

## Quorum sensing

# Bakterielle Kommunikation: Signale und Signal-inaktivierende Enzyme

FRANZISKA S. BIRMES, SUSANNE FETZNER  
INSTITUT FÜR MOLEKULARE MIKROBIOLOGIE UND BIOTECHNOLOGIE, UNIVERSITÄT MÜNSTER

**Bacteria are social organisms capable of collective behaviors mediated by chemical communication or “quorum sensing” (QS). However, QS signal molecules often have multiple biological functions. Because many bacterial pathogens regulate virulence gene expression via QS, these systems are attractive targets for antivirulence therapies. One possible strategy to interfere with QS is signal inactivation by quorum quenching enzymes.**

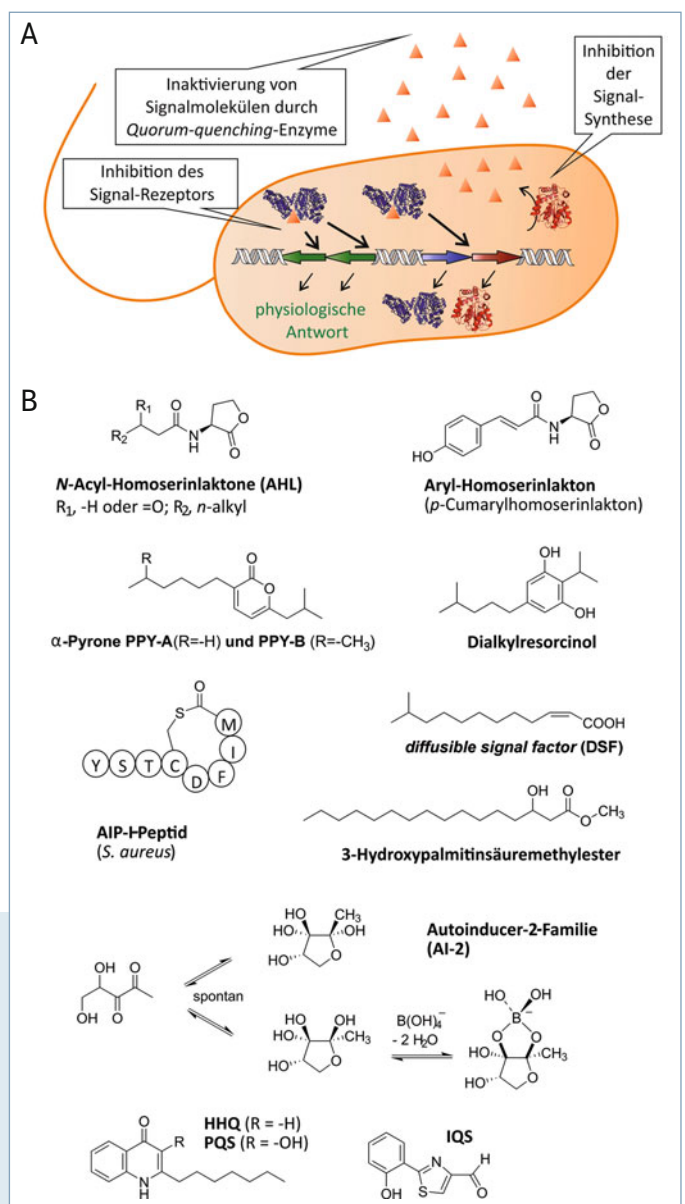
DOI: 10.1007/s12268-016-0681-4  
© Springer-Verlag 2016

Viele Bakterien senden chemische Signalmoleküle aus, die von ihren Artgenossen registriert werden können. Die Zellen einer Population können so ihre räumliche Situation einschätzen und durch Regulation der Genexpression auf Veränderungen ihrer Umwelt reagieren [1]. Dies erfordert eine Schwellenkonzentration an Signalmolekülen, die in Suspensionskulturen mit einer Mindestpopulation – einem *Quorum* – korreliert. Daher wurde für Systeme, mithilfe derer Bakterien ihr Verhalten in Abhängigkeit von der Zelldichte regulieren, der Begriff *Quorum sensing* (QS) geprägt [2]. Häufig wird QS jedoch als Oberbegriff für interzelluläre Kommunikation mittels chemischer Signale verwendet. Viele Verhaltensweisen, die für das Kollektiv von Vorteil sind oder erst im Kollektiv effizient funktionieren, sind QS-gesteuert. So unterliegen Prozesse wie Biolumineszenz, Produktion bioaktiver Sekundärmetaboliten,

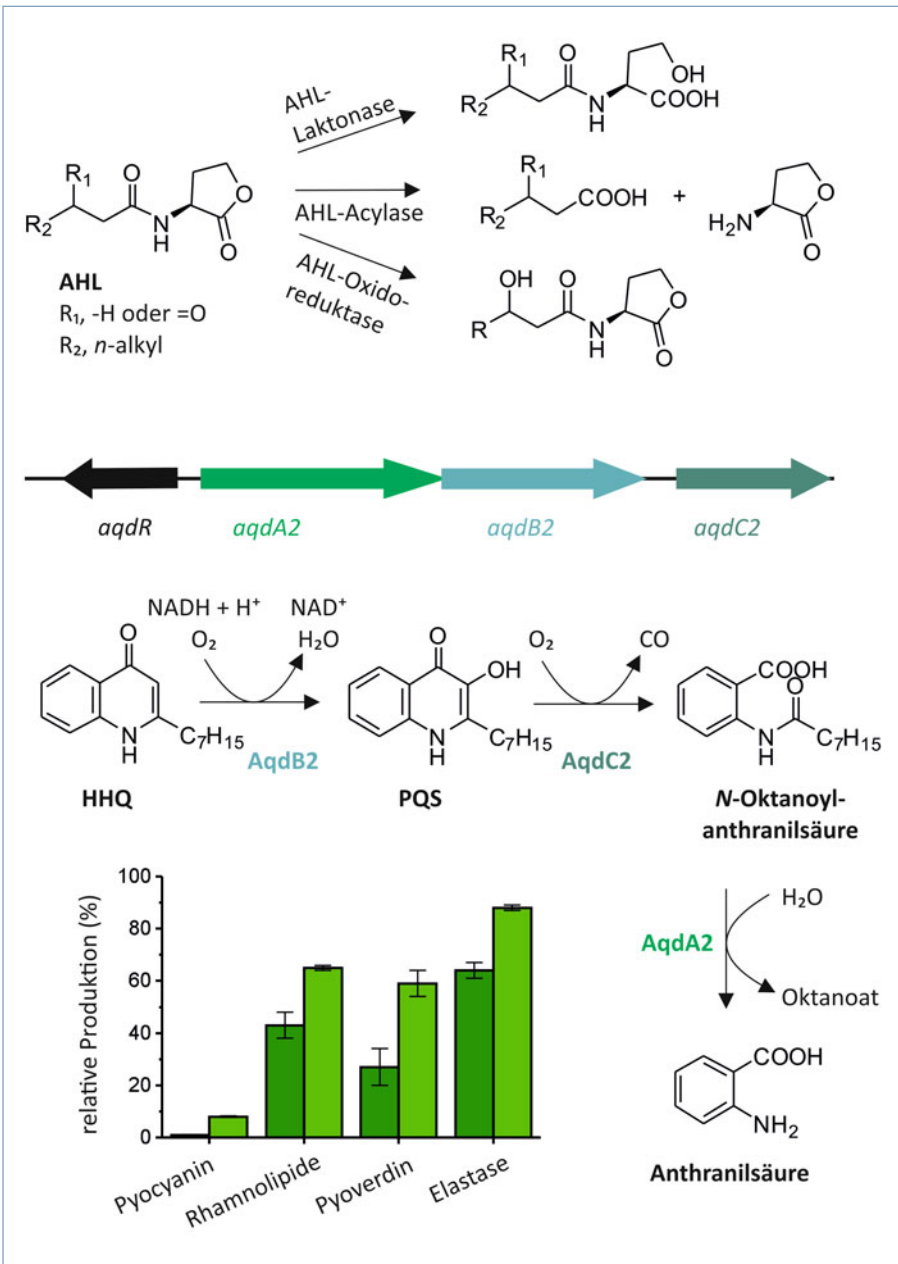
Entwicklung von Biofilmen und Synthese von Virulenzfaktoren durch pathogene Bakterien häufig der Kontrolle durch QS.

Das „Basismodul“ eines QS-Systems besteht aus den Enzymen zur Synthese des Signalmoleküls, dem Signal selbst sowie einem Signalmolekül-Rezeptor. Der Signal-Rezeptor-Komplex kann entweder direkt die Expression von Zielgenen induzieren (Abb. 1A), oder aber das Signal wird von

einem membranständigen Rezeptor erkannt und die Signalwirkung über Zweikomponentensysteme weitergeleitet. Typischerweise gehören die Gene für die Enzyme der Signalbiosynthese zu den Zielgenen (Abb. 1A). So findet eine positive Rückkopplung statt, die schnell zu einer populationsweiten physiologischen Antwort führt.



► **Abb. 1:** *Quorum sensing* (QS)-Systeme. **A**, schematische Darstellung eines QS-Systems und Strategien der QS-Interferenz. Signalmoleküle (Dreiecke) werden von einer Synthese (rotes Protein) gebildet. Sobald die Signalkonzentration einen Schwellenwert erreicht, beeinflusst der Komplex aus Signal und Regulator (blaues Protein) die Transkription des Gens der Signal-Synthese (roter Pfeil; Autoinduktion) sowie verschiedener weiterer Gene (grüne Pfeile). **B**, Chemische Strukturen einiger QS-Signalmoleküle. HHQ: 2-Heptyl-4(1H)-chinolon; PQS: *Pseudomonas quinolone signal*, 2-Heptyl-3-hydroxy-4(1H)-quinolon; IQS: 2-(2-Hydroxyphenyl)-thiazol-4-carbaldehyd.



▲ **Abb. 2:** Signalinaktivierung durch Quorum-quenching-Enzyme. **A,** Reaktionen N-Acyl-Homoserinlaktone(AHL)-umsetzender Enzyme. **B,** Abbau der Signalmoleküle HHQ (2-Heptyl-4(1H)-chinolon) und PQS (*Pseudomonas quinolone signal*) durch *Rhodococcus erythropolis* BG43 und beteiligtes Gencluster (*aqd*, *alkylquinolone degradation*) sowie Virulenzfaktor-Produktion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [pME-*aqdC2*], gemessen acht Stunden (grün) und 24 Stunden (hellgrün) nach Induktion der *aqdC2*-Expression (100 Prozent entspricht der Konzentration der Virulenzfaktoren in Kulturen von *P. aeruginosa* PAO1 [pME]) [7].

**Sprachen und Wortschatz**

Eine Vielzahl Gram-negativer Bakterien nutzt N-Acyl-Homoserinlaktone (AHLs), manche auch Aryl-Homoserinlaktone als diffusible QS-Signalmoleküle (**Abb. 1B**). Pathogene *Photobacterium* spp. regulieren ihre Zellaggregation mittels bestimmter  $\alpha$ -Pyrone, während *P. asymbiotica* über Dialkylresorcinole kommuniziert [3]. Als *diffusible signal factor* (DSF) wird eine Familie cis-2-ungesättigter Fettsäuren bezeichnet, die insbesondere bei

Vertretern der Xanthomonadales vorkommt. 3-Hydroxypalmitinsäuremethylester ist ein Signalmolekül des Phytopathogens *Ralstonia solanacearum*. Die Signale Gram-positiver Bakterien sind dagegen vorwiegend zyklische oder lineare Oligopeptide. Aufgrund ihrer weiten Verbreitung wurde die *Autoinducer-2*-basierte Kommunikation, die auf Derivaten des 4,5-Dihydroxy-2,3-pentandions beruht, auch als „universelle Sprache“ der Bakterien bezeichnet. Im Gegensatz dazu

wurden Signalmoleküle vom Alkylchinolon(AQ)-Typ bisher nur bei dem opportunistischen Pathogen *Pseudomonas aeruginosa*, dem Melioidose-Erreger *Burkholderia pseudomallei* und einigen anderen *Burkholderia spec.* nachgewiesen. Das *Pseudomonas quinolone signal* (PQS, 2-Heptyl-3-hydroxy-4(1H)-chinolon) wie auch das „integrative Signal“ IQS scheinen sogar spezifisch für *P. aeruginosa* zu sein (**Abb. 1B**). Interessanterweise leiten sich vom komplexen AQ-Biosyntheseweg von *P. aeruginosa* weitere bioaktive Stoffe ab [4], wie z. B. das 2-Aminoacetophenon, das die Immunantwort des Wirts moduliert und zudem Fehlfunktionen der Mitochondrien auslöst.

**Kommunikationsblocker**

In mikrobiellen Lebensgemeinschaften sind QS-Systeme der Manipulation durch andere Bakterien oder den besiedelten Wirt ausgesetzt. Dabei lassen sich drei Strategien unterscheiden: die Hemmung der Signalmolekülbiosynthese, die Blockierung des Signalmolekül-Rezeptors sowie die Inaktivierung der Signalmoleküle selbst (**Abb. 1A**). So bildet beispielsweise die australische Makroalge *Delisea pulchra* bromierte Furanone, die den AHL-Rezeptor destabilisieren und zudem mit dem *Autoinducer-2*-System interferieren. Reaktive Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen, die von Phagozyten produziert werden und Peptidsignale oxidieren, stören die Kommunikation von *Staphylococcus aureus* [5]. Auch die oxidative Inaktivierung von PQS beruht vermutlich auf nicht-enzymatischen Prozessen [6]. *Quorum-quenching*-Enzyme katalysieren die chemische Modifikation oder Spaltung von Signalmolekülen; die eigentliche physiologische Bedeutung dieser Enzyme ist jedoch häufig nicht bekannt. Vom Signalmolekül-Produzenten selbst gebildete Enzyme können zur Reduktion der Signalkonzentration oder zum Recycling des Signals führen. Vom besiedelten Wirt oder von anderen Mikroorganismen produzierte Enzyme mögen der Signalinterferenz dienen, Entgiftungsfunktion haben oder zur Erschließung des Signalstoffes als Kohlenstoff- und Energiequelle beitragen [5].

Unter den *Quorum-quenching*-Enzymen (**Abb. 2A**) sind AHL-Laktonasen und -Acylasen unter prokaryotischen, aber auch eukaryotischen Mikroorganismen weit verbreitet. Auch die von Säugetieren in Blutserum, Leber, Epithelien und anderen Geweben gebildeten „Paraoxonasen“ sind wahrscheinlich eigentlich AHL-Laktonasen, die zur Abwehr patho-

gener Bakterien beitragen. Weitere Signalmolekül-inaktivierende Enzyme umfassen AHL-Oxidoreduktasen, eine extrazelluläre Esterase, die langkettige 3-Hydroxyfettsäuremethyl-ester hydrolysiert, und bisher nicht identifizierte bakterielle Enzyme zur Modifikation von DSF [5]. Das von uns isolierte Bakterium *Rhodococcus erythropolis* BG43 baut die *P. aeruginosa*-Signalmoleküle 2-Heptyl-4(1*H*)-chinolon (HHQ) und PQS zu Anthranilsäure ab. Dabei wird die Expression der beteiligten Gene durch PQS oder eines aus PQS entstehenden Metaboliten aktiviert, was auf einen spezifischen Abbauweg hinweist. Heterologe Expression der PQS-Dioxygenase von *R. erythropolis* BG43 in *P. aeruginosa* PAO1 führte zur Abschwächung der Virulenzfaktor-Produktion (**Abb. 2B**, [7]).

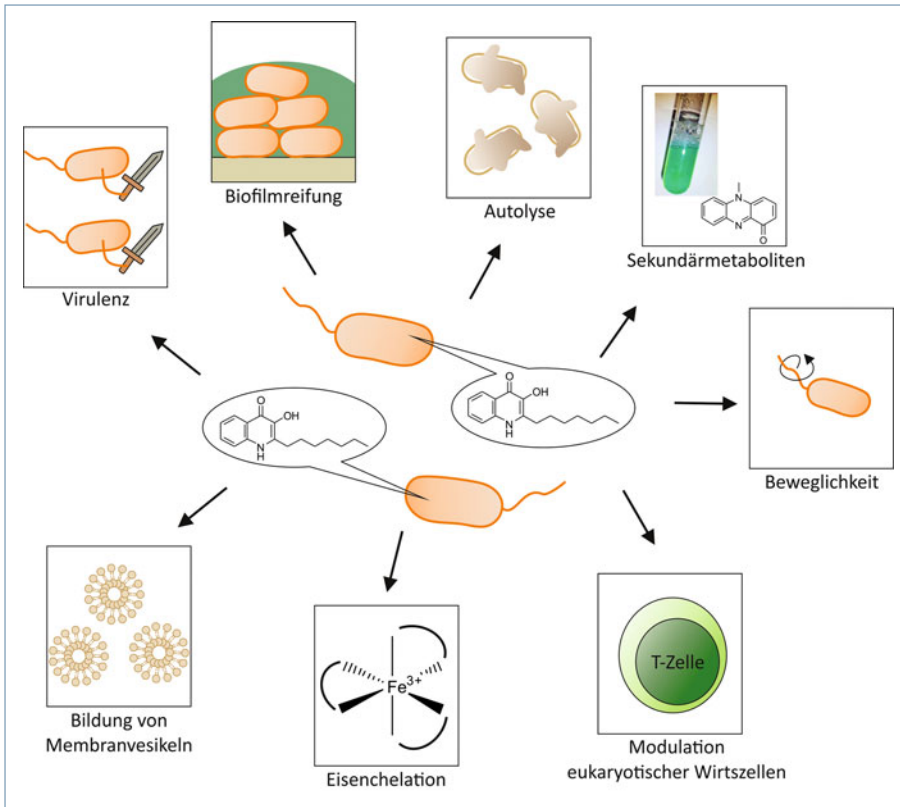
Das bei *R. erythropolis* BG43 identifizierte *aqd2*-Gencluster (*aqd* für *alkylquinolone degradation*) ist bei manchen Spezies nicht-tuberkulöser Mykobakterien konserviert. Dies ist äußerst interessant, da Menschen mit Mukoviszidose, die meist an chronischen

*P. aeruginosa*-Infektionen leiden, auch anfällig für Infektionen mit Mykobakterien, insbesondere des *Mycobacterium abscessus*-Komplexes sind. Wir konnten zeigen, dass *M. abscessus* (DSM 44196) tatsächlich in der Lage ist, HHQ und PQS zu verstoffwechseln. Das AQ-basierte *Quorum sensing* trägt maßgeblich zur Regulation der Synthese antimikrobiell wirkender Exoprodukte von *P. aeruginosa*, wie redoxaktiven Phenazinen, Eisenchelatoren und oberflächenaktiven Rhamnolipiden, bei [8]. Hinzu kommt, dass PQS und HHQ selbst Phänotyp-modulierende und antimikrobielle Eigenschaften aufweisen [9]. Somit stellt sich die Frage, ob die Fähigkeit zum AQ-Abbau dazu beiträgt, dass sich *M. abscessus* in der polymikrobiellen Infektion gegenüber *P. aeruginosa* behaupten kann.

#### Wort oder Waffe?

Als QS-Signalmoleküle beschriebene Sekundärmetaboliten und ihre Derivate besitzen häufig multiple biologische Aktivitäten. PQS

beispielsweise wirkt als Eisenchelator und Prooxidans und verändert die Eigenschaften biologischer Membranen. Es induziert die Abschnürung von toxin- und enzymhaltigen Vesikeln der äußeren Membran von *P. aeruginosa* und trägt so zur Verbreitung unterschiedlicher Virulenzfaktoren bei (**Abb. 3**, [8]). 2-Heptyl-4-hydroxychinolin-*N*-oxid (HQNO), ein Inhibitor des respiratorischen Cytochrom-*bc*<sub>1</sub>-Komplexes, ist neben PQS eines der Hauptprodukte des verzweigten AQ-Biosyntheseweges. Es trägt zur Autolyse von *P. aeruginosa* und DNA-Freisetzung bei, was wiederum die Biofilmbildung fördert [10]. HQNO interferiert insbesondere mit Gram-positiven Bakterien; so führt HQNO-induzierte Umstellung auf fermentativen Stoffwechsel zu verminderter Vitalität von *S. aureus*. Anpassungen von *S. aureus* an HQNO umfassen verstärkte Biofilmbildung und Ausbildung von *small colony variants*, die sich durch einen veränderten Stoffwechsel und eine erhöhte Resistenz gegenüber bestimmten Antibiotika auszeichnen [11]. Betrachtet man die vielfältigen bio-



▲ **Abb. 3:** Biologische Aktivitäten von 2-Heptyl-3-hydroxy-4(1H)-quinolon (PQS, *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal).

cule favors biofilm formation and antibiotic tolerance. *Curr Biol* 26:1–12  
 [11] Filkins LM, Graber JA, Olson DG et al. (2015) Coculture of *Staphylococcus aureus* with *Pseudomonas aeruginosa* drives *S. aureus* towards fermentative metabolism and reduced viability in a cystic fibrosis model. *J Bacteriol* 197:2252–2264

**Korrespondenzadresse:**  
 Prof. Dr. Susanne Fetzner  
 Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie  
 Westfälische Wilhelms-Universität Münster  
 Corrensstraße 3  
 D-48149 Münster  
 Tel.: 0251-83-39824  
 Fax: 0251-83-38388  
 fetzner@uni-muenster.de

logischen Wirkungen von Signalmolekülen und abgeleiteten Verbindungen, bedeutet ihre enzymkatalysierte Inaktivierung mehr als ein *Quorum quenching* im wörtlichen Sinn.

**Entwaffnung**

Da QS-Systeme Angriffspunkte zur Abschwächung der Virulenz pathogener Bakterien bieten, wird intensiv an der Identifizierung von interferierenden Naturstoffen, der Entwicklung synthetischer Wirkstoffe zur Hemmung von Signalsynthese und Signalrezeption und an der Optimierung Signalmolekül-inaktivierender Enzyme geforscht. Zudem wird die Verwendung von Signalmolekül-degradierenden Bakterien als Probiotika in der Aquakultur oder als biologisches Pflanzenschutzmittel gegen von *Pectobacterium carotovorum* verursachte Weichfäule erprobt [5]. Vielfach konnte die prinzipielle Wirksamkeit dieser Ansätze in Infektionsmodellen nachgewiesen werden. Die Entwaffnung des Pathogens erleichtert es den Abwehrmechanismen des Wirts, die bakterielle Infektion zu bekämpfen. *Quorum quenching* ist somit eine vielversprechende Ergänzung oder sogar Alternative zur klassischen Antibiotika-Therapie.

**Danksagung**

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Studienstiftung des deutschen Volkes für finanzielle Unterstützung.

**Literatur**

[1] Hense BA, Kuttler C, Müller J et al. (2007) Does efficiency sensing unify diffusion and quorum sensing? *Nat Rev Microbiol* 5:230–239  
 [2] Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP (1994) Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J Bacteriol* 176:269–275  
 [3] Brameyer S, Bode HB, Heermann R (2015) Languages and dialects: bacterial communication beyond homoserine lactones. *Trends Microbiol* 23:521–523  
 [4] Drees SL, Fetzner S (2015) PqsE of *Pseudomonas aeruginosa* acts as pathway-specific thioesterase in the biosynthesis of alkylquinolone signaling molecules. *Chem Biol* 22:611–618  
 [5] Fetzner S (2015) Quorum quenching enzymes. *J Biotechnol* 201:2–14  
 [6] Soh EY, Chhabra SR, Halliday N et al. (2015) Biotic inactivation of the *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal molecule. *Environ Microbiol* 17:4352–4365  
 [7] Müller C, Birmes FS, Rückert C et al. (2015) *Rhodococcus erythropolis* BG43 genes mediating *Pseudomonas aeruginosa* quinolone signal degradation and virulence factor attenuation. *Appl Environ Microbiol* 81:7720–7729  
 [8] Williams P, Cámara M (2009) Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Curr Opin Microbiol* 12:182–191  
 [9] Reen FJ, Mooij MJ, Holcombe LJ et al. (2011) The *Pseudomonas* quinolone signal (PQS), and its precursor HHQ, modulate interspecies and interkingdom behaviour. *FEMS Microbiol Ecol* 77:413–428  
 [10] Hazan R, Que YA, Maura D et al. (2016) Auto poisoning of the respiratory chain by a quorum-sensing-regulated mole-

**AUTORINNEN**



Franziska S. Birmes (links) und Susanne Fetzner

**Franziska S. Birmes**

2009–2012 Studium der Biowissenschaften (Bachelor) und 2012–2014 Studium der Biotechnologie (Master) an der Universität Münster. Seit 2015 Promotion am Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der Universität Münster.

**Susanne Fetzner**

1982–1990 Studium der Biologie (Diplom) und Promotion an der Universität Hohenheim. 1996 Habilitation in Mikrobiologie, anschließend Vertretung der Professur für Mikrobiologie an der Universität Oldenburg. Seit 2002 C3-Professorin für Mikrobiologie an der Universität Münster; Leiterin der Arbeitsgruppe „Biochemie bakterieller Stoffwechselprozesse“.