

Interzelluläre Kommunikation

Klein, gefährlich und gesprächig – *Quorum sensing* bei *Vibrio cholerae*

YANNIK HECHER, KAI PAPENFORT
INSTITUT FÜR MIKROBIOLOGIE, UNIVERSITÄT JENA

To efficiently interact with their environment, bacteria often work in groups to solve complex tasks. Coordination of collective functions requires communication among the members of the group, a process typically referred to as *quorum sensing* (QS). Marine *Vibrio* species, including the major human pathogen *Vibrio cholerae*, have become a model to study the regulatory architecture underlying QS. In this review we summarize how *V. cholerae* employs QS to regulate virulence, biofilm formation, type-6-secretion, and phage interactions.

DOI: 10.1007/s12268-020-1344-z
© Die Autoren 2020

■ Ein Krieg und ein Zyklon haben ihr wieder zu Bekanntheit verholfen: Die vergessene Cholera fordert noch heute Menschenleben, fast ausschließlich in krisengeplagten Ländern der Welt, wie Jemen und Mosambik [1]. Auslöser dieser Durchfallerkrankung ist ein Gram-negatives Stäbchenbakterium: *Vibrio cholerae* besiedelt den menschlichen Dünndarm und löst dort nach Produktion des Cholera-Toxins akute Diarrhoe aus, die unbehandelt zum Tod führen kann. Außerhalb des menschlichen Wirts kommt *V. cholerae* in aquatischen Habitaten vor, z. B. in Assoziation mit Chitin-gepanzertem Zooplankton [2]. Diese Populationen sind ein Reservoir für Neuinfektionen.

Um derart unterschiedliche Lebensräume erfolgreich besiedeln zu können, muss *V. cholerae* die eigene Umgebung wahrnehmen und analysieren. Diese besteht aus Wasser, Salzen und Nährstoffen, aber auch aus anderen Bakterien, Viren und Eukaryoten. Mit einigen dieser Zelltypen gilt es für *V. cholerae* zu kooperieren, mit manchen zu kompetieren und vor anderen sich zu tarnen. Um diese Prozesse effizient zu koordinieren, benutzt *V. cholerae* eine Kommunikationsform, die als *Quorum sensing* (QS) bezeichnet wird.

Redselige Bakterien

QS basiert auf der Produktion, Sekretion und Detektion von Signalstoffen, den *Autoindu-*

cern (AI). Vom passenden Rezeptor gebunden, ändern sie konzentrationsabhängig die Expression verschiedener Gene. Bei *V. cholerae* betrifft dies einige Hundert Gene [3]. AI-spezifische Rezeptoren können z. B. Zwei-Komponenten-Histidinkinasen oder Transkriptionsfaktoren des LuxR-Typs sein [4]. Erstere regulieren oft Transkriptionsfaktoren, indem sie an diese Phosphatgruppen transferieren. Dagegen besitzen LuxR-Transkriptionsfaktoren in der Regel eine Bindedomäne für AI-Moleküle und eine weitere für DNA. Die Interaktion mit dem AI-Molekül führt zu einer Konformationsänderung des LuxR-Transkriptionsfaktors und ermöglicht so die spezifische DNA-Bindung.

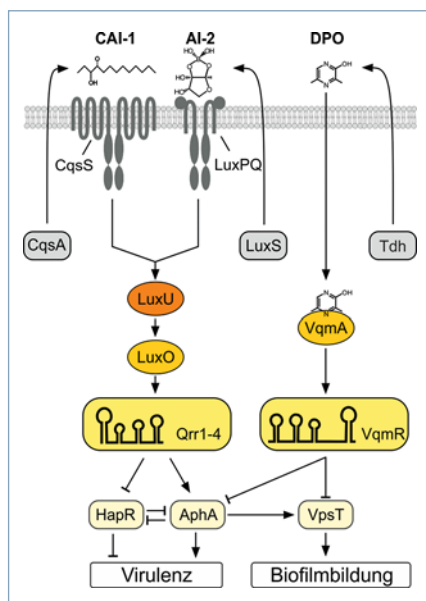
Um die Aktivität dieser Rezeptoren zu regulieren, produzieren Bakterien viele unterschiedliche AI-Moleküle. Generell kommunizieren Gram-positive Bakterien über kleine Peptide und Gram-negative über niedermolekulare Signalstoffe. Zu wichtigen Vertretern der Letzteren zählen die N-Acylhomoserinlaktone (AHL), die von LuxI-ähnlichen Synthesen produziert werden und die Membranen Gram-negativer Bakterien durchdringen können [4].

Multiple *Autoinducer* kontrollieren *Quorum sensing* bei *V. cholerae*

V. cholerae besitzt gleich drei bekannte QS-Systeme. Das kanonische QS-System

umfasst die Produktion und Detektion zweier *Autoinducer*: CAI-1, ein α -Hydroxyketon, und AI-2, ein zyklischer Furanosylboratdiester [4]. Deren jeweilige Rezeptoren (CqsS für CAI-1 und LuxPQ für AI-2) sind membranständig und je nach QS-Status Kinasen oder Phosphatasen. Bei niedriger Zelldichte (*low cell density*, LCD) – wenn nur wenige Rezeptoren durch *Autoinducer* gebunden sind – fungieren die Rezeptoren als Kinasen und aktivieren eine gemeinsame Phosphattransportkette (Abb. 1). Diese führt letztlich zur Transkription von vier homologen regulatorischen RNAs (*small RNAs*, sRNAs). Diese sRNAs heißen *Qrr1–4* und paaren mit diversen mRNAs. Hierdurch aktivieren sie mitunter die Synthese des LCD-Schlüsselregulators AphA und inhibieren die Produktion des *high cell density* (HCD)-Schlüsselregulators HapR. Das wirkt sich auf die Expression Hunderter Gene aus, von denen einige zur Biofilmbildung und zur Produktion des Cholera-Toxins notwendig sind. Bei hohen AI-Konzentrationen – also bei HCD – wirken dieselben Rezeptoren (CqsS und LuxPQ) als Phosphatasen. Sie hemmen somit die Phosphattransportkette und damit die Transkription von *qrr1–4*, was die Produktion von HapR zur Folge hat. Zudem inhibieren sich AphA und HapR gegenseitig auf transkriptioneller Ebene und schaffen so reziproke LCD- bzw. HCD-Genexpressionsmuster [5].

Ein zusätzlicher Faktor in der QS-abhängigen Genregulation bei *V. cholerae* ist der kürzlich entdeckte *Autoinducer* DPO (3,5-Dimethylpyrazin-2-ol) [6]. DPO gehört zur Gruppe der Pyrazine und wird in *V. cholerae* aus L-Threonin hergestellt. Die Detektion von DPO beruht auf dem cytoplasmatischen LuxR-Rezeptorprotein VqmA, das auch in anderen *Vibrio*-Spezies zu finden ist. DPO-gebundenes VqmA induziert die Transkription von *vqmR*, einer weiteren sRNA, die mittels Basenpaarung mehrere mRNAs reguliert – darunter *vpsT* und *aphA* (Abb. 1). Beide mRNAs codieren für zentrale Faktoren der Biofilmbildung und Virulenz von *V. cholerae*.



▲ **Abb. 1:** *Vibrio cholerae* synthetisiert drei Autoinducer (AI): CAI-1, AI-2 und DPO. Bei niedrigen Konzentrationen von CAI-1 und AI-2 fungieren die Rezeptoren CqsS und LuxPQ als Kinasen und aktivieren eine Phosphattransportkette, die zur Expression von *qrr1-4* führt. Diese sRNAs aktivieren *aphA* und inhibieren *hapR*. Die Bindung von CAI-1 und AI-2 an CqsS und LuxPQ sorgt dafür, dass die Rezeptoren als Phosphatasen wirken, was *qrr1-4* unterdrückt. Die Bindung von DPO an VqmA aktiviert die Transkription der VqmR sRNA, die durch posttranskriptionale Hemmung von *aphA* und *vpsT* die Virulenz bzw. Biofilmbildung unterdrückt. DPO wird durch die Threonindehydrogenase Tdh hergestellt, CAI-1 durch CqsA und AI-2 durch LuxS.

QS-abhängige Regulation von Biofilmbildung und Virulenz

Biofilme sind Zusammenschlüsse von Bakterien, die über eine extrazelluläre Matrix aus verschiedenen Biopolymeren, etwa Polysacchariden und Proteinen, miteinander verbunden sind. *V. cholerae* bildet bevorzugt Biofilme auf Chitinoberflächen in aquatischen Habitaten oder auf der Mukusschicht des menschlichen Dünndarms [7]. Die Bildung der *Vibrio*-Polysaccharide (VPS) ist komplex reguliert, unter anderem durch den Transkriptionsfaktor VpsT, aber auch durch AphA und HapR [3, 5]. AphA aktiviert *vpsT*, während HapR *vpsT* reprimiert. Da die sRNAs Qrr1-4 sowohl *aphA* als auch *hapR* regulieren, beeinflussen diese indirekt die Biofilmbildung. Des Weiteren inhibiert VqmR die Produktion von AphA und VpsT auf posttranskriptioneller Ebene und stellt damit eine regulatorische

Verbindung zwischen DPO und der Biofilmbildung bei *V. cholerae* her (**Abb. 1**, [5, 6, 8]).

AphA kontrolliert nicht nur die Synthese von Biofilmfaktoren in *V. cholerae*, sondern auch die Expression von Virulenzfaktoren. AphA ist der initiale Regulator in einer Kaskade mehrerer Transkriptionsfaktoren, die schließlich zur Sekretion des Cholera-Toxins führen [7]. Dem entgegen steht HapR, das *aphA* bei HCD inhibiert und damit indirekt die Virulenzgene unterdrückt. Daher kontrollieren die sRNAs Qrr1-4 und VqmR neben der Biofilmbildung auch die Produktion von Virulenzfaktoren bei *V. cholerae*. Trotz entgegengesetzter Regulationsmuster (Qrr1-4 aktivieren *aphA*, VqmR inhibiert *aphA*) arbeiten also alle drei Autoinducer zusammen, um die Genexpression von *V. cholerae* zu steuern [5]. Dieser Effekt ist dadurch zu erklären, dass AI-2 und CAI-1 die Produktion der sRNAs Qrr1-4 unterdrücken, wobei DPO die Synthese von VqmR aktiviert. Tatsächlich konnten wir zeigen, dass eine Kombination der drei Autoinducer die Zahl der QS-abhängigen Gene in *V. cholerae* auf bis zu 400 erhöht [5].

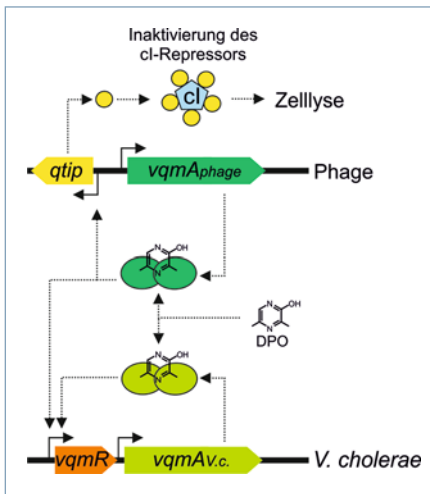
Molekulare Kanonen und spionierende Viren

Mit dem Typ-6-Sekretionssystem (T6SS) – einer Nadel-ähnlichen Struktur – injiziert *V. cholerae* Effektorproteine in konkurrierende Bakterien. Dadurch versucht es, diese zu eliminieren oder deren DNA und somit potenziell nützliche Informationen aufzunehmen [9]. Während ein Effekt von DPO auf das T6SS von *V. cholerae* bis jetzt nur vermutet werden kann, ist der Einfluss des kanonischen QS-Systems bereits gut untersucht. Qrr1-4 hemmen bei LCD ein zentrales Gencluster für T6SS-Strukturkomponenten [10]. Außerdem inhibieren diese vier sRNAs die Produktion von HapR, das den Transkriptionsfaktor QstR aktiviert. QstR wiederum induziert die Expression von T6SS-Effektorproteinen [9]. Dieser QS-abhängige Mechanismus reguliert bei wachsender Zelldichte den zeitlich geregelten Aufbau des T6SS.

Neben anderen Prokaryoten begegnet *V. cholerae* außerdem einer Vielzahl viraler Partikel, beispielsweise temperenten Bakteriophagen. Diese kommen im Dünndarm wie auch in aquatischen Habitaten vor und sind spezifisch für bakterielle Wirtszellen [11]. Sie erkennen diese anhand von Ober-

Hier steht eine Anzeige.

 Springer



▲ Abb. 2: *Vibrio cholerae* und der Phage VP882 wechselwirken über den Autoinducer DPO. Das VqmA_{Phage}-Protein bindet DPO und aktiviert die Expression von Otip. Otip ist ein kleines Protein, das den cl-Phagenrepressor bindet und hemmt. Das leitet die Phagen-abhängige Lyse der Wirtszelle ein. VqmA_{Phage} und das *V. cholerae*-eigene VqmA aktivieren außerdem die Expression der VqmR sRNA.

flächenstrukturen und können in ihrer Wirtszelle entweder lysogen verweilen oder diese lysieren, um neue Bakterien zu besiedeln. *Vibrio*-spezifische Bakteriophagen heißen Vibriophagen. Diese üben einen hohen Druck auf *V. cholerae*-Populationen aus und bringen saisonale Epidemien regelmäßig zum Erliegen. QS schützt das Bakterium vor Phagen durch die Aktivierung von extrazellulären Proteasen und durch die Repression des Lipopolysaccharids [11]. *V. cholerae* ändert also seine Zelloberfläche, um sich vor Vibriophagen zu tarnen.

Ferner beeinflusst das DPO-System die Wechselwirkung zwischen *V. cholerae* und dem Phagen VP882 [12]. Dieser Vibriophage besitzt eine Kopie des DPO-bindenden Regulators *vqmA*, der nach Aufnahme des Virus in der Wirtszelle exprimiert wird (**Abb. 2**). Bei steigender Zelldichte bindet VqmA_{Phage} den Autoinducer DPO und setzt eine Regulationskaskade in Gang, die zur Lyse der Bakterienzelle führt. Fundamental ist hierbei die VqmA_{Phage}-abhängige Aktivierung des Phagenproteins Otip, das den zentralen Phagenrepressor cl bindet und damit die Zelllyse einleitet. Zusätzlich kann VqmA_{Phage} das

V. cholerae-Gen *vqmR* aktivieren, sodass der Phage potenziell auch in eines der QS-Systeme seines Wirts eingreifen kann.

Das humanpathogene Bakterium *V. cholerae* nutzt QS, um komplexe Verhaltensweisen wie Virulenz gruppenweit zu koordinieren. Ein besseres Verständnis dieser Signalwege könnte demnach der Entwicklung neuer Therapeutika dienen, die in Zeiten von Antibiotikaresistenzen und humanitären Krisen benötigt werden. Da alle bekannten QS-Systeme bei *V. cholerae* Virulenz hemmen, wäre es möglich, durch verschiedene QS-aktivierende Moleküle die Cholera zu bekämpfen.

Danksagung

Wir danken der DFG (PA2820/1), dem Human Frontiers Science Program (CDA00024/2016-C) und dem European Research Council (StG-758212) für die finanzielle Unterstützung sowie allen Mitgliedern unserer Arbeitsgruppe für viel Humor, für die angenehme Zusammenarbeit und die anspruchsvollen Diskussionen. ■

Literatur

- [1] Rabaan AA (2019) Cholera: an overview with reference to the Yemen epidemic. *Front Med* 13:213–228
- [2] Harris JB, LaRocque RC, Qadri F et al. (2012) Cholera. *Lancet* 379:2466–2476
- [3] Herzog R, Papenfort K (2018) Transcriptomic approaches for studying quorum sensing in *Vibrio cholerae*. *Methods Enzymol* 612:303–342
- [4] Papenfort K, Bassler BL (2016) Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Micro* 14:576–588
- [5] Herzog R, Peschek N, Fröhlich KS et al. (2019) Three autoinducer molecules act in concert to control virulence

gene expression in *Vibrio cholerae*. *Nucleic Acids Res* 47:3171–3183

- [6] Papenfort K, Silpe JE, Schramma KR et al. (2017) A *Vibrio cholerae* autoinducer-receptor pair that controls biofilm formation. *Nat Chem Biol* 13:551–557
- [7] Silva AJ, Benitez JA (2016) *Vibrio cholerae* biofilms and cholera pathogenesis. *PLoS Negl Trop Dis* 10:e0004330
- [8] Papenfort K, Forstner KU, Cong JP et al. (2015) Differential RNA-seq of *Vibrio cholerae* identifies the VqmR small RNA as a regulator of biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:E766–E775
- [9] Veening JW, Blokesch M (2017) Interbacterial predation as a strategy for DNA acquisition in naturally competent bacteria. *Nat Rev Microbiol* 15:621–629
- [10] Shao Y, Bassler BL (2014) Quorum regulatory small RNAs repress type VI secretion in *Vibrio cholerae*. *Mol Microbiol* 92:921–930
- [11] Hoque MM, Naser IB, Bari SM et al. (2016) Quorum regulated resistance of *Vibrio cholerae* against environmental bacteriophages. *Sci Rep* 6:37956
- [12] Silpe JE, Bassler BL (2019) A host-produced quorum-sensing autoinducer controls a phage lysis-lysogeny decision. *Cell* 176:268–280

Funding: Open Access funding provided by Projekt DEAL.

Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Kai Papenfort
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Institut für Mikrobiologie
Lehrstuhl für Allgemeine Mikrobiologie
BiolInstrumentezentrum (BIZ), M1-E3
Winzerlaer Straße 2
D-07745 Jena
kai.papenfort@uni-jena.de
www.papenfortlab.org

AUTOREN



Yannik Hecher

Jahrgang 1994. 2013–2017 Biologiestudium an der LMU München. 2016–2019 Bachelorarbeit und weiterführendes Projekt in der AG Papenfort. Seit 2019 Studien zu Sustainable Resource Management an der TU München und Environmental Studies an der LMU München.



Kai Papenfort

Jahrgang 1981. 2000–2005 Biologiestudium an der Universität Marburg. 2006–2010 Promotion am Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie und an der HU Berlin. 2010–2012 Postdoc am Institut für Molekulare Infektionsbiologie der Universität Würzburg. 2012–2015 Postdoc am Department of Molecular Biology an der Princeton University, USA. 2015–2019 Professor für Mikrobiologie (W2), LMU München. Seit 2019 Professor (W3) für Allgemeine Mikrobiologie, Universität Jena.