

Die Kommunikation von Bakterien

Kirsten Jung

Zusammenfassung

Lange Zeit ging man davon aus, dass Bakterien als isolierte, einzellige Organismen leben, deren einzige Aufgabe darin besteht, sich zu vermehren. Heute weiß man, dass Bakterien innerhalb der eigenen Art, zwischen verschiedenen Arten, aber auch mit Eukaryoten kommunizieren können.

Die Sprache der Bakterien ist eine chemische, das heißt, sie basiert praktisch immer auf der Produktion und Wahrnehmung von niedermolekularen Signalmolekülen. Die chemische Struktur dieser Moleküle ist äußerst variabel und reicht von der weit verbreiteten Gruppe der *N*-Acyl-L-homoserinlactone über kurze Peptide bis hin zu Fettsäuren. Die Kommunikation zwischen Bakterien ist an der Regulierung einer Vielzahl sehr verschiedener Phänomene beteiligt, z. B. der Bildung von Biofilmen oder der Produktion von Virulenzfaktoren und extrazellulären hydrolytischen Enzymen. Darüber hinaus kann durch die Kommunikation mit Signalmolekülen auch eine einfache Form der Arbeitsteilung bei Bakterien erreicht werden, was zu einer phänotypischen Heterogenität, also einem individuellen Verhalten der genetisch identischen Individuen innerhalb einer Population führt. Jüngste Studien belegen, dass verschiedenste Signalmoleküle von Bakterien ausgesendet und von eukaryotischen Organismen inklusive des Menschen empfangen werden und dabei unter anderem das Immunsystem beeinflussen.

Summary

The communication of bacteria

For a long time it was assumed that bacteria live as isolated, single-celled organisms, whose sole purpose is to reproduce. We now know that bacteria can communicate within their own species, between different species, but also with eukaryotes.

Bacteria use a chemical language for communication that is based on the production and perception of small signalling molecules. The chemical structure of these molecules is extremely variable, ranging from *N*-acyl-L-homoserine lactones and short peptides to fatty acids. The communication between bacteria controls a variety of very different phenomena, for example, biofilm formation or the production of virulence factors and extracellular hydrolytic enzymes. Moreover, there are examples where chemical communication is used for generation of simple forms of division of labour, which results in phenotypical heterogeneity of genetically identical bacteria within a population. Recent studies show that signalling molecules emitted by bacteria and received by eukaryotic organisms including humans have effects on the immune and other systems.

✉ Prof. Dr. Kirsten Jung, Ludwig-Maximilians-Universität München, Fakultät für Biologie, Mikrobiologie, Großhaderner Straße 2-4, 82152 Martinsried; jung@lmu.de

Einführung

Bakterien und Archaeen sind vor ca. 3,5 Milliarden Jahren auf der Erde entstanden und haben über mehr als 2 Milliarden Jahre diesen Lebensraum allein besiedelt. Stellt man sich die Entwicklung der Erde anhand einer Uhr vor, so wäre die Erde um 0:00 Uhr entstanden und um 4:00 Uhr morgens sind die ersten Prokaryoten (Bacteria und Archaea) vorhanden. Erst nach einer langen Zeitspanne, um 16:00 Uhr, findet man auf der Erde die erste eukaryotische Zelle und um 23:59:55 Uhr den Menschen. Daher ist es kein Wunder, dass die vielen Beispiele der chemischen Kommunikation, wie wir sie heute gehört haben, letztendlich immer mit Prokaryoten in Zusammenhang stehen. Bei der Besiedlung der Erde haben die Prokaryoten im Laufe ihrer Evolution immer wieder neue Ökosysteme ergründen und nutzen können. Die Kommunikation bei Bakterien ist deshalb einerseits eine Kommunikation zwischen den Bakterien – z. B. zur Bestimmung der Zelldichte und Populationsgröße, zur Arbeitsteilung und zum Ausschalten der Konkurrenz, wie im Folgenden gezeigt werden wird – und andererseits eine Kommunikation zwischen Bakterien und Eukaryoten.

Die extrem lange Zeit der Besiedlung unserer Erde mit Bakterien steht im Gegensatz zur Zeitspanne der Erforschung dieser Organismen. Das Fach Mikrobiologie ist eines der jüngsten Sparten der Biologie, und das Phänomen der Kommunikation von Bakterien wird erst seit 25 Jahren intensiv beforscht.

Quorum Sensing

Die ersten Beobachtungen, dass es eine zell-dichteabhängige und signalmolekülgesteuerte Regulierung bei Bakterien gibt, gehen auf Experimente mit sog. biolumineszenten Bakterienkulturen zurück. Die Bakterienart *Aliivibrio fischeri* (*Vibrio fischeri*) lebt symbiontisch im Leuchtorgan des Zwergtintenfisches *Euprymna scolopes*. *A. fischeri* vermehrt sich am Tag und erreicht nachts eine Zelldichte, die groß genug ist, damit es zu einer Biolumineszenz kommt. Am nächsten Morgen werden die meisten Bakterien wieder ausgespült und der Prozess wiederholt sich. Dieses Phänomen wird als sog. Quorum Sensing (QS) bezeichnet (Fuqua et al. 1994). Der Begriff Quorum stammt aus dem juristischen Bereich und ist schon in der Antike von den Römern geprägt worden. Ein Quorum bedeutet, dass eine bestimmte Zahl an Mitgliedern vorhanden sein muss, damit eine Entscheidung gefällt werden kann. Diesen Begriff haben Mikrobiologen auf Bakterien übertragen, bei denen es mit dem Überschreiten einer bestimmten Zelldichte zu einer Entscheidung kommt, z. B. dem Anschalten eines bestimmten Phänotyps wie der Biolumineszenz. In einer Bakterienkultur produzieren zunächst wenige Zellen bestimmte Signalmoleküle, sog. QS-Moleküle oder Autoinduktoren (Abb. 1a). Mit der Vermehrung und der Zunahme der Zellzahl steigt auch die Konzentration der Signalmoleküle (Abb. 1b). Wird eine bestimmte Schwellenkonzentration dieser Moleküle überschritten, kommt es zu einem Umschalten in den Eigenschaften der Population. Das Grundprinzip ist dabei, dass

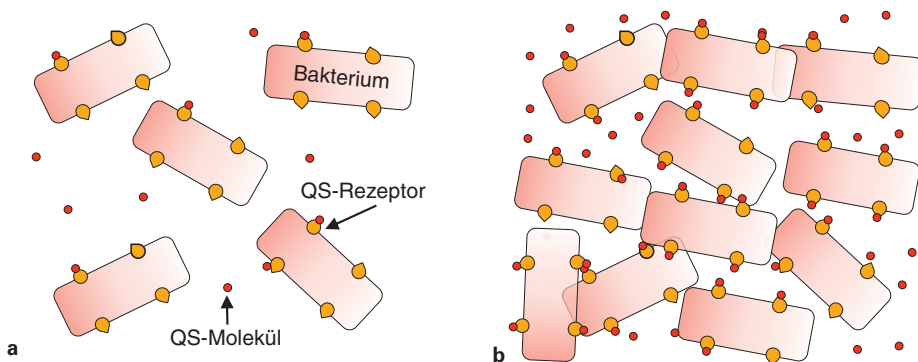


Abb. 1. Quorum Sensing: **a**, niedrige Zelldichte und niedrige Konzentration an QS-Molekülen, **b**, hohe Zelldichte, hohe Konzentration an QS-Molekülen und hohe Beladung der QS-Rezeptoren. Weitere Erklärungen s. Text.

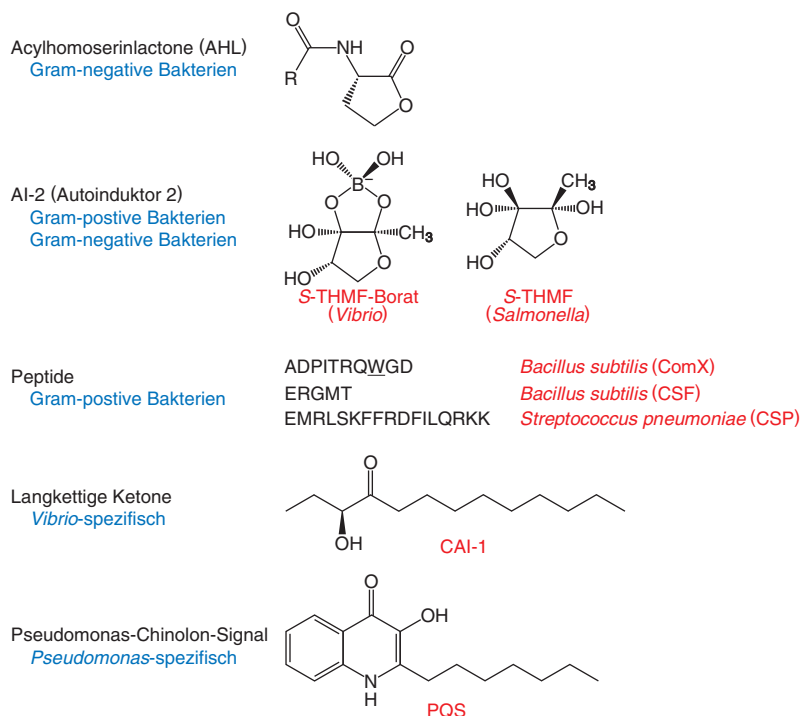


Abb. 2. Vorkommen und Strukturformeln wichtiger Signalmoleküle in Bakterien. CSF: competence and sporulation factor; CSP: competence-stimulating peptide; CAI-1: (S)-3-hydroxytridecan-4-on. Weitere Erklärungen s. Text.

von den Bakterien niedermolekulare Signalmoleküle produziert und ausgeschieden werden und dass Rezeptoren vorhanden sind, die diese Signalmoleküle spezifisch wahrnehmen, was zu einer zellulären Antwort führt (Abb. 1).

Etliche »Wörter« dieser chemischen Kommunikation sind bekannt (Abb. 2). Es gibt die große Gruppe der *N*-Acyl-L-homoserinlactone, den sog. Autoinduktor 2 (AI-2), verschiedenste Peptide, langkettige Ketone und spezifische Signalmoleküle, die nur von bestimmten Bakteriengattungen oder -arten produziert werden können.

Gram-negative Bakterien produzieren artspezifisch Acylhomoserinlactone, die durch Variabilität in der Seitenkette gekennzeichnet sind (Kettenlänge, Hydroxygruppen usw.). Peptide als Signalmoleküle finden wir v.a. bei Gram-positiven Bakterien. Der Autoinduktor 2 (AI-2) ist ein besonderes Signalmolekül, das zwar von sehr vielen Bakterienarten gebildet wird, für das aber nur wenige Arten einen Rezeptor entwickelt haben. Diese Diskrepanz lässt sich

damit begründen, dass AI-2 ein Abbauprodukt darstellt, das sich von S-Adenosylmethionin (SAM) ableitet. SAM ist ein wichtiger Donor für Methylgruppen und wird nach der Transmethylierung detoxifiziert, u.a. zu 4,5-Dihydroxy-2,3-pentandion (DPD), der Vorstufe von AI-2. In wässriger Lösung bilden sich aus DPD zwei zyklische Formen, S-THMF-borat [(2S,4S)-2-Methyl-2,3,3,4-tetrahydroxytetrahydrofuran-borat] und R-THMF [(2R,4S)-2-methyl-2,3,3,4-tetrahydroxytetrahydrofuran], die miteinander im chemischen Gleichgewicht stehen (Abb. 2). Einige Bakterien haben entsprechende Rezeptoren entwickelt und nutzen auf diese Weise das Abbauprodukt AI-2 als Signalmolekül.

Merkmale der Kommunikation

Zu einem der interdisziplinären Workshops, die wir im Rahmen des Schwerpunktes »Synthetic Biology« im Center of Advanced Studies der Universität München organisieren, hatten wir Prof. Dr. Michael Cysouw (Universität Marburg)

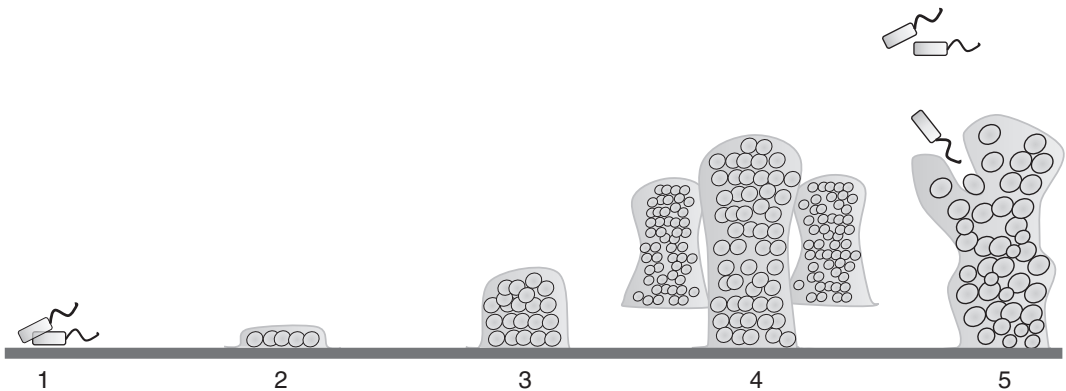


Abb. 3. Schematische Darstellung der Phasen eines Biofilms. 1, planktonische, begeißelte Zellen; 2, reversible und irreversible Adhäsion der Zellen auf einer Oberfläche; Abwerfen der Geißeln, Änderung der Zellmorphologie und -physiologie; 3, Zell-zu-Zell-Kommunikation; Mikrokolonie, Bildung einer Matrix; 4, vollständiger Biofilm; 5, reifer Biofilm, aus dem sich einzelne Zellen wieder herauslösen.

eingeladen, der zur Weltsprache der Menschheit forscht. Wir wollten wissen, ob es vergleichbare Merkmale von Kommunikation bzw. Sprache bei Menschen und Bakterien gibt. Wir sind dabei überraschend schnell zu folgenden Gemeinsamkeiten gekommen:

- Geringe Kosten: Bakterien kostet es wenig Energie, die Signalmoleküle zu produzieren; es handelt sich durchweg um niedermolekulare Verbindungen. Auch die menschliche Sprache ist kostengünstig, d.h. mit einem sehr geringen Energieaufwand verbunden.
- Abgrenzung von Gruppen: Wer die gleiche Sprache spricht, gehört zur gleichen Gruppe.
- Förderung des Gruppenverhaltens: Ein Einzelner vermag in bestimmten Fällen wenig auszurichten, als Gruppe ist man stark (siehe nachfolgende Beispiele).

Kommunikation zur Förderung des Gruppenverhaltens: Beispiele für Quorum Sensing

Entwicklung eines Biofilms: Die meisten Bakterien leben in Biofilmen. Zell-zu-Zell-Kommunikation ist dabei ein wichtiger Faktor, der reguliert, welche bakteriellen Arten zusammen im Biofilm leben (Abb. 3). Biofilme sind u. a. in der Medizin ein großes Problem, wo sie nicht nur als Zahnbelag auftreten, sondern z. B. auch in Kathetern, in Stents (Gefäßprothesen), auf Kontaktlinsen, bei Cystischer Fibrose (Mukoviszidose), bei Endokarditis (Herzinnenhautentzündung) und bei Otitis

media (Mittelohrentzündung). In einem Biofilm lebende Bakterien sind wesentlich resistenter z. B. gegen Antibiotika oder andere antibakterielle Substanzen als die entsprechenden Einzelzellen. Der Biofilm ist dabei hochgradig organisiert, wir sprechen auch von einer »Mikroben-City« (Watnick & Kolter 2000).

Produktion extrazellulärer Enzyme und Virulenzfaktoren: Ein anderes Phänomen, das ein Gruppenverhalten erfordert – d. h. wo es förderlich ist, wenn viele Zellen agieren, und der Prozess nicht effektiv ist, wenn nur einzelne Individuen diese Eigenschaft besitzen –, ist die Produktion extrazellulärer Enzyme, z. B. Zellulase in *Erwinia* oder *Pectobacterium* (Brader et al. 2005). Die Knollennassfäule bei Kartoffeln oder die Welkeerscheinung der Kartoffelpflanze durch Schwarzbeinigkeit sind dafür Beispiele. Nur bei einer ausreichend hohen Zelldichte dieser Phytopathogenen gelingt es, das Abwehrsystem der Pflanzen zu überwinden.

Initiierung der Endosporenbildung (*Bacillus*, *Clostridium*): Ein weiterer Prozess, der durch die Größe der Bakterienpopulation beeinflusst wird, ist die Initiierung von Endosporen. Endosporen stellen ein Ruhestadium dar. Die Endosporen sind extrem resistent gegenüber Umwelteinflüssen wie Hitze, Kälte, Austrocknung, verschiedene Arten von Strahlung und chemische Agentien. Dieser Prozess wird durch ein Quorum-Sensing-System reguliert, um die Zahl der vorhandenen Zellen abzuschätzen. Erst ab einer bestimmten

Zellzahl wird sich eine Population diesen Differenzierungsprozess leisten. Für einzelne Zellen wäre es zu riskant, in diesen zeitlich aufwändigen Prozess zu investieren, da diese Art durch eine andere Art überwachsen werden könnte.

Die Produktion der **Biolumineszenz**, die Induktion des **DNA-Austauschs** sowie die **Antibiotika-resistenz** sind weitere Prozesse, die über die Zelldichte (Quorum Sensing) reguliert werden.

Quorum-Sensing-Signaltransduktionskaskaden: Die 3-1-Rezeptor-Kaskade

Es gibt ganz verschiedene Designprinzipien von Quorum-Sensing-Signaltransduktionskaskaden (Drees et al. 2014). In unseren Forschungsarbeiten beschäftigen wir uns mit der Quorum-Sensing-Signaltransduktionskaskade von *Vibrio harveyi*, einem Modellorganismus zum Studium von Quorum Sensing. Diese Kaskade, die auch in *V. cholerae*, dem Erreger der Cholera, vorhanden ist, ist sehr komplex aufgebaut und entspricht dem Design, das wir als »3-1-Rezeptor-Kaskade« bezeichnen (Ng & Bassler 2009) (Abb. 4). Kernelement sind drei membranverankerte Rezeptoren, die es *Vibrio* ermöglichen, drei verschiedene Signalmoleküle wahrzunehmen. Der Autoinduktor AI-1, ein Acylhomoserinlacton (AHL), ist speziesspezifisch, AI-2 kann von verschiedenen Bakterien gebildet werden, CAI-1 ist *Vibrio*-spezifisch (vgl. Abb. 2). Jedes dieser chemisch vollkommen unterschiedlichen Signalmoleküle wird von einem spezifischen Rezeptor erkannt, der die Information in ein intrazelluläres Signal umwandelt. Die Information aller drei Rezeptoren wird allerdings anschließend in eine gemeinsame Kaskade kanalisiert. Am Ende der Kaskade steht ein Masterregulator (LuxR), der nur dann aktiv ist, wenn die Autoinduktoren in ausreichender Menge vorhanden sind, d. h. die Bakterienpopulation eine gewisse Größe erreicht hat. Andernfalls werden fünf kleine regulatorische RNAs (Qrr sRNAs) gebildet, die die Synthese von LuxR blockieren. LuxR ist für die Regulierung von Eigenschaften wie z. B. Aktivierung der Lichtproduktion (Biolumineszenz), die Synthese von Exoenzymen und die Biofilmbildung verantwortlich. LuxR ist auch in die Repression bestimmter Gene involviert, z. B. solcher, die an der Produktion von Siderophore oder der Typ-III-Sekretion beteiligt sind.

Einzelzellanalyse von *Vibrio harveyi*: phänotypische Heterogenität

Warum ist diese Kaskade so aufgebaut, dass die Bakterien in der Lage sind, die drei Signalmoleküle zu unterscheiden, der Informationsfluss aber wieder zusammenfließt? Um diese Frage zu adressieren, haben wir eine sog. Einzelzellanalyse von *V. harveyi* etabliert. Dieses Bakterium ist natürlicherweise ein Reporterstamm, der in Abhängigkeit von der Konzentration der Signalmoleküle Biolumineszenz produziert. Mithilfe der Lumineszenzmikroskopie fanden wir nicht nur erhebliche Unterschiede in der Leuchtintensität der einzelnen Zellen, sondern auch Zellen, die gar kein Licht produzierten (Anetzberger et al. 2009). Selbst bei hoher Zelldichte produzierten nur 69 % der Zellen einer Wildtyppopulation Biolumineszenz, 25 % der Zellen produzierten kein Licht und 6 % der Zellen waren tot (Anetzberger et al. 2009). Pérez & Hagen (2010) kamen mit ihren Arbeiten zu *Vibrio fischeri* zu ähnlichen Ergebnissen. Diese Resultate passen nicht in das Konzept des Quorum Sensings, wonach die Population einheitlich eine neue Eigenschaft ausbildet (Abb. 1). Daraus schlussfolgerten wir, dass die Kommunikation und das Design der Quorum-Sensing-Kaskade in manchen Bakterienarten benutzt wird, um eine Diversifizierung innerhalb einer Population zu ermöglichen (phänotypische Heterogenität).

Um diese Hypothese zu testen, haben wir eine Mutante untersucht (konstitutiv QS-aktive Mutante JAF78), bei der die Menge von LuxR von den Quorum-Sensing-Rezeptoren entkoppelt war, d. h., die Lumineszenz war unabhängig vom Quorum Sensing. Es zeigte sich, dass bei dieser Mutante alle lebenden Zellen Licht produzierten (homogener Phänotyp), die Gesamtlichtintensität größer und die Varianz geringer war als beim Wildtyp (Anetzberger et al. 2009; Abb. 5).

Neben der Biolumineszenz ist die Biofilmbildung ein von der Quorum-Sensing-Signaltransduktionskaskade abhängiger Phänotyp. In den heterogenen Wildtyppopulationen von *V. harveyi* ist die Biofilmbildung stark ausgeprägt. Bei der homogenen, konstitutiv QS-aktiven Mutante, die einen großen Teil der Energie für die Lichtproduktion aufwendet, findet man eine deutlich reduzierte Biofilmbildung (Abb. 5). Wir konnten darüber hinaus zeigen, dass der heterogene Wildtyp durch die Zugabe der 5-fachen Konzentration

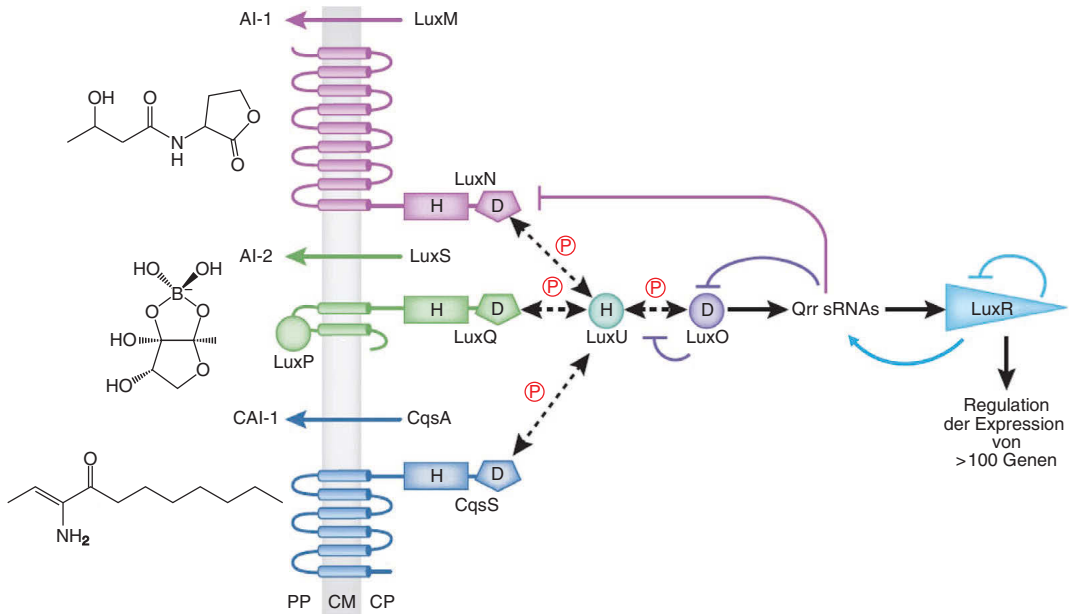


Abb. 4. Schema der Quorum-Sensing-Signaltransduktionskaskade von *Vibrio harveyi*. Die QS-Moleküle AI-1, AI-2 und CAI-1 werden enzymatisch durch LuxM, LuxS und CqsA in *V. harveyi* produziert und an das Medium abgegeben. Die extrazelluläre Konzentration dieser Signalmoleküle wird von den Rezeptoren (Hybrid-sensor-Kinasen) LuxN, LuxQ (LuxP: AI-2-Bindeprotein) und CqsS detektiert. Die Information wird anschließend über ein Phosphorelay weitergegeben. Am Ende der Kaskade, die über zahlreiche Rückkopplungsmechanismen (Pfeile) beeinflusst wird, entscheidet die Menge an LuxR über die Expression von mehr als 100 Genen. P: Übertragung von Phosphorylgruppen; H: Histidin; D: Aspartat; LuxU: Histidin-Phosphotransfer-Protein; LuxO: Antwortregulator. LuxR: Masterregulator; Qrr sRNAs: regulatorische sRNAs; PP: Periplasmatischer Raum; CM: Zytoplasmamembran; CP: Zytoplasma. Weitere Erläuterungen s. Text. – Nach Jung (2011).

der drei Autoinduktoren – gewonnen aus einem zellfreien Extrakt eines Wildtypstammes – in einen homogenen Status umgewandelt werden kann; allerdings war dann die Fähigkeit, Biofilme zu bilden, reduziert (Abb. 5). Wurde dem Wildtyp zur Kontrolle ein zellfreier Extrakt einer Mutante, die keine Autoinduktoren bilden kann, zugegeben, blieb er heterogen und zur Biofilmbildung befähigt (Abb. 5, Anetzberger et al. 2009). Das heißt, auch bei solchen einfachen Organismen wie den Bakterien dient die Kommunikation zum Erreichen von Arbeitsteilung und damit zur möglichst gleichmäßigen Verteilung des Energieaufwands auf alle Individuen der Population (Anetzberger et al. 2012b).

Phänotypische Homo-/Heterogenität: Phosphorylierung als Schlüsselfaktor

Die Bildung von LuxR als Produkt der Quorum-Sensing-Signaltransduktionskaskade ist vom Phosphorylierungszustand der Rezeptoren und dem angeschlossenen Phosphorelay abhängig (Abb. 4). Diese Rezeptoren sind bifunktional und können sowohl als Kinase als auch als Phosphatase agieren. Über weitere Studien mit einem Reporterstamm konnten wir zeigen, dass zum einen die Konzentration der drei Signalmoleküle (Autoinduktoren) – in einer Population sind niemals alle drei Signalmoleküle in gleich hoher Konzentration vorhanden – (Anetzberger et al. 2012a) und zum anderen die entsprechende Aktivierung der Rezeptoren den Grad der Heterogenität bestimmen (Plener et al.

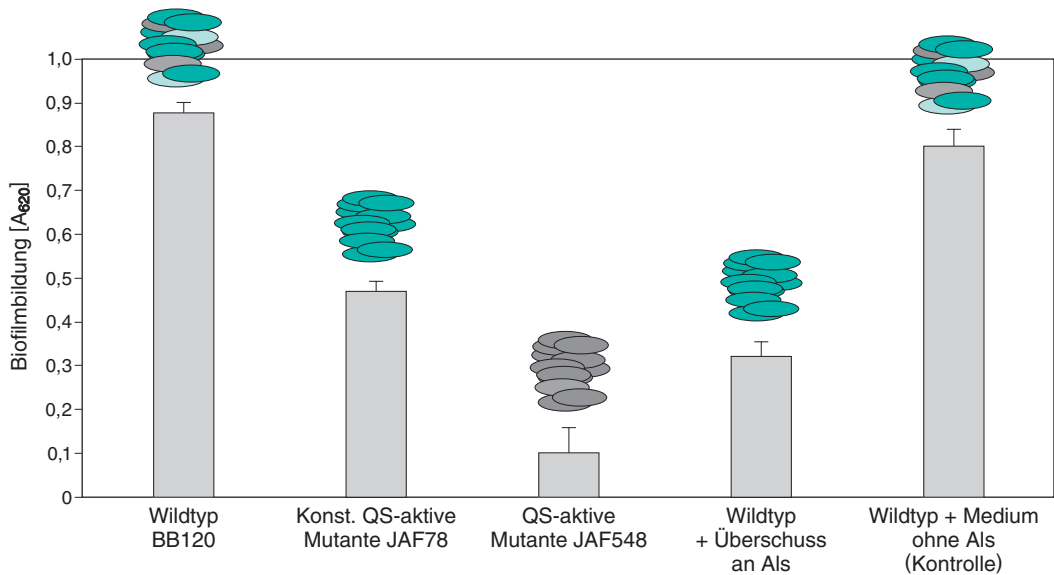


Abb. 5. Biofilmbildung (Adsorption bei 620 nm) und Heterogenität/Homogenität der Population in Bezug auf die Fähigkeit zur Lumineszenz (Symbole über den Säulen) bei Wildtyp und Mutanten von *Vibrio harveyi*. QS: Quorum Sensing, Als: Autoinduktoren. Erläuterungen s. Text. – Ergänzt nach Anetzberger et al. (2009).

2015). In Abhängigkeit von der Verfügbarkeit des einen oder anderen Molekültyps wird die Kaskade partiell und damit heterogen oder, wenn alle drei Autoinduktoren vorhanden sind, homogen angeschaltet (Abb. 6). Nur wenn alle drei Rezeptoren in einem Phosphatase-Modus oder in einem Kinase-Modus sind, finden wir ein homogenes Verhalten der Population, das in dem Alles-oder-nichts-Prinzip resultiert (vgl. Abb. 4; Plener et al. 2015):

- Kinase-Modus (keine bzw. zu wenige Autoinduktoren vorhanden): Autophosphorylierung der drei Rezeptoren → Phosphorylierung von LuxU → Phosphorylierung und Aktivierung von LuxO → Expression der Qrr sRNAs → Destabilisierung und Abbau von LuxR-Transkripten → Biolumineszenz homogen ausgeschaltet.
- Phosphatase-Modus (alle Autoinduktoren vorhanden): Kinase-Modus ist unterdrückt

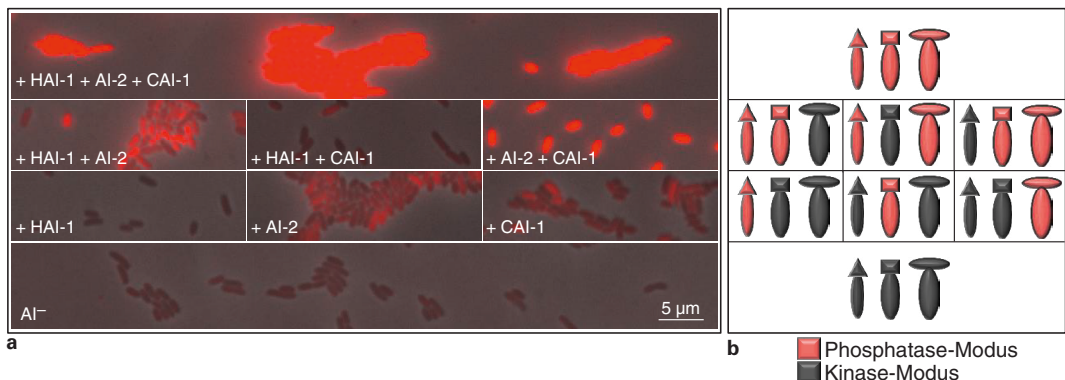


Abb. 6. Einzelzellmikroskopie nach Inkubation eines AI-negativen Reporterstammes (die Synthesegene für die Autoinduktoren AI-1 (HAI-1), AI-2 und CAI-1 (vgl. Abb. 4) in verschiedenen Kombinationen (**a**) und schematische Darstellung der drei Rezeptoren (Phosphatase- oder Kinase-Modus; **b**); oben, unten: homogener Phänotyp, Mitte: heterogener Phänotyp. – Nach Plener et al. (2015).

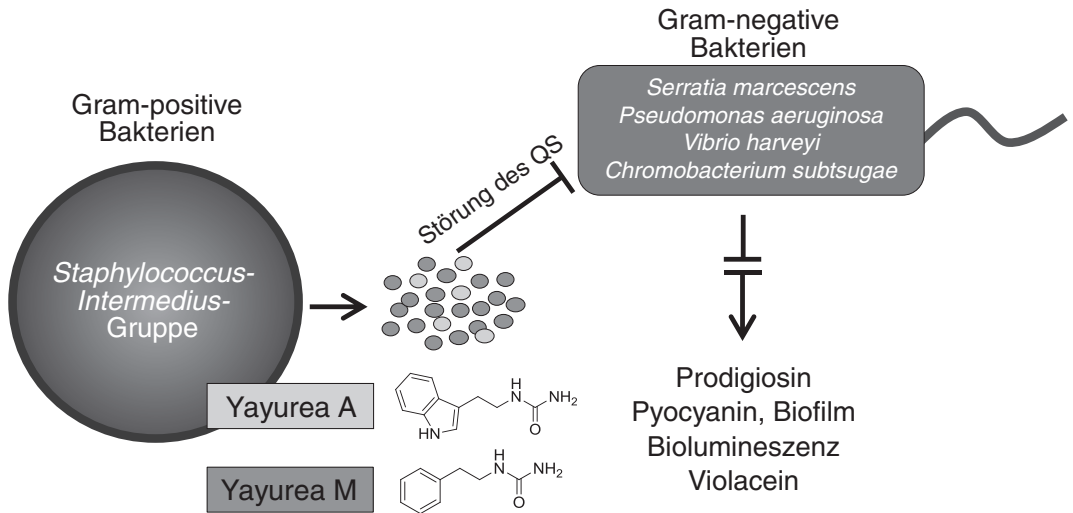


Abb. 7. Schematische Darstellung der Wechselwirkung zwischen Staphylokokken der *intermedius*-Gruppe (*Staphylococcus intermedius*, *S. pseudintermedius* und *S. delphini*) und Gram-negativen Bakterien. Diese *Staphylococcus*-Spezies produzieren die Moleküle Yayurea A (N-[2-(1H-indol-3-yl)ethyl]-urea) und B (N-[2-phenethyl]-urea), die das Quorum Sensing (QS) in verschiedenen Gram-negativen Bakterien stören und damit die Ausprägung verschiedener Quorum-Sensing-regulierter Eigenschaften inhibieren. – Nach Chu et al. (2013), CC-BY 4.0.

→ LuxU wird dephosphoryliert → LuxO im dephosphorylierten Zustand → keine Transkription von Qrr sRNAs → LuxR-Transkripte werden exprimiert → Biolumineszenz homogen angeschaltet.

Sind nur ein oder zwei der Autoinduktoren vorhanden, beobachten wir in Abhängigkeit vom Phosphorylierungszustand der an der Kaskade beteiligten Proteine verschiedenste Stufen an Heterogenität bezüglich der Biolumineszenzinduktion der Population (Abb. 6). Damit hat eine genetisch homogene Population eine ausgezeichnete Möglichkeit, unterschiedlichste Phänotypen in Abhängigkeit der äußeren Bedingungen einzustellen.

Kommunikationsstörung und Rauschen: Entwicklung neuer Antibiotika?

Quorum Sensing ist eine Eigenschaft, in die man neue Hoffnungen für effektive Antibiotikastrategien setzt, da die Antibiotikaresistenz ebenfalls auf der Größe einer Bakterienpopulation beruht. Die marine Rotalge *Delisea pulchra* produziert antimikrobielle Verbindungen, halogenierte Fura-

none (Fimbrilide), die die Kommunikation von Bakterien unterdrücken bzw. die »Sprache« der Bakterien »verrauschen« (Zhao et al. 2016). Auf diesen Rotalgen ist nie ein Biofilm zu finden. Leider sind diese Verbindungen so toxisch, dass sie nicht als Antibiotika eingesetzt werden können. In einem gemeinsamen Forschungsprojekt mit Friedrich Götz (Univ. Tübingen) konnten wir zeigen, dass *Staphylococcus delphini* Verbindungen produziert (Yayurea A und B; Abb. 7), die die Kommunikation von anderen Bakterien unterdrücken. Die Interferenz mit der Quorum-Sensing-Regulierung ließ sich an einer Verringerung der Biolumineszenz (*V. harveyi*) bzw. an dem Fehlen bestimmter Sekundärstoffe (Pyocyanin bei *Pseudomonas aeruginosa*, Prodigiosin bei *Serratia marcescens*, Violacein bei *Chromobacterium subtsugae*) relativ einfach nachweisen (Chu et al. 2013; Abb. 7). Bei Yayurea A und B handelt es sich um Verbindungen, die sich von Harnstoff ableiten und mit einer Indol- oder einer Phenolgruppe gekoppelt sind (Abb. 7) und die spezifisch von *S. delphini* und anderen Arten der *Staphylococcus-intermedius*-Gruppe, jedoch nicht von *S. aureus* produziert werden. Dies ist ein sehr anschauliches Beispiel dafür, dass Bakterien Strategien entwickelt haben, um in

die Kommunikation anderer Arten einzugreifen und somit in der Konkurrenz um Lebensräume, Nischen, Nährstoffe etc. einen Vorteil für die eigene Art zu erreichen. Ich bin mir sehr sicher, dass in der Natur noch viel mehr Moleküle existieren, die mit der Quorum-Sensing-Regulierung interferieren.

Hautmikrobiom und Immunsystem

Ein Aspekt der chemischen Kommunikation, der bisher noch nicht erwähnt worden ist, betrifft die Kommunikation von Bakterien mit dem Menschen. Der menschliche Körper besteht aus 10^{13} menschlichen Zellen und jeder gesunde Mensch lebt mit 10^{14} Bakterien (ca. 1,5 kg) zusammen. Die Arbeitsgruppe von Pieter Dorrestein (Univ. of California, San Diego) hat 2015 eine interessante Arbeit vorgestellt, in der sie von 400 Punkten der menschlichen Haut sowohl das Metabolom als auch die Zusammensetzung der dort befindlichen Bakterien kartiert hat. Demnach befinden sich pro cm^2 Haut etwa 10^6 Bakterien. Insgesamt sind wir auf der Hautoberfläche mit etwa 1000 unterschiedlichen Bakterienspezies besiedelt, dazu kommen einige Pilze und auch Viren. Sie alle produzieren die verschiedensten Moleküle (Fettsäuren, Trimethylaminoxid [TMAO], Stickoxid [NO] etc.). Es gibt Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Personen, aber auch einen deutlichen Einfluss von Körperpflegemitteln (Bouslimani et al. 2015). Glycerol z.B., das in sehr vielen Körperpflegemitteln vorhanden ist, dient als Kohlenstoffquelle und beeinflusst so die Besiedlung der Haut.

Der Vorteil dieser dichten Besiedlung der Haut liegt einerseits in der Schutzfunktion vor dem Eindringen pathogener Organismen – auf eine Antibiotikatherapie folgt z.B. oft eine Pilzinfektion – und andererseits im Dialog mit dem Immunsystem. Es gibt intensive Wechselwirkungen zwischen dem Hautmikrobiom und den entsprechenden Komponenten des Immunsystems. Als Signalstoffe dienen vielfach mikrobielle Stoffwechselprodukte (z.B. Ölsäure), bakterielle Zellwandkomponenten (z.B. Lipopolysaccharide, Lipoteichonsäuren) und von Bakterien sekretierte Metabolite (z.B. Porphyrine). Auch das Immunsystem »kämpft« im Prinzip für die Erhaltung eines bestimmten Mikrobioms (Belkaid & Segre 2014). Kinder werden zunächst »steril« geboren, erfahren aber unmittelbar nach der Geburt durch

die Wechselwirkungen mit der Umwelt eine Zunahme ihrer »Normalflora« und damit eine Stärkung ihres Immunsystems.

Ausblick: zukünftige Forschung

Der vorliegende Beitrag gibt nur einen kleinen Einblick in die Kommunikation der Prokaryoten und der bisher bekannten Signalmoleküle. In Zukunft kommt der Aufklärung der Kommunikation zwischen Eukaryoten und Prokaryoten eine besondere Bedeutung zu, da auf deren Basis z.B. Krankheitsursachen entschlüsselt oder neue Antibiotika entwickeln werden können.

Danksagung

Mein Dank gilt allen momentanen und ehemaligen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern für die engagierte Zusammenarbeit in diesem Projekt sowie der finanziellen Unterstützung durch die DFG im Rahmen des Schwerpunktprogramms SPP1617 »Phenotypic heterogeneity and sociobiology of bacterial populations« und des Exzellenzclusters CiPSM.

Literatur

- Anetzberger, C., T. Pirch & K. Jung. 2009. Heterogeneity in quorum sensing-regulated bioluminescence of *Vibrio harveyi*. – *Molecular Microbiology*, 73(2): 267–277.
- Anetzberger, C., M. Reiger, A. Fekete, U. Schell, N. Stambrau, L. Plener, J. Kopka, P. Schmitt-Kopplin, H. Hilbi & K. Jung. 2012a. Autoinducers act as biological timers in *Vibrio harveyi*. – *PLoS ONE*, 7(10): e48310; doi:10.1371/journal.pone.0048310.
- Anetzberger, C., U. Schell & K. Jung. 2012b. Single cell analysis of *Vibrio harveyi* uncovers functional heterogeneity in response to quorum sensing signals. – *BMC Microbiology*, 12: 209; doi:10.1186/1471-2180-12-209.
- Belkaid, Y. & J. A. Segre. 2014. Dialogue between skin microbiota and immunity. – *Science*, 346(6212): 954–959.
- Bouslimani, A., C. Porto, C. M. Rath, M. Wang, Y. Guo, A. Gonzalez, D. Berg-Lyon, G. Ackermann, G. J. Moeller Christensen, T. Nakatsuji, L. Zhang, A. W. Borkowski, M. J. Meehan, K. Dorrestein, R. L. Gallo, N. Bandeira, R. Knight, T. Alexandrov & P. C. Dorrestein. 2015. Molecular cartography of the human skin surface in 3D. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 112(17): E2120–E2129; doi:10.1073/pnas.1424409112.

- Brader, G., S. Sjöblom, H. Hyttiäinen, K. Sims-Huopaniemi & E. T. Palva. 2005. Altering substrate chain length specificity of an acylhomoserine lactone synthase in bacterial communication. – *Journal of Biological Chemistry*, 280(11): 10403–10409.
- Chu, Y., M. Nega, M., Wölfle, L. Plener, S. Grond, K. Jung & F. Götz. 2013. A new class of quorum quenching molecules from *Staphylococcus* species affects communication of Gram-negative bacteria. – *PLoS Pathogens*, 9(9): e1003654; doi:10.1371/journal.ppat.1003654.
- Drees, B., M. Reiger, K. Jung & I. B. Bischofs. 2014. A modular view of the diversity of cell-density-encoding schemes in bacterial quorum-sensing systems. – *Biophysical Journal*, 107(1): 266–277.
- Fuqua, W. C., S. C. Winans & E. P. Greenberg. 1994. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. – *Journal of Bacteriology*, 176(2): 269–275.
- Jung, K. 2011. Microbiology: Tuning communication fidelity. – *Nature Chemical Biology*, 7(8): 502–503.
- Ng, W. L. & B. L. Bassler. 2009. Bacterial quorum-sensing network architectures. – *Annual Review of Genetics*, 43: 197–222.
- Pérez, P. D. & S. J. Hagen. 2010. Heterogeneous response to a quorum-sensing signal in the luminescence of individual *Vibrio fischeri*. – *PLoS One*, 5(11): e15473; doi:10.1371/journal.pone.0015473.
- Plener, L., N. Lorenz, M. Reiger, T. Ramalho, U. Gerland & K. Jung. 2015. The phosphorylation flow of the *Vibrio harveyi* quorum-sensing cascade determines levels of phenotypic heterogeneity in the population. – *Journal of Bacteriology*, 197(10): 1747–1756.
- Watnick, P. & R. Kolter. 2000. Biofilm, city of microbes. – *Journal of Bacteriology*, 182(10): 2675–2679.
- Zhao, W., N. Lorenz, K. Jung & S. A. Sieber. 2016. Fimbrilide natural products disrupt bioluminescence of *Vibrio harveyi* by targeting autoinducer biosynthesis and luciferase activity. – *Angewandte Chemie International Edition*, 55(3): 1187–1191.

Diskussion

D. Herm: Sie haben eingangs die lange Evolution der Bakterien und die entsprechend frühe Entstehung der Biolumineszenz erwähnt. Die Lumineszenz ist ja mit einem Energieaufwand verbunden. Ist sie sozusagen als Abfallprodukt bei lebensnotwendigen Stoffwechselprozessen aufgetreten oder ist sie gezielt notwendig zum Erhalt oder zur Förderung des Lebens?

K. Jung: Das ist eine sehr spannende Frage, auf die ich Ihnen keine finale Antwort geben kann. Aber anhand von drei Beispielen kann ich erklären, wie die Biolumineszenz letztendlich zum Erhalt der Ökosysteme beiträgt. Erstens: Man findet biolumineszente Mikroorganismen erstaunlicherweise immer in den tieferen Schichten des Meeres. Eine Möglichkeit könnte sein, dass Organismen durch Licht in diesen dunklen Sphären kommunizieren können. Tatsächlich haben die betroffenen Organismen Blaulichtrezeptoren. Zweitens: DNA-Reparaturmechanismen erfordern die sog. Photolyasen, d.h., zur Durchführung der DNA-Reparatur wird Licht benötigt. Auch das wird diskutiert und es ist bereits gezeigt worden, dass Organismen, die keine Biolumineszenz mehr produzieren, Schwierigkeiten bei der DNA-Reparatur haben.¹ Das dritte Beispiel ist bisher nur eine Hypothese, es betrifft den sog. Milky-Sea-Effekt. Im indischen Ozean beobachtet man schon seit Jahrhunderten, dass zu bestimmten Zeiten, wenn eine Algenblüte auftritt, plötzlich das Meer zu leuchten anfängt. Das Phänomen beruht auf einer Wechselwirkung zwischen Mikroalgen und biolumineszenten Vibrionen. Nach drei Tagen sind sowohl die Algen als auch die Bakterien wieder verschwunden. Ich könnte mir vorstellen, dass die extrem energieaufwändige Biolumineszenz eine Möglichkeit ist, um z.B. zu einer Säuberung des Meeres beizutragen, wobei natürlich das organische Material »verschwendet« und lediglich zu Lichtenergie wird. Aber es ist ein schneller Prozess um – im Prinzip wie bei

der Verbrennung von Müll – eine große Menge an organischer Materie schnell zu entsorgen.

D. Herm: Die Frage der Energie ist ja für die Definition des Lebens ganz entscheidend, besonders in der frühen Zeit der Evolution des Lebens. Braucht ein Lebewesen Energie und wenn ja, wie viel und was macht es damit? Kann oder muss es Energie abstoßen? In den Prozessen, den Sie dargestellt haben, ist offenbar beides notwendig.

K. Jung: Jedes Lebewesen benötigt Energie (chemische Energie oder Sonnenenergie) für den Anabolismus und für das Erbringen von Leistungen (z.B. Beweglichkeit). Energie wird aber auch frei, z.B. durch die Abgabe von Körperwärme oder wie im Falle der Vibrionen in Form von Licht.

B. Hoppe: Gestatten Sie eine kurze historische Ergänzung. Das so genannte Meeresleuchten hat kein Geringeres als der Naturforscher (und Dichter) Adelbert von Chamisso entdeckt und beschrieben. Das war etwas wirklich Neuartiges in der damaligen Zeit. Sicher haben indigene Völker schon etwas in dieser Richtung vermutet, aber durch Chamisso, der ja eine große Weltreise zwischen 1815 und 1818 unternommen hatte, ist es in Europa publik geworden.

E. Grill: Über wie viele »Wörter« – oder über wie viele Rezeptoren, wenn wir es auf molekularer Ebene betrachten – verfügen Arten wie *Vibrio fischeri*, um Signale zu interpretieren und zur Kommunikation zu verwenden? Gibt es dazu eine Vorstellung?

K. Jung: Soweit wir wissen, sind es bei *Vibrio fischeri* wie auch bei vielen anderen Bakterien bisher nur drei. Wir arbeiten aber derzeit in einem anderen Projekt mit *Escherichia coli* und sind auf einen Rezeptor gestoßen, der Pyruvat wahrnimmt. Unter bestimmten Wachstumsbedingungen ändert sich auch die externe Konzentration bestimmter Metabolite und dabei haben wir den Pyruvatrezeptor gefunden. Pyruvat ist eine Verbindung, von der eigentlich nicht erwartet wird, dass sie tatsächlich zur Kommunikation genutzt

¹ Czyz, A., B. Wróbel & G. Wegrzyn. 2000. *Vibrio harveyi* bioluminescence plays a role in stimulation of DNA repair. – *Microbiology*, 146(2): 283–288; doi:10.1099/00221287-146-2-283.

werden kann. Aber beispielsweise bei Diabetes-Patienten oder bei Ketoazidose-Patienten gibt es massive Veränderungen im Stoffwechsel. Man weiß auch, dass diese Patienten anfälliger für Infektionen der Harnwege mit uropathogenen *E. coli* (UPEC) sind. Wir arbeiten daran, den Zusammenhang zwischen der Pyruvatsensorik und der Pathogenität von UPEC zu entschlüsseln. Meiner Meinung nach ist das, was wir zurzeit bezüglich der Zahl der »Wörter« der bakteriellen Kommunikation wissen, nur die Spitze des Eisbergs.

A. Hartmann: Sie haben die Produktion von *N*-Acyl-homoserinlactonen als Quorum-Sensing-Signalstoffe von phytopathogenen Bakterien erwähnt. Zur Ergänzung darf ich anfügen, dass für verschiedene Pflanzen gezeigt worden ist, dass sie die *N*-Acyl-homoserinlactone, die an ihren Oberflächen (z. B. Blätter oder Wurzeln) von Bakterien produziert werden, als Signalstoffe erkennen und daraufhin unter anderem die Abwehr gegen einen bevorstehenden Angriff der Bakterien organisieren.² *N*-Acyl-homoserinlactone sind also auch als Signale in der Bakterien-Pflanzen-Interaktion anzusehen.

J. Ruther: Sie haben bei dem Vergleich der »Sprache« von Bakterien und der menschlichen Sprache von »günstig (billig)« als Gemeinsamkeit gesprochen. Bezieht sich das nur auf das von Ihnen vorgestellte bakterielle System oder würden Sie das allgemein sagen?

K. Jung: Bei den Bakterien handelt es sich um niedermolekulare Verbindungen. Der Nod-Faktor, den Herr Parniske präsentiert hat, ist sicherlich ein extremes Beispiel. Ansonsten handelt es sich um niedermolekulare Moleküle bzw. um Metabolite im Zuge der Detoxifizierung, die also eine zweite Funktion haben, oder um Sekundärmetabolite, die unter bestimmten Bedingungen produziert werden. Die Produktion dieser Signalmoleküle ist weit weniger aufwändig als z. B. die Produktion von Proteinen.

J. Ruther: Aber kommt es bei den Kosten nicht auch auf die Art der Information an? Diese kann extrem wichtig sein, wenn es zum Beispiel um die sexuelle Selektion geht, d. h. um die Wahl des richtigen Partners. Dabei sind zum Beispiel Signale beteiligt, die aus sekundären Pflanzeninhaltsstoffen produziert werden, welche von den Männchen mühsam zusammengesammelt werden müssen. Das heißt, sexuelle Signale können also extrem teuer sein.

2 Schikora, A., S. T. Schenk & A. Hartmann. 2016. Beneficial effects of bacteria-plant communication based on quorum sensing molecules of the *N*-acyl homoserine lactone group. – Plant Molecular Biology, 90 (6): 605–612.