Ponce A, Martins ML, de Araujo EF, Mantovani HC, Vanetti MC (2012) AiiA quorum-sensing quenching controls proteolytic activity and biofilm formation by *Enterobacter cloacae*. *Curr Microbiol* 65: 758-763
19. Xu F, Byun T, Deussen HJ, Duke KR (2003) Degradation of N-acylhomoserine lactones, the bacterial quorum-sensing molecules, by acylase. *J Biotech* 101: 89-96
20. Rice SA, Koh KS, Queck SY, Labbate M, Lam KW, Kjelleberg S (2005) Biofilm formation and sloughing in *Serratia marcescens* are controlled by quorum sensing and nutrient cues. *J Bacteriol* 187: 3477-3485
21. Papadopoulos CJ, Carson CF, Chang BJ, Riley TV (2008) Role of the MexAB-OprM efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* in tolerance to tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its monoterpene components terpinen-4-ol, 1,8-cineole, and alpha-terpineol. *Appl Environ Microbiol* 74: 1932-1935
22. Gutierrez JA, Crowder T, Rinaldo-Matthis A, Ho MC, Almo SC, Schramm VL (2009) Transition state analogs of 5'-methylthioadenosine nucleosidase disrupt quorum sensing. *Nat Chem Biol* 5: 251-257

23. Reading NC, Sperandio V (2006) Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 254: 1-11
24. Li Z, Nair SK (2012) Quorum sensing: how bacteria can coordinate activity and synchronize their response to external signals? *Protein Sci* 21: 1403-1417
25. Milton DL (2006) Quorum sensing in vibrios: complexity for diversification. *Int J Med Microbiol* 296: 61-71
26. Laue BE, Jiang Y, Chhabra SR, Jacob S, Stewart GS, Hardman A, Downie JA, O'Gaara F, Williams P (2000) The biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 produces the *Rhizobium* small bacteriocin, N-(hydroxy-7-cis-tetradecenoyl) homoserine lactone, via HdtS, a putative novel N-acylhomoserine lactone synthase. *Microbiology* 146: 2469-2480
27. Zhao J, Chen M, Quan CS, Fan SD (2015) Mechanisms of quorum sensing and strategies for quorum sensing disruption in aquaculture pathogens. *J Fish Diseases* 38: 771-786
28. Chan DI, Vogel HJ (2010) Current understanding of fatty acid biosynthesis and the acyl carrier protein. *Biochem J* 430: 1-19
29. Nguyen C, Haushalter RW, Lee DJ, Markwick PR, Bruegger J, Caldera-Festini G, Finzel K, Jackson DR, Ishikawa F, O'Dowd B, McCammon JA, Opella SJ, Tsai SC, Burkart MD (2014) Trapping the dynamic acyl carrier protein in fatty acid biosynthesis. *Nature* 505: 427-431
30. Guan R, Ho MC, Almo SC, Schramm VL (2011) Methylthioinosine phosphorylase from *Pseudomonas aeruginosa*. Structure and annotation of a novel enzyme in quorum sensing. *Biochemistry* 50: 1247-1254
31. Federle MJ, Bassler BL (2003) Interspecies communication in bacteria. *J Clin Invest* 112: 1291-1299
32. Federle MJ (2009) Autoinducer-2-based chemical communication in bacteria: complexities of interspecies signaling. *Contr Microbiol* 16: 18-32
33. Lupp C, Ruby EG (2005) *Vibrio fischeri* uses two quorum-sensing systems for the regulation of early and late colonization factors. *J Bacteriol* 187: 3620-3629
34. Reuter K, Steinbach A, Helms V (2016) Interfering with bacterial quorum sensing. *Persp J Medicinal Chem* 8: 1-15
35. Verma SC, Miyashiro T (2013) Quorum sensing in the squid-*Vibrio* symbiosis. *Int J Mol Sci* 14: 16386-16401
36. Kimbrough JH, Stabb EV (2017) Comparative analysis reveals regulatory motifs at the ainS/ainR pheromone-signaling locus of *Vibrio fischeri*. *Sci Reports* 7: 1-14
37. Waters CM, Bassler BL (2006) The *Vibrio harveyi* quorum-sensing system uses shared regulatory components to discriminate between multiple autoinducers. *Genes & Development* 20: 2754-2767
38. Plener L, Lorenz N, Reiger M, Ramalho T, Gerland U, Junga J (2015) The phosphorylation flow of the *Vibrio harveyi* quorum-sensing cascade determines levels of phenotypic heterogeneity in the population. *J Bacteriol* 197: 1747-1756
39. Nackerdien ZE, Keynan A, Bassler BL, Lederberg J, Thaler DS (2008) Quorum sensing influences *Vibrio harveyi* growth rates in a manner not fully accounted for by the marker effect of bioluminescence. *PLoS One* 3: e1671
40. Ng WL, Bassler BL (2009) Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annu Rev Gen* 43: 197-222
41. Kelly RC, Bolitho ME, Higgins DA, Lu W, Ng WL, Jeffrey PD, Rabinowitz JD, Semmelhack MF, Hughson FM, Bassler BL (2009) The *Vibrio cholerae* quorum-sensing autoinducer CAI-1: analysis of the biosynthetic enzyme CqsA. *Nat Chem Biol* 5: 891-895
42. Ke X, Miller LC, Ng WL, Bassler BL (2014) CqsA-CqsS quorum-sensing signal-receptor specificity in *Photobacterium angustum*. *Mol Microbiol* 91: 821-833
43. Yayan J, Ghebremedhin B, Rasche K (2015) Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Pneumonia at a Single University Hospital Center in Germany over a 10-Year Period. *PLoS One* 10: e0139836
44. Wolska K, Kot B, Piechota M, Frankowska A (2013) Oporność *Pseudomonas aeruginosa* na antybiotyki. *Post Hig Med Dosw* 67: 1300-1317
45. Lambert PA (2002) Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Royal Soc Med* 95: 22-26
46. Lee J, Zhang L (2015) The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein & Cell* 6: 26-41
47. Alhazmi A (2015) *Pseudomonas aeruginosa* - pathogenesis and pathogenic mechanisms. *Int J Biol* 7: 44-67
48. Balasubramanian D, Schnepfer L, Kumari H, Mathee K (2013) A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Nucl Acids Res* 41: 1-20
49. Gellatly SL, Hancock RW (2013) *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathog Dis* 67: 159-173
50. Li Y, Qu H, Liu J, Wan H (2014) Correlation between group behavior and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with hospital-acquired pneumonia. *J Thoracic Disease* 6: 810-817
51. Lee J, Wu J, Deng Y, Wang J, Wang Ch, Weng J, Chang Ch, Dong Y, Williams P, Zhang L (2013) A cell-cell communication signal integrate quorum sensing and stress response. *Nat Chem Biol* 9: 339-347
52. Schafhauser J, Lepine F, McKay G, Ahlgren HG, Khakimova M, Nguyen D (2014) The stringent response modulates 4-hydroxy-2-alkylquinoline biosynthesis and quorum-sensing hierarchy in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 196: 1641-1650
53. Parsek MR, Greenberg EP (2000) Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 8789-8793
54. Kiratisin P, Tucker KD, Passador L (2002) LasR, a transcriptional activator of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes, functions as a multimer. *J Bacteriol* 184: 4912-4919
55. Williams P, Cámara M (2009) Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulator networks and multifunctional signal molecules. *Curr Opin Microbiol* 12: 182-191
56. Wagner VE, Frelinger JG, Barth RK, Iglewski BH (2006) Quorum sensing: dynamic response of *Pseudomonas aeruginosa* to external signals. *Trends Microbiol* 14: 55-58
57. Pesci EC, Milbank JB, Pearson JP, McKnight S, Kende AS, Greenberg EP, Iglewski BH (1999) Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 11229-11234
58. Häussler S, Becker T (2008) The *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) balances life and death in *Pseudomonas aeruginosa* populations. *PLoS Pathog* 4: e1000166
59. Diggle SP, Lumijaktase P, Dipilato F, Winzer K, Kunakorn M, Barrett DA, Chhabra SR, Cámara M, Williams P (2006) Functional genetic analysis reveals a 2-Alkyl-4-Quinolone signaling system in the human pathogen *Burkholderia pseudomallei* and related bacteria. *Chem Biol* 13: 701-710
60. Xiao G, Déziel E, He J, Lépine F, Lesic B, Castonguay MH, Milot S, Tampakaki AP, Stachel SE, Rahme LG (2006) MvfR, a key *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity LTTR-class regulatory protein, has dual ligands. *Mol Microbiol* 62: 1689-1699
61. Jimenez PN, Koch G, Thompson JA, Xavier KB, Cool RH, Quax WJ (2012) The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Mol Biol Rev* 76: 46-65
62. Diggle SP, Matthijs S, Wright VJ, Fletcher MP, Chhabra SR, Lamont IL, Kong X, Hider RC, Cornelis P, Cámara M, Williams P (2007) The *Pseudomonas aeruginosa* 4-quinolone signal molecules HHQ and PQS play multifunctional roles in quorum sensing and iron entrapment. *Chem Biol* 14: 87-96
63. Maura D, Hazan R, Kitao T, Ballok AE, Rahme LG (2016) Evidence for direct control of virulence and defense gene circuits by the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulator, MvfR. *Sci Reports* 6: 1-14
64. Tang HB, DiMango E, Bryan R, Gambello M, Iglewski BH, Goldberg JB, Prince A (1996) Contribution of specific *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors to pathogenesis of pneumonia in a neonatal mouse model of infection. *Infect Immun* 64: 37-43
65. Rumbaugh KP, Griswold JA, Iglewski BH, Hamood AN (1999) Contribution of quorum sensing to the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in burn wound infections. *Infect Immun* 67: 5854-5862



66. Rumbaugh KP, Griswold JA, Hamood AN (1999) Contribution of the regulatory gene *lasR* to the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infection of burned mice. *J Burn Care Rehab* 20: 42-49
67. Atkinson S, Sockett RE, Cámara M, Williams P (2006) Quorum sensing and the lifestyle of *Yersinia*. *Curr Issues Mol Biol* 8: 1-10
68. Chen S, Thompson KM, Francis MS (2016) Environmental regulation of *Yersinia* pathophysiology. *Front Cell Infect Microbiol* 6: 25
69. Kim Y, Chhor G, Tsai CS, Fox G, Chen CS, Winans NJ, Jedrzejczak R, Joachimiak A, Winans SC (2017) X-ray crystal structures of the pheromone-binding domains of two quorum-hindered transcription factors, YenR of *Yersinia enterocolitica* and CepR2 of *Burkholderia cenocepacia*. *Proteins* 10: 1831-1844
70. Atkinson S, Chang CY, Sockett RE, Cámara M, Williams P (2006) Quorum sensing in *Yersinia enterocolitica* controls swimming and swarming motility. *J Bacteriol* 188: 1451-1461
71. Kurz CL, Chauvet S, Andrés E, Aurouze M, Vallet I, Michel GP, Uh M, Celli J, Filloux A, De Bentzmann S, Steinmetz I, Hoffmann JA, Finlay BB, Gorvel JP, Ferrandon D, Ewbank JJ (2003) Virulence factors of the human opportunistic pathogen *Serratia marcescens* identified by *in vivo* screening. *EMBO J* 22: 1451-1460
72. Wei JR, Tsai YH, Horng YT, Soo PC, Hsieh SC, Hsueh PR, Horng JT, Williams P, Lai HC (2006) A mobile quorum-sensing system in *Serratia marcescens*. *J Bacteriol* 188: 1518-1525
73. Houdt RV, Givskov M, Michiels CW (2007) Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS Microbiol Rev* 31: 407-424
74. Sabag-Daigle A, Soares JA, Smith JN, Elmasry ME, Ahmer BM (2012) The acyl homoserine lactone receptor, SdiA, of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar typhimurium does not respond to indole. *Appl Environ Microbiol* 78: 5424-5431
75. Michael B, Smith JN, Swift S, Heffron F, Ahmer BM (2001) SdiA of *Salmonella enterica* is a LuxR homolog that detects mixed microbial communities. *J Bacteriol* 183: 5733-5742
76. Wang XD, De Boer PA, Rothfield LI (1991) A factor that positively regulates cell division by activating transcription of the major cluster of essential cell division genes of *Escherichia coli*. *EMBO J* 10: 3363-3372
77. Kanamaru K, Kanamaru K, Tatsuno I, Tobe T, Sasakawa C (2000) SdiA, an *Escherichia coli* homologue of quorum-sensing regulators, controls the expression of virulence factors in enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Mol Microbiol* 38: 805-816
78. Lee J, Jayaraman A, Wood TK (2007) Indole is an inter-species biofilm signal mediated by SdiA. *BMC Microbiol* 7: 1-15
79. Li J, Attila C, Wang L, Wood TK, Valdes JJ, Bentley WE (2007) Quorum Sensing in *Escherichia coli* is signaled by AI-2/LsrR: effects on small RNA and biofilm architecture. *J Bacteriol* 189: 6011-6020
80. Hegde M, Englert DL, Schrock S, Cohn WB, Vogt C, Wood TK, Manson MD, Jayaraman A (2011) Chemotaxis to the quorum-sensing signal AI-2 requires the Tsr chemoreceptor and the periplasmic LsrB AI-2-binding protein. *J Bacteriol* 193: 768-773
81. Tage ME, Semmelhack JL, Bassler BL (2001) The LuxS-dependent autoinducer AI-2 controls the expression of an ABC transporter that functions in AI-2 uptake in *Salmonella typhimurium*. *Mol Microbiol* 42: 777-793
82. Wang L, Hashimoto Y, Tsao C, Valdes J, Bentley W (2005) Cyclic AMP (cAMP) and cAMP receptor protein influence both synthesis and uptake of extracellular autoinducer 2 in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 187: 2066-2076
83. Xavier KB, Bassler BL (2005) Interference with AI-2-mediated bacterial cell-cell communication. *Nature* 437: 750-753
84. Sperandio V, Torres AG, Girón JA, Kaper JB (2001) Quorum sensing is a global regulatory mechanism in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J Bacteriol* 183: 5187-5197
85. Sperandio V, Mellies JL, Nguyen W, Shin S, Kaper JB (1999) Quorum sensing controls expression of the type III secretion gene transcription and protein secretion in enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 96: 15196-15201
86. Sperandio V, Torres AG, Jarvis B, Nataro JP, Kaper JB (2003) Bacteria-host communication: the language of hormones. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 100: 8951-8956
87. Walters M, Sperandio V (2006) Quorum sensing in *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Int J Medical Microbiol* 296: 125-131
88. Antunes LC, Ferreira RB, Buckner MM, Finlay BB (2010) Quorum sensing in bacterial virulence. *Microbiology* 156: 2271-2282
89. Hughes DT, Sperandio V (2008) Inter-kingdom signalling: communication between bacteria and their hosts. *Nat Rev Microbiol* 6: 111-120
90. Reading NC, Torres AG, Kendall MM, Hughes DT, Yamamoto K, Sperandio V (2007) A novel two-component signaling system that activates transcription of an enterohemorrhagic *Escherichia coli* effector involved in remodeling of host actin. *J Bacteriol* 189: 2468-2476
91. Clarke MB, Hughes DT, Zhu C, Boedeker EC, Sperandio V (2006) The QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 103: 10420-10425
92. Kalia VC (2013) Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnol Adv* 31: 224-245
93. Lade H, Paul D, Kweon JH (2014) Quorum quenching mediated approaches for control of membrane biofouling. *Int J Biol Sci* 10: 550-565
94. Delago A, Mandabi A, Meijler MM (2016) Natural quorum sensing inhibitors – small molecules, big messages. *Isr J Chem* 56: 310-320
95. Huang J, Shi Y, Zeng G, Gu Y, Chen G, Shi L, Hu Y, Tang B, Zhou J (2016) Acyl-homoserine lactone-based quorum sensing and quorum quenching hold promise to determine the performance of biological wastewater treatments: an overview. *Chemosphere* 157: 137-151
96. Vattem DA, Mihalik K, Crixell SH, McLean RJ (2007) Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors. *Fitoterapia* 78: 302-310
97. Kim JS, Kim YH, Seo YW, Park S (2007) Quorum sensing inhibitors from the red alga, *Ahnfeltiopsis flabelliformis*. *Biotechnol Bioprocess Engineering* 12: 308-311
98. Liu HB, Koh KP, Kim JS, Seo Y, Park S (2008) The effects of betonicine, floridoside, and isethionic acid from the red alga *Ahnfeltiopsis flabelliformis* on quorum-sensing activity. *Biotechnol Bioprocess Engineering* 13: 458-463
99. Nazzaro F, Fratianni F, Coppola R (2013) Quorum sensing and phytochemicals. *Int J Mol Sci* 14: 12607-12619
100. Vikram A, Jayaprakasha GK, Jesudhasan PR, Pillai SD, Patil BS (2010) Suppression of bacterial cell-cell signalling, biofilm formation and type III secretion system by citrus flavonoids. *J Appl Microbiol* 109: 515-527
101. Truchado P, Giménez-Bastida JA, Larrosa M, Castro-Ibáñez I, Espin JC, Tomás-Barberán FA, García-Conesa MT, Allende A (2012) Inhibition of quorum sensing (QS) in *Yersinia enterocolitica* by an orange extract rich in glycosylated flavanones. *J Agric Food Chem* 60: 8885-8894
102. Musthafa KS, Ravi AV, Annapoorani A, Packiavathy IS, Pandian SK (2010) Evaluation of anti-quorum-sensing activity of edible plants and fruits through inhibition of the N-acyl-homoserine lactone system in *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy* 56: 333-339
103. Girenavar B, Cepeda ML, Soni KA, Vikram A, Jesudhasan P, Jayaprakasha GK, Pillai SD, Patil BS (2008) Grapefruit juice and its furcoumarins inhibits autoinducer signaling and biofilm formation in bacteria. *Int J Food Microbiol* 125: 204-208
104. Lee K, Lim J, Nam S, Yoon MY, Kwon Y, Jung BY, Park Y, Park S, Yoon SS (2011) Inhibitory effects of broccoli extract on *Escherichia coli* O157:H7 quorum sensing and *in vivo* virulence. *FEMS Microbiol Lett* 321: 67-74
105. Rudrappa T, Bais HP (2008) Curcumin, a known phenolic from *Curcuma longa*, attenuates the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 in whole plant and animal pathogenicity models. *J Agric Food Chem* 56: 1955-1962
106. Delalande L, Faure D, Raffoux A, Uroz S, D'Angelo-Picard C, Elasri M, Carlier A, Berruyer R, Petit A, Williams P, Dessaux Y (2005) N-hexanoyl-l-homoserine lactone, a mediator of bacterial quorum-sensing regulation, exhibits plant-dependent stability and may be inactivated



- by germinating *Lotus corniculatus* seedlings. FEMS Microbiol Ecol 52: 13-20
107. Fatima Q, Zahin M, Khan MS, Ahmad I (2010) Modulation of quorum sensing controlled behaviour of bacteria by growing seedling, seed and seedling extracts of leguminous plants. Indian J Microbiol 50: 238-242
  108. Götz C, Fekete A, Gebefuegi I, Forczek ST, Fuksová K, Li X, Englmann M, Gryndler M, Hartmann A, Matucha M, Schmitt-Kopplin P, Schröder P (2007) Uptake, degradation and chiral discrimination of N-acyl-D/L-homoserine lactones by barley (*Hordeum vulgare*) and yam bean (*Pachyrhizus erosus*) plants. Anal Bioanal Chem 389: 1447-1457
  109. Yuan Z, Edlind M, Liu P, Saenkham P, Banta LM, Wise AA, Ronzone E, Binns AN, Kerr K, Nester EW (2007) The plant signal salicylic acid shuts down expression of the *vir* regulon and activates quorum-sensing genes in *Agrobacterium*. Proc Natl Acad Sci U.S.A. 104: 11790-11795
  110. Bouyahya A, Dakka N, Et-Touys A, Abrini J, Bakri Y (2017) Medicinal plant products targeting quorum sensing for combating bacterial infections. Asian Pac J Trop Medicine 10: 729-743
  111. Rasmussen TB, Bjarnsholt T, Skindersoe ME, Hentzer M, Kristoffersen P, Kóte M, Nielsen J, Eberl L, Givskov M (2005) Screening for quorum-sensing inhibitors (QSI) by use of a novel genetic system, the QSI selector. J Bacteriol 187: 1799-1814
  112. Bjarnsholt T, Jensen PØ, Rasmussen TB, Christophersen L, Calum H, Hentzer M, Hougen HPEberl L, Høiby N, Givskov M (2005) Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. Microbiology 151: 3873-3880
  113. Issac Abraham SV, Palani A, Ramaswamy BR, Shunmugiah KP, Arumugam VR (2011) Antiquorum sensing and antibiofilm potential of *Capparis spinosa*. Arch Med Res 42: 658-668
  114. Walker TS, Pal Bais H, Deziel E, Schweizer HP, Rahme LG, Fall R, Vivianco JM (2004) *Pseudomonas aeruginosa*-plant root interactions. Pathogenicity, biofilm formation, and root exudation. Plant Physiol 134: 320-331
  115. Krishnan T, Yin W, Chan K (2012) Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 by ayurveda spice clove (*Syzygium Aromaticum*) bud extract. Sensors 12: 4016-4030
  116. Chong YM, Yin WF, Ho CY, Mustafa MR, Hadi AH, Awang K, Narima P, Koh CL, Appleton DR, Chan KG (2011) Malabaricone C from *Myristica cinnamomea* exhibits anti-quorum sensing activity. J Nat Prod 74: 2261-2264
  117. Brackman G, Defoirdt T, Miyamoto C, Bossier P, Van Calenberg S, Nelis H, Coenye T (2008) Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde derivatives reduce virulence in *Vibrio* spp. by decreasing the DNA-binding activity of the quorum sensing response regulator LuxR. BMC Microbiol 8: 149
  118. Niu C, Afre S, Gilbert ES (2006) Subinhibitory concentrations of cinnamaldehyde interfere with quorum sensing. Lett Appl Microbiol 43: 489-494
  119. Ren D, Sims JJ, Wood TK (2001) Inhibition of biofilm formation and swarming of *Escherichia coli* by (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone. Environ Microbiol 3: 731-736
  120. Manefield M, de Nys R, Naresh K, Roger R, Givskov M, Peter S, Kjelleberg S (1999) Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL)-mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. Microbiology 154: 283-291
  121. Borchardt SA, Allain EJ, Michels JJ, Stearns GW, Kelly RF, McCoy WF (2001) Reaction of acylated homoserine lactone bacterial signaling molecules with oxidized halogen antimicrobials. Appl Environ Microbiol 67: 3174-3179
  122. Luciardi MC, Blázquez MA, Cartagena E, Bardon A, Arena ME (2016) Mandarin essential oils inhibit quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. LWT - Food Science Technol 68: 373-380
  123. Myszkka K, Schmidt MT, Majcher M, Juzwa W, Olkowicz M, Czaczky K (2016) Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens* KM121 by *Thymus vulgare* essential oil and its major bioactive compounds. Int Biodeter Biodeg 114: 252-259
  124. Jakobsen TH, Van Gennip M, Phipps RK, Shanmugham MS, Christensen LD, Alhede M, Skindersoe ME, Rasmussen TB, Friedrich K, Uthe F, Jensen PQ, Moser C, Nieslen KF, Eberl L, Larsen TO, Tanner D, Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M (2012) Ajoene, a sulfur-rich molecule from garlic, inhibits genes controlled by quorum sensing. Antimicrob Agents Chemother 56: 2314-2325
  125. Vandeputte OM, Kiendrebeogo M, Rajaonson S, Diallo B, Mol A, El Jaziri M, Baucher M (2010) Identification of catechin as one of the flavonoids from *Combretum albiflorum* bark extract that reduces the production of quorum-sensing-controlled virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Appl Environ Microbiol 76: 243-253
  126. Yates EA, Philipp B, Buckley C, Atkinson S, Chhabra SR, Sockett RE, Goldner M, Dessaux Y, Camara M, Smith H, Williams P (2002) 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 70: 5635-5646
  127. Leadbetter JR, Greenberg EP (2000) Metabolism of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by *Variovorax paradoxus*. J Bacteriol 182: 6921-6926
  128. Kalia V, Purohit H (2011) Quenching the quorum sensing system: potential antibacterial drug targets. Crit Rev Microbiol 37 121-140
  129. Dong YH, Xu JL, Li X, Zhang LH (2000) AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. Proc Natl Acad Sci USA 97: 3526-3531
  130. Dong YH, Wang LH, Xu JL, Zhang HB, Zhang XF, Zhang LH (2001) Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. Nature 411: 813-817
  131. Wang LH, Weng LX, Dong YH, Zhang LH (2004) Specificity and enzyme kinetics of the quorum-quenching N-acyl homoserine lactone lactonase (AHL-lactonase). J Biol Chem 279: 13645-13651
  132. Fetzner S (2015) Quorum quenching enzymes. J Biotechnol 201: 2-14
  133. Uroz S, Oger PM, Chapelle E, Adeline MT, Faure D, Dessaux Y (2008). A *Rhodococcus qsdA*-encoded enzyme defines a novel class of large-spectrum quorum-quenching lactonases. Appl Environ Microbiol 74: 1357-1366
  134. Sio CF, Otten LG, Cool RH, Diggle SP, Braun PG, Bos R, Daykin M, Cámara M, Williams P, Quax WJ (2006) Quorum quenching by an N-acyl-homoserine lactone acylase from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Infect Immun 74: 1637-1682
  135. Park SY, Kang HO, Jang HS, Lee JK, Koo BK, Yum DY (2005) Identification of extracellular N-acylhomoserine lactone acylase from a *Streptomyces* sp. and its application to quorum quenching. Appl Environ Microbiol 71: 2632-2641
  136. Uroz S, Chhabra SR, Camara M, Williams P, Oger P, Dessaux Y (2005) N-Acylhomoserine lactone quorum-sensing molecules are modified and degraded by *Rhodococcus erythropolis* W2 by both amidolytic and novel oxidoreductase activities. Microbiology 151: 3313-3322
  137. Uroz S, Dessaux Y, Oger P (2009) Quorum sensing and quorum quenching: the Yin and Yang of bacterial communication. Eur J Chem Biol 10: 205-216
  138. Chun CK, Ozer EA, Welsh MJ, Zabner J, Greenber EP (2004) Inactivation of a *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal by human airway epithelia. Proc Natl Acad Sci USA 101: 3587-3590
  139. Parsek MR, Val DL, Hanzelka BL, Cronan JE, Greenberg EP (1999) Acyl homoserine-lactone quorum-sensing signal generation. Proc Natl Acad Sci USA 96: 4360-4365
  140. Calfee MW, Coleman JP, Pesci EC (2001) Interference with *Pseudomonas* quinolone signal synthesis inhibits virulence factor expression by *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci USA 98: 1163-11637
  141. Chhabra SR, Stead P, Bainton NJ, Salmond GP, Stewart GS, Williams P, Bycroft BW (1993) Autoregulation of carbapenem biosynthesis in

- Erwinia carotovora* by analogues of N-3-oxohexanyloyl-L-homoserine lactone. *J Antibiot* 46: 441-454
142. Reverchon S, Chantegrel B, Deshayes C, Doutheau A, Cotte-Pattat N (2002) New synthetic analogues of N-acyl homoserine lactones as agonists or antagonists of transcriptional regulators involved in bacterial quorum sensing. *Bioorg Med Chem Lett* 12: 1153-1157
  143. Castang S, Chantegrel B, Deshayes C, Dolmazon R, Gouet P, Haser R, Reverchon S, Nasser W, Hugouvieux-Cotte-Pattat N, Doutheau A (2004) N-Sulfonyl homoserine lactones as antagonists of bacterial quorum sensing. *Bioorg Med Chem Lett* 14: 5145-5149
  144. Olsen JA, Severinsen R, Rasmussen TB, Hentzer M, Givskov M, Nielsen J (2002) Synthesis of new 3- and 4-substituted analogues of acyl homoserine lactone quorum sensing autoinducers. *Bioorg Med Chem Lett* 12: 325-328
  145. Hentzer M, Givskov M (2003) Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 112: 1300-1307
  146. Persson T, Givskov M, Nielsen J (2005) Quorum sensing inhibition: targeting chemical communication in gram-negative bacteria. *Curr Med Chem* 12: 3103-3115
  147. Müh U, Schuster M, Heim R, Singh A, Olson ER, Greenberg EP (2006) Novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing inhibitors identified in an ultra-high-throughput screen. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 3674-3679
  148. Singh BR, Singh BN, Singh A, Khan W, Naqvi AH, Singh HB (2015) Mycofabricated biosilver nanoparticles interrupt *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing systems. *Sci Reports* 5: 13719
  149. Radzig MA, Nadtochenko VA, Koksharova OA, Kiwi J, Lipasova VA, Khmel IA (2013) Antibacterial effects of silver nanoparticles in gram-negative bacteria: influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. *Colloid Surface B: Biointerfaces* 102: 300-306
  150. Garcia-Lara B, Saucedo-Mora MA, Roldan-Sanchez JA, Perez-Eretza B, Ramasamy M, Lee J, Coria-Jimenez R, Tapia M, Varela-Guerrero VV, Garcia-Contreras R (2015) Inhibition of quorum-sensing-dependent virulence factors and biofilm formation of clinical and environmental *Pseudomonas aeruginosa* strains by ZnO nanoparticles. *Let Appl Microbiol* 61: 299-305
  151. Miller KP, Wang L, Chen YP, Pellechia PJ, Benicewicz BC, Decho AW (2015) Engineering nanoparticles to silence bacterial communication. *Front Microbiol* 6: 189
  152. Defoirdt T, Brackman G, Coenye T (2013) Quorum sensing inhibitors: how strong is the evidence? *Trends Microbiol* 21: 619-624
  153. Hentzer M, Wu H, Andersen JB, Riedel K, Rasmussen JB, Bagge N, Kumar N, Schembri MA, Song Z, Kristoffersen P, Manefield M, Costerton JW, Molin S, Eberl L, Steinberg P, Kjelleberg S, Høiby N, Givskov M (2003) Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J* 22: 3803-3815
  154. Rasmussen TB, Skindersoe ME, Bjarnsholt T, Phipps RK, Christensen KB, Jensen PO, Andersen JB, Koch B, Larsen TO, Hentzer M, Eberl L, Høiby N, Givskov M (2005) Identity and effects of quorum-sensing inhibitors produced by *Penicillium* species. *Microbiology* 151: 1325-1340
  155. Rasch M, Buch C, Austin B, Slierendrecht WJ, Ekmann KS, Larsen JL, Johansen C, Riedel K, Eberl L, Givskov M, Gram L (2004) An inhibitor of bacterial quorum sensing reduces mortalities caused by vibriosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Syst Appl Microbiol* 27: 350-359
  156. Jamuna Bai A, Rai VR (2011) Bacterial quorum sensing and food industry. *Comp Rev Food Sci Food Safety* 10: 183-193
  157. Li L, Hooi D, Chhabra SR, Pritchard D, Shaw PE (2004) Bacterial N-acylhomoserine lactone-induced apoptosis in breast carcinoma cells correlated with down-modulation of STAT3. *Oncogene* 23: 4894-48902
  158. Oliver CM, Schaefer AL, Greenberg EP, Sulfrin JR (2009) Microwave synthesis and evaluation of phenacylhomoserine lactones as anticancer compounds that minimally activate quorum sensing pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Med Chem* 52: 1569-1575
  159. Bjarnsholt T, Givskov M (2007) Quorum-sensing blockade as a strategy for enhancing host defenses against bacterial pathogens. *Philos Trans R Soc B: Biol Sci* 362: 1213-1222

## Quorum sensing in Gram-negative bacteria: signal molecules, inhibitors and their potential therapeutic application

Paulina Lipa, Marta Kozieł, Monika Janczarek✉

Department of Genetics and Microbiology, Faculty of Biology and Biotechnology, UMCS, 19 Akademicka St., 20-033 Lublin, Poland

✉ e-mail: mon.jan@poczta.umcs.lublin.pl.

**Key words:** autoinducers; Gram-negative bacteria; gene expression; inhibitors; quorum sensing;

### ABSTRACT

*Quorum Sensing* (QS) is a phenomenon of chemical cell-to-cell communication consisting in the synthesis and secretion of signal molecules called autoinducers into the environment, which contribute in regulation of various physiological processes. QS was identified in different bacterial species, including symbiotic and pathogenic bacteria. QS systems play a crucial role in regulation of expression of genes which control motility, biofilm formation, and synthesis of virulence factors by pathogenic bacteria. These systems recognize signal molecules of different specificity which belong to a few groups and enable intra- and interspecific communication of bacterial cells as well as communication with cells of eukaryotic organisms (hosts). Inhibition of QS called Quorum Quenching (QQ) is now regarded to be a promising strategy to combat bacterial infections. So far, a large group of substances of natural and synthetic origin with a function of QS inhibitors, which can have potential therapeutic applications, has been identified.