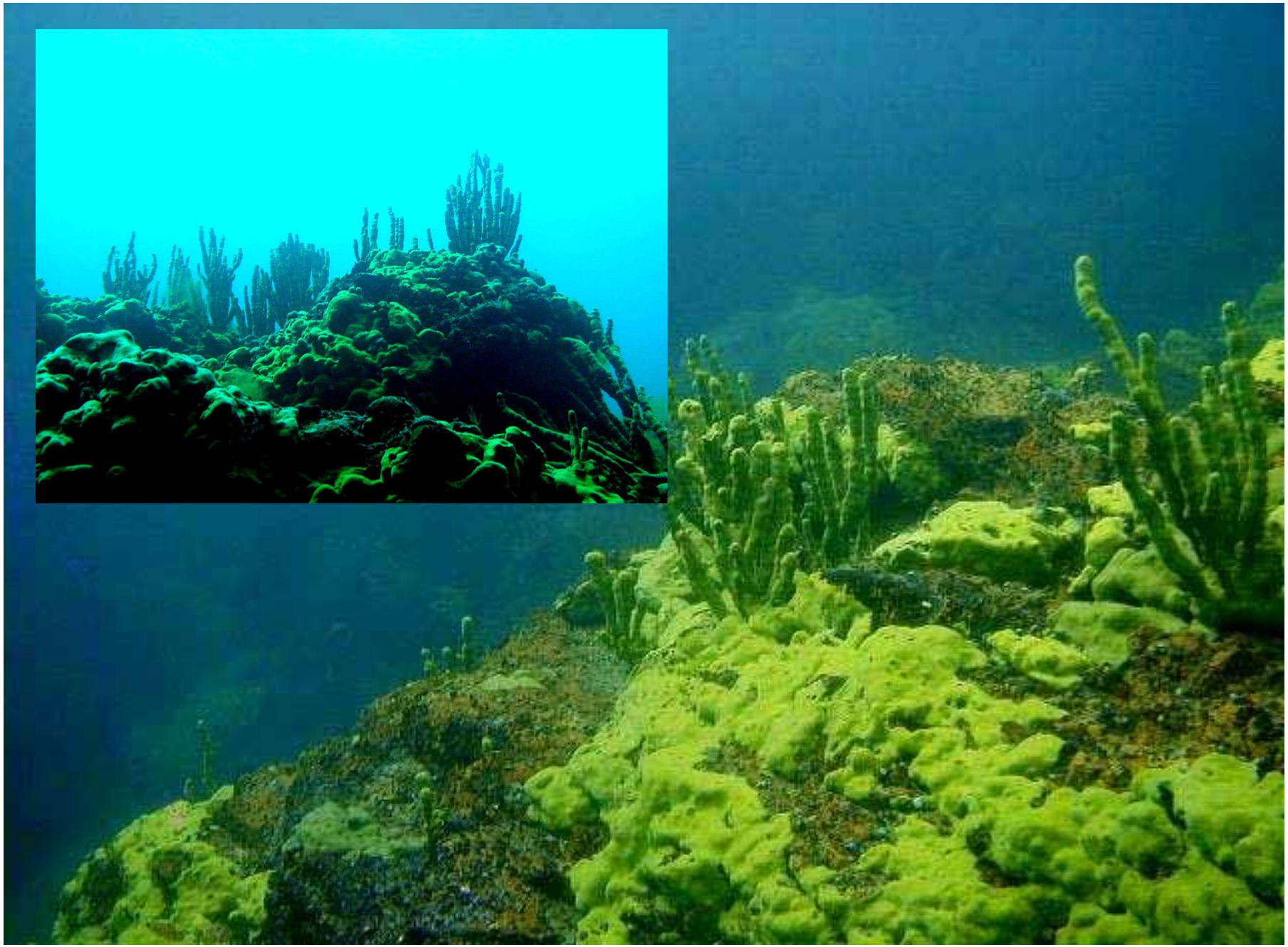
Выявление причин экологического кризиса экосистемы литорали озера Байкал

Профессор Беликов С.И.,
Лимнологический институт,
Лаборатория аналитической биоорганической химии

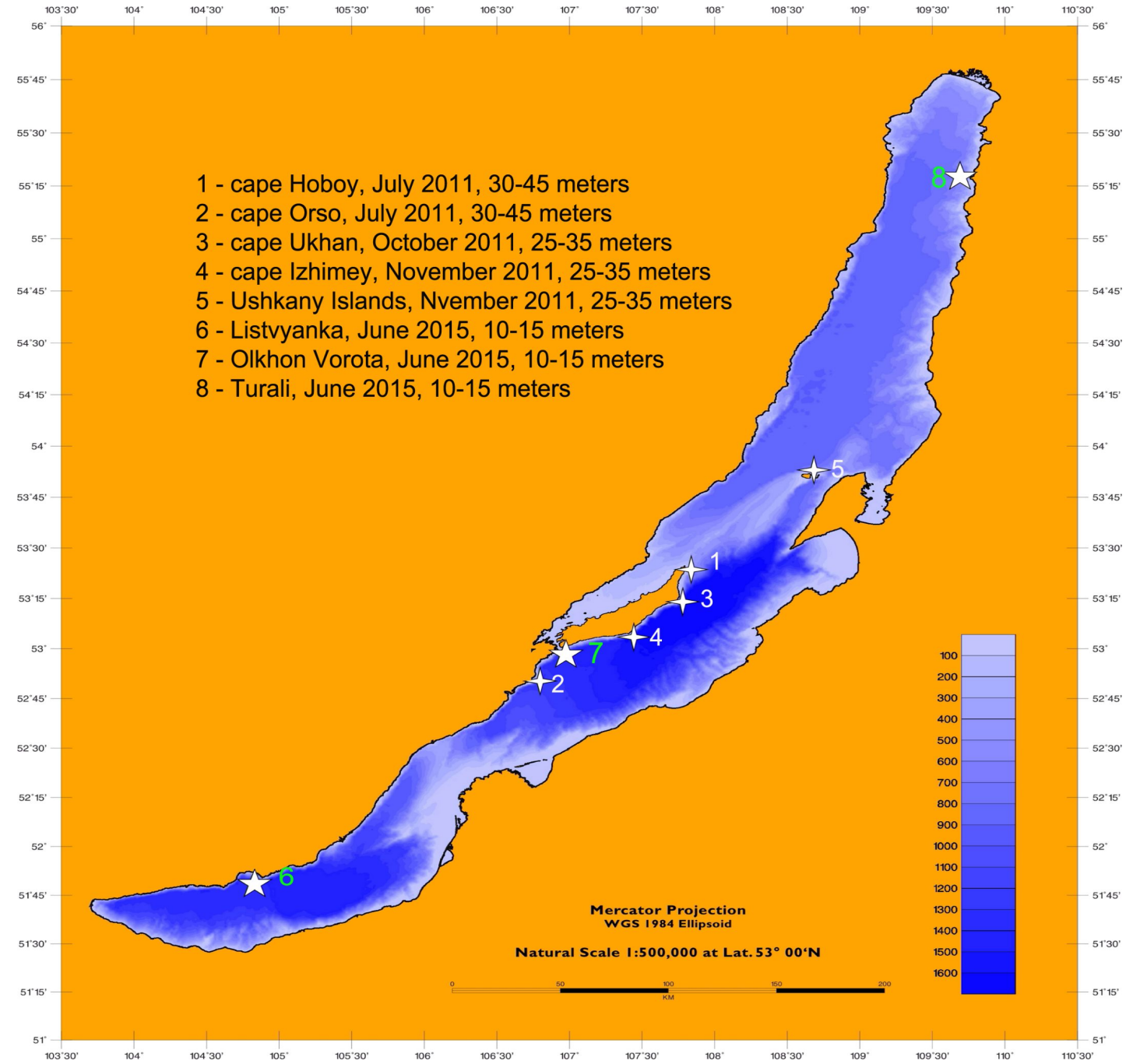


2006 год.

Губки - самый успешный вид животных на литорали озера Байкал

2011 год, первое обнаружение больных губок

Бормотов А.Е. (2011) Что случилось с байкальскими губками? Наука из первых рук, №5 (41) 20 - 23

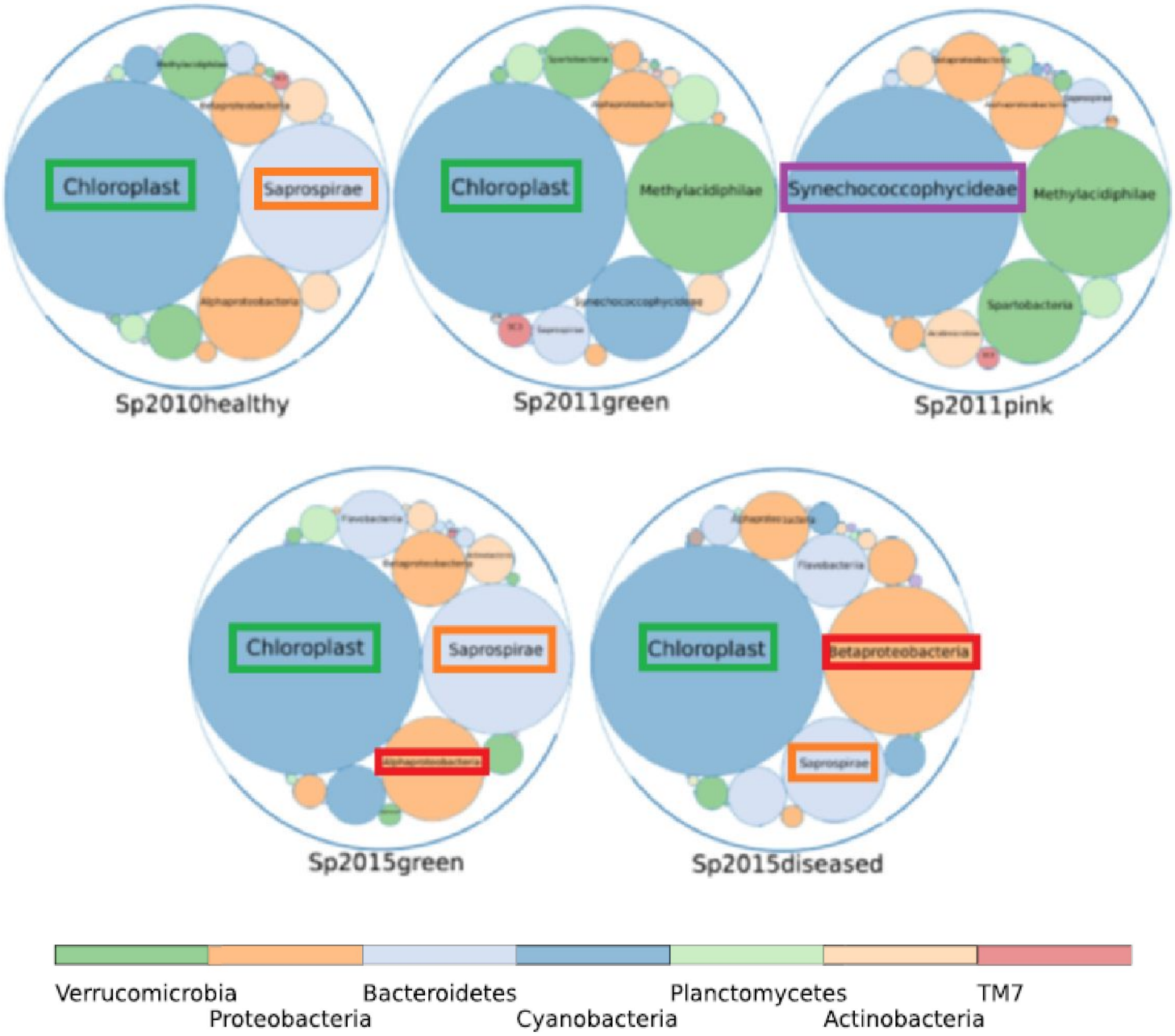


Места обнаружения больных губок

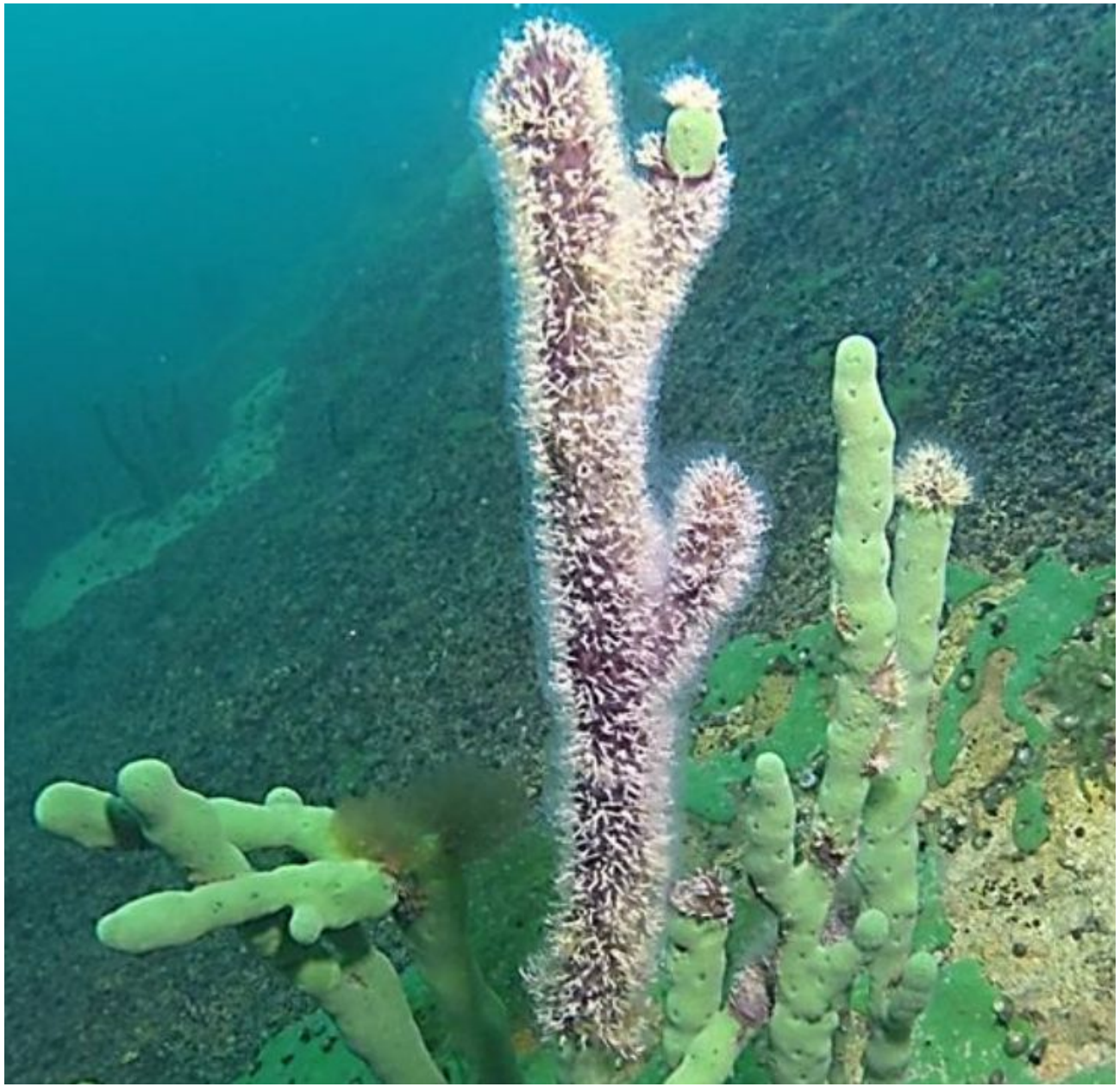
Обнаружение розовых губок, 2011 год

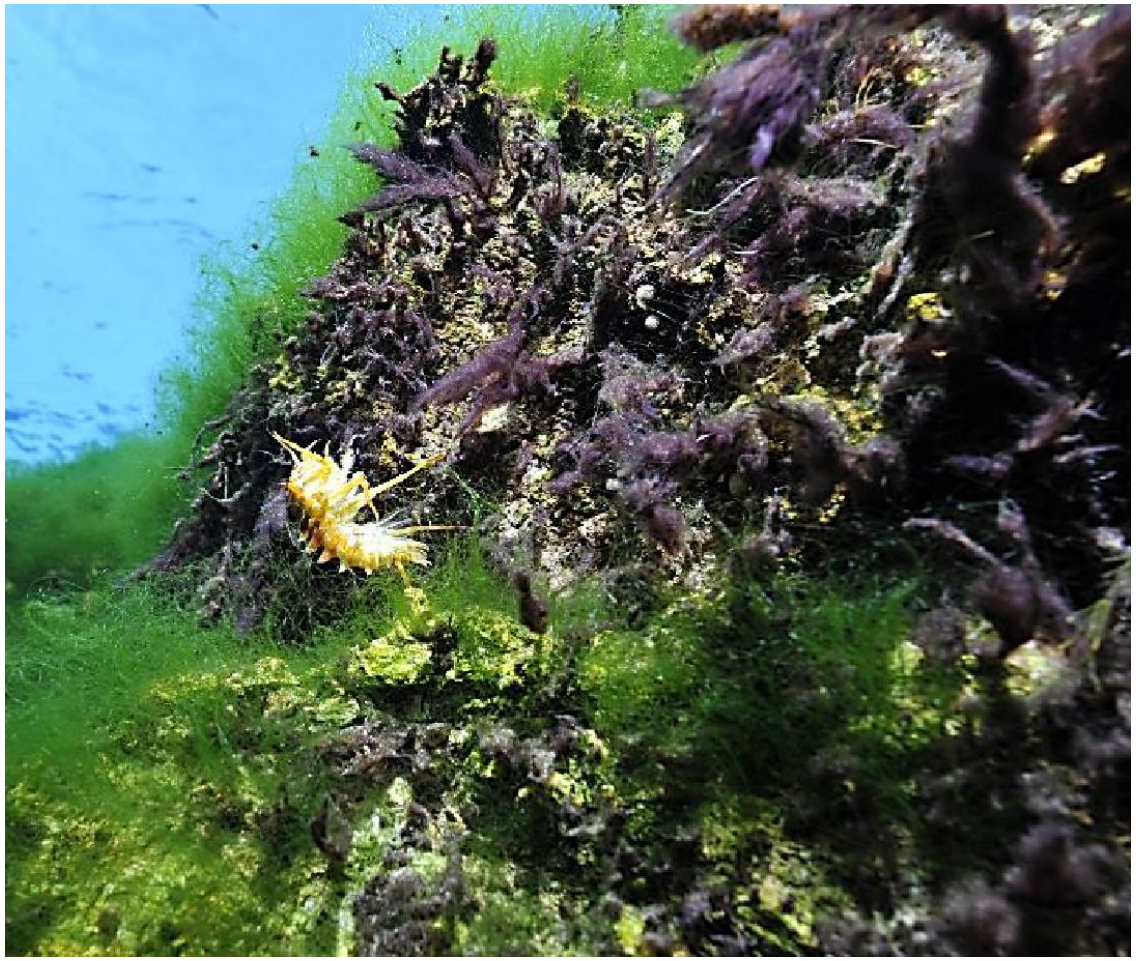
Места ежегодного сбора губок,
2015 – 2019 годы

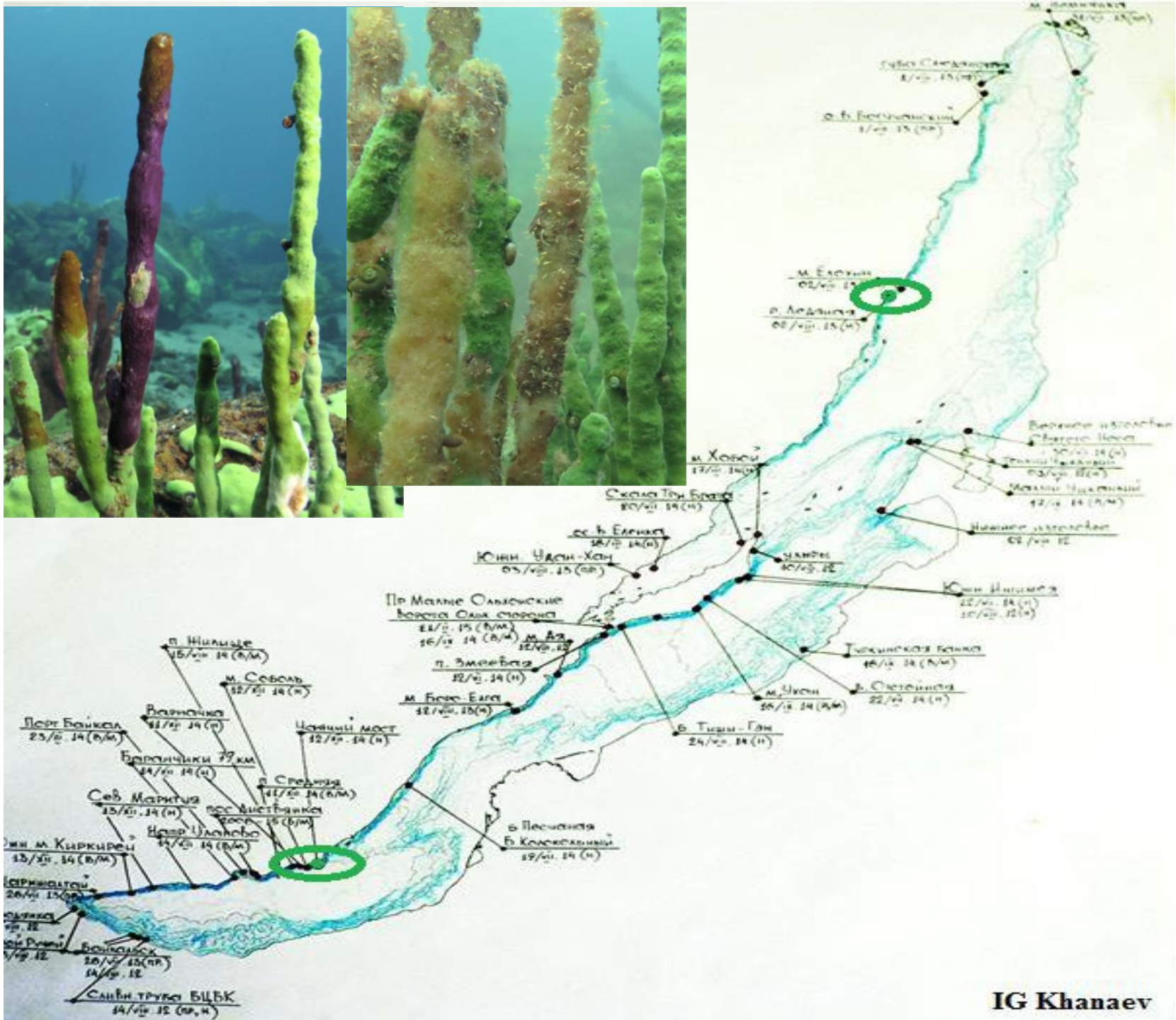
Изменение состава микробиомов



Относительное содержание бактериальных групп в микробиомах здоровых и больных губок



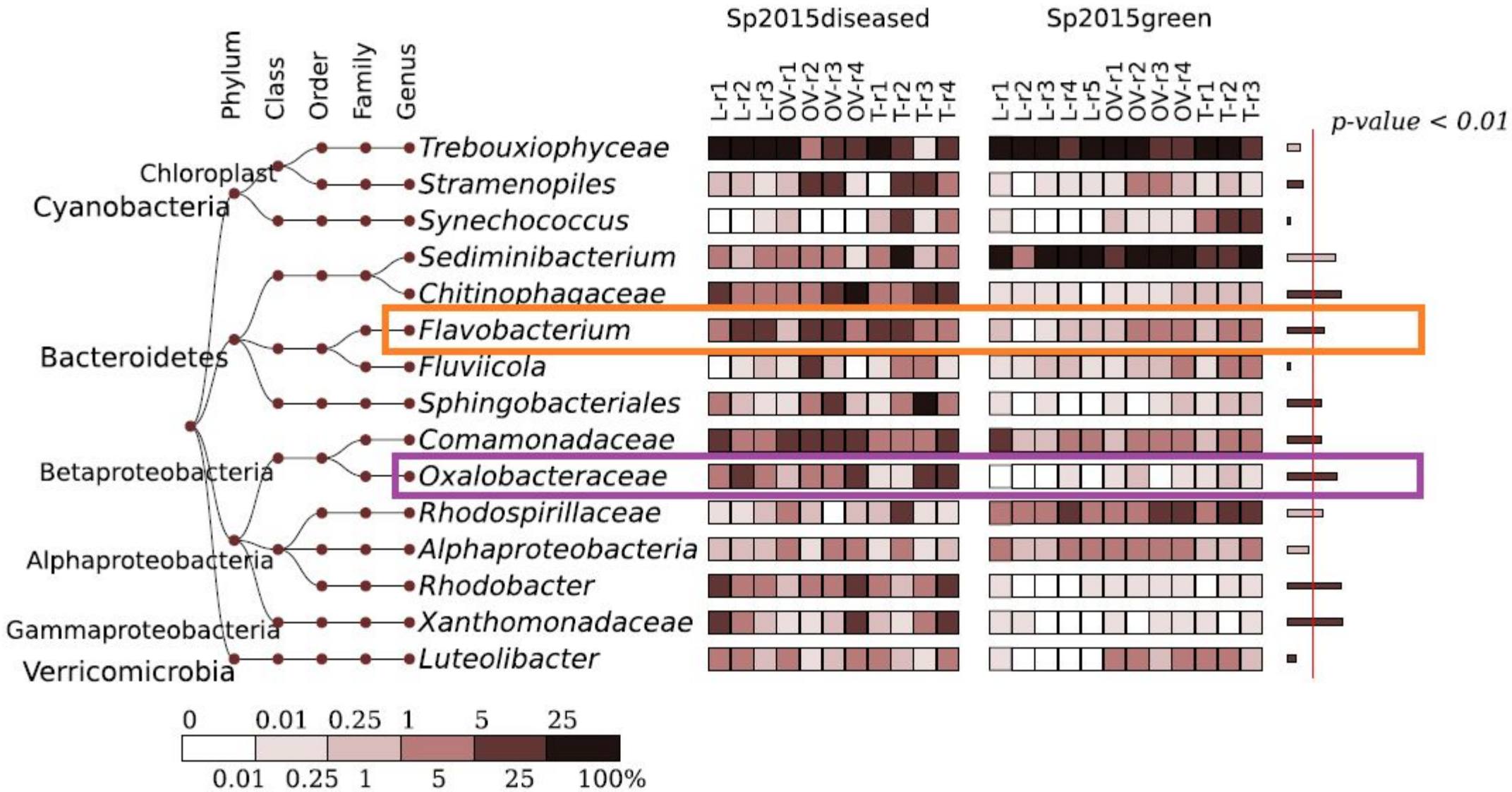




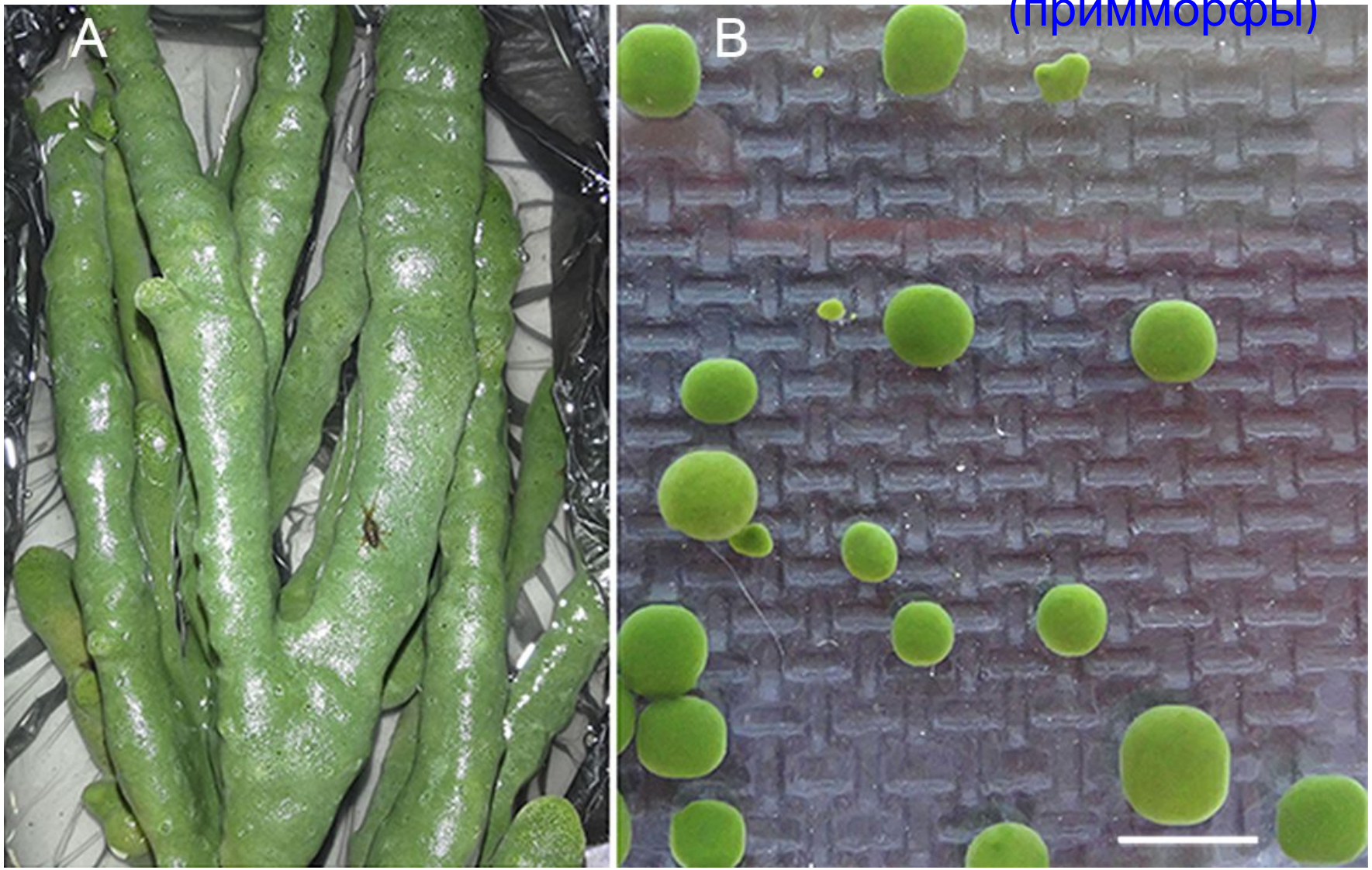
Места обнаружения больных губок в 2014.

Было обнаружено только два района без больных губок (выделено зеленым).

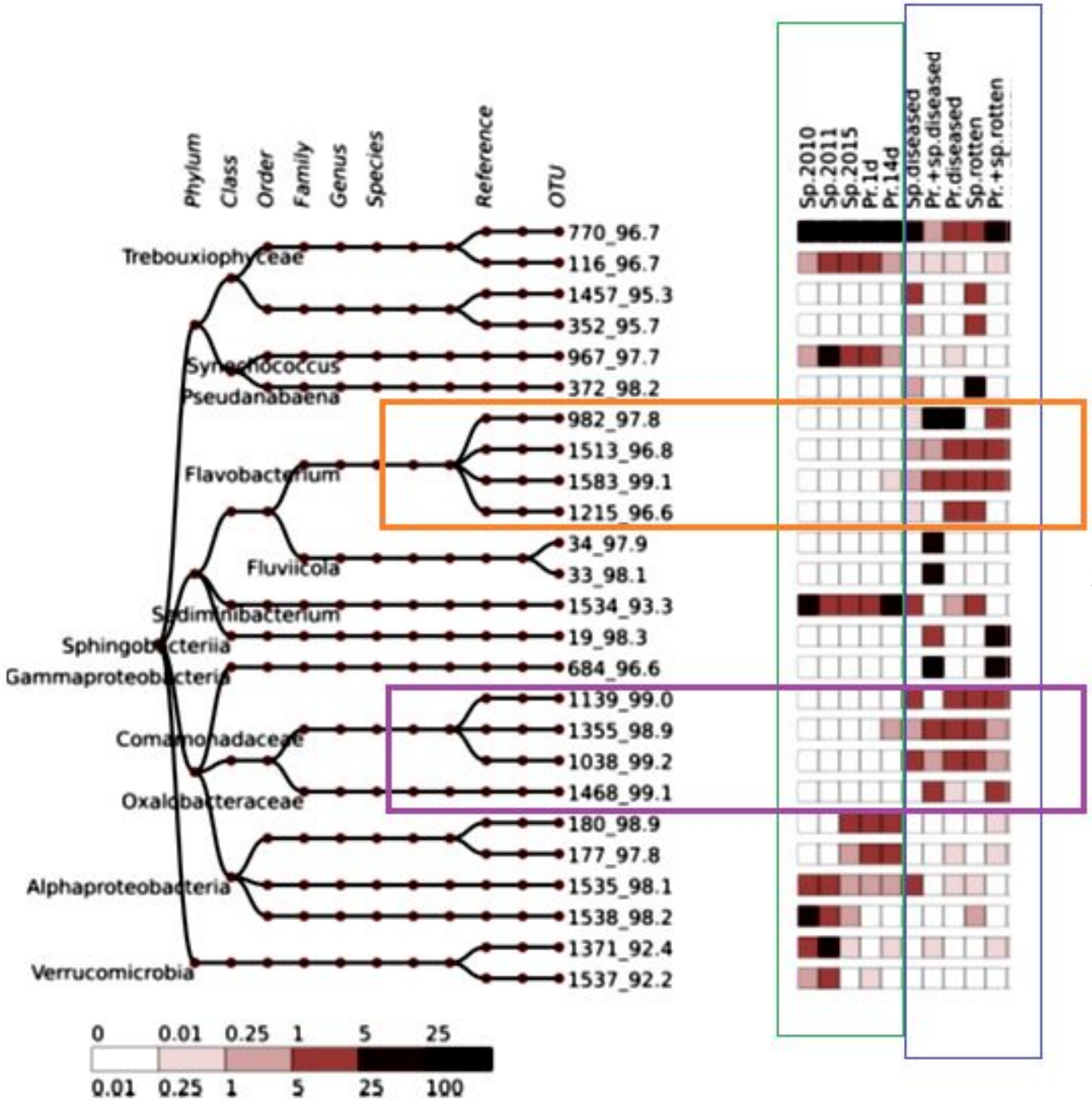
Идентификация бактерий – симбионтов в здоровых и больных губках



Культура клеток губок (примморфы)



Идентификация бактерий в здоровых и больных губках и зараженных примморфах



Видно существенное увеличение количества бактерий
семейств Flavobacteriaceae (Flavobacterium) and Oxalobacteraceat&Comamonadaceae

Эти виды бактерий являются типичными комменсалами
и, в норме, не приносят вреда хозяину.

НО иногда становятся патогенами

Бактерии комменсалы используют хозяина для защиты от агрессивных факторов
окружающей среди и получения питательных веществ,
но никакой пользы организму хозяина не приносят.

Часть комменсалов являются **условно-патогенными** организмами, т.е. становятся патогенными только
при ослаблении хозяина.

Они используют тактику «**сижу и жду**», их другое название – оппортунистические патогены.

Множество оппортунистических патогенов обладает «чувствительностью к кворуму», **Quorum sensing.**

**Quorum sensing – социальное поведение микроорганизмов, которые общаются не только друг с другом в пределах вида или рода,
но даже между отдаленными классами и царствами**

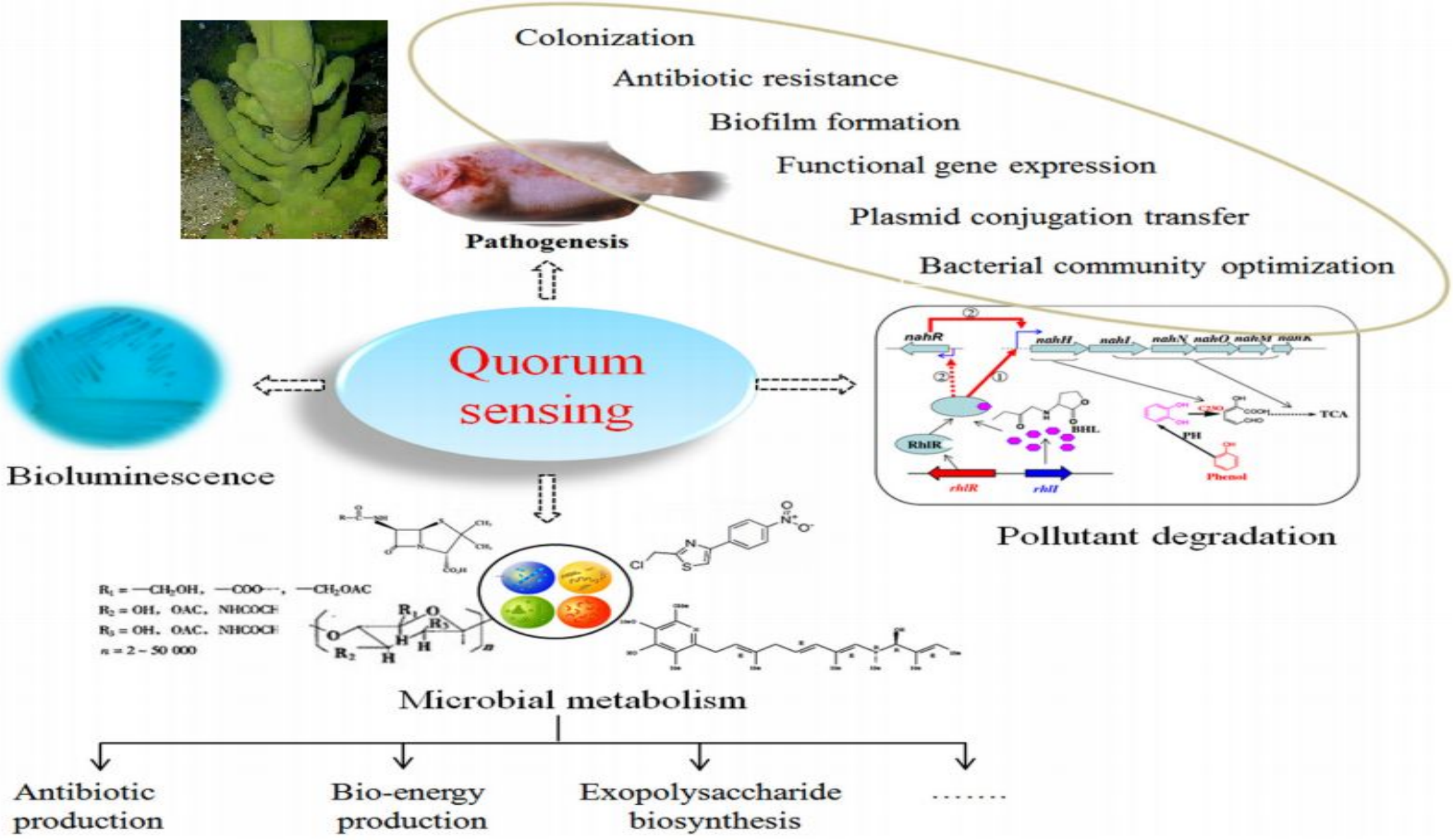
Общение между микроорганизмами происходит с помощью небольших сигнальных молекул,
которые нарабатываются в клетке, постоянно диффундируют в окружающую среду и «ощущаются, чувствуются» другими микроорганизмами, имеющими белки-сенсоры.

При небольшой концентрации сигнальных молекул ничего не происходит.
При высокой локальной концентрации бактерий (кворум!!!) количество сигнальных молекул превышает порог чувствительности рецептора и эти молекулы начинают работать как **индуктор кворума,** точнее, как **автоиндуктор**.

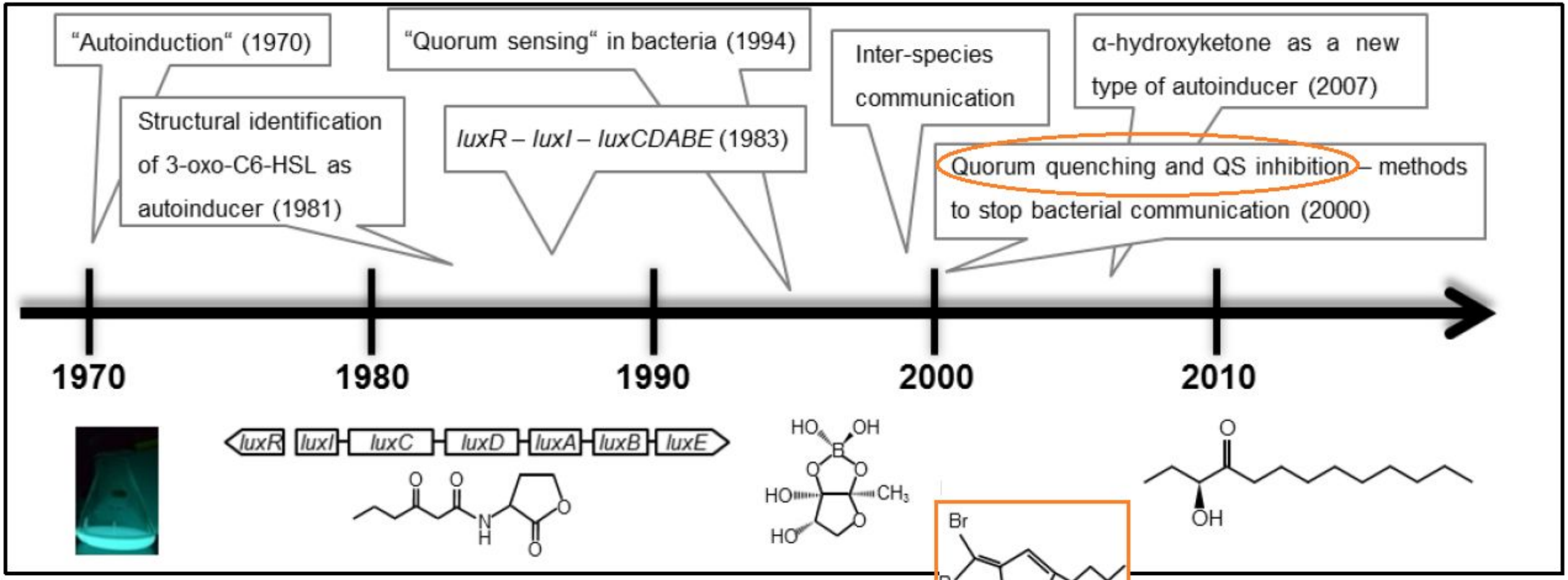
Автоиндуктор изменяет регуляцию геномов, что приводит к увеличению патогенности бактерий благодаря изменению экспрессии генов, синтезу токсинов, усилению обмена генетическим материалом между клетками, образованию внеклеточных пилей и биопленок и прочному закреплению на поверхности клеток или даже к проникновению в них
и к повышению устойчивости к антибиотикам и др.

ВСЁ!

«Хозяин» не может сопротивляться массивной скоординированной атаке оппортунистов-приспособленцев и может быть уничтожен, пущен на корм многочисленным потомкам «координаторов кворума»



The various phenotypes regulated by autoinducer-induced QS systems.

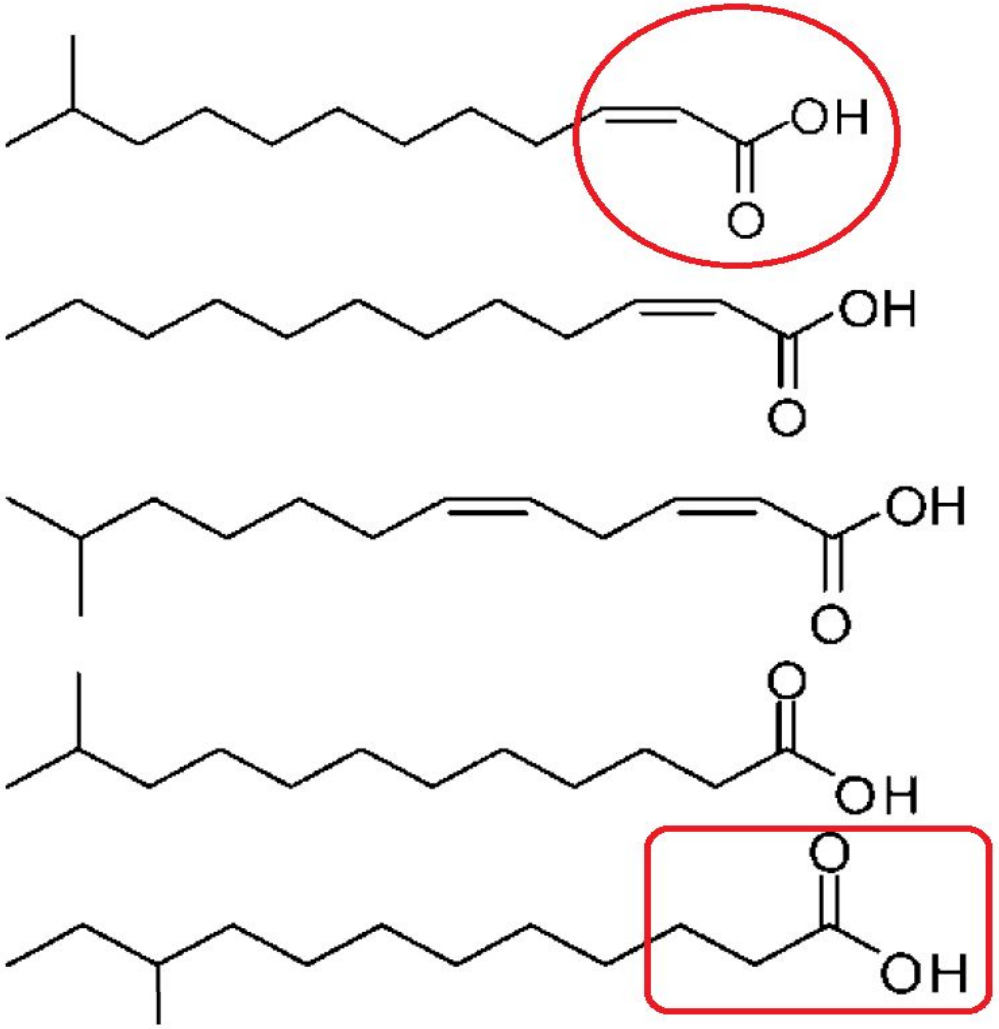


Ацил гомосерин лактон
AHL

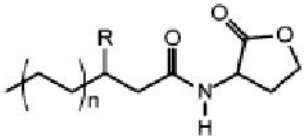
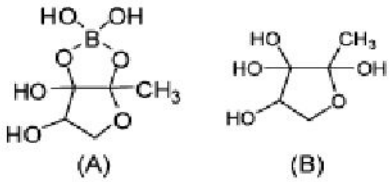
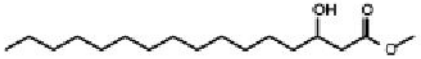
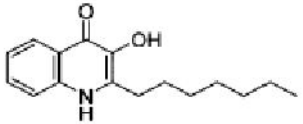
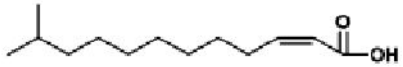
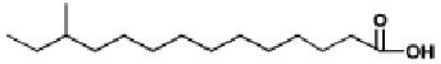
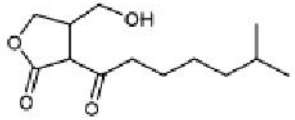
Фуранозил борат диэфир
AI-2
Борат фуранона

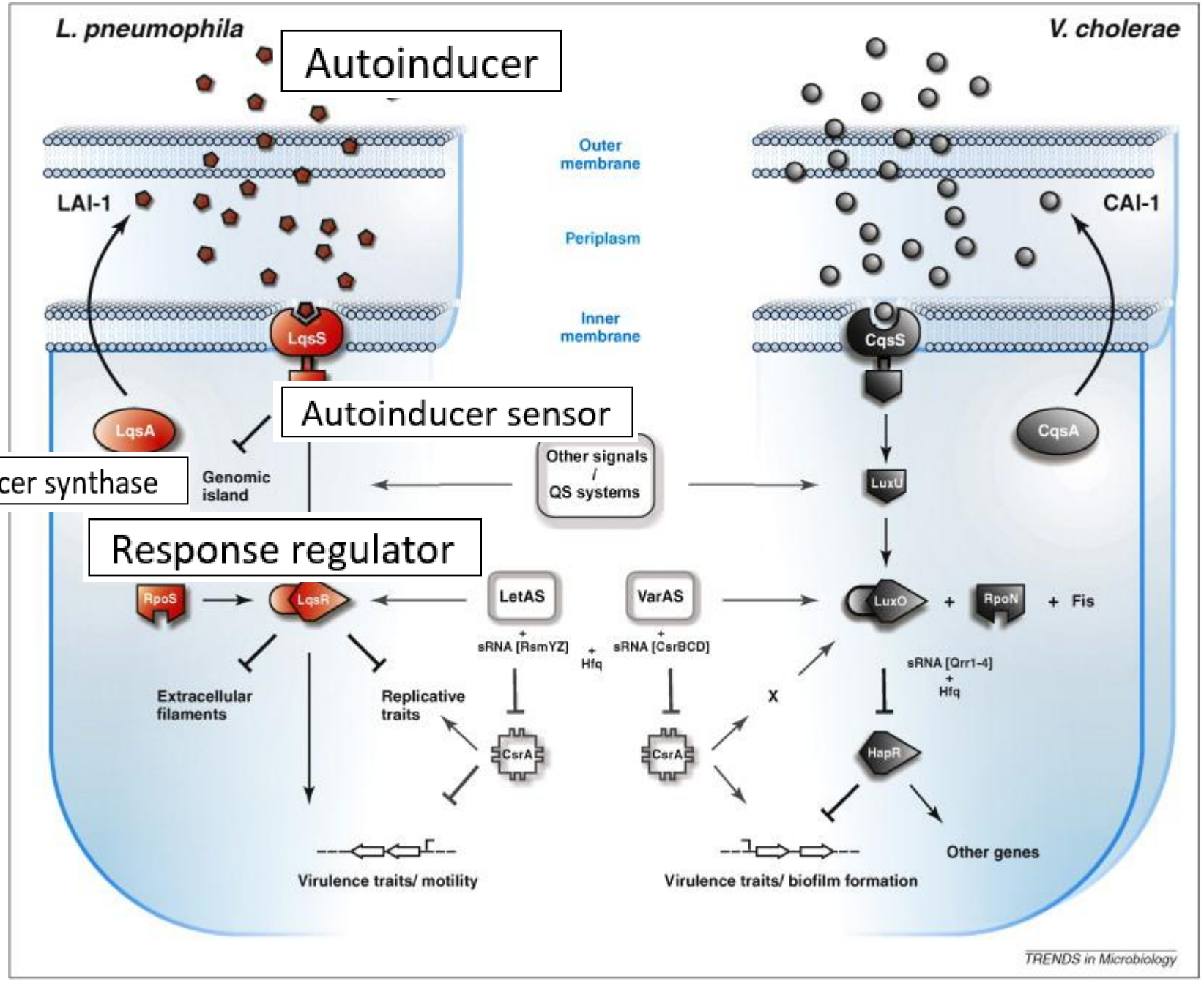
Альфа гидрокси кетон
АНК

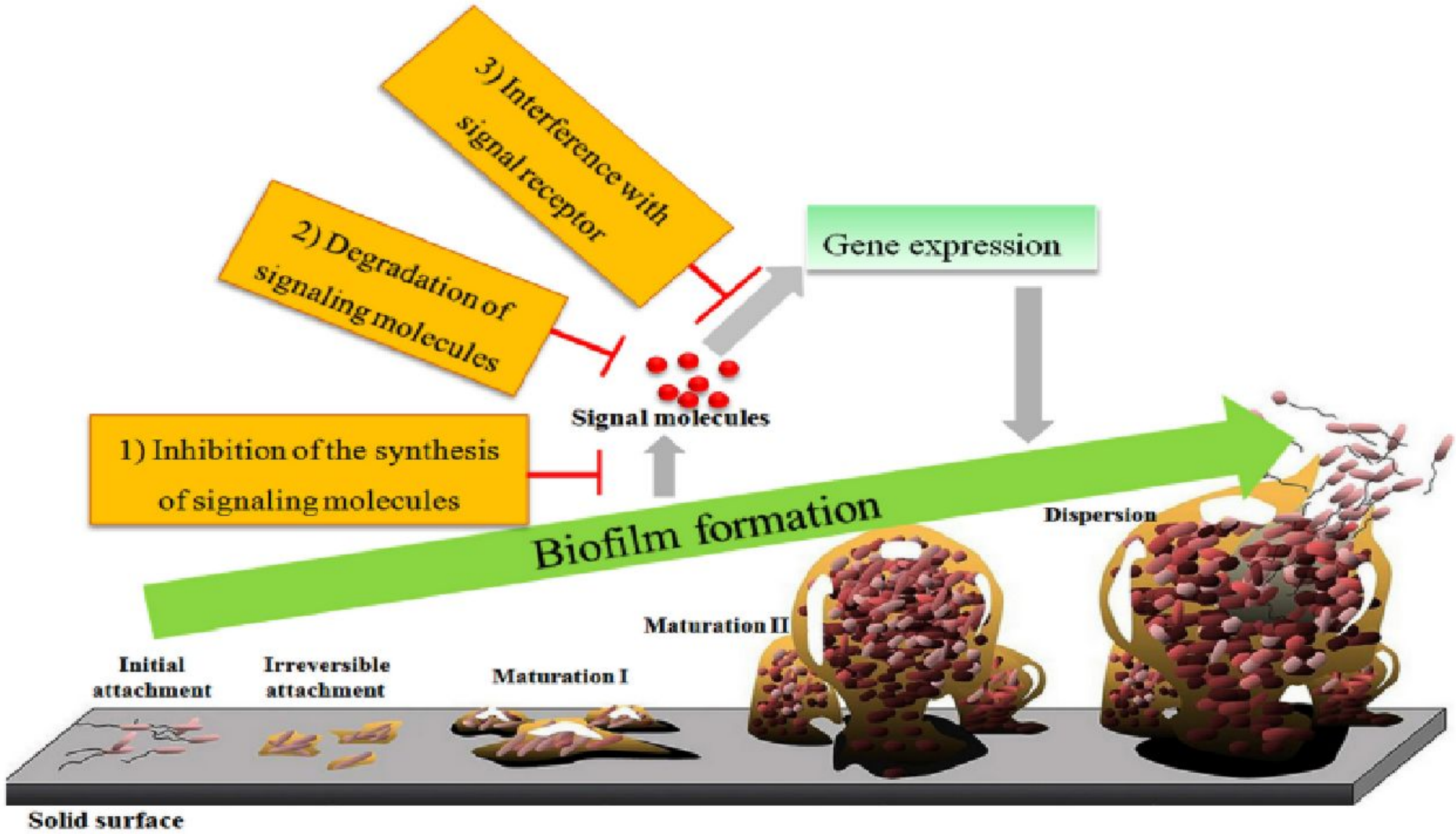
The diffusible signal factor (DSF), which was originally identified in Xanthomonas campestris – plant pathogen



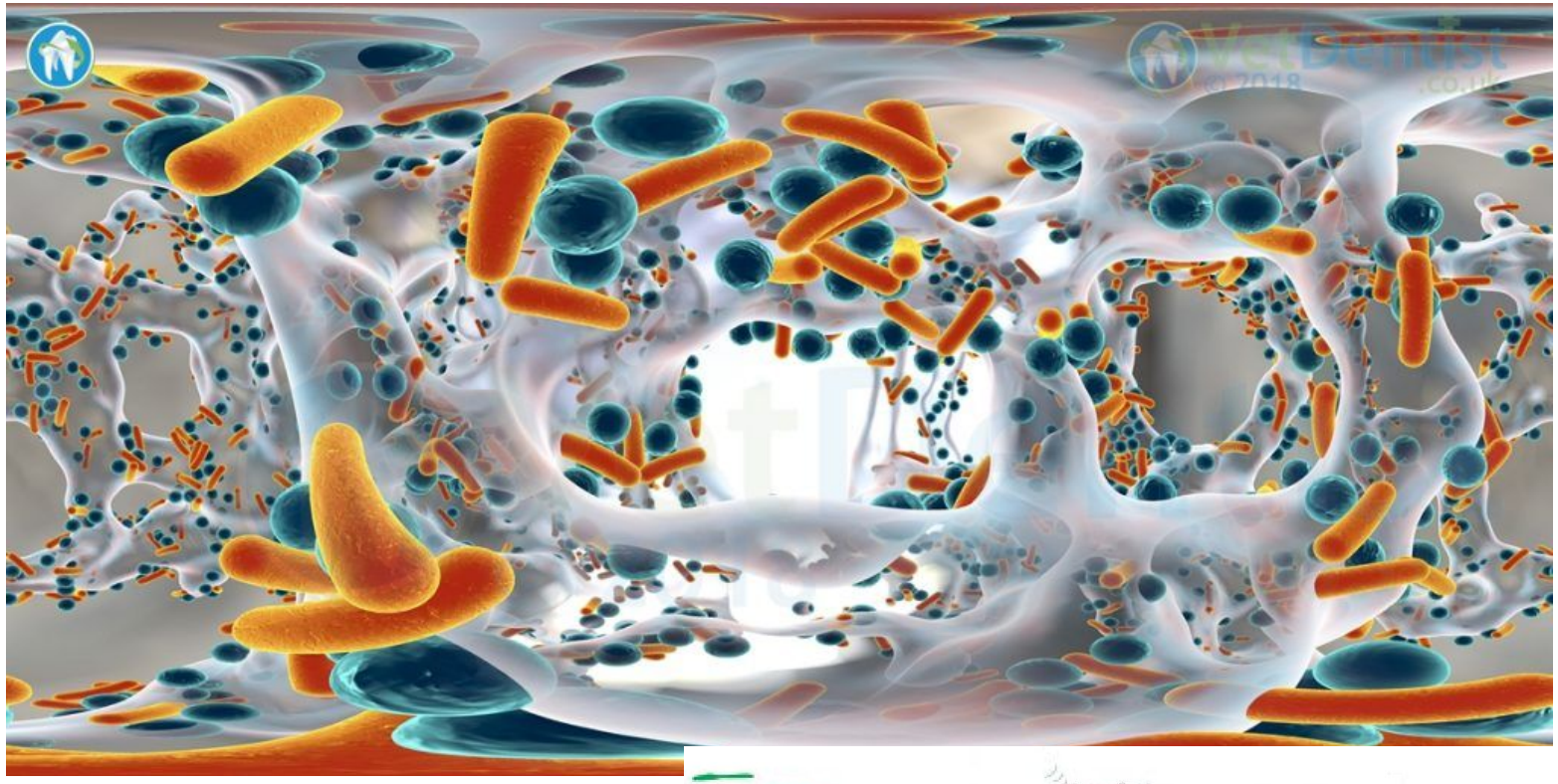
2007

Signal	Structure	Representative organism
Gram-negative		
N-acyl homoserine lactone (AHL)		*V. fischeri* (n=1; R= H) *A. tumefaciens* (n=2; R=O) *E. carotovora* (n=2; R=OH) *P. aeruginosa* (n=4; R=O) *V. harveyi* (n=0; R=OH)
AI-2 family	 (A) (B)	*V. harveyi* (A) *S. typhimurium* (B)
Hydroxy-palmitic acid methyl ester (PAME)		*R. solanacearum*
Pseudomonas quinolone signal (PQS)		*P. aeruginosa*
DSF family		*X. campestris* *S. maltophilia*
		B. cenocepacia
		*X. fastidiosa*
Gram-positive		
γ-Butryolactones (A-factor)		*S. griseus*


L. pneumophila
V. cholerae
Autoinducer
Outer membrane
Periplasm
Inner membrane
LAI-1
CAI-1
LqsS
CqsS
Autoinducer sensor
LqsA
CqsA
Autoinducer synthase
Genomic island
Other signals / QS systems
LuxU
Response regulator
RpoS
LqsR
LetAS
VarAS
LuxO
RpoN
Fis
sRNA [RsmYZ]
Hfq
sRNA [CsrBCD]
sRNA [Qrr1-4]
Hfq
Extracellular filaments
Replicative traits
CsrA
CsrA
X
HapR
Other genes
Virulence traits/ motility
Virulence traits/ biofilm formation
TRENDS in Microbiology

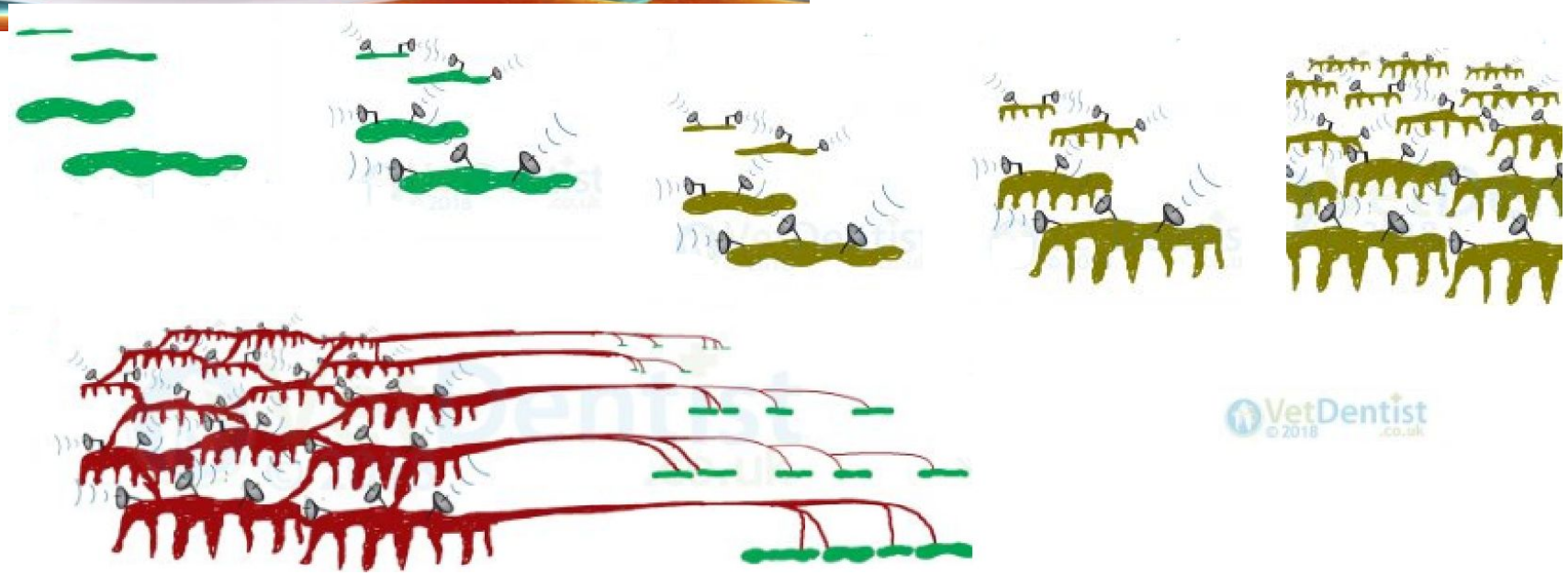


Schematic diagrams of biofilm formation and the interruption of QS systems.



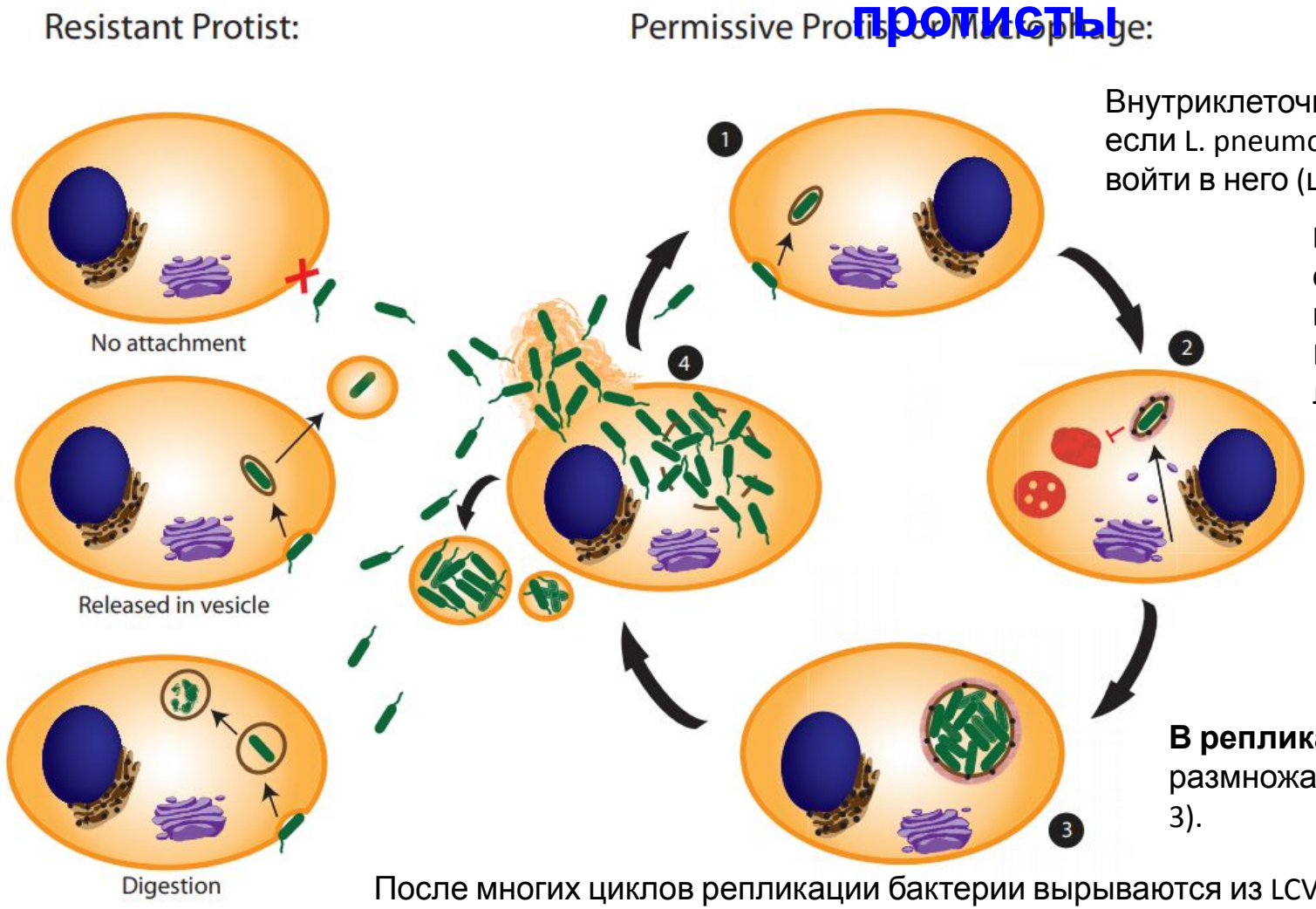
Extracellular polymeric substance (EPS)

Composed mainly of polysaccharides, proteins, and DNA, the production of these slimes is triggered primarily by environmental signals.



Устойчивые хозяева-протисты предотвращают внутриклеточную репликацию L. pneumophila с помощью трех механизмов: предотвращение прикрепление, высвобождение в пузырьке и пищеварение.

Основные хозяева легионеллы-протисты



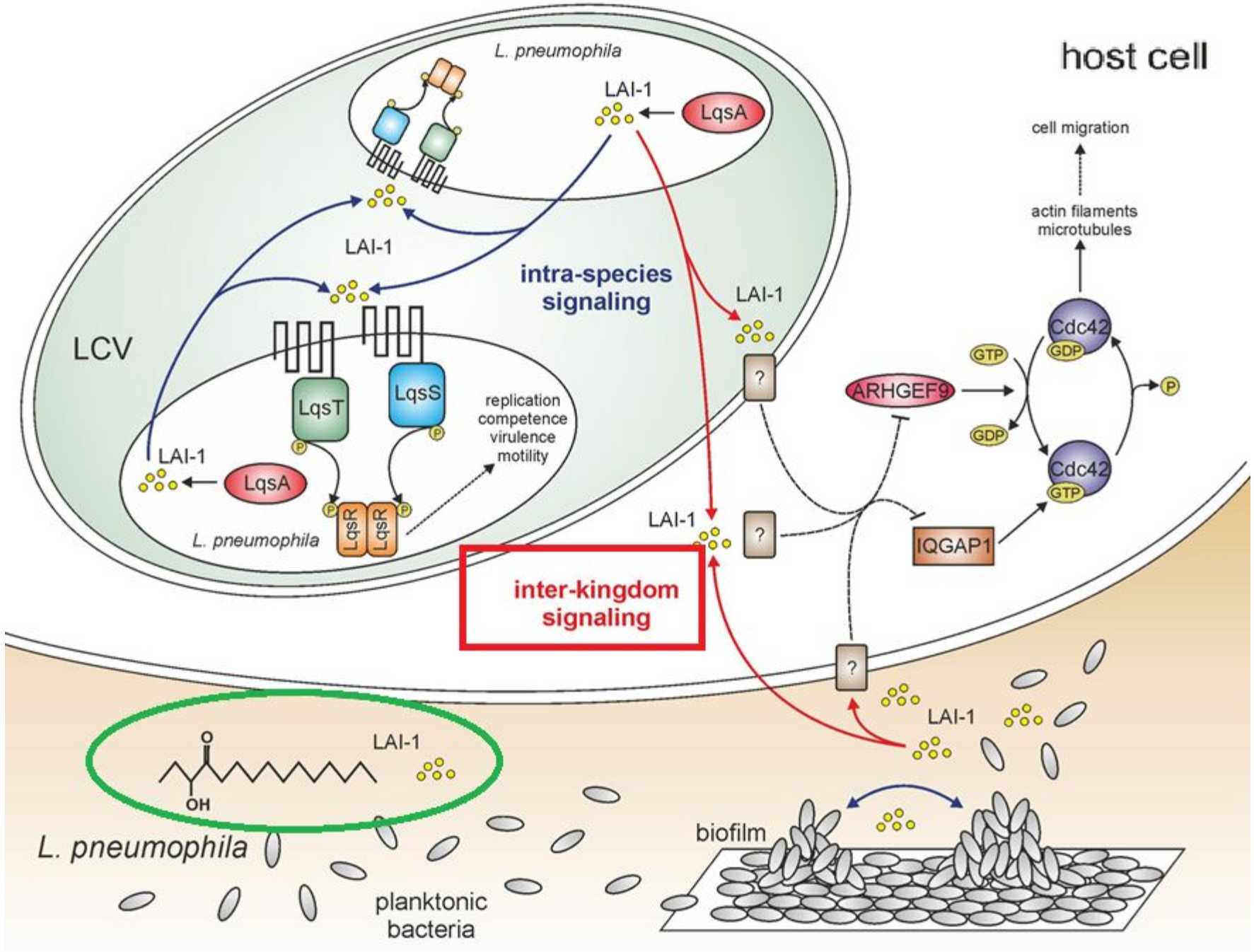
Внутриклеточная репликация может быть успешной, если L. pneumophila может присоединиться к хозяину и войти в него (шаг 1)

Legionella-containing vacuole (LCV) образуется путем модификации вакуоли с везикулами, происходящими от комплекса ER-to-Golgi, и предотвращения слияния лизосом (шаг 2).

В репликативной LCV бактерии размножаются в больших количествах (шаг 3).

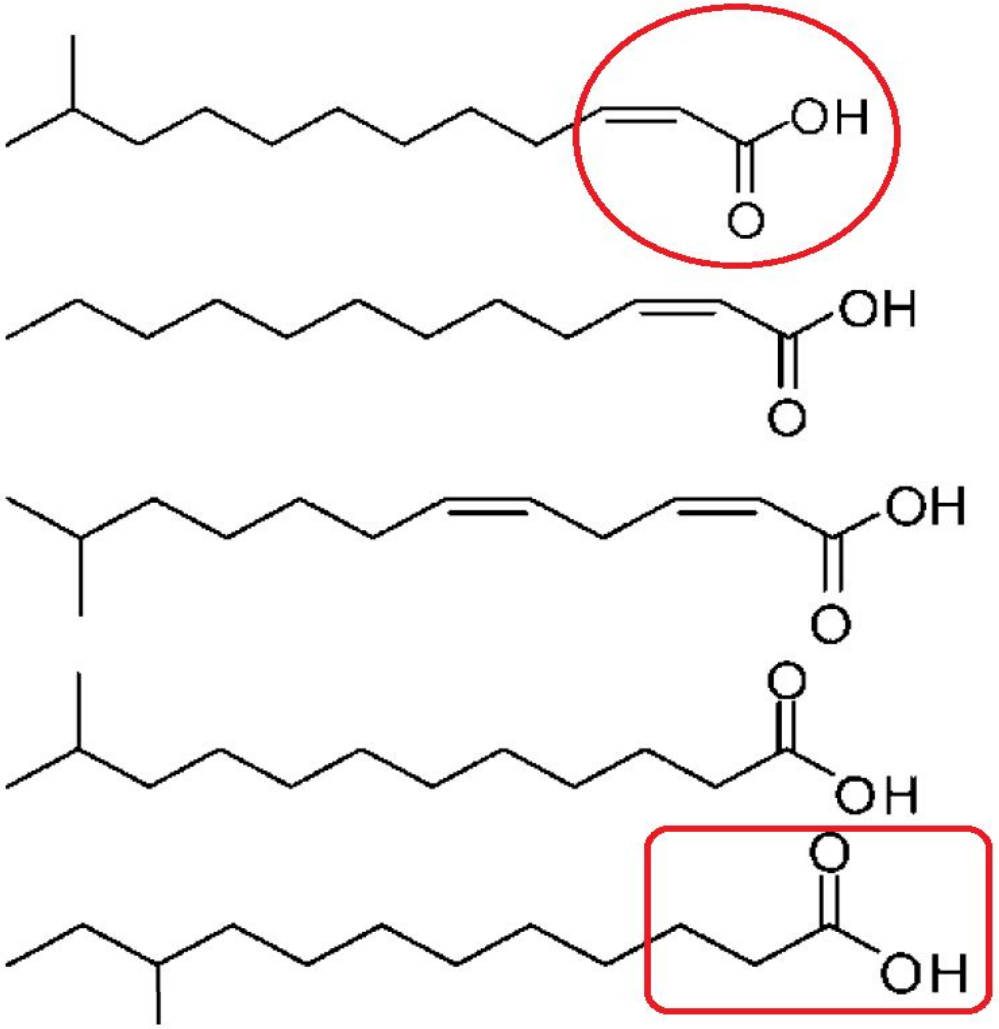
После многих циклов репликации бактерии вырываются из LCV в цитозоль, проходят пару раундов репликации и переходят в стадию передачи, синтезируют жгутики, чтобы помочь в выходе из хозяина и поиска следующего хозяина (шаг 4) ,.

Затем цикл повторяется, если бактерия встречает другого пермиссивного хозяина, в том числе **человека** (человеческого макрофага)

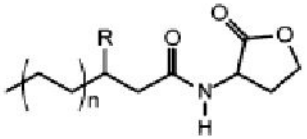
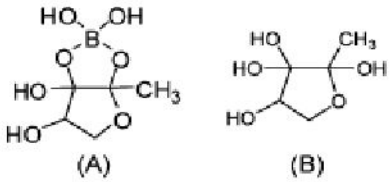
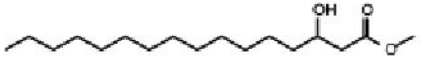
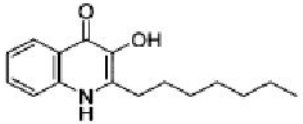
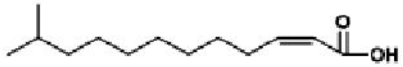
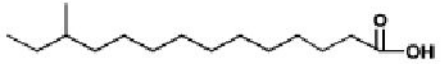
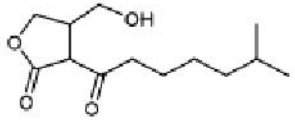


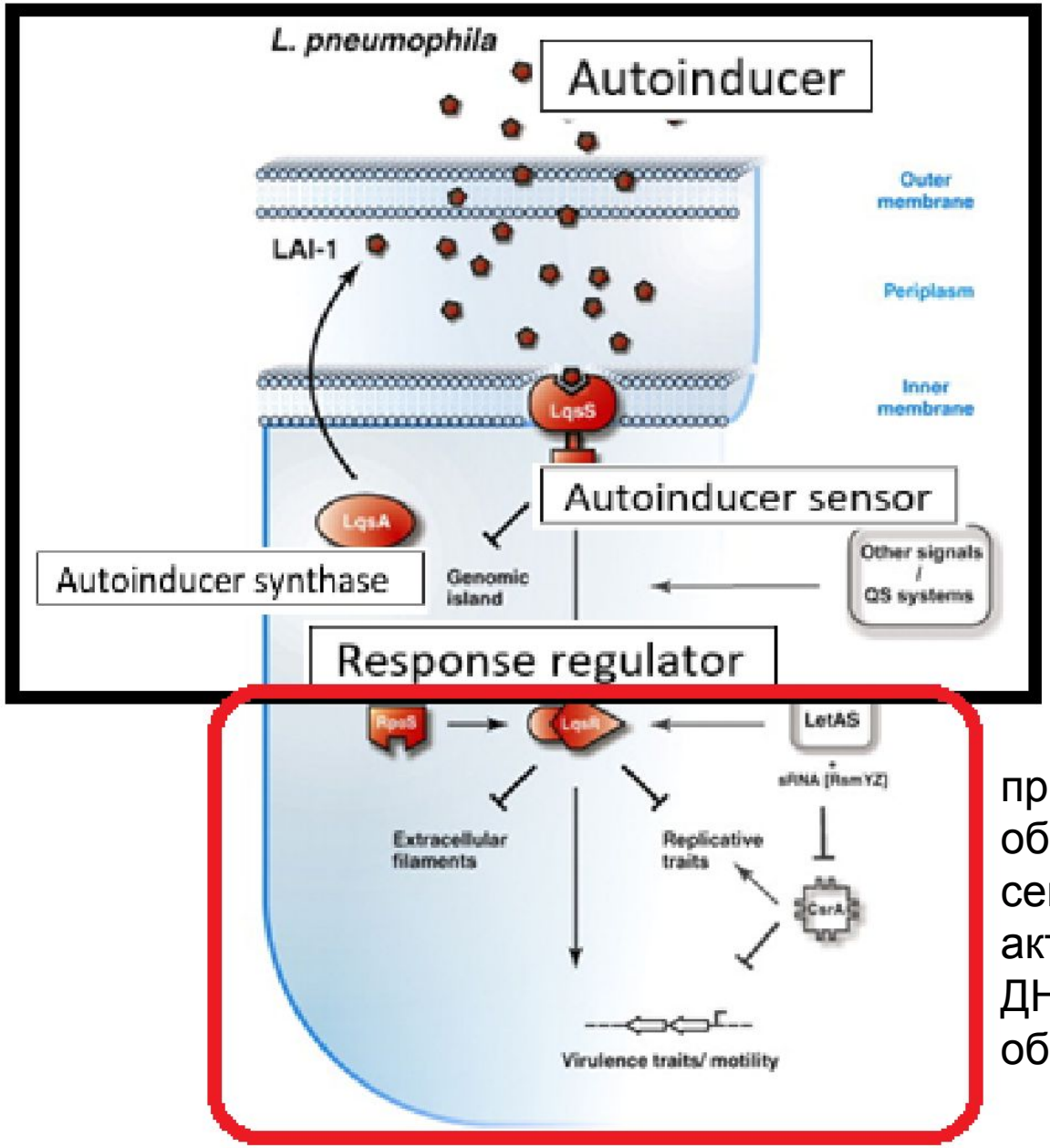
Некоторые сигнальные молекулы распознаются не только близкородственными видами но и представителями различных царств

The diffusible signal factor (DSF), which was originally identified in Xanthomonas campestris – plant pathogen



2007

Signal	Structure	Representative organism
Gram-negative		
N-acyl homoserine lactone (AHL)		*V. fischeri* (n=1; R= H) *A. tumefaciens* (n=2; R=O) *E. carotovora* (n=2; R=OH) *P. aeruginosa* (n=4; R=O) *V. harveyi* (n=0; R=OH)
AI-2 family	 (A) (B)	*V. harveyi* (A) *S. typhimurium* (B)
Hydroxy-palmitic acid methyl ester (PAME)		*R. solanacearum*
Pseudomonas quinolone signal (PQS)		*P. aeruginosa*
DSF family		*X. campestris* *S. maltophilia*
		B. cenocepacia
		*X. fastidiosa*
Gram-positive		
γ-Butryolactones (A-factor)		*S. griseus*



Основные базовые белки системы QS

Синтаза автоиндуктора

Сенсор автоиндуктора

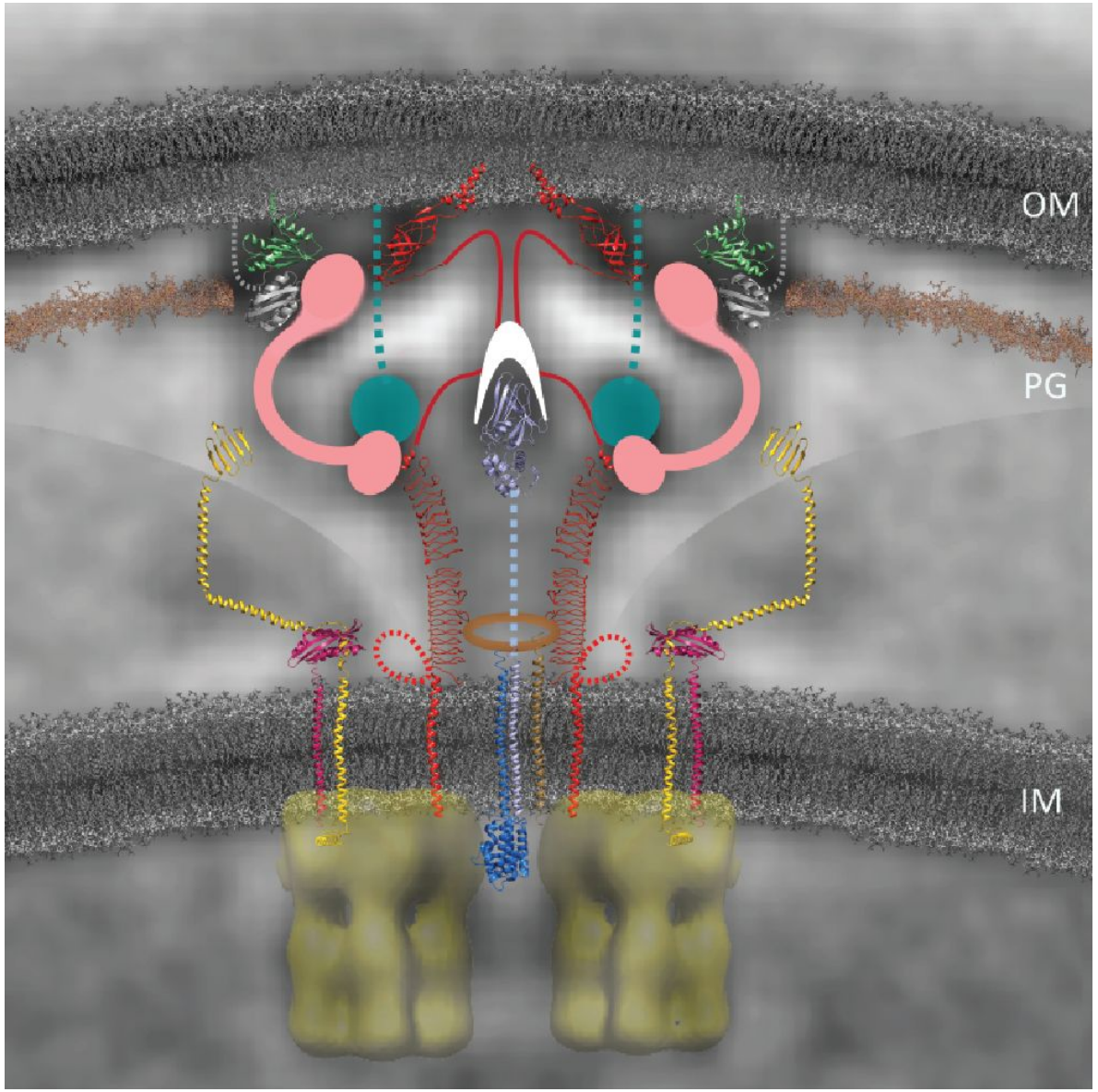
Регулятор ответа

Вариабельные элементы системы QS

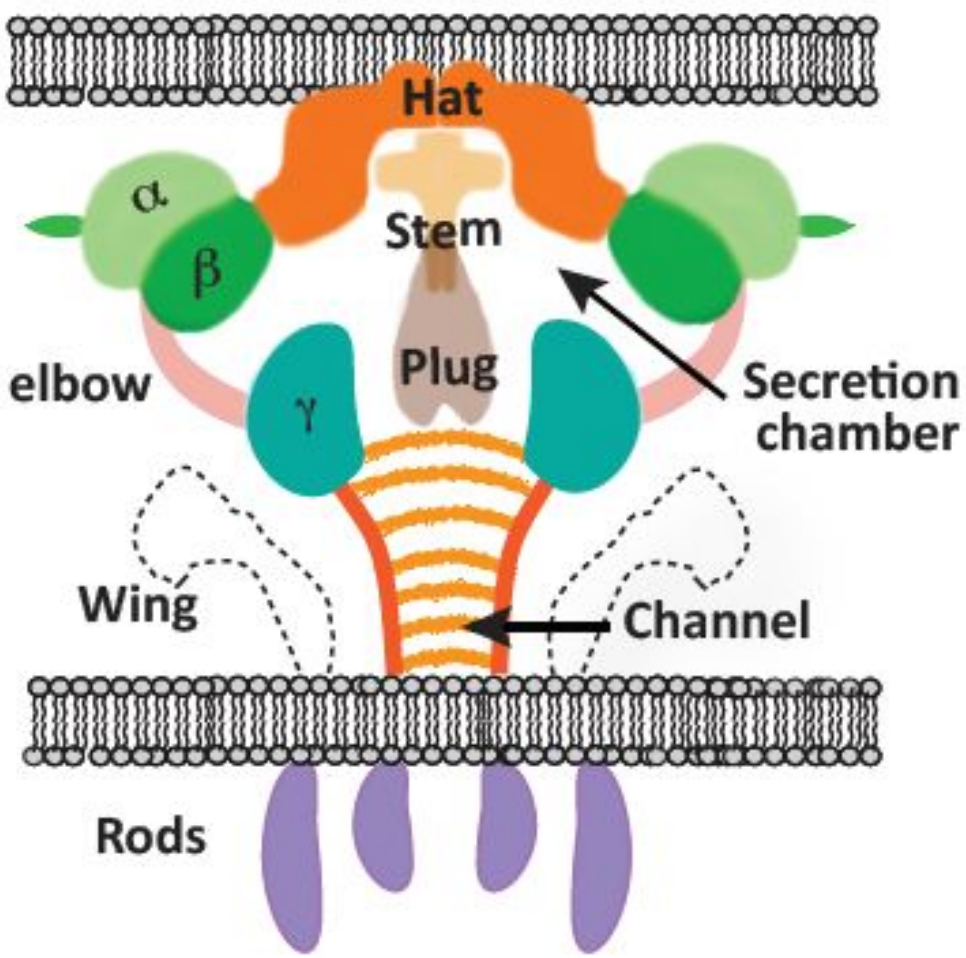
Регулятор ответа, вызывающий каскад изменений в экспрессии функциональных генов, обуславливающих:

прикрепление к поверхности,
образование биопленок –> устойчивость к антибиотикам,
секреция токсинов и вспомогательных соединений,
активация факторов коньюгации (обмена фрагментами ДНК),
образование внеклеточных филаментов и так дале….

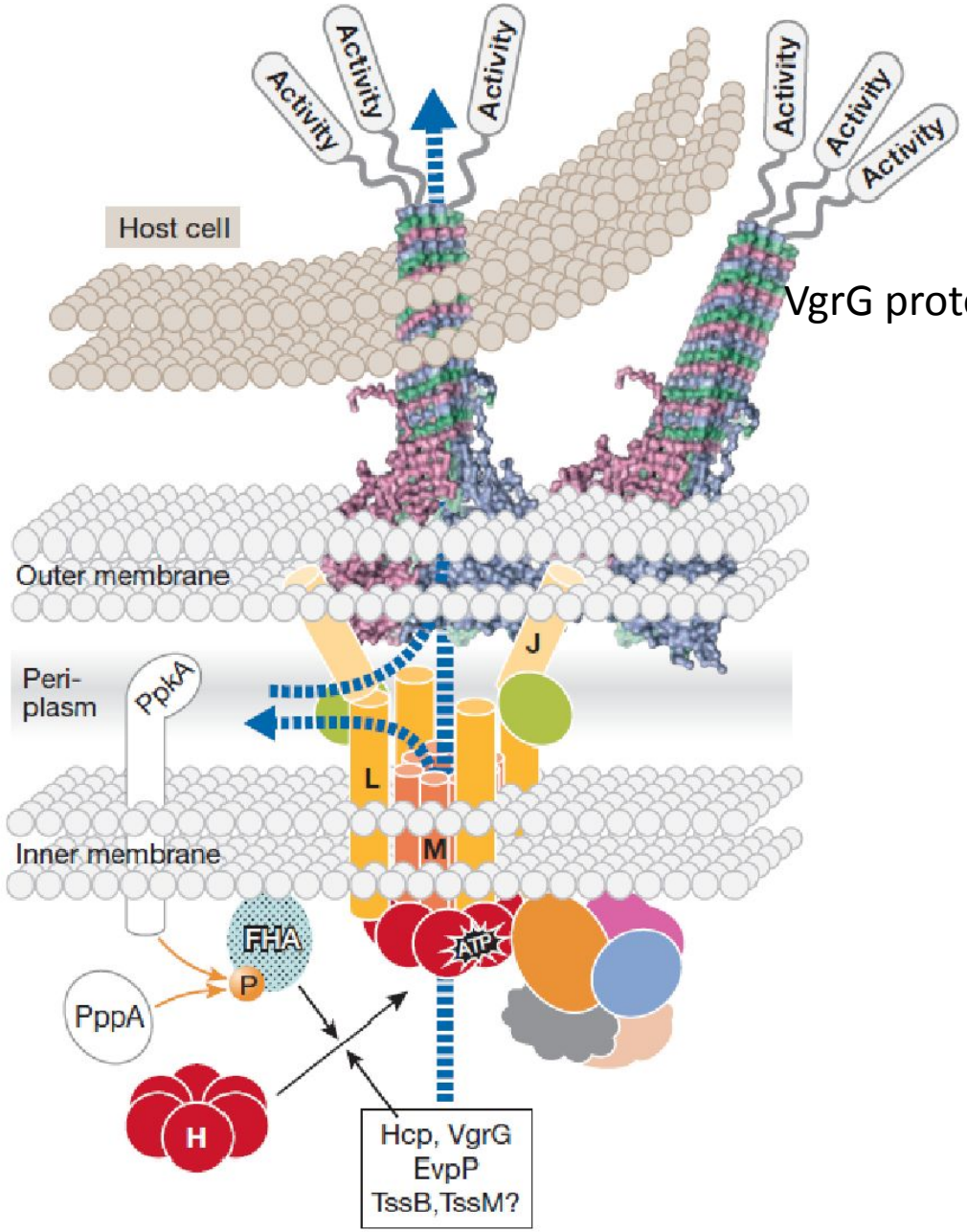
Type IV secretion system



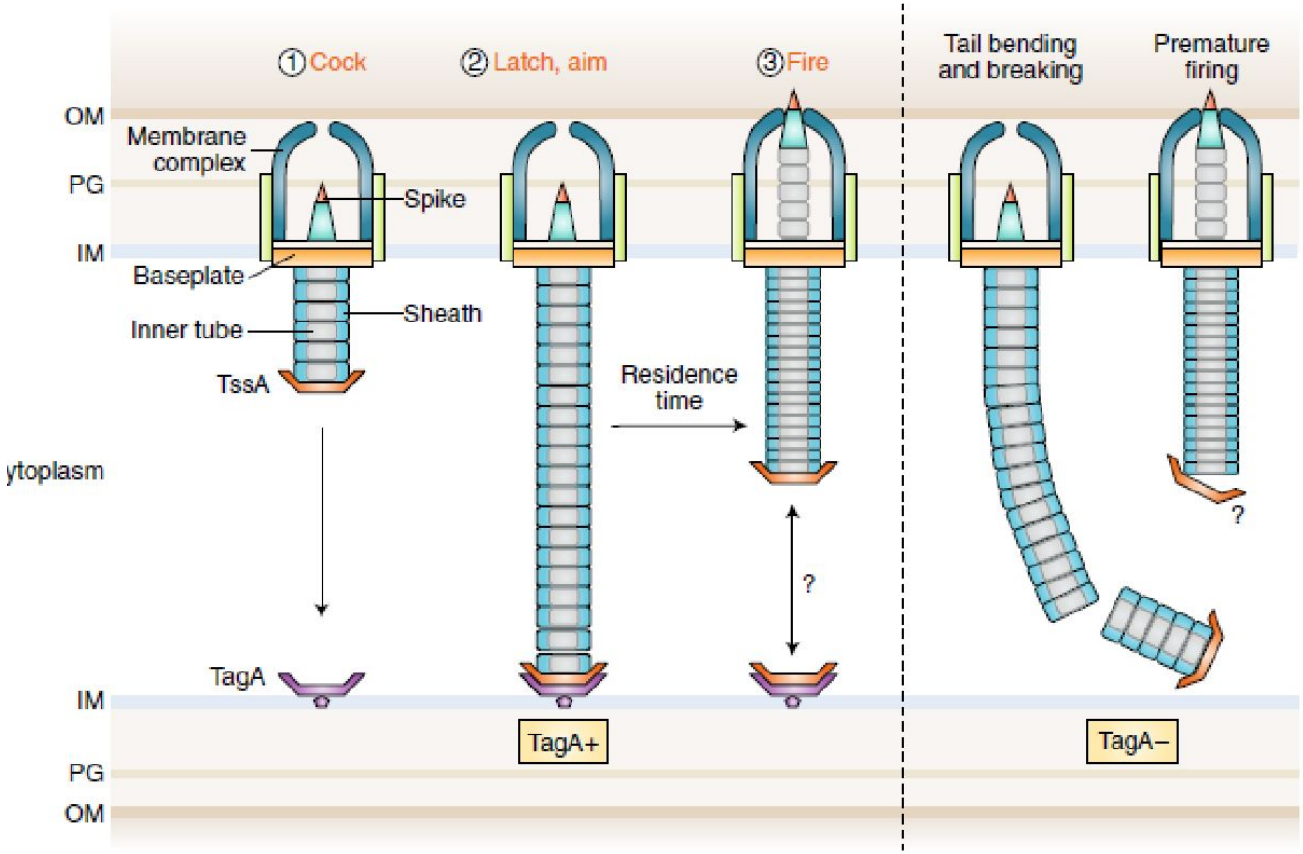
Molecular architecture of the **Legionella** Dot/Icm T4SS



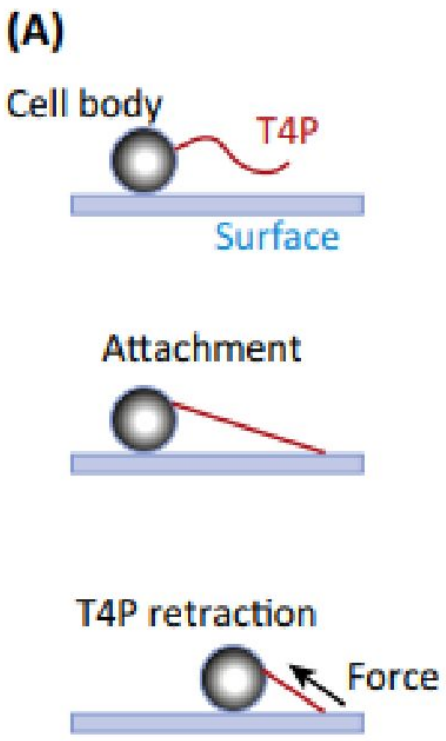
A model for **type VI** secrection system assembly and function

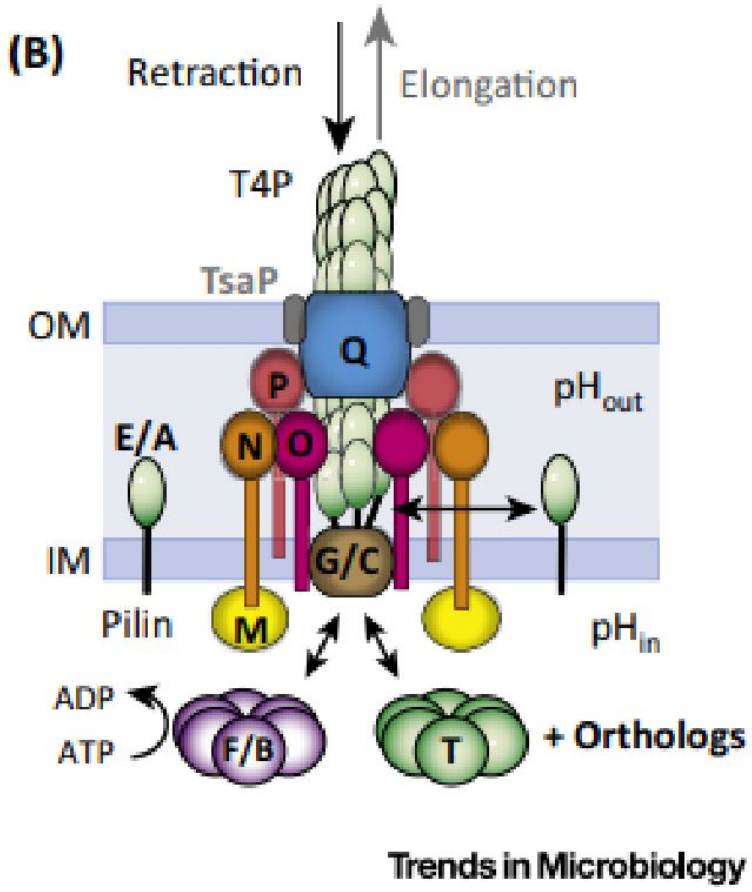


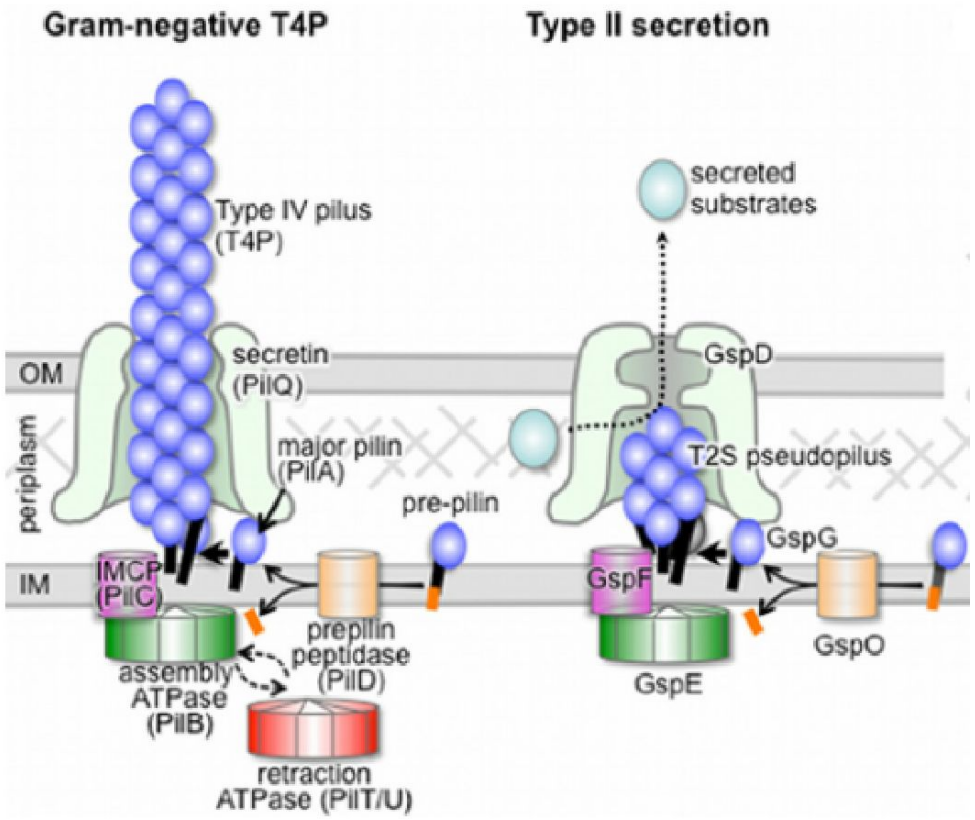
VgrG proteins assemble as trimers



Twitching motility







Twitching motility & secretion

Короткий фильм можно посмотреть здесь
https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213926.s001

Belikov S, Belkova N, Butina T, Chernogor L, Martynova-Van Kley A, Nalian A, et al. (2019) Diversity and shifts of the bacterial community associated with Baikal sponge mass mortalities. PLoS ONE 14(3): e0213926. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213926

Таким образом, можно предположить, что гибель байкальских губок может быть обусловлена действием неизвестного автоиндуктора, который послужил триггером изменений.

Задачами исследования являются

идентификация индуктора (ов) и их сенсоров;

поиск ингибиторов индукции;

испытание действия ингибиторов на модельных системах