

Mechanizm, regulacja i rola bioluminescencji bakterii

The mechanism, regulation and the role of bacterial bioluminescence

AGATA CZYŻ¹, GRZEGORZ WĘGRZYN^{2, 3}

Spis treści:

- I. Wstęp
- II. Biochemiczny mechanizm luminescencji bakterii
- III. Regulacja produkcji światła przez bakterie w odpowiedzi na gęstość hodowli
- IV. Biologiczna rola luminescencji bakterii
- V. Uwagi końcowe

Wykaz stosowanych skrótów: AI-1 — autoinduktor systemu I; AI-2 — autoinduktor systemu II; OHL — lakton *N*-oktanol-*L*-homoseryny; OHHL — lakton *N*-(3-oksyheksanol)-*L*-homoseryny

I. Wstęp

Bioluminescencja, czyli wytwarzanie światła przez żywe organizmy, jest procesem rozpowszechnionym w przyrodzie. Do emisji światła zdolne są nie tylko bakterie czy grzyby, lecz również niektóre bezkręgowce i kręgowce. Mechanizmy powstawania światła w komórkach różnych organizmów są ogólnie dość podobne, różnią się jedynie szczegółami. Wydaje się jednak, że bioluminescencja u organizmów należących do niespokrewnionych ze sobą grup powstawała raczej niezależnie w toku ewolucji [1].

Bioluminescencja bakterii występuje głównie, choć nie wyłącznie, u gatunków związanych ze środowiskiem morskim. Mechanizmy bioluminescencji zostały najlepiej poznane u dwóch gatunków należących do rodzaju *Vibrio*: *V. fischeri* i *V. harveyi*. Regulacja procesu świecenia u *V. harveyi* wydawała się bardziej złożona niż u *V. fischeri*, jednak wyniki

Contents

- I. Introduction
- II. Biochemical mechanism of bacterial luminescence
- III. Regulation of bacterial light emission — quorum sensing
- IV. The biological role of bacterial luminescence
- V. Concluding remarks

ostatnich badań sugerują, że procesy kontroli wytwarzania światła przez komórki *V. fischeri* mogą być równie skomplikowane [2]. Oba mechanizmy zostaną omówione w tym artykule jako przykładowe, co pozwoli na głębszą analizę genetycznej i biochemicznej kontroli zjawiska bioluminescencji.

O ile bioluminescencji zwierząt można przypisać funkcje komunikowania się pomiędzy osobnikami tego samego gatunku, odstraszenia napastnika lub zwabiania ofiary, to biologiczna rola emisji światła przez bakterie pozostawała do niedawna zupełnie nieznana. Dopiero ostatnie lata przyniosły doniesienia mogące wytłumaczyć fizjologiczną i biochemiczną funkcję luminescencji komórek bakteryjnych. Problem ten zostanie dokładniej omówiony pod koniec tego artykułu.

II. Biochemiczny mechanizm luminescencji bakterii

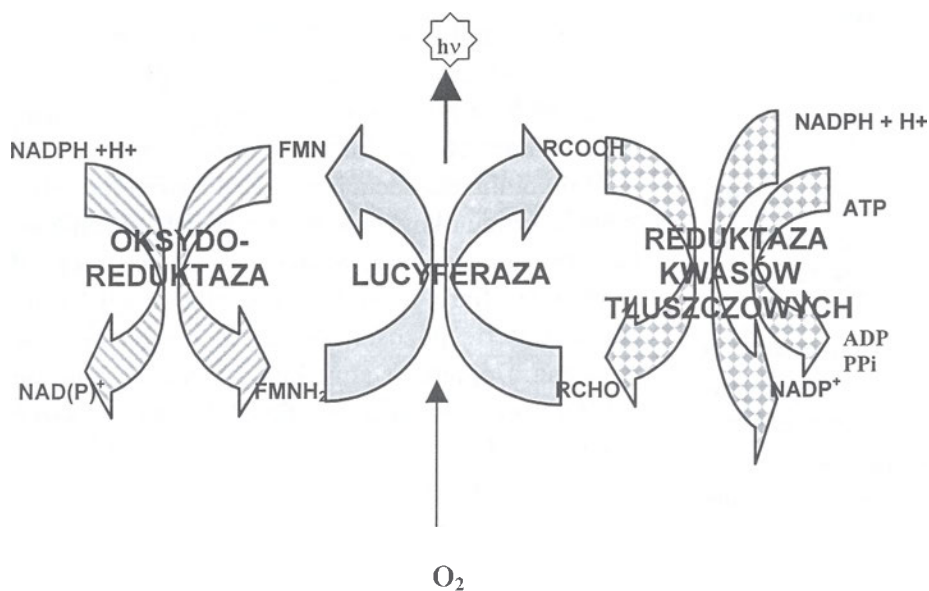
Mechanizmy umożliwiające emisję światła przez komórki bakteryjne oraz regulacja tego zjawiska zostaną przedstawione na przykładzie dwóch typowo morskich bakterii: *Vibrio fischeri* oraz *Vibrio harveyi*. *V. fischeri* jest symbiontem występującym w organach świetlnych ryb z rodziny Monocentridae oraz głowonogów z rodzajów *Sepiola* i *Euprymna*, [3, 4]. *V. harveyi* to bakteria z reguły wolnożyjąca, lecz spotykana także na powierzchni ciała oraz w jelitach niektórych zwierząt morskich [5, 6]. Produkcja światła przez bakterie luminescencyjne katalizowana jest przez lucyferazę. Enzym ten składa się z dwóch podjednostek α i β kodowanych, odpowied-

¹Dr, Pracownia Biologii Molekularnej afiliowana przy Uniwersytecie Gdańskim, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk; ²prof. dr hab., Katedra Biologii Molekularnej, Uniwersytet Gdański, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk; ³Centrum Biologii Morza Polskiej Akademii Nauk, ul. Św. Wojciecha 5, 81-347 Gdynia

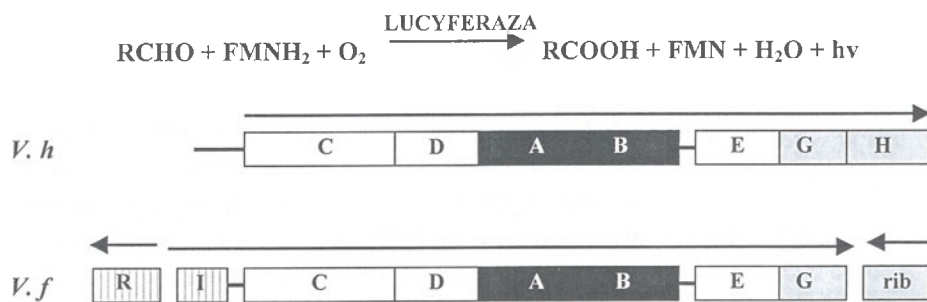
nio, przez geny *luxA* i *luxB* [7]. Lucyferaza katalizuje reakcję oksydacji zredukowanej flawiny (FMNH₂) do flawiny (FMN) i długołańcuchowych aldehydów do kwasów tłuszczowych. Specyficzna reduktaza bierze udział w redukcji cząsteczek kwasów tłuszczowych do aldehydów [8]. Reduktaza ta wykazuje dwie aktywności: reduktazy acylo-CoA zależnej od NADPH oraz syntetazy acylobiałkowej zależnej od ATP. Siła redukcyjna układu luminescencji jest generowana przez oksydoreduktazę NAD(P)H-FMN [9] (Ryc. 1).

Organizacja genów związanych z luminescencją u bakterii *V. fischeri* i *V. harveyi* znacząco się różni (Ryc. 2) [10]. U *V. fischeri* geny odpowiedzialne za luminescencję bakterii tworzą regulon na który składają się dwa transkrybowane w przeciwnych kierunkach operony — skierowany „w prawo” operon R oraz skierowany „w lewo” operon L [11]. Do operonu R należą geny *luxCDABEG* kodujące enzymy niezbędne do produkcji światła (geny *luxA* i *luxB* kodują podjednostki α i β lucyferazy; *luxC*, *luxD* i *luxE* to

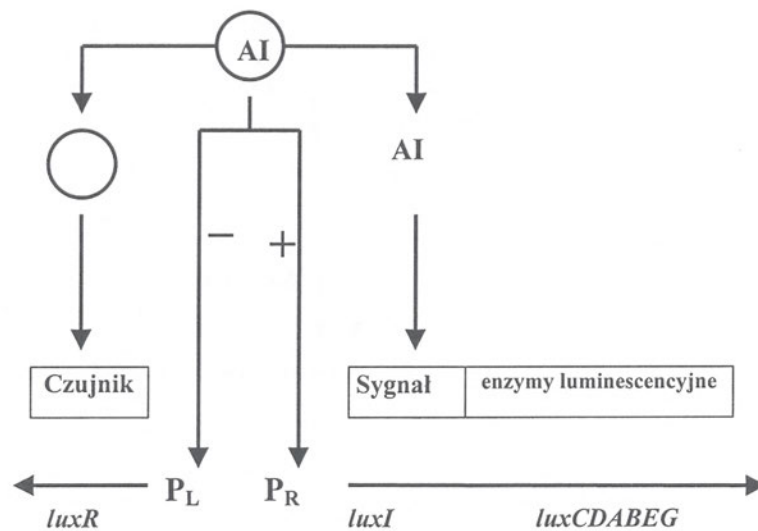
geny kompleksu reduktazy kwasów tłuszczowych; *luxG* koduje białko odpowiedzialne za syntezę zredukowanej flawiny) oraz gen *luxI* kodujący białko odpowiedzialne za syntezę niskocząsteczkowej substancji sygnałowej zwanej autoinduktorem [10, 11]. W przypadku *V. fischeri* substancją tą jest lakton *N*-(3-oksyheksanolo)-*L*-homoseryny [10-12]. W skład operonu L wchodzi tylko jeden gen — *luxR* kodujący białko czujnikowe dla substancji sygnałowej. Utworzony kompleks autoinduktor-białko LuxR wpływa zarówno na transkrypcję operonu R (pozytywne sprzężenie zwrotne) jak i operonu L (negatywne sprzężenie zwrotne) (Ryc. 3) [10, 11]. Wyniki ostatnich badań wskazują na obecność u *V. fischeri* drugiego układu sygnalizacyjnego, który przypomina analogiczny układ występujący u *V. harveyi* (opisany poniżej). Na układ ten składa się gen *ainS*, kodujący białko odpowiedzialne za syntezę drugiego autoinduktora — laktonu *N*-oktanolo-*L*-homoseryny, oraz gen regulatorowy *ainR* [2]. W komórkach *V. fischeri* wykryto także homologi genów *luxO* i



Ryc. 1. Substraty, produkty i enzymy biorące udział w procesie bioluminescencji u bakterii *V. harveyi*.



Ryc. 2. Schemat ilustrujący organizację operonów *lux* u bakterii *V. harveyi* (*V. h*) i *V. fischeri* (*V. f*). Umieszczone na rysunku litery oznaczają odpowiednie geny: R — *luxR*, I — *luxI*, C — *luxC*, D — *luxD*, A — *luxA*, B — *luxB*, E — *luxE*, G — *luxG*, H — *luxH*, rib- geny związane z syntezą ryboflawiny. Kierunki transkrypcji znaczone strzałkami. Czarne prostokąty symbolizują geny kodujące podjednostki lucyferazy, szare prostokąty — geny kodujące białka zaangażowane w produkcję pochodnych flawinowych, białe prostokąty — geny kodujące białka kompleksu reduktazy kwasów tłuszczowych, prostokąty w paski — geny kodujące białka regulatorowe.



Ryc. 3. Schemat regulacji luminescencji u bakterii *Vibrio fischeri*. Poziomą syntezę enzymów luminescencyjnych w komórkach *V. fischeri* zależy od poziomu transkrypcji operonu R obejmującego geny *luxICDABEG*. Transkrypcja operonu R jest regulowana pozytywnie przez poziom autoinduktora, syntetyzowanego przez produkt genu *luxI*, oraz negatywnie — przez białko czujnikowe LuxR, produkt genu *luxR*. Przy małej ilości komórek transkrypcja operonu R zachodzi konstytutywnie na niskim poziomie, stąd niskie stężenie autoinduktora w otoczeniu. Gdy ilość komórek wzrasta, wzrasta też stężenie autoinduktora, co powoduje indukcję transkrypcji operonu *luxICDABEG* i emisję światła. W przypadku genu *luxI* mamy do czynienia ze zjawiskiem pozytywnego sprzężenia zwrotnego — wzrost poziomu autoinduktora w otoczeniu powoduje wzrost poziomu syntez autoinduktora w komórce. Regulacja negatywna zachodzi przez obniżenie ekspresji operonu L, zawierającego gen *luxR* i wymaga interakcji LuxR i autoinduktora. Na rysunku umieszczono nazwy genów kodujących poszczególne elementy systemu luminescencji. Zastosowane skróty oznaczają: AI — autoinduktor, p_L — promotor operonu L, p_R — promotor operonu R.

luxU, dobrze poznanych u *V. harveyi* (opisanych poniżej).

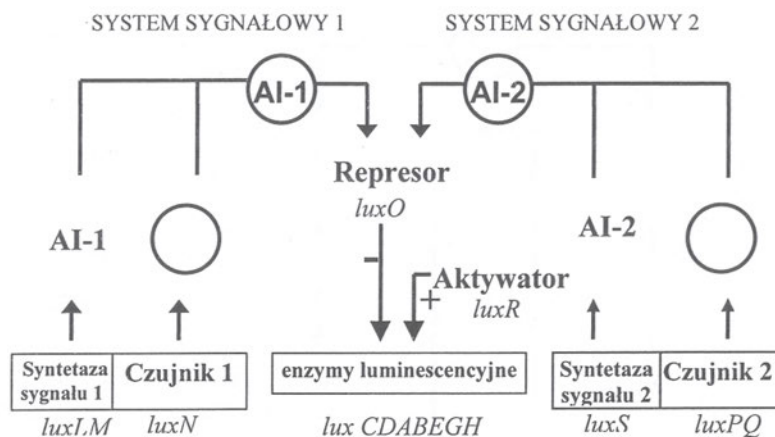
U *V. harveyi* zidentyfikowano następujące geny zaangażowane w produkcję światła: geny operonu *luxCDABEGH*, geny regulatorowe — *luxR*, *luxO*, *luxU*, geny kodujące syntetazy autoinduktorów — *luxLM* (geny kodujące syntetazę autoinduktora układu sygnałowego 1: AI-1) i *luxS* (gen kodujący syntetazę autoinduktora układu sygnałowego 2: AI-2), oraz geny kodujące czujniki dla substancji sygnałowych — *luxN* (gen kodujący czujnik systemu 1) i *luxPQ* (geny kodujące czujnik systemu 2). [11, 13-17]. Geny operonu *luxCDABEGH* bakterii *V. harveyi* transkrybowane właśnie w tej kolejności kodują białka enzymatyczne, niezbędne do emisji światła przez bakterię: geny *luxA* i *luxB* kodują podjednostki α i β lucyferazy; *luxC*, *luxD* i *luxE* to geny kompleksu reduktazy kwasów tłuszczowych; *luxG* i *luxH* kodują białka odpowiedzialne za syntezę zredukowanej flawiny [8, 18]. Aktywatorem transkrypcji operonu *luxCDABEGH* jest produkt genu *luxR* [19-21]. Białko LuxR *V. harveyi* nie wykazuje żadnej homologii do białka LuxR pochodzącego z bakterii *V. fischeri* — użycie tej samej nazwy jest tutaj przypadkowe. Funkcję negatywnego regulatora pełni produkt genu *luxO* [14]. Aktywność białka LuxO regulowana jest przez obecność w środowisku substancji sygnałowych zwanych autoinduktorami [22]. Bakteria *V. harveyi* wytwarza dwa typy autoindukto-

rów należących do dwóch niezależnych układów sygnałowych. Autoinduktory łącząc się z odpowiednimi białkami czujnikowymi powodują w efekcie końcowym inaktywację białka LuxO (Ryc. 4).

III. Regulacja produkcji światła przez bakterie *V. fischeri* oraz *V. harveyi* w odpowiedzi na gęstość hodowli

Efektywność luminescencji bakterii *V. fischeri* i *V. harveyi* zależy wyraźnie od gęstości hodowli. Różnica w poziomie emisji światła pojedynczej bakterii z „gęstej” i „rozcieńczonej” hodowli może być 1000-krotna. Wynika to ze zwiększonej w warunkach dużej koncentracji komórek bakteryjnych produkcji substancji sygnałowych i odpowiedzi komórek bakteryjnych na te substancje [22]. Zjawisko to określa się jako „zmysł gęstościowy” (ang. *quorum sensing*).

Według powszechnie akceptowanego modelu regulacji luminescencji w komórkach *V. fischeri* przyjmowano, że bakteria ta wytwarza tylko jeden typ autoinduktora — lakton *N*-(3-oksyheksanolo)-L-homoseryny (OHHL) [10-12]. W miarę wzrostu gęstości hodowli autoinduktor akumuluje się w otoczeniu. Po przekroczeniu wartości progowej stężenia autoinduktora dochodzi do utworzenia kompleksu OHHL-białko czujnikowe LuxR. Kompleks ten na drodze pozytywnego sprzężenia zwrotnego stymulu-

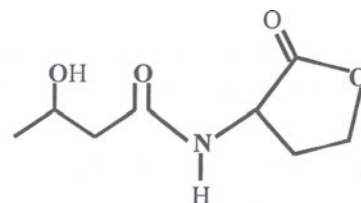


Ryc. 4. Schemat ilustrujący genetyczną kontrolę luminescencji u bakterii *V. harveyi*. Ekspresja genów operonu *luxCDABEGH* kodujących enzymy odpowiedzialne za luminescencję bakterii jest kontrolowana przez dwa niezależne układy sygnałowe oznaczone jako 1 i 2. W obu układach sygnałowych produkowane są wewnątrzkomórkowe substancje sygnałowe (AI-1 lub AI-2) zwane autoinduktorami oraz substancje zwane sensorami lub czujnikami, oznaczone na rysunku jako kółka, regulujące odpowiedź na daną substancję sygnałową. Odpowiednie substancje sygnałowe (AI-1 lub AI-2) łączą się z odpowiednim czujnikiem. Białka sensorowe regulują ekspresję genów luminescencyjnych inaktywując kodowany przez gen *luxO* pośredni negatywny regulator operonu *luxCDABEGH*. Ekspresja operonu *luxCDABEGH* podlega także kontroli pozytywnej w wyniku oddziaływań czynnika transkrypcyjnego LuxR. Na rysunku umieszczono nazwy genów kodujących poszczególne elementy systemu luminescencji.

je transkrypcję operonu *luxICDABEG* w wyniku czego dochodzi do emisji światła przez komórki bakteryjne. Poziom syntezy autoinduktora podlega zatem pozytywnej autoregulacji. Wykazano ponadto, że para autoinduktor–LuxR może wpływać tak hamująco (w warunkach wysokiej koncentracji białka LuxR) jak i aktywująco (w warunkach niskiej koncentracji białka LuxR oraz autoinduktora) na ekspresję genu *luxR* [10, 11]. Wyniki prowadzonych w ostatnich latach eksperymentów wskazują jednakże, że przedstawiony powyżej mechanizm jest niepełny. W komórkach *V. fischeri* wykryto obecność drugiego autoinduktora — laktonu *N*-oktanolo-*L*-homoseryny (OHL). Obecność autoinduktora OHL w komórce wpływa hamująco na tworzenie kompleksów OHHL-LuxR. Oddziaływanie autoinduktora OHL z białkiem regulatorowym AinR powoduje natomiast aktywację genów operonu *luxICDABEG* i co za tym idzie wzrost emisji światła przez komórkę [23, 24]. Opublikowane ostatnio dane wskazujące na udział w regulacji luminescencji bakterii *V. fischeri* dodatkowych genów — *luxO* oraz *luxU*, zidentyfikowanych uprzednio u *V. harveyi*, wskazują, że regulacja emisji światła w komórkach *V. fischeri* wciąż do końca nie została poznana [2].

Bakteria *V. harveyi* produkuje autoinduktory dwóch typów: lakton *N*-(3-hydroksybutyrylo)-*L*-homoseryny, zwany w skrócie AI-1 (Ryc. 5), należący do pierwszego układu sygnałowego oraz niezidentyfikowany jeszcze związek AI-2, należący do drugiego układu sygnałowego [15, 17]. Oprócz substancji sygnałowych w każdym układzie sygnałowym obec-

ne są białka zwane czujnikami (sensorami) regulujące odpowiedź komórki na dany autoinduktor. Sensor układu 1 to białko LuxN [25]. Sensor układu 2 składa się z dwóch białek — LuxP i LuxQ [13] (Ryc. 2). Białko LuxP jest rozpuszczalnym białkiem periplazmatycznym, podobnym do białka wiążącego rybozę i galaktozę u *Escherichia coli* i *Salmonella typhimurium*. Białka LuxN i LuxQ należą do rodziny białkowych czynników sygnałowych wykazujących aktywności kinazy i fosfatazy [11]. Gdy autoinduktory występują w niskim stężeniu (mała gęstość komórek) białka LuxN i LuxQ fosforylują LuxO w pozycji Asp-47. Fosforylowane białko

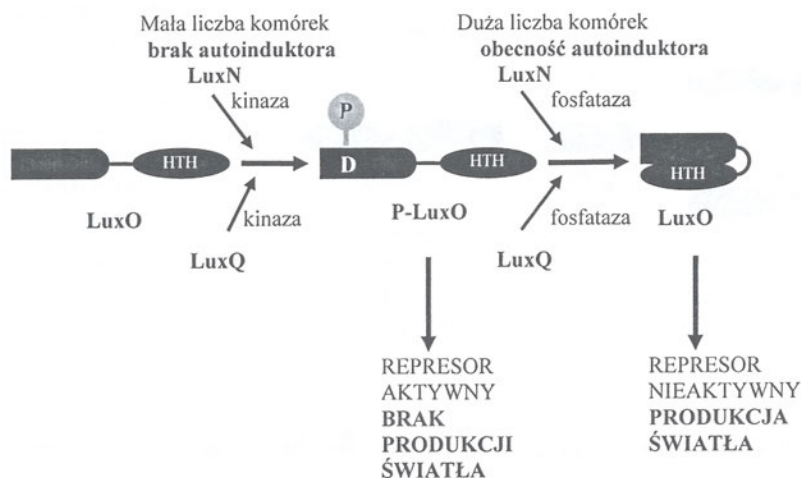


Ryc. 5. Lakton *N*-(3-hydroksybutyrylo)-*L* homoseryny

LuxO jest negatywnym regulatorem aktywności operonu *luxCDABEGH*. Początkowo sądzono, że LuxO jest specyficznym represorem promotora tego operonu, jednak najnowsze doniesienia wskazują, że jest to raczej ogólny czynnik regulacyjny, a faktycznym represorem jest inne, jak dotąd niezidentyfikowane białko. Gen kodujący to białko jest prawdopodobnie aktywowany przez kompleks LuxO- σ^{54} [26]. W przypadku akumulacji cząsteczek autoinduktorów w otoczeniu (duża gęstość hodowli) LuxN i LuxQ wy-

kazują aktywność fosfatazy. W wyniku defosforylacji LuxO dochodzi do takich zmian konformacyjnych w cząsteczce białka LuxO, że nie może ono pośrednio hamować aktywności operonu *luxCDABEGH*. W efekcie tego następuje ekspresja genów operonu *luxCDABEGH* czego ostatecznym wynikiem jest emisja światła przez komórki *V. harveyi* (Ryc. 6).

Za odbieranie informacji z sensorów LuxN i LuxQ i przeniesienie sygnałów na białko regulatorowe LuxO odpowiedzialna jest fosfataza LuxU. Model



Ryc. 6. Schemat regulacji „zmysłu gęstościowego” (ang. *quorum sensing*) u *V. harveyi*. W przypadku gdy bakteria występuje w środowisku o niskiej gęstości komórek i autoinduktor występuje w niskim stężeniu czujniki (sensory) LuxN oraz LuxQ mają aktywność kinazy. Następuje fosforylacja białka LuxO w pozycji Asp47. Fosforylowane białko LuxO jest pośrednim regulatorem negatywnym operonu *luxCDABEGH*, co powoduje brak emisji światła. Akumulacja autoinduktorów (AI-1 oraz AI-2) w otoczeniu podczas wzrostu ilości komórek powoduje, że LuxN i LuxQ wykazują aktywność fosfatazy. W wyniku defosforylacji LuxO dochodzi do zmian konformacyjnych w cząsteczce białka unieczynniającej ten regulator, zachodzi ekspresja genów operonu *lux* i *V. harveyi* emituje światło. Zarówno aktywacja jak i unieczynnienie LuxO przez LuxQ i LuxN zależy od fosfotransferazy LuxU. Stosowane w rysunku skróty oznaczają: D — Asp47, HTH — helisa-skłęt-helisa — domena białka LuxO, P-LuxO — ufosforylowane białko LuxO, LuxO — nieufosforylowane białko LuxO.

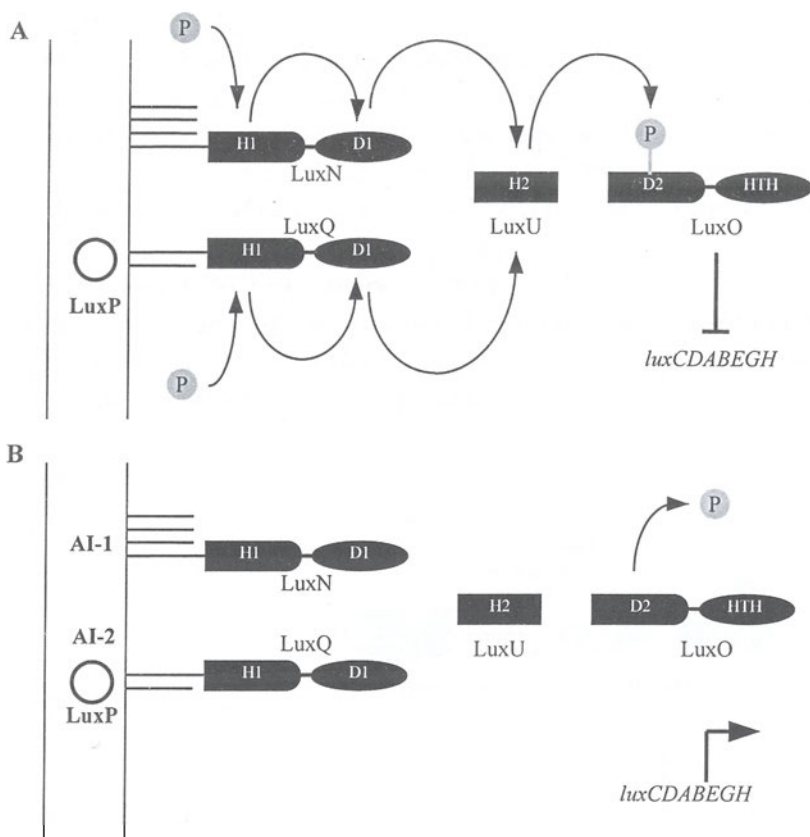
regulacji „zmysłu gęstościowego” przez kaskadę fosforylacji i defosforylacji przedstawia Ryc. 7. Część A ukazuje sytuację gdy liczba komórek jest niewielka. Przy braku autoinduktora czujniki LuxN i LuxQ wykazują aktywność kinazy — zachodzi autofosforylacja tych białek w wysoce konserwowanym miejscu H1 (His471). Grupa fosforanowa jest następnie przenoszona na asparaginę Asp771 w obrębie cząsteczek sensorów. Stąd grupa fosforanowa zostaje przeniesiona na histydynę w pozycji 58 białka LuxU (H2), a następnie na asparaginę (Asp47) białka LuxO. Jak zaznaczono wcześniej, fosforylowane białko LuxO pełni rolę pośredniego, negatywnego regulatora aktywności operonu *luxCDABEGH* — w opisanych warunkach nie dochodzi do ekspresji genów tego operonu i bakteria nie wytwarza światła. Przyłączenie się cząsteczek autoinduktorów (akumulujących się w otoczeniu w warunkach dużej koncentracji komórek bakteryjnych) do białek LuxN i

LuxQ stymuluje zmianę aktywności tych białek z kinaz na fosfatazy i zachodzi defosforylacja białka LuxO (Ryc. 7B) [15, 16]. Grupa fosforanowa jest przenoszona z LuxO (Asp47) na LuxU (His58), stąd na LuxN (Asp771) a następnie jest uwalniana w wyniku aktywności fosfatazy LuxN (przy barku aktywności kinazy tego białka) [27].

Mimo odkrycia wielu szczegółów kontroli luminescencji u *V. harveyi* na zasadzie „zmysłu gęstościowego”, wydaje się że ten rodzaj regulacji nie jest jeszcze do końca poznany. Ostatnie badania wska-

zują, że w proces ten zaangażowany jest produkt genu *cgtA* [28]. Gen *cgtA* koduje małe białko wiążące GTP, mające swoje homologi w wielu organizmach od bakterii do człowieka. Jest to białko, które potencjalnie może być zaangażowane w przeniesienie sygnałów na zasadzie kontroli fosforylacji i defosforylacji białek. Możliwe zatem, że bierze ono udział także w regulacji przekazywania sygnału za pośrednictwem autoinduktorów.

W 1979 roku wykazano, że produkcja światła w komórkach *V. harveyi* może być stymulowana przez autoinduktory produkowane przez inne gatunki bakterii, zarówno zdolne do luminescencji (*V. fischeri*, *V. longei*, *Photobacterium phosphoreum*) jak i nie wytwarzające światła (m.in. *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *Yersinia enterocolitica*) [29]. Stwierdzono, że oprócz autoinduktora pochodzącego od *V. parahaemolyticus*, autoinduktory produkowane przez badane szczepy bakterii oddziałują z układem sygnaliza-



Ryc. 7. Schemat regulacji zmysłu gęstościowego u *V. harveyi* przez kaskadę fosforylacji i defosforylacji. Rysunek A obrazuje sytuację gdy liczba komórek jest niewielka (brak autoinduktorów w otoczeniu), rysunek B — gdy komórki znajdują się w dużej liczbie (duże stężenie autoinduktorów w otoczeniu). Stosowane na rysunku skróty oznaczają: H1 i D1 — miejsca fosforylacji w obrębie cząsteczek LuxN i LuxQ, H2 — His58 w obrębie białka LuxU, D2 — Asp47 w obrębie białka LuxO, HTH — helisa-skręt-helisa — domena białka LuxO.

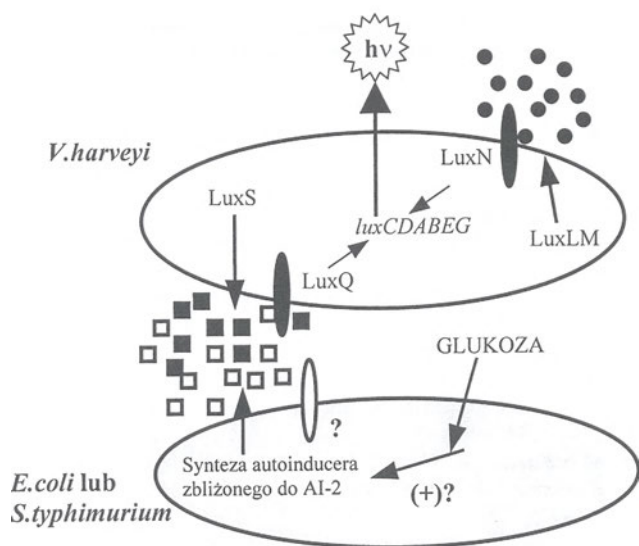
cyjnym 2 *V. harveyi* [30]. Wykazano także, że *E. coli* i *S. typhimurium* produkują substancje zbliżone do autoinduktora układu sygnalizacyjnego 2 (AI-2) *V. harveyi*, wywołujące indukcję świecenia u tej bakterii [31]. Ponieważ oprócz *V. harveyi* tylko jedna bakteria — *V. parahaemolyticus* — produkuje autoinduktor zbliżony do AI-1, wydaje się, że układ ten jest bardziej specyficzny. Możliwe, że funkcją bardziej specyficznego i wrażliwego układu sygnalizacyjnego 1 jest sprawdzanie czy w otoczeniu znajduje się dużo komórek *V. harveyi*, podczas gdy funkcją mniej specyficznego i mniej wrażliwego układu sygnalizacyjnego 2 jest badanie czy w otoczeniu znajdują się także inne gatunki bakterii [30-32] (Ryc. 8).

Regulacja ekspresji genów zależna od gęstości komórek, oparta na niskocząsteczkowych substancjach chemicznych zwanych autoinduktorami, będącymi pochodnymi laktonu homoseryny, nie jest procesem dotyczącym jedynie emisji światła u luminescencyjnych bakterii. Regulacja przy udziale „zmysłu gęstościowego” występuje u wielu bakterii Gram-ujemnych jak również Gram-dodatnich. W ten sposób zachodzi np. aktywacja koniugacyjnego transferu plazmidu Ti u *Agrobacterium tumefaciens* [33], ekspresja czynnika zakaźnego *Pseudomonas aeruginosa* [34], indukcja syntezy antybiotyków u *Pseudomonas aureofaciens* i *Erwinia carotovora* [35] i ekspresja czynników kontrolujących wzrost populacji *Rhizobium leguminosarum* [36].

IV. Biologiczna rola luminescencji bakterii

Do wytwarzania światła bakterie zużywają do kilkunastu procent całkowitej energii produkowanej przez komórkę [11, 37]. Proces luminescencji musi mieć zatem duże znaczenie dla tych organizmów, gdyż w przeciwnym razie zostałyby wyeliminowane na drodze ewolucji jako niekorzystny energetycznie. O ile rolę wytwarzania światła przez zwierzęta można stosunkowo łatwo przypisać komunikowaniu się różnych osobników tego samego gatunku, odstraszaniu napastnika lub zwabianiu ofiary, to biologiczne znaczenie luminescencji bakterii pozostawało przez długi czas nieznane. Dotyczy to w szczególności luminescencyjnych bakterii wolnożyjących, chociaż nie jest też łatwo wytłumaczyć jaka jest konkretna korzyść z emisji światła dla bakterii żyjących w symbiozie ze zwierzętami. Bakterie mogą wprawdzie emitować światło ale nie są zdolne do odbierania bodźców świetlnych — nie może więc tu być mowy o komunikowaniu się ze sobą. Nie można też zakładać w tym przypadku funkcji odstraszania napastnika ani zwabiania ofiary.

Wysunięto hipotezę, że katalizowany enzymatycznie proces prowadzący do produkcji kwantów światła mógł ewoluować jako mechanizm detoksyfikacji reaktywnych form tlenu [1]. Rzeczywiście, ostatnio uzyskane dane doświadczalne sugerują, że w pewnych warunkach aktywność lucyferazy w ko-



Ryc. 8. System komunikacji między komórkami *V. harveyi* i komórkami innych bakterii. Umieszczone na rysunku symbole oznaczają: ● — autoinduktor systemu 1 (AI-1) *V. harveyi* — lakton N-(3-hydroksybutyrylo)-L-homoseryny, ■ — autoinduktor systemu 2 (AI-2) *V. harveyi*, □ — autoinduktor typu AI-2 pochodzący z innej niż *V. harveyi* bakterii.

mórkach *V. harveyi* pozwala na efektywniejszą neutralizację toksycznych metabolitów pojawiających się w wyniku stresu oksydacyjnego [38]. Jednakże te same badania wskazały, że za tę ochronną rolę odpowiedzialna jest wyłącznie lucyferaza, bez udziału innych enzymów koniecznych do efektywnej luminescencji, zatem wytwarzanie światła jest w tym przypadku zbędne.

Nowych danych dotyczących biologicznej roli bioluminescencji bakterii dostarczyły badania, w których izolowano mutanty *V. harveyi* po mutageniezie transpozonowej. Otrzymano kolekcję mutantów niosących transpozon w różnych rejonach chromosomu [39, 40]. Dokładniejsza analiza fenotypów tych mutantów wykazała, że utracie zdolności do świecenia towarzyszyła podwyższona wrażliwość komórek na promieniowanie UV [40]. Okazało się mianowicie, że mutanty niezdolne do produkcji światła (i to zarówno te, które nie miały aktywnej lucyferazy jak i te niosące defekt w innym genie, niezbędnym do produkcji substratu dla tego enzymu) cechuje obniżona zdolność do naprawy DNA gdy po naświetlaniu promieniami UV hodowano je w ciemności, ale nie gdy dalszą hodowlę prowadzono przy dostępie światła widzialnego. Postawiono zatem hipotezę, że światło emitowane przez bakterie luminescencyjne może stanowić wewnętrzne źródło światła, stymulujące naprawę uszkodzeń DNA dzięki aktywacji fotolizy [40]. Hipotezę tę poparły doświadczenia, w których do bakterii *E. coli*, naturalnie niezdolnej do produkcji światła, wprowadzono geny *V. harveyi* warunkujące luminescencję. Zdolne do luminescencji komórki *E. coli* okazały się znacznie bardziej odporne na promieniowanie UV niż komórki typu dzikiego. Wydaje się, że dla bakterii żyjących w środowisku morskim efektywna naprawa DNA przez fotoreaktywa-

cję może mieć bardzo istotne znaczenie. Bakterie te, żyjąc w toni wodnej na różnych głębokościach, mają bardzo utrudniony dostęp do światła słonecznego. Wytworzenie wewnętrznego źródła światła zapewni aktywność fotolizy niezależnie od dostępności światła z zewnątrz.

Osobny problem stanowi regulacja efektywności luminescencji poprzez „zmysł gęstościowy”. Jeśli hipoteza o stymulacji fotoreaktywacji przez bioluminescencję jest słuszna, to wydajna produkcja światła powinna zachodzić niezależnie od gęstości bakterii, przynajmniej w warunkach zagrożenia komórki czynnikami mutagennymi. Rzeczywiście wykazano, że geny kodujące białka niezbędne w procesie luminescencji znajdują się pod negatywną kontrolą represora LexA, czyli są częścią regulonu SOS [40]. Wydajność luminescencji zwiększa się znacznie nawet w hodowlach bakteryjnych o niewielkiej gęstości po ich naświetlaniu promieniami UV [40]. Można w tym miejscu zastanawiać się, czy regulacja luminescencji poprzez „zmysł gęstościowy” może polegać na przygotowaniu bakterii do detoksyfikacji różnych związków i efektywnej naprawy DNA w warunkach dużego zagęszczenia komórek, co wiąże się na ogół z pojawieniem się w środowisku zwiększonego poziomu toksycznych metabolitów i innych substancji mutagennych.

V. Uwagi końcowe

Badania nad zjawiskiem produkcji światła przez bakterie przyczyniły się nie tylko do poznania podstaw biochemicznych tego zjawiska, ale doprowadziły także do wykrycia mechanizmów regulacyjnych występujących dość powszechnie wśród organizmów prokariotycznych. „Zmysł gęstościowy”,

który po raz pierwszy opisano badając regulację bioluminescencji, okazał się niezmiernie interesującym zjawiskiem komunikowania się pomiędzy komórkami bakteryjnymi. Co ważniejsze, zjawisko to występuje m.in. podczas produkcji czynników infekcyjnych u bakterii patogennych a także w trakcie produkcji antybiotyków przez niektóre drobnoustroje. Innym interesującym zagadnieniem jest biologiczna rola luminescencji bakterii. Stwierdzenie, że rolą systemów wytwarzania światła może być stymulacja naprawy DNA i neutralizacja toksycznych metabolitów pojawiających się w wyniku stresu oksydacyjnego było zaskakujące, ale jednocześnie wskazało możliwości wykorzystania procesu luminescencji przez komórki. Prawdopodobnie konieczność efektywnego zabezpieczenia się przed szkodliwymi pochodnymi tlenu oraz konieczność skutecznej naprawy DNA uniezależnionej od zewnętrznych warunków środowiskowych (np. dostępu światła słonecznego) były motorem stymulującym ewolucję systemów bioluminescencji bakterii.

Podziękowanie

Praca była finansowana przez Uniwersytet Gdański (BW 1190-5-0033-1)

*Artykuł otrzymano 18 stycznia 2001 r.
Zaakceptowano do druku 16 lipca 2001 r.*

Piśmiennictwo

1. Rees J-P, De Wergifosse B, Noiset O, Dubuisson M, Jansens B, Thompson EM (1998) *J Exp Biol* **201**: 1211-1221
2. Miyamoto CM, Lin YH, Meighen EA (2000) *Mol Microbiol* **36**: 594-607
3. Fitzgerald JM (1977) *Arch Microbiol* **112**: 153-156
4. Ruby EG (1996) *Annu Rev Microbiol* **50**: 591-624
5. Baumann P, Baumann L, Reichelt JL (1973) *J Bacteriol* **113**: 1144-1155
6. Ruby EG, Morin JG (1979) *Appl Environ Microbiol* **38**: 406-411
7. Belas R, Mileham A, Cohn D, Hilmen N, Simon M, Silverman M (1982) *Science* **218**: 791-793
8. Ziegler MM, Baldwin TO (1981) *Curr Top Bioenerg* **12**: 65-113
9. Jabłoński E, DeLuca M (1978) *Biochemistry* **17**: 672-678
10. Meighen EA (1994) *Annu Rev Genet* **28**: 117-139
11. Bassler BL, Silverman MR (1995) W: Hoch JA, Silhavy TJ (red) Two-Component Signal Transduction. American Society for Microbiology, Washington DC, str 431-445
12. Devine JH, Shadel GS, Baldwin TO (1989) *Proc Natl Acad Sci USA* **86**: 5688-5692
13. Bassler BL, Wright M, Silverman MR (1994) *Mol Microbiol* **13**: 273-286
14. Bassler BL, Wright M, Silverman MR (1994) *Mol Microbiol* **12**: 403-412
15. Freeman JA, Bassler BL (1999) *Mol Microbiol* **31**: 665-677
16. Freeman JA, Bassler BL (1999) *J Bacteriol* **181**: 899-906
17. Surette MG, Miller MB, Bassler BL (1999) *Proc Natl Acad Sci USA* **96**: 1639-1644
18. Meighen EA (1991) *Annu Rev Genet* **28**: 117-139
19. Showalter RE, Martin MO, Silverman MR (1990) *J Bacteriol* **172**: 2946-2954
20. Miyamoto CM, Chatterjee J, Schwartzman E, Szittner R, Meighen EA (1996) *Mol Microbiol* **19**: 767-775
21. Chatterjee J, Miyamoto CM, Meighen EA (1996) *Mol Microbiol* **20**: 415-425
22. Nealson KH, Platt T, Hastings JW (1970) *J Bacteriol* **104**: 313-322
23. Gilson R, Kuo A, Dunlap PV (1995) *J Bacteriol* **177**: 6946-6951
24. Kuo A, Callahan SM, Dunlap PV (1996) *J Bacteriol* **178**: 971-976
25. Bassler BL, Wright M, Showalter RE, Silverman MR (1993) *Mol Microbiol* **9**: 773-786
26. Lilley BN, Bassler BL (2000) *Mol Microbiol* **36**: 940-954
27. Freeman JA, Lilley BN, Bassler BL (2000) *Mol Microbiol* **35**: 139-149
28. Czyż A, Zielke R, Konopa G, Węgrzyn G (2001) *Microbiology* **147**: 183-191
29. Greenberg EP, Hastings JW, Ulitzur S (1979) *Arch Microbiol* **120**: 87-91
30. Bassler BL, Greenberg EP, Stevens AM (1997) *J Bacteriol* **179**: 4043-4045
31. Surette M, Bassler BL (1998) *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 7046-7050
32. Fuqua C, Greenberg P (1999) *Proc Natl Acad Sci USA* **95**: 6571-6572
33. Piper KR, Beck von Bodman S, Farrand SK (1993) *Nature* **362**: 448-450
34. Passandor L, Cook LM, Gambello MJ, Rust L, Iglewski BH (1993) *Science* **260**: 1127-1130
35. McGowan S, Sebahihia M, Jones S, Yu B, Bainton N, Chan PF, Bycroft B, Steward GSA, Williams P, Salmond GPC (1995) *Microbiology* **141**: 541-550
36. Gray KM, Pearson JP, Downie JA, Boboye BEA, Greenberg EP (1996) *J Bacteriol* **178**: 372-376
37. Nealson KH, Hastings JW (1979) *Microbiol Rev* **43**: 496-518
38. Czyż A, Węgrzyn G (2001) W: Case JF, Herring JP (red) *Bioluminescence and Chemiluminescence*, World Scientific Publishing Company, Singapore — w druku
39. Czyż A, Jasiołcki J, Bogdan A, Szpilewska H, Węgrzyn G (2000) *Appl Environ Microbiol* **66**: 599-605
40. Czyż A, Wróbel B, Węgrzyn G (2000) *Microbiology* **144**: 283-288