



Farkas József¹ és Mohácsiné Farkas Csilla²

Érkezett/Received: 2014. február/February – Elfogadva/Accepted: 2014. február/February

Baktériumok kommunikációja és annak élelmiszer-tudományi jelentősége*

Összefoglalás

Ellentétben a korábbi vélekedéssel, a baktériumok nagyon sokoldalú lények. Képesek kommunikálni, nemcsak saját populációjukon belül, hanem fajaik között, sőt a növényekkel és állatokkal is. Ezt specifikus jelzőmolekulák kibocsátásával teszik, amelyek a többi élőlény különféle gén-expresszióit váltják ki. Az előadás összefoglalja ennek a quorum sensing-nek nevezett jelenségnek a szerepét például a biofilmekben, az élelmiszer romlásban és az élelmiszer eredetű megbetegedésekben. Újabb felismerések mutatják, hogy a gyógyászatban használt antibiotikumok képzése a természetben nemcsak a versenytársak pusztítására alakult ki, hanem kommunikációként is. Fontos, hogy a jelzőmolekulák kimutatására módszereket dolgozzunk ki, ahogy az is, hogy jobban megértsük a quorum sensing gátlását az élelmiszer-tartósítás és az élelmiszer-biztonság javítása érdekében.

Bevezetés

A parányi baktériumok első megfigyelője közel háromszáznegyven évvel ezelőtt a mikroszkópkészítés és –használat úttörője, a holland Anton van Leeuwenhoek volt. Ma már tudjuk, hogy a baktériumok nemcsak a Föld legősibb, hanem a legnagyobb számú élőlényei is. Ezek az egyséjtűek az élelmiszer-mikrobiológiának is a legfőbb szereplői. A XIX. században a mikrobiológiát megalapozó nagy tudósok: a század második felében alapvető felfedezéseket tevő és alapvető módszereket kidolgozó francia Louis Pasteur, majd a német Robert Koch és követőik munkássága nyomán született meg az élelmiszerek romlásának, ill. sok megbetegedésnek a tudományos magyarázata (a „csíraelmélet”). Kutatásaik messzeható volta alapján azonban bizonyos mértékben évtizedekig a baktériumokat „egyséjtű, független életmódot” folytató, „maguknak való”, primitív lényeknek tekintették, és a hatásaikat illetően az „egyetlen ok – egyetlen okozat” szemlélet vált uralkodóvá mind az élelmiszer-, mind az orvostudományban. Az „egyséjtűek tiszta tenyészei” tanulmányozási paradigmát túlhaladva, csak a XX. század második felében, nem kis mértékben a mikrobiológiai ökológia és a molekuláris biológia tudomány-területei fejlődésének az eredményeképpen a

komplex összefüggések megismerésének igénye nyitott új utakat a mikrobák közösségei tulajdonságainak mélyebb megismeréséhez. Csak ekkor ismerték fel, hogy látszólagos egyszerűségük ellenére a baktériumok milyen sokoldalú, milyen „sokat tudó” lények. A XX. század utolsó évtizedeiben kiderült, hogy a baktériumok a szimbiózis különböző formáiban nemcsak együtt vannak más fajokkal, ill. élőlényekkel, hanem „kommunikálnak” egymással, sőt az ún. „magasabbrendű” szervezetekkel: növényekkel és állatokkal is. Ez a kommunikáció a legismertebbé vált formában olyan specifikus szerves vegyületek kibocsátását jelenti, amelyek a saját populációk, illetőleg a többi „partner” viselkedésének a változását is indukálják („autoinducers”).

Quorum sensing

A baktériumoknak ezt a „társadalmi” életét, együttműködését („sociomicrobiology”) befolyásoló jelenséget „quorum sensing”-nek nevezték el. A quorum sensing a baktériumközösség térbeli szerveződésére és azon belül a közösség fenotípusos heterogenitására is kihat. A quorum sensing révén az együttműködő baktériumok „észlelik” a populáció sejtsűrűségének (a sejtsűrűségnek) a nagyságát. Úgy

¹ Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszer-tudományi Kar, Hűtő- és Állatiermék-Technológiai Tanszék
Dept. of Refrigeration and Livestock Products' Technology, Faculty of Food Science, Corvinus University

² Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszer-tudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék
Dept. of Microbiology and Biotechnology, Faculty of Food Science, Corvinus University of Budapest

* A „Food Science Conference 2013” című nemzetközi rendezvényen, a Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer-tudományi Karán 2013 november 8-án tartott előadás.

látszik, hogy a baktériumok quorum sensing rendszerének az evolúciója mintegy korai fázisa volt a soksejtű szervezetek kialakulásának.

A szignál-molekuláknak a kibocsátók szaporodásával arányos koncentrációnövekedésétől függően, bizonyos küszöbkoncentrációk elérése esetén a közösség tagjaiban gén-expressziós „válaszok” (például az exponenciálisból stacionáris szaporodási fázisba átmenet, ellenálló képesség- vagy virulencia növekedés, spórázás, stb.) következnek be. Fajon belüli kommunikációra a Gram-negatív baktériumok bizonyos zsírsavszármazékokat: acilált homoszerin laktonokat, míg a Gram-pozitív baktériumok bizonyos oligopeptideket „használnak” jelző molekulákként. Van olyan szignál molekulák, amelyeket mind Gram-negatív, mind Gram-pozitív baktériumok képeznek. Ezek feltehetően a fajok közötti kommunikációban játszanak szerepet, például fajok keverékét tartalmazó közösségekben, biofilmekben (lásd alább). Egyes Gram-pozitív baktériumok által képzett polipeptidek fajon belüli jelző molekulákként, más fajokkal szemben gátló anyagokként hatnak. Intenzív kutatások folynak már a szignál molekuláknak a szintézise és a „célsejtek” által való észlelése, valamint az ezekkel kapcsolatos szabályozási folyamatok mechanizmusának a megismerésére.

A szignál molekulák könnyen átdiffundálnak a sejtmembránon, és kölcsönhatásba lépnek a DNS-specifikus szakaszaival, ezáltal a messenger RNS- és fehérjeképzést szabályozva. Ilyen fehérjéket kódolnak azok a gének is, amelyek biofilm képződést idéznek elő. Sejtek közötti kommunikáció segíti a baktériumokat növény- vagy állat-betegségeket okozó virulencia faktorok (betegséget okozó toxinok) kibocsátásának koordinálásában.

A quorum sensing szerepe a biofilmekben

A biofilmképzés, azaz a mikrobák különféle nedves felületekhez kötődése és ott komplex együttélési struktúrák kialakítása mind a természetben, mind az ember által készített felületeken valójában gyakoribb és még fontosabb létezési formája a baktériumoknak, mint a „szabadúszó”, un. planktonikus állapot. Víz-ellátási élelmiszer-mikrobiológiai és élelmiszeripari jelentősége ezeknek a folyamatoknak nyilvánvaló.

A bakteriális kommunikáció a biofilmképződés minden szakaszában szerepet játszik. Quorum sensing folyamatok „szabályozzák” a populációk sejtsűrűségét, anyagcsere-aktivitását, a tápanyagforrásokhoz alkalmazkodást. A biofilmet alkotó és a biofilm exopolimer mátrixába ágyazott baktériumok jelentősen eltérő „transzkripciós programokkal” rendelkeznek, mint a planktonikus sejtek. A populáció méretének szabályozásában, a „túlnépesedett” közösségből a baktériumok planktonikus állapotba kibocsátásában is szerepet játszanak a jelzőmolekulák. Ezeknek a fo-

lyamatoknak jobb megértése is sokat ígérő, mind elméleti, mind gyakorlati szempontokból.

Antibiotikumok mint jelzőmolekulák

Újabban a kutatások arra mutatnak, hogy például bizonyos „talajlakó” baktériumok által termelt antibiotikumok szerepének értelmezését is módosítani kell. Egyre több kutatás mutatja, hogy a „természetellenesen” nagy koncentrációkban használt antibiotikumok ugyan más mikrobákat károsítani, pusztítani képesek, kis koncentrációkban azonban ugyanazon antibiotikumok jelzőmolekulákként hatnak: biofilm képzésre ösztönzik az antibiotikumot termelő fajt, vagy fajok keverékéből álló biofilm képződését segítik elő, esetleg fokozott mozgásra, „menekülésre” készítetnek más baktériumokat. Ezáltal csökken az antibiotikumot képző mikroba számára az erőforrásokért való versengés szükségessége.

Kommunikáció a bélcsatorna mikrobiotája és a bél epitéliuma között

A „gazdaszervezetek” és a belük mikrobiotája közötti kommunikáció, például a baktériumok és az emlősök szervezete közötti kapcsolat témánktól ugyan távolabb áll, de orvostudományilag nagyon fontos új területe a kutatásnak. Ugyanis virulens mikroorganizmusok, mint amilyenek a patogén baktériumok és az emlősök bélcsatornája között is olyan kölcsönhatás alakul ki, ami révén a bélcsatorna receptorai által felismert, bakteriális eredetű anyagokra a szervezet bélgyulladásra reagál. Az elmúlt évtizedekben vált ismeretessé, hogy az egészséges szervezet bél mikrobiotája több mint 1000 baktériumfajból álló, az ember összes saját sejtjeinek a számát mintegy tízszeresen meghaladó számú közösséget alkot, anélkül, hogy gyulladással reagálna. A bélbaktériumok és az egyes élelmiszerekkel együtt étkezésre ajánlott, ún. probiotikus baktériumok közösségének éppenséggel egészségvédő hatást tulajdonítunk, ami azt jelenti, hogy a hasznos mikrobiota esetén másfajta kommunikáció és érzékelés érvényesül, mint a patogén baktériumok esetén. Az emlősök szervezete tehát megfelelő receptorokkal képes megkülönböztetni a szimbiotikus hasznos és a kórokozó baktériumokat.

A quorum sensing jelzőmolekulák analitikája

Az előbbiekből nyilvánvaló, hogy fontos feladat a jelzőmolekulák detektálására alkalmas módszerek kidolgozása és alkalmazása. A modern műszeres analitikai technikák széles fegyvertára ehhez segítséget nyújt. Közülük a megfelelő bioszenzorok kifejlesztése és alkalmazása különösen ígéretes, tekintettel az ilyen jellegű mérések gyorsaságára, viszonylagos egyszerűségére és gazdaságosságára. Remény van arra, hogy quorum sensing molekulák észlelése révén az élelmiszer-romlás korai detektálása válik lehetővé.

Bacterial Communication And Its Importance In Food Science*

József Farkas¹ and Csilla Mohácsi-Farkas²

Summary

Contrary with past considerations, bacteria are highly versatile beings. They are able to communicate not only within their community but interspecies, and eventually to higher plants and animals. They are producing specific signalling molecules inducing various gene expressions in other beings. This chemical communication is called quorum sensing. The lecture summarizes some recent information on this “social” behaviour of bacteria, particularly on its role in biofilms, food spoilage and food-related pathogenesis. Recent findings show that medically important antibiotics evolved in the nature not only to kill competitors but for communication. It is important to develop methods for detecting the signalling molecules and to understand better the quorum sensing inhibitors to develop new tools for enhancing food preservation and food safety.

Introduction

The Dutch Anton van Leeuwenhoek was the first observer of the tiny bacteria nearly three hundred and forty years ago. It is known today that bacteria are not only the most ancient but also the most abundant beings on the Earth. These single-celled organisms are also the major actors in food microbiology. The French Louis Pasteur and the German Robert Koch, great scientists of the second half of the 19th century have laid the foundation of microbiology by making essential discoveries and developing fundamental methods resulting in the scientific explanation of food spoilage and many diseases (establishing the so-called “germ-theory”). Due to the far-reaching effects of their research, bacteria were regarded for long time as self-sufficient individuals making strictly unicellular life style and creating a single cause - single effect situation. This paradigm was accepted both in the food and medical sciences. However, mainly because the consequence of developments in the disciplines of microbial ecology and molecular biology during the second half of the 20th century, this type of former scientific approach is changing in the direction of studies for more deeper understanding of microbial communities. These developments resulted in the recognition, how sophisticated are apparently simple bacteria. It turned out that they are not simply existing together in various forms with other beings, but they are communicating between each other as well as with other species, or, even with higher plants and animals. This communication means in its most well-known form the production and emission of specific organic molecules (“autoinducers”), and induction of changes in behaviour of their own population or the other “partners”.

Quorum sensing

This “social” interaction of bacteria is called “quorum sensing”. By means of quorum sensing, bacteria perceive the cell density of their population. Quorum sensing affects also the spatial organization of the bacterial community, including phenotypical heterogeneity. It seems that the development of the quorum sensing phenomenon was a sort of early phase of the evolution of the multicellular organisms.

The release of signal molecules is proportional with the growth of the bacterial population and the detection of a minimal threshold stimulatory concentration of such auto inducer leads to the alteration in gene expression (resulting e.g. induction of transformation the growth phase into stationary phase, increased resistance or virulence of the cells, sporulation, etc.). For interspecies communication, Gram negative bacteria produce acylated homoserin lactones (derivatives of certain fatty acids) while Gram positive bacteria produce certain oligo-peptides as auto inducers. Many Gram negative and Gram positive bacteria, living in mixed-species communities such as bio films (see below) are using a quorum sensing system for cross-specific signalling. Certain polypeptides made by Gram positive bacteria are auto inducers for the producing organism but they inhibit other organisms.

There are intensive studies for getting been acquainted with the synthese of signal molecules, their recognitions by the target organisms, and for understanding the mechanisms of the relevant regulatory processes. The signal molecules diffuse easily through the cell membranes and interact with specific parts of DNA, regulating thereby RNA- and protein production. Quorum sensing circuits are involved in the coordination of certain virulence factors of bacteria causing plant or animal-diseases.

The role of quorum sensing in biofilms

Bacterial biofilms are complex structures which can exist on natural surfaces as well as on types of artificial wet surfaces in processing plants. Actually, surface attachment is more common form of existence of bacteria than the free-living (“planktonic”) state. The importance of biofilms is evident for the food processing areas and the water treatment industry.

Bacterial communication plays a role in all phase of the biofilm formation. Quorum sensing processes „regulate” the cell densities of the bacterial populations, their metabolic activities and adaptation to nutrient sources. Bacterial cells forming biofilm and embedded in its exo-polymer matrix have significantly different “transcription programs” than those of planktonic cells. Signal molecules regulate releasing of cells into planktonic state from the “overpopulated” bio film community. Better understanding of all these processes are very promising both from the theoretical and practical all point of views.

Antibiotics as signal molecules

Recent research shows that the interpretation of the role of antibiotics produced by certain soil bacteria should be modified: when they are used at unnaturally high concentration these microbially produced antibiotics can damage or kill other microbes, however, normally “they are talking, not fighting”. At low concentrations, these compounds elicit self-protective biofilm formation or co-operative biofilm formation of mixed species. Eventually, they induce disposal of other microbes by causing them to increase their motility and “flee”. Consequently, competition for resources by the microbe that produces the antibiotic is reduced.

Communication between the gut microbiota and the host intestinal tissue

Although the communication between the symbiotic commensal bacteria of the gut microbiota and the intestinal tissue of the mammalian host organisms is a somewhat

A quorum sensing gátlásának vonatkozásai

A quorum sensing folyamatokat gátló anyagok keresése is érdekes kutatási terület. Nem toxikus és természetes eredetű ilyen inhibitorok a biológiailag aktív anyagok kutatásának élelmiszertartósítási szempontból is különösen fontos területe lehetnek, s például ilyen összefüggésekre deríthetnek fényt a tradicionális gyógyászatban használt egyes növények „étkezési fitokemikália” összetétele és a baktériumok kommunikációjának gátlása közötti kapcsolat. Másrészt a quorum sensing kommunikáció gátlása hasznos olyan esetben is, amikor például a biofilm egyes technológiai műveleteknél eltömi a szűrő membránokat. A Gram-negatív baktériumokkal kapcsolatosan említett jelzőmolekulák deaktiválását előidéző aciláz enzim használatával például sikerült megakadályozni a biofilmképzési folyamatot és ezáltal megnövelni szűrők hatékony használhatósága időtartamát.

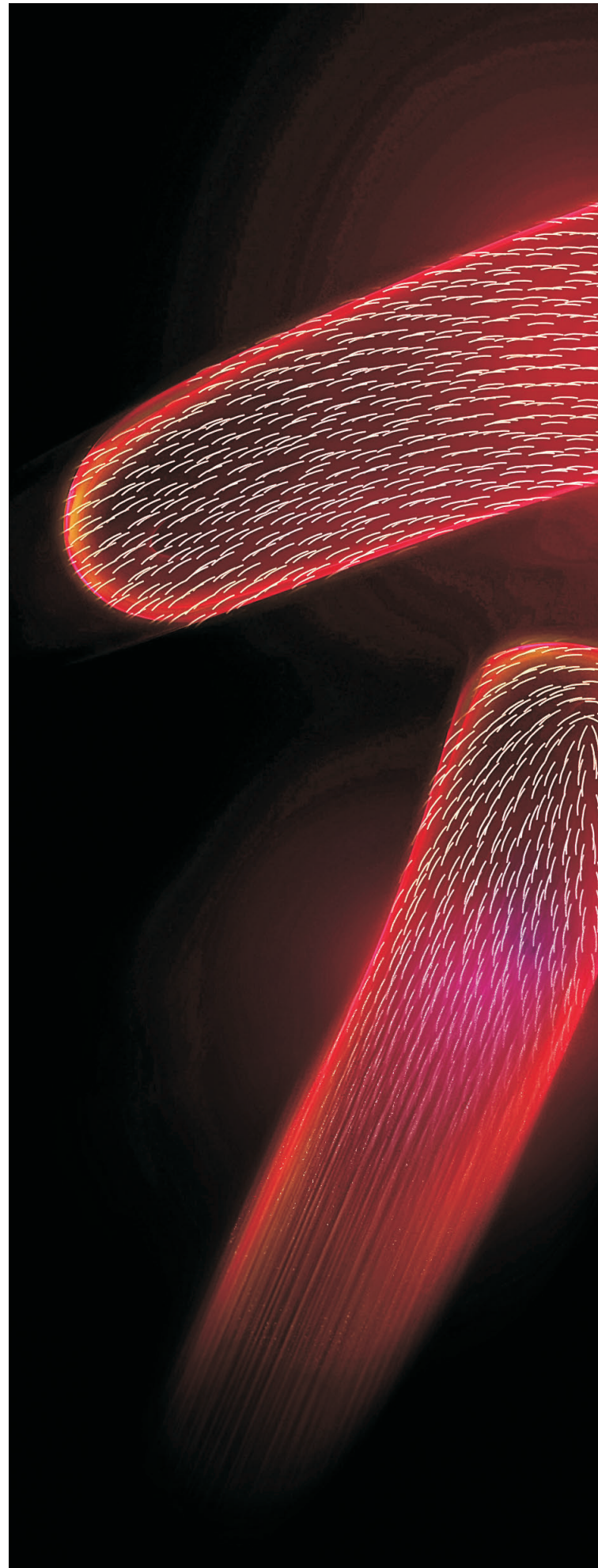
Következtetések

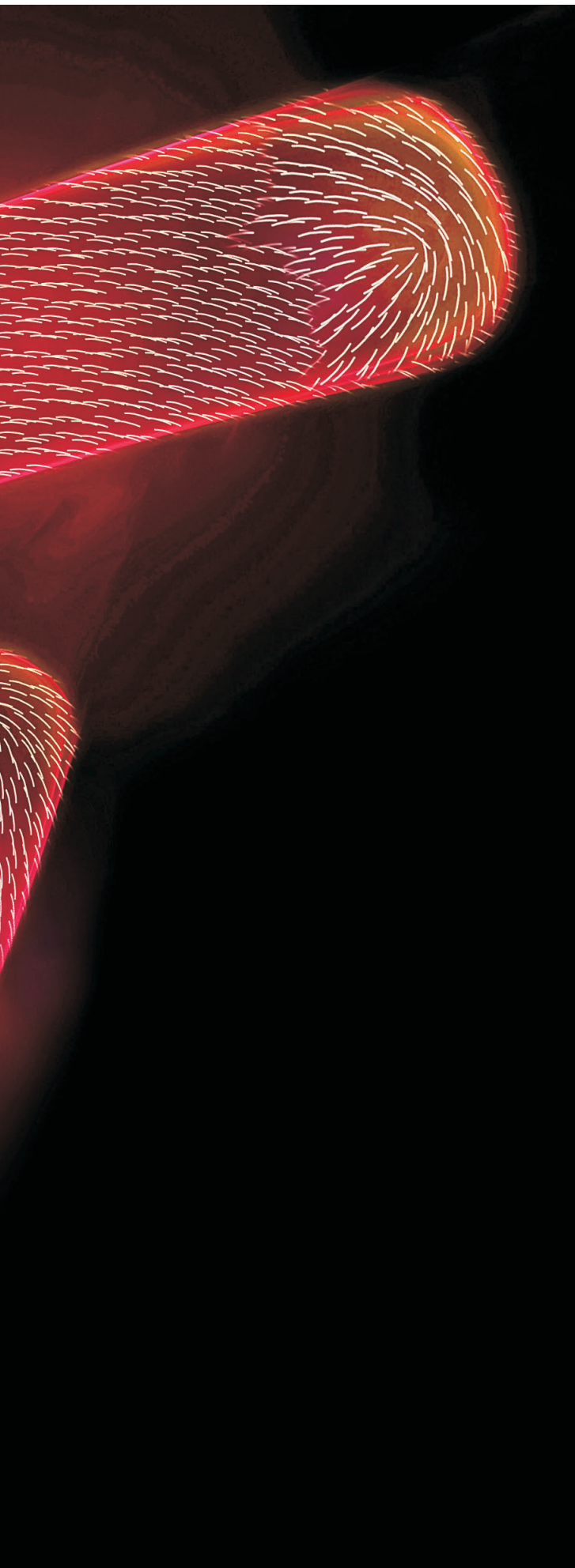
A modern élelmiszer-mikrobiológiai kutatások azt mutatják, hogy a baktériumok kommunikációja igen fontos szerepet játszik az élelmiszerek romlásában, a bakteriális biofilmekben és az élelmiszerekkel közvetíthető kórokozó baktériumok patogenezisében egyaránt. Ezért a baktériumok kommunikációja élelmiszer-ökoszisztémákban az élelmiszer-tudomány sokat ígérő kutatási területe. Ha jobban megértjük a bakteriális kommunikációt és az azt gátló, azzal antagonistá hatásokat, az segíthet az élelmiszerellátási lánc biztonsága javításában: a nemkívánatos baktériumok szaporodásának féken tartásában, az élelmiszerek eltarthatóságát, illetőleg az élelmiszer-biztonságot növelő új megoldások kialakításában.

Az élelmiszerek bizonyos komponensei gátolhatják, vagy éppen elősegíthetik a quorum sensing rendszerek működését. Az élelmiszerek mikro-szerkezetétől is nagyban függnek a sejtek közötti kommunikációk s ezen keresztül az élelmiszerek romlási mechanizmusa. Az élelmiszer-tudományi kutatások egyik új ága lehet tehát a quorum sensing kommunikációnak az élelmiszer-mátrixban való érvényesülése, figyelembe véve a mikrostrukturális, valamint különféle biotikus és abiotikus tényezőknek a szerepét annak érdekében, hogy például az élelmiszerek eltarthatósági ideje az eddigi gyakorlat-hoz képest jobban előre-jelezhető lehessen.

Ajánlott olvasmányok / Recommended readings

- Farkas, J., Mohácsiné Farkas, Cs. (2013): Új tudományterületek, amelyekre az élelmiszer mikrobiológusnak is érdemes odafigyelni. *Élelmiszer Tudomány Technológia*, 67, 7-11.
- Jamuna, B. ai, A. Ravishndra, Rai, V. (2011): Bacterial quorum sensing and food industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 184-194.
- Konishi, H., Fujiiya, M., Kohgo, Y. (2013): Traffic control of bacteria-derived molecules: A new system of host-bacterial crosstalk. *Int. J. Cell. Biol.*, (online: 2013. március 31.); doi: 10.1155/2013/757148.
- Ratcliff, W. C., Denison, R. F. (2011): Alternative actions for antibiotics. *Science*, 332, 547-548.
- Skandamis, P. N., Nychas, G.-J. E. (2012): Quorum sensing in the context of food microbiology. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 5473-5482.





different area from our present subject, it should be mentioned here, because it is also a very important new field of research and host-bacterial crosstalk. Virulent microorganisms such as pathogenic bacteria are recognized by pattern recognition receptors and induce inflammatory responses in mammalian intestine. It became known in the recent decades that the gut microbiota of the human organism contains more than 1000 different commensal bacterial species and they outnumber human cells by a factor of 10 to 1 without inducing inflammatory responses. The commensal bacteria-derived molecules mediate interactions between them and the host through sensing systems that may be different from those used for pathogenic bacteria. The commensal bacteria and the probiotic bacteria, recommended for consumption together with certain foods, exhibit beneficial functions in the host intestines. New findings indicate that the beneficial bacteria help to maintain the homeostasis of the intestinal environment.

Analysis of the quorum sensing signal molecules

It follows from what has been mentioned before that development and application of methods suitable for detection of the signal molecules are important analytical tasks. The broad arsenal of modern instrumental analytical tools can assist this work. Developing relevant biosensors seems to be particularly promising, considering the rapidity, relative simplicity and economy of such measurements. It is hoped that by detection of the quorum sensing molecules the early detection of food spoilage may become possible.

Inhibitory aspects of quorum sensing

The search for quorum sensing inhibitors is also an interesting field of research. Quorum sensing inhibitors, if they are non-toxic for the consumers, would be especially important for food preservation. Dietary phytochemicals from plants known to have several health benefits and their relation to inhibition of bacterial communication is an important consideration in this regard. Inhibition of quorum sensing might be useful also in those technological operations where e.g. biofilm formation plugs filter membranes. As an example, it was possible to prevent biofilm formation by using an acylase enzyme. This inhibition based on the deactivation of the signal molecules mentioned in relation of quorum sensing of Gram negatives, increasing thereby the longevity period for effective use of such membranes.

Conclusions

Because quorum sensing plays important roles in food spoilage, bacterial biofilms and pathogenesis of food-borne pathogenic bacteria, bacterial communication in food ecosystems is a promising field of food science. If bacterial communities and effects of their inhibition will be better understood, that can help the improvement of safety of the food supply chain, prevention of undesirable bacteria and development of methods for improved food preservation and food safety.

Since certain components of food inhibit, or, even support the formation of quorum sensing systems, and the bacterial communication in such ecosystems depends much on the microstructure and interactions between biotic and abiotic factors, better understanding of the relevant interactions could assist better prediction of shelf life of food.