



## Niskocząsteczkowe bakteryjne cząsteczki sygnałowe

Krzysztof Pawlik, Katarzyna Kuczek

Zakład Mikrobiologii, Instytut Immunologii  
i Terapii Doświadczalnej im. L. Hirszfelda,  
Polska Akademia Nauk, Wrocław

### Bacterial small signaling molecules

#### Summary

Many bacterial species use small chemical molecules as signaling factors. Signal molecules are released into the environment and once a threshold concentration level has been achieved, they trigger a response in the target cells. This system of cell-cell signaling, termed as "quorum sensing", plays an important role in the coordination of the growth and other processes in bacterial populations. Two types of signaling molecules have been identified: (1) short peptides, common to Gram-positive bacteria and (2) carboxy-acid derivatives commonly utilised by Gram-negative bacteria. Bacteria of the genus *Streptomyces* utilize butyrolactones as signaling molecules and thus form a distinct group among Gram-positives. This review focuses on two model regulatory systems based on carboxy-acid derivatives: the regulation of bioluminescence in *Vibrio fischeri* and the regulation of streptomycin biosynthesis in *Streptomyces griseus*.

#### Key words:

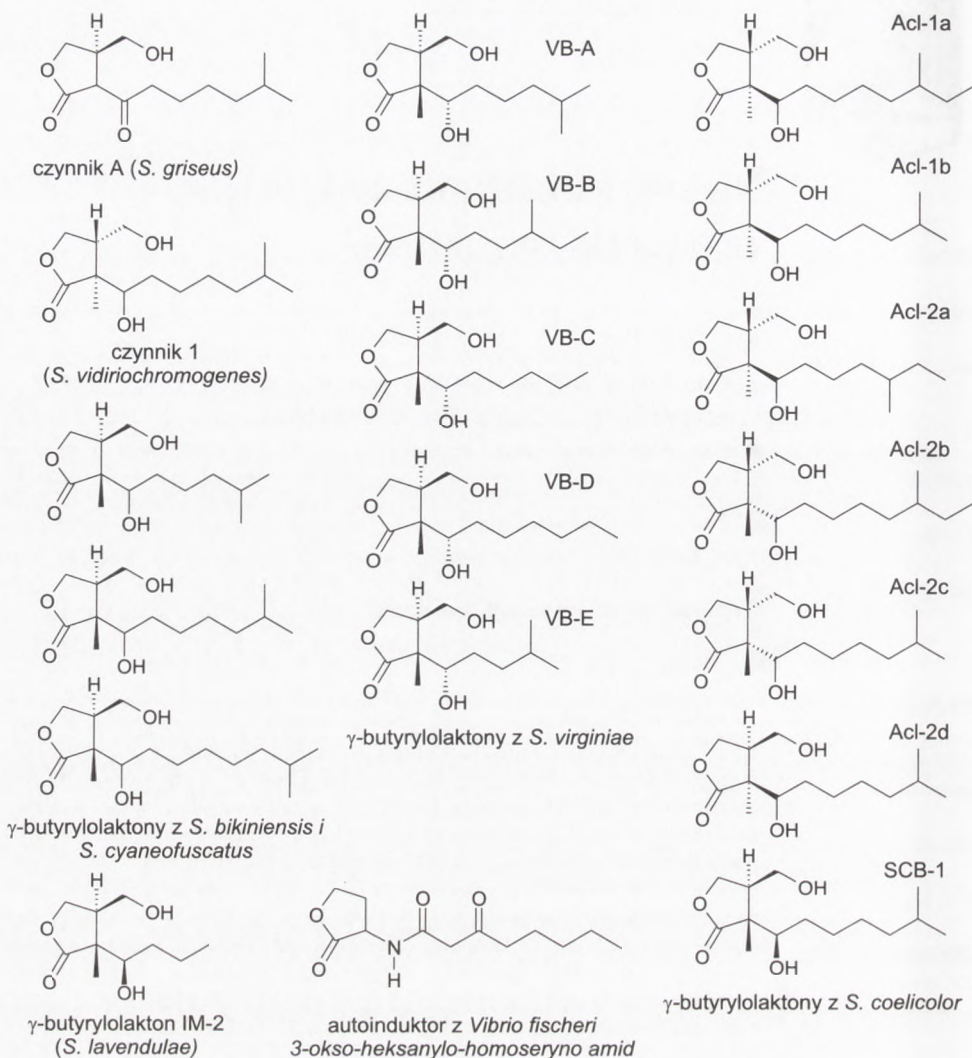
factor A, butyrolactones, homoserine lactones, quorum sensing.

#### Adres do korespondencji

Krzysztof Pawlik,  
Zakład Mikrobiologii,  
Instytut Immunologii  
i Terapii Doświadczalnej  
im. L. Hirszfelda,  
Polska Akademia Nauk,  
ul. R. Weigla 12,  
53-114 Wrocław.

### 1. Wprowadzenie

Przekazywanie sygnału między komórkami jest jedną z podstawowych cech organizmów żywych. Ta cecha pozwala na koordynację procesów fizjologicznych i metabolicznych komórek tworzących tkanki lub komórek bakteryjnych. Przekazywanie sygnałów między komórkami bakterii pozwala na zsynchronizowaną reakcję, charakterystyczną dla wielokomórkowych organiz-



Rys. 1. Butyrylolaktony syntetyzowane przez bakterie rodzaju *Streptomyces* i autoinduktor *Vibrio fischeri*.

mów eukariotycznych i stanowiącą adaptacyjną odpowiedź na zmieniające się warunki środowiska zewnętrznego. Odpowiedź ta zostaje wywołana wzrostem zagęszczenia populacji komórek, co dobrze odzwierciedla angielska nazwa *quorum sensing*. Zjawisko to jest zależne od fazy wzrostu populacji komórek. Ich stan fizjologiczny ulega modulacji w wyniku odpowiedzi. Do procesów regulowanych przez opiswane zjawisko należą: sporulacja, różnicowanie komórkowe, biosynteza metabolitów wtórnych, tworzenie biofilmu, rozwój kompetencji genetycznej, przekazywanie pla-



zmidów koniugacyjnych, rozwój czynników wirulencji oraz bioluminescencja. Komunikacja pomiędzy komórkami kolonii bakteryjnej pozwala na efektywniejsze reagowanie na zmiany środowiska naturalnego, zwiększa przewagę selekcyjną danego szczepu, a szczepom patogennym pozwala na skoordynowaną infekcję gospodarza. W procesie komunikacji międzykomórkowej pośredniczą niskocząsteczkowe związki sygnałowe, wytwarzane przez mikroorganizmy i wydzielane do środowiska. Związki te często są określane jako hormony bakteryjne (działają w bardzo niskich – nanomolarnych stężeniach) lub autoinduktory (indukują ekspresję genów za pośrednictwem sygnałów wytwarzanych przez tę samą populację bakteryjną).

Zjawisko przekazywania sygnałów pomiędzy komórkami bakteryjnymi zostało opisane zarówno u bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych. Zidentyfikowano wiele systemów komunikacji międzykomórkowej, w których podstawową rolę spełniają wydzielane pozakomórkowo, specyficznie rozpoznawane peptydy lub niewielkie cząsteczki chemiczne zawierające w swojej strukturze łańcuch węglowy kwasu karboksylowego oraz lakton (1,2). Pojedynczy szczep bakterii może wytwarzać kilka rodzajów cząsteczek sygnałowych, a poszczególne rodzaje cząsteczek mogą być wytwarzane przez różne szczepy.

U bakterii Gram-ujemnych najczęściej spotykanymi autoinduktorami są acylowe pochodne laktonu homoseryny AHL (*acyl, homoserine lactones*), u bakterii Gram-dodatnich – krótkie peptydy. Gram-dodatnie bakterie rodzaju *Streptomyces*, podobnie jak bakterie Gram-ujemne, wykorzystują swoiste, niskocząsteczkowe związki: gamma-butyrylolaktony (3). Pokrótce opisano systemy regulacji funkcjonujące za pośrednictwem związków zawierających strukturę laktonu.

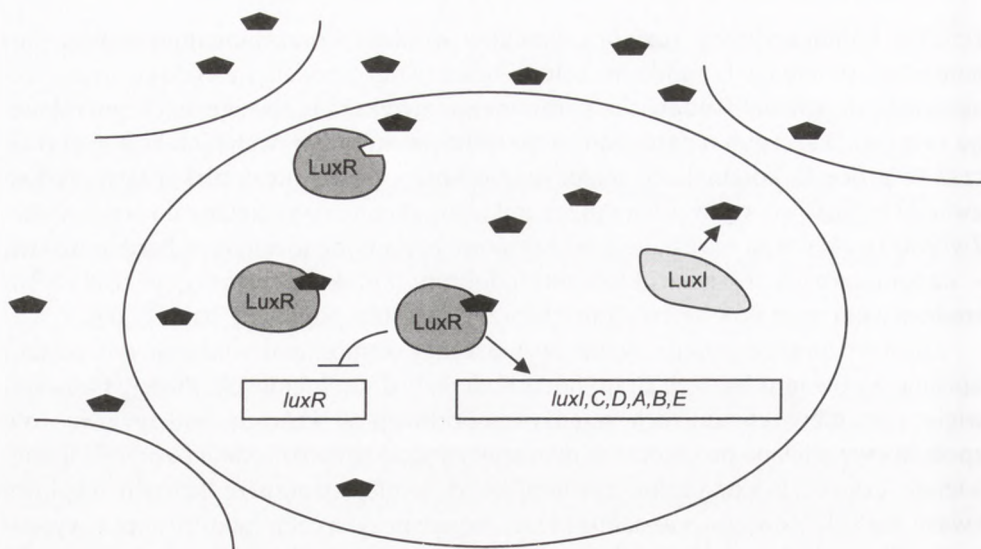
## 2. Systemy regulacji u bakterii Gram-ujemnych

Zjawisko przekazywania sygnałów w warunkach zwiększonej gęstości populacji bakteryjnej zostało po raz pierwszy opisane u morskich mikroorganizmów *Vibrio fischeri* i *Vibrio harveyi*. Procesem ulegającym regulacji jest bioluminescencja, która zachodzi tylko wtedy gdy wytwarzany jest w odpowiednim stężeniu amid 3-oksyhekzanoilo homoseryny (rys. 1), spełniający rolę autoinduktora (4,5). Światło wytwarzane przez bioluminescencję bakterii jest wykorzystywane przez organizmy morskie do odstraszenia napastników, maskowania oraz jako atraktant (1).

Akumulacja autoinduktora może nastąpić, gdy bakterie *Vibrio fischeri* znajdują się w specjalnie przystosowanym organie świetlnym eukariotycznego organizmu morskiego, z którym żyją w symbiozie. Rozwijająca się wtedy czysta hodowla szczepu *Vibrio fischeri* osiąga dużą gęstość komórek, której towarzyszy wzrost stężenia autoinduktora (6,7).

Geny kodujące enzymy uczestniczące w uwalnianiu światła tworzą dwa przeciwstawnie transkrybowane operony: *luxR* i operon lucyferazy *luxI* (rys. 2). W systemie regulacji uczestniczą dwa białka – LuxI i LuxR, które stanowią parę: syntaza (LuxI)





Rys. 2. Schemat regulacji operonu lucyferazy i LuxR przy udziale autoinduktora u *Vibrio fischeri*; LuxR – białko receptorowe, LuxI – syntaza autoinduktora. Owalem zaznaczono komórki bakteryjne, ciemne pola oznaczają cząsteczki autoinduktora.

i receptor autoinduktora (LuxR) (rys. 2). Synteza autoinduktora przebiega z udziałem S-adenozylometioniny, która wiąże się z centrum aktywnym enzymu. Następnie tworzy się wiązanie amidowe między metioniną i odpowiednią resztą kwasu karboksylowego, związaną z białkiem przenoszącym grupy acylowe (ACP). Laktonizacja w obrębie cząsteczki amidu doprowadza do powstania laktonu homoseryny (AHL). W obrębie białka receptorowego LuxR występują dwie domeny: N-końcowa, odpowiedzialna za wiązanie autoinduktora oraz zlokalizowany w pobliżu C-końca region zawierający strukturalny motyw helisa-skręt-helisa, odpowiedzialny za wiązanie się białka z DNA. Kiedy populacja komórek bakterii znajduje się w stadium niskiej gęstości, transkrypcja operonu *luxI* zachodzi na niskim poziomie. Odpowiada temu niski poziom ekspresji syntazy autoinduktora. Po osiągnięciu krytycznego stężenia, autoinduktor łączy się z białkiem LuxR i następuje aktywacja kompleksu dzięki zmianom konformacyjnym białka. Kompleks wiąże się z 20-merową, palindromową sekwencją DNA zwaną *lux boksem*. Sekwencja ta znajduje się około 40 nukleotydów przed startem transkrypcji genu *luxI*. Po związaniu kompleksu następuje aktywacja transkrypcji genu *luxI* oraz całego operonu lucyferazy *luxICDABEG*, który oprócz syntazy LuxI koduje enzymy uczestniczące w procesie luminescencji. Zachodzi dodatkowe sprzężenie zwrotne i następuje gwałtowny wzrost intensywności bioluminescencji w obrębie całej kolonii (6,7). Jednocześnie następuje autorepresja transkrypcji genu *luxR*, hamująca autoindukcję bioluminescencji (rys. 2). Pozwala to na szybkie wyłączenie bioluminescencji, gdy komórka znajdzie się poza obszarem wysokiego stężenia autoinduktora, np. w warunkach wzrostu poza organizmem gospodarza.



U wolno żyjących w środowisku morskim bakterii – *Vibrio harveyi* zbadano podobny do opisanego, system regulacji bioluminescencji. Regulacja obejmuje dwa równoległe, zależne od gęstości populacji, systemy ekspresji strukturalnego operonu lucyferazy *luxCDABE*. W systemach tych funkcjonują dwa różne białka sensorowe, oddziałujące z różnymi autoinduktorami (AI-1 i AI-2). Autoinduktor AI-1, należący do związków klasy AHL, jest syntetyzowany przez białko LuxLM. Autoinduktor AI-2 ma inną strukturę niż AHL i jest syntetyzowany przez białko LuxS. Białka receptorowe mają strukturę domenową. Składają się z domeny receptorowej o aktywności autofosforylującej oraz właściwej domeny regulatorowej, oddziałującej z innym białkiem, o charakterze kinazy białkowej. Kinaza, przez fosforylację kolejnego białka powoduje przeniesienie sygnału do białka efektorowego, działającego jako represor operonu lucyferazy. Podobne układy regulacyjne są powszechne w systemach przenoszenia sygnałów za pośrednictwem autoinduktorów peptydowych u bakterii Gram-dodatnich oraz w systemach funkcjonujących w komórce eukariotycznej.

Autoinduktor AI-2 jest wytwarzany przez syntazę należącą do innej klasy białek niż LuxI. Białka o sekwencji homologicznej do sekwencji aminokwasowej syntazy LuxS zostały opisane u wielu przedstawicieli bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Przypuszcza się, że system LuxS-AI-2 działa jako układ komunikacji między komórkami należącymi do różnych szczepów, natomiast system LuxLM-AI-1 – do komunikacji między komórkami tego samego szczepu. W warunkach wzrostu w populacji składającej się z różnych szczepów, odbieranie przez *V. harveyi* sygnałów o zagęszczeniu komórek zarówno własnego jak i obcych szczepów, odgrywa rolę w uzyskiwaniu przewagi w środowisku przez wzrost własnej liczebności (1).

System regulacji podobny do opisanego u *Vibrio fischeri* funkcjonuje u wielu innych bakterii Gram-ujemnych. U ludzkiego oportunistycznego patogenu *Pseudomonas aeruginosa*, podobnej regulacji podlega wydzielanie enzymów uczestniczących w destrukcji i kolonizacji tkanek gospodarza. W regulacji pośredniczą dwa różne amidy homoseryny: amid 3-oksy-dodekanoilowy i amid butyrylowy (tab. 1) (9,10). Regulacja odbywa się dwuetapowo. W pierwszym etapie wydzielanie amidu 3-oksy-dodekanoilowego uruchamia ekspresję enzymów odpowiedzialnych za destrukcję tkanek gospodarza. Kolejny etap uruchamiany przez amid butyrylowy rozpoczyna ekspresję kilku białek: podjednostek sigma polimerazy RNA charakterystycznych dla fazy stacjonarnej, hemolizujących biosurfaktantów i białek związanych z syntezą cytotoksycznych lektyn. Zaburzenie tego etapu prowadzi do zahamowania tworzenia biofilmu komórek *P. aeruginosa*, warunkującego efektywną kolonizację tkanek (11).

Patogen roślinny *Agrobacterium tumefaciens* wytwarza autoinduktory o strukturze amidów homoserynowych, które uczestniczą w regulacji koniugacyjnego przekazywania plazmidu Ti pomiędzy komórkami bakterii. Plazmid Ti, który zawiera geny TraI i TraR kodujące syntazę autoinduktora i białko receptorowe, zostaje przekazany do jądra komórki roślinnej. W wyniku regulacji procesu koniugacji wzrasta efektywność przekazywania plazmidu do komórek roślinnych.



Tabela 1

## Bakteryjne, chemiczne związki sygnałowe i ich działanie

Cząstka sygnałna	Organizm syntetyzujący	Wpływa na:
VB-A, VB-B, VB-C, VB-D, VB-E	<i>Streptomyces virginiae</i>	syntezę wirginiamycyny
CZYNNIK 1	<i>Streptomyces viridibromogenes</i>	syntezę antracyklin i sporulację u <i>S. griseus</i>
IM-2	<i>Streptomyces lavendulae</i>	brak danych
SCB1, Acl-1a, Acl-1b, Acl-2a, Acl-2b, Acl-2c, Acl-2d	<i>Streptomyces coelicolor</i>	brak danych
Czynnik A	<i>Streptomyces griseus</i>	syntezę streptomycyny i oporność na streptomycynę
butyrylolakton <i>Streptomyces bikiniensis</i>	<i>Streptomyces bikiniensis</i> <i>Streptomyces cyaneofuscatus</i>	syntezę antracyklin u <i>S. griseus</i>
amid 3-oksyoheksanoilo homoseryny	<i>Vibrio fischeri</i>	bioluminescencję
amid butyrylo homoseryny	<i>Aeromonas hydrophila</i>	syntezę proteazy serynowej i metaloproteazy
amid heksanoilo homoseryny	<i>Chromobacterium violaceum</i>	syntezę pigmentu, egzoproteaz, i enzymów chitynolitycznych
amid 3-oksyoheksanoilo homoseryny	<i>Erwinia carotovora</i>	syntezę egzoenzymów i antybiotyku karbapenemowego
amid 3-oksyo-dodekanoilo homoseryny	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	wirulencję, tworzenie biofilmu
amid 7,8-cis-tetradekanoilo homoseryny	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	zapobiega agregacji komórek
amid butyrylo homoseryny	<i>Serratia liquefaciens</i>	wydzielanie egzoproteaz, różnicowanie komórek

Do rozpoczęcia koniugacji konieczny jest autoinduktor oraz białka opinowe wytwarzane przez roślinę w miejscu infekcji. Opiny, kodowane przez geny zawarte w plazmidzie Ti, stanowią źródło pokarmowe dla bakterii oraz zapoczątkowują kaskadę regulatorową. W sposób pośredni opiny indukują ekspresję TraR. Związanie autoinduktora z białkiem TraR uaktywnia białko i wywołuje jego dimeryzację. Dimery wiążą się z promotorem operonu kodującego białka niezbędne w procesie koniugacji. W tym skomplikowanym systemie regulacji *Agrobacterium tumefaciens* reaguje zarówno na sygnały pochodzące z komórek bakteryjnych jak i na sygnały wytwarzane przez zainfekowane komórki roślinne (12,13).

W tabeli 1 i na rysunku 1 podano przykłady związków sygnałowych występujących u bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych: ich struktury, występowanie i znane działanie.

### 3. Czynniki A jako regulatory

Bakterie rodzaju *Streptomyces* charakteryzują się złożonym cyklem życiowym, który upodabnia te mikroorganizmy do niższych organizmów eukariotycznych –



grzybów. W trakcie rozwoju tworzą grzybnię podstawową, grzybnię powietrzną i zarodniki. Kiełkujący zarodnik rozwija się w strzępkę grzybni podstawowej, nazywanej też substratową.

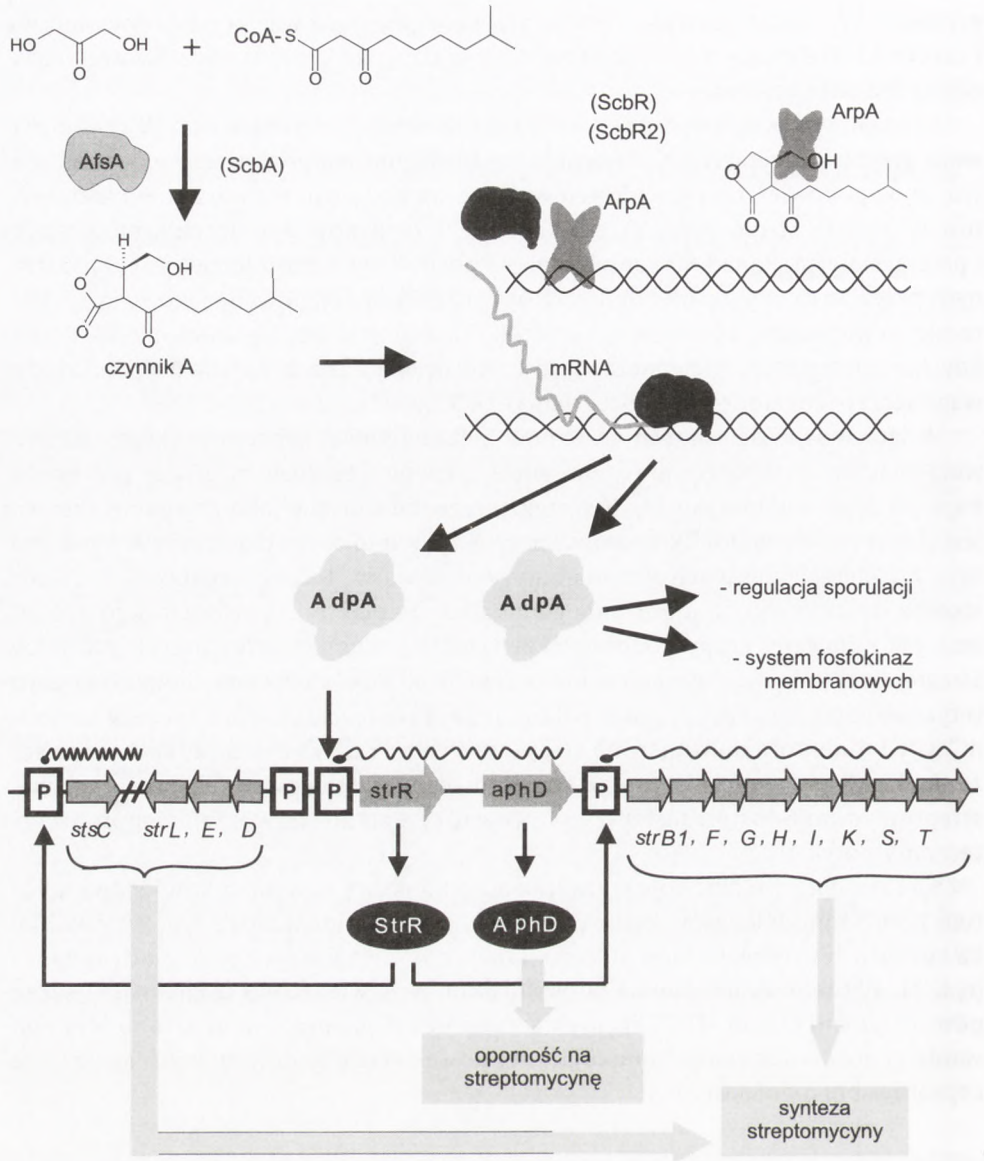
Z fazami wzrostu *Streptomyces* związane są zmiany metaboliczne. W czasie rozwoju grzybni wegetatywnej następuje gromadzenie materiałów zapasowych. Rozwój grzybni powietrznej jest skorelowany ze wzmożonym wytwarzaniem metabolitów wtórnych. *Streptomyces* są źródłem wielu związków o znaczeniu medycznym i przemysłowym. Ponad 60% antybiotyków pochodzenia naturalnego jest wytwarzanych przez *Streptomyces*. Metabolity wtórne często są definiowane jako związki, które nie są konieczne do wzrostu komórek. Ta definicja jest ograniczona do warunków laboratoryjnych, wiele metabolitów wtórnych ma znaczenie dla uzyskania przewagi szczepu w środowisku bytowania (14,15).

W latach sześćdziesiątych Chochłowski zidentyfikował substancję, która aktywowała syntezę streptomycyny w mutancie szczepu *Streptomyces griseus* nie produkującym tego antybiotyku (3). Związek ten został opisany jako czynnik A, którym jest 2-(6'-metyloheptylo)-3R-hydroksymetylo-4-butanolid. Do dziś czynnik A jest jednym z najlepiej opisanych gamma-butyrylolaktonów. Nazwę czynnik A (*A Factor*) stosuje się zarówno do określenia gamma-butyrylolaktonu pochodzącego z *S. griseus*, jak i dla całej grupy podobnych związków pochodzących z innych gatunków *Streptomyces* (tab. 1). Doświadczenia przeprowadzone z użyciem chemicznie zsyntetyzowanego czynnika A potwierdziły jego funkcję aktywatora syntezy streptomycyny i induktora oporności na streptomycynę. Podawanie czynnika A już w stężeniu 1 nM, przywracało syntezę streptomycyny i aktywowało ekspresję enzymu streptomycyno-6-fosfotransferazy – prowadzącego do wytworzenia oporności na ten antybiotyk.

Syntaza butyrylolaktonów wytwarza autoinduktory w wyniku kondensacji glicerolu i pochodnych kwasów karboksylowych. Jeden gatunek może syntetyzować kilka różnych butyrylolaktonów uczestniczących w niezależnych systemach regulacji (rys. 1). Występowanie gamma-butyrylolaktonów stwierdzono u kilkunastu szczepów *Streptomyces* (tab. 1). U licznych szczepów *Streptomyces* stwierdzono występowanie genów o sekwencji homologicznej do sekwencji genów znanych syntaz i receptorów butyrylolaktonów.

#### 4. Kaskada regulacji przy udziale czynnika A u *S. griseus*

U *Streptomyces griseus* poznano kaskadę regulacyjną – ciąg reakcji zapoczątkowanych przez oddziaływanie białkowego receptora z czynnikiem A. Czynnik A jest syntetyzowany w wyniku kondensacji glicerolu i dziesięciowęglowego ketokwasu. Enzym katalizujący syntezę jest kodowany przez gen *afsA*. Podstawowym elementem regulacji z udziałem czynnika A jest para białek AfsA i ArpA – syntazy gamma-butyrylolaktonu i receptora wiążącego czynnik A (rys. 3) (16-18).



Rys. 3. Schemat kaskady regulacyjnej z udziałem czynnika A i indukcji syntezy streptomycyny u *Streptomyces griseus* (16). Wyjaśnienia symboli w tekście.

Syntaza gamma-butyrylolaktonu jest aktywowana przez system kinaz białkowych. Kinaza błonowa AfsK jest fosforylowana w wyniku działania czynnika zewnętrznego, następnie przenosi resztę fosforanową na białko AfsR. Fosforylowane białko AfsR aktywuje ekspresję białka AfsA.



Białko ArpA zawiera dwie domeny, domenę wiążącą DNA i domenę wiążącą gamma-butyrylolakton. Domena wiążąca DNA, zlokalizowana jest na N-końcu białka, zawiera motyw helisa-pętla-helisa. Domena wiążąca gamma-butyrylolakton znajduje się w C-końcowej części białka. Domeny są niezależne od siebie, unieczynnienie domeny wiążącej DNA nie wpływa na wiązanie ligandu, również unieczynnienie domeny wiążącej ligand nie zmienia powinowactwa białka do DNA. Związanie gamma-butyrylolaktonu wzmacnia tendencję białka ArpA do tworzenia dimerów (17,18). W niskim stężeniu gamma-butyrylolaktonu w komórce, białko ArpA wiąże się z sekwencją promotorową genu *adpA* i uniemożliwia transkrypcję genu białka AdpA. Zwiększenie stężenia czynnika A powoduje jego wiązanie do białka ArpA i uwolnienie sekwencji promotorowej genu *adpA*. Zachodzi derepresja promotora genu *adpA* i ekspresja białka AdpA (rys. 3).

Stwierdzono, że przekroczenie stężenia 0,7 nM przez czynnik A powoduje powstawanie kompleksów dimeru białka ArpA z cząsteczkami czynnika A i uruchamia syntezę białka AdpA. Zwiększanie stężenia czynnika A powyżej krytycznego stężenia (około 1nM) nie zwiększa już poziomu ekspresji białka AdpA.

Poziom ekspresji białka ArpA (represora AdpA) nie wpływa na regulację ekspresji białka AdpA, ekspresja AdpA jest regulowana stężeniem czynnika A, które z kolei jest wynikiem aktywności syntazy AfsA. W ten sposób komórki w jednej kolonii mogą wzajemnie aktywować wytwarzanie streptomycyny.

Białko AdpA aktywuje operon zawierający geny *strR* i *aphD*. Białko StrR jest aktywatorem operonu zawierającego geny kodujące białka uczestniczące w syntezie streptomycyny, białko AdpH jest aktywatorem genu kodującego enzym warunkujący oporność na streptomycynę. Jednoczesna ekspresja genów *strR* i *adpH* pozwala na skorelowanie oporności na streptomycynę z jej syntezą.

Wykazano, że białko AdpA wpływa na sporulację *S. griseus* i ekspresję genów białek związanych z transportem błonowym i przekazywaniem sygnałów. Poprzez aktywację ekspresji białka AdpB, białko AdpA wpływa na rozpoczęcie syntezy białka fosfokinazy AmfR oraz białek AmfA i AmfB (podjednostek transportera błonowego zależnego od ATP). Ekspresja genów *amfR*, *amfA* i *amfB* stanowi punkt połączenia kilku systemów regulacji ekspresji u *S. griseus*. Gen *amfR* zawiera kodon leucynowy TTA, który jest rzadkim kodonem u *Streptomyces*. Ekspresja tRNA odpowiadającego temu kodonowi jest czynnikiem regulującym metabolizm wtórny u *Streptomyces*. Kinaza AmfR obecna w komórce jest fosforylowana przez kinazę błonową AmfK i w ten sposób uczestniczy w przekazywaniu sygnałów do komórki. Białka AmfA i AmfB są błonowymi białkami transportującymi, prawdopodobnie uczestniczą w systemie przekazywania sygnałów przez peptydowe cząsteczki sygnałowe. U *S. griseus* występują dodatkowo inne, homologiczne z ArpA białka BarA i BarB.

W przypadku kilku szczepów *Streptomyces* stwierdzono występowanie białek homologicznych z białkami AfsA i ArpA. U *Streptomyces coelicolor* A3(2) – modelowego szczepu w badaniach genetycznych, stwierdzono ekspresję białka syntazy butyrylolaktonu ScbA i białka receptorowego ScbR (19,20). W chromosomalnym DNA tego



samego szczepu stwierdzono również występowanie genów białek ScbR2, CrpA i CrpB, homologicznych z ArpA (21). System regulacji z udziałem autoinduktorów został poznany fragmentarycznie u *S. coelicolor* A3(2). Stwierdzono, że ekspresja genów *scbR* i *scbA* powiązana jest złożonym systemem wzajemnej represji. Ekspresja tych genów zachodzi w krótkim okresie fazy przejściowej wzrostu pomiędzy fazą logarytmiczną a stacjonarną. Wiadomo, że białko ScbR wiąże gamma-butyrylolakton SCB1, nie znane są natomiast metabolity wtórne, których synteza jest regulowana przez ten system (19).

## 5. Podsumowanie

Zjawisko międzykomórkowego przekazywania sygnałów w warunkach zwiększonej gęstości populacji bakteryjnej jest jednym z czynników regulacji procesów fizjologicznych. Zjawisko to, rozpowszechnione zarówno u bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych, pozwala na koordynację procesów życiowych komórek bakteryjnych żyjących w populacji i upodabnia je do wielokomórkowych organizmów eukariotycznych. W przekazywaniu sygnałów uczestniczą niskocząsteczkowe substancje chemiczne, syntetyzowane przez bakterie oraz specyficzne białka receptorowe.

Praca została wykonana w ramach działalności statutowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej przy wsparciu Komitetu Badań Naukowych, projekt 6P04B 025 16.

## Literatura

1. Whitehead N. A., Barnard A. M. L., Slater H., Simpson N. J. L., Salmond G. P. C., (2001), *FEMS Microbiol. Rev.*, 25, 365-404.
2. *Cell-cell Signaling in Bacteria*, (1999), Eds. Dunney G. M., Winans S. C., Washington DC ASM Press.
3. Chochłowa A. S., Towarowa I. I., Borisowa L. N., Pliner S. A., Szewczenko L. N., Kornitskaia E. I., Iwkina N. S., Rapoport I. A., (1967), *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, 177, 232-235.
4. Kaplan H. B., Greenberg E. P., (1985), *J. Bacteriol.*, 163, 1210-1214.
5. Engebrecht J., Silverman M., (1984), *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 13, 4154-4158.
6. Ruby E. G., (1999), *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 1, 13-21.
7. Eglund K. A., Greenberg E. P., (1999), *Mol. Microbiol.*, 31, 1197-1204.
8. Visick K. L., McFall-Ngai M. J., (2000), *J. Bacteriol.*, 182, 1779-1787.
9. Pearson J. P., Gray K. M., Passador L., Tucker K. D., Eberhard A., Iglewski B. H., Greenberg E. P., (1994), *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 91, 197-201.
10. Pearson J. P., Passador L., Iglewski B. H., Greenberg E. P., (1995), *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 92, 1490-1494.
11. Davies D. G., Parsek M. R., Pearson J. P., Iglewski B. H., Costerton J. W., Greenberg E. P., (1998), *Science*, 280, 295-298.
12. Dessaux Y., Petit A., Ellis J. G., Legrain C., Demarez M., Wiame J. M., Popoff M., Tempe J., (1989), *J. Bacteriol.*, 171, 6363-6366.
13. Zhang L., Murphy P. J., Kerr A., Tate M. E., (1993), *Nature*, 362, 446-448.
14. Chater K. F., (1989), *Trends Genet.*, 5, 372-377.
15. Chater K. F., (1993), *Microbiology*, 47, 685-713.



16. Ohnishi Y., Kameyama S., Onaka H., Horinouchi S., (1999), *Mol. Microbiol.*, 34, 102-111.
17. Onaka H., Ando N., Nihira T., Yamada Y., Beppu T., Horinouchi S., (1995), *J. Bacteriol.*, 177, 6083-6092.
18. Onaka H., Horinouchi S., (1997), *Mol Microbiol.*, 24(5), 991-1000.
19. Takano E., Chakraburty R., Nihira T., Yamada Y., Bibb M. J., (2001), *Mol. Microbiol.*, 41, 1015-1028.
20. Takano E., Nihira T., Hara Y., Jones J. J., Gershater C. J., Yamada Y., Bibb M., (2000), *J. Biol. Chem.*, 275, 11010-11016.
21. Onaka H., Nakagawa T., Horinouchi S., (1998), *Mol. Microbiol.*, 28, 743-753.