

# La vita sociale dei batteri

Considerati microrganismi solitari fino a pochi anni fa, i batteri stanno rivelando complessi sistemi di comunicazione

di **Cristina Valsecchi**

**F**ino alla fine degli anni ottanta, i batteri non godevano di una grande reputazione. Gli esperti li consideravano cellule solitarie, intente solo a nutrirsi e replicarsi, incapaci di comunicare e interagire tra loro. Negli ultimi 15 anni, però, una serie di scoperte inaspettate ha rivelato una realtà completamente diversa: tutt'altro che organismi primitivi, i batteri dialogano tra loro per mezzo di un sofisticato linguaggio chimico, nell'ambito della stessa specie e, a volte, tra specie diverse. Elaborano strategie di gruppo per far fronte a situazioni critiche come un ambiente ostile, la scarsità di risorse, la concorrenza di altri microrganismi o, nel caso dei batteri patogeni, per attaccare in modo più efficiente l'organismo ospite neutralizzando le sue difese immunitarie.

«Il loro alfabeto è composto da piccole molecole-segnale – spiega Vittorio Venturi, coordinatore del gruppo di batteriologia dell'International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB) di Trieste – prodotte all'interno della cellula e liberate nell'ambiente circostante attraverso la membrana. Al crescere della densità dei batteri nell'ambiente, la concentrazione delle molecole-segnale aumenta. Ciascun batterio della stessa specie o di specie in grado di comunicare è dotato di una sorta di interruttore, una proteina che si attiva quando la concentrazione del segnale chimico supera una certa soglia e induce o silenzia l'espressione di uno o più geni. Questo meccanismo, che permette ai batteri di percepire la presenza dei loro simili e di valutarne la densità, prende il nome di *quorum sensing*.»

A seconda delle specie e delle condizioni ambientali, il *quorum sensing* regola le più disparate funzioni dei batteri: dallo scambio di materiale genetico sotto forma di plasmidi, piccole molecole di DNA autoreplicanti a forma di anello, alla mobilità delle cellule; dalla formazione di biofilm, complesse colonie stratificate di microrganismi, alla produzione dei fattori di virulenza, un arsenale di sostanze tossiche che degradano i tessuti dell'organismo ospite.

## Strategie di attacco

«Un esempio che chiarisce l'importanza di studiare la comunicazione e le strategie di gruppo dei batteri è quello di *Pseudomonas aeruginosa* e *Burkholderia cepacia*, microrganismi opportunisti che colonizzano i tessuti polmonari dei pazienti affetti da fibrosi cistica – dice Venturi – I batteri delle due specie comunicano e cooperano tra loro. Non manifestano virulenza nei confronti dell'ospite prima di aver raggiunto una determinata densità. Formano un biofilm, una colonia mista resistente ai farmaci, estremamente difficile da eradicare. Solo a questo punto sferrano il loro attacco contro i tessuti polmonari con la secrezione di enzimi proteolitici e tossine che provocano danni estesi e gravi.»

Altri esempi vengono dal mondo vegetale. «Il batterio *Erwinia carotovora* colonizza le foglie del tabacco e secerne enzimi che ne provocano la macerazione», spiega Venturi, «ma solo quando la densità dei microrganismi supera una certa soglia. Per studiare il rapporto tra il *quorum sensing* e la macerazione delle foglie sono state messe a punto varietà transgeniche di tabacco che degradano le molecole usate dai batteri per comunicare. In mancanza del segnale che avverte i microrganismi della presenza dei loro simili, *Erwinia carotovora* non manifesta virulenza nei confronti della pianta ospite e le foglie del tabacco transgenico non vengono distrutte neppure quando sono interamente colonizzate dal batterio.»

*Burkholderia cepacia* non attacca solo l'uomo. Come dice il nome (in latino *cepa* vuol dire cipolla) è un noto patogeno della cipolla. «Attualmente, nei nostri laboratori di Trieste, stiamo studiando gli effetti sulla cipolla di ceppi mutati di *Burkholderia cepacia*, privi dei geni responsabili della produzione delle molecole-segnale», dice il microbiologo.

## Una scoperta illuminante

La storia della scoperta del *quorum sensing* ha inizio nel 1968, con la pubblicazione sulla rivista americana «*Journal of Bacteriology*» di uno studio condotto su *Vibrio fischeri*, un batterio marino luminescente, che vive in simbiosi con alcune specie di calamari.

Nell'acqua marina, dove è presente in bassa concentrazione (dell'ordine di un centinaio di cellule per millilitro), *Vibrio fischeri* non emette luce. All'interno degli organi luminescenti dei calamari, invece, il batterio raggiunge una concentrazione di



MOLTE SPECIE DI BATTERI FORMANO BIOFILM [qui sopra, in un'immagine artistica], strutture stratificate che nel caso di batteri patogeni manifestano una notevole resistenza ai farmaci. Sotto, una colonia di *Pseudomonas aeruginosa*, che crea biofilm «misti» con la specie *Burkholderia cepacia* provocando infezioni del tratto respiratorio.



## IN CALIFORNIA INSEGNANO AI BATTERI A PARLARE NUOVE LINGUE

**S**tudiare il linguaggio chimico usato dai batteri non è che il primo passo. Un gruppo di ricercatori dell'Università della California a Los Angeles ha «insegnato» a un ceppo di *Escherichia coli* a comunicare servendosi di un nuovo messaggero, l'acetato, una sostanza prodotta normalmente dal batterio come scarto metabolico.

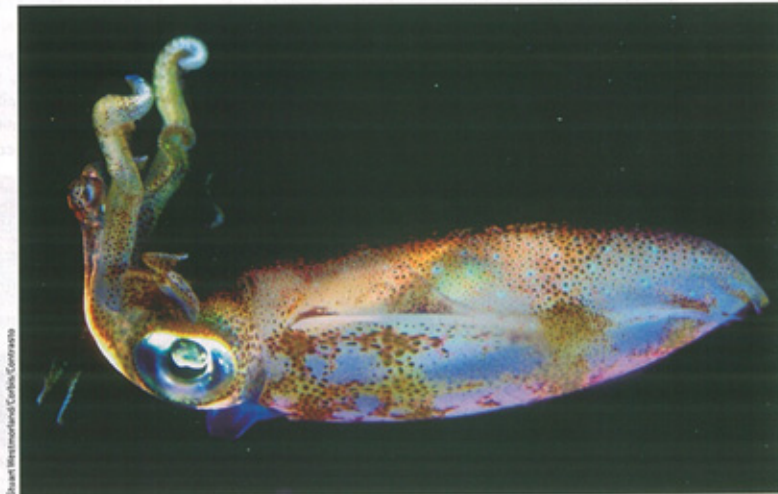
James Liao e i suoi colleghi hanno descritto l'esperimento pochi mesi fa sulle pagine dei «Proceedings of the National Academy of Sciences». Hanno introdotto nel DNA di un ceppo di *Escherichia coli* un modulo formato da geni controllori che, a contatto con l'acetato, attivano la produzione di proteine bioluminescenti.

Il batterio così manipolato emette luce quando percepisce la presenza di altri batteri della stessa specie. Modificando il grado di acidità della soluzione in cui vengono coltivati i microrganismi, varia la soglia di risposta del sistema. Se l'ambiente è acido, è sufficiente la presenza di poche cellule di *Escherichia coli* per indurre la luminescenza. Se invece l'ambiente ha un basso grado di acidità, occorre una densità maggiore di batteri per indurre la reazione.

Microrganismi mutanti come l'*Escherichia coli* di James Liao potrebbero essere utilizzati come cavalli di Troia. Basterebbe collegare l'interruttore molecolare che riconosce l'acetato a un gene che sintetizza una tossina e introdurre i batteri mutanti in una colonia di *E. coli* naturale. In presenza di un'elevata concentrazione di batteri, il microrganismo manipolato si attiverebbe uccidendo gli altri.

Il risultato dei ricercatori californiani è un passo avanti sulla strada della biologia sintetica, un settore di studio che si propone di programmare la fisiologia e il comportamento di cellule e microrganismi introducendo nuovi geni nel loro DNA e alterando i loro processi metabolici. Finora, gli esperimenti effettuati riguardavano singoli batteri. La comprensione dei meccanismi di quorum sensing e del sistema di comunicazione tra cellule consente il controllo di fenomeni più complessi.

In futuro i batteri manipolati potrebbero reagire a una serie di stimoli non necessariamente chimici, per esempio a variazioni della temperatura ambientale, al contatto fisico, alla luce o alla densità del mezzo di coltura, comportandosi di fatto come sensori biologici e microscopici robot programmabili.



**NELL'ACQUA MARINA**, dove si trova in bassa concentrazione, il batterio *Vibrio fischeri* non emette luce. All'interno dell'organismo di alcuni calamari, invece, raggiunge una concentrazione estremamente elevata, conferendo all'animale la tipica bioluminescenza.

millardi di cellule per millilitro d'acqua e si accende di una luce blu-verdastra.

«Kempner e Hanson, i due autori dello studio, spiegavano il fenomeno ipotizzando l'esistenza di un inibitore, una particolare sostanza presente nel liquido di coltura dei batteri che avrebbe in qualche modo bloccato la produzione delle proteine luminescenti», spiega George Salmond, professore di microbiologia molecolare del Dipartimento di biochimica dell'Università di Cambridge. «Superata una certa soglia di densità, i batteri avrebbero metabolizzato e rimosso l'inibitore, attivando la luminescenza.»

Negli anni successivi, ulteriori esperimenti hanno rivelato che la luminescenza viene indotta non dalla rimozione di un inibitore, ma dalla concentrazione di un attivatore. Nel 1981, il chi-

«**S**tudiamo i batteri da tanto tempo, eppure solo negli ultimi anni ci siamo resi conto del loro complesso comportamento sociale», dice Roberto Kolter, professore di microbiologia e genetica molecolare della Harvard Medical School di Boston. «La ragione sta nel fatto che in laboratorio, coltivati in provetta in un ambiente favorevole, ricco di sostanze nutritive, i batteri si comportano come cellule isolate e indipendenti, non hanno alcun motivo di interagire. È in condizioni difficili che i microrganismi si aggregano, comunicano e fanno fronte comune per assicurare la propria sopravvivenza e riproduzione.»

Kolter e i suoi colleghi sono tra i massimi esperti al mondo di biofilm, colonie di batteri e funghi dotate di un grado di organizzazione a volte estremamente complesso. «In natura, i batteri e i funghi formano biofilm su qualunque superficie: sulle rocce, sulla corteccia degli alberi, sul fondale marino, sulla superficie stagnante dell'acqua, sulla nostra pelle, sullo smalto dei nostri denti e persino sui tessuti che rivestono i nostri organi interni», spiega il microbiologo. «La maggior parte degli agenti patogeni dell'uomo forma biofilm nell'organismo degli ospiti infettati e questa forma di organizzazione offre ai microrganismi una maggiore resistenza all'attacco degli antibiotici e delle difese immunitarie.»

Alcune caratteristiche generali sono comuni a tutti i biofilm. I microrganismi, per esempio, sono ancorati a una sorta di matrice extracellulare formata dai prodotti di scarto del metabolismo dei componenti della colonia e dai resti delle

cellule morte. I «condomini» del biofilm comunicano, e lo scambio di informazioni chimiche induce l'attivazione e la disattivazione di geni nel DNA di ciascuno di loro. «Abbiamo individuato geni che si attivano solo nei batteri che fanno parte di un biofilm – spiega Kolter – e altri che si spengono quando l'organismo entra a far parte di una colonia stabile e strutturata, per esempio i geni responsabili della mobilità dell'organismo nell'acqua. Se vive in una struttura stabile, ancorato su una superficie fissa, il batterio non ha alcun bisogno di nuotare.»

Nei biofilm, i microrganismi unicellulari subiscono trasformazioni che li portano a specializzarsi. La colonia assume le caratteristiche di un organismo pluricellulare. «Prendiamo, per esempio, il caso di *Bacillus subtilis*», prosegue lo scienziato. «Quando l'ambiente è ricco di sostanze nutritive, i batteri vivono come cellule isolate e indipendenti e ognuno produce le spore necessarie per la riproduzione. Se le risorse alimentari scarseggiano, i batteri si raccolgono a formare un biofilm, e soltanto alcune cellule, poste alle estremità della colonia, si specializzano nella produzione di spore, assumendo la funzione di corpi fruttiferi. La specializzazione ha un ruolo importante anche nello sviluppo della resistenza agli antibiotici: i batteri che formano lo strato superiore in un biofilm sono i primi a essere raggiunti dai farmaci. Con opportuni messaggeri chimici, avvertono gli strati sottostanti di microrganismi che hanno il tempo di attivare le difese molecolari sulle membrane cellulari per respingere l'attacco.»

**A** VOLTE PATOGENO PER L'UOMO, in cui può provocare infezioni agli occhi come pantoftalmia e iridociclite, il batterio *Bacillus subtilis* è in grado di formare colonie in cui diverse popolazioni hanno funzioni specializzate, come in un organismo pluricellulare.



**STRATEGIE DI MASSA.** Il batterio *Erwinia carotovora* (qui sotto) colonizza le foglie del tabacco e secerne enzimi che ne provocano la macerazione, ma la sua azione si esercita solo quando la densità dei microrganismi supera una certa soglia.



Denson University/USDA Cooperative Extension/Steve Sorensen



Andreas Sgarbi/SPS/Carica Net

mico statunitense di origine turca Anatol Eberhard, dell'Ithaca College di Ithaca, nello Stato di New York, ha isolato e caratterizzato l'attivatore, una piccola molecola della famiglia dei lattoni, costituita da una struttura ciclica legata a una catena. È stato così formulato il primo modello di funzionamento del meccanismo di quorum sensing: la molecola-segnale, raggiunta una determinata concentrazione, agisce su una proteina del batterio modificando la sua struttura, e la proteina così attivata induce la trascrizione dei geni della bioluminescenza.

## Un fenomeno ampio

«Fino all'inizio degli anni novanta – prosegue Salmond – si è creduto che il quorum sensing fosse un fenomeno limitato ai microrganismi acquatici luminescenti. A quell'epoca, mentre mi trovavo all'Università di Warwick, ho avviato una collaborazione con Barrie Bycroft e Paul Williams dell'Università di Nottingham per studiare *Erwinia carotovora*. Questo batterio produce piccole quantità di un antibiotico che ha la funzione di liberare il sito di infezione del batterio da microrganismi concorrenti. Abbiamo osservato che alcuni ceppi mutati, incapaci di produrre antibiotico, ne diventano capaci nel momento in cui vengono posti nello stesso mezzo di coltura dei ceppi produttori di antibiotico. Il secondo gruppo di microrganismi libera nel liquido di coltura una molecola-segnale che attiva la sintesi dell'antibiotico nei batteri del primo gruppo. Abbiamo isolato la molecola in questione, che è risultata analoga a quella usata da *Vibrio fischeri* per attivare la bioluminescenza.»

Le ricerche di Salmond e colleghi hanno aperto la strada a un campo inesplorato e vastissimo. Di lì a poco, un altro gruppo ha

## PER APPROFONDIRE

KEMPNER E. S. e HANSON F. E., *Aspects of light production by Photobacterium fischeri*, in «Journal of Bacteriology», Vol. 95, pp. 975-979, 1968.

WHITEHEAD N. A. e altri, *Quorum sensing in gram-negative bacteria*, in «FEMS Microbiology Review», Vol. 25, pp. 365-404, 2001.

CAMARA M. e altri, *Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk*, in «The Lancet Infectious Diseases», Vol. 2, pp. 667-676, 2002.

BULTER T. e altri, *Design of artificial cell-cell communication using gene and metabolic networks*, in «Proceedings of the National Academy of Sciences», Vol. 101, pp. 2299-2304, 2004.

scoperto che *Pseudomonas aeruginosa* usa lo stesso meccanismo di comunicazione per modulare la virulenza nei confronti del suo ospite e si serve di molecole-segnale distinte per attivare diverse tossine.

«Oggi sappiamo che il quorum sensing è un meccanismo ampiamente diffuso tra i batteri – aggiunge Vittorio Venturi – e molte specie producono più di un segnale per regolare diverse funzioni. Il gruppo di molecole-segnale più conosciuto è quello che appartiene alla famiglia dei lattoni. Tutte comprendono una struttura ciclica e una coda di lunghezza e composizione variabile. Il loro funzionamento è estremamente elegante. La produzione del messaggio e la sua ricezione coinvolgono due sole proteine batteriche: una sintetizza il messaggero, una lo capta e attiva la trascrizione di un gene.»

Numerosi batteri patogeni dell'uomo si servono di segnali chimici della famiglia dei lattoni. Oltre a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Burkholderia cepacia*, anche *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* e *Yersinia pseudotuberculosis*, che modulano in questo modo la mobilità, la formazione di biofilm e la virulenza. Altri patogeni umani, come *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae* ed *Enterococcus faecalis* usano molecole diverse.

«Attraverso lo studio del quorum sensing speriamo di individuare nuovi bersagli da colpire nella lotta contro i batteri patogeni – spiega Venturi – un'esigenza che è sempre più sentita, vista la diffusione di ceppi batterici resistenti ai tradizionali antibiotici. Ostacolando il dialogo tra microrganismi potremmo impedire la formazione dei biofilm, che rappresentano uno dei meccanismi di difesa dei batteri nei confronti dei farmaci, oppure inibire la loro virulenza e ridurre la loro pericolosità per la salute umana.»