

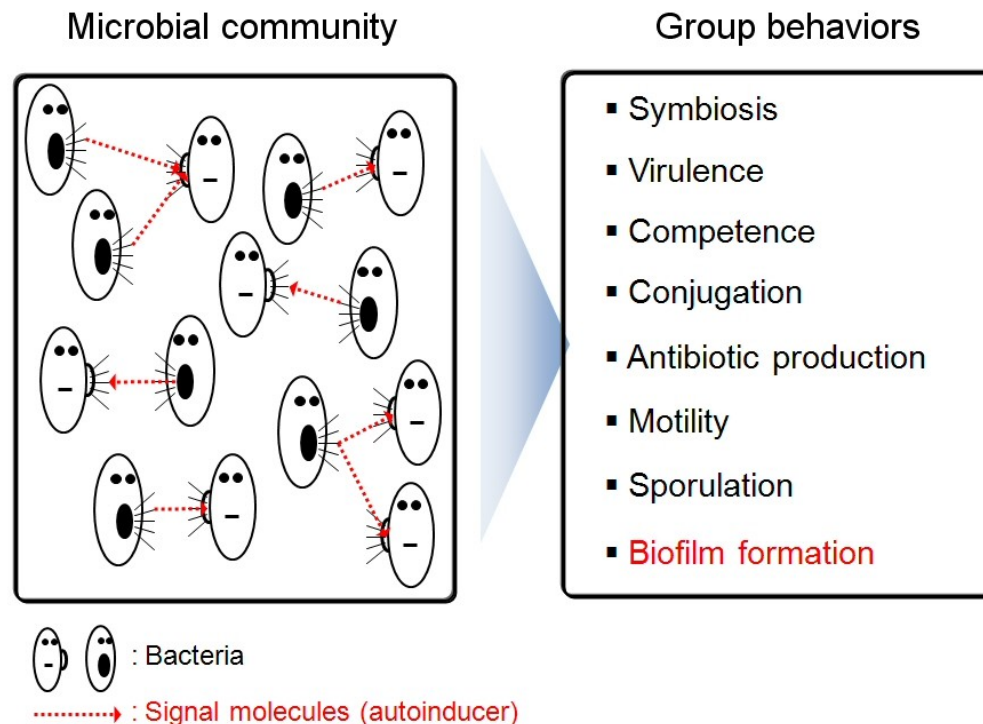
Sistemi za zaznavanje celične gostote v sintezni biologiji

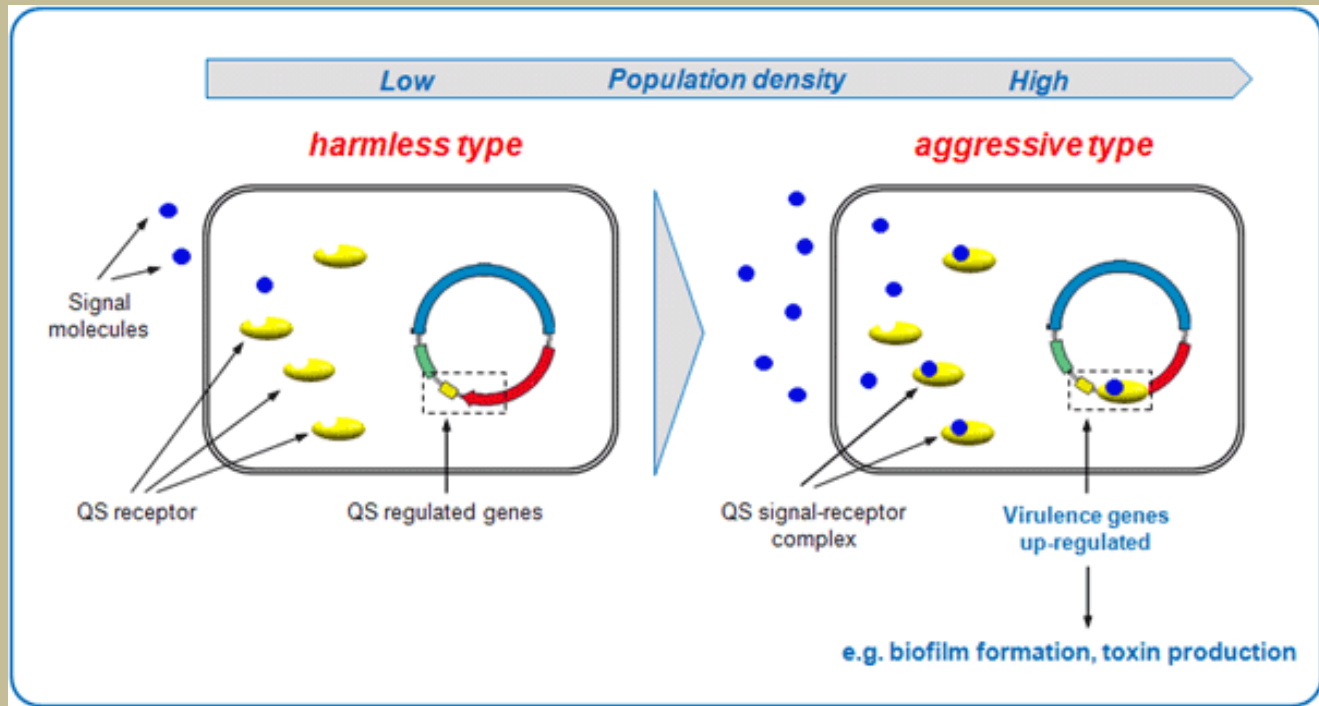
Zaznavanje celične gostote (quorum sensing, QS)

Celice med seboj komunicirajo preko signalnih molekul, ki v drugi celici sprožijo odziv na ravni transkripcije.

Več ko je celic v bližini neke celice, ki jo opazujemo, več signalnih molekul jo bo doseglo. Informacija o gostoti celic je pomembna, ker celice v gosti kulturi (lahko) spremenijo fenotip.

Signalne molekule omogočajo sinhronizacijo fenotipa (npr. usklajen odgovor na imunski odziv gostitelja ali na spremembe v okolju, kjer rastejo). Med geni, ki se inducirajo, so tudi geni za sintezo signalnih molekul (sicer je njihovo izražanje nizko). Povečana koncentracija signalnih molekul torej sproži pozitivno povratno zanko.





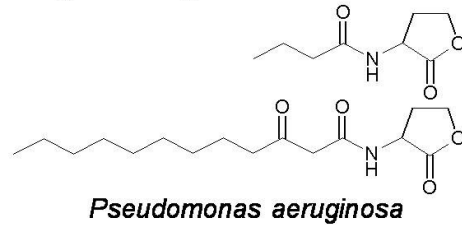
<http://www.advancedhealing.com/quorum-sensing-and-biofilm/>

Signalne molekule za zaznavanje celične gostote

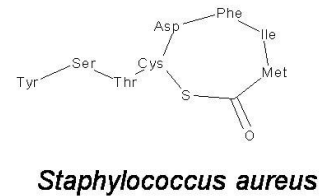
Različni mikroorganizmi uporabljajo različne signale, ki so zanje specifični in jih torej signali drugih mikrobov ne motijo. Če zaznavajo več različnih signalov, se lahko na vsakega od njih odzovejo drugače. Obstaja tudi signaliziranje med celicami različnih organizmov (QS cross-talk).

Obstaja več skupin signalnih molekul, znotraj vsake skupine pa so razlike npr. v dolžini stranskih verig ipd. Signalne molekule nekateri na splošno imenujejo tudi avtoinduktorji, imajo pa jih tudi za bakterijske feromone.

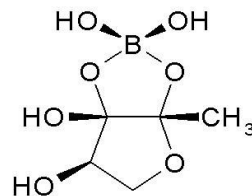
- **N-acyl homoserin lactone (AHL)**
for gram-negative bacteria



- **Oligopeptide**
for gram-positive bacteria

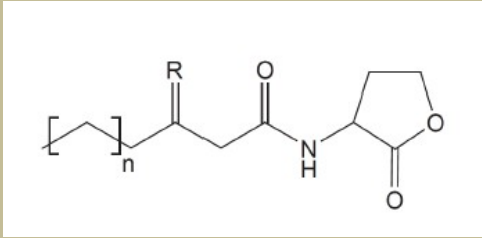


- **Autoinducer-2 (AI-2)**
for interspecies communication



- **Others**





Box 1. Structures of Some Quorum Sensing Signal Molecules

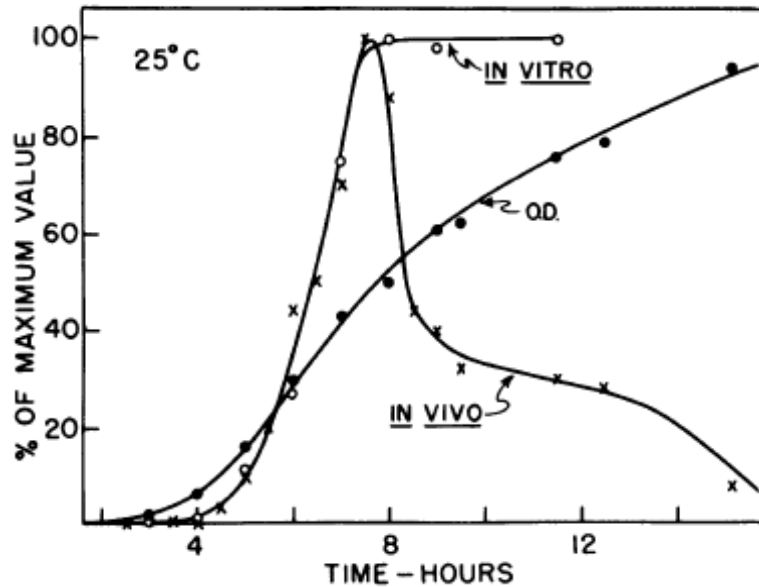
Signal	Structure	Organisms
C4-HSL (an AHL)		<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
C6-HSL		<i>Erwinia carotovora</i> , <i>Pseudomonas aureofaciens</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>
3-Oxo-C6-HSL		<i>E. carotovora</i> , <i>Vibrio fischeri</i> , <i>Y. enterocolitica</i>
3-Oxo-C8-HSL		<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Autoinducing Peptide (AIP)-I	 Tyr-Ser-Thr-Cys-Asp-Phe-Ile	<i>Staphylococcus aureus</i> Group I strains
AI-2 (<i>S</i> -THMF-borate)		<i>Vibrio harveyi</i>
Competence and Sporulation Stimulating Factor (CSF)	Glu - Arg - Gly - Met - Thr	<i>Bacillus subtilis</i>
Farnesol		<i>Candida albicans</i>

G-:
(acil)homoserinlaktoni (HSL)
alkil-kinoloni (AQ)
metilni sestri maščobnih kislin

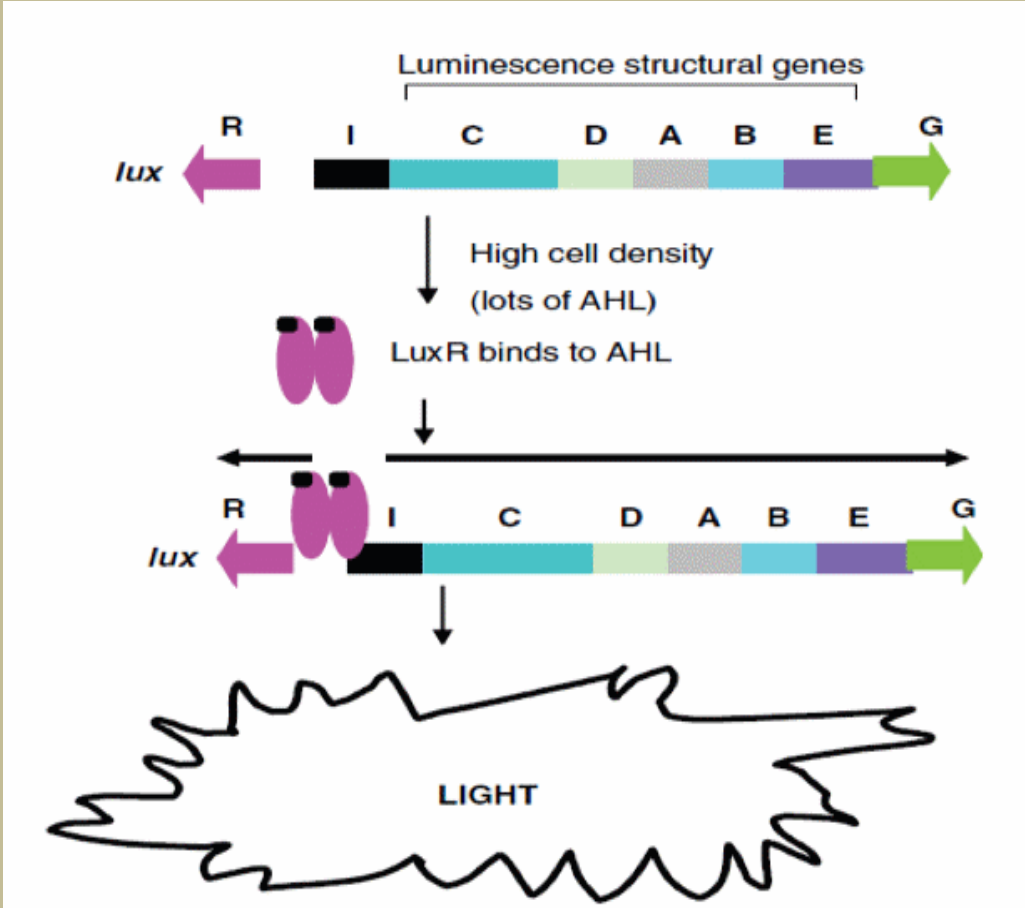
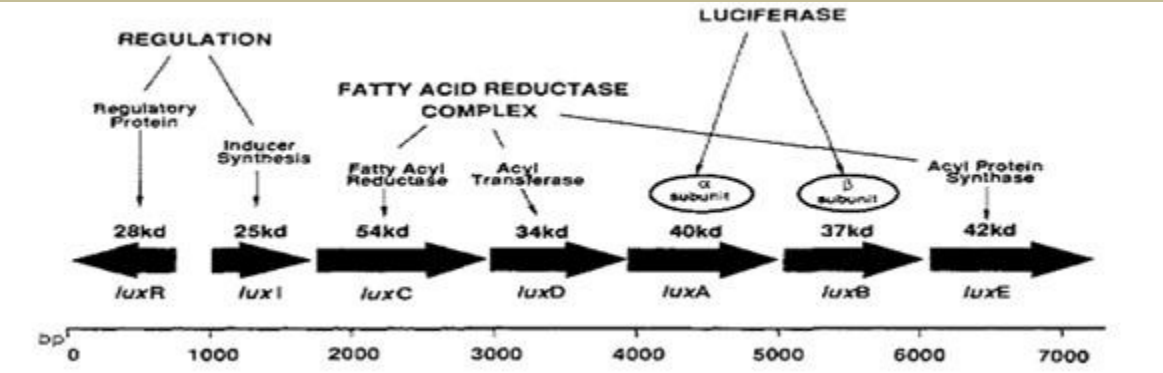
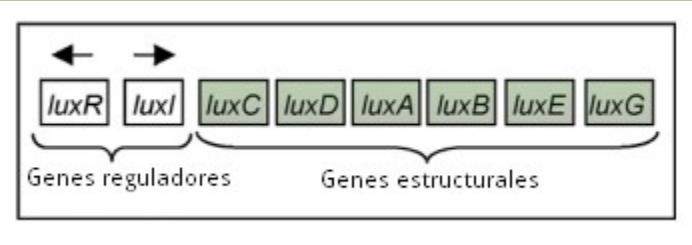
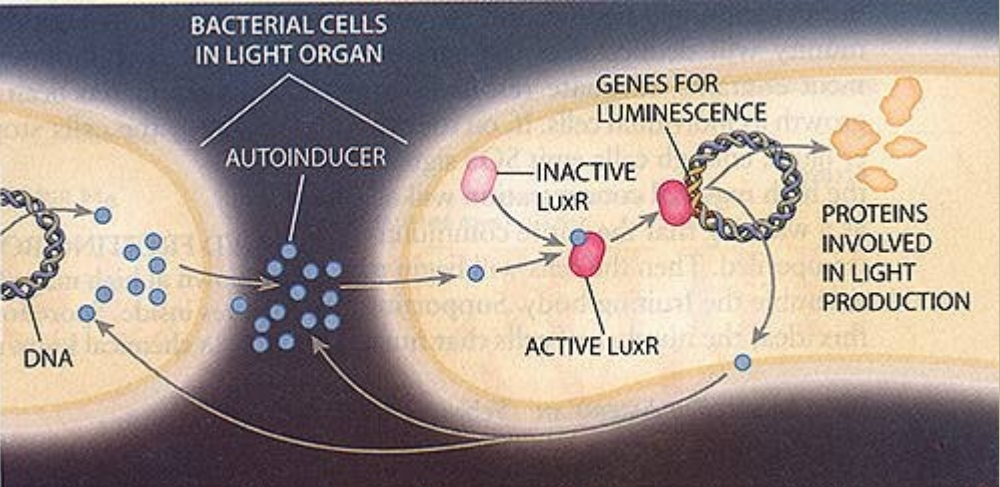
G+:
peptidi
butirolaktoni (*Streptomyces*)

Odkritje QS

Princip QS so odkrili pri gojeni bakteriji *Vibrio fischeri*, ki sicer živi v svetilnem organu havajske pritlikave sipe *Euprymna scolopes* (pa tudi drugih mehkužcev in rib). Izražanje luciferaze je omejeno na kratko obdobje, ko celice dosežejo določeno gostoto ($>10^{10}/\text{ml}$). Kasneje so podobne sisteme odkrili tudi pri številnih drugih bakterijah, obstajajo pa tudi načini komuniciranja med organizmi, ki so si filogenetsko zelo oddaljeni.

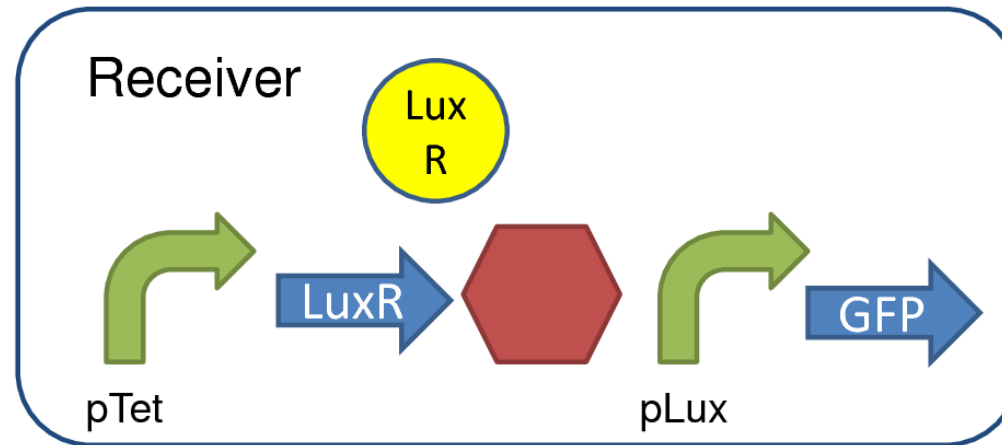
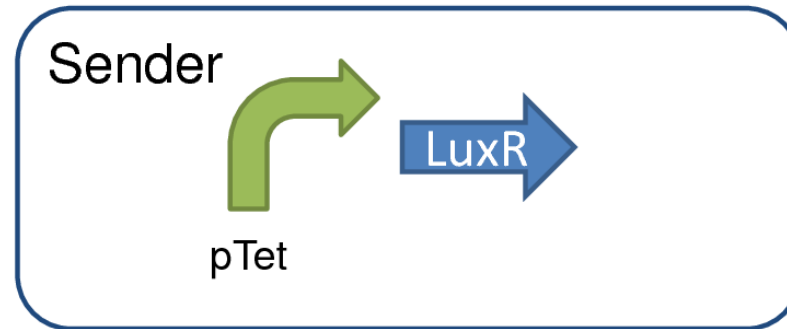
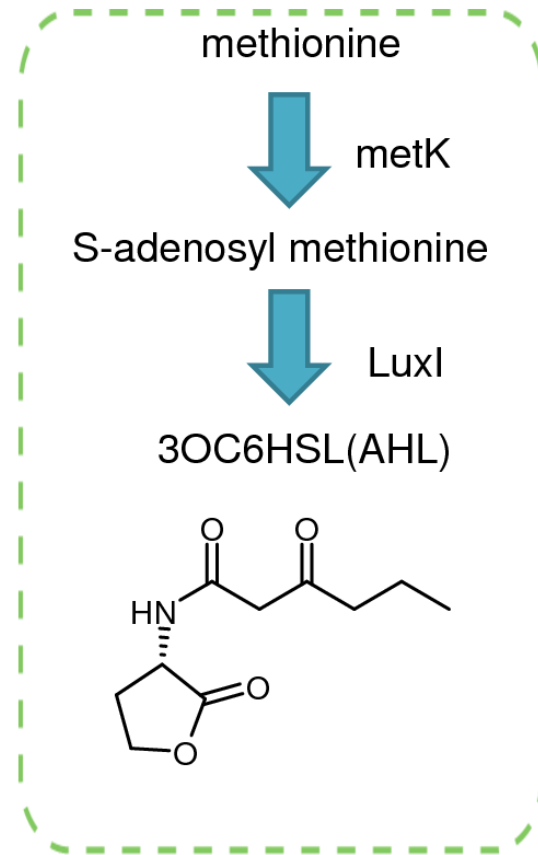


Signalni sistem LuxR/I

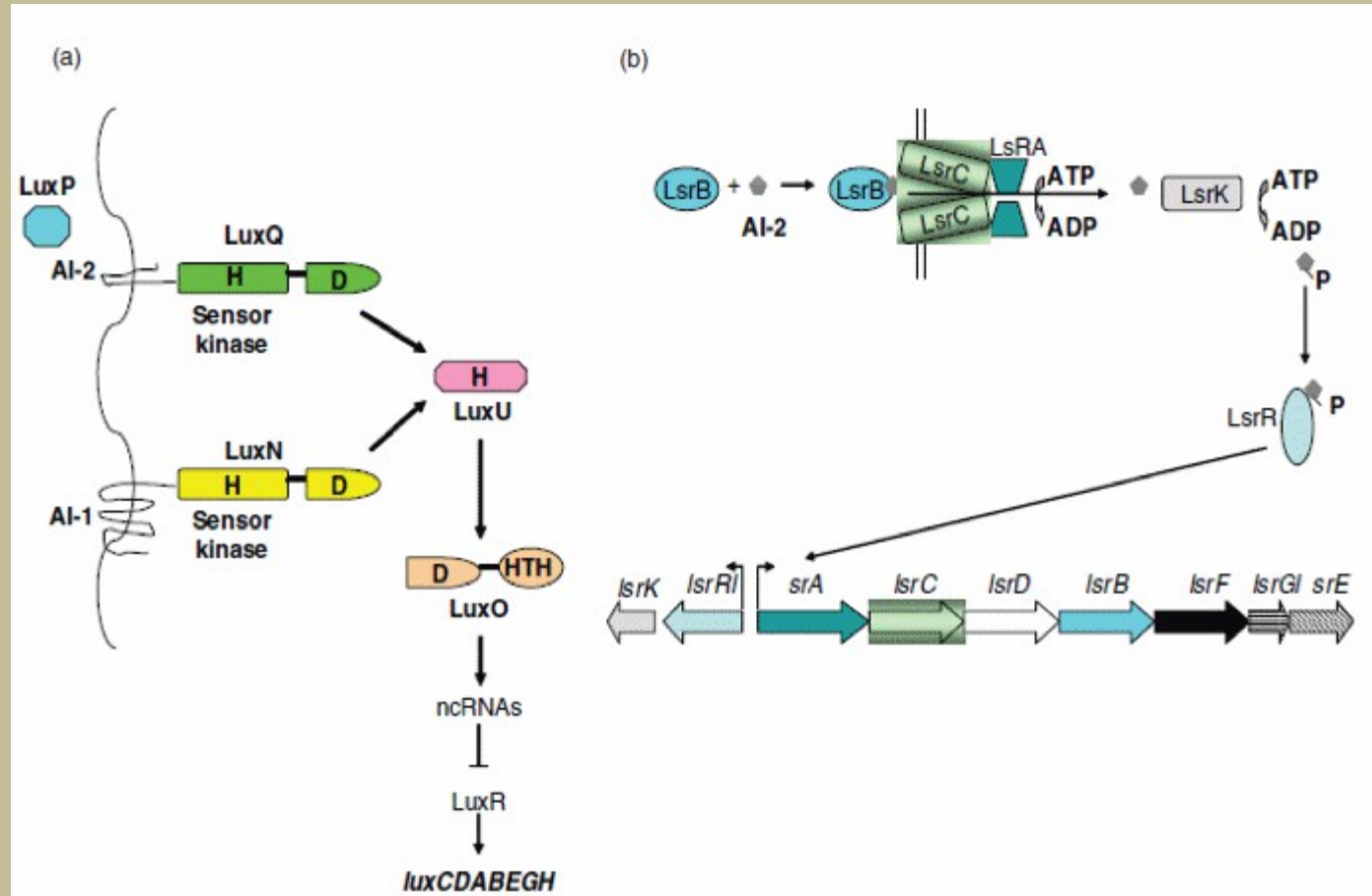


<https://www.bio.cmu.edu/courses/03441/TermPapers/97TermPapers/lux/communication.html>
http://2010.igem.org/Team:UNAM-Genomics_Mexico/Modules/In_vivo
<http://maestradelia.wordpress.com/2013/03/03/el-twitter-de-las-bacterias/>
http://aquafind.com/articles/Quorum_sensing.php

Quorum Sensing

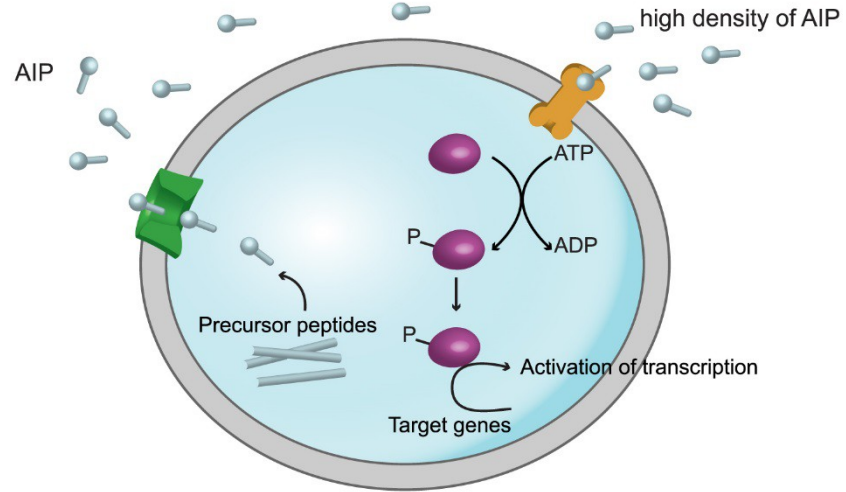


Signalni sistem LuxS/AI-2 pri *V. harveyi* (a) in *E. coli* (b)



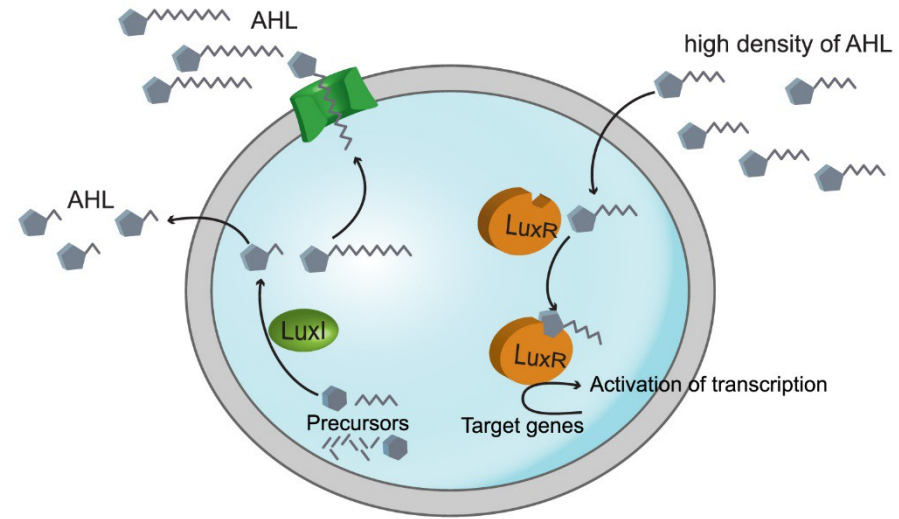
MECHANISM 1

Quorum sensing in mainly Gr⁺ bacteria: autoinducing polypeptides (AIP)



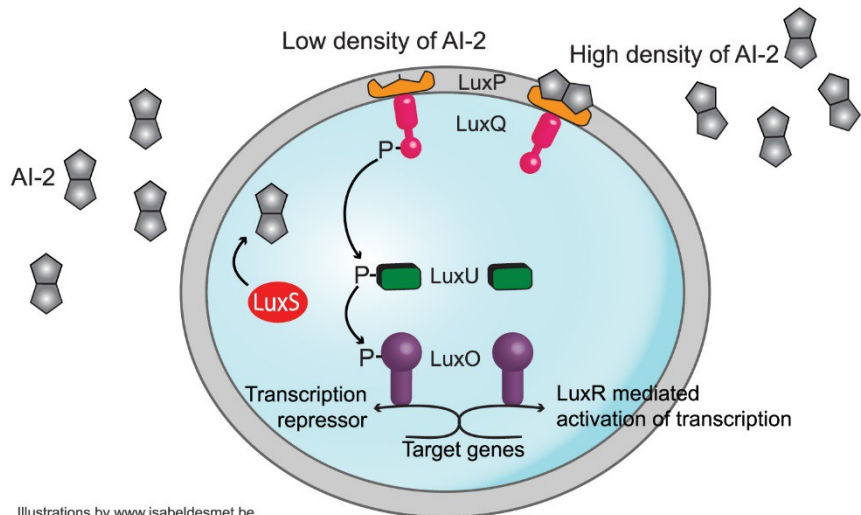
MECHANISM 2

Quorum sensing in Gr⁻ bacteria: N-acylhomoserine lactones (AHL / AI-1)



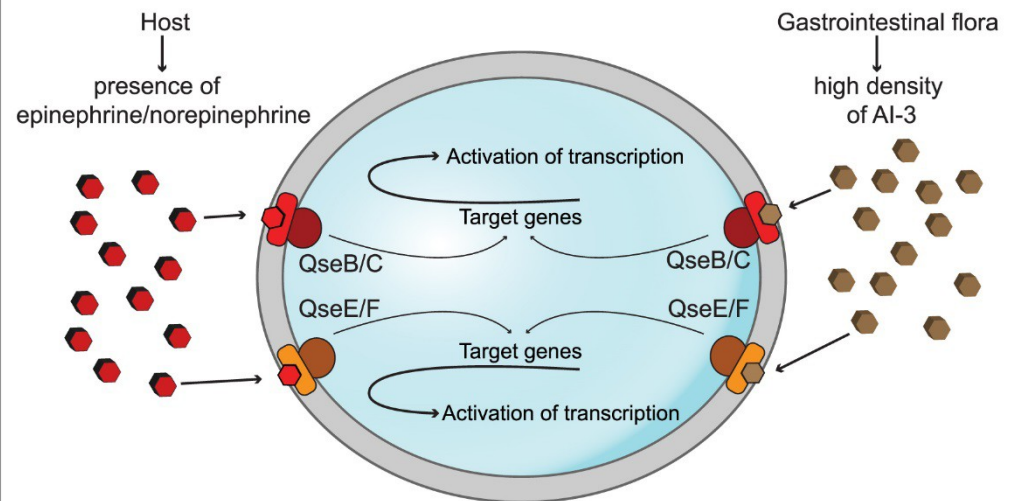
MECHANISM 3

Quorum sensing in both Gr⁺ and Gr⁻ bacteria: autoinducer 2 (AI-2)



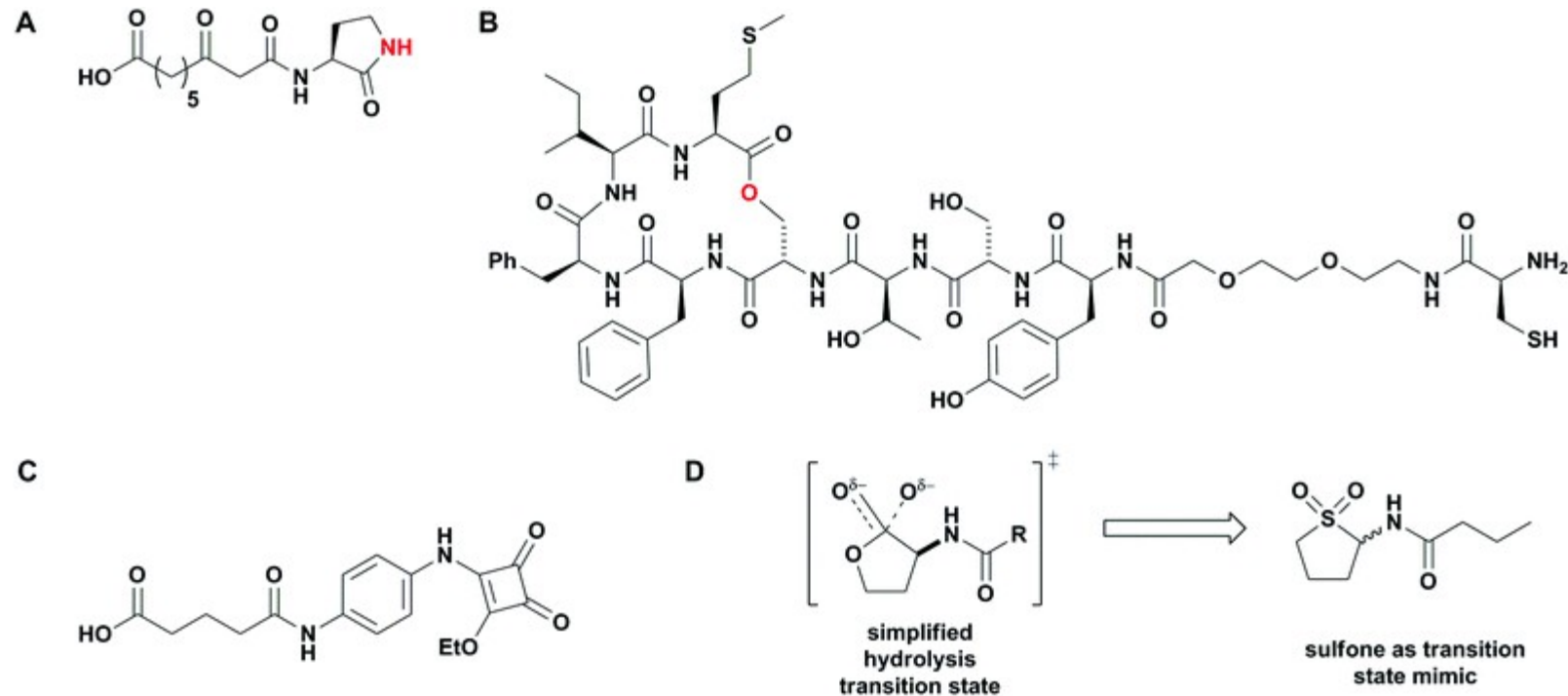
MECHANISM 4

Quorum sensing beyond bacterial borders: autoinducer 3 (AI-3)



Motilci QS

Ker je QS med drugim pomemben pojav pri patogenezi različnih bolezni, zato so razvili motilce tega procesa (proces imenujejo quorum quenching). Možni pristopi so z razgradnjo signalnih molekul ali z njihovo inaktivacijo.



Haptens used to prepare quorum quenching antibodies

Org. Biomol. Chem., 2012, 10, 8189-8199

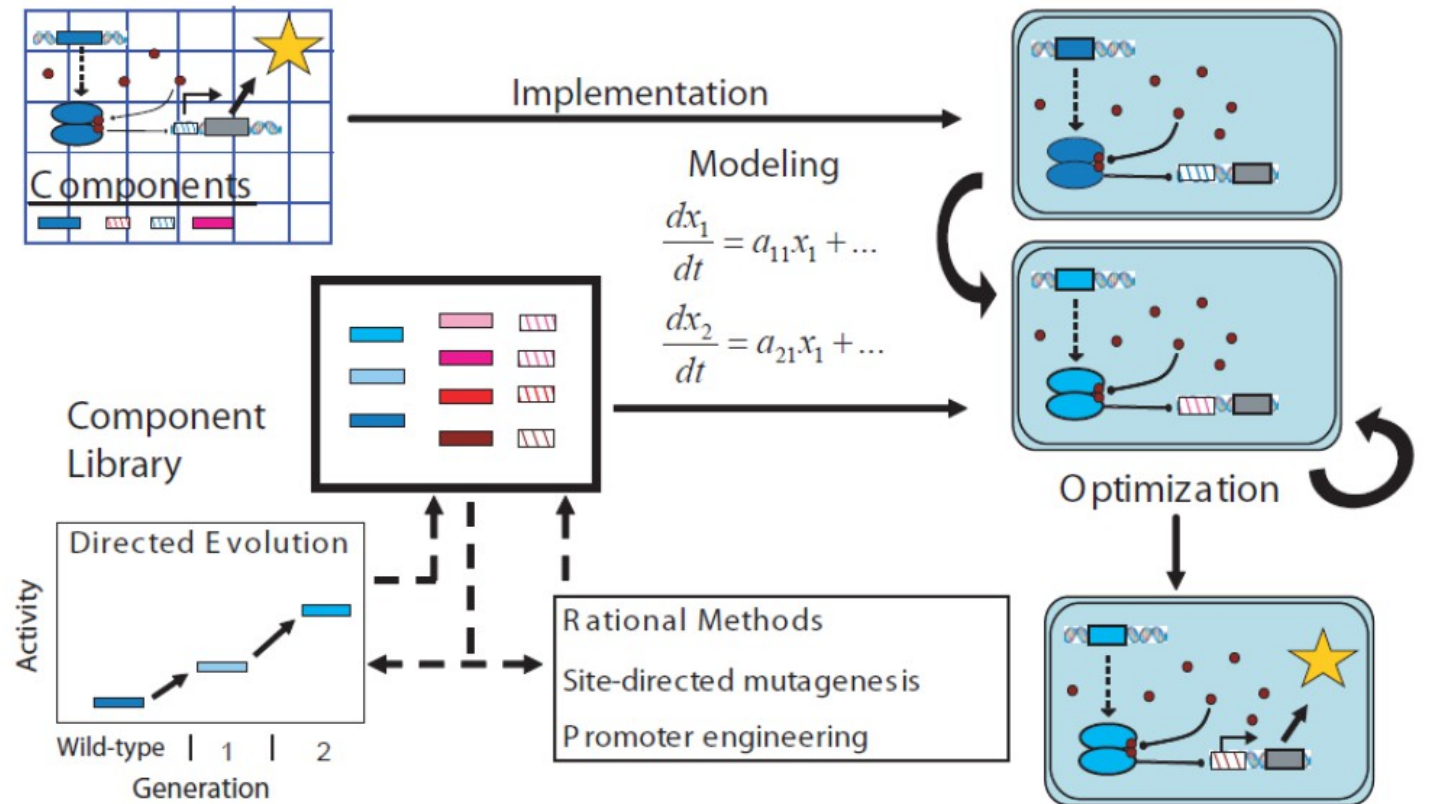
Inženirski pristopi k uporabi sistemov za zaznavanje gostote celic

S spreminjanjem ravni izražanja lahko dosežemo velike razlike v obnašanju sistemov. Najpogostejša načina regulacije sta preko spreminjanja promotorskih zaporedij in preko spreminjanja RBS. Slednje je pogostejše, ko gre za spreminjanje vezij, kjer bi lahko sprememba tipa promotorja porušila arhitekturo vezja. Spreminjanje promotorskih regij je smiselno pri tistih promotorjih, za katere imamo dovolj predhodnih eksperimentalnih podatkov o vplivu točno določenih mutacij. Spremenimo lahko tudi življenjsko dobo posameznih proteinov, če jim dodajamo oznake za razgradnjo.

Engineering of Artificial Cellular Circuits Based on the LuxI-LuxR Quorum-Sensing System

Daniel Jon Sayut
University of Massachusetts - Amherst, djsayut@gmail.com

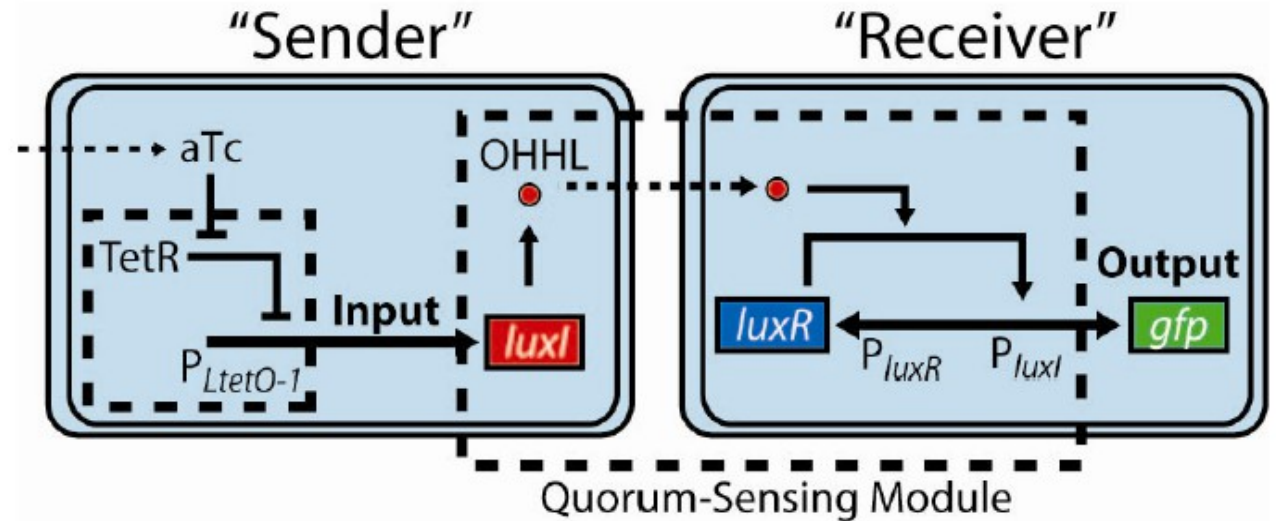
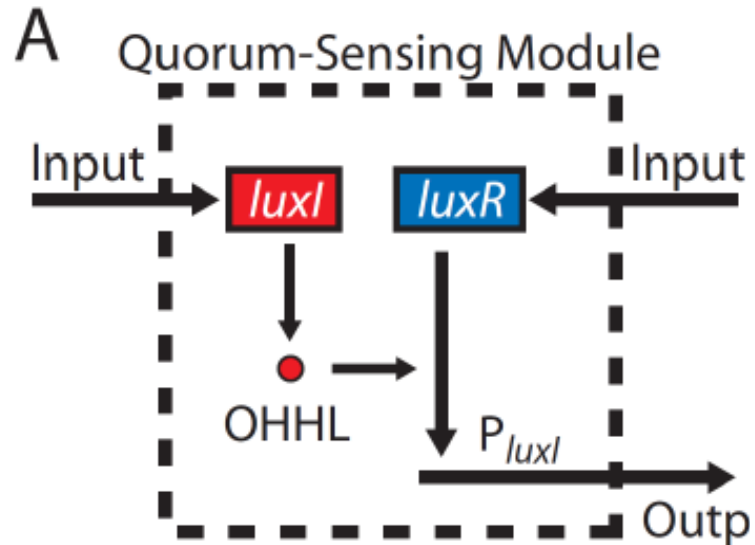
PhD, 2010

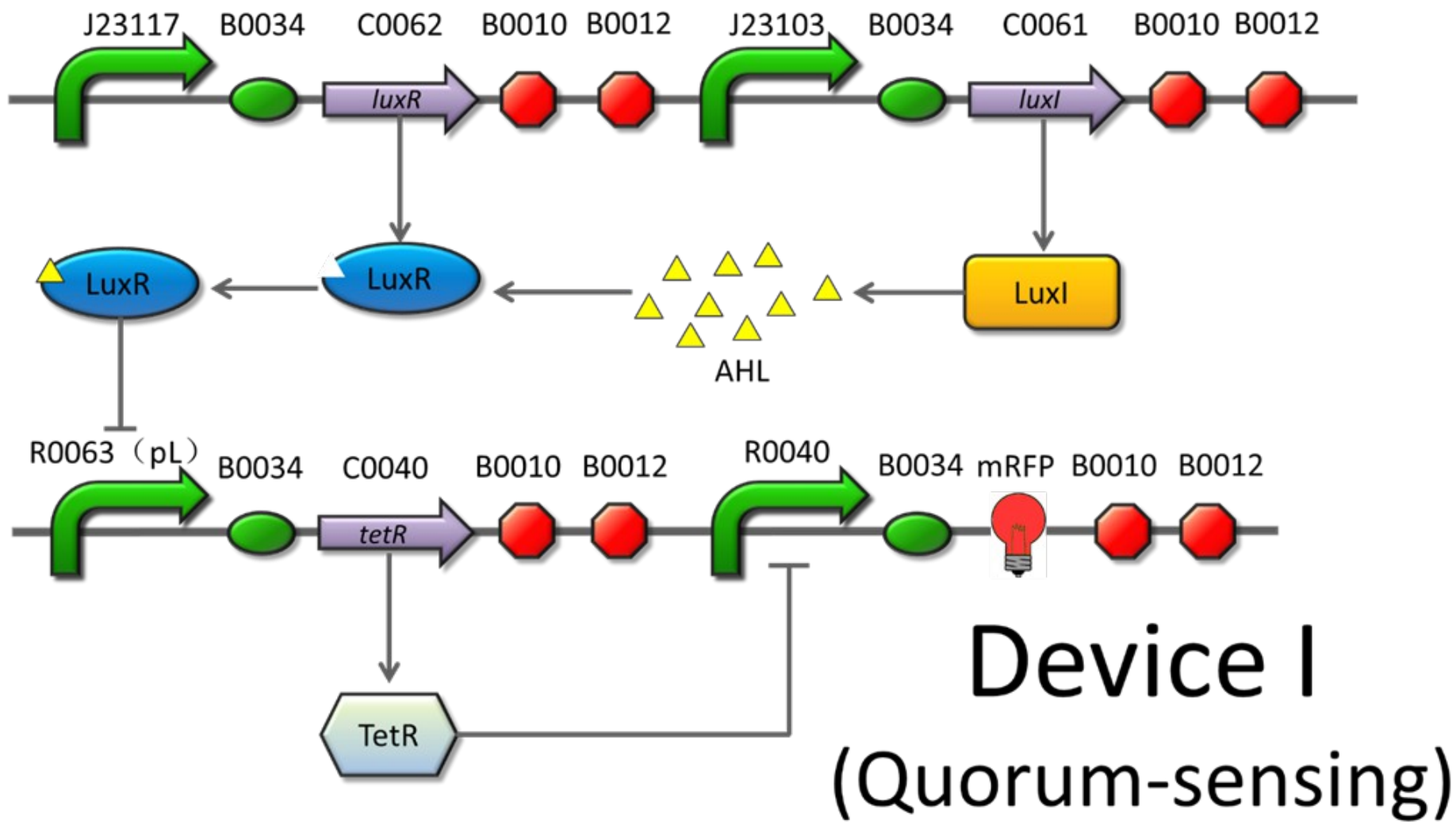


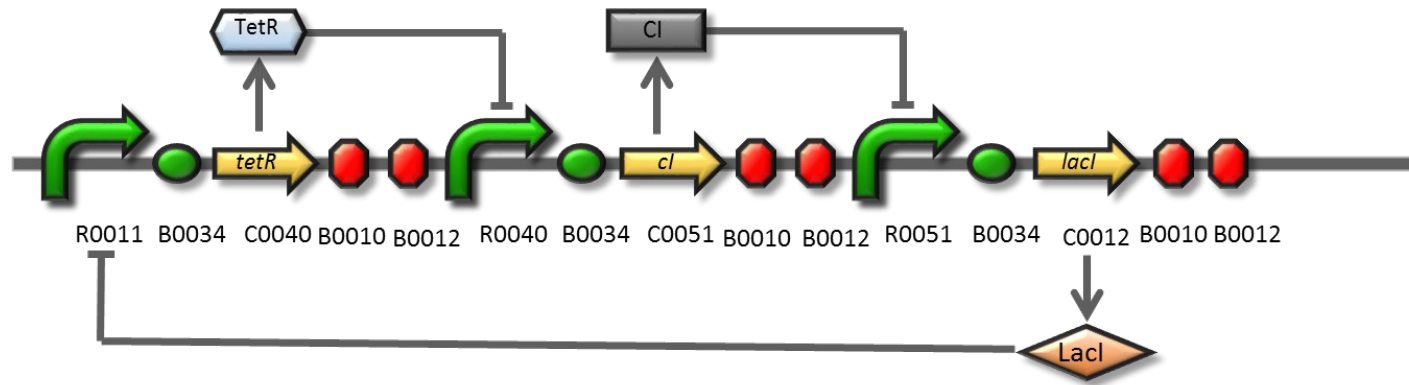
Za kaj lahko uporabimo sisteme za zaznavanje gostote celic?

Z uporabo naravnih in prilagojenih sistemov lahko dosežemo usklajeno izražanje točno določenih genov v populaciji tarčnih celic, ko te dosežejo ustrezno gostoto – smiselno npr. pri izražanju toksinov, za izvedbo logičnih vrat, za klinične aplikacije.

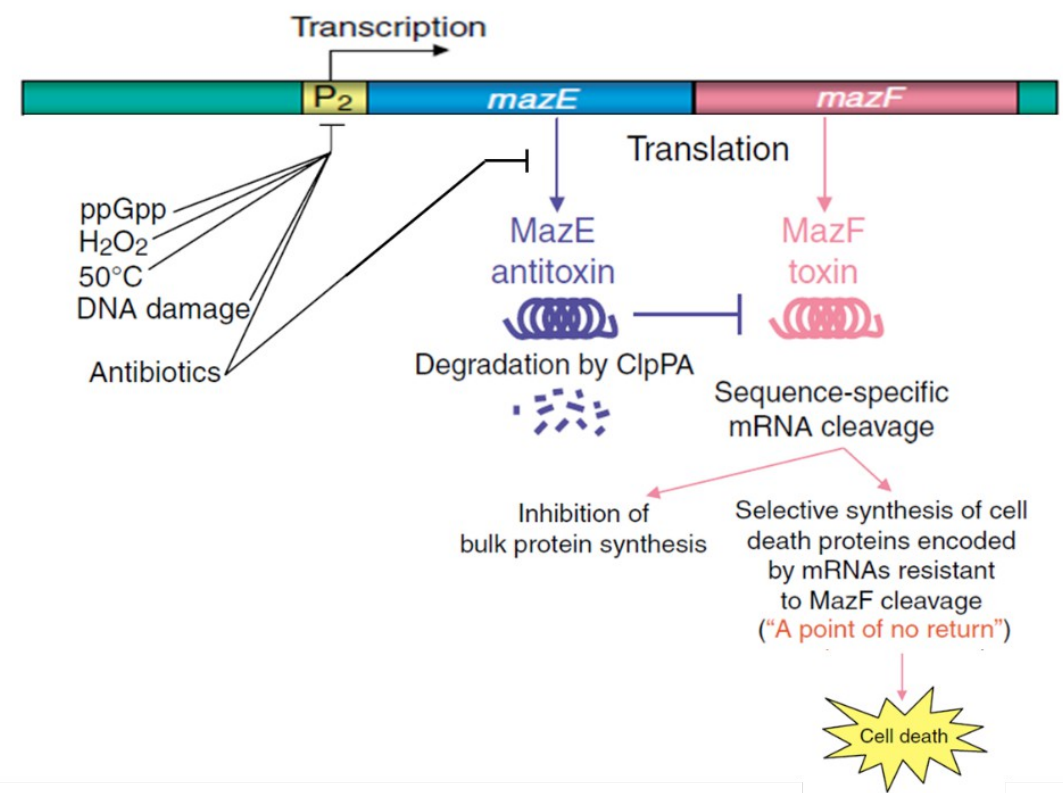
Prednost uporabe teh sistemov je tudi v tem, da lahko zakasnjeno izražanje sprožimo v oddaljenih celicah (oddajniki → sprejemniki).







Vežje 2:
oscilator



Vežje 3:
apoptozna
naprava

Generic Metric to Quantify Quorum Sensing Activation Dynamics

ACS Synth. Biol., Article ASAP
 DOI: 10.1021/sb400069w
 Publication Date (Web): September 6, 2013

