

Quorum Quenching

Eda Açıkgöz¹

Özet

Birçok organizma tür içi ve/veya türlerarasında farklı sinyal moleküllerini kullanarak birbirleriyle iletişim kurmaktadır. Bakteriler sinyal moleküllerini salgılayabildikleri gibi, bu moleküllerin ortamdaki yoğunluğunu ölçebilen bir mekanizmaya da sahiptir. Günümüzde bu olaya “quorum sensing” (yeterli çoğunluğu algılama) adı veriliyor (38, 43). Beslenme, üreme, spor oluşumu, antibiyotiklere direnç, biyofilm oluşumu gibi davranışların çoğu QS sinyal molekülleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. QS araştırmalarının en muhtemel yararı, mikroorganizmalar arası sinyal iletişimini bozarak mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasıdır. Bu bağlamda bakteri hücreleri arasındaki iletişimin engellenmesi ile ilgili mekanizmalar “Quorum Quenching” olarak adlandırılmaktadır. Son yıllarda hem prokaryot hem de ökaryotlar taraftan, farklı kaynaklarda yeterliliği bozan enzim ve inhibitörler görülmüştür. Gerek klinik gerekse diğer biyofilmlerin oluşumunu engelleyebilmek amacıyla; bugün yeni bir yaklaşım olan QQ ile QS moleküllerinin üretiminin önlenmesi, parçalanması veya inhibisyonu, QS sinyalinin alınmasının önlenmesi ile ilgili stratejilerin üzerinde çalışmaların yapılması büyük önem kazanmıştır.

GİRİŞ

Mikroorganizmaların aralarında iletişim kurabildiklerini ve değişen ortama birlikte ayak uydurabildiklerini biliyoruz. Çoğunluk-yeterlilik algılaması olarak da bilinen QS, birçok durumda, gen ekspresyonu ve bakteri toplulukları arası fonksiyonel koordinasyonda önemli bir rol oynamaktadır (7, 16, 24, 49). QS molekülleri, gözlemler ve küçük sinyal moleküllerinin konsantrasyonuna göre salınırlar. Bu hücre yoğunluğuna bağlıdır ve böylece hedef genlerin ekspresyonu düzenlenir. Son yıllarda birçok bakteriyal hücre-hücre iletişim sinyali keşfedilmiştir, bunlardan başlıcaları açilhomoserin laktin (AHL), siklik tiyolaktin (AIP), hidroksil-palmitik asit metil ester (PAME), furanosilborat (AI-2) ve metil dodesenoik asit olup (DSF) bunlar bakteriyal toksisiteyi etkilerler (24, 31, 35). Bu QS sinyalleri arasında, AHL’ler en belirgin hücre-hücre iletişim sinyalleridir. QS fenomeni sadece prokaryotik âleme özgü değildir; tek hücreli ökaryotik mantar patojenleri de QS sinyalleri kullanarak biyolojik fonksiyonlarını düzenlemektedirler. Yakın zamanda patojen mantar *Candida albicans*’ın farnezoik asit (FA) üreterek mantar toksisitesi için önemli olan miselyum oluşumunu düzenlediği keşfedilmiştir (56, 39).

¹ Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı. Yazışmaktan sorumlu yazarın e-posta adresi: eacikgoz@mku.edu.tr, eda.acikgoz@ege.edu.tr

Prokaryot-prokaryot ve prokaryot-ökaryot etkileşimler, doğal ekosistemde yaygın olarak görülürler. Birçok bakteri türünün, toksisite gibi, QS koordine toplumsal biyolojik etkinlikleri kullanarak rekabet avantajlarını arttırdığını düşünürsek bu rekabetçi mikropların QS sistemini devre dışı bırakarak avantaj sağlama üzerine bazı mekanizmaları olması da mantıklıdır (9, 39). Bu mekanizmaların gen ve molekül düzeyinde aydınlatılması, ilgili organizmalara karşı geliştirilecek olan stratejilerin daha etkili olmasına katkıda bulunacaktır.

Günümüzde mikroorganizmaların kontrol altına alınmasına yönelik geliştirilen yöntem sayısının çok olduğunu görmekteyiz. Buna karşın mikroorganizmaların geliştirmiş olduğu direnç mekanizmaları da buna bağlı olarak çeşitlenmektedir (4, 11). Quorum-Quenching (QQ) olarak ifade edilen yaklaşım, mikroorganizmalar arası sinyal iletişimini bozarak mikroorganizma topluluklarının etkili bir şekilde kontrol altında tutulmasını hedefler (53).

QUORUM QUENCHING MEKANİZMASI

QQ mikroorganizmalar arası sinyal iletişimini bozarak mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasıdır. Quorum quenching ile ilgili araştırmaların üç temel stratejide toplandığı görülmektedir:

QS Molekül Üretimini Önlenmesi

Önemli QS moleküllerinden birisi olan AHL, S-adenozil metiyoninden sentezlendiğinden bu aminoasidin analogları QS sentezini önlemek için denenmektedir. İlave olarak, bir makrolid olan eritromisin tam bilinmeyen bir mekanizma ile ribozomal düzeyde QS molekül sentezini engelleyebilmektedir. *Pseudomonas* QS molekülü olan PQS'nin antranilattan sentezinin metil-antranilat ile bloke edilmesi deneysel olarak elastaz gen ekspresyonunu önleyerek alternatif bir tedavi yaklaşım örneği oluşturmuştur (5). Ayrıca, QS inhibitörü varlığında üretilen *S. aureus* biyofilmlerinin antibiyotik ve dezenfektanlara daha duyarlı oldukları bilinmektedir (26).

QS Molekülünün Degradasyonu veya İnhibisyonu

QS sinyalinin yayılmasını önlemenin en bilinen yolu yıkıma uğratılmasıdır. Bazı *Bacillus* türleri üretmiş oldukları bir enzim aracılığı ile AHL molekülünü parçalayarak etkisiz hale getirirken, bir toprak bakterisi olan *Variovorax paradoxus* AHL'u tek enerji ve azot kaynağı olarak kullanmaktadır. Bu bakterilerin klinik önemi bilinmemekle birlikte, AHL yıkan enzimlerin klinik önem taşıyabilecekleri açıktır (5, 12). Doğada bazı bitki ve mantarlar, birlikte simbiyotik olarak yaşadıkları bakteri populasyonunun miktarını, bakterilerin üretmiş oldukları AHL sinyal iletişimini bozarak kontrol altında tutmaktadır. Bu kontrolün en bilinen örneği bir kırmızı makroalg olan *Delisea pulchra*'nın üretmiş ve veziküllerinde depolamış olduğu furanon bileşikleriyle kendisine zararlı olabilecek bakteri kolonizasyonunu önlemesidir. Bu molekülün insan patojeni *P. aeruginosa* ve *Serratia liquefaciens* QS moleküllerini de inhibe ettiği gösterilmiştir (52, 57).

QS Sinyal Alınımının Önlenmesi

QS sinyalinin alınmasını önlemek amacıyla reseptöre karşı yarışan AHL analogları denenmektedir. Bu analoglar genellikle AHL molekülünün yan zincirlerini uzatarak türetilmektedir. AHL molekülünün reseptörü sitoplazmik veya membranın sitoplazmik yüzünde yerleşik olan LuxR proteini, AIP sinyalinin reseptörü ise membrana bağlı histidin kinazlardır. AI-2 molekülü ise ya AHL benzeri şekilde LuxR homoloğu LuxP ile etkileşir veya Lsr transporter molekülü ile hücre içine girerek etki gösterir. Bu noktadan hareketle, *D. pulchra*'nın ürettiği bileşiklerden birisinin LuxR proteinine bağlanarak AHL'nin ayrılmasına neden olduğu ve böylece *S. liquefaciens*'in buğu tarzı üremesini bozduğu saptanmıştır (57). Daha ilginç bir mekanizma ise, bazı bitkilerin ürettikleri AHL analogu bileşikler ile *Bacillus cereus* tarafından antibiyotik sentezini tetikleyerek kendileri için zararlı olan *Pythium torulosum*'un üremesini önlemeleridir (33, 45).

PROKARYOT- PROKARYOT QUORUM QUENCHING

Birçok *Bacillus* türü AiiA olarak bilinen bir enzim salgırlar ki, bu enzim AHLs'lerdeki açıldan gelen lakton halkasına yapışır ve sinyal transdüksiyonunda AHLs'i pasif duruma getirir. AiiA, bu stratejisini gram negatif bakteriler arasındaki AHL'ye bağlı komünikasyona genetiksel olarak karışan AHL açıl yan zinciri bakımından önemli değildir. Bu yüzden bu taktik gram negatif bakteriyal komünikasyonu engellediğinden, *Bacillus* hücre-hücre iletişimi üzerinde herhangi bir etkiye neden olmaz. (8)

Bir toprak bakterisi olan *Variovorax paradoxus* farklı bir AHL quorum-quenching taktiğini kullanır. *Bacillus* gibi *Variovorax paradoxus*'da AHL molekülünü parçalayabilir. Bu organizmada AHL'lerin yıkımı açılaza bağlı lakton halkasının açılması ile gerçekleşir. *Variovorax paradoxus* reaksiyonların çizgisel ürünlerini karbon ve nitrogen kaynağı olarak kullanır. Bu strateji *Variovorax paradoxus*'a iki yönde fayda sağlayabilir: rakiplerinin grupsal davranışına bir son verir ve aynı zamanda kendi büyüme gücünü de artırır. Belirli Ralstone izolatları, *aiiD* tarafından kodlanan bir açıl AHL içerirler. Bu AHL-açılaz *Variovorax paradoxus*'a benzer bir anti-quorum sensing mekanizmasını destekler. *Rastonia*'a da otoindükleyici olarak fonksiyon gösteren 3OH-PAME *aiiD* aktivitesinden de etkilenmez (31, 33).

Bazı durumlarda bakteriler quorum sensing aktivitelerini sonlandıran kendi otoindükleyicilerini de parçalayabilirler. Örneğin stasyonel fazda *A. tumefaciens* kendi otoindükleyicisini parçalayabilen AttM AHL laktonazı üretebilir. Bazı araştırmacılar AttM'nin bu prosesi durdurmasının bir dezavantaj olduğu görüşündeler. *Erwinia carotovora* ve *Xanthomonas campestris* stasyonel fazda benzer bir mekanizma sergilemektedir (46). *Pseudomonas aeruginosa* AiiD tipte PvdQ olarak isimlendirilen bir açılaz vasıtasıyla AHL'deki uzun olan zincirleri parçalayabilmektedir. Bu durumda C4-homoserin lakton olan RhII otoindükleyici parçalamaz iken, 3-OC12-homoserin laktonu olan las I otoindükleyicisi zarar görebilir. İlginç olan şey lasIR regulon'nun bir üyesi olan pvdQ 'nun 3OC12-homoserin 'nin kontrolü altında olmasıdır (21).

S. typhimurium ve *Escherichia coli*'yi içeren bazı enterik bakteriler AI-2 transporter ile uyarılırlar. AI-2 sitoplazma içinde iken, bir takım enzimatik reaksiyonlar AI-2 'nin sinyal aktivitesini etkisiz hale getirirler. Bu proses, AI-2 konsantrasyonunu düşük hücre yoğunluğu seviyesine düşürür. AI-2 internalizasyonunun bakteriler arasındaki kimyasal komunikasyonun engellenmesin için diğer mekanizmaların da olabileceğinden şüpheleniliyor. Çünkü *E. coli* ve *S. typhimurium* da AI-2 ürettiğinden ve bu sinyallere tepki verdiğinden bu bakterilerin kendi AI-2 sinyal kaskatlarının uygunluğunu korurken nasıl kendi AI-2 'sini ifadesini düzenlediği tam olarak bilinmiyor (43, 44, 51).

Bacillus thuringiensis CTC'de *ctc* ve *ctc2* adı verilen iki gen yüzey S-layer protein sentezinden sorumludur. *B. thuringiensis* 4Q7 'de bulunan *aiiA*_{4Q7} geni de AHL-laktonaz enziminin sentezini sağlamaktadır. Bu enzimde bitkilerdeki yumuşak hastalık oluşumunun inhibisyonunda rol oynamaktadır. AHL laktonaz oluşumundan sorumlu olan gen S-layer proteinlerinin sekresyonundan sorumlu olan *ctc* genin upstream sekansı ile kaynaştırılıyor ve bunun sonucunda da *slh-aiiA* kombinasyonu oluşturuluyor. Bu işlem yapıldıktan sonra *slh-aiiA* gen füzyonunun *B. thuringiensis* Tr5'de ekspresyonu yapılıyor. Bunun sonucunda da bu organizmada yüksek düzeyde bir AHL parçlama aktivitesi gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda elde edilen sonuçlar bitkierde yumuşak çürüklük hastalığına neden olan *E. carotovora* ile mücadelede kullanılabilir (27, 23).

ÖKARYOT- PROKARYOT QUORUM QUENCHİNG

Bakteriyal quorum sensing mekanizmasını harekete geçiren bazı ökaryotik mekanizmalar yeni keşfedilmiştir. Avusturyalı kırmızı makro alg olan *Delisea punchra*'nın yüzeyi AHLs ile aynı yapıda olan halojenlenmiş furanonlar ile kaplanmıştır. Furanonlar bakteriler tarafından hücre içine alınır, luxR tipi proteinlere bağlanır ve bu proteinlerin parçalanmasına neden olur. Bu strateji quorum sensing kontrollü biyofilm oluşumunun engellenmesi ile algal yüzeydeki bakteriyal kolonizasyondan korur (14).

Baklagillerden olan *Medicago truncatula*, *Sinorhizobium meliloti* ve *P. aeruginosa* olarak adlandırılan iki quorum sensing bakteri modelinin ürettiği AHLs'ye yanıt olan 150 proteinin kontrolünü gerçekleştirir. Bitki AHL'ye yanıt olan bileşikler salgılar. Bu faktörler AI-2 sinyalini inhibe eder ve AHL 'yi stimüle eder. Bu bitki AI-2 üreten bakterilerde değil de AHL üreten bakteriler arasındaki sinyalleri harekete geçirir. Çünkü sadece AHL bitki için faydalıdır. Aynı şekilde *Pisum sativum* değişik bakteri türlerindeki AHL düzenleyici davranışları hem pozitif hem de negatif etkileyen AHL benzeri molekülleri üretir (14, 28).

NADPH tarafından üretilen reaktif oksijen ve nitrojenler hava kesesi skin modeli faresindeki *S. aureus* otoindükleyici peptidleri inaktive eder. Bu buluşlar, bakteriyal enfeksiyonlardan korunmada kalıtsal bağışıklığın önemli bir bileşeni olan NADPH oksidaz için yeni rol belirliyor. Buna bağlı olarak faredeki NADPH eksikliği *S. aureus* quorum sensing mutasyonundan gelen enfeksiyon NADPH oksidaz kaybını etkilemez iken, bu eksiklik *S. aureus* enfeksiyonuna karşı direnci azaltır. Bu son sonuç, reaktif oksijen türlerinin sadece quorum quenching boyunca etkinliği etkilediğini gösteriyor.

Bu çalışmayı yapan bilimadamları, NADPH oksidaz tarafından üretilen diğer quorum sensing molekül çeşitlerinin oksidasyonunun mümkün olabileceğini tahmin etmektedir (26).

İnsan hücreleri de quorum quenching aktivitesine sahiptir. Primer ve immortalize insan epitelyum hücrelerinin *P. aeruginosa* 'daki 3OC12-homoserin lakton otoindükleyicini inaktive ettiği görülmüştür. Ama C4-homoserin laktonu otoindükleyicine karşı böyle bir etkiye sahip değiller. Şu anda karakterize edilmemesine rağmen quenching aktivitesinin zarla ilişkili olduğu düşünülüyor (14, 47).

QS İNHİBİSYONU

QS Mimikleri

Son yapılan çalışmalarda bazı yüksek bitkiler ve alglerde gram negatif bakterilerdeki AHL sinyallerine benzer yapıda olan moleküller saptanmıştır. Bu konu ile yapılan çalışmaların çoğu kırmızı deniz algi olan *Delisea pulchra* tarafından üretilen halojenlenmiş furanonlar üzerinde yapılmıştır. *Delisea* furanonları gram negatiflerdeki N-acyl homoserin laktonlar (AHL) ile benzer kimyasal yapıya sahiptir. Furanonlar spesifik olarak çeşitli bakterilerdeki AHL ile regüle edilen davranışları engellemektedir. *Delisea*'daki QS mimikleri bakterilerdeki AHL reseptör proteinlere bağlanarak fonksiyon göstermektedirler. Böylece bu reseptörlerin proteolitik degregasyonunu sağlıyorlar. Furanon AHL mimiklerinin in vitroda *P. aeruginosa*'nın biyofilm yapısına etki ettiği ve normal virulans faktörlerinin üretimini bloke ettiği görülmüştür. Bu moleküller aynı zamanda deniz çevresindeki algal yüzeyde gelişen doğal bakteriyal komünitenin de yapısını değiştirmektedir (3, 6, 14).

Bezelye, soya fasulyesi, pirinç ve *Medicago truncatula* gibi yüksel bitkiler bakteriyal AHL sinyallerine benzer bazı moleküller salgılar. Yapılan bazı çalışmalarda, değişik bitkilerin farklı AHL bileşikler ürettikleri ortaya çıkmıştır (28). *Delisea*'daki AHL mimik bileşiklerine karşı bitkilerdeki moleküller spesifik AHL reseptörlerinin ekspresyonunu stimüle etmektedir. Aynı zamanda tek hücreli yeşil alg olan *Clamydomonas reinhardtii* de AHL reseptörlerinin ifadesini artıracak moleküller sentezlemektedir. *Clamydomonas*'dan pürifiye edilmiş AHL mimik *P. aeruginosa*'daki LasR reseptörlerini stimüle etmektedir. Bu molekül aynı zamanda *Sinorhizobium meliloti*'de QS regüle eden proteinlerin akümüülasyonunda hem artırıcı hem de azaltıcı etkiye sahiptir. Taklit bileşikler ile bazı AHL reseptörleri arasındaki interaksyon transkripsiyonel aktivasyonu etkilerken diğer reseptörlerle olan ilişkisi reseptör proteinlerin proteolitik degradasyonu yoluyla AHL yıkımını stimüle ediyor ya da inhibe ediyor (13).

AHLs'lere ilave olarak başka QS sinyal moleküllerin kimyasal yapısı aydınlatılmıştır. Ancak diğer sinyal moleküllere karşı bitkilerin herhangi bir benzeri yapıda ürün sentezlediği tam olarak bilinmiyor. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda *M. truncatula*, *C. reinhardtii* ve *Chlorella spp.*'nin sentezlemiş olduğu tanımlanamayan substratların AI-2-spesifik reporter stimüle ya da inhibe ettiği görülmüştür (5, 41). AI-2 *Vibrio harvey*, *Vibrio cholerae* ve belki de diğer enterik bakteriler konakçıyla olan ilişkileri regüle etmek için kullanılıyor (22).

Wang ve arkadaşları *Xanthomonas campestris* α - β doymamış yağ asidi yapısında QS sinyal molekülünün varlığını tanımlamışlardır. Bu sinyal yapısal ve fonksiyonel olarak fungal patojen *Candida albicans*'ın morfolojik ve virulansını regüle eden farnesoik asitle ilişkilidir. Memelilerdeki epinefrin hormonu AI-3 QS reseptör vasıtasıyla *Escherichia coli*'deki virulans genlerin ekspresyonunu stimüle ediyor. Bakteri bu hormonal sinyalleri enfeksiyon oluşumu için gerekli olan QS-regülatör mekanizmayı tetiklemede kullanıyor olabilir (25, 56).

Değişik bakteri türlerinin üretmiş olduğu AHL QS sinyaller doğal buğday rizosferindeki *Pseudomonas*'ın gen ekspresyonunu aktive ettiği görülmüştür. Bazı bakteriler diğer bakterilerdeki QS regülasyonunu bozacak şekilde etki gösterebilir (1).

QQ Enzimleri

Prokaryotlardaki yeterlilik bastıran (QQ) enzimler

Bulaşıcı bakteri hastalıklarından korunmak için QS'in uygun bir hedef olup olmadığı araştırılırken, *Erwinia carotovora*, *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia stewartii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Xenorhabdus nematophilus* gibi bitki ve insan patojen bakterilerinin toksisiteleri için AHL QS sinyallerine bağımlı olduğu bulunmuştur. Bir AHL sinyali konsantrasyonu toksisite gen ekspresyonu için anahtar rol oynadığı için, patojen bakterilerin ürettiği AHL sinyallerinin azaltılması üzerine bir strateji geliştirilmektedir. *aiiA* geni tarafından kodlanan yeterlilik bastıran bir enzim ilk defa Gram-pozitif *Bacillus* türüne ait bir toprak bakterisinde görülmüştür, bunun bir AHL-laktonaz olduğu sonradan belirlenmiştir (31). *AiiA*'nın tanımlanmasından kısa bir süre sonra, Leadbetter ve Greenberg *Variovorax paradoxus*'a (VAI-C) ait tek enerji ve azot kaynağı olarak AHL moleküllerini kullanan bir tür bulmuşlardır. *Variovorax paradoxus*'un AHL metabolik karışımında homoserin lakton bulunması bakterinin AHL-açılaz üretebildiğini düşündürmüştür fakat AHL-açılaz gen kodlaması klonlanmış ve tanımlanmış durumdadır. Benzer şekilde, AHL-parçalayıcı enzimler ürettiği bilinen diğer bakteril izolatları ve türleri toprak, bitki ve biyofilm örnekleri ile laboratuvar da bakteri kültürlerinde saptanmıştır.

QQ (yeterlilik bastıran) enzim etkinliği şimdiye kadar en az 10 bakteri türünde gösterilmiş ve kaydedilmiştir, bunlar arasında dört *Bacillus* türü, *Agrobacterium tumefaciens*, *Arthrobacter* türleri ve *V. paradoxus* da bulunmaktadır (2). AHL parçalayıcı enzimleri kodlayan genler birçok durumda klonlanmış ve tanımlanmıştır. Bu bakteri cinsleri, (*Arthrobacter* sp.), *Firmicute* (*Bacillus* sp.) ve *Proteobacteria* (*A. tumefaciens*, *K. Pneumoniae* *P. aeruginosa*, *Ralstonia* sp. ve *V. paradoxus*)'dır. Belirtilen bu geniş dağılım, AHL-parçalama genlerini kodlayan enzimlerin birçok prokaryot organizmada bulunabileceği olasılığını doğurmuştur. Bu bakteriyal türlerin taksonomik dağılımı ayrıca ürettikleri AHL-parçalayıcı enzimlerindeki sıra farklılıklarını da ortaya çıkarmaktadır. *Ralstonia* sp. XJ12B ve *P. aeruginosa* PAO1 AHL-açılazları sadece ortalama bir homolojiye sahip olup peptit seviyesinde %39 benzerlikleri bulunmaktadır. Benzer şekilde, farklı bakterilerin AHL-laktonazlarının aminoasit kompozisyonları da büyük değişiklikler göstermektedir. Filogenik analizler bu prokaryotik AHL-laktonazlarının iki gruba ayrılabilirliğini göstermiştir. *aiiA* grubu *Bacillus* sp. türünden tüm AHL laktonazları içerir, bunlar arasında %90 peptit sırası homolojisi vardır.

attM grubu *A. tumefaciens*, *K. pneumoniae* ve *Arthrobacter* sp. enzimlerini içerir ve bunlar peptit sıralamalarında %30-58 benzerlik gösterirler. Şaşırtıcı şekilde, iki gruptaki AHL-laktonazları %25'ten az homolojiye sahiptir, örneğin, *aiiA* ve *attM*, ama hepsi AHL etkinliği için önemli olduğu bilinen en yüksek derecede korunmuş HXDH~H~D motifini içerirler. Bulgular, AHL-laktonazları arasında olan yüksek derecede korunmuş katalitik bir mekanizmaya işaret etmektedir (21, 31).

Ökaryot'larda yeterlilik bastıran (QQ) enzimler

Ökaryot konuklar da düzenli olarak mikrobiyal patojenlerle karşılaştığı için, daha yüksek organizmaların da patojenik istilacıların QS sinyal sistemlerini etkisiz hale getirmek için mekanizmalar ürettiği ya da düzenlediğini düşünebiliriz. Şimdiye kadar ökaryotik olan sadece iki tür AHL-parçalayıcı enzim bulunabilmiştir (31, 14, 41). Yeni bir çalışma, ortak porsin böbrek açılaz I'nin (EC 3. 5. 14) C4-HSL ve C8-HSL deaçilazı yaparak L-homoserini üretebildiğini göstermiştir. Enzim kısa zincir molekülleri tercih etmekte, nitekim C8-HSL deaçilasyonu C4-HSL'ninkinin altı katı zaman almaktadır. Enzimin genelde açıl zincirinin 3. pozisyonunda bulunan diğer doğal AHL sinyallerine karşı etkin olup olmadığı bilinmemektedir. Dahası, bunun AHL'lere karşı biyolojik etkinliği şüpheli, nitekim bu enzim asidik ve nötr pH durumlarında C4-HSL'ye karşı çok yavaş bir etkinlik göstermektedir. Yine de, bir BLAST araması ile domuz böbreği açılaz I genelde ökaryotlarda korunduğu, örneğin fare, sıçan ve zebra balığında bilinmektedir; fakat bu organizmalarda yeterlilik bastıran enzimin etkisi ise hala aydınlatılamamıştır (14).

Greenberg ve ark. tarafından değişik hayvan hücresi gözlemleriyle ilgili bulgular elde edilmiştir. Hücre hatlarındaki *aiiA* geninin transgenik ekspresyonunu test ederken, kontrol hücre hatlarında yüksek bir AHL-inaktivasyonu fark edilmiştir. Sonraki çalışmalar, enzim etkinliğinin farklı solunum yolu epitellerinde farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Enzim, C6-HSL ve 3OC12-HSL'yi inaktive edebilmiş, fakat C4-HSL'yi inaktive edememiştir. 3-OC12-HSL'yi inaktive edebilme özelliği hücre türüne göre farklılık göstermektedir; insan akciğerlerinden A549 ve insan kolonundan CaCo-2 hücreleri gibi patojenlere maruz kalma olasılığı yüksek olan dokuların en yüksek QS sinyali inaktivasyonu özelliği gösterdiği saptanmıştır. Daha yeni çalışmalar ise, 3OC12-HSL parçalama etkinliğinin en çok *PON* genlerinde kodlanan paraoksonazlara bağlı olduğunu göstermektedir. Bu bulgu şaşırtıcı olmayıp, insan para-oksonazlarının laktonaz etkinliği 30 farklı non-AHL tipi laktonla gösterilmiştir. Ayrıca, *PON* enzimleri ilaç metabolizması ve sinirlerin detoksifikasyonu gibi diğer bazı önemli fizyolojik hidrolik etkinlikleri de göstermektedir. QS sinyallerinin inaktivasyonu artık *PON* enzimlerinin bilinen biyolojik fonksiyonlarından biri olarak sayılmaktadır (17, 18).

QQ enzimlerinin etki mekanizmaları

AHL-Laktonaz Enziminin Mekanizması

N-açıl-L-homoserin lakton (AHL lactonases) metallo- β -laktamaz süperfamilyasının bir üyesidir. Bu familyadaki enzimlerin birçok fonksiyonunun olduğu bulunmuştur. Nitrit oksidaz, oksijen redüktaz, C-O, C-N, C-S, S-O, P-O gibi bağların parçalanması gibi görevleri bulunmaktadır.

Bu proteinlerin çoğu anti-kanser ilaçların detoksifikasyonu, mRNA prosesing ve antibakteriyal rezistans mekanizmaların anlaşılması açısından önemlidir. Bu enzimlerin aktif bölgesindeki metal merkezler farklıdır. Sekans benzerlikleri sınırlı olmasına rağmen bu enzim glioksilaz II ve RNase Z proteins ile benzer yapısal özelliklere sahiptir.

Yapılan deneysel çalışmalarda bu enzimin katalitik bölgesinde iki çinko iyonunun bulunduğu görülmüştür. Gram negatif bakterilerdeki QS iki komponentten oluşuyor. AHL sentaz oluşturan LuxI proteini ve AHL reseptörü ve transkripsiyonel regülatör olarak fonksiyon gösteren LuxR proteinleri. LuxR ve luxI proteinlerin yapısal karakterleri analiz edilmiştir. Son zamanlarda bir *Bacillus* türünden elde edilen AHL-laktonaz enziminin AHLs'nin homoserin lakton halkasındaki ester bağlarını hidrolize etmektedir. Bu sadece gram negatif bakterilerdeki QS engellenebilmektedir. Bu enzimdeki korunmuş sekans motifi ¹⁰⁴HXHXDH¹⁰⁹ ~H¹⁶⁹, glioksilaz- II ve arilsulfataz enzim familyası, β-laktamaz ve RNase Z gibi enzimleri içeren çeşitli metalohidrolazların Zn²⁺ -bağlanma motifleri ile benzerlik göstermektedir. AHLs birçok ökaryotik hormonlarla benzer yapısal özellik göstermektedir (5, 21, 31).

AHL-Açılaz Enzim Mekanizması

Variovorax paradoxus, *P. aeruginosa* PAO1 ve *Streptomyces* sp. 'nin de içinde bulunduğu çeşitli bakteri türlerinin AHL-açılaz enzimine sahip olduğu bulunmuştur. Bu enzim AHLs'deki amid bağının hidrolizi, yağ asitleri ve homoserin laktona karşılık olarak üretilmesiyle ahl moleküllerini degrade etmektedir (3, 45, 48). Şu ana kadar üç AHL-açılaz enzimi tanımlanmıştır. Bunlar: *Ralstonia* sp. XJ12B'deki *P. aeruginosa* PAO1'daki PvdQ ve *Streptomyces* sp. 'deki AhIM'dir. Bu enzimler α- subünit, spacer sekans ve β- subuniti izleyen bir sinyal peptidinin içerildiği Ntn hidrolaz'ın bilinen karakterlerini paylaşmaktadır. Buna karşın bu enzimler arasında dikkate değer farklılıklar da bulunmaktadır. AiiD AHLs uzun zincirleri ve daha az etkinlikte de olsa kısa zincirleri parçalamaktadır. . PvdQ sekiz karbondan daha kısa AHLs açıl zincirlerini parçalayamıyor. Benzer şekilde AhIM yalnızca sekiz karbondan daha kısa AHLs 'leri parçalayabilme aktivitesine sahiptir. Ayrıca AiiD penicillin G and ampicillini parçalayamıyor. Bu üç AHL-açılaz enzimi *Pseudomonas diminuta*'da bulunan cephalosporin açılaz (CAD) ile benzer yapıya sahiptir (1).

Paraoksonaz Enzimlerinin Mekanizması

Paraoksonaz (PON), hem arilesteraz (E. C. 3. 1. 1. 2) hem de paraoksonaz (arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; E. C. 3. 1. 8. 1) aktivitesine sahip bir ester hidrolazdır (17).

Memeli türleri arasında geniş bir dağılıma sahip olan PON proteinleri, balıklarda, kuşlarda ve eklembacaklılar gibi omurgasızlarda mevcut değildir. Memelilerde, en azından insanlarda ve farelerde, aynı kromozom üzerinde birbirine komşu üç ayrı PON geni (PON1, 2, 3) bulunmaktadır. Farelerde 6. kromozom üzerinde yerleşen PON genlerinin, insanlarda 7. kromozomun uzun kolunda, q21. 3 ile q21. 1 bölgesinde lokalize oldukları bildirilmektedir (31).

AHL inaktivasyonu ile ilgili çalışmalar daha önceleri insan epitelyum hücrelerinde incelenmiştir. Daha sonraları test edilen insan, fare, tavşan, at, koyun ve sığır gibi memeli türlerindeki serumlarda oldukça korunmuş olduğu bulunmuştur. PON'lar (PON1, PON2 ve PON3) ilaç metabolizması ve organofosfat detoksifikasyonu gibi önemli aktivitelere sahiptir.

Bunların quorum quenching enzim aktivitesi bu son zamanlarda birbirinden bağımsız olarak çalışan üç laboratuvar tarafından tanımlanmıştır. Saflaştırılmış PON2'nin çeşitli test edilmiş AHL komponentlerini hidrolize edebildiği gösterilmiştir. Farelerde eksprese edilen PON1, PON2 ve PON3'ün hızlı bir şekilde AHL degradasyon aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Aynı zamanda *P. aeruginosa*'nın 3-oxo-C12 HSL sinyal molekülüne karşı olan insan serumundan bulunana purifiye edilmiş PON1'in hidrolitik aktivitesi de bulunduğu anlaşılmıştır. Bu PON enzimleri 3-oxo-C12 HSL gibi uzun zincirli AHL moleküllerine karşı aktivitesi kısa zincirli olanlara oranla daha fazladır. AHL laktonazda olduğu gibi PON enzimleri AHLs sinyallerindeki homoserin lakton halkasını parçalamaktadır. (31)

QQ Mekanizmasındaki Spesifik Moleküller

Furanonlar

Doğal furanonlar *P. aeruginosa*'daki QS mekanizmasını etkili bir şekilde bloke edemiyor. Değişik furanonların yapısı ve fonksiyonları üzerinde araştırmalar yapılmış ve bunlardan hangilerinin *P. aeruginosa*'da etkili olabileceği incelenmiştir. Bu sentetik bileşikler arasında C-30 ve C-56'nın bu organizmada QS inhibitörü (QSI) olarak fonksiyon gösterdiği ortaya çıkarılmıştır. Onlar in vitro biyofilmin QS regülasyonunu incelemek için bir lasB'te bağlı AHL monitör kullanıyorlar. LasB ekspresyonunun kontrolü transkripsiyonel olarak LasR ve RhlR tarafından yönetilmektedir (57).

Diketopiperazinler

Diketopiperazinler (DKPs); *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *Citrobacter freundii* ve *Enterobacter agglomerans*'i içeren bakyeryal türlerin değişik kültürlerindeki süpernantlardan izole edilen ve siklik dipeptid familyasında yer alan bir bileşiktir. İlginç olan şey bazı DKPs'ler thyrotropin-saliveren hormonlar gibi benzer yapısal özellikleri paylaşmaktadır. DKPs'ler bazı luxR'ye bağlı QS sistemleri içinde AHL antagonisti şeklinde fonksiyon göstermesine bağlı olarak çeşitli bakteri türlerinde quorum sensing'e bağlı fenotipleri değiştirebilmektedir (25).

Azitromisin

Azitromisin, makrolid sınıfının azalid grubundan bir antibiyotik olup benzerlerinden ayırıcı özelliği 15 üyeli lakton halkasında bir karbon yerine metil grubu bağlanmış bir azot atomu içermesidir. Azitromisin'in önemli özellikleri şöyle özetlenebilir: Yüksek doku penetrasyonu, dokulardaki enfeksiyon yerlerinde yoğunlaşma, makrofaj ve nötrofillerde konsantrasyon ve enfeksiyon yerine taşınma, uzun terminal yarı ömür ve bunun sonucu kısa tedavi süresi, asit ortamda yüksek stabilite ve bunun sonucu daha iyi absorpsiyon ve biyoyararlılık ve genişlemiş antibakteriyel spektrumdur.

Azitromisin diğ er makrolid antibiyotiklerinde olduğu gibi bakteri ribosomlarının 50 S ünitesine bağlanarak bakteri protein sentezini inhibe eder, nukleik asid sentezine dokunmaz (40, 36).

Yapılan bir çalışmada AZM (azitromisin) nin subletal konsatrasyonunda *Pseudomonas*'ın yanıtının traskriptom ve proteom analizleri yapılmıştır. Bu çalışamada AZM'nin QS ile ilgili genler ve proteinler üzerindeki etkilerinin ne olabileceğine dair veriler elde edilmiştir.

Haptenler

Son zamanlarda antibody katalizi kullanılması fikri önem kazanmıştır. Bu yaklaşım çerçevesinde, haptenler gibi küçük moleküller kullanılarak AHL hidrolizinin katalizlenmesi ve böylece quorum sensingin engellenmesi amaçlanmaktadır. Reaksiyondaki geçiş durumuna benzeyen küçük molekülü haptenler reaksiyonda katalist olarak fonksiyon gösteren antibodyler ile tepkimeye girebilecek özellikte olmalıdır (19, 50, 10). Yapılan bir çalışmada AHL molekülündeki lakton halkasını hidrolizleyen uygun bir geçiş analogunun dizaynı ile çalışmalara başlanmıştır.

GABA etkisi

GABA, *Agrobacterium tumefaciens* 'teki quorum sensing sinyal düzeyini kontrol etmektedir. Yaralı bitki dokularında GABA sentezinin hızlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. GABA *Agrobacterium* laktonaz AttM ile *N*- (3-oxooctanoyl)homoserine lactone (OC8- HSL) inaktivasyonunu stimule etmektedir. GABA attKLM operonunun ekspresyonunu indüklüyor ve böylece *Agrobacterium tumefaciens* kültürlerindeki *N*- (3-oxooctanoyl)homoserine lakton (OC8- HSL) miktarında bir azalmanın olmasına neden olmaktadır. *Agrobacterium* GABA transporter, Bra GABA sinyal yol izi için gereklidir. GABA bakteri, maya, bitki ve hayvanlarda bulunan ir moleküldür. Hayvanlarda, embriyonik gelişim boyunca, ergenlikte nörogenesiste ve olgun nöronlarda bir nörotransmitter olarak işlev göstermektedir. GABA hücre-hücre sinyalinde önemlidir. Bitkilerde GABA degregasyonundan sorumlu olan enzimin parçalanması sonucunda anormal bitki gelişimi ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda erkeklerde polen tübünün oluşturulmasında da GABA önemli rol oynamaktadır. Bitkilerde ve bakterilerde GABA sentezi ve degregasyonu asidik durum gibi abiyotik ve biyotik streslerle de ilişkilidir. Tipik olarak GABA sentezi yaralı bitkilerde glutamat dekarboksilaz (GAD) aktivitesinden dolayı hızlı bir şekilde gerçekleşmektedir. (2)

Asetosiringon gibi moleküller enfekte bitkilerde Ti plazmidin bakteriden bitkilere transferini aktive etmektedir. Transforme bitki dokusu *N*- (3-oxooctanoyl) homoserine lakton (OC8-HSL) sentezinin pozitif kontrolünü sağlayan bazı opinlerin üretimini gerçekleştirmektedir. *Agrobacterium*'daki OC8-HSL sinyali Ti plazmidin konjugasyonunun kontrolünden sorumludur. Ti plazmidin amplifikasyonuna bağlı olarak çeşitli tümöral semptomlar ortaya çıkmaktadır. A. Tumefaciens C58 deki AttM ve AiiB OC8-HSL QS sinyal 'in γ -butyrolactone (GBL) halkasının açılmasıyla ilişkilidir. AttM laktonaz, attK ve aynı zamanda AttL attKLM operonu tarafından kodlanmaktadır. Suksinat semialdehid , γ -hidroksibutirat gibi moleküllerin varlığında AttKLM promotörü aktive ediliyor ve bunu neticesinde A. Tumefaciens C58 OC8-HSL akümüleyonunu gerçekleştirmiyor.

Bu son zamanlarda yapılan çalışmalarda bitkiler tarafından sentezlenen ve tam olarak karakterize edilemeyen bir sinyal molekülün laktonaz AttM 'nin ekspresyonuna neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (2).

AttKLM-inducer GHB ve SSA (suksinat semialdehid)'e yapısal benzerliğe sahip olan GABA da laktonaz AttM ekspresyonunu aktive etmektedir. GABA sinyal yol izi için aktif bir sensör transport sistemi gerekiyor.

İndol etkisi

İndol *E. coli* için bir ekstraselüler biyofilm sinyalidir ve çoğu bakteriyel oksijenaz indolü değişik 7-hidroksiindolü (7HI)'içeren değişik oksitlenmiş bileşiklere dönüştürebilmektedir. Yapılan bir çalışmada indol ve 7HI'ın *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 virulansı ve quorum sensing üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu strain bu bileşikleri sentezleyememektedir ancak bunları hızlı bir şekilde degrade edebilmektedir. İndol ve 7HI 'ın her ikisi de açilhomoserin laktonlara karşı olarak gen ekspresyonunun geniş ölçüde değiştirmektedir. *mexGHI-opmD* Multidrug akış pompasını kodlayan baskılanmış genlerin çoğu ve piosiyenin (phz operon) içeren QS regülasyonundaki virulans faktörler. İndol ve 7HI pioksiyanin, rhamnolipit, PQS ve piyoverdin üretimini azaltmaktadır ve antibiyotik dirençliliğini artırmaktadır. Bu ilaveten, indol karbon, nitrogen ve fosfor kullanımını da etkilemektedir. 7HI kobaylarda *P. aeruginosa*'nın akciğerdeki kolonizasyonunu azaltmakta ve akciğerlerin temizlenmesini artırmaktadır. Bu nedenle indolle ilgili bileşikler inatçı patogen *P. aeruginosa* için potansiyel bir antivirulans etkisine sahiptir (33, 41, 45).

Salmonella enterica ve *E. coli* AHLs sentezleyememesine rağmen SdiA yoluyla açilhomoserin laktonları belirleyebilmektedir ve *E. coli* SdiA yoluyla AHLs varlığında biyofilm oluşumunu azaltmaktadır. *Salmonella enterica* indolü sentezleyememesine rağmen indole tepkide ilaç dirençliliğini artırmaktadır. Yapılan çalışmalarda *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* 'ın biyofilm oluşturması indol varlığında artmaktadır ki bu organizmalar indolü sentezleyebilme yeteneğine de sahip değillerdir. *E. coli* tarafından sentezlene indol *Burkholderia cepacia* G4 gibi diğer bakteriler yardımıyla hidrosillenmektedir. Bunun sonucunda hidroksiindol oluşturuluyor ve *E. coli* O157:H7 'deki biyofilm oluşumunu artırmakta ve azaltmaktadır. *E. coli*, *Vibrio vulnificus* (Dalsgaard et al., 1999), *Haemophilus influenzae*, *Pasteurella multocida*, *Klebsiella oxytoca* ve *Proteus vulgaris* gibi organizmaların L-triptofandan indol oluşturdukları bilinmektedir. İndol biyofilm oluşumunu engelleyen bir ekstraselüler *E. coli* sinyalidir. İndol *E. coli*'de aynı zamanda hareketlilik, aside dirençlilik, kemotaksis ve epitel hücrelere bağlanmayı da etkilemektedir (51, 42).

P. aeruginosa, *E. coli*'nin dominant halde bulunduğu bağırsak bölgesinde bulunmaktadır. Bu nedenle bu organizmanın indol ve 7HI ile karşı karşıya kalabilmesi muhtemeldir. Yapılan bir çalışmada hem DNA mikroarray hem de fenotip arrayleri kullanılarak *E. coli* indol sinyalin ve 7HI 'nın *P. aeruginosa* PAO1 'in QS regüle edilen fenotipler ve global gen ekspresyonu üzerindeki etkileri çalışılmıştır. İndol ve 7HI geniş ölçüde gen ekspresyonunu değiştirmekte ve değişik virulans faktörlerin üretimini azalttığı gözlenmiştir. Bunu yanı sıra 7HI kobay akciğerlerindeki *P. aeruginosa* kolonizasyonunu engellemektedir.

Fitokimyasalların etkisi

Dietary fitokimyasallar bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Doğada bitkilerle bakteriler arasında oldukça sıkı bir ilişkinin olduğu çok açıktır. Yüksek bakteriyal yoğunlukta bile bitkiler kendi gelişimlerini sürdürebilmektedir. Hiç şüphesiz bitkiler doğadaki patojen mikroorganizmalara mücadele etmek zorundadır. Bitkiler genellikle üretmiş oldukları sekonder metabolitleri vasıtasıyla patojen mikroorganizmalarla mücadele edebiliyor. Phytokimsallar bitkilerden ekstrakte edilerek bu moleküllerin aktimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Aralarında insan patojenlerini içeren *Escherichia*, *Helicobacter*, *Streptococcus*, ve *Salmonella* gibi organizmalar üzerinde bu moleküllerin oldukça etkili olduğu görülmüştür ([30]).

Bu moleküllerin etkilerinin nasıl olduğuna dair yürütülen çalışmalarda bunların AHL sentezini baskıladıkları görülmüştür. Bu baskılma sonucunda ise AHL ile regüle edilen fenotipik özellikler de engellenmiş oluyor. Bilindiği gibi AHL bakteriyal fonksiyonlarının büyük bir kısmının kontrollünü sağlamaktadır (28, 20).

Canavanin etkisi

L-Canavanin daha çok legümlü bitkilerin tohumlarında bulunan bir arginin analogudur. Bu molekül fidelerin germinasyonunda nitrogen kaynağı olarak kullanılmayan yanı sıra bir quorum sensing inhibitörü olarak da fonksiyon göstermektedir. Handelsman ve çalışma arkadaşları canavanin *Bacillus cereus* popülasyonunu etkilediğini göstermişlerdir. L-Canavanin oluşmaya başlayan protein sentezi süresince L-arginin ile birleştiriliyor, protein yapı ve fonksiyonunun değiştirilmesi hedef hücrelerin ölmesine neden olmaktadır (5, 25).

Alfalfa (*Medicago sativa*) ile yapılan bir çalışmada farklı bakteriyal strainlerin quorum sensing sistemini etkileyen çeşitli spesifik sinyal moleküllerinin varlığı keşfedilmiştir. Bu moleküllerin bazıları quorum sensing'i inhibe ederken kimi moleküller ise bu sistemin aktivasyonunu sağlamaktadır. Quorum sensing inhibitör bileşiklerinden biri *Chromobacterium violaceum* CV026 indikatör organizmasında violacein üretimini inhibe etmektedir. Violacein pigmentini üretenler pembe koloniler şeklinde görülmektedir. Bu pigmentin üretimi ise quorum sensing ile regüle edilen fenotipik bir özelliktir. L-canavanin sentetik AHLs'lerin varlığında violacein üretimini inhibe etmektedir. Bu çalışmalardan sonra L-canavanin *M. sativa* tohumlarından izole edilmiştir ve onun bakteriyel simbiyontu olan *Sinorhizobium meliloti* 'in quorum sensing sistemi üzerine olan etkisi incelenmiştir. *S. meliloti* strainlerinde Sin ve Tra sistemleri bulunmaktadır. Sin quorum sensing sistemi 200 den fazla genini regülasyonu sağlamaktadır. Bu genlerden biri simbiyotik ilişkide önemli bir etkiye sahip olan ekzopolisakkarid EPS II'yi üretmektedir. Çalışmalarda L-canavaninin EPS II ekspresyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (28, 54).

Urasil analoglarının etkisi

Urasil *Pseudomonas aeruginosa*'da bulunan üç quorum sensing yol izlerini etkilemektedir. Fenotipik çalışmalarda urasilin LasR (elastaz), RhIR (piosiyenin, rhamdolipirler), PQS ve swarming regülönları üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir.

Buna ilaveten antikanser urasil analogları (5-fluorourasil) bu organizmadaki biyofilm oluşumunu ve virulans faktörlerinin sentezlenmesini engellemektedir (3).

Siklik adenozin monofosfat (cAMP), siklik guanozin monofosfat (cGMP) ve siklik-diguanosin monofosfat (c-diGMP), ribonükleik asit sekonder mesajcılar olarak fonksiyon göstermektedir. Bu moleküller aynı zamanda farklı biyolojik fonksiyonları içeren yol izlerinde sinyal moleküller olarak da görev yapmaktadır. c-diGMP *P. aeruginosa*'daki biyofilm oluşumunu ve virulans faktörlerinin regülasyonunu gerçekleştirmektedir ve cAMP intraselüler reseptör ve protein kinazlara bağlanma ile ilgili olayların kontrolünde fonksiyon göstermektedir. İnsanlarda, uridin -5'-trifosfat (UTP) mitozla ilgili olayların regülasyonunu sağlayan önemli bir ekstraselüler sinyaldir. Görüldüğü üzere bu moleküller hücre sel regülasyonlardaki kritik noktalarda yer alan biyolojik moleküllerdir.

Biyofilm oluşumu ile ilgili binlerce organizma ve gen araştırıldığında urasilin QS prosesinde bir regülatör olarak görev aldığı gösterilmiştir. Ama her nükleik asit böyle bir etkiye sahip değildir. Purinler üzerinde yapılan detaylı çalışmalarda bu moleküllerin QS ile ilgili olaylarda herhangi bir etkiye sahip olmadığı bulunmuştur. Urasilin QS üzerindeki etkileri aydınlatıldıktan sonra urasil analoglarının sentetik olarak üretilmesi ve QS sisteminin önüne geçilmesine yönelik çalışmalar başlatılmıştır. Bu çalışmaların neticesinde 5-aminourasil, 6-azaurasil, 5-bromourasil, 5-FU gibi urasil analoglarının biyofilm oluşumu üzerindeki etkileri test edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda bu molekülleri düşük düzeyde kullanılmasında bile etkili oldukları gözlenmiştir (3).

İnsan hormonlarının bakteriyal Quorum Sensing'i engellemesi

Enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) üzerinde yapılan son çalışmalar insan hormonları ile bakteriyal quorum-sensing ile çapraz etkileşimin olduğunu göstermiştir. EHEC 'te LuxS- bağımlı quorum-sensing sistemi patojenite, tip III sekresyon gibi çeşitli fenotipler bu sistem tarafından kontrol edilmektedir. Epinefrin ve norepinefrin gibi hormonlar quorum sensing sistemini bloke etmektedir. Ama bu hormonların etki mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır (51).

BİYOTEKNOLOJİK ALANLARDA QQ

AHL-Parçalayıcı Enzimlerin Biyoteknolojik ve Farmasötik Kullanımları

Patojen bakterilerin QS eksiği mutantların toksisite gen ekspresyonu bulunmadığı ve zararsız hale geldikleri düşünülürse, bakteri infeksiyonlarının durdurulması için mikrobiyal patojenlerin QS sinyallerinin engellenmesi uygun bir yoldur (48). QQ enzimlerin ve yeterlilik bastırma inhibitörlerinin bulunması, bu değişik stratejinin kullanılabilirliğinin ölçülmesinde veri sağlamıştır. *E. carotovora* ve *P. aeruginosa*, yani insan ve bitki patojenlerindeki yeterlilik bastırma enzimlerin ekspresyonu, AHL-laktonaz veya AHL-açılardan ayrı olarak, bunların toksisitelerini büyük oranda azaltmıştır (3, 34, 37). Yapılan bir çalışmada, aiiA genini düzenleyen *E. carotovora* veya *P. aeruginosa* tütün ya da nematot *Caenorhabditis elegans*'a karşı toksisitelerini yitirmişlerdir (46).

Daha ilginç, AHL-laktonaz tanımlayan transgenik bitkiler etkin bir şekilde bakteriyel QS sinyallerini durdurabilir ve bakteri topluluğu yoğunluğuna bağlı enfeksiyonları yok edebilirken kontrol bitkileri ciddi hastalık semptomları göstermektedirler. Bu sonuçlar dışarıdan tanımlanan AHL-parçalayıcı enzimin, fizyolojik olarak alakalı konsantrasyonlarda QS sinyalini engellemekte ve patojenlerin QS'ye bağlı toksisite gen ifadesinde etkili olduğunu göstermiştir. Hastalığa bağışık "R" genlerinin ekspresyonu ciddi ürün ve biyokütle sorunları çıkarsa da, yeterlilik bastıran mekanizmalarla bitkinin savunma sistemlerinin entegrasyonu patojenik istilacılara karşı en mantıklı korunma mekanizması olacağı şüphesizdir. Bu nedenle, bu yeterlilik bastıran enzimleri kodlayan genler, bitkilerde hastalık direnci yaratma konusunda büyük umutlar vaat etmektedir (33, 34).

QQ enzimler mikrobiyal enfeksiyonların biyokontrolü için yeni bir antagonist olabilirler. *Bacillus thuringiensis*, *Arthrobacter* sp. ve *P. fluorescens* gibi bazı doğal ve yapay AHL-laktonaz üreticiler, *E. carotavora* patojeni ile karşılaştıklarında patateslerde yumuşaklık ya da ciddi çürüme semptomları gösterirler. Bunun tersine, AHL-laktonaz üretmeyen *B. thuringiensis* ve yabancı-tür *P. fluorescens* biyokontrolde daha az etki göstermektedir. Antibiyotik üretimi bakteri ya da mantar hastalıklarının biyokontrolünde en fazla kullanılan mikrobiyal antagonizm mekanizmasıdır. QS'nin bulunması, biyokontrolde yeterlilik bastırma mekanizmasının toksisitesinin düzenlenmesi için kullanılacak yeni bir mekanizma ortaya atmıştır (31, 32, 48).

İlginçtir ki, AHL-parçalayıcı enzimler ayrıca AHL-bağımlı QS bakterilerinde de gözlenmiştir. AHL-laktonaz ve AHL-açılazı kodlayan genler *A. tumefaciens* ve *P. aeruginosa*'da tanımlanmış ve incelenmiştir. *Agrobacterium tumefaciens*'in *attM*'si ile kodlanan AHL-laktonaz, sadece bakteriyel hücre büyümesinden durağan faza geçildiğinde görülmektedir (2). Gen ekspresyonunun moleküler mekanizmasının daha fazla incelenmesi, erken QS sinyali parçalayıcılarının etkinleştirilmesinde yeni yolların tanımlanması ve tasarlanması için kullanılmalıdır. QQ enzimlerin farmasötik kullanımında potansiyel uygulamalarının aydınlatılması için enzim gönderimi, stabilitesi, etkinliği, toksisitesi ve yan etkileri konularında bilinmeyen pek çok şey bulunmaktadır. Yine de AHL-parçalayıcı laktonazlar insan hücrelerinde de bulunduğu ve çalıştığından dolayı, AHL-parçalayıcı insan vücuduna "yabancı" bir fonksiyon değildir. Dahası, AHL sinyallerinin parçalanması ile birlikte, PON enzimleri de koruyucu etkiler kazanmaktadır. *aiiA* ve *attM* yığınlarının oksidasyona karşı benzer koruyucu rolleri olup olmadığının ve bu QQ enzimlerin koruyucu terapötik proteinler olup olamayacaklarının belirlenmesi önemlidir (33, 9, 50).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Klinik olarak antibiyotiklerin bilinçsiz ve gereksiz kullanımlarının patojenik biyofilm organizmalarının neden olduğu enfeksiyonların inatçılıklarını artırıcı özellik göstereceği kaçınılmazdır. Gerek klinik gerek diğer biyofilmlerin oluşumunu engelleyebilmek amacıyla; bugün yeni bir yaklaşım olan QQ ile QS moleküllerinin üretiminin önlenmesi, parçalanması veya inhibisyonu, QS sinyalinin alınmasının önlenmesi stratejileri üzerinde durmak önemlidir. Bu amaçla insan ve ekolojik açıdan toksik özellikte olmayan yeni QQ bileşiklerinin sentezi gerekmektedir.

Mikroorganizmalarca sentezlenen QS moleküllerinin engellenmesine yönelik değişik yaklaşımlar bulunmaktadır. Klasik yöntemlerin yanı sıra moleküler ve genetik düzeydeki yöntemlerin kullanılması daha etkili olacaktır. QS mekanizmalarının aydınlatılması, QQ ile ilgili yapılacak olan çalışmalara ışık tutacaktır. QQ ile ilgili değişik enzimlerin ve moleküllerin ortaya çıkarılması için bu alanda çalışmalara devam edilmektedir.

Referanslar

1. Lee, J. , Atilla, C. , Cirillo, L. G. , Cirillo D. J. , Wood, K. (2009) . Indole and 7-hydroxyindole diminish *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Microbial Biotechnology* 80, 75–90.
2. Chevrot, R. , Rosen, R. , Haudecoeur, E. , Cirou, A. , Shelp, B. J. , Ron, E. , Faure, E. (2006). GABA controls the level of quorum-sensing signal in *Agrobacterium tumefaciens*. *PNAS*, 7460, 7460-7464.
3. Rasmussen, T. B. , Givskov, M. (2006) Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology*, 152, 895–904.
4. Wopperer, J. , Cardona, S. T. , Huber, B. , Jacobi, J. A. , Valvano, M. A. , A, L. E. (2006) Quorum-Quenching Approach To Investigate the Conservation of Quorum-Sensing-Regulated Functions within the *Burkholderia cepacia* Complex. *Applied and environmental microbiology*, 1580, 1579–1587.
5. Rasmussen, T. B. , Givskov, M. (2006) Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *International Journal of Medical Microbiology*, 152, 149–161.
6. McDougald, D. , Rice, S. A. , Kjelleberg, S. (2007). Bacterial quorum sensing and interference by naturally occurring biomimics. *Anal Bioanal Chem*, 448, 445–453.
7. Henke, J. M. , Bassler, B. L. Bacterial social engagements. (2004) *TRENDS in Cell Biology* , 650, 648-656.
8. Liu, D. , Momb, J. , Thomas, P. W. , Moulin, A. , Petsko G. A. , Fast, W. , Ringe, D. (2008) Mechanism of the Quorum-Quenching Lactonase (AiiA) from *Bacillus thuringiensis*. *Biochemistry*, 7715 , 7715–7725.
9. Witzany, G. (2008) Bio-Communication of Bacteria and their Evolutionary Roots in Natural Genome Editing Competences of Viruses. *The Open Evolution Journal*, 46, 44-54.
10. Debler, W. E. , Kaufmann, G. F. , Robert, N. , Jenny, K. , M. Mee, Janda, K. D. , Wilson, I. A. (2007) Crystal Structures of a Quorum-quenching Antibody. *J. Mol. Biol*, 1393, 1392–1402.
11. García-Aljaro, C. , Eberl, L. , Riedel, K. , Blanch, A. R. (2008) Detection of quorum-sensing-related molecules in *Vibrio scophthalmi*. *BMC Microbiolog*, 2, 1-11.
12. Defoirdta, T. , Boona, N. , Bossierb, P. , Verstraetea, W. (2004) Disruption of bacterial quorum sensing: an unexplored strategy to fight infections in aquaculture. *Aquaculture* 240, 83, 69-88.
13. Gao, M. , Chen, H. , Eberhard, A, Gronquist, M. R. , Robinson, J. B. , Connolly, M. , Teplitski, M. , Rolfe, B. G. , Bauer, W. G. (2007) Effects of AiiA- mediated

Quorum Quenching in *Sinorhizobium meliloti* on Quorum-Sensing Signals, Proteome Patterns, and Symbiotic Interactions. The American Phytopathological Society, 851, 843–856.

14. Bauer W. D. , Mathesius, U. , Teplitski, M. (2005) Eukaryotes Deal with Bacterial Quorum Sensing. ASM News, 131 , 129-135.

15. Diggle, S. P. , Gardner, A. , West, S. A. , Griffin, A. S. (2007) Evolutionary theory of bacterial quorum sensing: when is a signal not a signal?. Phil. Trans. R. Soc. B, 5 , 1-9.

16. Bassler, B. L. , Losick, R. (2006) Bacterially Speaking. Elsevier Inc. 240, 237-246.

17. Ozer, E. A. , Pezzulo A. , Shih, D. M. , Chun, C. , Furlong, C. , Lulis, A. J. , Greenberg, E. P. , Zabner, J. , (2005). Human and murine paraoxonase are host modulators of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing. FEMS Microbiology Letters, 33, 29–37.

18. Heurliera, K. , De´nervaudb, V. , Haas, D. (2006). Impact of quorum sensing on fitness of *Pseudomonas aeruginosa*. International Journal of Medical Microbiology, 95, 93–102.

19. Park, J. , Jagasia, R. , Kaufmann, G. F. , Mathison, J. C. , Ruiz, D. I. , Moss, J. A. , Michael, M. M. , Ulevitch, R. J. , Janda, K. D. (2007). Infection Control by Antibody Disruption of Bacterial Quorum Sensing Signaling. Elsevier Ltd, 1120, 1119-1127.

20. Adonizio, A. , Kong, K. , Mathee, K. (2008). Inhibition of Quorum Sensing-Controlled Virulence Factor Production in *Pseudomonas aeruginosa* by South Florida Plant Extracts. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, 198, 198–203

21. Shiner, E. K. , Rumbaugh, K. P. , Williams, S. C. (2005). Interkingdom signaling: Deciphering the language of acyl homoserine lactones. FEMS Microbiology, 940, 935–947.

22. Defoirdt, T. , Boon, N. , Sorgeloos, P. , Verstraete, W. , Bossier, P. (2008). Quorum sensing and quorum quenching in *Vibrio harveyi*: lessons learned from in vivo work. The ISME Journal, 21, 19–26.

23. Momb, J. , Wang, C. , Liu, D. , Thomas, P. W. , Petsko, G. A. , Guo, H. , Ringe, D. , Fast, W. (2008). Mechanism of the Quorum-Quenching Lactonase (AiiA) from *Bacillus thuringiensis*. 2. Substrate Modeling and Active Site Mutations. *Biochemistry* 7715, 7715–7725.

24. Gonza´lez, J. E. , Keshavan, N. D. (2006). Messing with Bacterial Quorum Sensing. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 868, 859-875.

25. Kozlowski, B. K. , Shi, K. , Gu, Z. , Ohlendorf, D. H. , Earhart, C. A. , Dunny, G. M. (2006). Molecular basis for control of conjugation by bacterial pheromone and inhibitor peptides. Molecular Microbiology, 10, 1-12.

26. Qazi, S. , Middleton, B. , Muharram, S. T. , Cockayne, A. , Hill, P. , O’Shea, P. , Chhabra, S. R. , Ca´mara, R. , Williams, P. (2006). *N*-Acylhomoserine Lactones Antagonize Virulence Gene Expression and Quorum Sensing in *Staphylococcus aureus*. Infection and Immunity, 916 , 910-919.

27. Zhou, Y. , Choi, Y. L. , Sun, M. , Yu, Z. (2008) Novel roles of *Bacillus thuringiensis* to control plant diseases. Appl Microbiol Biotechnol,

28. Bauer, W. D. , Mathesius, U. (2004). Plant responses to bacterial quorum sensing signals. *Current Opinion in Plant Biology*, 431, 429–433.
29. Nickerson, K. W. , Atkin, A. L. , Hornby, J. M. (2006), Quorum Sensing in Dimorphic Fungi: Farnesol and Beyond. *Applied and Environmental Microbiology*, 3807, 3805–3813 .
30. Bodman, S. B. , Bauer, D. W. , Coplin, D. L. (2003) Quorum Sensing in Plant-pathogenic Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol*, 457, 455-482.
31. Dong, Y. , Zhang, L. (2005) Quorum Sensing and Quorum-Quenching Enzymes. *The Journal of Microbiology*, 104, 101-109.
32. Suga, H. , Smithy. , K. M. (2003). Molecular mechanisms of bacterial quorum sensing as a new drug target *Current Opinion in Chemical Biology*, 588, 586–591.
33. Dong, Y. , Wang, L. , Zhang, L. (2007). Quorum-quenching microbial infections: mechanisms and implications, 1204, 1201–1211.
34. March, J. C. , Bentley, W. E. (2004) Quorum sensing and bacterial cross-talk in biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 496, 495–502.
35. Waters, C. M. , Bassler, B. L. (2005). Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol*, 335, 319-346.
36. Donabedian, H. (2003). Quorum Sensing and its Relevance to Infectious Diseases. *Journal of Infection* , 212, 207-214.
37. Bodman, S. B. , Bauer, W. D. , Coplin, D. L. (2003). Quorum Sensing in Plant-Pathogenic Bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol*, 470, 455-482.
38. Saraçlı Mehmet Ali. (2006). "Quorum sensing": mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor?. *Gülhane Tıp Dergisi*, 244, 244-250.
39. Paul, W. (2007). Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology*, 3925, 3923–3938.
40. Nalca Y. , Jañsch, L. , Bredenbruch, F. , Geffers, R. , Buer, J. , Haüssler, S. (2006). Quorum-Sensing Antagonistic Activities of Azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherap*, 1680, 1680–1688 .
41. Bjarnsholt, T. , Givskov, M. (2007). Quorum-sensing blockade as a strategy for enhancing host defences against bacterial pathogens. *Phil. Trans. R. Soc*, 1215, 1213–1222 .
42. Jiménez-Gómez, P. , Pozuelo de Felipe, M. J. , Pinell, F. L. , García de los Ríos, J. E. (2007). Quorum-sensing in *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella*: Active natural compounds as antagonists. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 49, 41-51.
43. Lazdunski, A. M. , Ventre, I. , Sturgis, J. N. (2004) Regulatory circuits and communication in gram-negative bacteria. *Nature reviews*, 587, 581-592.
44. Schramm, M. (2006) Structure and Inhibition of a Quorum Sensing Target from *Streptococcus pneumoniae*. *Biochemistry*. American Chemical Society , 12930, 12929-12941.
45. Rasmussen, T. B. , Bjarnsholt, T. , Skindersoe, T. E. , Hentzer, T. , Kristoffersen, T. , Kohte, T. , Nielsen, J. , Eberl, L. , Givskov, M. (2005) Screening for Quorum-

Sensing Inhibitors (QSI) by Use of a Novel Genetic System, the QSI Selector. *Journal Of Bacteriology*, 1800, 1799–1814.

46. Zhang, L. , Ruan, L. , Hu, C. , Wu, H. , Chen, S. , Yu, Z. , Sun, M. (2007) Fusion of the genes for AHL-lactonase and S-layer protein in *Bacillus thuringiensis* increases its ability to inhibit soft rot caused by *Erwinia carotovora*. *Appl Microbiol Biotechnology*, 674, 667–675.

47. Huynh, T. (2008) The Effects of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Signalling Molecules on Human T cell Function. Thesis submitted to The University of Nottingham for the Degree of Doctor of Philosophy, 38, 1-269.

48. Kim, M. H. , Choi, W. , Kang, H. O. , Lee, J. S. , Kang, B. K. , Kim, K. , Derewenda, Z. S. , Kwang, T. , Lee, C. H. , Lee, J. K. The molecular structure and catalytic mechanism of a quorum-quenching N-acyl-L-homoserine lactone hydrolase. (2005) *PNAS*, 17607, 17606–17611

49. Gera, C. , Srivastava, S. (2006) Quorum-sensing: The phenomenon of microbial communication. *Current Science*, 674, 666-677.

50. Kapadnis, P. B. , Hall, E. , Ramstedt, M. Warren R. J. , Galloway, D. , Welch, M. , Spring, D. R. (2009) Towards quorum-quenching catalytic antibodies. *The Royal Society of Chemistry*, 538, 538–540.

51. Bentley, W. E. , Joseph, S. W. (2005) Viewing Quorum Sensing in a Global Network: Studies on SDIA-dependent system 1 and autoinducer-2 mediated system-2 of non-pathogenic *Escherichia coli* K-12. , Doctor of Philosophy-University of Maryland, 32, 1-146.

52. Taga Michiko E. (2007) Bacterial Signal Destruction. *ACS Chem. Biol.* 90, 89-92

53. Uroz, S. , Dessaux, Y. , Oger, P. (2009) Quorum Sensing and Quorum Quenching: The Yin and Yang of Bacterial Communication. *ChemBioChem*, 209, 205 – 216.

54. Kiran, M. D. , Adikesavan, N. V. , Cirioni, O. , Giacometti, A. , Silvestri, C. , Scalise, G. , Ghiselli, R. , Saba, V. , Orlando, F. , Shoham, Balaban, N. (2008) Discovery of a Quorum-Sensing Inhibitor of Drug-Resistant Staphylococcal Infections by Structure-Based Virtual Screening. *Molecular Pharmacology*, 1581, 1578–1586,

55. Bukelman, O. , Amara, N. , Mashiach, R. , Krief, P. , Meijler, M. M. , Alfonta, L. (2009) Electrochemical analysis of quorum sensing inhibition. *Chem. Commun.* 2836, 2836–2838.

56. Miyazawa, H. , Naito, T. , Matsuoka, H. (2001) Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci*, 1237, 1235-1246.

57. Hentzer, M. , Riedel, K. , Rasmussen, T. B. , Heydorn, A. , Andersen, J. B. , Parsek, M. R. (2002) Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology* , 198, 198-203.

58. Liu, D. , Lepore, B. W. , Petsko, G. A. , Thomas, P. W. , Stone, E. M. , Fast, W. , Ringe, D. (2005) Three-dimensional structure of the quorum-quenching N-acyl homoserine lactone hydrolase from *Bacillus thuringiensis*. *PNAS*, 11883, 11882-11887.