

# Epsilon kontra Zeta

URSZULA ZIELENKIEWICZ  
MICHAŁ DMOWSKI

Instytut Biochemii i Biofizyki, Warszawa  
Polska Akademia Nauk  
ulazet@ibb.waw.pl  
mdmowski@ibb.waw.pl

**Kodowane przez plazmidy bakterii trucizny systemów TA działają wewnątrz komórki, w której są produkowane, by ją zabić. Paradoksalnie, właśnie w ten sposób zapewniają noszącym plazmidy komórkom skuteczne trwanie w populacji**

Wiele organizmów produkuje trucizny – substancje działające niekorzystnie, a nawet fatalnie na inne organizmy. Odczuwamy to boleśnie, zapadając na różne choroby, podczas zakażeń pokarmowych, infekcji ran czy przyglądając się bezradnie wędnięciu ulubionej rośliny. Powszechnie znane są jady zwierząt, trucizny roślinne, czynniki chorobotwórcze bakterii. Wszystkie te trucizny są produkowane przez dany organizm, żeby zwalczać inny.

Niezwykłym przypadkiem są trucizny tzw. systemów toksyna-antytoksyna (TA, toxin-antitoxin systems) u bak-

terii. Systemy TA są często kodowane przez duże niskokopiowe plazmidy, czyli występujące u wielu bakterii dodatkowe (poza chromosomem) autonomiczne cząsteczki niosące informację genetyczną. Niektóre plazmidy nadają komórkom gospodarza korzystne cechy (np. oporność na antybiotyki), czasem wręcz niezbędne do ich przeżycia. Trucizny systemów TA nie są wydzielane na zewnątrz, lecz działają wewnątrz komórki, w której są produkowane w celu jej zabicia. Paradoksalnie, właśnie w ten sposób zapewniają plazmidom skuteczne trwanie w populacji. Podczas symetrycznego podziału komórki nieliczne cząsteczki plazmidu mogą znaleźć się w jednej tylko połowie, co oznacza, że tylko połowa potomstwa odziedziczy plazmid. Z czasem, po kilku generacjach, plazmid o niewielkiej liczbie kopii zniknąłby z populacji. Systemy TA skutecznie przeciwdziałają temu zjawisku.

## Zemsta z za grobu

System toksyna-antytoksyna to para ściśle dopasowanych białek trucizny i odtrutki kodowanych przez przyległe geny o wspólnie regulowanej ekspresji (operon). W zdecydowanej większości przypadków gen kodujący odtrutkę jest pierwszy w operonie i poprzedza gen kodujący truciznę. Taka organizacja sprawia, że ekspresji trucizny zawsze będzie towarzyszyć ekspresja odtrutki, co jest kluczowe dla przeżycia komórki niosącej plazmid.

Działanie systemów TA oparte jest na niskiej trwałości odtrutki i wysokiej stabilności toksyny. W sytuacji, w której komórka niesie plazmid kodujący układ TA, oba geny ulegają ekspresji i toksycznemu działaniu trucizny przeciwdziałają stale produkowana, chociaż szybko degradowana odtrutka, tworząc z nią nieaktywny kompleks. Tak też się dzieje w kolejnych pokoleniach, gdy plazmid jest dziedziczony przez komórki potomne. Gdy w wyniku podziału jedna z dwóch komórek potomnych nie odziedziczy plazmidu, jeszcze przez pewien czas będzie w niej obecny nieaktywny kompleks odtrutki i trucizny, mimo że oba składniki nie będą już produkowane. Odtrutka będzie jednak szybko degradowana przez specyficzne proteazy, dzięki czemu trucizna zostanie uwolniona z nieaktywnego kompleksu i będzie mogła zaatakować komórkę. To doprowadzi do śmierci komórki bezplazmidowej lub odwracalnego zatrzymania jej wzrostu. Ten efekt, obserwowany po tym, jak dojdzie do segregacji plazmidu, wyjaśnia, skąd bierze się druga nazwa tych systemów: „postsegregacyjne zabijanie komórek bezplazmidowych” (ang. postsegregational killing system, w skrócie PSK).



Norbert Odołczyk, IBB PAN

**Kompleks białek Epsilon/Zeta jest złożonym tetramerem Epsilon<sub>2</sub>-Zeta<sub>2</sub>. Rysunek pokazuje model wstążkowy kompleksu. W prawym górnym rogu przedstawiono powierzchnie białek dimeru Epsilon-Zeta**

Obrazowym określeniem dla układów toksyna-antytoksyna jest „zemsta z za grobu”. Tak naprawdę plazmid „zabija” komórkę, gdy jest już nieobecny. Choć to pozornie pozbawione sensu, jest w rzeczywistości bardzo przemyślaną strategią. W komórce bakterii dochodzi do starcia dwóch często przeciwstawnych interesów: plazmidu, którego celem jest skuteczne rozprzestrzenianie się, i gospodarza, który dąży do możliwie szybkiego wzrostu liczebności populacji, w którym plazmidy mogą, ale nie muszą być pomocne, gdyż stanowią dla komórki pewne obciążenie. Plazmid, zabijając komórki już go niezawierające, sprawia, iż te, które wciąż go noszą, mogą zdominować populację bakterii.

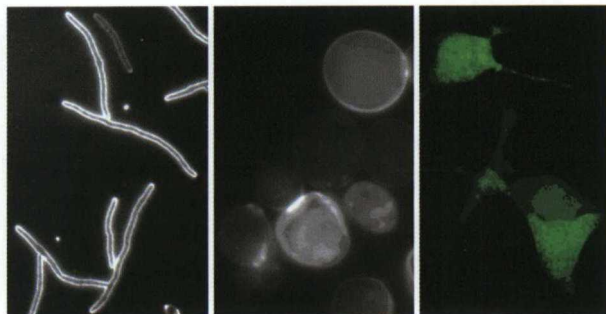
Szczegółowy opis powstawania kluczowego dla działania systemu TA kompleksu toksyny i antytoksyny można przedstawić na przykładzie badanych przez nas białek Zeta i Epsilon z plazmidu pSM19035 wyizolowanego ze szczepu patogenego paciorkowca *Streptococcus pyogenes*. Plazmid ten nadaje bakteriom oporność na antybiotyki z grupy makrolidów, m.in. erytromycynę. Mimo niskiej liczby kopii w komórce (5 na chromosom) stabilnie utrzymuje się w kolejnych generacjach. Za tę trwałość w dużej mierze odpowiada system toksyna-antytoksyna.

### Dobrana para

Strukturę krystaliczną kompleksu białek Epsilon/Zeta rozwiązano w pracowni prof. Saengera w 2003 roku. Kompleks składa się z dwóch połówek Epsilon-Zeta, w którym cząsteczki Epsilon są wsunięte pomiędzy dwa monomery Zeta. Monomer białka Epsilon (10,7 kDa) związa się w trzy helisy, a monomer białka Zeta (32,4 kDa) w sześć łańcuchów (tzw.  $\beta$ -kartek) otoczonych  $\alpha$ -helisami. Położone w jednej ze skrajnych (tzw. N-końcowej) części monomeru Zeta  $\alpha$ -helisy tworzą powierzchnię wgłębienia, do którego wiąże się helisa białka Epsilon. Zamknięcie tej powierzchni przez antydotum blokuje niezbędne do działania toksyny wiązanie ATP/GTP. W rezultacie białko Zeta w kompleksie z odtrutką Epsilon pozostaje nieaktywne. Tak więc utworzenie kompleksu pomiędzy białkami omawianego systemu zapobiega działaniu trucizny.

W porównaniu ze znanymi systemami TA badany przez nas system z plazmidu pSM19035 ma wiele cech wyjątkowych. Inaczej niż wszystkie jest operonem trzech genów: oprócz genów kodujących odtrutkę i truciznę (odpowiednio  $\epsilon$  i  $\zeta$ ) ma jeszcze gen regulatorowy  $\omega$  zaangażowany jednocześnie w inne aspekty funkcjonowania plazmidu. Białko trucizny Zeta jest niezwykle duże w porównaniu z innymi toksynami (287 aminokwasów vs. 100) i z wyjątkiem często spotykanego motywu wiązania nukleotydów nie wykazuje podobieństwa do żadnych znanych białek.

Badając funkcjonowanie systemu Epsilon/Zeta, zaobserwowaliśmy, że może on działać również w komór-



Urszula Zielenkiewicz, Iwona Brzozowska, IBB PAN

**Możliwość eliminacji niepożądanych bakterii lub komórek rakowych sprawia, że systemy TA budzą duże zainteresowanie naukowców. Na zdjęciach od lewej: komórki bakterii, drożdży i HeLa poddane działaniu trucizny Zeta**

kach innych niż bakterie Gram-dodatnie, z których pochodzi plazmid pSM19035. Bakterie Gram-ujemne (pałeczki okrężnicy *Escherichia coli*) pod wpływem trucizny Zeta przestają rosnąć i tworzą wydłużone komórki z wieloma chromosomami wyraźnie niemogące się podzielić. Podobnie trucizna ta wprowadzona do komórek drożdży zmienia ich morfologię i zatrzymuje pączkowanie, a w dużym nadmiarze powoduje śmierć. Również komórki ludzkiej linii komórek nowotworowych zamierają pod wpływem toksycznego działania trucizny Zeta.

### Nadzieja w truciznie?

Geny systemu  $\omega$ - $\epsilon$ - $\zeta$  są rozpowszechnione wśród Gram-dodatnich bakterii patogennych, skutecznie przyczyniając się do utrzymywania się populacji tych mikroorganizmów opornych na antybiotyki. Do tej pory nie udało się odkryć molekularnego mechanizmu działania toksyny Zeta. Zupełny brak podobieństwa przestrzennej struktury kompleksu tych białek do innych znanych struktur nie daje, niestety, wskazówek co do możliwych kierunków poszukiwań.

Obecnie wiadomo, że systemy TA występują powszechnie u wszystkich *Prokaryota*, nie tylko na plazmidach, ale również na chromosomach, często w wielokrotnych kopiach. Dla niektórych białek toksycznych wykazano *in vitro*, że są specyficznymi endorybonukleazami (enzymami tnącymi cząsteczki RNA), jednak ich rola w fizjologii bakterii pozostaje enigmatyczna.

Zarówno zasada działania systemów TA, jak i skuteczność samych toksyn spowodowały ogromne zainteresowanie tymi systemami jako narzędziem eliminacji niepożądanych komórek, nie tylko bakterii, lecz także komórek rakowych. ■

#### Chcesz wiedzieć więcej?

Zielenkiewicz U., Ceglowski P. (2005). The toxin-antitoxin system of the streptococcal plasmid pSM19035. *J. Bacteriol.*, 187, 6094-6105.

Magnuson R.D. (2007). Hypothetical functions of toxin-antitoxin systems. *J. Bacteriol.*, 189, 6089-6092.