

ESX-1, ESX-3 ve ESX-5 Salgı Sistemleri ve *Mycobacterium Tuberculosis*

ESX-1, ESX-3 and ESX-5 Secretory Systems and *Mycobacterium Tuberculosis*

 Gülşah TOLLU^a

^aMersin Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Mersin, TÜRKİYE

ÖZET Tüberküloz (TB) ile mücadele, günümüz global halk sağlığı önceliklerinden biridir. *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) en önemli bakteriyel patojenlerden biridir; bu patojen dünya nüfusunun neredeyse %30'unu enfekte ederek, birçok kişinin ölümüne neden olmaktadır. Mtb basilleri büyüme, sağkalım ve virülans, membranlardan bakteri yüzeyine ve çevreye kompleks hücre duvarı boyunca bir dizi protein efekti ihraç eden eşsiz salgı sistemleri kullanırlar. Patojenik Mtb'nin 5 paralog ESX salgılama sistemi vardır; bunlar ESX-1 ile ESX-5 arasındadır. ESX salgılama sistemleri diğer birçok aktinobakteriyel, gram-pozitif bakteride bulunur ve son zamanlarda tip VII salgılama sistemleri [type VII secretion system (T7SS)] olarak adlandırılmaları önerilmiştir. T7SS tarafından, konakçı hücrelere salgılanan proteinler Mtb ile ilişkili virülans aracı bir rol oynar; bu durum, bu sistemi gelecekteki ilaç ve aşı gelişi için aday yapar. Bununla birlikte, T7SS'ye dâhil olan bileşenlerin birçoğu tanımlanmış olsa da hem iç hem de dış mikobakteriyel zarlar boyunca translokasyon mekanizması büyük ölçüde açıklanamamıştır. Yapılan tüm çalışmalar incelendiğinde, ESX sistemlerinin mikobakterilerde protein sekresyonunun lokalizasyonunu yöneten, daha önce görülmemiş mekanizmalar oldukları öngörülmektedir. T7SS'nin temel rolünü anlamak, acilen ihtiyaç duyulan yeni potansiyel terapötik hedefleri ve tüberkülozu tedavi etmek için yeni müdahale stratejileri geliştirilmesini sağlayabilir.

ABSTRACT Combating tuberculosis (TB) is one of the current global public health priorities. *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) is one of the most important bacterial pathogens; this pathogen infects almost 30% of the world's population, causing the death of many. Mtb bacilli use unique secretion systems that export a range of protein effects across the complex cell wall, from membranes to the bacterial surface and the environment, in growth, survival and virulence. The pathogenic Mtb has 5 paralogous ESX secretion systems, which range from ESX-1 to ESX-5. ESX secretory systems are found in many other actinobacteria, gram-positive bacteria and have recently been referred to as type VII secretion systems (T7SS). Proteins secreted by T7SS into host cells play a mediating role in Mtb-related virulence, making this system a candidate for future drug and vaccine development. However, although many of the components included in T7SS have been identified, the mechanism of translocation across both internal and external mycobacterial membranes has not been largely explained. When all studies are examined, it is seen that ESX systems are unprecedented mechanisms that govern the localization of protein secretion in mycobacteria. Understanding the basic role of T7SS can lead to the development of new potential therapeutic targets and new intervention strategies to treat tuberculosis.

Anahtar Kelimeler: ESX-1; ESX-3; ESX-5; tüberküloz; tip VII salgı sistemi

Keywords: ESX-1; ESX-3; ESX-5; tuberculosis; type VII secretion system

Dünya Sağlık Örgütü'nün yayımladığı Küresel Tüberküloz Raporu 2019, yeni tüberküloz (TB) vakalarının tanımlanması ve tedavi edilmesinde kayda değer bir ilerleme kaydedildiğini bildirmiştir. Fakat Birleşmiş Milletler'in 2030 yılına kadar TB salgısını sona erdirmeye hedefine ulaşmak için yeterli ilerlemenin kaydedilmediği ve TB'nin yılda hâlen 1,5 milyon

insanın ölümüne neden olan yüksek global yaşam kaybından sorumlu bir hastalık olmaya devam ettiği de bildirilmiştir.¹ *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) çeşitli streslere direnç sağlayarak, konakçıda hayatta kalmak için farklı stratejiler benimsemiştir. Konak immün yanıtın modülasyonu ve konak immün fonksiyondan kaçma Mtb tarafından tercih edilen meka-

Correspondence: Gülşah TOLLU
Mersin Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Mersin, TÜRKİYE/TURKEY
E-mail: gulsahcollu@mersin.edu.tr



Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences.

Received: 10 Mar 2020

Received in revised form: 28 Apr 2020

Accepted: 02 Aug 2020

Available online: 22 Sep 2020

2146-9040 / Copyright © 2020 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

nizmalardır.² Mikobakteriyel hücre duvarı; bir iç zar, peptidoglikan/arabinogalaktan katmanlar, mikolik asit içeren bir katman ve bir dış kapsül katmandan oluşur.³ Mikobakteriler, proteinleri bu fiziksel bariyerlere ihraç etmek için özel bir sekresyon sistemi kullanırlar. Bazı mikobakteriler, 5 adede kadar paralel Tip VII salgı sistemi (T7SS/ESX) içerirler. ESX salgılama yolları proteinlerin 2 zar boyunca salgılanmasına aracılık etseler de bilinen salgılama sistemlerinden farklıdır.⁴ Her ESX sistemi ATPazlar, proteaz, membran proteinleri, aksesuar proteinler ve klasik sinyal sekanslarına sahip olmayan substratlarından oluşur.⁵ Mikobakterilerin en önemli virülans faktörleri, makrofaj enfeksiyon döngüsünün tamamlanması, besinlerin ve metabolitlerin son derece hidrofobik geçirimsiz hücre zarfı boyunca alınması için gerekli olan T7SS ve alt tabakalarıdır.^{6,7} Filogenetik ve karşılaştırmalı genomik analizleri, bu farklı ESX sistemlerinin büyük olasılıkla gen replikasyonu ile ESX-4, ESX-1, ESX-3, ESX-2 ve en son gelişen ESX-5'in sırasıyla geliştiğini göstermiştir.⁸ Yapılan çalışmalarda ESX-1 (ikiz arginin taşıyıcı, granülom oluşumunda ve virülans), ESX-3 (demir alımı), ESX-5 (hücre yüzeyi dekorasyonu), ESX-2 ve ESX-4'ün (sistemlerinin fonksiyonları henüz anlaşılammıştır) virülans ve bakteriyel canlılık için gerekli olduğu gösterilmiştir.^{4,6,9}

TB'yi tedavi etmek için ilk antibiyotik, 1943'te geliştirilen streptomisindir. Ancak monoterapi olarak tarihsel uygulaması nedeni ile günümüzde bu ilaca karşı direnç yaygındır.¹⁰ Geçmişten günümüze farklı ilaçların da TB'ye karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak bireysel olarak hiçbiri bir enfeksiyonun ortadan kaldırılmasında etkili olamamıştır; bu nedenle mevcut tedavi, ilaçların kombine edilerek kullanılmasını önerir. Çok ilaca dirençli TB durumunda, vakaların sadece %46'sı böyle bir rejim kullanılarak tedavi edilmektedir.¹¹ Etkili ilaçların eksikliği, TB'nin tedavisi için yeni terapötik yaklaşımlara ve bakteriyel hedeflere acil ihtiyacı vurgulamaktadır. Hayatta kalma ile ilgili tüm olaylar, mikobakteri genomu tarafından kodlanan proteinlerle düzenlenir. Bu nedenle, ilaca dirençli TB vakalarını tedavi etmek için gelecek vaat eden ilaç hedeflerini belirlemeye ihtiyaç vardır. Bu tamamen Mtb patogenezinin ve hücre içi sağkalımının anlaşılmasına bağlıdır.

Böyle bir hedef; temel virülans faktörü, T7SS olabilir. Bununla birlikte, virülansla ilişkili salgı sistemlerini ve protein sekresyonunu hücre zarfları içindeki farklı bölmelere spesifik olarak lokalize edebildikleri giderek daha açık hâlde görülmektedir ve genellikle bu lokalizasyonun virülans için önemli olabileceğine inanılmaktadır.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Doktor Robert Koch tarafından 1882 yılında keşfedilen, hareketsiz, sporsuz, zorunlu aerob, aside dirençli ve "*Mycobacterium tuberculosis* kompleks" adı verilen bir grup mikobakteri türünün sebep olduğu TB; düşük ve orta gelirli ülkelerde hâlâ morbidite ve mortalitesi yüksek olarak devam eden, gelişmiş ülkelerde bile kendini hissettiren önemli bir enfeksiyon hastalığıdır.¹² Evrimleşme yeteneğine sahip latent olarak kalabilen en önemli insan patojenlerinden birisidir. Dünyanın farklı bölgelerinden izole edilen Mtb'nin genomik sekanslarının son analizleri, basilin 70.000 yıl önce Afrika'da ortaya çıktığını kanıtlar niteliktedir. Aktif pulmoner TB hastalığı olan 1 kişiden, aerosol damlacıkları yoluyla bulaşır. Damlacıkları çevreleyen solunum sekresyonları TB basilinin dehidratasyon, oksijen yoksunluğu ve diğer çevresel streslerden zarar görmesini engeller. Maruziyet sonrasında ilk 2 yılda risk en fazladır.^{13,14}

Basilin Ghon odağı içerisinde çoğalmaya başlaması konağın yaşı, immün sisteminin tepkisi, beslenme yetersizlikleri, alkol kullanımı, diyabet, Bacillus Calmette-Guérin (BCG) ile immünizasyon, HIV/AIDS varlığının olup olmadığı gibi faktörlere bağlı olarak gerçekleşir. TB basilleri, konağın savunma sistemini geçerek hayatta kalır ve konak organizmada replike olarak enfeksiyonu başlatırlar. Kompleks türleri içinde %98 oranında TB hastalığına sebep olan tür, Mtb'dir. Mtb'nin H37Rv suşunun genom büyüklüğü 4.411.529 bp olup, yaklaşık olarak 3.986 proteini kodlamaktadır. Guanin ve sitozin (G+C) oranının %62-70 oluşu, insanlık tarihi kadar eski bu bakteri grubunun ne derece kararlı bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. İnhalasyon sonrası Mtb, siliyal epitelyal hücrelerinde bulunduğu üst solunum yollarındaki bariyerle karşılaşır. Bakteri bu bariyeri aştıktan sonra alveolar, makrofajlarla karşılaşır ve daha sonra Mtb'nin erken tanınması için

anahtar bir role sahip olan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar yanıtlar sergilenir.^{15,16} Şayet immün sistem, enfeksiyon karşısında savunmada başarısız olur ise basil granülom içerisinde çoğalarak sayısını artırır ve bunun sonucu olarak vakaların bazısında akciğerlerde kaviter formasyonlar ile nekroz sonucu hastalığın lokal yayılımı gerçekleşir. Eğer basil, kan yolu ya da lenfatik sistem boyunca yayılırsa miliyer TB oluşabilir. Bu inflamatuvar süreç, aktif TB hastalarında görülen kilo kaybı, ateş, gece terlemesi, eklem ağrısı öksürük gibi tipik semptomların görülmesi ile sonuçlanır.¹⁷

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS VE TİP VII SALGI SİSTEMİ

Mikobakteri türlerinin membran yapısı, asimetrik bir diderm membran arasında bulunan peptidoglikan matrisine sahip olmaları bakımından eşsizdir. İç plazma membran tabakası tipiktir, ancak dış zar [outer membrane (OM)], gram-negatif bakterilerinden oldukça farklıdır. Miyomembran olarak da adlandırılan mikobakteriyel OM, trehaloz mono/dimikolatlar, lipooligosakkaritler, çok çeşitli uzun zincirli (60-90 karbon) α -alkil ve β -hidroksi mikolik asitlerden oluşur.¹⁸ Ek olarak mikobakteriler, mannoz başlıklı lipoglikanlar ve gömülü proteinlerden oluşan kalın bir dış kapsülle çevrilidir.¹⁹ Bakteriler, bu protein zarfı boyunca protein ihraç eden bir dizi taşıma mekanizmasına sahiptir. İki katmanlı gram-negatif hücre zarfı boyunca protein translokasyonuna aracılık eden bakteriyel salgılama sistemleri, Tip I ve VI olarak sınıflandırılmıştır.²⁰ Özel sekresyon sistemi olan ESX-1'in keşfine kadar, Sec, Tat ve flagellar sekresyon sistemlerinin Mtb'de tüm protein ihracatını açıkladığı düşünülüyordu. ESX-1'in ilave substratları ve bileşenleri, bu kompleks salgılama aparatının yapısını, fonksiyonunu ve regülasyonunu içeren modellerin geliştirilmesine yol açan çoklu EccC ailesi, ATPazları dâhil olmak üzere tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Mtb, ESX-1'e ek olarak benzer özelliklere sahip olan ESX-2'den ESX-5'e paralel ESX sistemlerine sahiptir.^{5,21,22}

Salgı sistemleri için sayısal adlandırma, başlangıçta gram-negatif bakterilerle sınırlıydı. Fakat mikobakteriyel hücre zarfının gram-negatif hücre duvarına benzer bir diderm yapısına sahip olduğu an-

laşıldığı için terminoloji, T7SS olarak adlandırılan mikobakteriyel ESX sistemlerini içerecek şekilde genişletilmiştir.²³ T7SS, patojenik mikobakterilere spesifik değildir; patojenik olmayan mikobakterilerde de bulunur ve diğer birçok bakteri homolog sistemlere sahiptir. *Rhodococcus*, *Nocardia* ve *Corynebacterium* gibi bakterilerin çoğu mikobakterilerle yakından ilişkilidir ve benzer bir diderm hücre zarfına sahiptir. İlginç şekilde T7SS homolog grubu *Staphylococcus* ve *Bacillus* türleri dâhil olmak üzere birçok *Firmicutes* türünde de bulunur.²⁴ Bununla birlikte bu sistemler, sadece uzaktan ilişkilidir, çünkü bu bakterilerde sadece EccC membran bileşeninin bir homologu ve EsxA substratlarının homologları bulunur.^{24,25}

Mtb'nin, ilk tanımlanan salgı proteinleri arasında ESAT-6 ve CFP-10 olarak bilinen 2 küçük protein vardır. Bu proteinler daha sonra EsxA ve EsxB olarak değiştirilmiştir. Bu proteinler, bilinen sekresyon sinyali (Sec veya Tat) içermiyordu ve bu nedenle yeni bir sekresyon sistemine bağlı gibi görünüyordu. Yapılan araştırmalar, *esxAB*'yi çevreleyen genlerin çoğunun, gerçekten bu salgı sisteminin bir parçası olduğunu göstermiştir.²³ Bu bölge şimdi *Esx-I* lokusu olarak bilinir ve farklı gen bölgelerini de içerir. Bu genler tanımlandığında, mikobakterilerin bu sekresyon sistemlerinden birçoğuna sahip oldukları hemen anlaşılmıştır. Aslında 5 farklı *esx*-lokusu, mikobakteriyel türlerin kromozomunda bulunabilir. Son zamanlarda, konjugatif mikobakteriyel plazmidler üzerinde ek ESX sistemleri tanımlanmıştır. Bu plazmidler üzerinde, *esx* kümelerinin tip IV benzeri bir salgı kümesine bitişik yerleştirildiğini ve birlikte konjugasyon işlemi için gerekli olduklarını göstermektedir.²⁶

ESX SİSTEMLERİ

Her ESX sistemi, türlere göre değil filogenetik olarak kümelenir ve sistemlerin yüksek düzeyde işlevsel özgüllüğünü gösterir.²⁷ T7SS, 5 genetik lokus içinde kodlanır ve ESX-1 ile ESX-5 olarak adlandırılır; her sistem hücre içinde tanımlanmış bir rol oynar (Tablo 1).

Makrofajlar içinde Mtb'nin, hücre içi hayatta kalmasında anahtar rol oynayan ESX-1 lokusu, EsxA ve EsxB tarafından en çok salgılanan 2 proteini kod-

TABLO 1: Tip VII efektörlerin özeti ve işlevleri.^{5,6,7,23,28-30}

Tip VII efektör	Tür	Roller
EsxA	M. tuberculosis	Hücre zarı lizisi, interferon yanıtlarının aktivasyonu, T hücre aktivasyonu, hücre apoptozunun indüksiyonu, virülans
EsxB	M. tuberculosis	Hücre zarı lizisi, virülans
EsxG	M. tuberculosis	Demir ve çinko alımı
EsxH	M. tuberculosis	Demir ve çinko alımı, hücre içi büyüme, fagozom olgunlaşması T hücre immünojeni
EspA	M. tuberculosis	Virülans, hücre duvarı bütünlüğü
PE19	M. tuberculosis	Virülans, hücre duvarı geçirgenliği
PE5	M. tuberculosis	Demir alımı
PPE4	M. tuberculosis	Demir alımı

M. tuberculosis: *Mycobacterium tuberculosis*.

TABLO 2: *M. tuberculosis*'te bulunan ESX sistemlerinin 5 genetik lokusu. Salgılanan ESX ailesi üyeleri, EspB, PE/PPE aile üyeleri, ATPases EccA ve EccC, sitosolik şaperon EspG ve T7SS'nin membran bileşenleri.^{21,23,30}

ESX sistemleri	Tür	ESX sistemlerinin genetik lokusu
ESX1	M. tuberculosis	espE, espF, espG1, eccA1, eccB1, eccCa1, eccb1, pe35, ppe68, esxB, esxA, espl, eeD1, espK, espL, espB, mycP1
ESX2	M. tuberculosis	eccB2, eccC2, pe36, ppe69, esxD, esxC, espG, rv3888c, eccD2, mycP2, eccE2, eccA2
ESX3	M. tuberculosis	eccA3, eccB3, eccC3, pe5, ppe4, esxG, esxH, espG3, mycP3, eccE3
ESX4	M. tuberculosis	eccB4, mycP4, eccD4, eccC4, rv3446c, esxU, esxT
ESX5	M. tuberculosis	eccB5, eccC5, cyp143, rv1786, ppe25, pe18, ppe27, pe19, esxM, esxN, espG5, eccD5, mycP5, eccE5, eccA5

M. tuberculosis: *Mycobacterium tuberculosis*.

lar.^{6,7} Bu salgı sisteminin erken keşfi ve sayısız takip çalışması nedeni ile T7SS'nin paradigması olarak düşünülse de mikobakterilerin tam virülansı için ESX-3 ve ESX-5 sistemlerinin de gerekli olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.^{7,28,29} Salgılama için gerekli olan ESX sistemlerinin korunmuş bileşenleri EccA, EccB, EccC, EccD, EccE (Ecc: ESX korunmuş bileşen), proteaz MycP, prolin-glutamik asit (PE) ve prolin-prolin-glutamik asit (PPE) proteinleri olarak adlandırılmaktadır (Tablo 2).^{21,23,30} Sitosolik bir bileşen olan EccA hariç, bu proteinler salgılama makinesinin iç zar kısmını oluşturmak için bir araya gelmektedir. MycP'nin membran kompleksi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir, ancak bunun ayrılmaz bir parçası değildir.³⁰

ESX-1

En iyi incelenen ve ilk keşfedilen T7SS, 5 ana virülans faktör, yani CFP-10, ESAT-6, EspA, EspC ve EspR ile ilişkilendirilen ve bazı substratların salgılanmasından sorumlu olan ESX-1'dir.^{6,31-33} ESX-1 ile ilişkili bir protein olan EspA'nın, Mtb'de hücre du-

varı bütünlüğünü etkilediği gösterilmiştir.³⁴ ESX-1, hızla büyüyen çeşitli saprofitik ve patojenik olmayan mikobakterilerde de görülür.⁹ Virülans için ESX-1 salgılanmasının önemi, *Mycobacterium bovis*, BCG aşısı suşu gibi silinmiş bölgelere sahip olan ESX salgılama genlerinin, tam tamamlayıcısını içeren mikobakteriyel suşlar ile virülans olmayan suşların karşılaştırılması yoluyla belirlenmiştir.^{22,35,36} ESX-1 salgılama aparatı, makrofajlarda erken bakteriyel replikasyonda yer alır ve mikobakterilerin fagozomdan enfekte makrofajların sitozolüne kaçmasına izin vererek virülansa katkıda bulunur.^{37,38} ESX-1 patojenik bakteri sistemi, konakçı fagozomal permeabilizasyon, bakteriyel kaçış ve öldürme gibi temel patogenezi adımlarına dâhil olması nedeni ile ilgi çekicidir.^{38,39} Ama hâlâ ESX-1 sekresyon sistemlerinin biyolojik fonksiyonları tam olarak anlaşılammıştır. ESX-1 özel sekresyon sistemleri, diğer bazı patojenik bakteriler arasında da yaygındır; örneğin *Salmonella*, *Shigella* ve *Yersinia*'nın virülansı için tip III sekresyon sistemi kritiktir ve *Helicobacter*, *Legionella* ve *Agrobacterium* için de tip IV sekresyon

sistemi gereklidir.^{40,41} İlginç bir şekilde, tip III ve tip IV salgılama sistemleri bakteriyel kutuplarda spesifik olarak aktif olabilir. Virülansa bağlı protein sekresyonunun polar lokalizasyonunun, patojenlerde yaygın bir özellik olduğunu ima eder. Bununla birlikte, bu iyi çalışılmış salgı sistemlerinin polar lokalizasyonunun virülans için gerekli olup olmadığı bilinmemektedir; çünkü muhtemelen lokalizasyonun moleküler mekanizmaları yetkin sekresyona yakından bağlıdır. Mikobakteriler ile ilgili olarak, genetik gereksinimlerin ve *Esx-1* lokalizasyonunu düzenleyen mekanizmaların tanımlanması, bu önemli soruya yönelik yolu açacaktır.^{42,43}

ESX-3

Mycobacterium chubuense hariç, incelenen tüm mikobakterilerde bulunur ve ESX-3'ün mikobakteriyel genomdaki ilk ESX replikasyonu olduğu bilinir. ESX-3, Mtb'nin in vitro büyümesi için hızlı bir şekilde gerekli olmasına rağmen *M. smegmatis*'in büyümesi için gerekli değildir. ESX-3, ESX tarafından korunan tüm bileşenleri *eccA*'dan E'ye, *mycP*, *esx* ve *pp/ppe* çiftlerinin yanı sıra *espG*'yi içerir. ESX-3 metal homeostazında bakteriyel bir rol oynar, *EsxH* ve *EsxG* gibi proteinleri salgılar.⁴⁴⁻⁴⁸ Bu düşünce, *esx-3*'ün gen kümesinin (*Rv0282-Rv0292*), demir ve çinko açlığına yanıt olarak transkripsiyonel olarak geri alındığı ve demir kullanımında rol oynadığı hem patojenik olmayan mikobakterilerde hem de Mtb'de gösterilir. ESX-1'e benzer olarak, *Esx-3* ayrıca bir çift W_{XG}100 aile üyesini (*EsxG* ve *EsxH*) ve PE-PPE proteinlerini (PE5 ve PPE4) kodlar, ancak spesifik fonksiyonları hâlâ tanımlanmamıştır.^{48,49} İkinci faktörler, taşıma için gerekli olan endozomal sıralama komplekslerinin (ESCRT) bileşenleri ile etkileşime girer. *EsxH-EsxG* kompleksi ESCRT işlevini bozarak fagozom olgunlaşmasını engeller. ESX-3 lokusu tüm mikobakteriyel türlerde korunur.^{49,50} İkincil demir toplama sistemine sahip olan *M. smegmatis*'te yaratılan *esx-3* lokusunun *nakavtları*, doğal bağışıklık sisteminden kaçınma kapasitesini kaybetmiştir. *EsxH*, *EsxG*, ESAT-6 ve CFP-10'a benzer bir heterodimer oluşturmuştur.^{51,52} Bununla birlikte ESX-3 ve alt tabakalarının kesin rolü, verilerin yetersizliği nedeni ile henüz tam açıklığa kavuşturulamamıştır.

ESX-5

Son zamanlarda araştırılan bir başka T7SS ise ESX-5'tir. İlginç bir şekilde, ESX-5, en son gelişen T7S sistemidir. Mtb, *M. leprae*, *M. ulcerans* ve *M. marinum* gibi tüm önemli patojenleri içeren yavaş büyüyen mikobakteriyel türlerle sınırlıdır.⁹ ESX-5, PE ve PPE familyalarının birçok proteinin salgılanmasından sorumludur ve konakçı bağışıklık modülasyonu ile bağlantılıdır. ESX-5'in ortaya çıkışı, patojenik mikobakterilerde *pe/pppe* gen ailelerinin genişlemesinden önce gelir.⁹ Pe ve ppe proteinlerinin fonksiyonu hâlâ çok esrarengizdir. Ancak mevcut veriler pe ve ppe proteinlerinin, hücre yüzeyine maruz kalan mikobakteriyel virülans için önemli olan hücre duvarı proteinleri olduğunu, ayrıca ESX-5 için de gerekli olduğunu göstermiştir. ESX-5 sistemleri, korunmuş bir dizi içeren çeşitli membran proteinlerinden *EccB₅*, *EccC₅*, *EccE₅*'e sahiptir.^{22,23,37} Öngörülen bir transmembran alanı olan 5. korunmuş bileşen, en fazla korunmuş T7SS bileşenleri arasında olan subtilisin benzeri proteaz mikozudur.⁵³ Yapılan çalışmalar *MycP*'nin, çekirdek ESX membran kompleksinin bir parçası olmadığını göstermesine rağmen *MycP₃* ve *MycP₅*'in mikobakteriyel canlılık için gerekli olduğu, *MycP₁* ve *MycP₅*'in ESX-1 ve ESX-5 ile ilişkili olduğu görülmüştür.^{7,54,55} Bununla birlikte ESX-5 ve alt tabakalarının kesin rolü, verilerin yetersizliği nedeni ile henüz tam açıklığa kavuşturulamamıştır.

SONUÇ

TB hastalığı ile mücadele, günümüz global sağlık önceliklerinden biridir ve daha etkili aşilar, hastalık kontrolünü güçlü bir şekilde etkileyebilecek birkaç olasılık arasındadır. T7SS bakteriler arasında çok kısa bir süre önce keşfedilmelerine rağmen daha önce düşünülmediğinden çok daha ilgi çekici ve yaygındır. Ayrıca diğer bakteriyel sekresyon sistemlerinden farklı olarak, hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilerde farklı bakteriyel filumlarda bulunurlar. Mikobakteriyel olmayan T7SS'nin, mikobakteriyel muadillerine kıyasla belirgin sekresyon makineleri ve sekresyon mekanizmaları vardır. Tip VII efektörler, bir dizi türe özgü hücresel fonksiyon sergiler ve bakteriyel ökaryotik hücreler arasındaki etkileşimin yanı sıra bakteriyel etkileşimleri de modüle edebilir. Her ne kadar büyük filogenetik mesafelerde T7SS apara-

tında ve efektörlerinde, göze çarpan anlamlı homolojiler bulunsa da çeşitli özelliklerini basit, tek bedene uyan işlevsel bir çerçeveye bağlamak zordur. Membranları, proteinleri ve DNA'yı hedeflerler ve bakteriyel hücre içinde ve dışında farklı işlevlere sahiptirler. Bakteriler ve belirgin rakipleri arasındaki etkileşimleri yönetir, aynı zamanda konakçı patojen etkileşimlerine aracılık ederler. Bize yeni aşı ve ilaç hedeflerinin yanı sıra tanı için yeni araçlar sağlıyorlar. Biyoinformatik araştırmalar, bir dizi bakteri türünde toksin-antitoksin modülleri ile T7SS arasındaki bir ilişkiyi vurgulamıştır ve yakın tarihli bir rapor, *Staphylococcus aureus*'ta bakteri içi etkileşimlerde rolün deneysel kanıtlarını sunmaktadır. Fakat yapılan araştırmaların da belirttiği gibi T7SS'in engin manzarasının çoğu keşfedilmemiş ve işlenmiş olarak durmaktadır. T7SS'nin ve substratlarının daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılması, mikobakteriyel

hastalıkların tedavisi için yeni konseptlere yol açabilir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan ve dolaylı yollarla bağlantısı bulunan hiçbir kurum ve kuruluş yoktur. Ayrıca hiçbir kurumdaki maddi ve manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği, hissedarlık ve benzer durumlar söz konusu değildir. Araştırmamız bir derleme makalesi olup etik kurul gerekli değildir.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Gülşah Tollu; **Tasarım:** Gülşah Tollu; **Denetleme/Danışmanlık:** Gülşah Tollu, **Kaynak Taraması:** Gülşah Tollu; **Makalenin yazımı:** Gülşah Tollu; **Eleştirel İnceleme:** Gülşah Tollu.

KAYNAKLAR

1. WHO. Global Tuberculosis Report 2019. p.297. [Link]
2. Gengenbacher M, Kaufmann SH. Mycobacterium tuberculosis: success through dormancy. FEMS Microbiol Rev. 2012;36(3): 514-532. [Crossref] [PubMed] [PMC]
3. Sani M, Houben ENG, Geurtsen J, Pierson J, de Punder K, van Zon M, et al. Direct visualization by cryo-EM of the mycobacterial capsular layer: a labile structure containing ESX-1-secreted proteins. PLoS Pathog. 2010;6(3): e1000794. [Crossref] [PubMed] [PMC]
4. Abdallah AM, van Pittius NCG, Champion PAD, Cox J, Luijckx J, Vandenbroucke-Grauls CMJE, et al. Type VII secretion--mycobacteria show the way. Nat Rev Microbiol. 2007;5(11):883-91. [Crossref] [PubMed]
5. Houben ENG, Bestebroer J, Ummels R, Wilson L, Piersma SR, Jiménez CR, et al. Composition of the type VII secretion system membrane complex. Mol Microbiol. 2012;86(2):472-84. [Crossref] [PubMed]
6. Stanley SA, Raghavan S, Hwang WW, Cox JS. Acute infection and macrophage subversion by mycobacterium tuberculosis require a specialized secretion system. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100(22):13001-6. [Crossref] [PubMed] [PMC]
7. Ates LS, Ummels R, Commandeur S, Van de Weerd R, Sparrius M, Weerdenburg E, Alber M, et al. Essential role of the ESX-5 secretion system in outer membrane permeability of pathogenic mycobacteria. PLOS Genet. 2015;11:1005190. [Crossref] [PubMed] [PMC]
8. Stoop EJM, Bitter W, van der Sar AM. Tuberculosis bacilli rely on a type VII army for pathogenicity. Trends Microbiol. 2012;20(10): 477-84. [Crossref] [PubMed]
9. Van Pittius NCG, Gamielien J, Hide W, Brown GD, Siezen RJ, Beyers AD. The ESAT-6 gene cluster of mycobacterium tuberculosis and other high G+C gram-positive bacteria. Genom Biol. 2001;2(10):RESEARCH0044. [Crossref] [PubMed] [PMC]
10. Jagielski T, Ignatowska H, Bakula Z, Dziewit Ł, Napiórkowska A, Augustynowicz-Kopec E, et al. Screening for streptomycin resistance-conferring mutations in mycobacterium tuberculosis clinical isolates from Poland. PLoS One. 2014;9(6):e100078. [Crossref] [PubMed] [PMC]
11. Gygli SM, Borrell S, Trauner A, Gagneau S. Antimicrobial resistance in mycobacterium tuberculosis: mechanistic and evolutionary perspectives. FEMS Microbiol Rev. 2017;41(3): 354-73. [Crossref] [PubMed]
12. WHO. Global Tuberculosis Report, 2017. p.147. [Link]
13. Chapman HJ, Lauzardo M. Advances in diagnosis and treatment of latent tuberculosis infection. J Am Board Fam Med. 2014;27(5): 704-12. [Crossref] [PubMed]
14. Loudon RG, Bumgarner LR, Lacy J, Coffman GK. Aerial transmission of mycobacteria. Am Rev Respir Dis. 1969;100(2):165-71.
15. Stead WW. Pathogenesis of a first episode of chronic pulmonary tuberculosis in man: recrudescence of residuals of the primary infection or exogenous reinfection? Am Rev Respir Dis. 1967;95(5):729-45.
16. Merrell DS, Falkow S. Frontal and stealth attack strategies in microbial pathogenesis. Nature. 2004;430(6996):250-6. [Crossref] [PubMed]
17. Corbett EL, Watt CJ, Walker N, Maher D, Williams BG, Raviglione MC, et al. The growing burden of tuberculosis: global trends and interactions with the HIV epidemic. Arch Intern Med. 2003;163(9):1009-21. [Crossref] [PubMed]
18. Jackson M. The mycobacterial cell envelope-lipids. Cold Spring Harb Perspect Med. 2014;4(10):a021105. [Crossref] [PubMed] [PMC]
19. Chiaradia L, Lefebvre C, Parra J, Marcoux J, Burlet-Schiltz O, Etienne G, et al. Dissecting the mycobacterial cell envelope and defining the composition of the native mycomembrane. Sci Rep. 2017;7(1):12807. [Crossref] [PubMed] [PMC]
20. Costa TR, Felisberto-Rodrigues C, Meir A, Prevost MS, Redzej A, Trokter M, et al. Secretion systems in gram-negative bacteria: structural and mechanistic insights. Nat Rev Microbiol. 2015;13(6):343-59. [Crossref] [PubMed]
21. Orgeur M, Brosch R. Evolution of virulence in the mycobacterium tuberculosis complex. Curr Opin Microbiol. 2018;41:68-75. [Crossref] [PubMed]

22. Abdallah AM, Bestebroer J, Savage ND, Punder K, van Zon M, Wilson L, et al. Mikobakteriyel sekresyon sistemleri ESX-1 ve ESX-5, konakçı hücre ölümü ve inflamatuvar aktivasyonda farklı roller oynar. *J Immunol.* 2011;187:4744-53. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
23. Bitter W, Houben ENG, Bottai D, Brodin P, Brown EJ, Cox JS, et al. Systematic genetic nomenclature for type VII secretion systems. *PLoS Pathog.* 2009;5(10):e1000507. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
24. Pallen MJ. The ESAT-6/WXG100 superfamily - and a new gram-positive secretion system? *Trends Microbiol.* 2002;10(5):209-12. [[Crossref](#)]
25. Burts ML, Williams WA, DeBord K, Missiakas DM. EsxA and EsxB are secreted by an ESAT-6-like system that is required for the pathogenesis of staphylococcus aureus infections. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(4):1169-1174. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
26. Ummels R, Abdallah AM, Kuiper V, Aâjoud A, Sparrius M, Naeem R, et al. Identification of a novel conjugative plasmid in mycobacteria that requires both type IV and type VII secretion. *mBio.* 2014;5(5):e01744-14. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
27. Newton-Foot M, Warren RM, Sampson SL, van Helden PD, van Pittius NCG. The plasmid-mediated evolution of the mycobacterial ESX (Type VII) secretion systems. *BMC Evol Biol.* 2016;16:62. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
28. Simeone R, Sayes F, Song O, Gröschel MI, Brodin P, Brosch R, et al. Cytosolic access of mycobacterium tuberculosis: critical impact of phagosomal acidification control and demonstration of occurrence in vivo. *PLoS Pathog.* 2015;11(2):e1004650. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
29. Tufariello JM, Chapman JR, Kerantzas CA, Wong KW, Vilchêze C, Jones CM, et al. Separable roles for mycobacterium tuberculosis ESX-3 effectors in iron acquisition and virulence. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(3):E348-57. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
30. Van Winden VJC, Damen MPM, Ummels R, Bitter W, Houben ENG. Protease domain and transmembrane domain of the type VII secretion mycosin protease determine system-specific functioning in mycobacteria. *J Biol Chem.* 2019;294(13):4806-14. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
31. Fortune SM, Jaeger A, Sarracino DA, Chase MR, Sassetti CM, Sherman DR, et al. Mutually dependent secretion of proteins required for mycobacterial virulence. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(30):10676-81. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
32. Maciag A, Dainese E, Rodriguez GM, Milano A, Proveddi R, Pasca MR, et al. Global analysis of the mycobacterium tuberculosis Zur (FurB) regulon. *J Bacteriol.* 2007;189(3):730-40. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
33. Carlsson F, Joshi SA, Rangell L, Brown EJ. Polar localization of virulence-related Esx-1 secretion in mycobacteria. *PLoS Pathog.* 2009;5(1):e1000285. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
34. Garces K, Atmakuri K, Chase MR, Woodworth BS, Krastins B, Rothchild AC, et al. EspA acts as a critical mediator of ESX1-dependent virulence in mycobacterium tuberculosis by affecting bacterial cell wall integrity. *PLoS Pathog.* 2010;6(6):e1000957. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
35. Majlessi L, Brodin P, Brosch R, Rojas MJ, Khun H, Huerre M, et al. Influence of ESAT-6 secretion system 1 (RD1) of mycobacterium tuberculosis on the interaction between mycobacteria and the host immune system. *J Immunol.* 2005;174(6):3570-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
36. Pym AS, Brodin P, Brosch R, Huerre M, Cole ST. Loss RD1 contributed to the attenuation of the live tuberculosis vaccines mycobacterium bovis BCG and mycobacterium microti. *Mol Microbiol.* 2002;46:709-17. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
37. Houben D, Demangel C, Van Ingen J, Perez J, Baldeón L, Abdallah AM, et al. ESX-1 mediated translocation to the cytosol controls virulence of mycobacteria. *Cell Microbiol.* 2012;14(8):1287-98. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
38. Simeone R, Bobard A, Lippmann J, Bitter W, Majlessi L, Brosch R, et al. Phagosomal rupture by mycobacterium tuberculosis results in toxicity and host cell death. *PLoS Pathog.* 2012;8(2):1002507. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
39. Van der Woude AD, Mahendran KR, Ummels R, Piersma SR, Pham TV, Jiménez CR, et al. Differential detergent extraction of mycobacterium marinum cell envelope proteins identifies an extensively modified threonine-rich outer membrane protein with channel activity. *J Bacteriol.* 2013;195(9):2050-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
40. Coburn B, Sekirov I, Finlay BB. Type III secretion systems and disease. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(4):535-59. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
41. Backert S, Meyer TF. Type IV secretion systems and their effectors in bacterial pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* 2006;9(2):207-17. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
42. Judd PK, Kumar RB, Das A. Spatial location and requirements for the assembly of the agrobacterium tumefaciens type IV secretion apparatus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(32):11498-503. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
43. Jaumouillé V, Francetic O, Sansonetti PJ, Van Nhieu GT. Cytoplasmic targeting of IpaC to the bacterial pole directs polar type III secretion in shigella. *EMBO J.* 2008;27(2):447-57. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
44. Pandey R, Russo R, Ghanny S, Huang X, Helmann J, Rodriguez GM. MntR(Rv2788): a transcriptional regulator that controls manganese homeostasis in mycobacterium tuberculosis. *Mol Microbiol.* 2015;98(6):1168-83. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
45. Siegrist MS, Unnikrishnan M, McConnell MJ, Borowsky M, Cheng TY, Siddiqi N, et al. Mycobacterial Esx-3 is required for mycobactin-mediated iron acquisition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(44):18792-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
46. Serafini A, Boldrin F, Palù G, Manganelli R. Characterization of a mycobacterium tuberculosis ESX-3 conditional mutant: essentiality and rescue by iron and zinc. *J Bacteriol.* 2009;191(20):6340-4. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
47. Serafini A, Pisu D, Palù G, Rodriguez GM, Manganelli R. The ESX-3 secretion system is necessary for iron and zinc homeostasis in mycobacterium tuberculosis. *PLoS One.* 2013;14(8):e78351. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
48. Siegrist MS, Steigedal M, Ahmad R, Mehra A, Dragset MS, Schuster BM, et al. Mycobacterial Esx-3 requires multiple components for iron acquisition. *mBio.* 2014;5(3):e01073-14. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
49. Stinear TP, Seemann T, Harrison PF, Jenkin GA, Davies JK, Johnson PDR, et al. Insights from the complete genome sequence of mycobacterium marinum on the evolution of mycobacterium tuberculosis. *Genome Res.* 2008;18(5):729-41. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
50. Sassetti CM, Rubin EJ. Enfeksiyon sırasında mikobakteriyel sağkalım için genetik gereksinimler. *Proc. Natl. Acad. Sci. ABD.* 2003;100:12989-94. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
51. Sweeney KA, Dao DN, Goldberg MF, Hsu T, Venkataswamy MM, Henao-Tamayo M, et al. A recombinant mycobacterium smegmatis induces potent bactericidal immunity against mycobacterium tuberculosis. *Nat Med.* 2011;17(10):1261-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
52. Ilghari D, Lightbody KL, Veverka V, Waters LC, Muskett FW, Renshaw PS, et al. Solution structure of the mycobacterium tuberculosis EsxG•EsxH complex: functional implications and comparisons with other M. tuberculosis Esx family complexes. *J Biol Chem.* 2011;286(34):29993-30002. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
53. Houben EN, Korotkov KV, Bitter W. Take five-type VII secretion systems of mycobacteria. *Biochim Biophys Acta.* 2014;843(8):1707-16. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
54. Ohol YM, Goetz DH, Chan K, Shiloh MU, Craik CS, Cox JS. Mycobacterium tuberculosis MycP1 protease plays a dual role in regulation of ESX-1 secretion and virulence. *Cell Host Microbe.* 2010;7(3):210-20. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
55. Griffin JE, Gawronski JD, DeJesus MA, Iorger TR, Akerley BJ, Sassetti CM. High-resolution phenotypic profiling defines genes essential for mycobacterial growth and cholesterol catabolism. *PLoS Pathog.* 2011;7(9):e1002251. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]