

УДК 579.017.7+577.218

**РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БАЦИЛЛ***А.Р. Сабирова, А.А. Тойменцева, М.Р. Шарипова***Аннотация**

В работе рассматриваются механизмы адаптации бацилл к различным условиям окружающей среды. Обсуждается вклад различных способов регуляции экспрессии в формирование интегрированного ответа клеток, оценивается роль глобальных регуляторов (AbrB, CspA, CodY, TtrA, GlnR и SinR) и двухкомпонентных систем сигнальной трансдукции, отвечающих за синтез белков биodeградации, состояние компетентности и лизис клеток. Анализируются пути взаимодействия разных регуляторных систем.

**Ключевые слова:** бациллы, экспрессия генов, факторы транскрипции, глобальная регуляция, двухкомпонентные системы трансдукции сигнала.

---

В процессе жизнедеятельности бактерии постоянно сталкиваются с неблагоприятными факторами, поэтому у микроорганизмов в процессе эволюции выработались различные механизмы ответа на эти воздействия. Результатом адаптационных ответов является экспрессия одного или группы генов, обеспечивающих выживание и пролиферацию клетки

Бациллы в ходе эволюции выработали сложную и разветвленную регуляторную систему, в основе которой лежит механизм сигнальной трансдукции, а именно сеть двухкомпонентных систем регуляции экспрессии генов [1]. Выяснение регуляторных сетей, управляющих экспрессией генов, в том числе генов поздних белков, многие из которых представляют коммерческий интерес, открывает новые перспективы в микробной биотехнологии. Молекулярные механизмы, а также способы их взаимодействия, контролируемые интегрированный ответ микробной клетки на изменения среды, в настоящее время изучены недостаточно. Вклад разных систем регуляции в клеточный ответ можно оценить путем анализа уровня транскрипции в заданных условиях, а также с помощью мутантных штаммов с дефектными регуляторными белками. Способы регуляции экспрессии поздних генов отражены в структуре промоторов, анализ которых позволяет определить потенциальные механизмы активации транскрипции.

В период перехода от экспоненциальной к стационарной фазе роста в бактериальных клетках запускается экспрессия генов, продукты которых участвуют в формировании адаптационных ответов, способствующих выживанию бактерий. Ответом на стрессовые факторы может быть образование биопленок, выработка токсинов, секреция ферментов деградации и антибиотиков, а также генетическая трансформация [2, 3]. У бацилл идентифицировано семейство внеклеточных белков, принадлежащих к классу Phr-сигнальных молекул и отвечаю-

щих за социальную функцию [4]. Phr-сигнальные белки после секреции в окружающую среду процессируются, и короткие олигопептиды снова транспортируются в клетку, где взаимодействуют с внутриклеточными рецепторными белками – Rap-фосфатазами, участвующими в регуляции экспрессии генов [4]. Процессинг предшественников Phr-белков (PhrA, PhrE, PhrC) в пентапептиды (зрелая форма) является ключевым в инициации спорообразования и развитии состояния компетентности [5]. Гены *rap* и *phr*, кодирующие фосфатазы и пептиды соответственно, формируют *rap-phr* сигнальные кассеты [6]. Известны семь сигнальных кассет в геноме *B. subtilis*. Секвенирование геномов других грамположительных спорообразующих бактерий показало распространение *rap-phr* генных кассет, регулирующих процесс споруляции, генетическую компетентность и гены, отвечающие за кворум-ответ [7].

Экспрессия генов бацилл в период постэкспоненциального роста контролируется плейотропными глобальными регуляторами – AbrB, CspA, CodY, TnrA, GlnR и SinR, которые активируют либо репрессируют бактериальные гены [8, 9]. Глобальные регуляторы распознают и взаимодействуют со специфическими нуклеотидными последовательностями генов-мишеней, образуя регулоны, и обуславливают контроль метаболических путей, клеточного деления, ответа на специфические сигналы окружающей среды, споруляцию, репликацию, и многие другие процессы [1].

**AbrB** – регулятор транскрипции многих генов бацилл в экспоненциальной, переходной и постэкспоненциальной фазах роста [10]. Среди них выявлены гены, ответственные за метаболизм клетки, образование биопленок, синтез антибиотиков, подвижность клеток, состояние компетентности, синтез внеклеточных ферментов и спорообразования [4, 11]. Установлено, что белок AbrB регулирует экспрессию гена внеклеточной щелочной протеазы *B. subtilis*, оперонов *dpp* (транспорт дипептидов) и *rbs* (транспорта рибозы *B. subtilis*), гена *phrE* фосфатазы, гена *tucA*, кодирующего антибиотик, гена *qcr* цитохром редуктазы, гена *spoVG*, участвующего в спорообразовании, гены *yqxM*, *sipW*, *tasA*, кодирующие споро-ассоциированные антибактериальные белки [11, 12]. Белок AbrB синтезируется на высоком уровне в период экспоненциальной фазы роста, уровень экспрессии резко снижается, когда клетки входят в стационарную фазу. Экспрессия гена *abrB* подавляется ответным регулятором Spo0A [13].

В геномах *Bacillus*, *Clostridium* и *Listeria* идентифицированы ортологи и паралоги белка AbrB. Показано, что AbrB участвует в активации факторов вирулентности у *B. cereus* и *B. anthracis* [14, 15]. Два AbrB-паралога *B. subtilis* – **Abh** и **SpoVT** – имеют высокую гомологию N-концевого ДНК-связывающего домена. Для глобального регулятора AbrB и его гомолога Abh установлена последовательность ДНК сайтов взаимодействия. Она представляет собой мотив **TGGNA**, окруженный А/Т-богатыми повторами [16]. Установлен прямой контроль экспрессии генов этими глобальными регуляторными белками посредством связывания с TGGNA-мотивами. Менее изучен белок SpoVT, однако известно, что он регулирует экспрессию 15 генов [17].

Углеродно-катаболическая репрессия/активация представляет собой регуляторный механизм, благодаря которому клетка координирует метаболизм углерода, источники энергии и другие процессы. Углеродная катаболическая репрессия

происходит, когда гены и опероны вовлечены не только в катаболизм клетки, но и в анаболические процессы, такие как синтез определенных ферментов биодеградации и вторичных метаболитов, которые не синтезируются в присутствии предпочтительных и легкоусваиваемых источников углерода и энергии [18]. Углеродная катаболитная активация происходит, когда экспрессия определенных оперонов стимулируется в присутствии предпочтительных источников углерода [19].

У *B. subtilis* идентифицированы два компонента катаболитного контроля: *cis*-активная палиндромная последовательность из 14 п.о. **TGTAAGCGTTAACA**, называемая последовательностью катаболитно-ответного элемента (*cre*-бокс от catabolite-responsive element), и **CcpA** регуляторный белок, член LacI/GalR семейства транскрипционных регуляторов [20]. Гены, репрессируемые регуляторным белком CcpA, содержат CcpA-боксы внутри или ниже промоторной области. И наоборот, *cre*-сайты, расположенные значительно выше точки +1, активируют экспрессию [21]. Белок CcpA контролирует транскрипцию генов различным образом: путем связывания с *cre*-последовательностями в регуляторной области или самостоятельно, поскольку в ряде CcpA-зависимых генов не идентифицируются *cre*-сайты [22–24]. В присутствии глюкозы в среде CcpA подавляет экспрессию более 100 генов и оперонов, контролируемых механизмом катаболитной репрессии. Способность белка CcpA связываться с *cre*-последовательностью контролируется присутствием кофакторов: белков HPr (Ser~P) и Crh (Ser~P) [25, 26]. Регуляция осуществляется при взаимодействии комплекса CcpA и P-Ser-HPr с *cre*-боксом оперонов-мишеней [23, 27]. Комплекс CcpA и P-Ser-HPr (серин-фосфорилированной формы HPr) способен как инициировать, так и подавлять экспрессию различных генов и оперонов, включая некоторые гены, кодирующие транспортные системы, углеродный, фосфатный и азотный метаболизм [27]. Более того, в клетках бактерий имеются CcpA-независимые системы катаболитной регуляции, осуществляемой в присутствии CggR- и CcpN-транскрипционных репрессоров или при участии белка P-His-HPr (гистидин-фосфорилированная форма HPr) [27].

Сигналом для адаптации бактерий является истощение питательных веществ. При переходе в стационарную фазу роста или образовании эндоспор у бацилл обнаружено изменение концентрации внутриклеточного пула гуанозинтрифосфата (ГТФ, субстрат для синтеза РНК) [28]. При этом происходит активация глобального транскрипционного регулятора **CodY** – ГТФ-зависимого белка *B. subtilis*, контролирующего экспрессию генов в стационарной фазе роста [4, 29]. CodY действует как репрессор транскрипции, но некоторые гены регулирует позитивно. CodY-регулируемые гены вовлечены в азотный и углеродный метаболизм [28, 30].

Активность фактора CodY возрастает при взаимодействии с двумя типами эффекторов, в качестве которых выступают аминокислоты с разветвленными цепями (изолейцин, лейцин, валин – ИЛВ) и ГТФ [31]. Экспрессия генов, регулируемых фактором CodY, подавляется, если внутриклеточный пул ГТФ, валина и/или изолейцина высок. Репрессия снимается, когда содержание этих метаболитов в клетке понижается в результате истощения питательных веществ [32]. Установлено, что фактор транскрипции CodY подавляет биосинтез аминокислот

с разветвленными цепями (ИЛВ) и активирует экспрессию гена ацетат-киназы [32]. CodY необходим для образования биопленок *Staphylococcus aureus* [33]. У патогенных бактерий CodY регулирует вирулентность [34–36].

Азот относится к макроэлементам, необходимым для синтеза белков, нуклеиновых кислот, витаминов, муреина и т. д. Микроорганизмы способны к ассимиляции различных форм азота, что обеспечивает выживание и пролиферацию клеток в различных условиях. Для контроля экспрессии азотзависимых генов у грамположительных бактерий активизируются факторы транскрипции – **GlnR** и **TnrA** [37]. Регуляторный белок GlnR активен во время роста бактерий при избытке азота [38]. Фактор транскрипции TnrA регулирует экспрессию генов во время роста бактерий при недостатке азота [37]. Оба белка взаимодействуют с одной и той же последовательностью ДНК – TGTNAN<sub>7</sub>TNACA, что обеспечивает сбалансированную регуляцию активности генов-мишеней. Белки GlnR и TnrA высокогомологичны, их N-концевые ДНК-связывающие домены идентичны, оба белка-регулятора способны взаимодействовать с одним и тем же сайтом связывания ДНК, но при различных условиях [38].

Белок TnrA относят к семейству факторов транскрипции MerR, которые участвуют в регуляции экспрессии генов, вовлеченных в ассимиляцию, удаление или детоксикацию химических соединений в клетке [39]. TnrA активирует экспрессию 8 генов и оперонов: гена L-аспарагиназы *asnZ*, гена транспорта гамма-аминобутилата *gabP*, оперонов ассимиляции мочевины, нитрата *nasAB* и нитрита *nasDEF*, оперона транспорта аммония *glnK-amtB*, а также своего собственного гена – *tnrA* [40]. Активная форма белка TnrA подавляет транскрипцию генов глутаминсинтетазы, глутаматсинтазы – *glnRA*, *gltAB* и многих других. Таким образом, позитивная регуляция фактором транскрипции TnrA наблюдается в отношении генов, направленных на утилизацию различных источников азота.

Еще два белка, активные при недостатке азота, – это **AmtB (NrgA)** и **GlnK (NrgB)**, кодируемые опероном *amtBglnK (nrgAB)*, – осуществляют транспорт аммония из среды внутрь клетки, из них трансмембранный белок AmtB «закачивает» в клетку ионы аммония [41]. *amtB*-мутанты плохо растут на среде с низкой концентрацией аммония в качестве источника азота. Белок GlnK связан с мембраной через белок AmtB и его активная форма не требуется для транспорта аммония. GlnK способен образовывать комплекс с TnrA, при этом комплекс распадается в присутствии 4 мМ АТФ [42].

Регуляторные локусы вида *B. subtilis* у других представителей рода *Bacillus* нередко имеют аналогичное строение. Так, например, под контролем *sinI/R* регулона в клетках *B. subtilis* находятся 35 генов, а у бактерий *B. anthracis* – 40 генов [43]. При этом половина *sinI/R*-регулируемых генов *B. subtilis* и *B. anthracis* не имеет гомологов у других видов бацилл и между собой. Установлено, что у бацилл регуляторный *sinI/R* локус участвует в комплексном рост-зависимом фенотипе клеток. Механизм действия регулятора основан на связывании белка SinR с консервативной последовательностью ДНК (5'-GNCNCGAAATACA-3') в промоторе целевых генов. SinI является антагонистом белка SinR и взаимодействует с этим белком, ингибируя связывание с ДНК. *sinI/R* (*sporulation inhibitor*)

локус описан как компонент сложного регуляторного каскада при спорообразовании у *B. subtilis* в регуляции генов *spoIIЕ*, *spoIIГ*. Позднее обнаружено влияние белка SinR на механизм перемещения клеток, регулируемый геном *sigD*, протеолиз (*aprX*), образование пленок – негативное регулирование экстраполисахарида (*epr*), структурных белков *yqxM*, *comS*, *srf* [43]. Описано совместное репрессивное действие регуляторных белков SinR и ScoC [44].

Система SinI/R-контроля обнаружена у других представителей рода *Bacillus*, таких как *B. thuringiensis* (патоген насекомых), *B. anthracis* (возбудитель сибирской язвы), *B. cereus* (возбудитель пищевых токсикоинфекций), однако она не охарактеризована [45, 46]. Установлено влияние *sinI/R* региона на экспрессию генов ферментов деградации – металлопротеиназы, которая расщепляет антимикробные пептиды насекомых и увеличивает способность бактерий *B. thuringiensis* избегать макрофагов [47]; камелизина (CalY), фермента, который активирует белковый Cyt2Ba, проявляющий активность против представителей отряда двукрылых [48].

Итак, глобальные факторы транскрипции контролируют экспрессию генов бацилл путем прямого взаимодействия, а также в комплексе с другими белками, обуславливая сложные адаптационные ответы на физиологические стрессы.

Секвенирование геномов микроорганизмов позволило выявить разнообразие двухкомпонентных регуляторных систем. В клетках *B. subtilis* идентифицировано 36 сенсорных киназ и 35 ответных регуляторов [49, 50]. Многие гены прокариот активируются регуляторными белками нескольких двухкомпонентных систем.

Двухкомпонентная система трансдукции сигнала **DegS–DegU** регулирует многие клеточные процессы, включая продукцию экзопротеаз, подвижность, образование биопленки, переход в состояние компетентности [51–53]. Оперон *degSU* *B. subtilis* содержит три промотора. Первый располагается в области гена *degS* и обеспечивает экспрессию генов *degS* и *degU*. Второй промотор внутри кодирующей области гена *degS* регулируется белком TngA, вызывая увеличение экспрессии гена *degU* в условиях лимитации по азоту. Третий промотор располагается между генами *degS* и *degU* и увеличивает уровень экспрессии гена *degU* в ответ на нарастание фосфорилированной формы белка DegU (DegU~P) в клетке [54]. DegS–DegU-регуляторная пара состоит из ответного регулятора DegU и его сенсорной гистидин-киназы DegS. DegS – цитоплазматический белок, обладающий киназной и фосфатазной активностями. Мастер-регулятор DegU относится к белкам семейства NarL, С-концевой домен которых представляет собой структуру «петля – поворот – петля». DegU-регулятор активен как в фосфорилированной так и в нефосфорилированной формах [51, 52]. Нефосфорилированный белок DegU требуется клетке для перехода в состояние компетентности, связываясь с промоторной областью гена *comK*, кодирующего мастер-регулятор развития состояния компетентности клетки. Более того, нефосфорилированная форма белка DegU способствует взаимодействию белка ComK с промотором гена *comK* [55]. Эксперименты с *comK-lacZ* фьюжн-конструкциями показали, что DegU узнает специфические инвертированные повторы (ИП)

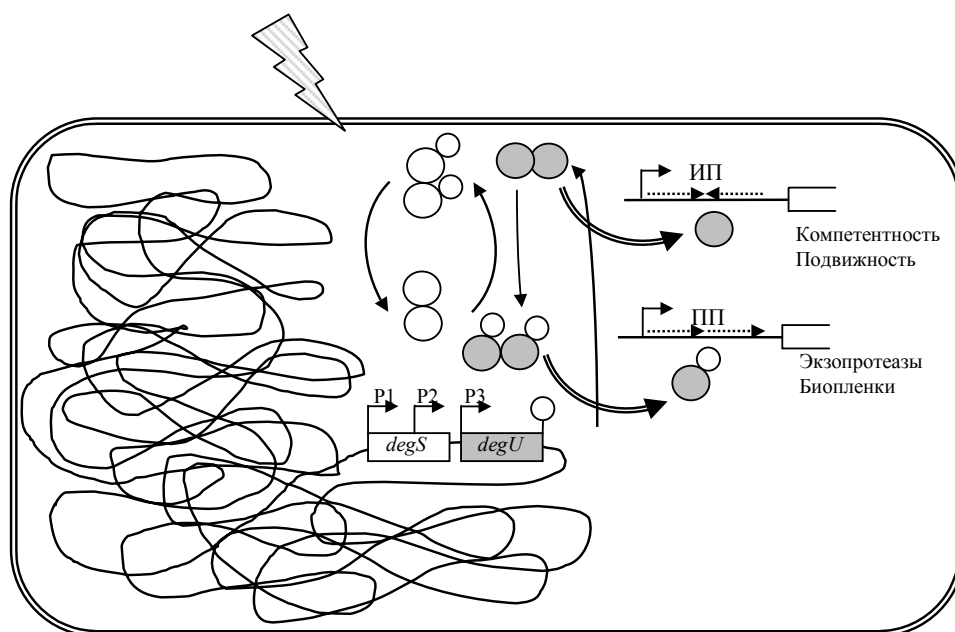


Рис. 1. Функционирование DegS–DegU-регуляторной системы *B. subtilis*. При наличии стрессового фактора (азотное голодание) в клетках активируется экспрессия генов двухкомпонентной системы DesS–DegU. Контроль экспрессии генов данной системы регулируется тремя промоторами системы. Киназа DegS фосфорилирует свой остаток гистидина, фосфорная группа которого затем переносится на аспаратный остаток ответного регулятора DegU. Белок DegU при наличии фосфорного остатка, а также без него способен связываться с промоторами различных генов, приводя к активации транскрипции или блокируя ее. Обозначения: гены – *degS*, *degU*; белки DegS – S, DegU – U; фосфатная группа – P; прямыми стрелочками указаны промоторы; прямые (III) и инвертированные повторы (IIP) в промоторах указаны пунктирными стрелочками

в области промотора гена *comK* (GTCATTTA-N<sub>7</sub>-TAAATATC) [56] и его активность модулируется регуляторной парой RapG–PhrG, где фосфатаза RapG подавляет ДНК-связывающую активность белка DegU, а пептид PhrG тормозит действие фосфатазы [6].

Фосфорилированная форма белка DegU (DegU~P) активирует экспрессию более 120 генов бацилл, включая гены хемотаксиса, гены щелочной протеазы *aprE*, пептидазы *bpr*, левансахаразы *sacB*, подавляет экспрессию гена *wapA*, кодирующего белок, ассоциированный с клеточной стенкой [51]. Для генов *aprE* и *bpr* установлено, что фосфорилированный белок DegU в промоторах узнает прямые повторы (III) GNCATTA [56] (рис. 1). DegU-белок рассматривают как молекулярный переключатель, который в том числе контролирует лизис клеток [6, 57].

Функционирование DegS–DegU-регуляторной пары поддерживается комплексом белков SMC–ScpA–ScpB, контролирующим репарацию ДНК. Семейство SMC-белков (structural maintenance chromosome) играет ключевую роль в сегрегации хромосом всех живых организмов [58]. Белок ScpA, взаимодействуя с DegS, подавляет его киназную активность и вызывает снижение пула фосфорилированной формы белка DegU в клетке. Так как уровень секреции комплекса

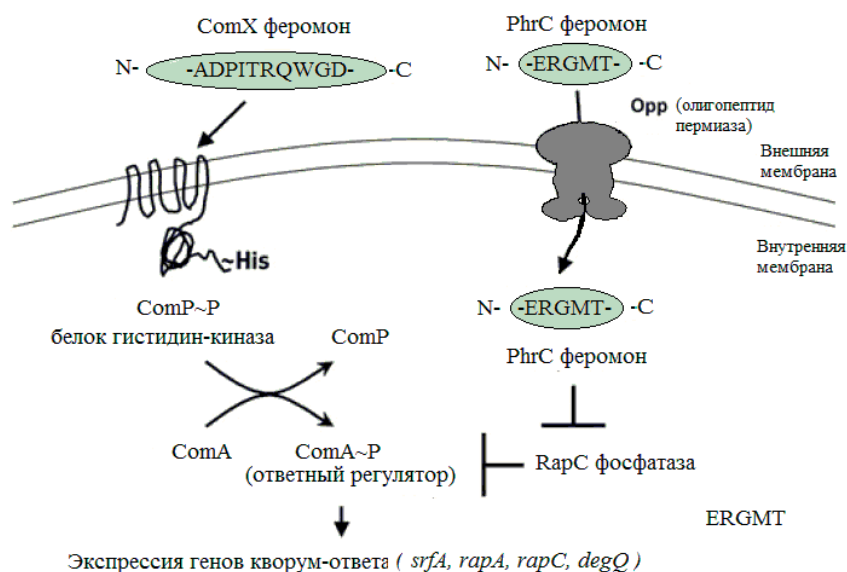


Рис. 2. Регуляторный путь кворум-ответа *B. subtilis*. ComX-феромон и PhrC-фосфатаза регулируют активацию системы кворум-ответа. ComX стимулирует аутофосфорилирование мембранной гистидин-киназы ComP, которая передает фосфат на регуляторный белок ComA. PhrC поступает в клетку через олигопептид пермеазу Opp, также называемую Sp00K

белков SMC–ScpA–ScpB снижается в стационарной фазе роста клеток, уровень образования фосфорилированной формы белка DegU во время этой фазы роста увеличивается. Перенос фосфата от DegS к DegU происходит в присутствии низкомолекулярного белка DegQ (рис. 1).

В клетках *B. subtilis* **ComX–ComP–ComA**-сигнальный путь обеспечивает главный кворум-ответ, регулирующий развитие генетической компетенции. Мембранный рецепторный белок ComP распознает поступающие в клетку сигналы, а ответный регулятор ComA функционирует как фактор транскрипции генов компетентности. Существуют два пути активации белка ComA. Один из них происходит в присутствии белка ComX (10 а.к.о.), который секретируется в среду. Когда клетки переходят в стационарную фазу, накопление ComX достигает максимума и он взаимодействует с ComP гистидин-киназой, вызывая фосфорилирование ответного регулятора ComA (рис. 2).

Второй путь активации белка ComA происходит через пептид PhrC (5 а.к.о.), который ингибирует активность фосфатазы RapC, приводя к позитивной регуляции экспрессии ComA-контролируемых генов [59]. Консенсусная ДНК-связывающая последовательность для регуляторного белка ComA представляет собой палиндром из 12 п.о. (TTGCGGN<sub>4,5</sub>CCGCAA) [60].

Показано, что гены двухкомпонентной системы ComP–ComA заключены в оперон *comQ-comX-comP-comA*, причем мутация по любому из генов, входящих в данный генетический кластер приводит к резкому снижению развития состояния компетенции клеток [61]. Путь, объединяющий работу кворум-чувствительной системы и состояние компетенции, ассоциирован также с работой гена *comS*, входящего в состав оперона *srfA*. Активная форма белка ComA на-

прямую активирует транскрипцию оперона *srfA* и гена *comS*. Оперон *srfA* кодирует биосурфактант – антибиотик суфрацин, действие которого направлено на гибель части определенных клеток в апоптозно-подобных реакциях. В свою очередь, фосфатазы RapC, RapD, RapF, RapG и RapH подавляют экспрессию ComA регулона. Таким образом, RapG–PhrG-регуляторная система контролирует экспрессию оперона *srfA* путем блокирования или активации белка ComA. Механизм перехода клеток к состоянию компетентности включает самоактивирующийся мастер-регулятор ComK и комплекс белков MecA/ClpP/ClpC, который поддерживает экспрессию белка ComK на низком уровне. Деградация этого комплекса регулируется белком ComS, обеспечивая протеолиз ClpP/ClpC и аутоактивацию ComK. Промотор гена *comK*, сверхпродукция которого ингибирует спорообразование и развитие состояния компетентности, регулируется различными факторами транскрипции: Rok, CodY, DegU, ClpP, MecA, AbrB [62]. Таким образом, феромон ComX активирует продукцию белка ComS с оперона *srfA* [63].

Система **Spo0A**-фосфопередачи отвечает за процесс спорообразования, который стимулируется недостатком кислорода, питательных веществ, изменением pH, температуры [64].

Процесс образования спор в клетках бацилл происходит с участием белка Spo0A, который относится к семейству ответных регуляторных ДНК-связывающих белков. Белок Spo0A активируется на начальной стадии спорообразования аутофосфорилированием множественных гистидин-киназ (KinA, KinB, KinC, KinD, KinE) и регуляторных белков Spo0F и Spo0B. Гистидин-киназы фосфорилируют белок Spo0F, передающий фосфатную группу белку Spo0B, который передает фосфат на ответный регулятор Spo0A [65].

Установлены механизмы регуляции белком Spo0A. (1) Spo0A~P-белок способен стимулировать транскрипцию собственного гена (*spo0A*) путем опосредованного действия  $\sigma^H$ -фактора транскрипции РНК-полимеразы. (2) Spo0A~P способен стимулировать транскрипцию гена *spo0F*, кодирующего регуляторный белок Spo0F. (3) Spo0A~P способен подавлять экспрессию гена *abrB*, кодирующего глобальный фактор транскрипции, который репрессирует транскрипцию генов, необходимых для запуска программы спорообразования, в том числе гена *sigH*, кодирующего  $\sigma^H$ -фактор транскрипции. (4) При репрессии гена *abrB* снимается репрессия генов *spo0E* и *spo0H*, приводящих к синтезу спороспецифичных факторов транскрипции [66, 67]. Сайт связывания с регуляторным белком Spo0A располагается выше открытой рамки считывания большинства изученных генов, контролируемых этим белком. Показано, что ДНК-связывающий консенсус представляет собой последовательность **TGTCGAA**, в которой нуклеотиды С и G существенны для связывания с белком Spo0A [68].

Идентифицированы более 120 генов, находящихся под прямым контролем белка-регулятора Spo0A~P. В Spo0A-регулоне 30 генов и 24 оперона, которые отвечают за множественные процессы в клетке при дифференцировке [68]. Показано, что многие гены по-разному реагируют на высокую и низкую концентрации регулятора Spo0A~P [72]. Японские ученые разделили эти гены на четыре группы: 1 – гены, требующие для *активации* высокий уровень Spo0A~P; 2 – гены, требующие для *репрессии* высокий уровень Spo0A~P; 3 – гены, *акти-*



вирующиеся при низких концентрациях Spo0A~P; 4 – гены, репрессирующиеся при низких концентрациях Spo0A~P [69]. Таким образом, Spo0A~P выступает в роли репрессора и активатора и отвечает за переключение транскрипции на начальной стадии споруляции.

Итак, за счет ресурса регуляторных белков, кодируемых в геноме, бациллы способны формировать адаптационный ответ на различные внешние воздействия, включая интегрированный ответ всей популяции. Принцип интеграции сигналов обуславливает универсальность общего клеточного ответа: некоторые гены способны координированно активироваться регуляторными белками разных регуляторных систем. Сложные взаимодействия между двухкомпонентными системами, образующими сеть сигнальной трансдукции, контролируются на более высоком уровне, объединяющем все генетические ответы клетки, что обеспечивает выживание и пролиферацию клеток в широком спектре экологических ниш.

Работа поддержана РФФИ (проект № 09-04-99044) и грантом Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» 2009–2013 гг.

### Summary

*A.R. Sabirova, A.A. Toimentseva, M.R. Sharipova. Bacilli Gene Regulation.*

In this paper, we discuss adaptive mechanisms which help *Bacilli* to exist in ambient environment. We review a contribution of different regulatory pathways to the formation of an integrated cell response. We analyse functions of global regulators (AbrB, CspA, CodY, TnrA, GlnR и SinR) and two-component signal transduction systems responsible for protein synthesis, competence condition, and cell lysis. We also consider the ways of cooperation between various control mechanisms.

**Key words:** bacilli, gene expression, transcription factors, global regulation, two-component signal transduction systems.

### Литература

1. Msadek T. When the going gets tough: survival strategies and environmental signaling networks in *Bacillus subtilis* // Trends Microbiol. – 1999. – V. 7, No 5. – P. 201–207.
2. Chai Y., Chu F., Kolter R., Losick R. Bistability and biofilm formation in *Bacillus subtilis* // Mol. Microbiol. – 2008. – V. 67, No 2. – P. 254–263.
3. López D., Kolter R. Extracellular signals that define distinct and coexisting cell fates in *Bacillus subtilis* // FEMS Microbiol. Rev. – 2010. – V. 34, No 2. – P. 134–149.
4. Kim H.J., Kim S.I., Ratnayake-Lecamwasam M., Tachikawa K., Sonenshein A.L., Strauch M. Complex regulation of the *Bacillus subtilis* aconitase gene // J. Bacteriol. – 2003. – V. 185, No 5. – P. 1672–1680.
5. Stephenson S., Mueller C., Jiang M., Perego M. Molecular analysis of Phr peptide processing in *Bacillus subtilis* // J. Bacteriol. – 2003. – V. 185, No 16. – P. 4861–4871.
6. Ogura M., Shimane K., Asai K., Ogasawara N., Tanaka T. Binding of response regulator DegU to the *aprE* promoter is inhibited by RapG, which is counteracted by extracellular PhrG in *Bacillus subtilis* // Mol. Microbiol. – 2003. – V. 49, No 6. – P. 1685–1697.
7. Pottathil M., Lazazzera B.A. The extracellular Phr peptide-Rap phosphatase signaling circuit of *Bacillus subtilis* // Front Biosci. – 2003. – V. 8. – P. d32–d45.

8. Madan Babu M., Balaji S., Aravind L. General trends in the evolution of prokaryotic transcriptional regulatory networks // *Genome Dyn.* – 2007. – V. 3. – P. 66–80.
9. Brantl S., Licht A. Characterisation of *Bacillus subtilis* transcriptional regulators involved in metabolic processes // *Cutt. Protein Pept. Sci.* – 2010. – V. 11, No 4. – P. 274–291.
10. Bobay B.G., Andreeva A., Mueller G.A., Gavanagh J., Murzin A.G. Revised structure of the AbrB N-terminal domain unifies a diverse superfamily of putative DNA-binding proteins // *FEBS Lett.* – 2005. – V. 579, No 25. – P. 5669–5674.
11. Hamon M.A., Stanley N.R., Britton R.A., Grossman A.D., Lazazzera B.A. Identification of AbrB-regulated genes involved in biofilm formation by *Bacillus subtilis* // *Mol. Microbiol.* – 2004. – V. 53, No 3. – P. 847–860.
12. McQuade R.S., Comella N., Grossman A.D. Control of a family of phosphatase regulatory genes (*phr*) by the alternate sigma factor sigma-H of *Bacillus subtilis* // *J. Bacteriol.* – 2001. – V. 183, No 16. – P. 4905–4909.
13. Banse A.V., Chastanet A., Rahn-Lee L., Hobbs E.C., Losick R. Parallel pathways of repression and antirepression governing the transition to stationary phase in *Bacillus subtilis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – V. 105, No 40. – P. 15547–15552.
14. Saile E., Koehler T.M. Control of anthrax toxin gene expression by the transition state regulator *abrB* // *J. Bacteriol.* – 2002. – V. 184, No 2. – P. 370–380.
15. Lücking G., Dommel M.K., Scherer S., Fouet A., Ehling-Schulz M. Cereulide synthesis in emetic *Bacillus cereus* is controlled by the transition state regulator AbrB, but not by the virulence regulator PlcR // *Microbiology.* – 2009. – V. 155, Pt 3. – P. 922–931.
16. Chumsakul O., Takahashi H., Oshima T., Hishimoto T., Kanaya S., Ogasawara N., Ishikawa S. Genome-wide binding profiles of the *Bacillus subtilis* transition state regulator AbrB and its homolog Abh reveals their interactive role in transcriptional regulation // *Nucleic Acids Res.* – 2011. – V. 39, No 2. – P. 414–428.
17. Chumsakul O., Takahashi H., Oshima T., Hishimoto T., Kanaya S., Ogasawara N., Ishikawa S. Genome-wide binding profiles of the *Bacillus subtilis* transition state regulator AbrB and its homolog Abh reveals their interactive role in transcriptional regulation // *Nucleic Acids Res.* – 2011. – V. 39, No 2. – P. 414–428.
18. Brückner R., Titgemeyer F. Carbon catabolite repression in bacteria: choice of the carbon source and autoregulatory limitation of sugar utilization // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2002. – V. 209, No 2. – P. 141–148.
19. Görke B., Stülke J. Carbon catabolite repression in bacteria: many ways to make the most out of nutrients // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008. – V. 6, No 8. – P. 613–624.
20. Miwa Y., Nakata A., Ogiwara A., Yamamoto M., Fujita Y. Evaluation and characterization of catabolite-responsive elements (*cre*) of *Bacillus subtilis* // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – V. 28, No 5. – P. 1206–1210.
21. Stülke J., Hillen W. Carbon catabolite repression in bacteria // *Curr. Opin. Microbiol.* – 1999. – V. 2, No 2. – P. 195–201.
22. Blencke H.M., Homuth G., Ludwig H., Mäder U., Hecker M., Stülke J. Transcriptional profiling of gene expression in response to glucose in *Bacillus subtilis*: regulation of the central metabolic pathways // *Metab. Eng.* – 2003. – V. 5, No 2. – P. 133–149.
23. Moreno M.S., Schneider B.L., Maile R.R., Weyler W., Saier M.H. Jr. Catabolite repression mediated by the CcpA protein in *Bacillus subtilis*: novel modes of regulation revealed by whole-genome analyses // *Mol. Microbiol.* – 2001. – V. 39, No 5. – P. 1366–1381.
24. Ludwig H., Stülke J. The *Bacillus subtilis* catabolite control protein CcpA exerts all its regulatory functions by DNA-binding // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2001. – V. 203, No 1. – P. 125–129.

25. Schumacher M.A., Allen G.S., Diel M., Seidel G., Hillen W., Brennan R.G. Structural basis for allosteric control of the transcription regulator CcpA by the phosphoprotein HPr-Ser46-P // *Cell*. – 2004. – V. 118, No 6. – P. 731–741.
26. Schumacher M.A., Seidel G., Hillen W., Brennan R.C. Phosphoprotein Crh-Ser46-P displays altered binding to CcpA to effect carbon catabolite regulation // *J. Biol. Chem.* – 2006. – V. 281, No 10. – P. 6793–6800.
27. Fujita Y. Carbon catabolite control of the metabolic network in *Bacillus subtilis* // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2009. – V. 73, No 2. – P. 245–259.
28. Molle V., Nakaura Y., Shivers R.P., Yamaguchi H., Losick R., Fujita Y., Sonenshein A.L. Additional targets of the *Bacillus subtilis* global regulator CodY identified by chromatin immunoprecipitation and genome-wide transcript analysis // *J. Bacteriol.* – 2003. – V. 185, No 6. – P. 1911–1922.
29. Ratnayake-Lecamwasam M., Serron P., Wong K.W., Sonenshein A.L. *Bacillus subtilis* CodY represses early-stationary-phase genes by sensing GTP levels // *Genes Dev.* – 2001. – V. 15, No 9. – P. 1093–1103.
30. Sonenshein A.L. CodY, a global regulator of stationary phase and virulence in Gram-positive bacteria // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2005. – V. 8, No 2. – P. 203–207.
31. den Hengst C.D., Curley P., Larsen R., Buist G., Nauta A., van Sinderen D., Kuipers O.P., Kok J. Probing direct interaction between CodY and the oppD promoter of *Lactococcus lactis* // *J. Bacteriol.* – 2005. – V. 187, No 2. – P. 512–521.
32. Shivers R.P., Sonenshein A.L. Activation of the *Bacillus subtilis* global regulator CodY by direct interaction with branched-chain amino acids // *Mol. Microbiol.* – 2004. – V. 53, No 2. – P. 599–611.
33. Tu Quoc P.H., Genevaux P., Pajunen M., Savilahti H., Georgopoulos C., Schrenzel J., Kelley W.L. Isolation and characterization of biofilm formation-defective mutants of *Staphylococcus aureus* // *Infect. Immun.* – 2007. – V. 75, No 3. – P. 1079–1088.
34. den Hengst C.D., van Hijum S.A., Geurts J.M., Nauta A., Kok J., Kuipers O.P. The *Lactococcus lactis* CodY regulon: identification of a conserved cis-regulatory element // *J. Biol. Chem.* – 2005. – V. 280, No 40. – P. 34332–34342.
35. Bennett H.J., Pearce D.M., Glenn S., Taylor C.M., Kuhn M., Sonenshein A.L., Andrew P.W., Roberts I.S. Characterization of *relA* and *codY* mutants of *Listeria monocytogenes*: identification of the CodY regulon and its role in virulence // *Mol. Microbiol.* – 2007. – V. 63, No 5. – P. 1453–1467.
36. Malke H., Ferretti J.J. CodY-affected transcriptional gene expression of *Streptococcus pyogenes* during growth in human blood // *J. Med. Microbiol.* – 2007. – V. 56, Pt. 6. – P. 707–714.
37. Fisher S.H., Brandenburg J.L., Wray L.V. Jr. Mutations in *Bacillus subtilis* glutamine synthetase that block its interaction with transcription factor TnrA // *Mol. Microbiol.* – 2002. – V. 45, No 3. – P. 627–635.
38. Wray L.V. Jr., Zalieckas J.M., Fisher S.H. *Bacillus subtilis* glutamine synthetase controls gene expression through a protein-protein interaction with transcription factor TnrA // *Cell*. – 2001. – V. 107, No 4. – P. 427–435.
39. Hobman J.L. MerR family transcription activators: similar designs, different specificities // *Mol. Microbiol.* – 2007. – V. 63, No 5. – P. 1275–1278.
40. Yoshida K., Yamaguchi H., Kinehara M., Ohki Y.H., Nakaura Y., Fujita Y. Identification of additional TnrA-regulated genes of *Bacillus subtilis* associated with a TnrA box // *Mol. Microbiol.* – 2003. – V. 49, No 1. – P. 157–165.

41. *Khademi S., Stroud R.M.* The Amt/MEP/Rh family: structure of AmtB and the mechanism of ammonia gas conduction // *Physiology (Bethesda)*. – 2006. – V. 21, No 6. – P. 419–429.
42. *Heinrich A., Woyda K., Brauburger K., Meiss G., Detsch C., Stülke J., Forchhammer K.* Interaction of the membrane-bound GlnK-AmtB complex with the master regulator of nitrogen metabolism TnrA in *Bacillus subtilis* // *J. Biol. Chem.* – 2006. – V. 281, No 46. – P. 34909–34917.
43. *Pflughoeft K.J., Sumbly P., Koehler T.M.* *Bacillus anthracis* sin locus and regulation of secreted proteases // *J. Bacteriol.* – 2011. – V. 193, No 3. – P. 631–639.
44. *Kodgire P., Dixit M., Rao K.K.* ScoC and SinR negatively regulate epr by corepression in *Bacillus subtilis* // *J. Bacteriol.* – 2006. – V. 188, No 17. – P. 6425–6428.
45. *Grandvalet C., Gominet M., Lereclus D.* Identification of genes involved in the activation of the *Bacillus thuringiensis inhA* metalloprotease gene at the onset of sporulation // *Microbiology*. – 2001. – V. 147, Pt. 7. – P. 1805–1813.
46. *Grass G., Schierhorn A., Sorkau E., Müller H., Rücknagel P., Nies D.H., Fricke B.* Camelysin is a novel surface metalloproteinase from *Bacillus cereus* // *Infect. Immun.* – 2004. – V. 72, No 1. – P. 219–228.
47. *Ramarao N., Lereclus D.* The InhA1 metalloprotease allows spores of the *B. cereus* group to escape macrophages // *Cell Microbiol.* – 2005. – V. 7, No 9. – P. 1357–1364.
48. *Nisnevitch M., Cohen S., Ben-Dov E., Zaritsky A., Sofer Y., Cahan R.* Cyt2Ba of *Bacillus thuringiensis israelensis*: activation by putative endogenous protease // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – V. 344, No 1. – P. 99–105.
49. *Kobayashi K., Ogura M., Yamaguchi H., Yoshida K.-I., Ogasawara N., Tanaka T., Fujita Y.* Comprehensive DNA microarray analysis of *Bacillus subtilis* two-component regulatory systems // *J. Bacteriol.* – 2001. – V. 183, No 24. – P. 7365–7370.
50. *Ogura M., Yamaguchi H., Yoshida K.-I., Fujita Y., Tanaka T.* DNA microarray analysis of *Bacillus subtilis* DegU, ComA and PhoP regulons: an approach to comprehensive analysis of *B. subtilis* two-component regulatory systems // *Nucleic Acids Res.* – 2001. – V. 29, No 18. – P. 3804–3813.
51. *Kobayashi K.* Gradual activation of the response regulator DegU controls serial expression of genes for flagellum formation and biofilm formation in *Bacillus subtilis* // *Mol. Microbiol.* – 2007. – V. 66, No 2. – P. 395–409.
52. *Verhamme D.T., Kiley T.B., Stanley-Wall N.R.* DegU co-ordinates multicellular behaviour exhibited by *Bacillus subtilis* // *Mol. Microbiol.* – 2007. – V. 65, No 2. – P. 554–568.
53. *Ohsawa T., Tsukahara K., Ogura M.* *Bacillus subtilis* response regulator DegU is a direct activator of *pgsB* transcription involved in  $\gamma$ -poly-glutamic acid synthesis // *Biosci. Biotech. Biochem.* – 2009. – V. 73, No 9. – P. 2096–2102.
54. *Veening J.-W., Igoshin O.A., Eijlander R.T., Nijland R., Hamoen L.W., Kuipers O.P.* Transient heterogeneity in extracellular protease production by *Bacillus subtilis* // *Mol. Syst. Biol.* – 2008. – V. 4. – P. 184-1–184-15.
55. *Hamoen L.W., Van Werkhoven A.F., Venema G., Dubnau D.* The pleiotropic response regulator DegU functions as a priming protein in competence development in *Bacillus subtilis* // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2000. – V. 97, No 16. – P. 9246–9251.
56. *Shimane K., Ogura M.* Mutational analysis of the helix-turn-helix region of *Bacillus subtilis* response regulator DegU, and identification of *cis*-acting sequences for DegU in the *aprE* and *comK* promoters // *J. Biochem.* – 2004. – V. 136, No 3. – P. 387–397.
57. *Murray E.J., Kiley T.B., Stanley-Wall N.R.* A pivotal role for the response regulator DegU in controlling multicellular behaviour // *Microbiology*. – 2009. – V. 155, Pt. 1. – P. 1–8.

58. Schleiffer A., Kaitna S., Maurer-Stroh S., Glotzer M., Nasmyth K., Eisenhaber F. Kleisins: a superfamily of bacterial and eukaryotic SMC protein partners // *Mol. Cell.* – 2003. – V. 11, No 3. – P. 571–575.
59. Comella N., Grossman A.D. Conservation of genes and processes controlled by the quorum response in bacteria: characterization of genes controlled by the quorum-sensing transcription factor ComA in *Bacillus subtilis* // *Mol. Microbiol.* – 2005. – V. 57, No 4. – P. 1159–1174.
60. Leisner M., Stingl K., Frey E., Maier B. Stochastic switching to competence // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2008. – V. 11, No 6. – P. 553–559.
61. Wang X., Luo C., Liu Y., Liu Y., Nie Y., Chen Z. Sporulation, competence development and biopesticide activity of a *Bacillus subtilis* mutant // *Wei Sheng Wu Xue Bao.* – 2009. – V. 49, No 10. – P. 1295–1300. (на кит. яз.)
62. Albano M., Smits W.K., Ho L.T.Y., Kraigher B., Mandic-Mulec I., Kuipers O.P., Dubnau D. The Rok protein of *Bacillus subtilis* represses genes for cell surface and extracellular functions // *J. Bacteriol.* – 2005. – V. 187, No 6. – P. 2010–2019.
63. Schultz D., Ben Jacob E., Onuchic J.N., Wolynes P.G. Molecular level stochastic model for competence cycles in *Bacillus subtilis* // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2007. – V. 104, No 45. – P. 17582–17587.
64. Piggot P.J., Hilbert D.W. Sporulation of *Bacillus subtilis* // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2004. – V. 7, No 6. – P. 579–586.
65. Lewis R.J., Scott D.J., Brannigan J.A., Ladds J.C., Cervin M.A., Spiegelman G.B., Hoggett J.G., Barák I., Wilkinson A.J. Dimer formation and transcription activation in the sporulation response regulator Spo0A // *J. Mol. Biol.* – 2004. – V. 316, No 2. – P. 235–245.
66. Phillips Z.E., Strauch M.A. *Bacillus subtilis* sporulation and stationary phase gene expression // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2002. – V. 59, No 3. – P. 392–402.
67. Chastanet A., Vitkup D., Yuan G.-C., Norman T.M., Liu J.S., Losick R.M. Broadly heterogeneous activation of the master regulator for sporulation in *Bacillus subtilis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – V. 107, No 18. – P. 8486–8491.
68. Molle V., Fujita M., Jensen S.T., Eichenberger P., González-Pastor J.E., Liu J.S., Losick R. The Spo0A regulon of *Bacillus subtilis* // *Mol. Microbiol.* – 2003. – V. 50, No 5. – P. 1683–1701.
69. Fujita M., González-Pastor J.E., Losick R. High- and low-threshold genes in the Spo0A regulon of *Bacillus subtilis* // *J. Bacteriol.* – 2005. – V. 187, No 4. – P. 1357–1368.

Поступила в редакцию  
12.01.12

---

**Сабирова Альбина Рушановна** – кандидат биологических наук, инженер кафедры микробиологии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: [albina-12@mail.ru](mailto:albina-12@mail.ru)

**Тойменцева Анна Александровна** – аспирант, инженер кафедры микробиологии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: [TojmencevaAA@mail.ru](mailto:TojmencevaAA@mail.ru)

**Шарипова Маргарита Рашидовна** – доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: [marsharipova@gmail.com](mailto:marsharipova@gmail.com)