

Auf den Spuren der bakteriellen Interspezies-Kommunikation**

Roberta J. Worthington und Christian Melander*

Autoinducer-2 · Bakterielle Kommunikation ·
4,5-Dihydroxy-2,3-pentandion · NMR-Spektroskopie ·
Quorum Sensing

Unser Wissen über komplexe Verhaltensweisen von Bakterien konnte in den letzten Jahrzehnten deutlich vertieft werden. So weiß man jetzt, dass Bakterien, die früher als recht simple Einzeller galten, in der Lage sind, gemeinschaftliche Entscheidungen als Reaktion auf Diffusionssignale zu treffen. Zu den bekanntesten solcher Verhaltensweisen gehört das Quorum Sensing (QS), bei dem die Bakterien je nach der aktuellen Populationsdichte ihre Genexpression verändern. Zwei Sorten von QS treten auf: Intraspezies- und Interspezies-Kommunikation. Die Intraspezies-Kommunikation wird bei Gram-negativen Bakterien über Acylhomoserinlacton-Derivate erreicht, während Gram-positive Bakterien hierfür auf Autoinduktionspeptide zurückgreifen. Da Bakterien aber zumeist nicht in Gemeinschaften existieren, die nur aus einer einzigen Spezies bestehen, stellt sich die grundlegende Frage, mit welchem Signal sie die Gegenwart anderer Bakterien-spezies wahrnehmen und darauf reagieren (Interspezies-Kommunikation).

Ein solches mutmaßliches universelles Signalmolekül ist Autoinducer-2 (AI-2), das sich von 4,5-Dihydroxy-2,3-pentandion (DPD) ableitet.^[1] Die Synthese von DPD wird durch das Enzym LuxS katalysiert, das in mehr als 55 Bakterienarten identifiziert wurde.^[2] DPD selbst scheint auf den ersten Blick ein recht einfaches Molekül zu sein (Schema 1 a), aber es vermag in verschiedenen tautomeren Formen, Konformationen, Hydraten oder sogar, wie im Bakterium *Vibrio harveyi*, als Boratester zu existieren. Möglicherweise geht seine Wirkung als universelles Signalmolekül auf diese Vielzahl an unterschiedlichen Architekturen zurück. Bis heute wurden mit Sicherheit nur zwei Formen von AI-2 charakterisiert, die als chemisches Signal fungieren: das cyclische Hydrat **C2**, das von den Stämmen *Salmonella typhimurium*, *Sinorhizobium meliloti* und *Yersinia pestis* erkannt wird,^[3] und der Boratester **D**, der von *V. harveyi* erkannt wird.^[4] DPD kann auch eine Phosphorylierung durch die Kinase LsrK eingehen und die Genexpression in einigen Enterobacteriaceae beeinflussen.^[5]

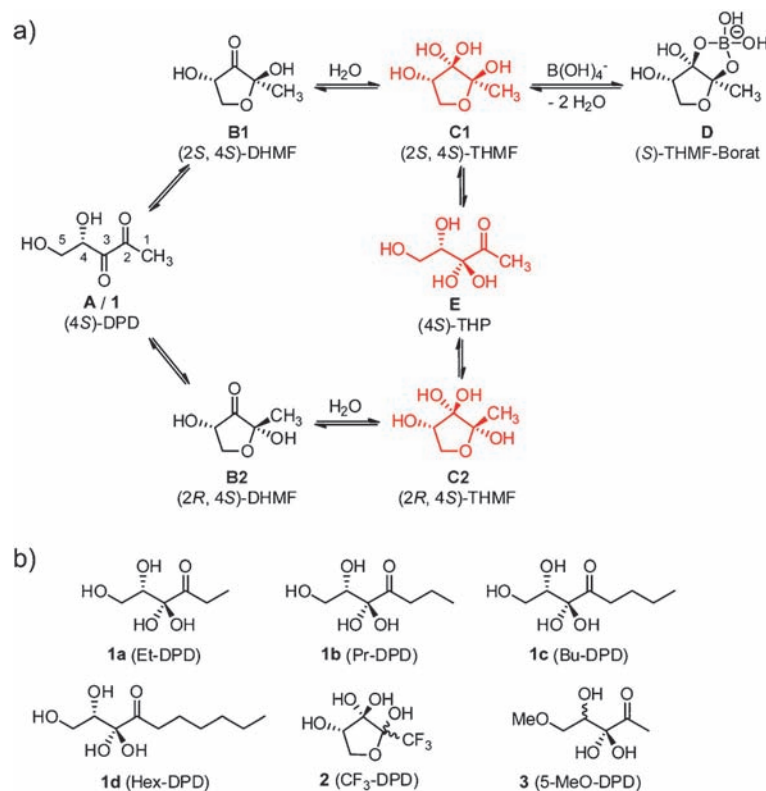
Damit vergrößert sich die Zahl der möglichen Signalwege von DPD noch einmal signifikant.

Jüngst belegten nun Janda und Mitarbeiter durch NMR-Spektroskopie, dass DPD je nach pH-Wert nochmals in einer größeren Strukturvielfalt vorkommt.^[6] Aus vorherigen Studien war bekannt, dass DPD unter stark sauren Bedingungen die lineare und die cyclische Form im Verhältnis von 1:4 bildet.^[7] Janda und Mitarbeiter untersuchten dieses Gleichgewicht bei physiologischem pH-Wert durch ¹H-NMR-Spektroskopie und beobachteten ein komplexes Spektrum von überlappenden Methyl- und Kernsignalen von DPD, die nicht vollständig zuzuordnen waren. Nach 24 h tauchte schließlich ein neues Signal auf, das dem endgültigen Gleichgewichtszustand zugeordnet werden konnte. In einer anschließenden pH-Studie (pH 1–10) ermittelten die Autoren den Hauptanteil an Veränderungen um pH 4–5, während bei pH 10 die bei pH 1 dominierenden Signale vollständig verschwanden. Bemerkenswert war, dass nach Wiederansäuern der Lösung auf pH 1 das ursprüngliche Spektrum bei diesem pH-Wert zurückgehalten wurde, was auf reversible Prozesse und eine recht große Stabilität des DPD-Moleküls schließen lässt; andere QS-Signalmoleküle sind deutlich weniger stabil.

Wegen der Komplexität der ¹H-NMR-Spektren nutzten die Autoren als nächstes ¹³C-NMR-Spektroskopie mit sowohl einfach als auch doppelt ¹³C-markiertem DPD und stellten fest, dass bei physiologischem pH-Wert das einfach markierte DPD acht oder neun unterschiedliche Spezies bildete, die durch die verbesserte Auflösung der ¹³C-NMR-Signale zugeordnet werden konnten. Anhand der ¹³C-NMR-Kernrelaxationszeiten in der doppelt markierten DPD-Probe konnten die Autoren auch zeigen, dass das Gleichgewichtsverhältnis zwischen der linearen und der cyclischen Form über den gesamten untersuchten pH-Bereich gleich blieb, auch wenn die Konzentration der ursprünglichen Spezies bei höheren pH-Werten abnahm. Darüber hinaus brachte eine Untersuchung des Verlaufs der chemischen Verschiebung an der C2-Position das Ergebnis, dass drei Hauptspezies vorhanden waren. Ein konsistentes Hauptsignal bei $\delta = 211$ ppm sprach dafür, dass an der C3-Position während der pH-Änderung eine Hydratisierung/Dehydratisierung auszuschließen war. Wegen der bekannten Tendenz von α -Diketonen zur Bildung von Monohydraten schlossen die Autoren auf das lineare Hydrat **E** als die eigentlich in Lösung vorliegende Struktur. Die NOE-SY- und ROESY-Spektren legten wiederum nahe, dass es sich

[*] Dr. R. J. Worthington, Prof. Dr. C. Melander
Department of Chemistry, North Carolina State University
Raleigh, 27695 NC (USA)
E-Mail: ccmeland@ncsu.edu

[**] Wir danken den NIH, der V Foundation und dem DOD für
Forschungsförderung.



Schema 1. a) Das literaturbekannte Gleichgewicht von Autoinducer-2 (AI-2/1) (schwarz) und das von Janda et al. ermittelte Gleichgewicht (rot).^[6] Diketon **A** steht mit **B1** und **B2**, die zu **C1** und **C2** hydratisiert werden, im Gleichgewicht. Das lineare Borat **D** ist die aktive Spezies in *V. harveyi*. DHMF = 2,4-Dihydroxy-2-methyldihydrofuran-3-on, THMF = 2-Methyl-2,3,4-tetrahydroxytetrahydrofuran, THP = Tetrahydroxypentan-2-on. b) DPD-Analoga aus Lit. [6].

bei den cyclischen DPD-Formen um die Hydrate **C1** und **C2** handelte. Die Formen **A**, **B1** oder **B2** konnten zwar nicht gänzlich ausgeschlossen werden, doch gab es keinen konkreten spektroskopischen Hinweis auf das Auftreten dieser Spezies in wässriger Lösung.

Zum weiteren Studium des DPD-Gleichgewichts wurden außerdem noch mehrere DPD-Analoga synthetisiert und auf ihr Verhalten in Lösung sowie in QS-Reporter-Assays hin untersucht (Schema 1b). So wurde ein intramolekular nicht cyclisierbares 5-Methoxy-DPD-Analogon **3** hergestellt, um den Hydratisierungszustand an der C3-Position im linearen DPD zu testen. Trifluormethyl-DPD **2** wiederum wurde als ausschließlich cyclisches DPD-Analogon synthetisiert. Wie vorhergesagt, waren beide Moleküle an C3 hydratisiert. Im Anschluss untersuchten die Autoren den Einfluss des Gleichgewichts dieser DPD-Analoga auf deren Aktivität als Agonist/Antagonist in *S. typhimurium*. Weil für *S. typhimurium* die lineare DPD-Form das Quorum-Signal ist, könnten Moleküle, die nicht so leicht intramolekular cyclisieren, als leistungsfähige QS-Modulatoren eingesetzt werden (sofern sie nicht aus sterischen Gründen von der Rezeptorbindung ausgeschlossen sind). In der Tat sind Propyl-DPD (**1b**), Butyl-DPD (**1c**) und Hexyl-DPD (**1d**), die in der cyclischen und linearen Form im Verhältnis < 1:1 vorliegen (für DPD ist das Verhältnis 4.3:1), leistungsfähige AI-2-Antagonisten im QS von *S. typhimurium*. Ein schwacher Agonist ist dagegen

Ethyl-DPD (**1a**), das ein Verhältnis von cyclischer zu linearer Form > 1:1 aufweist.^[8]

Neue und innovative Ansätze für die Bekämpfung bakterieller Infektionen sind dringend gesucht. Die Situation ist so gravierend, dass die Weltgesundheitsorganisation multi-resistente Bakterien als eine der drei Hauptbedrohungen für die menschliche Gesundheit benannt hat.^[9] Mit der Analyse des detaillierten Lösungsverhaltens von DPD geben uns Janda und Mitarbeiter eine Vielzahl neuer Möglichkeiten in die Hand, indem sie die Diversität aufgeschlüsselt haben, die ein einzelnes Molekül an den Tag legen kann, um eine interspezies-Kommunikation zu erzielen. Dies bietet der medizinischen Chemie eine Grundlage zur Herstellung leistungsfähigerer DPD-Analoga mit Antivirulenzaktivität als eine innovative Strategie zur Kontrolle von bakteriellen Infektionen in vivo.

Eingegangen am 28. März 2012
Online veröffentlicht am 29. Mai 2012

- [1] M. G. Surette, M. B. Miller, B. L. Bassler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, 96, 1639–1644.
- [2] K. R. Hardie, K. Heurlier, *Nat. Rev. Microbiol.* **2008**, 6, 635–643.
- [3] J. S. Kavanaugh, L. Gakhar, A. R. Horswill, *Acta Crystallogr. Sect. F* **2011**, 67, 1501–1505.
- [4] X. Chen, S. Schauder, N. Potier, A. Van Dorsselaer, I. Pelczar, B. L. Bassler, F. M. Hughson, *Nature* **2002**, 415, 545–549.

- [5] K. B. Xavier, B. L. Bassler, *J. Bacteriol.* **2005**, *187*, 238–248.
 [6] D. Globisch, C. A. Lowery, K. C. McCague, K. D. Janda, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 4280–4284; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4204–4208.
 [7] M. F. Semmelhack, S. R. Campagna, M. J. Federle, B. L. Bassler, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 569–572.
 [8] C. A. Lowery, J. Park, G. F. Kaufmann, K. D. Janda, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9200–9201.
 [9] Infectious Diseases Society of America, *Clin. Infect. Dis.* **2010**, *50*, 1081–1083.

Neugierig?



Sachbücher von WILEY-VCH

MICHAEL GROß

Der Kuss des Schnabeltiers

und 60 weitere irrwitzige Geschichten
aus Natur und Wissenschaft

ISBN: 978-3527-32490-3

September 2009 278 S. mit 26 Abb.

Gebunden € 24,90

Groß berichtet von winzigen „Bärtierchen“, die schon mal einen „Winterschlaf“ von 100 Jahren machen; von Fröschen, die man getrost küssen kann, auch wenn sie sich nicht in Prinzen verwandeln; von der Rekonstruktion genetischer Codes, die uns irgendwann einen echten Jurassic Park beschenken könnten. „Die Maus, die in die Kälte ging“, „Bakterien halten zusammen“ oder „Die spinnen, die Spinnen!“ – Michael Groß hat Spaß an den intelligenten und mitunter etwas bizarren Erfindungen der Natur. Spannende Phänomene, dazu ungewöhnliche Forscherpersönlichkeiten und neueste Technologien stellt er in 61 Kapiteln vor.

Der Chemiker und Wissenschaftsjournalist, der auch für Magazine wie „Nature“ oder „New Scientist“ schreibt, zeigt, dass Wissenschaft Spaß macht, Neugier weckt und den eigenen Forschergeist beflügelt.



529340908_bu

WILEY-VCH

Wiley-VCH • Tel. +49 (0) 62 01-606-400 • Fax +49 (0) 62 01-606-184 • E-Mail: service@wiley-vch.de

www.wiley-vch.de/sachbuch