

ΕΙΔΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

## ΔΙΑΛΕΞΗ 8

# ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΝΕΣ

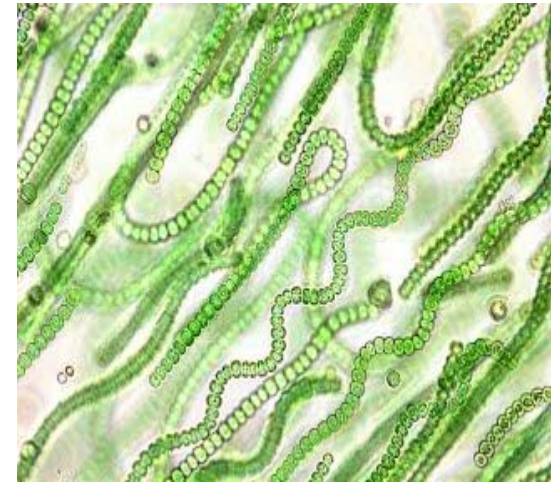
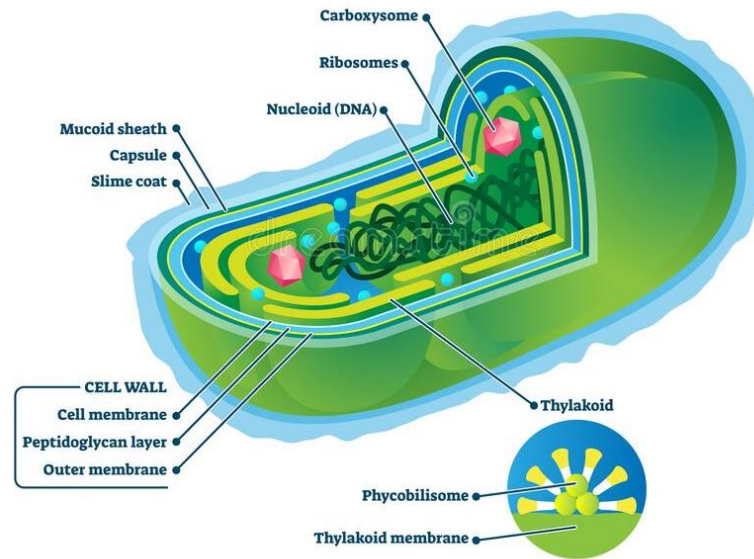
---

ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

ΔΙΔΑΣΚΟΥΣΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ

# Κυανοβακτήρια

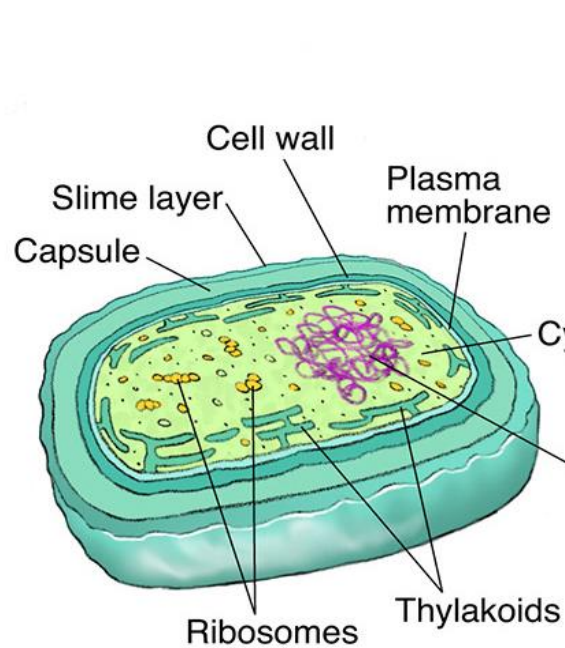
- ❑ Τα προκαρυωτικά **κυανοβακτήρια** αποτελούν τους πιο αρχέγονους φωτοσυνθετικούς οργανισμούς στη γη
- ❑ Αποτελούν μια ποικιλόμορφη ομάδα βακτηρίων που περιλαμβάνει μονοκύτταρα κυανοβακτήρια του πικο-φυτοπλαγκτόν (με μέγεθος από 0,2 μέχρι 2  $\mu\text{m}$ ), όπως και αποικιακές και νηματοειδείς μορφές



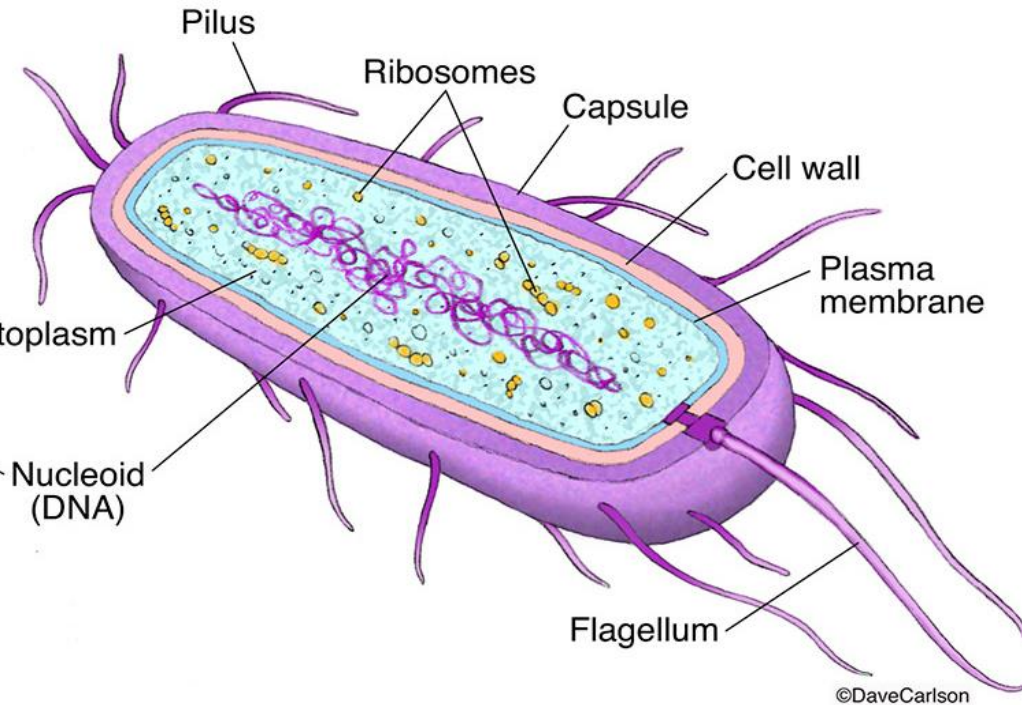
# Κυανοβακτήρια

- Σε αντίθεση με τα ευκαρυωτικά μικροφύκη στερούνται πυρήνα και μεμβρανικών υποκυτταρικών οργανιδίων, ενώ διαθέτουν κυτταρικό τοίχωμα ανάλογο των βακτηρίων

## ΚΥΑΝΟΒΑΚΤΗΡΙΑ



## ΒΑΚΤΗΡΙΑ





# Κυανοβακτήρια

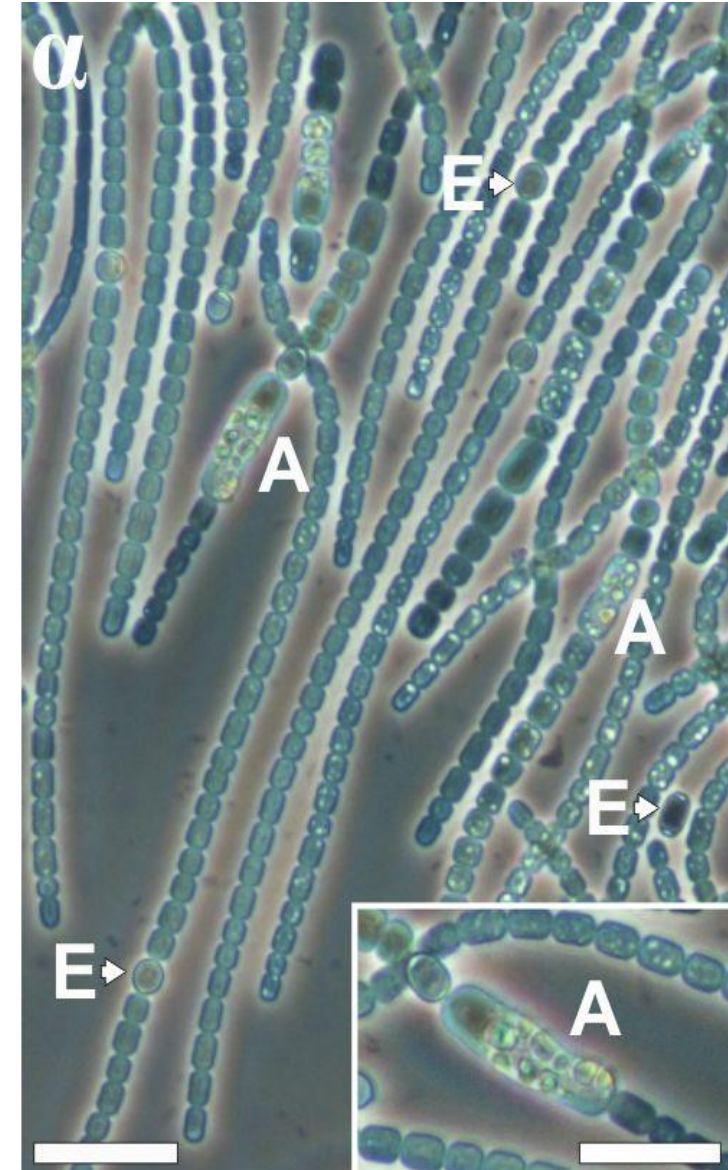
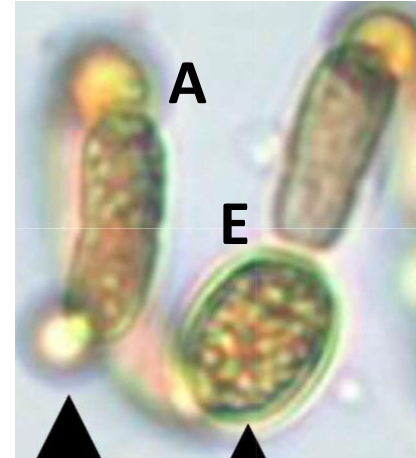
❑ Ορισμένα νηματοειδή κυανοβακτήρια παρουσιάζουν υψηλότερο επίπεδο κυτταρικής διαφοροποίησης και εκτός από τα βλαστικά τους κύτταρα σχηματίζουν, επίσης:

❑ **Ετεροκύτια ή ετεροκύστες (E):**

- Παχύ κυτταρικό τοίχωμα
- Παράγονται σε συνθήκες που το άζωτο αποτελεί περιοριστικό παράγοντα αύξησης - αζωτοδεσμευτικά

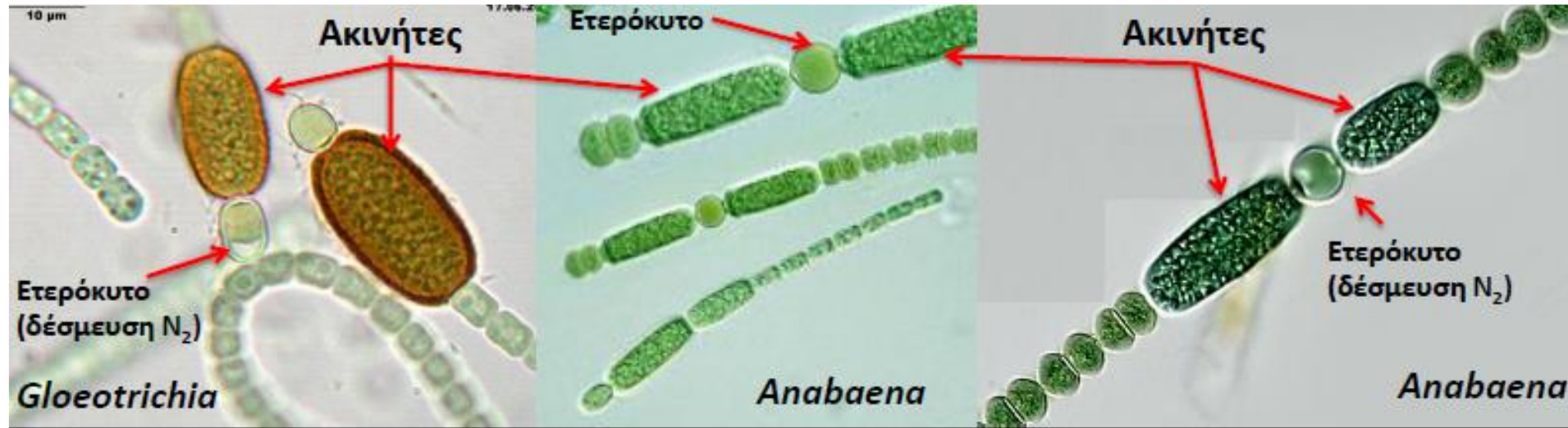
❑ **Ακινέτια (A):**

- Παχύ κυτταρικό τοίχωμα
- Θέσεις αποταμίευσης αζώτου
- Σχηματίζονται σε συνθήκες που περιορίζουν την αύξηση των κυανοβακτηριών (π.χ. ανεπάρκεια θρεπτικών όπως ο φώσφορος και ο άνθρακας)
- Όταν βρεθούν σε συνθήκες που ευνοούν την αύξηση των κυανοβακτηριών, βλαστάνουν



# Κυανοβακτήρια

## □ Ετεροκύτια και Ακινέτια



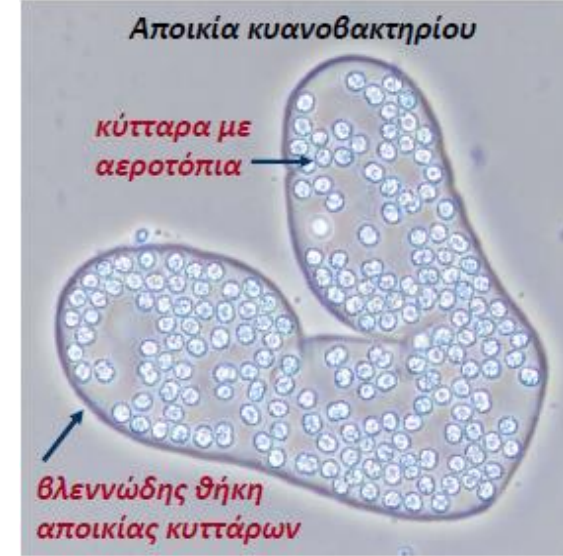
- Τα ακινέτια μπορούν να επιζήσουν του θανάτου του υπόλοιπου κυανοβακτηριακού νηματίου και να παραμείνουν θαμμένα στα ιζήματα μέχρι οι συνθήκες να ξαναγίνουν ευνοϊκές ώστε να ενεργοποιηθούν και να επαναβλαστήσουν σε νέο οργανισμό, δηλαδή σε ένα κανονικό βλαστικό κύτταρο που με διαδοχικές κυτταρικές διαιρέσεις θα ξανασηματίσει νέο κυανοβακτηριακό νημάτιο => Προσαρμογή σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες

# Κυανοβακτήρια

## ☐ Αεροτόπια

- Κυτταρικά έγκλειστα - Ομάδες κυστιδίων αέρα
- Δίνουν στα κυανοβακτήρια τη δυνατότητα να ρυθμίζουν την πλευστότητα τους

Τα πολυκύτταρα κυανοβακτήρια προκύπτουν από επαναλαμβανόμενες κυτταρικές διαιρέσεις που οδηγούν στο σχηματισμό αποικιών νηματοειδούς μορφής = **ΤΡΙΧΩΜΑΤΑ**



## ☐ Ορμογόνια

- Αποκομμένα τμήματα του τριχώματος
- Αποσπώνται με θραύση και κατόπιν πολλαπλασιασμού των κυττάρων του θραύσματος επιμυκνούνται δημιουργώντας νέο κυανοβακτηριακό νημάτιο

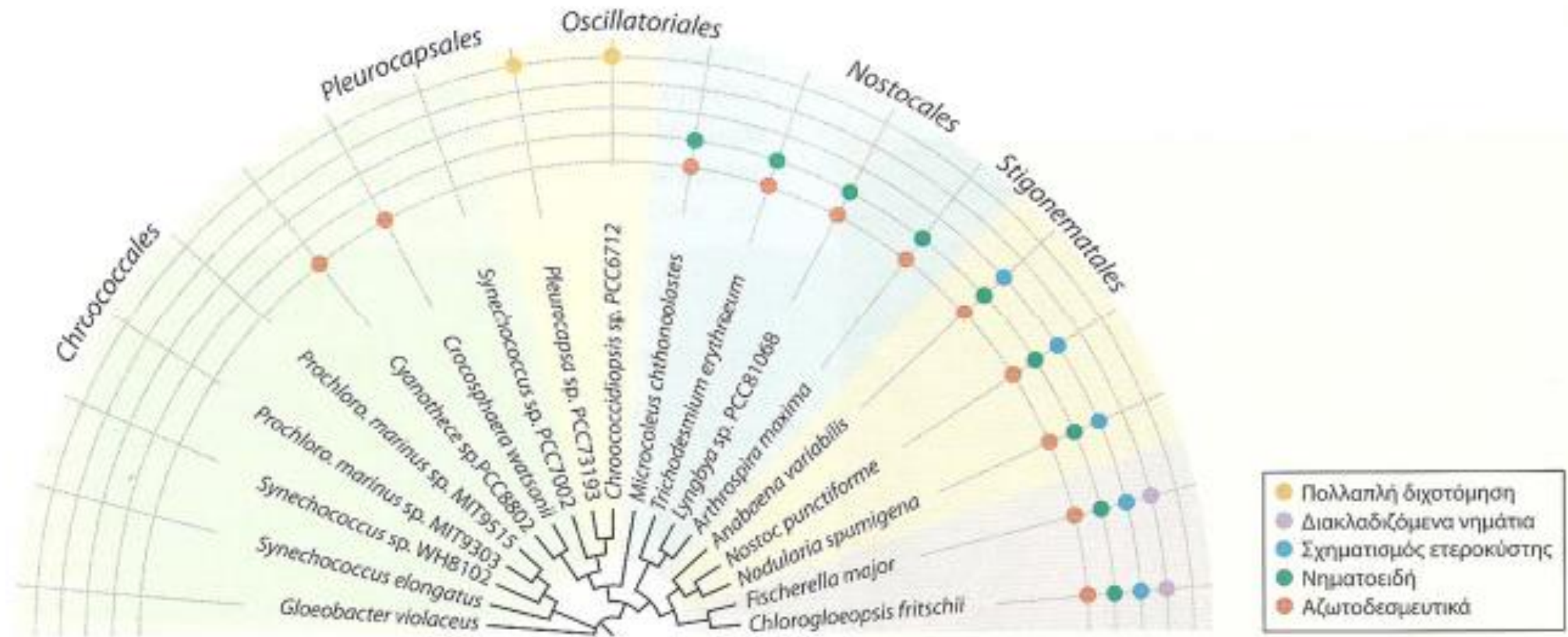
Αποσπώμενο ορμογόνιο





# Κυανοβακτήρια

- Φυλογενετική χαρτογράφηση κυανοβακτηρίων με χαρακτηριστικά ταξινομικής σημασίας



# Κυανοβακτήρια

Ταξινόμηση	Κύρια μορφολογικά χαρακτηριστικά, παρουσία στο περιβάλλον και τυπικά είδη
Τάξη: Chroococcales	Μονοκύτταρα κυανοβακτήρια, αναπαράγονται με διχοτόμηση, δημιουργούν αποικίες, ζουν σε υδάτινα περιβάλλοντα, τυπικά γένη είναι: <i>Microcystis</i> , <i>Synechocystis</i>
Τάξη: Pleurocapsales	Αναπαράγονται με μικρά, σφαιρικά κύτταρα, τα οποία προέρχονται από πολλαπλές διαιρέσεις των μητρικών κυττάρων, αναπτύσσονται σε υδάτινα περιβάλλοντα, τυπικό γένος: <i>Pleurocapsa</i>
Τάξη: Oscillatoriales	Νηματοειδή κυανοβακτήρια, χωρίς ειδικά κύτταρα, ζουν σε υδάτινα περιβάλλοντα, τυπικά γένη: <i>Oscillatoria</i> , <i>Planktothrix</i> , <i>Spirulin</i>
Τάξη: Nostocales	Νηματοειδή κυανοβακτήρια με ειδικά κύτταρα (ετεροκύτια και ακινέτια), δημιουργούν ορμογόνια, ζουν σε υδάτινα και χερσαία περιβάλλοντα, τυπικά γένη: <i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Nodularia</i>
Τάξη: Stigonematales	Νηματοειδή κυανοβακτήρια με ειδικά κύτταρα (ετεροκύτια και ακινέτια), δημιουργούν ορμογόνια, ζουν σε υδάτινα και χερσαία περιβάλλοντα, αλλά όχι ως πλαγκτόν, τυπικό γένος : <i>Fischerella</i>



# Κυανοβακτήρια

- Απαντώνται σε υδάτινα και εδαφικά οικοσυστήματα και επικρατούν σε ακραία περιβάλλοντα όπως οι υπερολιγοτροφικοί ωκεανοί και η ανώτερη επιφάνεια (κρούστα) του εδάφους σε ημί-άνυδρες περιοχές



# Κυανοβακτήρια

- ❑ Επικρατούν στην επιφάνεια συστημάτων γλυκών και υφάλμυρων υδάτων ιδιαίτερα τους καλοκαιρινούς μήνες και συμμετέχουν στον πολλαπλασιασμό – ανθίσεις τοξικών φυκών (algal blooms), λόγω ενός αριθμού προσαρμογών που τα καθιστά επικρατέστερα στις ανταγωνιστικές σχέσεις με τους υπόλοιπους φωτοσυνθετικούς μικροοργανισμούς που είναι προσαρμοσμένοι να ζουν αιωρούμενοι σε επιφανειακά ύδατα λιμνών, ποταμών και ωκεανών (φυτοπλαγκτόν)
- ❑ Μπορούν επίσης να σχηματίσουν πυκνά βενθικά χαλιά σε θαλάσσια ενδιαιτήματα και ενδιαιτήματα γλυκού νερού



Οι ανθρωπογενείς εισροές φωσφόρου και αζώτου στις φυσικές υδατοσυλλογές συνεισφέρουν στην αύξηση των τοξικών φυκών

# Κυανοβακτήρια

---

- ❑ Ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός-άνθιση των κυανοβακτηρίων αποτελεί ένα θέμα υψίστης σημασίας εξαιτίας των τοξινών που παράγουν – κυανοτοξίνες- οι οποίες απειλούν την υγεία των ανθρώπων και των ζώων



- ❑ Ο μαζικός πολλαπλασιασμός των τοξικών φυκών συνδέεται επίσης με σημαντικό οικονομικό κόστος σε παγκόσμια κλίμακα εξαιτίας της αναγκαιότητας για τη διαχείριση των φυκών και την απομάκρυνση των κυανοβακτηρίων, αλλά και με αρνητικές συνέπειες στη γεωργία και την αναψυχή



# Κυανοβακτήρια

## ☐ Γένη τοξικών κυανοβακτηρίων:

A. *Anabaena*

B. *Aphanizomenon*

Γ. *Cylindrospermopsis*

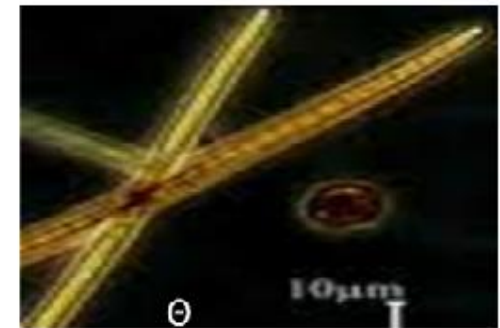
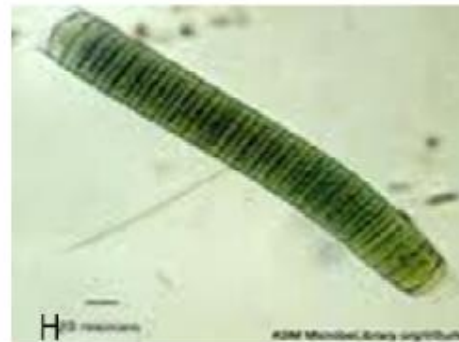
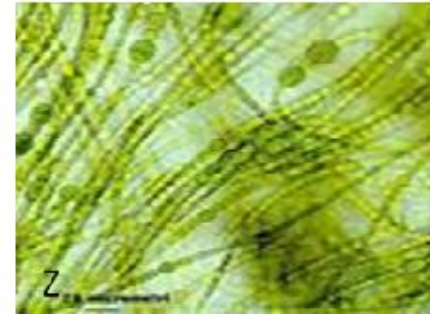
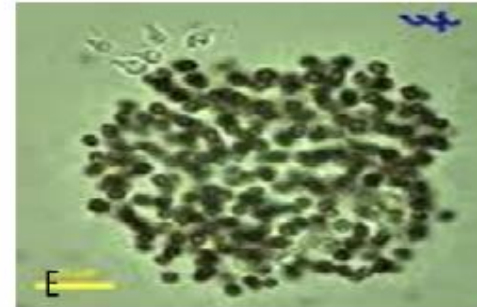
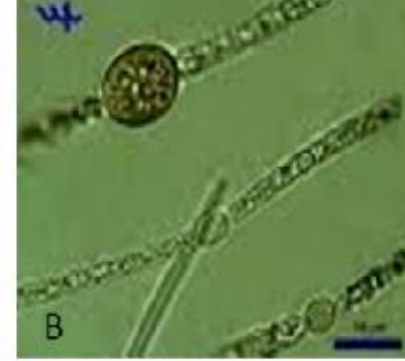
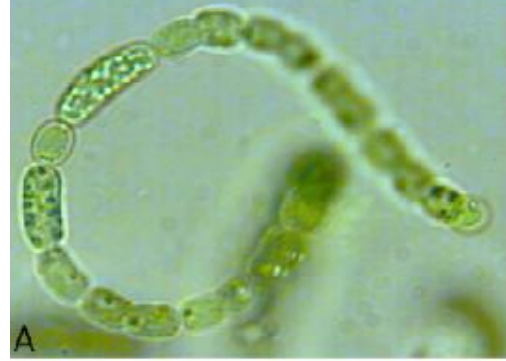
Δ. *Lyngbya*

E. ***Microcystis***

Z. *Nostoc*

H. *Oscillatoria*

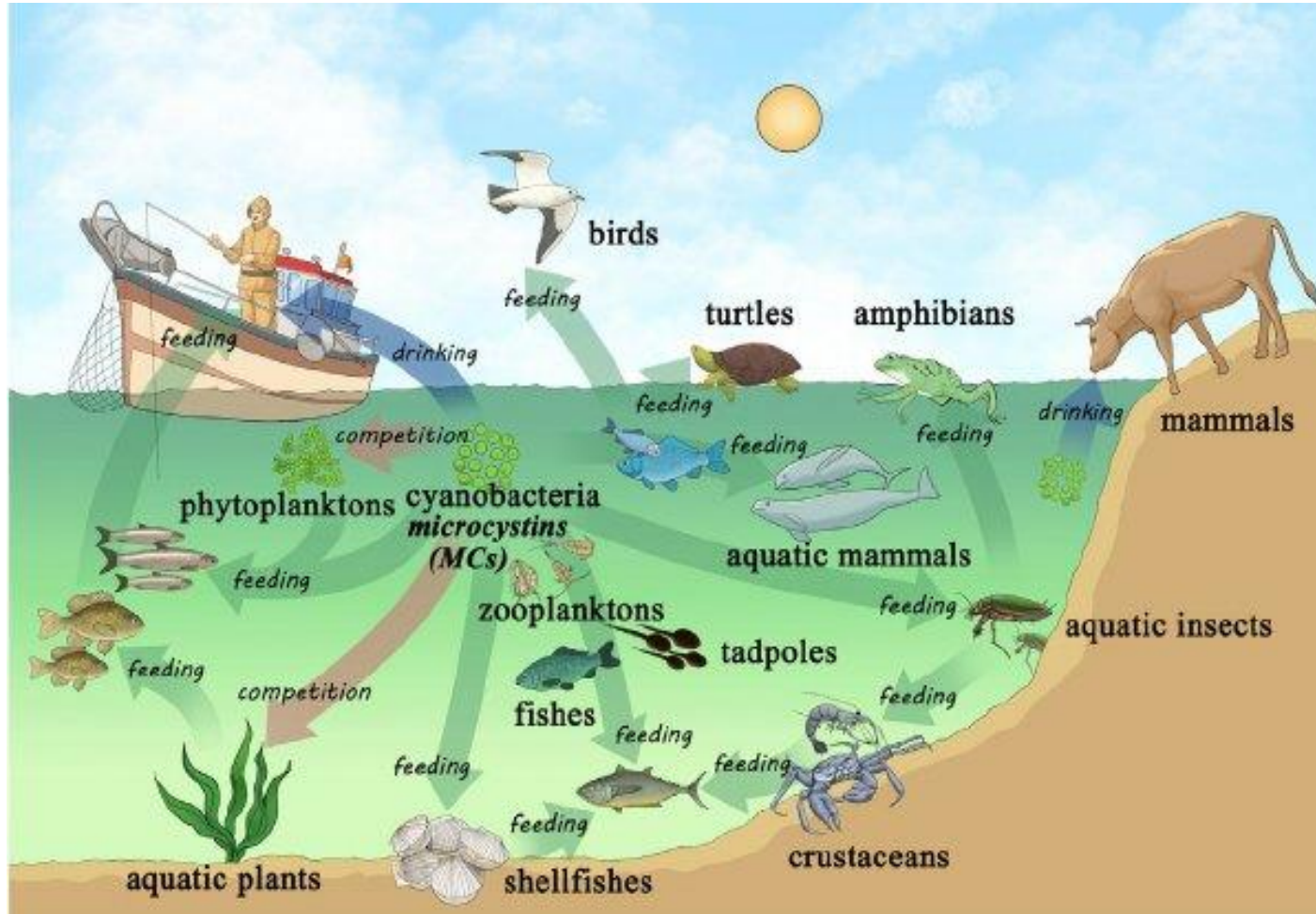
Θ. *Planktothrix*





# Κυανοβακτήρια και μικροκυστίνες

## ❑ Μικροκυστίνες στο υδάτινο περιβάλλον



- Τα κυανοβακτήρια ανταγωνίζονται με άλλα είδη του φυτοπλαγκτόν (άλγη=φύκη) και υδροχαρή φυτά και οι μικροκυστίνες που παράγονται και ελευθερώνονται στο νερό από τα τοξικά κυανοβακτήρια είναι επιβλαβείς για τους υπόλοιπους υδρόβιους οργανισμούς όπως το ζωοπλαγκτόν, τα οστρακοειδή, τα καρκινοειδή, τα ψάρια και τις χελώνες
- Οι μικροκυστίνες μπορούν επίσης να συσσωρευτούν στους υδρόβιους οργανισμούς και να μεταφερθούν σε υψηλότερα επίπεδα της τροφικής αλυσίδας
- Η παρουσία των μικροκυστινών στο πόσιμο νερό και στους υδρόβιους οργανισμούς μπορεί να αποτελέσει απειλή για την ανθρώπινη υγεία

# Κυανοτοξίνες

---

- ❑ Τοξικά και μη τοξικά στελέχη κυανοβακτηρίων συνυπάρχουν στην επιφάνεια των υδάτων, χωρίς να μπορεί να επιτευχθεί διαχωρισμός τους με μικροσκοπική παρατήρηση
- ❑ Σήμερα είναι δυνατόν να μελετήσουμε τη γενετική βάση αυτού του φαινομένου και να ανιχνεύσουμε-ταυτοποιήσουμε τους τοξικούς γενοτύπους
- ❑ **Χρήση τεχνικών για τη διευκρίνιση:**
  - Της ρύθμισης της παραγωγής των τοξινών
  - Των διαδικασιών απώλειας γονιδίων, που συνεισφέρουν στην ανομοιόμορφη κατανομή των γονιδίων που εμπλέκονται στην παραγωγή των τοξινών
  - Της κατανομής και της αφθονίας των γονιδίων που κωδικοποιούν την παραγωγή τους στο περιβάλλον

# Κυανοτοξίνες

---

- ❑ Εκτός από την ευρεία παραγωγή τους οι κυανοτοξίνες αποτελούν υψηλό ποσοστό της βιομάζας των κυανοβακτηρίων, π.χ. 0.1 - 0.2 μg μικροκυστινών ανά μg χλωροφύλλης a στο είδος *Microcystis aeruginosa* και είναι απίθανο η παραγωγή τόσο άφθονων προϊόντων να έχει διατηρηθεί εξελικτικά, παρά μόνο εάν οι κυανοτοξίνες επιτελούν βιολογικές λειτουργίες
  
- ❑ Ορισμένες πιθανές βιολογικές λειτουργίες των δευτερογενών μικροβιακών μεταβολιτών συμπεριλαμβανομένων των κυανοτοξινών, είναι:
  - Άμυνα ή αναχαίτιση έναντι της θήρευσης
  - Συμβιωτικές σχέσεις
  - Αλληλοπαθητική δράση
  - Ανεπιθύμητα προϊόντα απέκκρισης



# Κυανοτοξίνες

## ❑ Πιθανές βιολογικές λειτουργίες των των κυανοτοξινών

### ❑ Αλληλοπάθεια

❑ Στηρίζεται στην παραγωγή από τα κυανοβακτήρια κυανοτοξινών (και άλλων ποικίλων χημικών ουσιών όπως αντιβιοτικά και βακτηριοσίνες) οι οποίες επιδρούν αρνητικά στην αύξηση των άλλων ειδών είτε αυτά είναι ευκαρυωτικά φύκη είτε κυανοβακτήρια

- Κυανοβακτήρια του γένους *Synechococcus* και ευκαρυωτικά χλωροφύκη (πράσινα κύτταρα *Tetraselmis* και *Asteromonas*) και άλλα μικρότερα (άχρωμα) μη αναγνωρισμένα ευκαρυοφύκη
- Γύρω από τα κύτταρα *Synechococcus* (βέλη) δημιουργούνται κενές κυττάρων περιοχές πιθανώς λόγω τοπικής συγκέντρωσης κυανοτοξινών που παράγαν τα κυανοβακτήρια



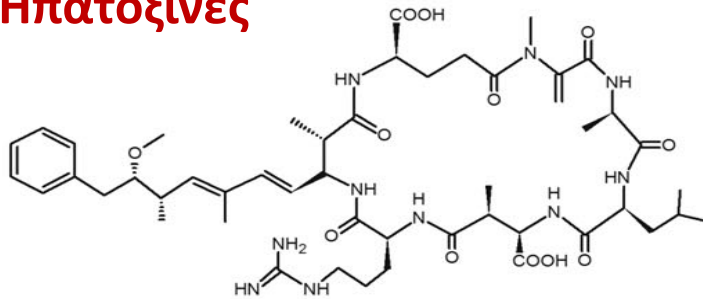
(φωτογρ. Γ. Χώτος, 2016)



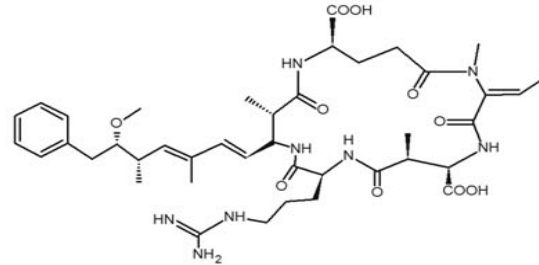
# Κυανοτοξίνες

- Οι κυανοτοξίνες κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τα συμπτώματα που προκαλούν στους ανθρώπους και τα σπονδυλωτά που προσβάλλουν

## Ηπατοξίνες

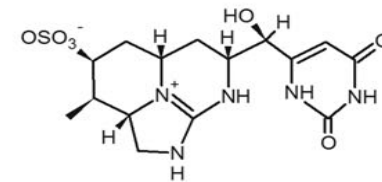


Microcystin-LR



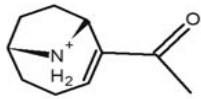
Nodularin

## Κυτοτοξίνες

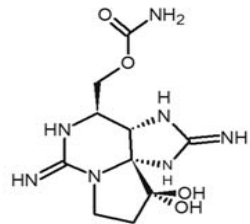


Cylindrospermopsin (7R)

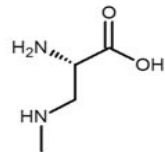
## Νευροτοξίνες



Anatoxin-a

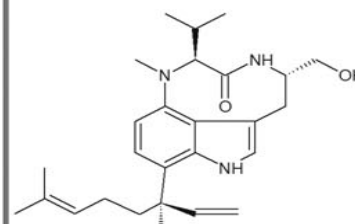


Saxitoxin

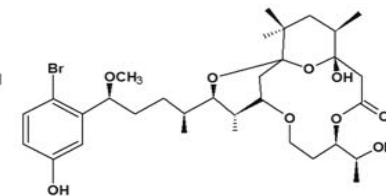


BMAA

## Δερματοξίνες



Lyngbyatoxin A



Aplysiatoxin

# Κυανοτοξίνες

---

## ❑ Συγκεντρώσεις των κυανοτοξινών σε επιφανειακά ύδατα

❑ Ορισμένες από τις υψηλότερες συγκεντρώσεις κυανοτοξινών που ανιχνεύτηκαν και ταυτοποιήθηκαν σε δείγματα από κυανοβακτηριακό ανθό μέσω HPLC, είναι:

- microcystin - 7,300  $\mu\text{g g}^{-1}$  dw – Κίνα και Πορτογαλλία,
- nodularin - 18,000  $\mu\text{g g}^{-1}$  dw - Βαλτική Θάλασσα
- cylindrospermopsin - 5,500  $\mu\text{g g}^{-1}$  dw - Αυστραλία
- anatoxin-a - 4,400  $\mu\text{g g}^{-1}$  dw -Φιλανδία
- saxitoxins - 3,400  $\mu\text{g g}^{-1}$  dw -Αυστραλία
- anatoxin-a(S) - 3,300  $\mu\text{g g}^{-1}$  dw –Η.Π.Α

# Κυανοτοξίνες

## ❑ Ανώτατα επιτρεπτά όρια

### ❑ Πόσιμο νερό

- 1 µg/L microcystin-LR

- 3 µg/L anatoxin-a

### ▪ Πράσινα-μπλε φύκη ως συμπληρώματα διατροφής

- 1 ppm microcystin

### ❑ Ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (Tolerable Daily Intake): 0.04 µg /kg/day

### ❑ Ύδατα που προορίζονται για δραστηριότητες αναψυχής όπως κολύμβηση:

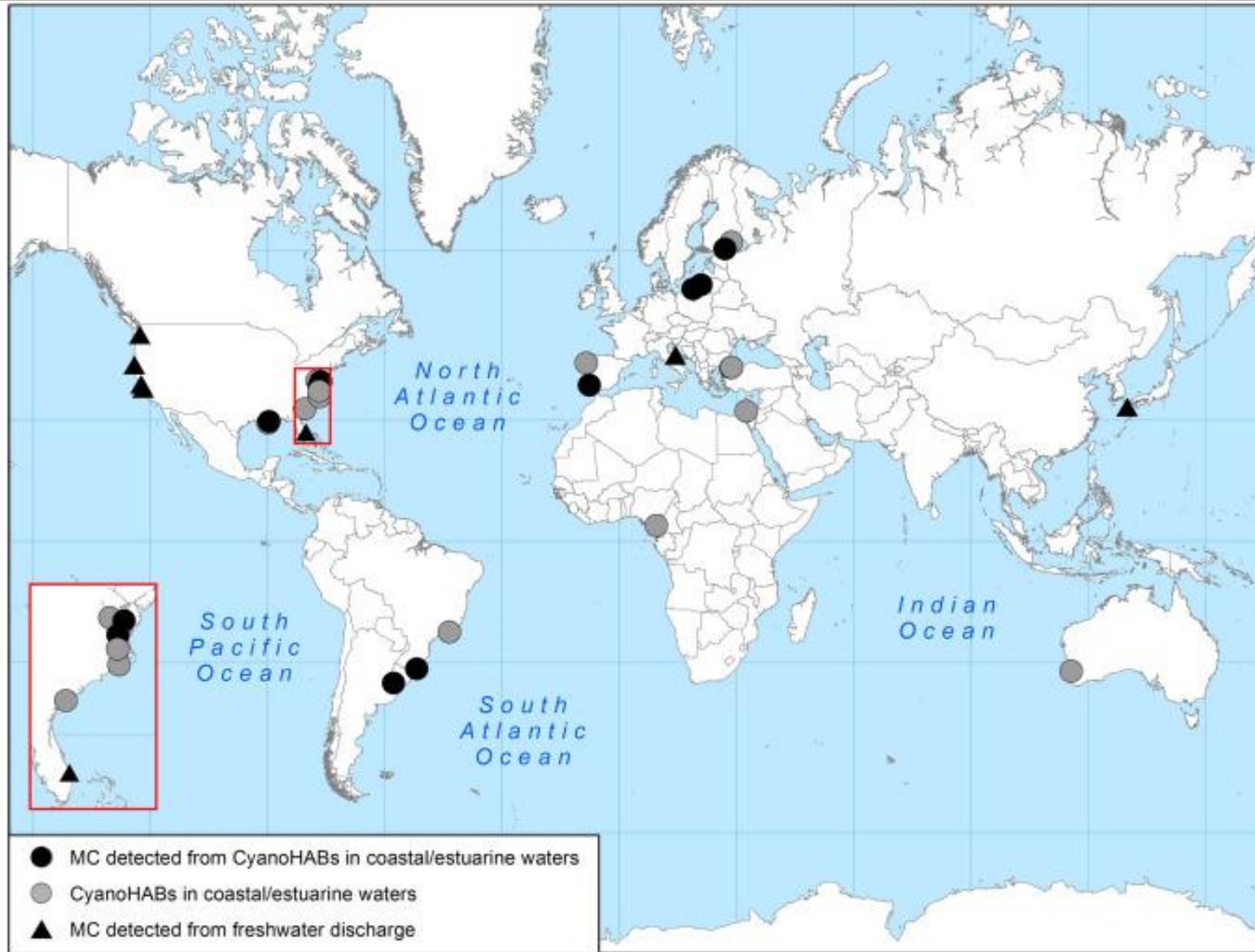
- Σχετικά χαμηλός κίνδυνος για ανεπιθύμητες επιδράσεις: 20,000 cells/ml -4 µg/L microcystin

- Μέση πιθανότητα για ανεπιθύμητες επιδράσεις: 100,000 cells/ml-20 µg/L microcystin

- Υψηλή πιθανότητα για ανεπιθύμητες επιδράσεις: scums



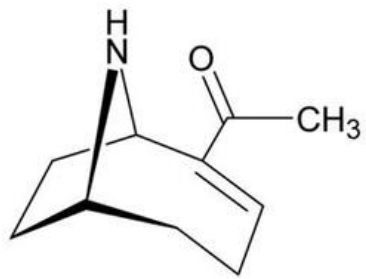
# Γεωγραφική κατανομή κυανοτοξινών - μικροκυστινών



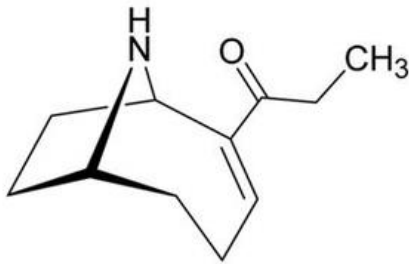


# Νευροτοξικές αλκαλοειδείς ενώσεις

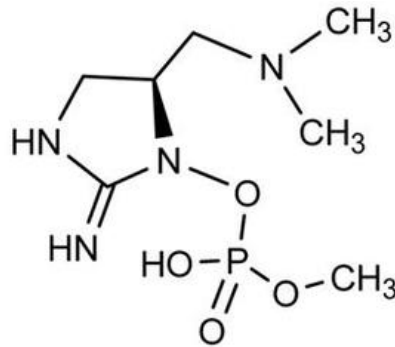
- Τρεις ομάδες κυανοβακτηριακών νευροτοξινών είναι γνωστές:
  - Ανατοξίνες (Ανατοξίνη-α και Ομοανατοξίνη-α, Ανατοξίνη-α (S))
  - Σαξιτοξίνες
  - β- μεθυλ-άμινο-αλανίνη (BMAA), θεωρείται ότι σχετίζεται με τη νόσο του Αλσχάιμερ



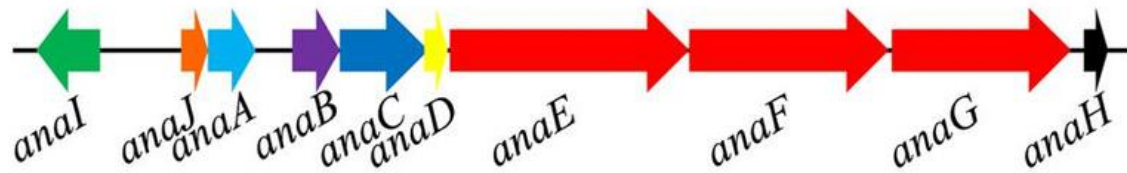
Anatoxin-a



Homoanatoxin-a



Anatoxin-a(s)



Anatoxin gene (*ana*) cluster

- Πρόσφατα καταγράφηκαν τα γονίδια βιοσύνθεσης της για το στέλεχος *Oscillatoria* PCC 6506
- Το σύνολο των γονιδίων αυτών οργανώνεται σε ένα σύμπλοκο γονιδίων

Πράσινο: πρωτεΐνη μεταφοράς (transporter)

Πορτοκαλί: κυκλάση

Γαλάζιο: Θειοεστεράση

Μωβ: οξειδάση

Μπλε: πρωτεΐνη αδενυλίωσης

Κίτρινο: πρωτεΐνη μεταφοράς ακυλομάδας

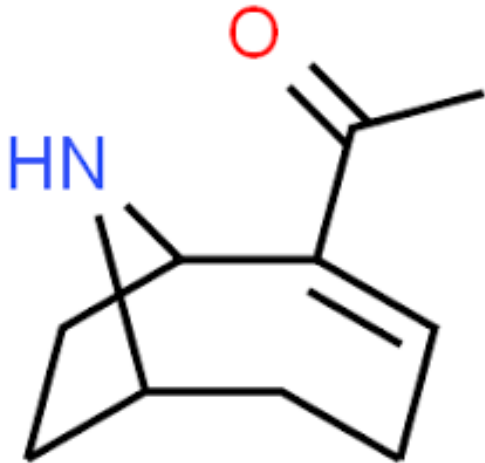
Κόκκινο: πολυκετιδική συνθάση

Μαύρο: τρανσποζάση

# Ανατοξίνη - α

- Έχει βρεθεί στα είδη των γενών *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Aphanizomenon*, *Rhaphidiopsis*

Ανατοξίνη-α



- Δικυκλική δευτεροταγής αμίνη της δομής 2-ακετυλο-9-αζαδικυκλο [4.2.1] νον-2-ένιο
- Απομονώθηκε το 1977 από το στέλεχος *Anabaena flos-aquae* NRC-44h

- Ισχυρή νευροτοξίνη
- Ισχυρός ανταγωνιστής του νικοτινικού υποδοχέα της ακετυλοχολίνης
- Μετά-συναπτικός παράγοντας νευρομυϊκού αποκλεισμού προκαλώντας θάνατο μέσω προοδευτικής αναπνευστικής παράλυσης

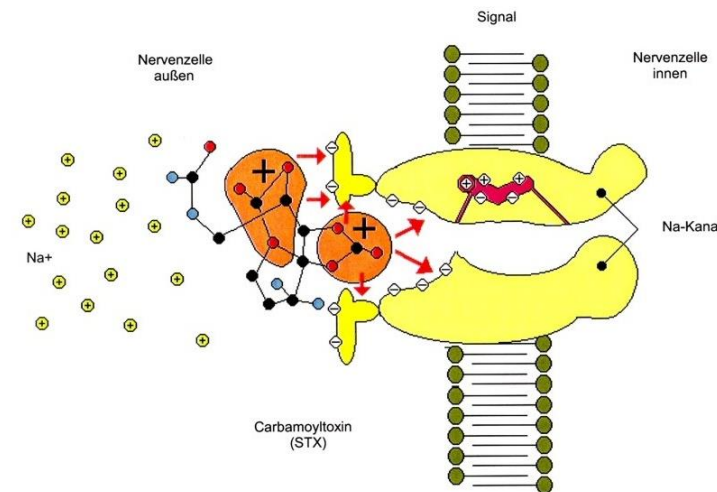
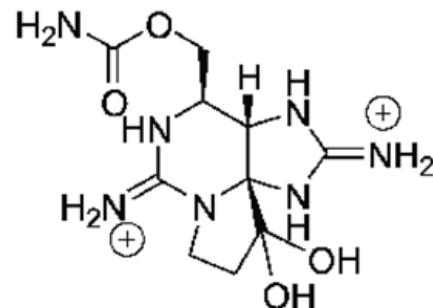
# Σαξιτοξίνες και ΒΜΜΑ

❑ Οι **σαξιτοξίνες** εμποδίζουν τα κανάλια διέλευσης του νατρίου και ασβεστίου με αποτέλεσμα να χάνεται η επικοινωνία μεταξύ των νευρώνων και να επέρχεται θάνατος από κατάρρευση του αναπνευστικού συστήματος

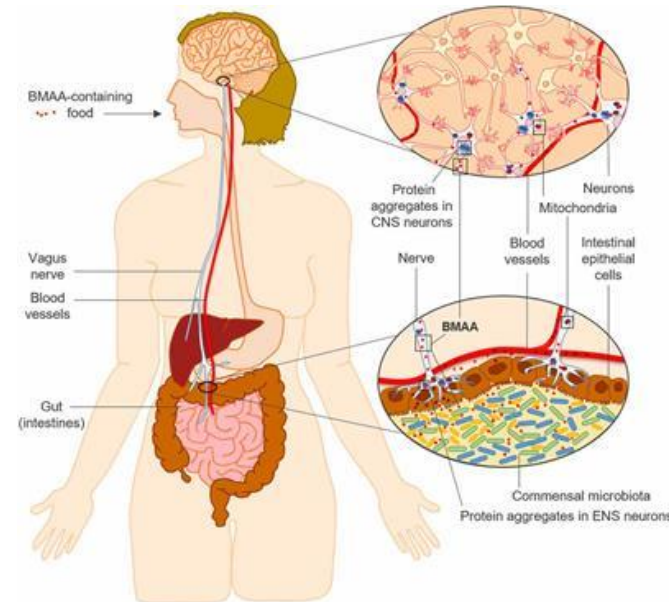
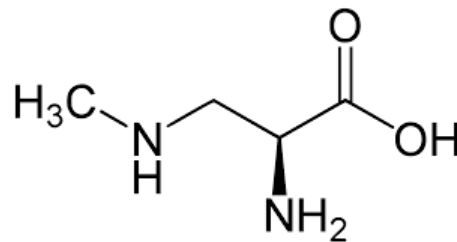
❑ Η **β-μεθυλαμινο-L-αλανίνη (ΒΜΑΑ)** είναι ένα μη-πρωτεϊνικό αμινοξύ παραγόμενο από μεγάλο αριθμό κυανοβακτηρίων το οποίο ασκεί νευροτοξική δράση

❑ Στους μηχανισμούς δράσης της συγκαταλέγονται: η πρόκληση αυξημένης ενδοκυττάριας εισροής  $Ca^{+2}$ , βλάβη του DNA, απελευθέρωση γαλακτικής αφυδρογονάσης καθώς και η παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS)

Σαξιτοξίνη



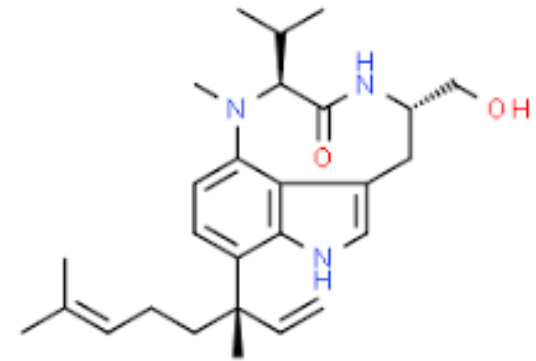
BMAA



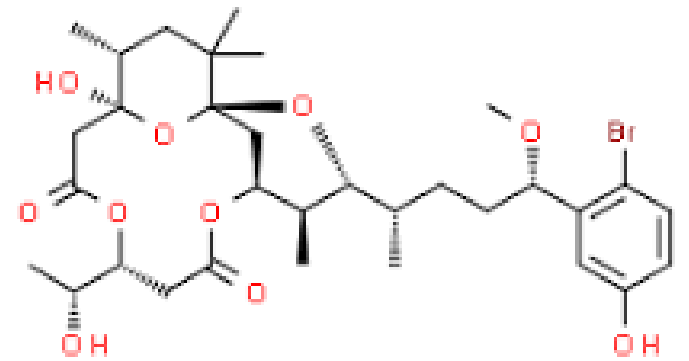
# Δερματοξικές αλκαλοειδείς ενώσεις

- ❑ Η **Λυγκμπιατοξίνη-α** παράγεται από τα κυανοβακτηριακά γένη *Lyngbya*, *Schizothrix*, *Oscillatoria*
- ❑ Δρα ως επαγωγέας όγκων
- ❑ Η τοξίνη **Απλυσιατοξίνη** παράγεται από τα κυανοβακτηριακά γένη *Lyngbya*, *Schizothrix*, *Oscillatoria* είναι επαγωγέας όγκων και προκαλεί φλεγμονές στο δέρμα

Λυγκμπιατοξίνη



Απλυσιατοξίνη

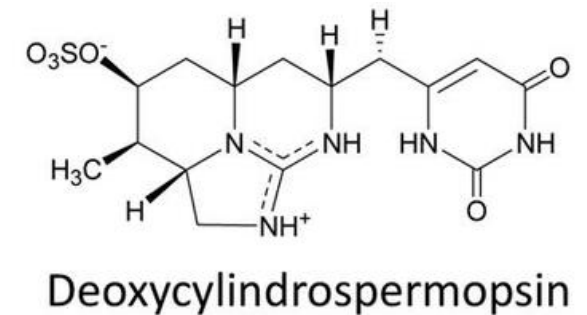
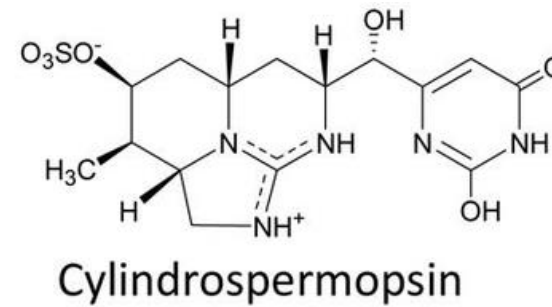




# Κυτοτοξικές αλκαλοειδείς ενώσεις

- ❑ Η **κυλινδροσπερμοψίνη** είναι ένα αλκαλοειδές, πολυκυκλικό παράγωγο ουρακίλης που δρα κυτοτοξικά ως παρεμποδιστής της πρωτεϊνοσύνθεσης σε κύτταρα θηλαστικών
- ❑ Απομονώθηκε πρώτη φορά από το *Cylindrospermopsis raciborskii*

- ❑ Η βιοσύνθεσή της περιλαμβάνει την εμπλοκή μιας αμινοτρανσφεράσης (πορτοκαλί), μιας μη ριβοσωμικής πεπτιδικής συνθετάσης και μιας πολυκετιδικής συνθάσης (κόκκινο)



Cylindrospermopsin gene (*cyr*) cluster



# Κυανοτοξίνες

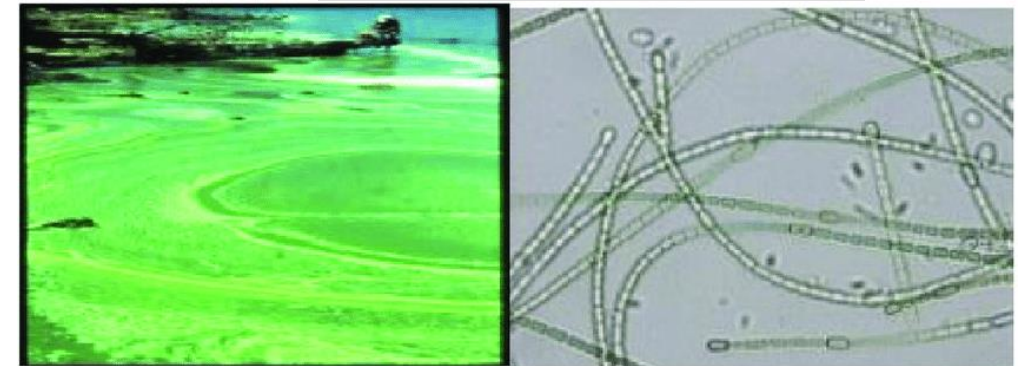
## □ Γένη κυανοβακτηρίων που παράγουν μικροκυστίνες

- Οι **μικροκυστίνες** παράγονται από τα πλανκτονικά είδη γλυκού νερού *Microcystis*, *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Planktothrix* και *Nostoc*
- Η παραγωγή των μικροκυστινών έχει επίσης παρατηρηθεί και σε μεγάλο εύρος εδαφικών στελεχών όπως αυτών του γένους *Harposiphon*
- Επίσης μικροκυστίνες βρέθηκαν να παράγονται από κυανοβακτήρια του γλυκού και υφάλμυρου νερού των γενών *Arthrospira*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Plectonema*, *Pseudanabaena*, *Synechococcus*, *Synechocystis*
- Αντίθετα, η στενά σχετιζόμενη **νοντουλαρίνη** έχει χαρακτηριστεί μόνο από το είδος *Nodularia spumigena* που απαντάται σε υφάλμυρα νερά, ενώ στο θαλάσσιο σφουγγάρι *Theonella swinhoei* έχει βρεθεί μια ουσία ανάλογη της νοντουλαρίνης η μοτουπορίνη (motuporin)

Άνθηση *Microcystis aeruginosa*



Άνθηση *Nodularia* bloom

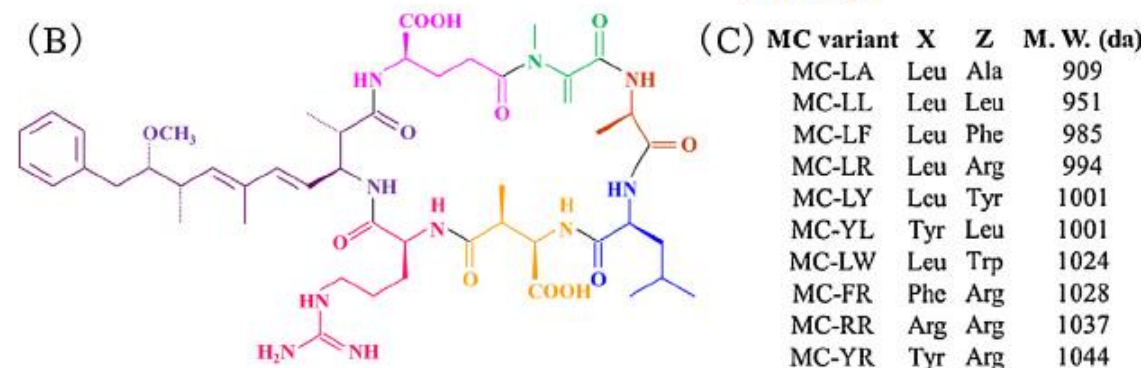
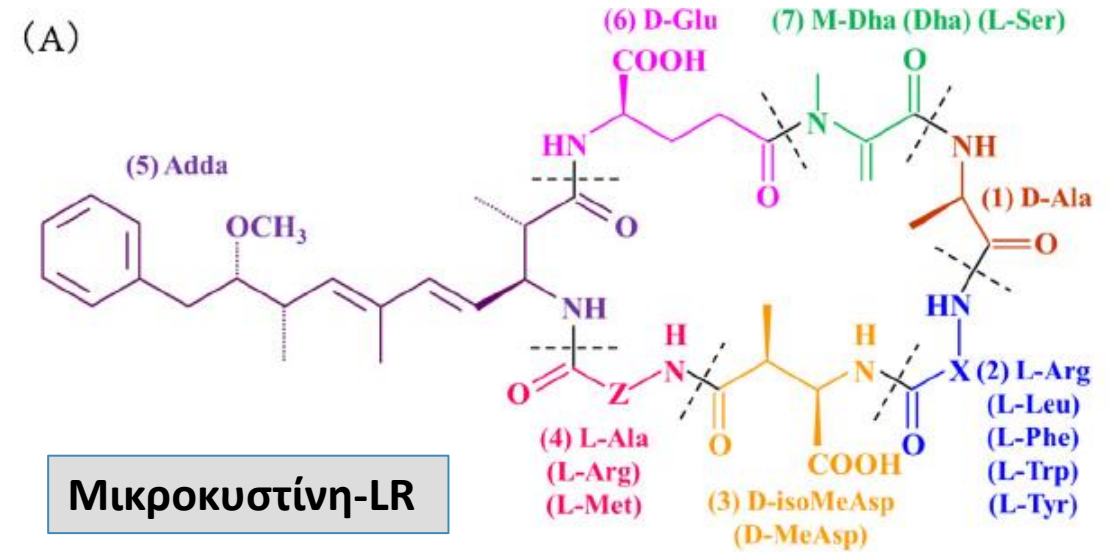


# Κυανοτοξίνες

## ❑ Χημική δομή μικροκυστινών

- ❑ Από χημικής άποψης οι μικροκυστίνες είναι κυκλικά επταπεπτίδια και έχουν όλες την κοινή δομή κύκλο (-D-Ala<sup>(1)</sup>-X<sup>(2)</sup>-D-MAsp<sup>(3)</sup>-Z<sup>(4)</sup>-Adda<sup>(5)</sup>-D-Glu<sup>(6)</sup>-Mdha<sup>(7)</sup>)
- Τα X και Z στις θέσεις 2 και 4 είναι διάφορα L-αμινοξέα που καθορίζουν και το πρόθεμα στην ονοματολογία των μικροκυστινών
- **Παράδειγμα:** Η μικροκυστίνη-LR αναφέρεται στη λευκίνη (L) και στην αργινίνη (R) στις θέσεις X και Z, αντίστοιχα (B)
- D-Masp = D-erythro-β-iso-aspartic acid
- Adda = (2S, 3S, 8S,9S)-3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4,6-dienoic acid
- Mdha = N-methyl-dehydroalanine
- ❑ Σημαντικές διαφοροποιήσεις ως προς τη χημική δομή παρατηρείται συνήθως στις θέσεις 2, 4 και 7 και έχουν σήμερα χαρακτηριστεί 65 παραλλαγές της παραπάνω χημικής δομής

## Γενική δομή των μικροκυστινών



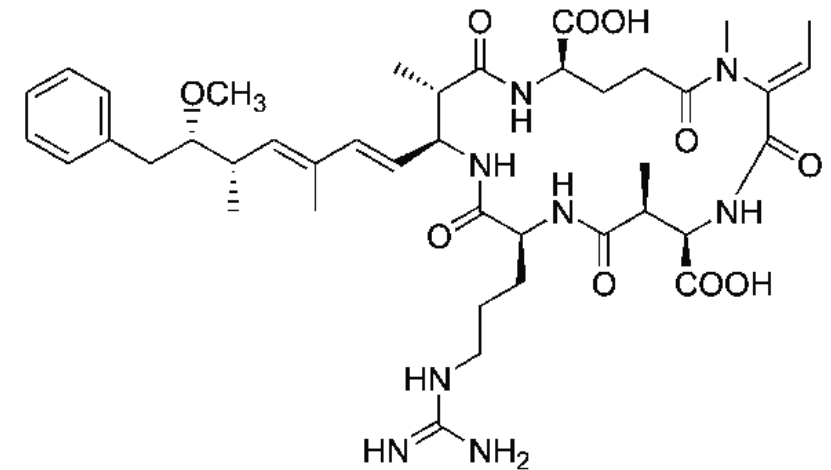


# Κυανοτοξίνες

## ❑ Χημική δομή νοντουλαρινών

- ❑ Η νοντουλαρίνη (824 da) είναι πενταπεπτίδιο που περιέχει *N*-methyl dehydrobutyrine (Mdhb) αντί για Mdha (*N*-methyl-dehydroalanine), ενώ δεν διαθέτουν το τμήμα D-Ala<sup>(1)</sup> και X<sup>(2)</sup> συγκριτικά με τη δομή των μικροκυστινών

Νοντουλαρίνη



# Κυανοτοξίνες

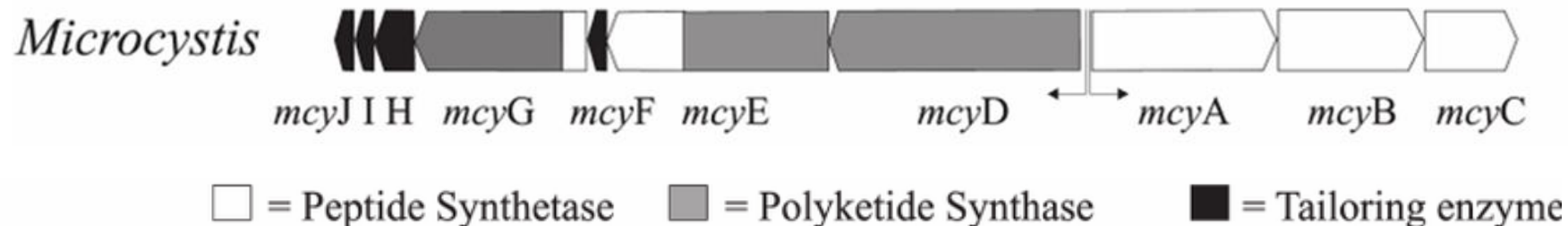
---

- ❑ **Γενετική βάση της παραγωγής των κυανοτοξινών μικροκυστίνη και νοντουλαρίνη**
- ❑ Το σύμπλοκο γονιδίων *ncy* που κωδικοποιούν την σύνθεση του τοξικού επταπεπτιδίου **μικροκυστίνη**, ήταν το πρώτο που χαρακτηρίστηκε και έχει σήμερα μελετηθεί περισσότερο από τα αντίστοιχα σύμπλοκα για τις υπόλοιπες κυανοτοξίνες
- ❑ Οι μικροκυστίνες και οι νοντουλαρίνες συντίθενται διαμέσου του thio-template μηχανισμού, ο οποίος είναι χαρακτηριστικός για τη σύνθεση: μη ριβοσωμικών πεπτιδίων, πολυκετιδίων και λιπαρών οξέων
- ❑ Το σύμπλοκο γονιδίων *ncy* περιέχει συνθετάσες πεπτιδίων, συνθάσες πολυκετιδίων και τροποποιητικά ένζυμα που κωδικοποιούνται από 10 (*Microcystis, Anabaena*) ή 9 (*Planktothrix, Nodularia*) γονίδια

# Κυανοτοξίνες

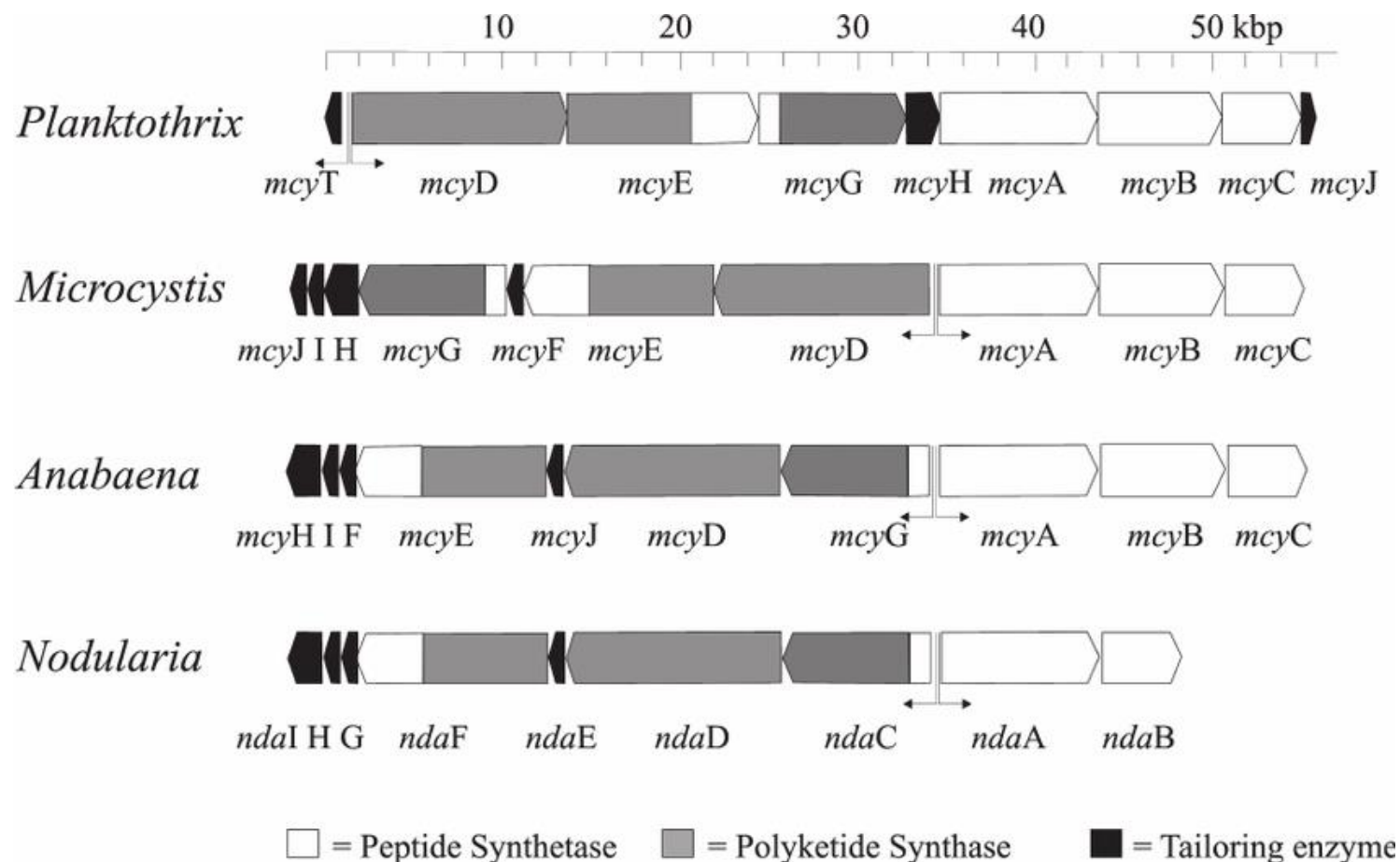
## □ Γενετική βάση της παραγωγής των μικροκυστινών

- Το σύμπλοκο γονιδίων *mcy* στο *M. aeruginosa* αποτελείται από 10 γονίδια, διευθετημένα με διπλή κατεύθυνση που βρίσκονται σε δύο οπερόνια (*mcy A-C* και *mcy D-J*)
- Το μεγαλύτερο από τα δύο οπερόνια, *mcyD–J* κωδικοποιεί μια αρθρωτή πολυκετιδική συνθάση (McyD), δύο υβριδικά ένζυμα που περιλαμβάνουν τα τμήματα μη ριβοσωμικής πεπτιδικής συνθετάσης και πολυκετιδικής συνθάσης (McyE και McyG), και ένζυμα που πιθανόν εμπλέκονται στην τροποποίηση (McyJ, F και I) και τη μεταφορά (McyH) της τοξίνης
- Το μικρό οπερόνιο *mcyA–C* κωδικοποιεί τρεις μη ριβοσωμικές πεπτιδικές συνθετάσες (McyA–C)
- Διατάραξη ορισμένων από αυτά τα γονίδια [*mcy A,B,D* ή *E*] προκάλεσε την παραγωγή μη ανιχνεύσιμων τοξινών



# Κυανοτοξίνες

## □ Γενετική βάση της παραγωγής των κυανοτοξινών μικροκυστίνη και νοντουλαρίνη



- Δομική οργάνωση του συμπλόκου γονιδίων *mcy* για τη βιοσύνθεση των μικροκυστινών στα γένη *Planktothrix*, *Microcystis* και *Anabaena*, και του γονιδίου *nda* της συνθετάσης της νοντουλαρίνης στο γένος *Nodularia*
- Η κλίμακα δείχνει το μήκος της ομάδας γονιδίων σε Kbp



# Κυανοτοξίνες

---

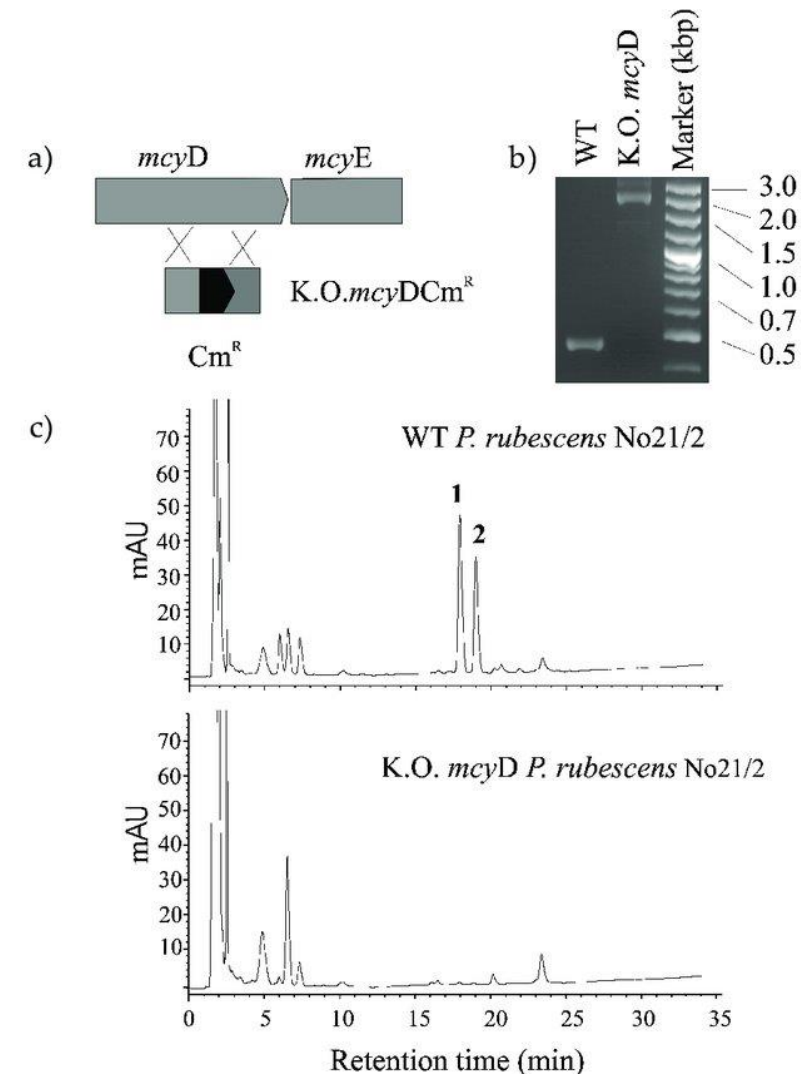
- ❑ **Γενετική βάση της παραγωγής των κυανοτοξινών μικροκυστίνη και νοντουλαρίνη**
- ❑ Η λειτουργική απόδειξη για τη συμμετοχή του συμπλόκου γονιδίων *ncy* στη βιοσύνθεση των μικροκυστινών προέρχεται από την απενεργοποίηση μέσω εισαγωγής ξένου DNA σε συγκεκριμένο γονίδιο για την απενεργοποίηση του στο στέλεχος *Microcystis aeruginosa* PCC7806
- ❑ Η βιοσύνθεση της μικροκυστίνης στην περίπτωση του knockout μεταλλάγματος του *ncy* παρεμποδίστηκε εντελώς συγκριτικά με το στέλεχος αγρίου τύπου => μια ομάδα γονιδίων κωδικοποιεί την παραγωγή των διαφόρων τύπων μικροκυστινών
- ❑ Πολύ λίγα κυανοβακτήρια είναι δεκτικά σε γενετική τροποποίηση με τα είδη *Planktothrix agardhii* και *P. rubescens* να αποτελούν δυο από αυτά

# Κυανοτοξίνες

## □ Γενετική βάση της παραγωγής των κυανοτοξινών μικροκυστίνη και νοντουλαρίνη

### Παράδειγμα:

- Απενεργοποίηση του γονιδίου *ncyD* μέσω ένθεσης με ομόλογο ανασυνδιασμό στο στέλεχος *Planktothrix rubescens* No21/2
- Το στέλεχος αγρίου τύπου (WT) δίνει το αναμενόμενο PCR προϊόν των 500 bp, ενώ το knockout μετάλλαγμα του *ncyD* δίνει αμπλικόνιο μεγέθους 500 bp + 1900 bp (Cm R fragment) = 2400 bp
- Ανάλυση των υδατικών – μεθανολικών εκχυλισμάτων του WT του στελέχους *P. rubescens* No21/2 (πάνω χρωματογράφημα) και του knockout μεταλλάγματος του *ncyD* χωρίς τη δυνατότητα σύνθεσης της μικροκυστίνης (κάτω χρωματογράφημα), μέσω HPLC
- 1, 2 αντιπροσωπεύουν τη μικροκυστίνη-HtyR (17.9 min) και τη μικροκυστίνη-LR (19.0 min), αντίστοιχα



# Κυανοτοξίνες

---

## ❑ Ορισμένες πιθανές βιολογικές λειτουργίες των ΜΙΚΡΟΚΥΣΤΙΝΩΝ είναι:

- Άμυνα ή αναχαίτιση έναντι της θήρευσης
- Συμμετοχή στην ενδοκυτταρική επικοινωνία
- Προσαρμογή στις περιβαλλοντικές συνθήκες
- Αλληλοπαθητικές αλληλεπιδράσεις
- ✓ Μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας και του ρυθμού αύξησης άλλων αυτότροφων πλαγκτονικών οργανισμών, αλλά και των μακροφύτων
- Οικοφυσιολογικός ρόλος – Συμμετοχή στο βασικό μεταβολισμό των κυανοβακτηρίων
- ✓ Έλεγχος των γονιδίων
- ✓ Συμμετοχή στην αφομοίωση της ηλιακής ακτινοβολίας
- ✓ Συμμετοχή στην αποθήκευση αζώτου σε περιόδους ανεπάρκειας αζώτου
- ✓ Συμμετοχή στην δημιουργία αποικιών

# Πιθανοί μηχανισμοί δράσης των μικροκυστινών

---

- ❑ **Κυτταρική πρόσληψη των μικροκυστινών – παράδειγμα τοξικότητας στο αναπαραγωγικό σύστημα**
- ❑ Προκειμένου να ασκήσουν αναπαραγωγική τοξικότητα, ικανοποιητικές συγκεντρώσεις μικροκυστινών πρέπει να εισέλθουν στο αναπαραγωγικό σύστημα, π.χ. οι μικροκυστίνες θα πρέπει να μεταφερθούν στα κύτταρα που εμπλέκονται στις διεργασίες της σπερματογένεσης και της ωογένεσης
- ❑ Η κυτταρική πρόσληψη των μικροκυστινών φαίνεται ότι πραγματοποιείται αποκλειστικά και μόνο με ενεργή μεταφορά και όχι με παθητική διαμεμβρανική διάχυση εξαιτίας του μεγάλου μοριακού βάρους και της δομής των μικροκυστινών
- ❑ Συνεπώς, οι παθολογικές αλλαγές που συμβαίνουν σε περιπτώσεις δηλητηρίασης με μικροκυστίνες περιορίζονται στα κύτταρα, τους ιστούς και τα όργανα που έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν ενεργά τις μικροκυστίνες από το αίμα στο κύτταρο



# Μηχανισμός δράσης των μικροκυστινών

## ❑ Παρεμπόδιση της δράσης των πρωτεϊνικών φωσφατασών

- ❑ Ο κύριος μηχανισμός τοξικότητας των μικροκυστινών είναι η μη αναστρέψιμη αναστολή των πρωτεϊνικών φωσφατασών PP1 και PP2A
- ❑ Οι πρωτεϊνικές φωσφατάσες 1 και 2A είναι ένζυμα κλειδιά για την αποφωσφορυλίωση της σερίνης/θρεονίνης πολλών φωσφοπρωτεϊνών
- ❑ Η αναστολή των πρωτεϊνικών φωσφατασών οδηγεί σε συσσώρευση φωσφορυλιωμένων πρωτεϊνών και ακολουθείται από την απώλεια της κυττοσκελετικής ακεραιότητας με συνέπεια τη λύση ή την απόπτωση, των κυττάρων
- ❑ Πρόσφατες αναφορές προτείνουν ότι οι μικροκυστίνες παρεμποδίζουν τη δράση των πρωτεϊνικών φωσφατασών όχι μόνο με άμεση παρεμπόδιση της δραστηριότητας των ενζύμων, αλλά και διαμέσου ρύθμισης της πρωτεϊνικής έκφρασης
- ❑ Η παρεμπόδιση των PP1 και PP2A οδηγεί σε διατάραξη του δυναμικού ισορροπίας της πρωτεϊνικής φωσφορυλίωσης/αποφωσφορυλίωσης προκαλώντας την παρεμπόδιση διαφόρων κυτταρικών διεργασιών όπως η οργάνωση του κυτταρικού σκελετού, τα σηματοδοτικά μονοπάτια διαφόρων πρωτεϊνικών κινασών, ο μεταβολισμός και ο κύκλος ζωής του κυττάρου

# Μηχανισμός δράσης των μικροκυστινών

---

## ❑ Οξειδωτικό στρες

- ❑ Προάγουν το οξειδωτικό στρες (δημιουργία ενεργών ριζών οξυγόνου) στους ιστούς του ήπατος και στο αναπαραγωγικό σύστημα προκαλώντας τοξικότητα και στειρότητα
- ❑ Το οξειδωτικό στρες μπορεί με τη σειρά του να οδηγήσει σε πιθανή μοριακή βλάβη βασικών κυτταρικών συστατικών, λιπιδίων, πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων όπως η υπεροξείδωση των λιπιδίων, η οξείδωση των πρωτεϊνών και η θραύση της αλυσίδας του DNA
- Οι σπερματικοί αδένες είναι πλούσιοι σε ακόρεστα λιπίδια και ως εκ τούτου ευάλωτοι σε περιπτώσεις υπεροξείδωσης
- Οι μικροκυστίνες έχουν βρεθεί να προκαλούν οξειδωτικό στρες στα αναπαραγωγικά όργανα (όρχεις) κουνελιών και ποντικών, όμως τα συστήματα αποτοξικοποίησης και αντιοξειδωτικών κατάφεραν να αποτρέψουν τις βλάβες

# Μηχανισμός δράσης των μικροκυστινών

---

## ❑ Βλάβη στο DNA /γονιδιοτοξικότητα

- ❑ Η μικροκυστίνη-LR μπορεί να παρέμβει στο γενετικό υλικό αυξάνοντας τη συχνότητα των μεταλλάξεων αλλά και το ποσοστό των αργά αναπτυσσόμενων μεταλλάξεων, με αποτέλεσμα την πρόκληση εξαλείψεων και ανασυνδυασμών του γενετικού υλικού
  - Η μικροκυστίνη-LR βρέθηκε να επηρεάζει τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA και προκάλεσε αυξημένα επίπεδα UV-προκαλούμενης κυτογενετικής βλάβης σε αναπαραγωγικά κύτταρα σε χαμστερ
- ❑ Έτσι, είναι πολύ πιθανό ότι η παρεμβολή της μικροκυστίνης-LR στη διαδικασία επιδιόρθωσης του DNA μπορεί να είναι ένας από τους μηχανισμούς που ευθύνονται για την προκαλούμενη από μικροκυστίνες ανάπτυξη καρκίνου
- ❑ Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η βλάβη στο DNA που εντοπίζεται στα γεννητικά κύτταρα μπορεί να μεταφερθεί στους απογόνους

# Μηχανισμός δράσης των μικροκυστινών

---

## ❑ Διάρρηξη του κυτταρικού σκελετού

- ❑ Έχει βρεθεί ότι τόσο η παρεμπόδιση των πρωτεϊνικών φωσφορικών φωσφατασών και το οξειδωτικό στρες μπορούν να οδηγήσουν σε καταστροφή του κυτταρικού σκελετού
- Έχει βρεθεί για παράδειγμα ότι η χρόνια έκθεση σε μικροκυστίνη-LR οδήγησε σε σημαντική διατάραξη της ισορροπίας διαφόρων κυττοσκελετικών γονιδίων που σχετίζονται με την παραγωγή της ακτίνης, της τομπουλίνης και άλλων σημαντικών συστατικών του κυτταρικού σκελετού στους όρχεις ποντικών

## ❑ Αναπαραγωγικοί όγκοι

- ❑ Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι μικροκυστίνες, όπως η μικροκυστίνη-LR, μπορούν επίσης να προωθήσουν το σχηματισμό όγκων



# Μηχανισμός δράσης των μικροκυστινών

---

## Απόπτωση - Νέκρωση

- Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι μικροκυστίνες προάγουν την απόπτωση των αναπαραγωγικών κυττάρων και ότι η έκφραση διαφόρων πρωτεϊνών που σχετίζονται με την απόπτωση μεταβλήθηκε σημαντικά => σημαντικός ο ρόλος της απόπτωσης για την αναπαραγωγική τοξικότητα των μικροκυστινών

## Επίδραση σε ορμόνες φύλου, διαταράκτες του ήπατος και του ενδοκρινικού συστήματος

- Νευροορμονικός έλεγχος αναπαραγωγής

# Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση των τοξικών κυανοβακτηρίων και την τοξικότητα των μικροκυστινών

---

## ❑ Φυσικοί παράγοντες

### ❑ Θερμοκρασία

- Γενικά, τα κυανοβακτήρια προτιμούν τις θερμές συνθήκες, ενώ οι χαμηλές θερμοκρασίες συνήθως αποτελούν τον κύριο παράγοντα περιορισμού της άνθισης των φυκών
- Ωστόσο, ο παράγοντας της θερμοκρασίας από μόνος του μόνο μερικώς ρυθμίζει την άνθιση των φυκών
- Στην πραγματικότητα ένας αριθμός παραγόντων συνδιαστικά ευθύνεται για την υπέρμετρη αύξηση των φυκών
- Οι παράγοντες αυτοί περιλαμβάνουν τις αυξημένες θερμοκρασίες, την αυξημένη περιεκτικότητα σε θρεπτικά και την αυξημένη ένταση φωτός

# Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση των τοξικών κυανοβακτηρίων και την τοξικότητα των μικροκυστινών

---

## ❑ Χημικοί παράγοντες

### ❑ Αναλογία αζώτου και φωσφόρου

- Η επιβλαβής άνθιση των κυανοβακτηρίων είναι αποτέλεσμα του ευτροφισμού των υδατικών συλλογών => υπερβολική φόρτιση με θρεπτικά στοιχεία όπως φώσφορος και άζωτο οδηγούν σε πολλαπλασιασμό των τοξικών κυανοβακτηρίων και προκαλούν άνθιση φυκών
- Ορισμένα κυανοβακτηρία (*Nostoc*, *Anabaena* *Cylindrospermum* κ.α.) έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν άζωτο και συνεισφέρουν νέο άζωτο στις υδατοσυλλογές ενισχύοντας τη φόρτιση με θρεπτικά
- Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η δέσμευση αζώτου από τα κυανοβακτήρια και η δέσμευση του φωσφόρου παίζει σημαντικό ρόλο στην προώθηση της παραγωγής και στη διατήρηση των κυανοτοξινών
- **Απουσία αζώτου παρατηρήθηκε έως και 10 φορές μείωση της τοξικότητας των μικροκυστινών**

# Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αύξηση των τοξικών κυανοβακτηρίων και την τοξικότητα των μικροκυστινών

---

## ❑ Χημικοί παράγοντες

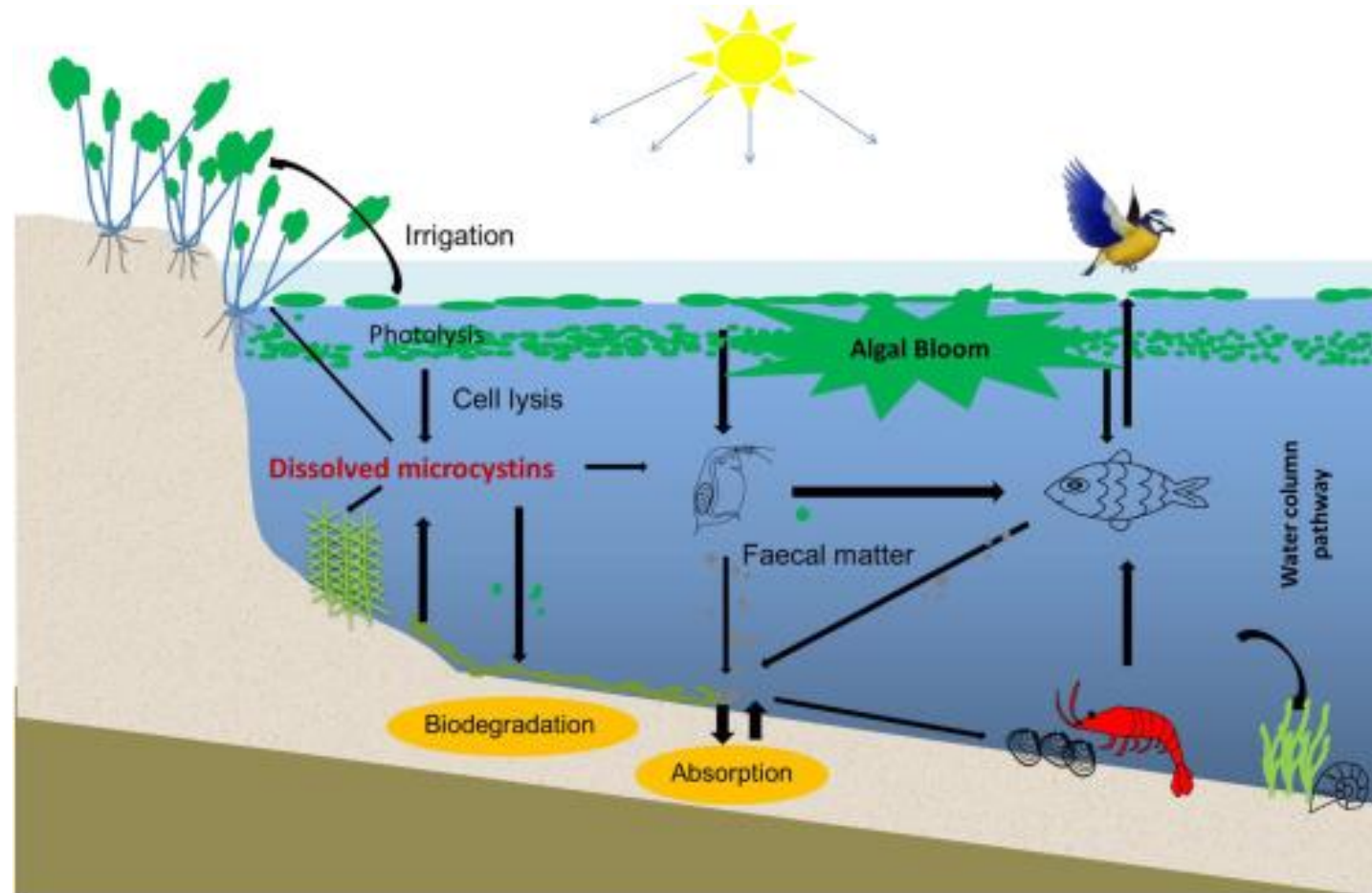
### ❑ Σίδηρος και ψευδαργυρος

- Συγκεκριμένα μεταλλικά ιόντα όπως αυτά του  $Zn^{+2}$  και του  $Fe^{+2}$  επηρεάζουν σημαντικά την παραγωγή των μικροκυστινών
- Ο  $Zn^{+2}$  εμπλέκεται στην υδρόλυση των φωσφορικών εστέρων και στην αντιγραφή και μεταγραφή των νουκλεϊκών οξέων
- Όλα τα κυανοβακτήρια απαιτούν  $Fe^{+2}$  για σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες όπως η φωτοσύνθεση, η αφομοίωση του αζώτου, η αναπνοή και η σύνθεση της χλωροφύλλης
- Δεν είναι πλήρως γνωστό πως η έλλειψη  $Fe^{+2}$  τροποποιεί την παραγωγή των μικροκυστινών αλλά έχει σημειωθεί ότι όταν τα κυανοβακτήρια υπο συνθήκες έλλειψης σιδήρου, συνθέτουν νέα πολυπεπτίδια για εξισορρόπηση



# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

- ❑ Οι μικροκυστίνες υπόκεινται σε αβιοτικές (π.χ. φωτοχημική διάσπαση, προσρόφηση) και βιοτικές διεργασίες (μικροβιακή αποδόμηση) που μεταβάλλουν την τοξικότητα και τη δομή του μορίου τους
- ❑ Ωστόσο, ο περιβαλλοντικός αντίκτυπος και η τοξικότητα των διαφοροποιημένων μορφών καθώς και ο μεταβολισμός των μικροκυστινών παραμένει άγνωστος



# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

---

## ❑ Κατανομή μεταξύ κυττάρων και ύδατος

- ❑ Είναι πιθανό ότι οι κυανοτοξίνες παράγονται και περιέχονται μέσα στα ενεργά αυξανόμενα κύτταρα των κυανοβακτηριίων (π.χ. ενδοκυτταρικά ή σωματιδιακά)
- ❑ Η απελευθέρωση στο γύρω περιβάλλον που οδηγεί σε διάλυση των τοξινών φαίνεται να συμβαίνει κυρίως, αν όχι αποκλειστικά, κατά το γηρασμό των κυττάρων, το θάνατο και τη λύση τους παρά μέσω συνεχόμενης απέκκρισης

# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

---

## ❑ Εμμογή και σταθερότητα εντός των κυττάρων

- ❑ Μελέτες καλλιεργειών έδειξαν ότι οι μικροκυστίνες και οι νοντουλαρίνες αποδομούνται με πολύ αργό ρυθμό (σε διάστημα εβδομάδων) ή καθόλου στο εσωτερικό των ζωντανών κυττάρων
  - ❑ Ομοίως, κυανοβακτηριακή κρούστα του *Microcystis aeruginosa* που απαντάται στις όχθες των λιμνών μπορεί να περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις μικροκυστινών για αρκετούς μήνες. Οι τοξίνες αυτές ελευθερώνονται ξανά κατά την επανεμβύθιση
- => Υπάρχει πιθανότητα για τοπικό εντοπισμό υψηλών συγκεντρώσεων διαλυτοποιημένων μικροκυστινών ακόμα και υπό την απουσία ζωντανών κυττάρων κυανοβακτηρίων ή προσφάτως αποσυντιθέμενης μάζας τοξικών φυκών

# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

---

## □ Αβιοτικές μετατροπές

### □ Διάλυση

- Η διάλυση είναι η κύρια διαδικασία κατά την οποία η τοξικότητα των μικροκυστινών μειώνεται στις φυσικές υδατοσυλλογές
- Η διάλυση των μικροκυστινών πραγματοποιείται όταν εισάγονται σε μεγάλο όγκο ύδατος όπως για παράδειγμα σε μια λίμνη
- Η διάλυση ωστόσο δεν οδηγεί πάντα σε μείωση της αφθονίας των μικροκυστινών κάτω από ένα κρίσιμο σημείο για τους οργανισμούς καθώς ορισμένες βαθιές και ολιγοτροφικές λίμνες επίσης υπόκεινται σε υπέρμετρη αύξηση των τοξικών φυκών (algal blooms)



# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

---

## □ Αβιοτικές μετατροπές

### □ Αβιοτική διάσπαση

- Οι μικροκυστίνες λόγω της χημικής του φύσης (κυκλικά πεπτίδια) είναι εξαιρετικά σταθερά και ανθεκτικά στη χημική υδόλυση και την οξείδωση σε ουδέτερο pH
- Η διάσπαση των μικροκυστινών υπό την επίδραση υψηλών θερμοκρασιών συμπεριλαμβάνεται στους τρόπους αποτοξικοποίησης – αργή υδρόλυση σε θερμοκρασία 40°C και ακραίες τιμές pH
- Ωστόσο, η θερμική αποδόμηση συνήθως υπό εργαστηριακές συνθήκες συνδιάζεται με χαμηλό pH για την αύξηση του ρυθμού αποδόμησης, καθώς οι μικροκυστίνες εμφανίζουν σταθερότητα στις υψηλές θερμοκρασίες και μπορούν να αντέξουν ακόμα και σε θερμοκρασία βρασμού
- Η διάσπαση των μικροκυστινών μπορεί επίσης να είναι φωτοχημική: οξείδωση από το όζον ή άλλους ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες και διάσπαση από έντονη UV ακτινοβολία – αργή διάσπαση υπό την επίδραση πλήρους ηλιακής ακτινοβολίας

# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

---

## ❑ Αβιοτικές μετατροπές

### ❑ Προσρόφηση

- Οι μικροκυστίνες προσροφούνται στα αιωρούμενα σωματίδια των υδάτινων συστημάτων
- Η προσρόφηση στα αιωρούμενα σωματίδια είναι ένας σημαντικός μηχανισμός απομάκρυνσης των ρυπαντών τόσο σε υδατοσυλλογές γλυκού νερού όσο και σε θαλάσσια περιβάλλοντα
- Η διαδικασία αυτή περιορίζει την έκθεση των ψαριών και των υπόλοιπων έμβιων οργανισμών στις ελεύθερες μικροκυστίνες μέσω της δέσμευσης τους στα σωματίδια και μπορεί επίσης να μειώσει τον κίνδυνο μεταφοράς τους στο τροφικό δίκτυο
- Ο βαθμός στον οποίο οι μικροκυστίνες προσροφούνται στα αιωρούμενα σωματίδια ελέγχεται από το pH

# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

## □ Μικροβιακή αποδόμηση

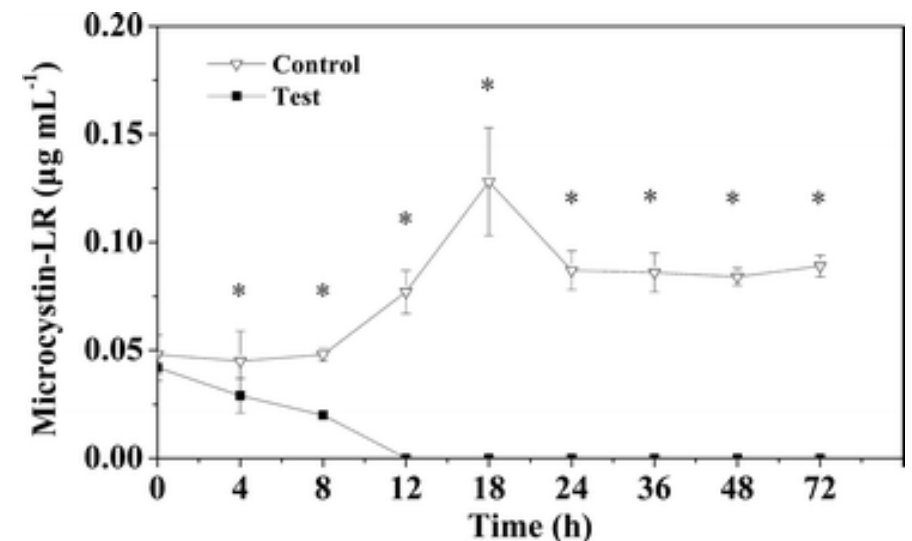
- Η μικροβιακή αποδόμηση των μικροκυστινών έχει επιβεβαιωθεί ως μηχανισμός αποτοξικοποίησης σε επιλεγμένα στελέχη **μυκήτων** και βακτηρίων

Παράδειγμα: Στέλεχος *Trichartum abietinum* 1302BG – Μύκητας λευκής σήψης

Appl Biochem Biotechnol (2012) 166:987–996  
DOI 10.1007/s12010-011-9486-6

**A Fungus Capable of Degrading Microcystin-LR  
in the Algal Culture of *Microcystis aeruginosa* PCC7806**

Yong Jia · Jingjing Du · Fuqiang Song · Guiying Zhao ·  
Xingjun Tian



# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

## □ Μικροβιακή αποδόμηση

□ Η μικροβιακή αποδόμηση των μικροκυστινών έχει επιβεβαιωθεί ως μηχανισμός αποτοξικοποίησης σε επιλεγμένα στελέχη μυκήτων και **βακτηρίων**

- **Παράδειγμα:** Στέλεχος του *Pseudomonas aeruginosa*

Lemes et al. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*  
(2015) 21:4  
DOI 10.1186/s40409-015-0001-3

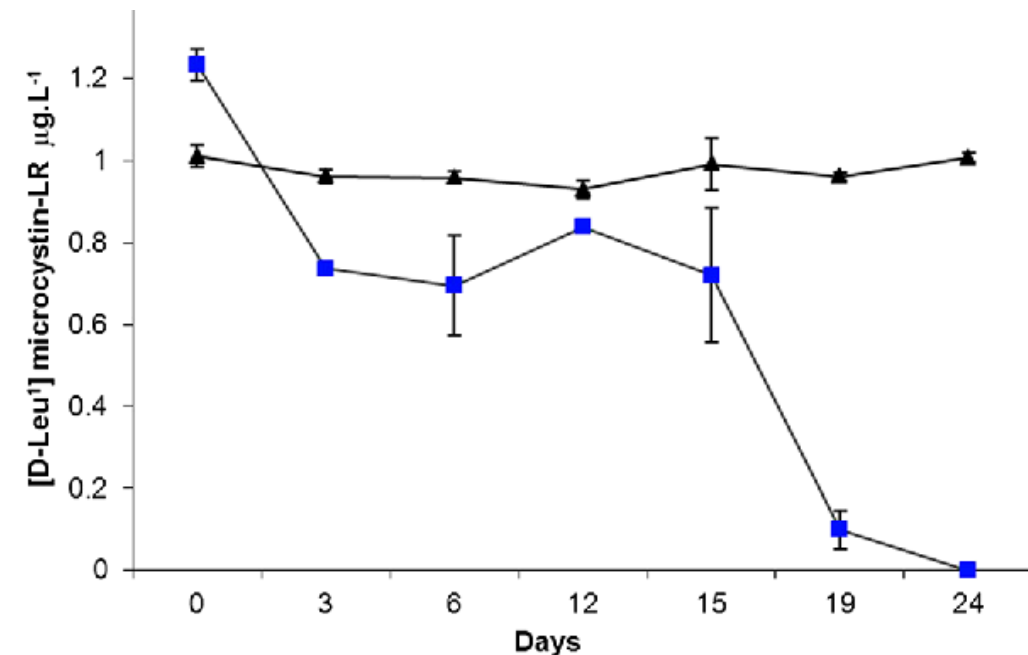


RESEARCH

Open Access

Biodegradation of [D-Leu<sup>1</sup>] microcystin-LR by a bacterium isolated from sediment of Patos Lagoon estuary, Brazil

Gilmar AF Lemes<sup>1</sup>, Luiza W Kist<sup>2</sup>, Mauricio R Bogo<sup>2,3</sup> and João S Yunes<sup>1\*</sup>





# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

## □ Μικροβιακή αποδόμηση

□ Η μικροβιακή αποδόμηση των μικροκυστινών έχει επιβεβαιωθεί ως μηχανισμός αποτοξικοποίησης σε επιλεγμένα στελέχη μυκήτων και βακτηρίων

- Παράδειγμα: *Bacillus* spp.



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)  
SciVerse ScienceDirect

Energy Procedia 16 (2012) 2054 – 2059

Energy  
Procedia

2012 International Conference on Future Energy, Environment, and Materials

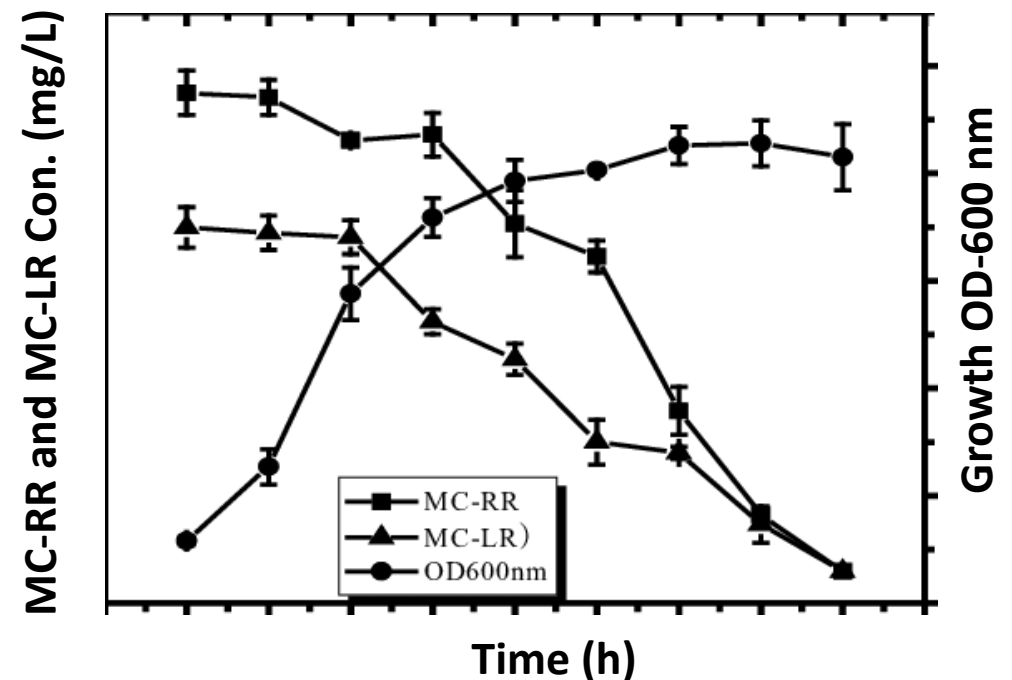
Biodegradation of Microcystins by *Bacillus* sp. strain EMB

Liangbin Hu<sup>1</sup>, Fengmei Zhang<sup>2</sup>, Changzhong Liu<sup>3</sup>, Miaoyan Wang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China

<sup>2</sup>Foreign Language Department, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China

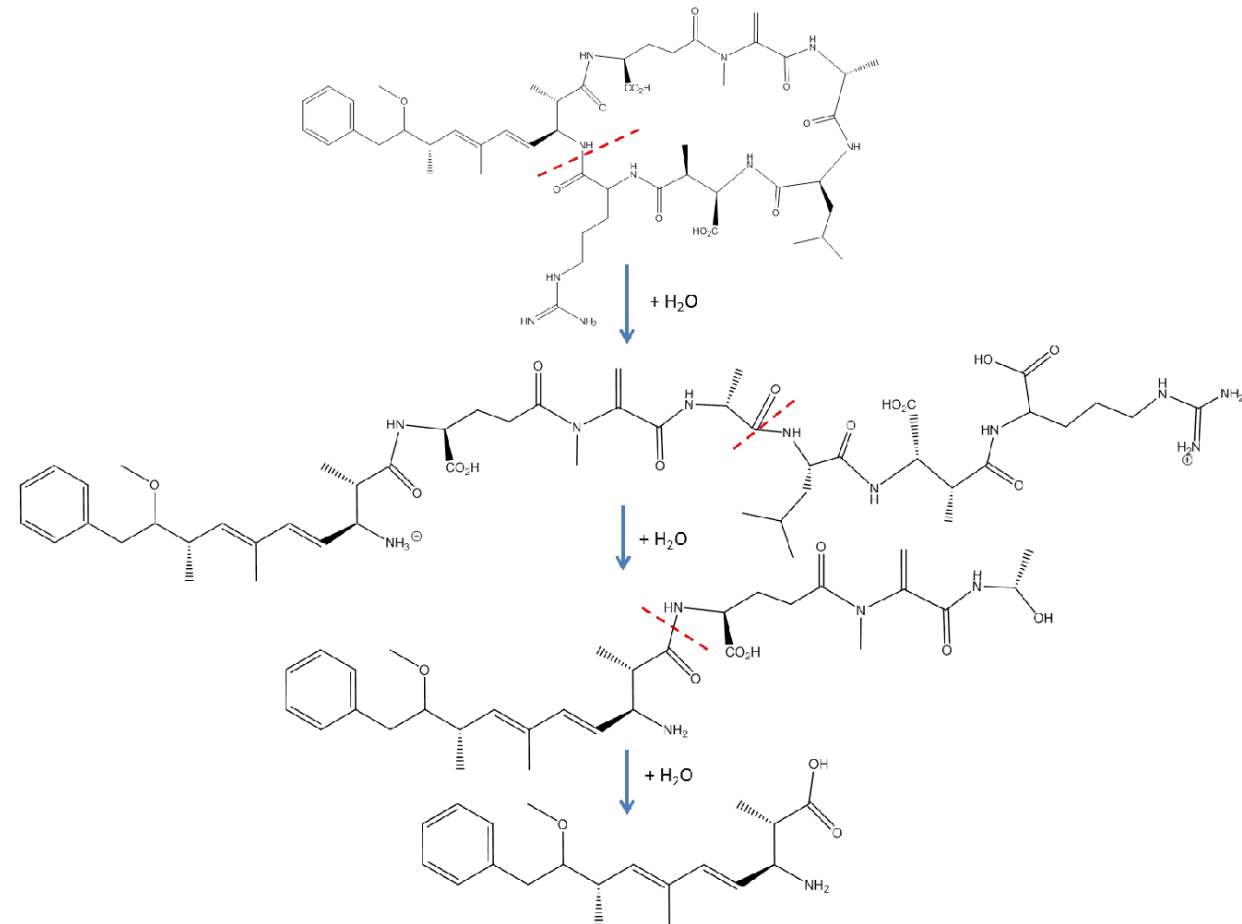
<sup>3</sup>College of Animal Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China



# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

## □ Μικροβιακή αποδόμηση

- Σε επιλεγμένα στελέχη βακτηρίων, 3 ένζυμα που αναφέρονται συνολικά ως μικροκυστινάση λειτουργούν διαδοχικά σε ένα μονοπάτι αποδόμησης της μικροκυστίνης-LR (MC-LR)
- Το πρώτο ένζυμο γραμμικοποιεί την MC-LR μέσω σχάσης του πεπτιδικού δακτυλίου και συγκεκριμένα του δεσμού ADDA-αργινίνης
- Το δεύτερο ένζυμο κόβει αυτό το γραμμικό ενδιάμεσο στο δεσμό μεταξύ αλανίνης –λευκίνης οδηγώντας στον σχηματισμό του πεπτιδικού ενδιάμεσου ADDA-Glu-Mdha-Ala
- Το τρίτο ένζυμο αποδομεί τα προϊόντα που σχηματίστηκαν από τα πρώτα 2 ένζυμα και ελευθερώνει ADDA από το τετραπεπτιδικό ενδιάμεσο
- ADDA δεν είναι τοξικό σε επίπεδα 10 mg/kg



# Περιβαλλοντική τύχη των μικροκυστινών

---

## ❑ Βιοσυσσώρευση

- ❑ Οι μικροκυστίνες συσσωρεύονται σε κοινά υδρόβια σπονδυλωτά και ασπόνδυλα, όπως ψάρια, μύδια και ζωοπλαγκτόν
  - Στα μύδια, οι υψηλότερες συγκεντρώσεις μικροκυστινών έχουν βρεθεί στο ηπατοπάγκρεας και στα σπονδυλωτά στο συκώτι
  - Δέσμευση και συσσώρευση της μικροκυστίνης-LR έχει παρατηρηθεί σε συκώτι σολωμού και σε προνύμφη καβουριού
- ❑ Εάν τα επίπεδα συσσώρευσης των μικροκυστινών μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο τον άνθρωπο είναι αβέβαιο και εξαρτάται από τα επίπεδα κατανάλωσης και την ένταση της άνθισης των τοξικών φυκών στην περιοχή όπου τα ψάρια ή τα οστρακοειδή αλιεύτηκαν
- ❑ Κοινή συμβουλή αποτελεί η μη κατανάλωση των εντόσθιων των ψαριών και ιδιαίτερη προσοχή σε όλες τις περιπτώσεις ύπαρξης άνθισης τοξικών φυκών

# Βιοτικές προσαρμογές στην τοξικότητα των μικροκυστινών

## ❑ Βαθμός ανθεκτικότητας στην τοξικότητα των μικροκυστινών

- ❑ Οι οργανισμοί μπορούν να αποφύγουν την τοξικότητα των μικροκυστινών με προσαρμογές στη διατροφή τους
- ❑ Επιλεγμένα είδη ψαριών και ζωοπλαγκτόν θα προτιμήσουν να διατραφούν με μη τοξικό φυτοπλαγκτόν όταν συνυπάρχουν ταυτόχρονα τοξικοί και μη τοξικοί γενότυποι
- ❑ Με την αποφυγή της κατανάλωσης των τοξικών στελεχών φυκών, οι οργανισμοί περιορίζουν τον κίνδυνο έκθεσης στις μικροκυστίνες

➤ **Παράδειγμα:** Το είδος του φυτοπλανγκτοφάγου ψαριού *Oreochromis niloticus* και ο ασημοκυπρίνος *Hyporhthalmichthys molitrix* μπορούν και διαχωρίζουν τα κυανοβακτήρια του είδους *Microcystis aeruginosa* που περιέχουν μικροκυστίνες από αυτά που δεν περιέχουν τις τοξίνες



# Βιοτικές προσαρμογές στην τοξικότητα των μικροκυστινών

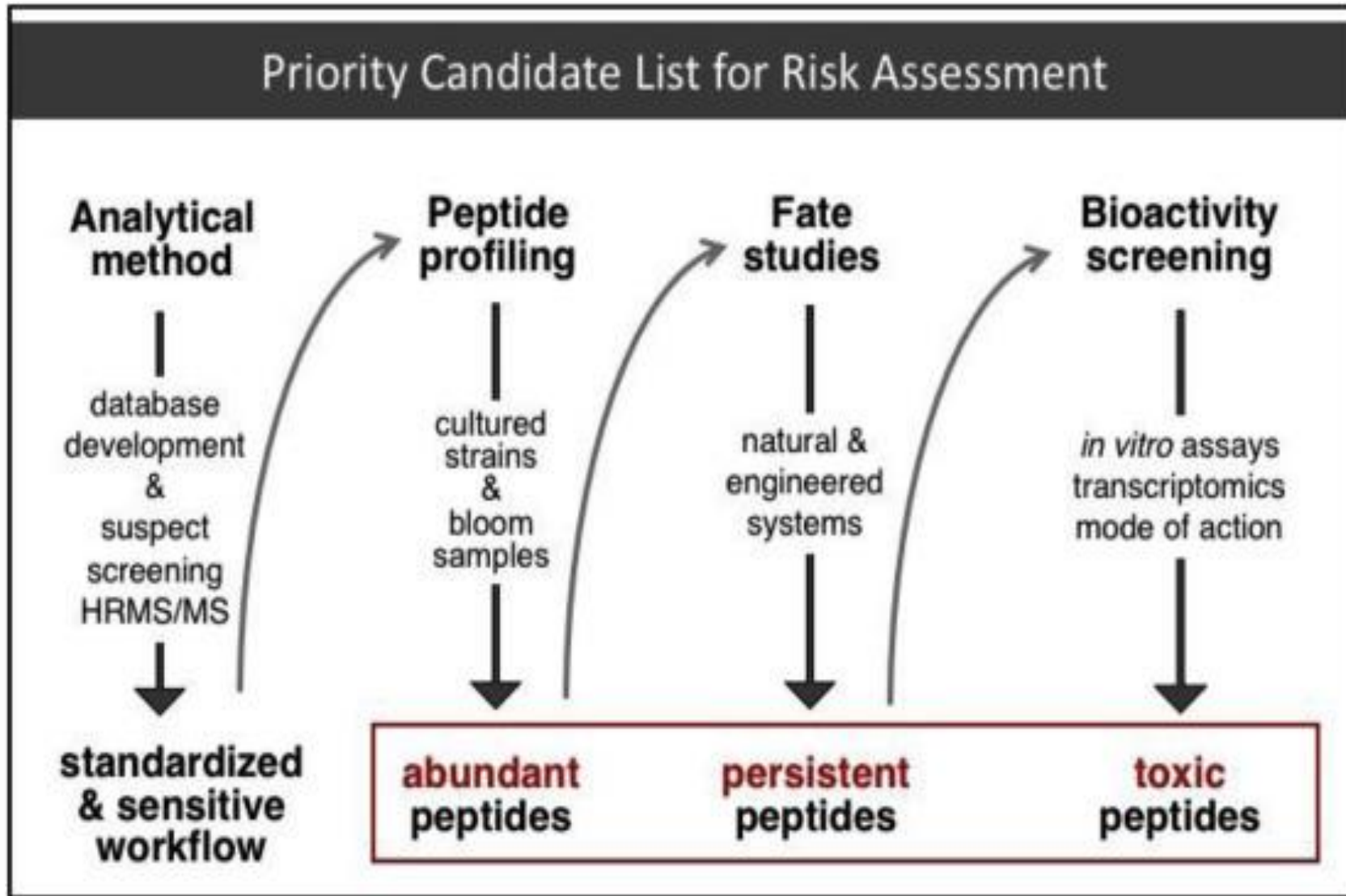
---

## □ Βαθμός ανθεκτικότητας στην τοξικότητα των μικροκυστινών

- Σε περιβάλλοντα όπου η επιλεκτικότητα δεν είναι δυνατή, όπως σε υδατοσυλλογές με υπέρμετρο πολλαπλασιασμό των τοξικών φυκών, οι οργανισμοί μπορούν να προσαρμοστούν αναπτύσσοντας ανθεκτικότητα στις τοξικές μικροκυστίνες
- Ο βαθμός στον οποίο ένας οργανισμός είναι ανθεκτικός στις μικροκυστίνες ποικίλει μεταξύ των ειδών
  - Μύδια, όπως τα *Dreissena polymorpha* και *Mytilus galloprovincialis*, μπορούν να προσαρμοστούν στην έκθεση στις μικροκυστίνες και να συσσωρεύσουν μετρήσιμες συγκεντρώσεις μικροκυστινών στους ιστούς τους χωρίς να εμφανίζουν φαινόμενα θνησιμότητας
  - Κάποια είδη του γένους *Daphnia* επίσης διαφέρουν ως προς την ευαισθησία τους στις μικροκυστίνες



# Κυανοτοξίνες – Αξιολόγηση Κινδύνου



# Μικροκυστίνες και βιοτεχνολογικές εφαρμογές

---

- ❑ Τα κυανοβακτήρια αποτελούν πλούσιες πηγές δομικά νέων και βιολογικά ενεργών μεταβολιτών. Πρόσφατες μελέτες καταδεικνύουν την παρουσία ορισμένων βιοδραστικών ενώσεων στα μπλε-πράσινα φύκη που φαίνεται να επιδεικνύουν αντικαρκινική, αντιμικροβιακή, αντιφλεγμονώδη και άλλες φαρμακευτικές δράσεις
- ❑ Ο έλεγχος των εκχυλισμάτων απομονωμένων ουσιών που απομονώθηκαν από διάφορες περιβαλλοντικές πηγές είναι ένας τρόπος που συμβάλει στην ανακάλυψη βιολογικά ενεργών μεταβολιτών
- ❑ Η έρευνα σχετικά με τους βιοδραστικούς μεταβολίτες των κυανοβακτηρίων περιλαμβάνει μελέτες για την ανακάλυψη νέων αντιβιοτικών ή κυτοτοξικών μεταβολιτών των μικροφυκών, καθώς επίσης και στην ανακάλυψη κυανοβακτηρίων που είναι τοξικά έναντι άλλων κυανοβακτηρίων ή πράσινων φυκών

# Μικροκυστίνες και βιοτεχνολογικές εφαρμογές

---

- ❑ Τα κυανοβακτήρια θεωρούνται σημαντική πηγή διαφόρων προϊόντων με εμπορικό, φαρμακευτικό ή τοξικολογικό ενδιαφέρον
- ❑ Ορισμένα στελέχη κυανοβακτηρίων που έχουν την ικανότητα παράγουν μικροκυστίνες επέδειξαν αντιβακτηριακή δράση έναντι των παθογόνων βακτηρίων *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa*



**Διερεύνηση πιθανής χρήσης ως βιοδραστικές ουσίες => Βιοτεχνολογική αξιοποίηση**