

Rola regulatorów transkrypcji w kontroli ekspresji genów prokariotycznych na przykładzie modelowej bakterii *Pseudomonas aeruginosa*

STRESZCZENIE

Bakterie *Pseudomonas aeruginosa* spotykane są często w środowisku naturalnym jak woda czy gleba, ale zaliczane są także do oportunistycznych patogenów ludzi i zwierząt. Charakteryzuje je duża zdolność do przetrwania w bardzo różnych niszach ekologicznych. Adaptacja i umiejętność dostosowania do zmiennych warunków środowiska wynika z rozbudowanych sieci regulacyjnych tych bakterii i wykorzystania bogatego repertuaru kodowanych w genomie białek, ścieżek metabolicznych, mechanizmów obronnych i adaptacyjnych. Regulatory transkrypcji są kluczowymi elementami regulacji ekspresji genów, które odpowiadają na sygnały z otoczenia, włączając lub wyłączając określone ścieżki. Kompleksowe badania regulatorów transkrypcji z wykorzystaniem metod transkryptomicznych, genomicznych, regulacyjnych dostarczają wiedzy na temat mechanizmów ich działania, regulowanych genów i procesów, umożliwiając poznanie i zrozumienie często skomplikowanych sieci regulacyjnych zawiadujących przeżyciem komórki w danym środowisku i warunkach. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie kluczowych zagadnień związanych z regulacją transkrypcji bakteryjnej na podstawie przeglądu danych literaturowych oraz zobrazowanych na przykładzie *P. aeruginosa* i charakterystyki mechanizmów regulacji ekspresji genów zaangażowanych między innymi w wirulencję tej bakterii.

REGULACJA EKSPRESJI GENÓW U BAKTERII

Bakteryjne geny i genomy przez miliony lat przystosowywały się i ewoluowały, skutkując zasiedlaniem przez komórki bakteryjne niemal każdej niszy ekologicznej na Ziemi. Cechą charakterystyczną bakteryjnych genomów jest ich ogromna plastyczność i zmienność ekspresji genów, a także różnorodność jej regulacji. Tak jak inne organizmy, bakterie odbierają sygnały ze środowiska, a odpowiadają na nie poprzez modyfikacje ekspresji pojedynczych lub wielu genów.

TRANSKRYPCJA

Transkrypcja jest kluczowym procesem prowadzącym do ekspresji genu, a jej zrozumienie i poznanie było jednym z głównych zainteresowań współczesnej biologii molekularnej. Fakt, że transkrypcja jest regulowana został zasygnalizowany po raz pierwszy w pionierskim artykule autorstwa Jacob'a i Monod'a, opisującym operon laktozowy *lac Escherichia coli* K-12 znajdujący się pod kontrolą represora, jednocześnie będąc aktywowanym obecnością laktozy w otoczeniu [1,2]. Praca stała się podwaliną dla zrozumienia mechanizmów regulacji transkrypcji zależnej od dostępności składników odżywczych w środowisku. Oprócz odkrycia faktu, że bakterie mogą wybierać bardziej optymalne źródło energii (glukoza względem laktozy) i nie marnotrawić swojej energii na produkcję niepotrzebnych w danej chwili enzymów, pierwszy raz wprowadzono także pojęcie bakteryjnych operonów, prowadzących do powstania policistronowych transkryptów mRNA. Niedługo potem ukazała się również praca, w której opisano możliwość wyboru między cyklem litycznym i lizogenicznym u bakteriofagów lambda poprzez genetyczny przełącznik (ang. *genetic switch*) i wprowadzony został termin „represor” [3,4].

Organizmy prokariotyczne nie mają jądra komórkowego otoczonego błoną, przez co transkrypcja, translacja, jak i degradacja mRNA odbywają się jednocześnie na terenie cytoplazmy. Ilość białka wewnątrz komórki może być zatem szybko modyfikowana poprzez modulację pracy polimerazy RNA rozpoczynającej transkrypcję i natychmiastowe odczytywanie transkryptu, jeśli zachodzi taka potrzeba. Wzmoczona lub obniżona aktywność promotorów konkretnych genów umożliwia adaptację do specyficznych warunków środowiska.

Wiele procesów i elementów komórkowych może wpływać na transkrypcję genów u bakterii. Wśród nich wyróżnić można obecność określonych metabolitów [5,6], globalne parametry fizjologiczne [7,8], topologię chromosomów [9-11] czy niewielkie cząsteczki, takie jak małe, niekodujące RNA [12,13]. Większość

dr Magdalena Modrzejewska-Balcerek¹✉,

dr hab. Aneta Agnieszka Bartosik²✉

¹Wydział Biologii i Nauk o Środowisku, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie
²Instytut Biochemii i Biofizyki, Polska Akademia Nauk, Warszawa

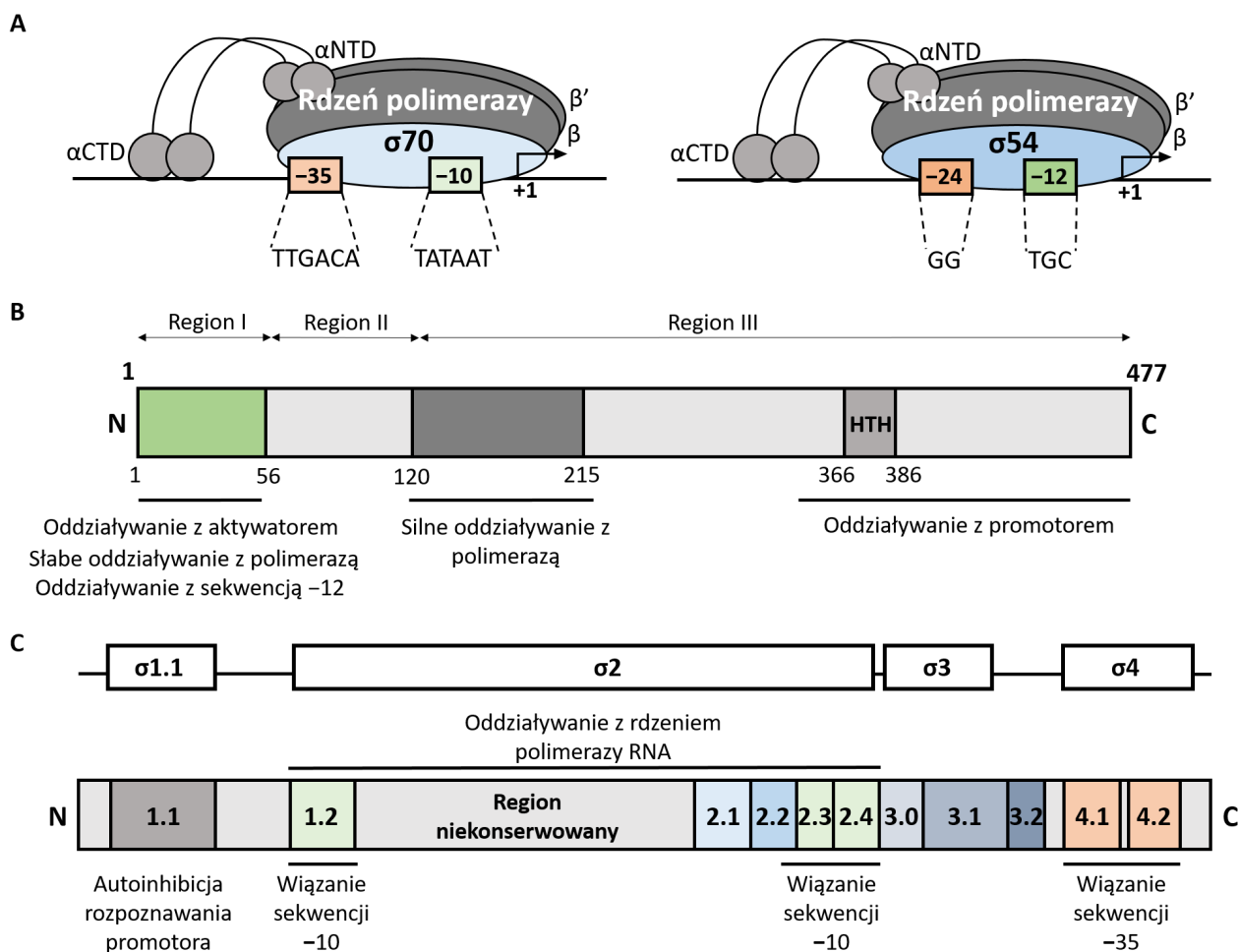
https://doi.org/10.18388/pb.2021_490

✉ autorzy korespondujący: m.modrzejewska-balcerek@uksw.edu.pl, anetab2@ibb.waw.pl

Słowa kluczowe: ekspresja genów, regulacja transkrypcji, regulatory transkrypcji, *Pseudomonas aeruginosa*

Wykaz skrótów: bEBP – bakteryjne białko wiążące wzmacniacz (ang. *bacterial Enhancer Binding Protein*); c-di-GMP – cykliczny diguanozyno-5'-monofosforan; ChIP-seq – immunoprecypitacja chromatyny z sekwencjonowaniem DNA (ang. *chromatin immunoprecipitation-sequencing*); ECF – pozacytoplazmatyczne czynniki sigma; EV – pusty wektor kontrolny (ang. *empty vector*); FC – zmiana krotności (ekspresji, ang. *fold change*); FDR – spodziewany odsetek wyników fałszywych (ang. *false discovery rate*); FE – krotność wzbogacenia (ang. *fold enrichment*); IQS – 2-(2-hydroksyfenilo)-tiazolo-4-karboaldehyd; LTTR – regulator transkrypcji z rodziny LysR (ang. *LysR-Type Transcriptional Regulator*); PQS – (ang. *Pseudomonas quinolone signal*, 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone); QS – *quorum sensing*, system wyczuwania gęstości; RNA-seq – sekwencjonowanie RNA; αNTD/αCTD – N/C-terminalna część podjednostki α polimerazy RNA

Podziękowania: Praca powstała częściowo dzięki wsparciu Narodowego Centrum Nauki, Polska (grant 2015/18/E/NZ2/00675 oraz 2022/45/B/NZ2/03716).



Rycina 1. Polimeraza RNA i czynniki sigma bakterii. (A) Schemat ilustrujący budowę podjednostkową polimerazy RNA wraz z sekwencjami rozpoznawanymi przez czynniki sigma70 i sigma54 w promotorach genów podczas inicjacji transkrypcji. Charakterystyczne elementy budowy promotorów zaznaczono pomarańczowymi i zielonymi prostokątami. Miejsce startu transkrypcji oznaczone jest jako „+1” ze strzałką wskazującą kierunek transkrypcji. (B) Schemat budowy czynnika sigma54. Wyróżniono 3 regiony funkcjonalne i główne elementy struktury odpowiadające za interakcje (na podstawie [20]). (C) Schemat budowy czynnika sigma70. Wyróżniono domeny ($\sigma_{1.1}$ - σ_4) wraz z konserwowanymi (1.1-4.2) i niekonserwowanymi regionami oraz ich przewidywane funkcje (na podstawie [20,21]).

badan dotyczących regulacji transkrypcji genów opiera się jednak na interakcji DNA-białko i cząsteczkach bezpośrednio wpływających na aktywność promotorów. Do takich elementów komórkowych należą czynniki sigma i regulatory transkrypcji.

POLIMERAZA RNA I CZYNNIKI SIGMA

Czynniki sigma są oddzielną niezależną podjednostką bakteryjnej polimerazy RNA, kluczową dla odpowiedniego rozpoznawania promotorów przez polimerazę [14–17]. Polimeraza RNA ma budowę podjednostkową, składając się z pięciu podjednostek (2α , β , β' , ω) tworzących część rdzenia enzymu, natomiast podjednostka sigma przyłącza się do rdzenia, tworząc holoenzym [18]. Wśród czynników sigma wyróżnia się dwie podstawowe rodziny filogenetyczne: sigma70 (σ^{70}) i sigma54 (σ^{54}) (Ryc. 1). Sigma70 bierze udział w transkrypcji większości genów komórki, w tym tych niezbędnych do życia (ang. *housekeeping genes*), rozpoznając sekwencje -35 i -10 powyżej promotora i inicjując transkrypcję. Za podgrupę czynników sigma70 uznaje się pozacytoplazmatyczne czynniki (ang. *extracytoplasmic function sigma*

factors, ECF), będące małymi białkami o aktywności regulatorowej, aktywowane pod wpływem stresu środowiskowego [15]. Większość bakterii (ale nie wszystkie) posiada jedną podjednostkę sigma54. Są to białka o odmiennej budowie i funkcji od reszty czynników sigma (Ryc. 1A,B). Rozpoznają one sekwencje -12 i -24 promotorów, a do inicjacji transkrypcji w przypadku polimerazy RNA związanej z sigma54 niezbędna jest obecność aktywatora oddziałującego z sigma54, dostarczającego ATP i umożliwiającego utworzenie otwartego kompleksu polimerazy [19].

Alternatywne czynniki sigma nie należące do rodzin sigma70 ani sigma54, są również powszechne u bakterii i rywalizują z czynnikiem sigma70 o wiązanie polimerazy do promotorów. Wszystkie czynniki sigma, oprócz sigma54, łączą podobne cechy, jak np. czterodomenowa budowa (Ryc. 1C) [22]. Domena środkowa odpowiadająca domenie σ_2 czynnika sigma70 stanowi powierzchnię oddziaływania z polimerazą RNA i odpowiada za interakcje z elementem -10 promotora, stanowi więc kluczowy region dla stabilizacji polimerazy na DNA [23]. C-terminalna domena 4 odpowiada za rozpoznawanie i wiązanie sekwencji -35 [20].

Często aktywność czynników sigma jest kontrolowana przez czynnik anty-sigma, który oddziela podjednostkę od polimerazy RNA.

Liczba genów kodujących czynniki sigma jest bardzo zróżnicowana u różnych gatunków, zaczynając od pojedynczego genu u *Mycoplasma genitalium*, kończąc na 63 genach u *Streptomyces coelicolor* [24]. Zgodnie z danymi z 2008 roku, w *Pseudomonas aeruginosa* 24 geny kodują potencjalne czynniki sigma, wśród których 19 to czynniki pozacytoplazmatyczne [25]. Wydaje się, że istnieje korelacja pomiędzy liczbą genów kodujących czynniki sigma w genomie bakterii, a różnorodnością środowisk przez nią zamieszkanych [19].

REGULATORY TRANSKRYPCJI - AKTYWACJA I REPRESJA EKSPRESJI

Regulatory transkrypcji są jednym z kluczowych komponentów w sieci regulacji ekspresji genów, będąc białkami wiążącymi się zwykle bezpośrednio do DNA i niezbędnymi do aktywacji lub represji danego genu. Aktywność regulatorów zależy od zdolności do rozpoznawania konkretnych sekwencji DNA w promotorach i wzmacnianiu lub hamowaniu inicjacji transkrypcji z tego promotora [26]. Regulatory transkrypcji zazwyczaj funkcjonują jako homodimery, tetramery, heksamery, a nawet heterodimery [27]. Wiele różnych regulatorów może wiązać się do podobnych sekwencji DNA, ale też zdarza się, że jeden regulator wiąże się do różnych miejsc w genomie [22]. Efekt działania regulatora transkrypcji zależy od jego stężenia w komórce i powinowactwa do miejsca wiązania (słabe miejsca wiązania wymagają wysokich stężeń regulatorów do skutecznego ich działania) [28,29].

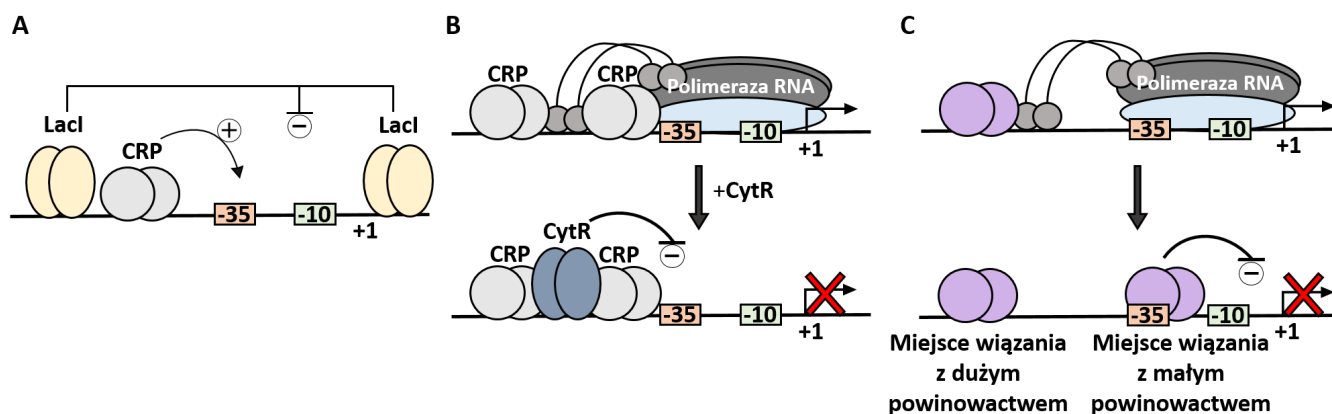
Większość regulatorów transkrypcji działających jako represory wiąże się do DNA w sekwencji promotora niezbędnej dla rozpoznania przez polimerazę RNA, tym samym blokując jej dostęp. Represja może być wzmacniana poprzez wiązanie kilku regulatorów, które oddziałując między sobą powodują zapętlenie DNA, przez co dostęp do sekwencji promotorowych dla polimerazy jest dodatkowo

utrudniony. W innych przypadkach, polimeraza RNA jest zdolna do przyłączenia do DNA, ale represor blokuje ją w promotorze, uniemożliwiając inicjację transkrypcji [30,31].

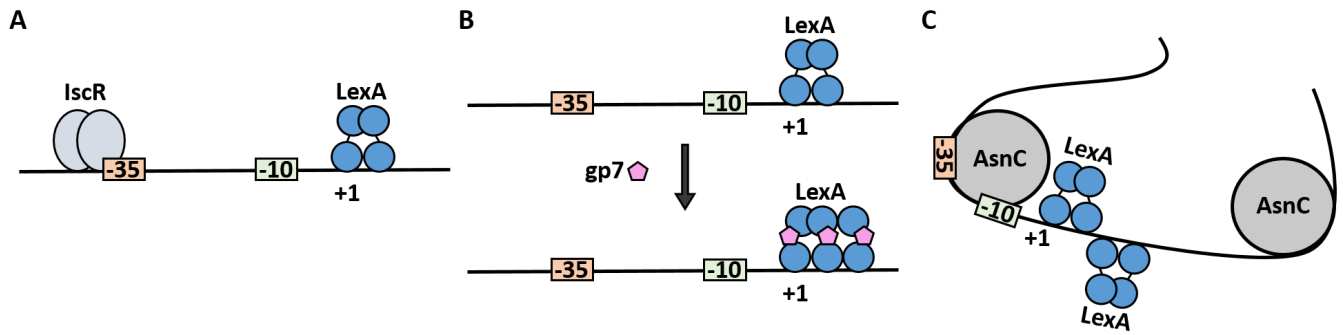
Większość regulatorów, które zwiększają ekspresję genów wiąże się do DNA w miejscu powyżej sekwencji -35 i -10 promotorów [32]. W takich przypadkach często aktywator wiąże się do polimerazy RNA rekrutując ją do docelowego promotora i wspomagając inicjację transkrypcji. Na powierzchni aktywatora wyróżnia się region aktywacyjny (ang. *activating region*) złożony z krótkiego ciągu aminokwasów, umożliwiającego bezpośredni kontakt z polimerazą [33]. Zwykle interakcja ze strony polimerazy zachodzi poprzez C-terminalną część podjednostki α (α CTD), lub domenę 4 podjednostki sigma (Ryc. 1B). Aktywatory mogą również indukować zmiany konformacji w promotorze, które skutkują ustawieniem sekwencji tak, by była ona dostępna dla przyłączenia polimerazy RNA [34].

Regulatory transkrypcji działając jako łącznik pomiędzy ekspresją genów, a sygnałami z otoczenia dostarczanymi przykładowo przez wtórny przekaźnik c-di-GMP czy cząsteczki uczestniczące w komunikacji typu *quorum sensing* (QS), muszą być regulowane - na poziomie ekspresji, bądź aktywności. Powinowactwo regulatora do DNA może być modulowane poprzez ligandy, których stężenie waha się pod wpływem dostępności substancji odżywczych czy stresu. Innym mechanizmem kontroli regulatorów jest ich modyfikacja, np. poprzez fosforylację, co odnosi się zwłaszcza do dwuskładnikowych systemów regulacyjnych. Stężenie regulatora w komórce może być regulowane także przez proces proteolizy, a jego aktywność przez inne białka regulatorowe, do których regulator się wiąże [19,35].

Czynniki wpływające na transkrypcję genów tworzą skomplikowaną sieć zależności, która łączy działanie regulatorów transkrypcji odpowiadających na sygnały z otoczenia z aktywacją lub represją ekspresji genów. Ponieważ regulatory mogą działać globalnie, tworzyć sprzężenia zwrotne, regulować ekspresję własnych promotorów na drodze autoregulacji, a także mieć dwojaką funkcję zarówno represora, jak i aktywatora, sieć regulacji ekspresji genów poje-



Rycina 2. Mechanizmy regulacji ekspresji genów znajdujących się pod kontrolą aktywatora i represora. Schematyczne przedstawienie promotorów i polimerazy RNA odpowiada konwencji z Ryc. 1A. Regulatory transkrypcji przedstawiono jako owalne lub okrągłe cząsteczki w formie dimerów. (A) Promotor operonu *lac* *E. coli* regulowany przez represor LacI i aktywator CRP, wiążące się niezależnie od siebie. (B) Niektóre promotory zależne od CRP, podlegają represji przez regulator CytR, oddziałujący bezpośrednio ze związanymi jeden za drugim dimerami CRP. (C) Związanie regulatora transkrypcji do miejsca o dużym powinowactwie wiązania aktywuje transkrypcję, a jego przyłączenie do drugiego miejsca o niskim powinowactwie powoduje represję (rycina na podstawie [31]).



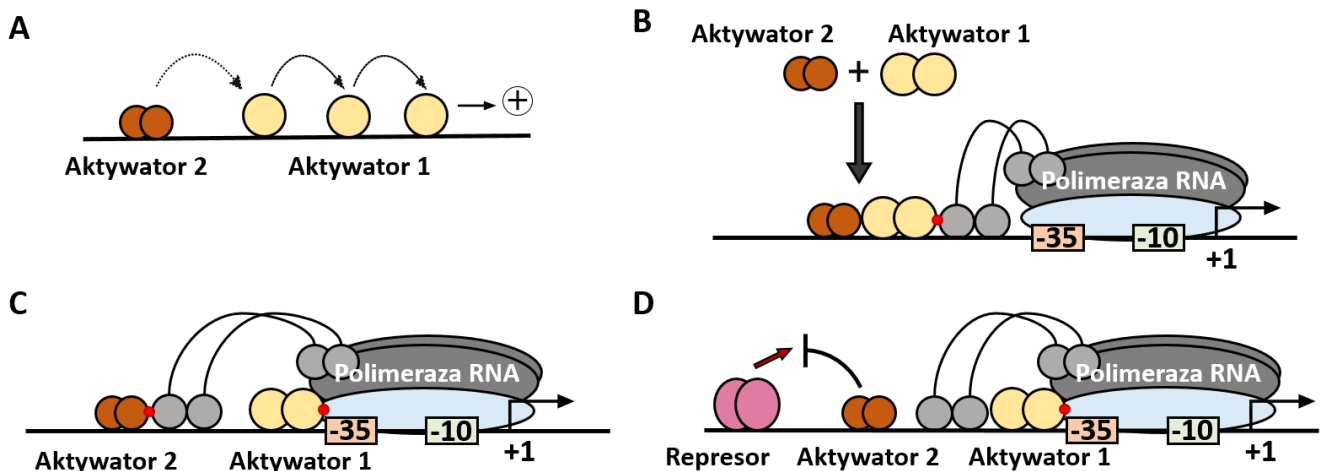
Rycina 3. Mechanizmy regulacji ekspresji genów zależnych od dwóch represorów. Schematyczne przedstawienie promotorów z sekwencjami -10, -35 oraz regulatorów. (A) Dwa represory (na przykładzie LexA i IscR) wiążą się do promotorów i podwójnie blokują transkrypcję podlegającego mu genu. (B) Promotor P1 faga GIL01 podlega represji przez białko gospodarza LexA i fagowe białko gp7, działające jako korepresor. (C) Promotor genu kolicyny E8 *E. coli* podlega represji przez kompleks białkowy złożony z LexA i AsnC. Zaginanie DNA w obrębie promotoru przez kompleks białek uniemożliwia transkrypcję (rycina na podstawie [31]).

dynczej komórki bakteryjnej jest bardzo skomplikowana. Wyróżnić można trzy klasy złożonych promotorów: regulowane przez aktywator i represor, będące tylko pod wpływem represorów i kontrolowane przez aktywatory [31].

Najprostszym scenariuszem, w którym promotor jest regulowany zarówno przez aktywator, jak i represor jest niezależne wiązanie i działanie obu regulatorów (Ryc. 2A). Przykładem takiego mechanizmu regulacji jest wspomniany już operon *lac* z *E. coli* K-12, którego promotor oprócz znajdowania się pod kontrolą represora LacI (wiążącego się w pierwszej kolejności w miejscu +11 poniżej startu transkrypcji, ale też w pozycji +412 i -82, co wzmacnia represję [36]), jest również kontrolowany przez białko receptora cyklicznego AMP (ang. *cyclic AMP receptor protein*, CRP). CRP działa jako regulator genów zaangażowanych w ścieżki kataboliczne związków węgla innych niż glukoza [37]. W przypadku operonu *lac* CRP wiąże się między pozycją -62, a -61 powyżej startu transkrypcji i aktywuje inicjację transkrypcji operonu (Ryc. 2A) [38,39]. Represor i aktywator mogą też ze sobą bezpośrednio oddziaływać, jak w przypadku przyłączania represora (lub anty-aktywatora) CytR

do dwóch związanych już z DNA dimerów CRP (Ryc. 2B) [40]. CytR jest represorem genów zaangażowanych w katabolizm rybonukleozydów, a promotory będące pod kontrolą CytR są aktywowane przez CRP [40]. W przypadku promotorów kontrolowanych przez regulatory, będące zarówno aktywatorami, jak i represorami, zazwyczaj pierwsza cząsteczka regulatora przyłącza się z dużym powinowactwem do DNA i działa jako aktywator, natomiast kolejna powoduje represję (Ryc. 2C) [31]. Przykładem takiego działania jest regulator BvgA z *Bordetella pertussis*, będący częścią dwuskładnikowego systemu regulacyjnego BvgAS, kontrolującego ekspresję ponad 100 genów związanych z wirulencją [41].

Tak jak w przypadku promotorów, będących pod kontrolą represora i aktywatora, dwa represory również mogą wiązać się do regulowanego promotoru niezależnie od siebie. Ekspresja genu z promotora zależnego od dwóch represorów jest podwójnie regulowana i potrzebne są dwa sygnały, aby umożliwić inicjację transkrypcji. Jednocześnie żaden z represorów nie jest wystarczający do całkowitego zahamowania transkrypcji (Ryc. 3A). Tego typu zależność



Rycina 4. Mechanizmy regulacji ekspresji genów zależnych od dwóch aktywatorów. Schematyczne przedstawienie promotorów z sekwencjami -10, -35, regulatorów i polimerazy RNA odpowiada wcześniejszym rycinom. (A) Aktywacja poprzez przemieszczanie - aktywator 2 doprowadza do przesunięcia aktywatora 1 w miejsce, w którym może zainicjować transkrypcję. (B) Aktywator, aby związać się do promotoru wymaga interakcji z innym aktywatorem. Dopiero dwa oddziałujące ze sobą dimery aktywatorów zdolne są do inicjacji transkrypcji. (C) Dwa aktywatory wiążą się do promotoru niezależnie od siebie i każdy niezależnie oddziałuje z polimerazą RNA. (D) Aktywator 1 jest zdolny do inicjacji transkrypcji, ale jego aktywność jest zahamowana przez związany powyżej represor. Aktywator 2 blokuje działanie represora, co doprowadza do inicjacji transkrypcji i aktywacji ekspresji (rycina na podstawie [31]).

zachodzi podczas ekspresji genu kodującego kolicynę K u *E. coli*, którego promotor ulega represji przez regulator LexA, a jednocześnie znajduje się pod kontrolą represora IscR indukowanego przez stres oksydacyjny i odpowiedź SOS [42,43].

Wiązanie i działanie represora może być wzmacniane przez oddziaływanie z korepresorem, tworząc razem kompleks o zwiększonym powinowactwie do miejsca wiązania (Ryc. 3B). Sytuację tę można zaobserwować u *Bacillus thuringiensis*, którego represor LexA oddziałuje z białkiem gp7 bakteriofaga GIL01 i jako kompleks wiążą się do promotora P1 wspomagając utrzymanie bakteriofaga w cyklu lizogennym [44].

Dwa represory związane blisko siebie mogą także doprowadzać do powstania kompleksu nukleoproteinowego, który powoduje zniekształcenie helisy DNA. W efekcie dochodzi do wyciszenia ekspresji zlokalizowanych w okolicy genów, co obserwuje się na przykład w promotorze genu kodującego kolistynę E8 u *E. coli* kontrolowanego przez LexA i AsnC (Ryc. 3C) [45].

Współdziałanie dwóch aktywatorów prowadzące do inicjacji transkrypcji z pojedynczego promotora może polegać na zmianie miejsca wiązania jednego z regulatorów przez drugi. W takim przypadku pierwszy wiążący się z DNA aktywator, pomimo że jest zdolny do aktywacji samodzielnie, wiąże się w taki sposób lub w takim miejscu, że aktywacja promotora nie jest możliwa. Aktywator-partner poprzez związanie z DNA zmienia lokalizację pierwszego regulatora, umożliwiając inicjację transkrypcji (Ryc. 4A). Tego typu mechanizm został po raz pierwszy opisany u *E. coli* dla promotora genu *malK*, regulowanego przez aktywator MalT współpracujący z białkiem CRP [46]. Zdarza się również, że konieczne jest bezpośrednie współdziałanie dwóch aktywatorów i tylko podczas jednoczesnego przyłączenia aktywatora i ko-aktywatora następuje wiązanie polimerazy RNA

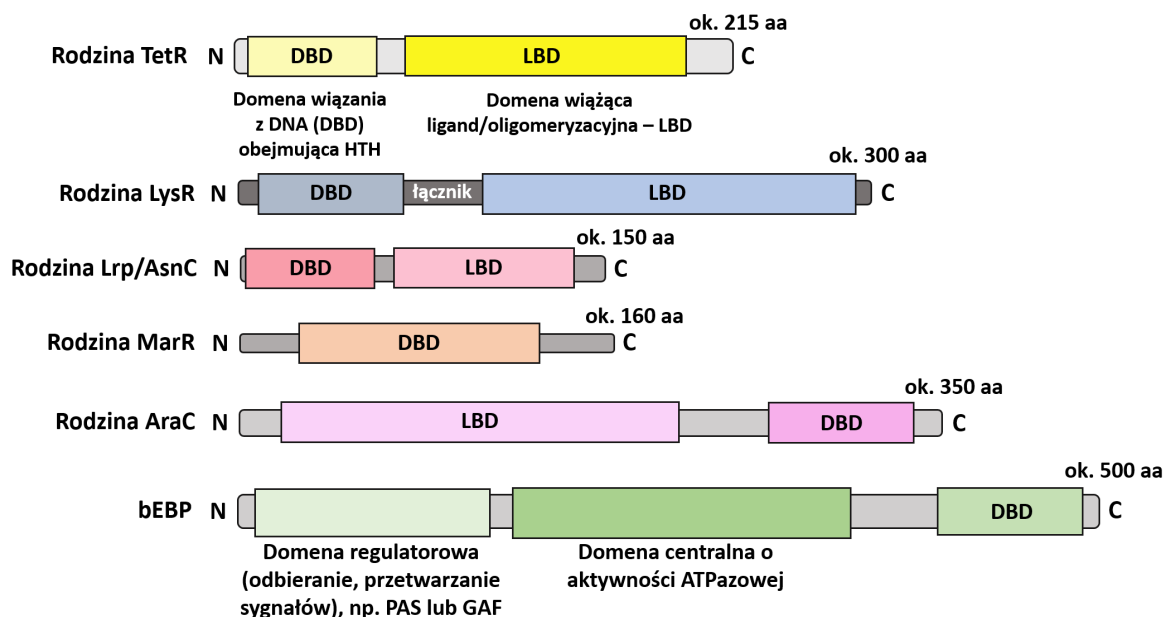
do sekwencji promotorowej (Ryc. 4B). Taki mechanizm choć występuje rzadko, opisany został dla dwóch promotorów zależnych od CRP, w których do aktywacji transkrypcji potrzebne jest oddziaływanie CRP z MelR lub Sxy [47,48].

Znacznie częstsze jest niezależne od siebie wiązanie dwóch aktywatorów i łączenie się z polimerazą przez każdego z nich indywidualnie, przy czym oba regulatory są niezbędne do przyłączenia polimerazy do DNA (Ryc. 4C). Taki podział zależności wynika z wyróżniania dwóch klas aktywatorów, gdzie aktywatory klasy I regulują ekspresję genu wiążąc się powyżej promotora i reagując z C-terminalną domeną podjednostki α polimerazy (α CTD) (jak aktywator 2 na Ryc. 4C), natomiast aktywatory klasy II wiążą się w pobliżu regionu -35 promotora pomiędzy α CTD, a domeną 4 podjednostki sigma przyłączonej do DNA polimerazy (jak aktywator 1 na Ryc. 4C) [49,50]. Aktywacja przedstawiona na Ryc. 4C może zatem uwzględniać współdziałające dwa aktywatory klasy I lub aktywator klasy I i klasy II. Przykładem takiej kooperacji są współpracujące ze sobą regulatory CRP i Fis wspólnie kontrolujące ekspresję genów kodujących cytotoksyny *E. coli* [51].

Istnieje także możliwość pośredniej współzależności dwóch aktywatorów, gdy aktywność jednego jest hamowana przez czynnik (najczęściej białko represorowe), a drugi aktywator likwiduje działanie owego czynnika, w efekcie działając jako anty-represor (Ryc. 4D) [50]. Taki mechanizm opisany został po raz pierwszy w przypadku promotora operonu *nir* *E. coli* zależnego od regulatorów Fnr i NarL lub NarP, które hamują działanie represora Fis [52].

PODZIAŁ REGULATORÓW TRANSKRYPCJI NA RODZINY

Poza podziałem na aktywatory i represory, regulatory transkrypcji klasyfikuje się do rodzin, przede wszystkim na podstawie domen, z których są zbudowane. Budowa



Rycina 5. Budowa domenowa przedstawicieli wybranych rodzin regulatorów transkrypcji bakterii [57–62].

domenowa regulatorów obejmuje przynajmniej dwie domeny, których współdziałanie pozwala na funkcje regulacyjne i przełączanie aktywności w odpowiedzi na bodźce (Ryc. 5) [53]. Szacuje się, że około trzy czwarte regulatorów transkrypcji u bakterii jest dwudomenowa, a reszta składa się z trzech, a rzadko czterech domen [54]. Szczególnym przypadkiem są przedstawiciele rodziny MarR, w których wyróżnia się tylko jedną, centralnie położoną domenę łączącą najprawdopodobniej funkcje innych (Ryc. 5). Funkcją jednej z domen jest odbieranie sygnałów, co najczęściej następuje poprzez interakcje białko-białko lub ligand, dlatego w literaturze spotyka się określenie domena wiążąca ligand (ang. *ligand-binding domain*, LBD). W wielu przypadkach, ligandami są metabolity lub czynniki fizykochemiczne, które przekazują informacje ze środowiska lub z wnętrza komórki [55,56]. Domena ta często zaangażowana jest również w oligomeryzację (Ryc. 5).

Druga domena natomiast odpowiada za bezpośrednie interakcje z DNA w miejscu wiązania regulatora (ang. *DNA-binding domain*, DBD). U bakterii najczęściej jest to domena o strukturze helisa-skręt-helisa (ang. *helix-turn-helix*, HTH), złożona z dwóch α -helis złączonych krótkim odcinkiem aminokwasów [54,63]. C-terminalna helisa domeny HTH rozpoznaje sekwencję nukleotydową i łączy się w większym rowku DNA, gdzie następuje bezpośredni kontakt z krawędziami par zasad [64]. Wśród innych domen oddziałujących z DNA wymienić można takie jak: helisa-pętla-helisa (ang. *helix-loop-helix*, HLH), palec cynkowy (ang. *zinc-finger domain*) czy anty-równoległa harmonijka beta (ang. *β -sheet-antiparallel domain*), jednak te motywy stanowią zaledwie około 5% wszystkich domen wiążących DNA u bakteryjnych regulatorów transkrypcji [64]. Motyw HTH można zatem uznać za cechę charakterystyczną regulatorów transkrypcji, będącą zarazem najbardziej zakonserwowaną strukturą wewnątrz rodzin. Ponadto, struktura domenowa może być wstępnym indykatorem funkcji regulatora, ponieważ HTH częściej występuje w N-końcowej części białka u represorów niż aktywatorów czy podwójnych regulatorów [65]. Nie może to być jednak uznawane za generalną

zależność co podkreśla Babu i Teichmann w pracy z 2003 roku [66].

Na podstawie podobieństwa domeny wiązania DNA i struktury domenowej, wszystkie regulatory transkrypcji *E. coli*, których jest około 300, są klasyfikowane do 63 rodzin [67], podczas gdy przyjmując kryteria funkcjonalne i podobieństwo sekwencji wyróżnia się 54 rodziny [68]. Analiza 761 genomów bakterii i archeonów pozwoliła ujedynolnić podział regulatorów transkrypcji u Prokaryota i podzielić je na 19 rodzin [26]. Pomimo różnic w danych literaturowych na temat liczby rodzin regulatorów, zgodnie wyróżnić można te największe i szeroko rozpowszechnione u organizmów prokariotycznych, tj. LysR i TetR. Przedstawiciele tych dwóch rodzin mogą stanowić nawet ponad 28% wszystkich prokariotycznych białek regulatorowych i występują wszechobecnie u organizmów z różnych środowisk i o różnych stylach życia [26].

Przedstawiciele rodziny TetR (średnio ok. 16 reprezentantów rodziny na 1 genom [26]) są głównie zaangażowani w regulację procesów takich jak oporność na antybiotyki, biosynteza antybiotyków czy stres osmotyczny. Zwykle są to represory zdolne do dimeryzacji, z N-terminalnie zlokalizowaną domeną HTH (Ryc. 5) [57]. Regulatory typu TetR są opisywane zarówno u bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich, α , β , γ -proteobakterii, cyjanobakterii, a także u archeonów [69]. Archetypem rodziny jest białko TetR *E. coli*, działające jako represor genu *tetA*, kodującego białko wypompowujące tetracyklinę [57].

Regulatory typu LysR (średnio ok. 15 reprezentantów rodziny na 1 genom [26]) są najbardziej rozpowszechnione u proteobakterii, głównie w klasie α i γ , ale istnieją także doniesienia o ich występowaniu u bakterii Gram-dodatnich. Duże różnice w zawartości par G+C u organizmów, w których odnajdywani są przedstawiciele rodziny LysR świadczą może, podobnie jak w przypadku rodziny TetR, o wczesnym pojawieniu się tych grup w toku ewolucji organizmów prokariotycznych [70]. Regulatory typu LysR mają

Tabela 1. Najbardziej rozpowszechnione rodziny prokariotycznych regulatorów transkrypcji

Nazwa rodziny	Budowa	Najczęstszy sposób działania	Przykłady regulowanych funkcji	Referencje
LysR	HTH na N-końcu	Aktywator/represor; obszerne regulony	Wirulencja, metabolizm, ruch, quorum sensing	[58,71]
TetR	HTH na N-końcu	Represor	Biosynteza antybiotyków, oporność na antybiotyki, stres osmotyczny	[57,69,72]
AraC/XylS	HTH na C-końcu	Aktywator	Katabolizm cukrów, odpowiedź na stres, patogeneza	[61,73]
GntR	HTH na N-końcu	Represor	Metabolizm, regulacja enzymów (allosteria)	[74,75]
MarR	HTH w centralnej części	Aktywator/represor	Oporność wielolekowa	[60,76]
Lrp/AsnC	HTH na N-końcu	Aktywator/represor; globalne/lokalne funkcje przedstawicieli	Biosynteza i metabolizm aminokwasów	[59,77,78]
bakteryjne EBP	HTH na C-końcu, 3-domenowa budowa	Aktywator; oddziałuje z czynnikiem sigma54 polimerazy zmieniając jej konformację	Asymilacja azotu, tworzenie flagelli, odpowiedź na infekcje fagowe	[62,79]

dwudomenową budowę z silnie konserwowanym wśród przedstawicieli rodziny motywem HTH w obrębie domeny DBD na N-końcu białka (Ryc. 5). Mogą one działać zarówno jako aktywator, jak i represor, a także mieć podwójne działanie jednocześnie, co należy do cech charakterystycznych tej rodziny – prawie 25% wszystkich podwójnych regulatorów u *E. coli* to przedstawiciele rodziny LysR [70]. Bardzo wiele regulatorów z rodziny LysR działa jako autorepresory, negatywnie regulując ekspresję swoich własnych genów [71]. Zaangażowane są w kontrolę wielu funkcji komórkowych, wśród których wymienić można procesy kataboliczne, biosyntezę aminokwasów czy detoksyfikację komórki [58,71].

Spśród innych ważnych i często opisywanych w literaturze rodzin wymienić można AraC/XylS, GntR, MarR, Lrp/AsnC czy odrębną rodzinę pozytywnych regulatorów zależnych od sigma54, nazywanych bakteryjnymi białkami wiążącymi wzmacniacz (ang. *bacterial Enhancer Binding Protein*, bEBP) (Tab. 1). Są to jednak grupy o zdecydowanie mniej powszechnym występowaniu niż przedstawiciele LysR i TetR, co może świadczyć o tym, że rodziny regulatorów typu LysR i TetR osiągnęły podczas ewolucji największy sukces pod kątem liczby przedstawicieli w genomach prokariotycznych.

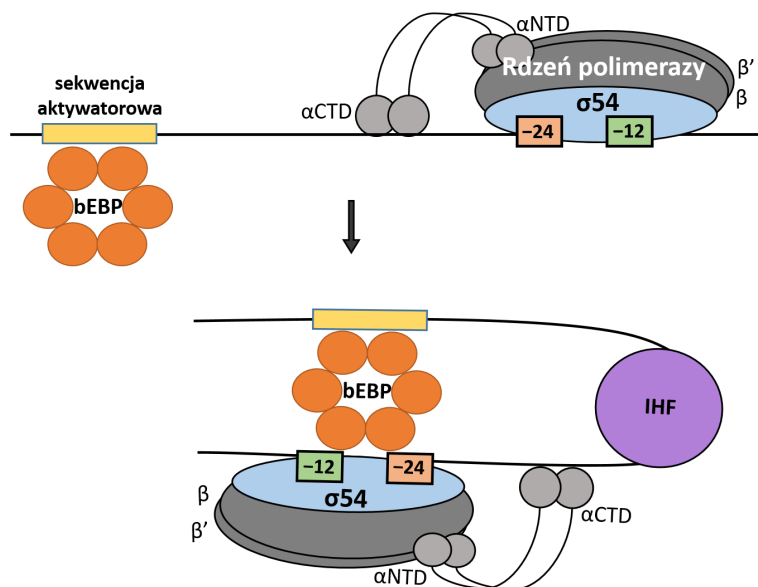
GLOBALNE REGULATORY TRANSKRYPCJI

Poprzez wzajemną regulację z innymi czynnikami transkrypcyjnymi, regulatory rozszerzają zakres kontrolowanych genów o grupę genów regulowanych niebezpośrednio. Całkowita liczba genów regulowanych przez jeden regulator zawiera zatem geny regulowane bezpośrednio i pośrednio. Co istotne, pojedynczy regulator o szerokim zakresie działania może regulować geny, których transkrypcja zachodzi z udziałem różnych czynników sigma. W pracy Shen-Orr i wsp. dotyczącej sieci regulacyjnych *E. coli*, regulatory transkrypcji kontrolujące dziesięć lub więcej operonów zostały zdefiniowane jako globalne [80]. Globalne regulatory odgrywają kluczową rolę w komórce bakteryjnej, koordynując ekspresję setek lub tysięcy genów. Siedem najbardziej znanych globalnych regulatorów *E. coli* (ArcA, CRP, Fis, Fnr, IHF, Lrp i NarL) wspólnie kontroluje około połowę wszystkich genów tej bakterii [81]. Geny kontrolowane przez poszczególne globalne regulatory mogą mieć bardzo zróżnicowane funkcje [82,83]. Gottesman definiuje regulatory jako globalne na podstawie ich plejotropowych właściwości dotyczących regulacji operonów związanych z różnymi szlakami metabolicznymi [84]. Rzeczywiście badania pokazują, że aktywacja lub inaktywacja globalnego regulatora prowadzi najczęściej do istotnych zmian w produkcji metabolitów wtórnych i plejotropowych zmian fenotypu [85,86]. Zaproponowana definicja nie obejmuje białek zaangażowanych w inne od metabolizmu kluczowe procesy komórkowe. Liczne białka wiążące się z DNA przyczyniają się do regulacji transkrypcji poprzez modyfikację regionów regulatorowych, na przykład wpływając na układ przestrzenny DNA, architekturę genomu i wiązanie innych białek regulatorowych. Trudno zatem precyzyjnie rozgraniczyć globalne regulatory transkrypcji i białka strukturalne oddziałujące z DNA, tzw. białka związane z nukleoidem, np. typu NAP (ang. *nucleoid-associated proteins*, NAP) [87].

Białka typu NAP wiążą się do DNA w wielu miejscach genomu, a ich działanie najczęściej opisywane jest w literaturze jako analogiczne do histonów wchodzących w skład chromatyny komórek eukariotycznych [88]. Mimo istotnych różnic w organizacji materiału genetycznego w domenach Eukarya, Bacteria i Archaea, informacje genetyczne zawarte w DNA przedstawiciele wszystkich trzech grup organizmów muszą być odpowiednio przechowywane i organizowane tak, aby zachodził proces replikacji, segregacji materiału genetycznego i ekspresji genów [89]. U przedstawicieli wszystkich trzech domen zidentyfikowane zostały również białka, które zmieniają kształt DNA nadając mu na przykład kompaktową formę, a dodatkowo wpływają na transkrypcję genów. Jedną z cech charakterystycznych białek typu NAP, która ułatwia im globalną regulację ekspresji genów, jest ich najczęściej losowe i w większości przypadków mało specyficzne wiązanie z DNA. NAP mają większą tendencję do wiązania się w regionach DNA bogatych w pary A+T, których większy odsetek obserwuje się zazwyczaj w miejscach promotorowych, np. TATA-box [89]. Specyficzność sekwencji wiązania jest zatem też jedną z cech, na podstawie której ciężko rozróżnić niektóre regulatory transkrypcji od NAP [87]. Przykładowo białko IHF (ang. *Integration Host Factor*, IHF) należące do NAP ma stosunkowo dokładnie określony consensus sekwencji DNA (WATCA-ANNNNTTR, gdzie W to A lub T, R to A lub G, a N to dowolny nukleotyd) [90], do której się wiąże, w odróżnieniu od regulatorów transkrypcji z rodziny LysR, które wiążą się do tzw. LTTR box o sekwencji T-N₁₁-A [58,91]. Przedstawiciele tej rodziny regulatorów podczas rozpoznawania targetów w DNA polegają prawdopodobnie często na kształcie DNA zamiast na konkretnej sekwencji nukleotydowej, co jest z kolei charakterystyczne dla NAP, takich jak H-NS czy HU [92]. Z kolei białko Fis (ang. *Factor for Inversion Stimulation*, Fis), klasyfikowane także jako NAP, może funkcjonować jak klasyczny regulator transkrypcji, który rekrutuje polimerazę RNA do inicjacji transkrypcji, poprzez interakcje białko-białko [93].

Grupa białek NAP została pierwotnie wyróżniona na podstawie ich wspólnych zdolności do zmiany kształtu cząsteczki DNA, wpływu na organizację nukleoidu/chromatyny i pełnienia kluczowej roli w utrzymaniu ścisłej struktury nukleoidu [94,95]. Dzieje się to na skutek zakręcania (ang. *bending*), zawijania (ang. *wrapping*) lub łączenia przylegających obszarów DNA (ang. *bridging*), a oprócz tego NAP mają zdolność polimeryzowania wzdłuż struktury DNA (ang. *spreading*) [89]. Liczne regulatory transkrypcji współpracują z białkami typu NAP, czego przykładem może być regulacja ekspresji z udziałem sigma54. W tym przypadku pętla DNA wytworzona przez białko IHF typu NAP jest kluczowa i niezbędna do oddziaływania pomiędzy aktywatorem typu EBP związanym powyżej startu transkrypcji, a polimerazą RNA (Ryc. 6) [62,96].

Niektóre promotory mogą być regulowane przez różne białka typu NAP. Promotor genu *dps* *E. coli* kodującego jedno z białek typu NAP odgrywające kluczową rolę w kondensacji chromosomu w fazie stacjonarnej wzrostu, regulowany jest przez inne białka NAP – Fis, które tworzy zator w regionie promotorowym wstrzymując związaną polime-



Rycina 6. Schemat inicjacji transkrypcji z udziałem czynnika sigma54 i bakteryjnych białek wiążących wzmacniacz (bEBPs). Aktywator (pomarańczowy heksamer) wiąże się do sekwencji aktywatorowej położonej powyżej promotora (80-150 pz). Przyłączenie białka IHF prowadzi do zapełnienia łańcucha DNA i zbliżenia aktywatora do podjednostki sigma54 polimerazy. Aktywator dostarcza energię z hydrolizy ATP, co prowadzi do powstania otwartego kompleksu polimerazy RNA i rozpoczęcia transkrypcji (rycina na podstawie [62]).

razę RNA i H-NS, które blokuje jej przyłączenie [97]. Białka NAP uczestniczą tym samym w modulacji ekspresji genów, będąc częścią sieci regulacyjnej zawiadującej transkrypcją.

SIECI REGULACYJNE

Bezpośredni wpływ regulatorów transkrypcji na ekspresję docelowych genów jest zwyczajowo prezentowany w formie sieci regulacyjnych (ang. *transcriptional regulatory network*, TRN), które najczęściej tworzą skomplikowany schemat współzależności pomiędzy różnymi regulatorami i regulowanymi przez nie genami [98–100]. Sieci regulacyjne w komórce pełnią kluczową rolę w kontroli transkrypcji w odpowiedzi na zmiany środowiska. Wzór ekspresji genów, jako wynik działalności sieci regulacyjnej w pojedynczej komórce ulega ciągłym zmianom. Podstawową jednostką sieci regulacyjnej jest regulon – grupa genów/operonów regulowanych przez określony zbiór czynników transkrypcyjnych. Oryginalna definicja ograniczała regulon do grupy genów podlegających regulacji przez jeden czynnik [101]. Obecnie pojęcie „regulon” ma znacznie szersze znaczenie i w literaturze stosuje się je do dużych grup genów regulowanych zarówno bezpośrednio jak i pośrednio przez powiązane ze sobą regulatory, które mogą tworzyć kaskadę regulacji [102–104]. Można wyróżnić trzy schematy działania sieci regulacyjnych [29]:

- prosty regulon, model regulacji przez jeden czynnik (ang. *single-input module*) – pojedynczy regulator transkrypcji reguluje ekspresję jednego, kilku lub wielu genów (Ryc. 7A);
- pętla sprzężeń (ang. *feed-forward loop*) – regulator transkrypcji X reguluje ekspresję genu kodującego regulator Y, który reguluje gen, będący także pod kontrolą regulatora X (Ryc. 7A);

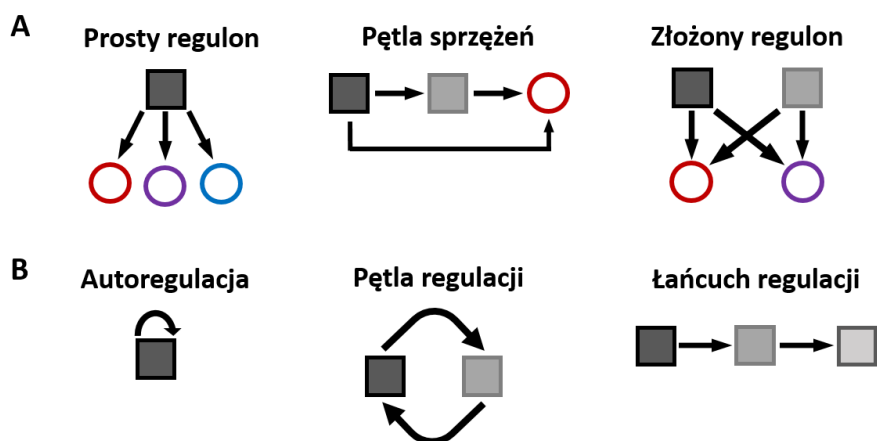
- złożony regulon, nakładające się na siebie zależności (ang. *dense overlapping regulons*) – wiele regulatorów kontroluje ekspresję (najczęściej nakładających się na siebie) zbiorów genów (Ryc. 7A).

Dodatkowo, wprowadzić można kolejny podział zależności występujących w sieciach regulacyjnych, na poziomie samych regulatorów transkrypcji:

- autoregulacja – regulator kontrolujący własną ekspresję (Ryc. 7B);
- pętla wzajemnych regulacji – dwa (lub więcej) regulatorów, które regulują siebie nawzajem (Ryc. 7B);
- łańcuch regulacji – zbiór regulatorów, z których jeden kontroluje poziom lub aktywność kolejnego (Ryc. 7B).

Często w jednej sieci regulacyjnej kilka (lub wszystkie) z wymienionych schematów występują jednocześnie, tworząc bezpośrednie i pośrednie zależności. Regulony można grupować w wyższe struktury, takie jak modulony, w których poszczególne regulony wspólnie odpowiadają na zewnętrzny czynnik, prowadząc do jednej funkcji, np. regulacji sporulacji czy metabolizmu węgla lub azotu [106].

Istotną cechą bakteryjnych sieci regulacyjnych jest ich plastyczność i elastyczność, co wiąże się ze zmiennością i szybką ewolucją transkryptomu [107–109]. Dlatego możliwość przewidywania budowy i funkcji sieci regulacyjnych jednego gatunku na podstawie wiedzy o innych gatunkach jest u organizmów prokariotycznych bardzo ograniczona. W genomach można wyróżnić rdzenne geny, które są współdzielone przez większość (lub wszystkie) gatunki posiadające dane białko regulatorowe i zestaw zmiennych genów specyficznych dla gatunku [110]. Efekt działania regulatora często znacząco różni się już pomiędzy szczepa-



Rycina 7. Schemat przedstawiający zależności występujące w sieciach regulacyjnych. Kwadraty reprezentują regulatory transkrypcji, a koła geny, których ekspresja podlega regulacji (na podstawie [105]).

mi tego samego gatunku, a regulatory o silnej predykcji do filogenetycznych powiązań rzadko regulują ortologiczne geny [111,112]. Regulatory transkrypcji ewoluują niezależnie i szybciej od regulowanych przez nie genów [113]. Ponadto geny kodujące represory ewoluują ściślej z celami (ang. *targets*) represora niż geny kodujące aktywatory. Aktywator może zostać „zgubiony” podczas ewolucji, podczas gdy gen pierwotnie przez niego regulowany pozostaje w genomie. Represory natomiast są usuwane w toku ewolucji zazwyczaj razem z regulowanym genem, umożliwiając lepsze przystosowanie do określonych warunków bytowania lub gdy sieć regulacji jest zmodyfikowana na tyle, że rola regulatora jest umniejszona, przez co jest on zbędny [114]. Informacja zawarta w genach podlegających represji jest zatem bardziej zakonserwowana pomiędzy spokrewnionymi gatunkami [115].

SIEĆ REGULACYJNA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

P. aeruginosa posiada jedną z najbardziej złożonych sieci regulacyjnych wśród dotąd charakteryzowanych bakterii, co uważa się, że w dużej mierze przyczynia się do sukcesu tego oportunistycznego patogena w aspekcie epidemiologii. Regulacja ekspresji genów u *P. aeruginosa* jest skomplikowanym procesem, w który zaangażowana jest liczna grupa regulatorów transkrypcji, czynników sigma, a także regulatorów RNA [116]. Choć funkcje większości regulatorów pozostają wciąż nieznanne, rosnąca liczba kompletnych sekwencji genomów szczepów *Pseudomonas* wraz ze wzrastającym rozwojem technik transkryptomicznych, proteomicznych i metabolomicznych dostarcza nowych informacji potrzebnych do rozumienia złożonych procesów regulacyjnych.

P. aeruginosa jest Gram-ujemną pałeczką należącą do klasy γ -proteobakterii [117]. Podobnie jak inni przedstawiciele rodzaju *Pseudomonas*, *P. aeruginosa* charakteryzuje się wysoką tolerancją metaboliczną, minimalnymi wymaganiami hodowli oraz dużymi zdolnościami przystosowawczymi, co skutkuje możliwością kolonizacji szerokiej gamy niszy ekologicznych, włączając organizmy zwierząt oraz ludzi [117]. Wśród cech wyróżniających *P. aeruginosa* wy-

mienić można także wrodzony wysoki poziom oporności na związki antyseptyczne i antybiotyki (co wynika przede wszystkim z niskiej przepuszczalności zewnętrznej błony komórkowej i występowania pomp wielolekooporności), co czyni go groźnym patogenem [118]. *P. aeruginosa* jest częstym czynnikiem etiologicznym zakażeń szpitalnych i powoduje infekcje układu oddechowego, ale także ran poparzeniowych, dróg moczowych czy ucha zewnętrznego. Patogen ten jest szczególnie groźny dla osób chorych na AIDS, nowotwór płuc, przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (POChP), mukowiscydozę, a obecnie także zmagających się z COVID-19 [119–123].

Wielkość genomu *P. aeruginosa* to ponad 6 Mbp, zbliżając się do wartości jakie opisuje się dla genomów niższych organizmów eukariotycznych [124]. Plastyczność genomu, nabyte w ewolucji geny, rozległe rearanżacje oraz umiejętność wykorzystywania dostępnego repertuaru genów umożliwiają adaptację do specyficznych niszy, takich jak gleba czy środowiska wodne [125]. O mnogości i skomplikowaniu sieci regulacyjnych zawiadujących ekspresją genów występujących w genomie *P. aeruginosa* świadczy około 10%-owy udział genów kodujących białka regulatorowe [126]. W szczepie *P. aeruginosa* PAO1 około 500 genów koduje regulatory transkrypcji, które klasyfikuje się co najmniej do 44 rodzin [127]. Dodatkowo w szczepie tym wyróżnia się 28 czynników sigma – jeden sigma54, osiem sigma70 i 19 czynników ECF, które pełnią rolę pomocniczą w różnych procesach i regulonach, na przykład zależnych od poziomu żelaza (PvdS (PA2426) [128], HasI (PA3410) [129]) czy uszkodzeń w ścianie komórkowej (AlgU (PA0762) [130], SigX (PA1776) [131] i SbrI (PA2896) [132]) [127,133]. Funkcje regulatorowe pełnią także 34 zidentyfikowane małe regulatory RNA, spośród których rola bardzo niewielu była jak dotąd scharakteryzowana [124,134]. Grupę sRNA (ang. *small RNA*) tworzą cząsteczki RNA odrębne od mRNA, tRNA i rRNA, które biorą udział w różnych etapach ekspresji genów komórek prokariotycznych. sRNA-zależna regulacja przejawia się poprzez interakcję cząsteczki RNA z DNA lub mRNA, bądź wpływ na aktywność białka lub kompleksów białkowych [135]. Wiele spośród znanych sRNA *P. aeruginosa* (nazywanych również rgRNA od ang.

Tabela 3. Przykłady super-regulatorów systemu QS w *P. aeruginosa* (na podstawie [141])

Regulator	Mechanizm działania	Referencje
AlgR2	Negatywny regulator transkrypcji lasR i rhIR	[152]
GacA/GacS	Dwuskładnikowy system aktywacyjny lasR i rhIR	[153,154]
MvaT	Represor o globalnych właściwościach	[155]
QslA	Negatywny regulator (anty-aktywator) białek LasR i PqsR	[156]
RpoN	Negatywny regulator lasRI i rhIRI	[157,158]
RpoS	Negatywny regulator rhII	[151,159,160]
RsmA	Negatywny regulator lasI	[161]
Vfr	Aktywator transkrypcji lasR i rhIR	[162]

kowanej kontroli na poziomie transkrypcji. Przykłady tylko niektórych sieci regulacyjnych zaangażowanych w kontrolę kluczowych dla bakterii patogennej procesów przedstawiono poniżej.

REGULACJA QUORUM SENSING

Rozbudowany system wyczuwania gęstości, tzw. *quorum sensing* (ang. *quorum sensing*, QS) u *P. aeruginosa*, polegający na syntezie i uwalnianiu małych cząsteczek sygnałowych do środowiska, tworzy skomplikowany proces komunikacji pomiędzy komórkami, który bierze czynny udział w formowaniu biofilmu i jest jednym z głównych czynników wirulencji. Jak dotąd w *P. aeruginosa* scharakteryzowane zostały cztery ścieżki QS (*las*, *rhI*, *pqs* i *iqs*), a dodatkowo wykazana została ich hierarchiczna organizacja i ścisła współpraca [139,140]. System *las* położony jest na szczycie owej hierarchii i jest niezbędnym elementem do aktywacji pozostałych trzech systemów [141]. Cząsteczkami sygnałowymi w systemie *las* i *rhI* są laktony acylo-homoseryny (AHL) [142,143], natomiast systemy *pqs* i *iqs* opierają się na sygnałach przesyłanych przez pochodne chinolonów i karboaldehidów, odpowiednio [140,144]. Aktywność regulatorów LasR i RhIR jest indukowana, odpowiednio, wiązaniem cząsteczek 3OC₁₂-HSL i C₄-HSL, które produkowane są przez syntazy LasI i RhII [139]. Cząsteczka sygnałowa IQS (2-(2-hydroksy-fenyl)-tiazolo-4-karboaldehid) syntetyzowana jest przez białka kodowane w operonie *ambBCDE*, a synteza IQS dodatkowo pozostaje pod ścisłą kontrolą systemu *las* [140]. Regulatory LasR i RhIR razem z IQS regulują produkcję PQS (ang. *Pseudomonas* quinolone signal) i aktywność PqsR (MvfR), regulatora transkrypcji zaangażowanego w kontrolę QS i patogenyzy [145,146].

Oprócz wzajemnych powiązań na poziomie regulacyjnym, cząsteczki sygnałowe i regulatory systemu QS wpływają na transkrypcję setek genów, wśród których warto wymienić przede wszystkim te powiązane z wirulencją, jak np. produkcją ramnolipidów i piocyjanin czy ruchem bakterii [141,147,148]. Wiele regulatorów o globalnym działaniu moduluje między innymi geny zależne od QS, a niektóre już scharakteryzowane regulatory o znanej funkcji okazują się mieć wpływ również na QS, np. ExsA (regulator systemu sekrecji typu III, ale też genu *impA* kodującego metaloproteazę), czy SoxR (regulator kontrolujący odpowiedź na stres oksydacyjny, ale też geny pompy wielolekowej *mexGHI-ompD*) [149,150]. Czynniki sigma RpoS zaangażowany głównie w kontrolę ekspresji genów, gdy komórki wchodzi w fazę stacjonarną wzrostu, oddziałuje na ok. 40%

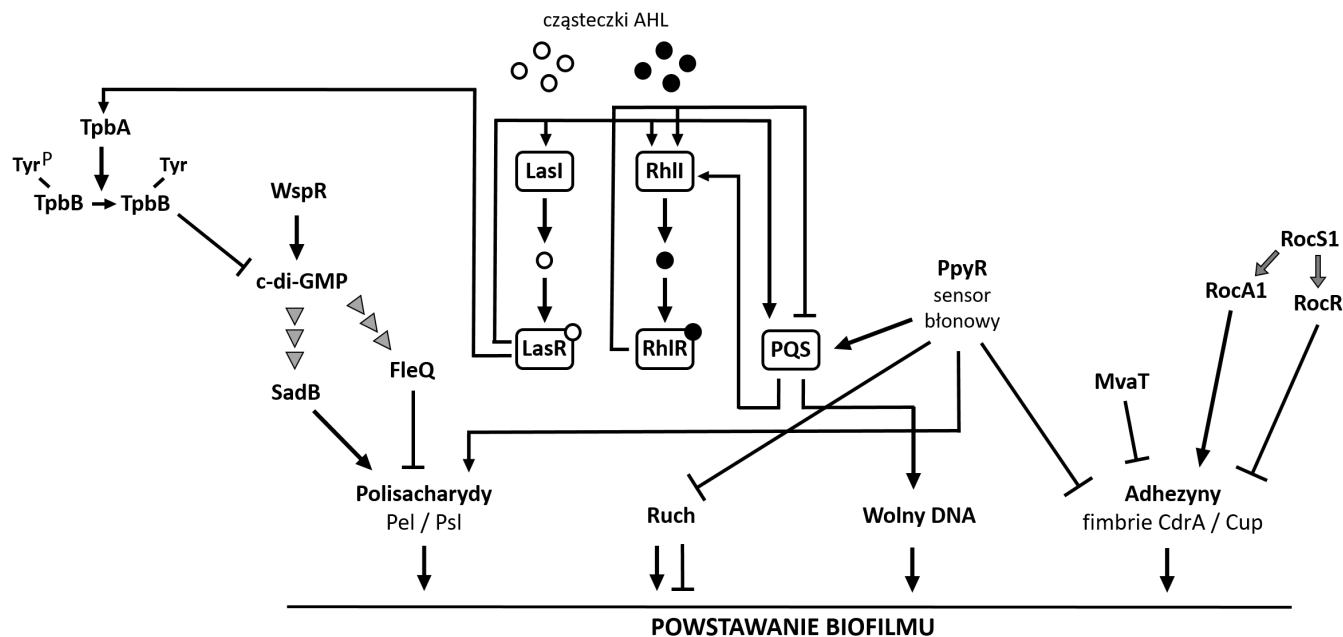
regulonu QS, będąc represorem *rhII* [151]. Przykłady innych regulatorów z *P. aeruginosa* o szerokim wpływie na QS są przedstawione w tabeli 3. Poziom skomplikowania i złożoności relacji w sieci regulacji QS jest wciąż zgłębianym i uaktualnianym tematem.

REGULACJA TWORZENIA BIOFILMU

Zjawiskiem ściśle związanym z QS jest proces tworzenia biofilmu, który jest szczególnie istotny w prognozach dla pacjentów zakażonych *P. aeruginosa*, ponieważ wiąże się zazwyczaj z przekształceniem infekcji ostrej w przewlekłą [163]. Biofilmem nazywana jest wielokomórkowa struktura związana z powierzchnią (biotyczną, np. płuc czy ran lub abiotyczną, np. cewników), otoczona macierzą pozakomórkową złożoną głównie z polisacharydów, białek i kwasów nukleinowych [163,164]. Każdy z etapów formowania biofilmu, tj. przytwierdzenie do podłoża wolnożyjących bakterii, agregacja, dojrzewanie z wytworzeniem mikrokolonii i macierzy zewnątrzkomórkowej, czy jego rozproszenie, wiąże się z kompleksowymi przemianami stylu życia bakterii, a także zmianami w regulacji ekspresji ich genów [165,166].

Wiązanie komórek *P. aeruginosa* do podłoża i formowanie mikrokolonii wynika przede wszystkim z aktywności pilusów typu IV i rzęsek, ale na tym etapie udział biorą też polisacharydy Pel i Psl, będące głównymi składnikami macierzy otaczającej biofilm [167,168]. Przytwierdzenie komórek do powierzchni jest procesem odwracalnym i jest on regulowany przez białko SadB (PA5346) (Ryc. 9) [169]. SadB pobudza produkcję polisacharydu Pel i związany z chemotaksją klastr genów *PA0408-PA0417*, prawdopodobnie przekazując sygnał o poziomie c-di-GMP w komórce [170].

Klastry genów *pel* i *psl* podlegają regulacji posttranskrypcyjnej oraz regulowane są przez poziom c-di-GMP w komórce, który jest jednym z głównych czynników wpływających na formowanie biofilmu. Wysoki poziom c-di-GMP indukuje zarówno ekspresję genów związanych z produkcją adhezyn, jak i komponentów macierzy zewnątrzkomórkowej czy genów kodujących białka budujące flagellę [171,172]. Geny *pel* i *psl* są także regulowane przez regulator FleQ (PA1097) wrażliwy na c-di-GMP (Ryc. 9) [173–175]. Operon *pel* podlega także pośredniej regulacji poprzez fosfatę tyrozynową TpbA (PA3885), kontrolowaną przez LasR i defosforylującą TpbB (PA1120), co prowadzi do obniżonej produkcji c-di-GMP (Ryc. 9) [176]. Związane z błoną białko PpyR (PA2663) wspomaga proces tworzenia biofilmu modulując ekspresję operonu *psl*, dodatkowo oddziałując na



Rycina 9. Schemat podsumowujący główne ścieżki regulacji powstawania biofilmu u *P. aeruginosa* (opis w tekście) (częściowo na podstawie [171]).

QS [177]. System QS reguluje lizę komórek wchodzących w skład biofilmu przez co przyczynia się do uwalniania jednego z głównych komponentów macierzy biofilmu, którym jest wolny DNA (Ryc. 9) [178–180].

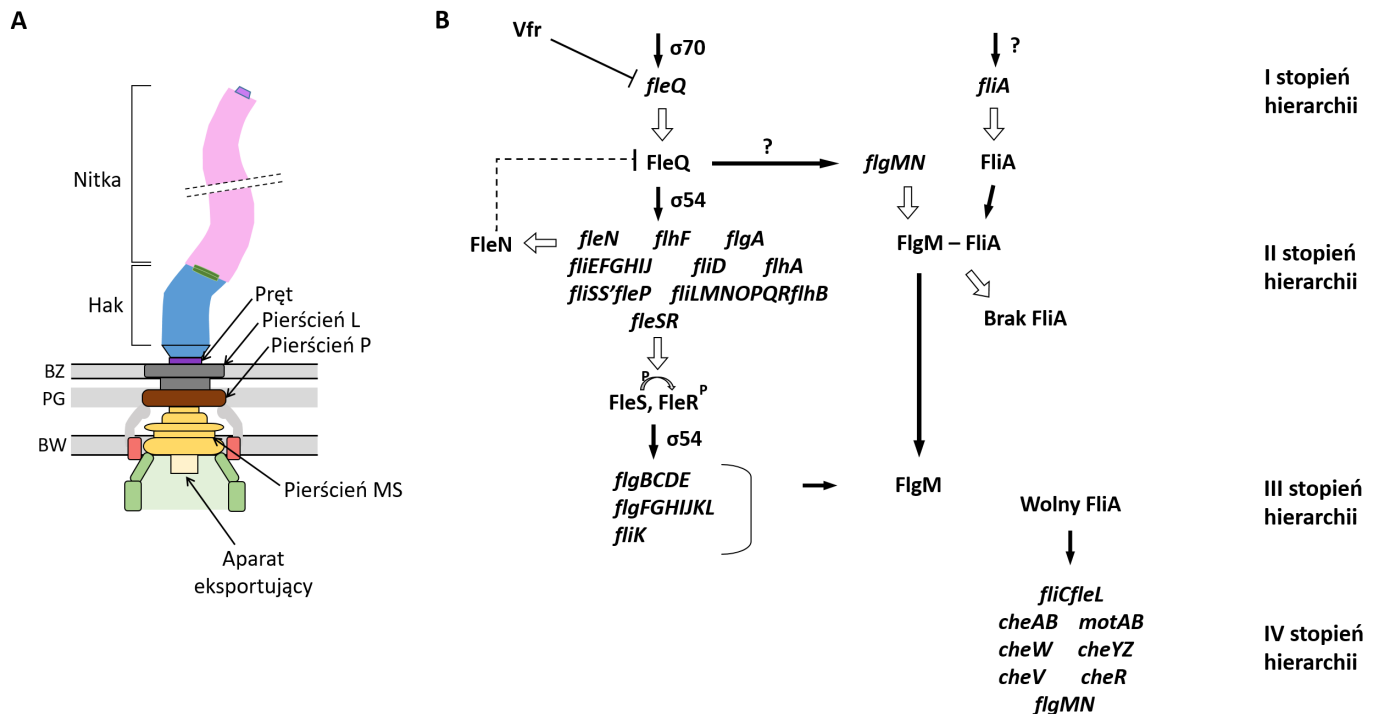
Trzy znane dwuskładnikowe systemy regulacyjne: BfiRS (PA4196-PA4197), BfmRS (PA4101-PA4102) i MifR (PA5511), działają jako aktywatory powstawania i dojrzewania biofilmu poprzez fosforylację [181]. SagS (PA2824) moduluje dojrzewanie biofilmu kontrolując fosforylację prowadzoną przez BifS [182].

Trzy odrębne klastry genów *cupA* (PA2128-PA2133), *cupB* (PA4081-PA4086) i *cupC* (PA0992-PA0994) kodujące w *P. aeruginosa* PAO1 fimbrie Cup, biorące udział w różnych etapach powstawania biofilmu, podlegają kompleksowej regulacji (Ryc. 9) [183]. W ich regulację zaangażowane jest między innymi białko MvaT, będące jednym z przedstawicieli globalnych regulatorów typu H-NS, należących do NAP [184]. MvaT działa przede wszystkim jako represor *cupA*, ale reguluje też w mniejszym zakresie ekspresję *cupB* i *cupC* [185]. Klastry *cupB* i *cupC* regulowane są w pierwszej kolejności przez trzyskładnikowy system regulacyjny RocS1-RocR-RocA1 (PA3946-PA3948) składający się z kinazy odbierającej bodźce (RocS1), regulatora (RocA1) i jego represora (RocR) (Ryc. 9) [186,187]. Wewnątrzkomórkowy poziom c-di-GMP, od którego zależne są klastry *cup* i *pel/psl*, modulowany jest z kolei przez system chemosensoryjny kodowany przez klastrowy *wsp* (PA3702-PA3708) [174] i wspomnianą już wcześniej fosfatazę TpbA, której efektem jest TpbB (PA1120) (Ryc. 9) [176]. Jednym z graczy biorących udział w regulacji tworzenia biofilmu *P. aeruginosa*, prawdopodobnie przez aktywację genów klastra *cupE* powiązanych z adhezją, jest także białko BsrA [188].

REGULACJA POWSTAWANIA I AKTYWNOŚCI RZĘSEK (ANG. FLAGELLA)

Rzęski występujące na powierzchni komórki są podstawowym środkiem lokocji i organellum ruchu u bakterii. *P. aeruginosa* posiada pojedynczą biegunowo położoną rzęskę (Ryc. 10A). Mutanty jej nie posiadające są mniej wirulentne i wykazują mniejszą zdolność infekowania komórek nabłonka, co świadczy o istotnym znaczeniu rzęsek dla kolonizacji i wirulencji [189,190]. Ruch rzęski jest procesem kosztownym energetycznie, a w genomie PAO1 41 loci koduje komponenty zaangażowane w strukturę, składanie rzęski oraz regulację i produkcję rotacyjnej siły napędzającej, a 9 tworzy maszynę chemosensoryjną kontrolującą chemotaksję [191].

Transkrypcja genów związanych z aktywnością i budową rzęski u *P. aeruginosa* regulowana jest w największym stopniu przez regulator transkrypcji FleQ [192] i dwuskładnikowy system regulacyjny FleSR [193]. Regulacja działania rzęski zależy także od trzech czynników sigma – sigma70 (RpoD), sigma54 (RpoN) i sigma28 (FliA) i czynnika anty-sigma FlgM [194–197]. Kontrola i koordynacja transkrypcji genów wchodzących w skład regulonu związanego z rzęską u *P. aeruginosa* ma czterostopniową hierarchię, której głównym i najwyższym postawionym regulatorem jest FleQ (Ryc. 10B) [191,198]. FleQ bezpośrednio i pośrednio reguluje ekspresję większości genów rzęski, z wyjątkiem genu *fliA*. Stąd *fleQ* i *fliA* tworzą pierwszy stopień w hierarchii regulonu i są niezależnie od siebie kontrolowane przez czynniki niewchodzące w skład regulonu związanego z rzęską (Ryc. 10B) [191]. Promotor *fleQ* jest sigma70-zależny i podlega represji przez globalny regulator Vfr [196]. Gen *fliA* transkrybowany jest z konstytutywnego promotora i do tej pory nie wykazano jego regulacji przez żaden regulator z wyjątkiem



Rycina 10. Schemat elementów tworzących rzęskę bakterii i sieci regulacyjnej kontrolującej ekspresję genów rzęski *P. aeruginosa*. (A) Schematyczne przedstawienie budowy rzęski i jej zakotwiczenia w błonie bakterii Gram-ujemnych (na podstawie [199]). (B) Hierarchia transkrypcji i regulacja ekspresji genów, których produkty budują i kontrolują działanie rzęski u *P. aeruginosa*. Schemat na podstawie [191], „?” oznacza nieznaną jak dotąd mechanizm. BZ – błona zewnętrzna, PG – peptydoglikan, BW – błona wewnętrzna.

czynnika anty-sigma FlgM, który wiąże się do FliA i moduluje jego aktywność [197].

Drugi stopień w hierarchii genów tworzących regulon rzęski *P. aeruginosa* tworzą operony *fleSR*, *fliEFGHIJ*, *fliLMNOPQRflhB*, *fliSS'fleP* (PA1096) i geny *flhF*, *fleN*, *fliD*, *flhA* i *flgA* (PA3350), podlegające aktywacji przez FleQ wraz z czynnikiem sigma54 (Ryc. 10B). Geny te kodują kluczowe komponenty strukturalne rzęski takie jak ciało podstawowe, pierścień MS czy pierścień P budujące mocowanie rzęski w błonie wewnętrznej i ścianie komórkowej, a także długą śrubowatą nitkę (ang. *filament*) wychodzącą z komórki, która porusza komórką poprzez wirowanie, zazwyczaj przeciwie do ruchu wskazówek zegara (Ryc. 10A) [191,200]. Białko FlhF prawdopodobnie odpowiada za lokalizację rzęski na powierzchni komórki *P. aeruginosa*. FleN działa jako anty-aktywator FleQ oddziałując z FleQ bezpośrednio, przez co odgrywa ważną rolę w utrzymaniu rzęski [201,202].

W grupie tworzącej trzeci stopień w hierarchii regulonu wyróżnia się gen *fliK* (PA1441) i dwa operony *flgBCDE*, *flgFGHIJKL*, których ekspresja zależy od FleQ, FleR i sigma54 (Ryc. 10B) [191]. Ekspresja tych genów prowadzi do powstawania kolejnych ważnych struktur budujących rzęskę, wśród których wymienić można pierścień L położony w zewnętrznej błonie komórkowej, hak rzęski z niej wychodzący i białka łączące hak z nitkowatą strukturą zewnętrzną (Ryc. 10A) [200].

Wszystkie geny zależne od FliA (sigma28) składają się na czwarty stopień hierarchii (Ryc. 10B). Do ich ekspresji wymagane są produkty genów wcześniejszych stopni, które prowadzą do odłączenia FlgM od FliA i aktywacji ge-

now czwartego stopnia (Ryc. 10B). Są to *cheAB*, *cheW*, *cheV* (PA3349), *cheR* (PA3348), *cheYZ* (kodujące chemoreceptory i regulatory kontrolujące chemotaksję), *motAB* (kontrola rotacji, napędzania ruchu), *fliCfleL* (PA1092-PA1093) (kontrola długości nitki) i *flgMN* (PA3351-PA3352) (czynnik anty-sigma28 i kontrola długości/montażu nitki) [191].

Do eksportowania komponentów dystalnych budujących część pozakomórkową rzęski służy system sekrecji typu III (T3SS), tworzący także międzybłonowe kompleksy białkowe działające jak „strzykawki” przemieszczające cząsteczki do eukariotycznych komórek gospodarza infekowanych przez bakterie [203].

REGULACJA SEKRECJI I TRANSPORTU PRZEZ BŁONY

P. aeruginosa posiada szeroki wachlarz białek wydzielanych na zewnątrz komórki i pięć (typ I, II, III, V i VI) z siedmiu systemów sekrecji, które były do tej pory opisane u bakterii (Tab. 4) [204]. Białka efektorowe wydzielane poprzez systemy sekrecji są ważnymi elementami przyczyniającymi się do przetrwania bakterii, jako czynnik wirulencji i mechanizm interakcji ze środowiskiem, komórkami eukariotycznymi i innymi bakteriami bytującymi w otoczeniu [116]. Większość wydzielanych efektorów to toksyny, wśród których wymienić można LasA, PrpL, ToxA czy fosfolipazy (Tab. 4), które wydzielane są poprzez system Xcp sekrecji typu II [204]. Efektory kluczowe dla omijania odpowiedzi odpornościowej gospodarza (np. fagocytów) są wydzielane przez system sekrecji typu III [205], natomiast efektorami systemu sekrecji typu I u *P. aeruginosa* są dwa białka – alkaliczna proteaza AprA (PA1249) [206] i hemofor HasAp (PA3407) [207]

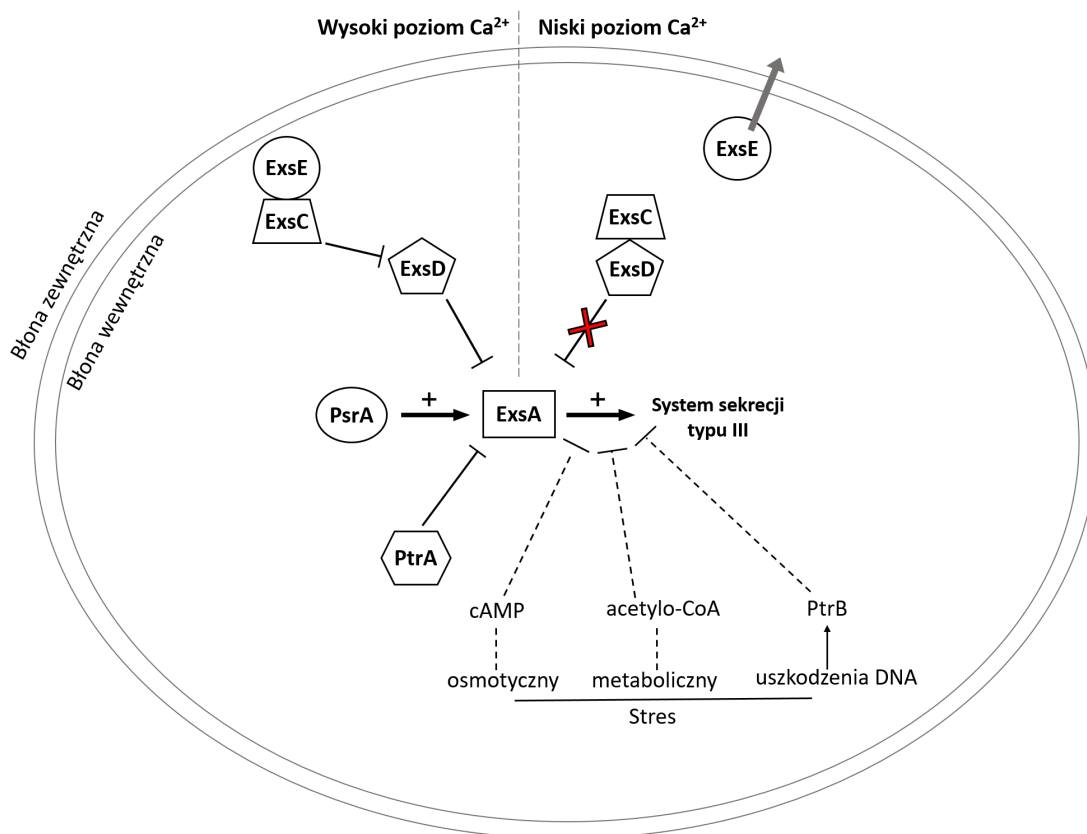
Tabela 4. Charakterystyka systemów sekrecji występujących w *P. aeruginosa* (częściowo na podstawie Filloux 2011)

Typ sekrecji	Kanał w błonie zewnętrznej	ATPaza	Wydzielane białko	Funkcja wydzielanego białka	Referencje
System sekrecji typu I					
Apr	AprF (PA1248)	AprD (PA1246)	AprA (PA1249)	Alkaliczna proteaza	[206]
Has	HasF (PA3404)	HasD (PA3406)	AprX (PA1245) HasAP (PA3403)	Nieznana Białko pobierania hemu	[208] [209]
System sekrecji typu II					
Xcp	XcpQ (PA3105)	XcpR (PA3103)	CbpD (PA0852) LasA (PA1871) LasB (PA3724) LipA (PA2862) LipC (PA4813) LoxA (PA1169) PaAP (PA2939) PhoA (PA3296) PlcB (PA0026) PlcH (PA0844) PlcN (PA3319) PmpA (PA0572) PrpL (PA4175) ToxA (PA1948) LapA (PA0688)	Białko wiążące chitynę Proteaza-elastaza Proteaza-elastaza Lipaza Lipaza Lipoksygenaza Aminopeptydaza Alkaliczna fosfataza Fosfolipaza Fosfolipaza hemolityczna Fosfolipaza Przewidywana proteaza Proteaza Eksotoksyna Alkaliczna fosfataza	[210] [211] [211] [212] [213] [214] [211] [215] [216] [217] [217] [204] [218] [219] [220]
Hxc	HxcQ (PA0685)	HxcR (PA0686)			
System sekrecji typu III	PscC (PA1716)	PscN (PA1697)	ExoS (PA3841) ExoT (PA0044) ExoU ExoY (PA2191)	Aktywacja GTPazy i rybozylotransferaza (domena GAP i ADPRT) Aktywacja GTPazy i rybozylotransferaza (domena GAP i ADPRT) Fosfolipaza podobna do patatyny Cyklaza adenylowa	[221] [221] [222] [221]
System sekrecji typu V		Nie dotyczy			
a	C-koniec EstA		EstA (PA5112)	Lipaza	[223]
b	CdrB (PA4624) LepB (PA4540)		CdrA (PA4625) LepA (PA4541)	Adhezyna Proteaza	[224] [225]
p-usher	CupB3 (PA4084)		CupB5 (PA4082)	Przewidywana adhezyna	[226]
d	C-koniec PlpD		PlpD (PA3339)	Enzym lipolityczny podobny do patatyny	[227]
System sekrecji typu VI	Nie dotyczy				
H1		ClpV1 (PA0090)	Tse1 (PA1844)	Nieznana	[228]
H2		ClpV2 (PA1662)	Tse2 (PA2702)	Toksyna bakteryjna	[228]
H3		ClpV3 (PA2371)	Tse3 (PA3484) VgrG1a (PA0091) VgrG1b (PA0095) VgrG1c (PA2685) Tse4 (PA2774) Hcp1-3 Azu (PA4922)	Nieznana Nieznana Nieznana Nieznana Toksyna bakteryjna Wirulencja Białko wiążące jony Cu ²⁺	[228] [229] [229] [229] [230] [231] [232]

Aż trzy spośród systemów sekrecji *P. aeruginosa* są zależne od QS - typ I, II i VI (typ VI podzielony dodatkowo na trzy podgrupy: HSI-I, HSI-II i HSI-III lub H1, H2 i H3) [233–236]. LasR i MvfR działają jako represory genów systemu HSI-I, ale pozytywnie regulują ekspresję genów kodujących HSI-II i HSI-III (HSI-II także aktywowany przez RhII) [237]. System HSI-I dodatkowo regulowany jest post-transkrypcyjnie przez białko wiążące RNA - RsmA zależne od globalnego regulatora RetS (zaangażowanego także w regulację systemu sekrecji typu III), a ekspresja genów systemu HSI-II i HSI-III zależy od czynnika sigma54 [231,238]. Ekspresja genu kodującego białko systemu sekrecji typu I AprA jest aktywowana przez regulator BexR (PA2432) należący do rodziny LysR [239], a dwuskładnikowy system PhoBR (PA5360-PA5361) reguluje geny efektorów typu II sekrecji

takie jak PlcF, PlcC, PlcN i LapA [215,220]. System sekrecji typu V jest najmniej skomplikowany pod kątem mechanizmu działania, ale jego regulacja na poziomie transkrypcji nie jest poznana [240]. W systemie tym eksport odbywa się bez udziału dodatkowych białek, a kanał w błonie zewnętrznej tworzy C-terminalna domena transportowanego białka (autotransporter), formując strukturę β -baryłki [240].

Typ III sekrecji u *P. aeruginosa* podlega kompleksowej wielopoziomowej regulacji, która jest dobrze poznana i scharakteryzowana w literaturze [241]. Ekspresja genów systemu III sekrecji regulowana jest na poziomie transkrypcji i post-transkrypcyjnie w odpowiedzi na kontakt komórki bakteryjnej i gospodarza oraz na poziom jonów Ca²⁺ w środowisku (Ryc. 11) [242,243]. Regulator ExsA (PA1713) z rodziny AraC reguluje ekspresję 43 genów kodujących kom-



Rycina 11. Model regulacji systemu sekrecji typu III w komórce *P. aeruginosa* (częściowo na podstawie [245]).

ponenty systemu sekrecji typu III, wiążąc się jako monomer do sekwencji o długości 8 pz (consensus TXAAAAXA) powyżej regionu -35 regulowanego promotora [244]. ExsA działa jako autoregulator, a oprócz tego ekspresja genu *exsA* jest aktywowana przez PsrA (PA3006) – regulator należący do rodziny TetR [245,246]. Dwa anty-aktywatory, ExsD (PA1714) i PtrA (PA2808) przy współpracy z anty-anty-aktywatorem ExsC (PA1710) wspólnie regulują aktywność ExsA (Ryc. 11) [247]. W warunkach wysokiego stężenia jonów Ca^{2+} (braku indukcji), ExsE (PA1711) wiąże się do ExsC, pozwalając anty-aktywatorowi ExsD związać się do ExsA i zablokować w ten sposób inicjację transkrypcji. Podczas ograniczonego dostępu do jonów Ca^{2+} (warunki indukcyjne) ExsE podlega sekrecji, odłączając się i uwalniając ExsC, co prowadzi do związania ExsC z ExsD. ExsA jest w ten sposób uwolnione od anty-aktywacji i pozytywnie reguluje ekspresję genów systemu sekrecji typu III [247]. Jest to kluczowa sieć regulatorowa kontrolująca ten system sekrecji, jednak szereg innych czynników ma wpływ na regulację systemu sekrecji typu III (Ryc. 11). Wśród nich wymienić można stres wywołany uszkodzeniami DNA (aktywacja PtrB poprzez RecA) [248], stres metaboliczny [249,250] czy wysokie zasolenie środowiska [251]. W warunkach ograniczonego dostępu tlenu, regulator Anr (PA1544) aktywuje represor NarL (PA3879), który hamuje ekspresję genów kodujących dwa sRNA – RsmY i RsmZ. RsmY i RsmZ negatywnie regulują ekspresję genu globalnego regulatora post-transkrypcyjnego RsmA, który w wyniku tej kaskady sygnałowej aktywuje typ III sekrecji [252]. Badania pokazały, że nawet w warunkach indukcyjnych, ekspresja genów

systemu sekrecji typu III zachodzi tylko w części populacji bakterii, co świadczy o tym jak ściśle regulowana jest transkrypcja na poziomie komórki [249].

Oprócz pięciu wspomnianych systemów sekrecji/transportu (Tab. 4), w skład błony wewnętrznej i zewnętrznej *P. aeruginosa* wchodzi białka-transportery pośredniczące w transporcie substancji pomiędzy komórką a otoczeniem lub cytoplazmą a peryplazmą. Transportery typu ABC (ang. *ATP-binding cassette transporter*) czy rodzina DMT (ang. *drug/metabolite transporter*, DMT) tworzą liczną grupę białek błonowych, których rola w komórce, jak i kontrola działania pozostaje często niewyjaśniona. Jednym z przykładów jest białko PA2576 z *P. aeruginosa* na podstawie budowy klasyfikowane do rodziny DMT, którego gen znajduje się pod kontrolą regulatora PA2577 [253]. Przeprowadzone badania wskazują, że PA2577 pośrednio wpływa też na ekspresję genów związanych z systemem sekrecji typu III. Wykazano także, że białko PA2576 oddziałuje z białkiem PA5006, prawdopodobnie kodującym kinazę lipopolisacharydu (LPS), co łączy transporter błonowy PA2576 z biogenezą lipopolisacharydu, ujawniając rozbudowaną sieć zależności kontrolujących funkcje błonowe u bakterii [253].

REGULACJA INNYCH KLUCZOWYCH PROCESÓW KOMÓRKOWYCH

Oprócz opisanych powyżej procesów ściśle powiązanych z wirulencją, znajdujących się pod kontrolą określonych regulatorów transkrypcji, liczne procesy kluczowe dla

przeżycia bakterii są kontrolowane na poziomie ekspresji genów. Wśród nich wymienić można szeroko pojęte procesy metaboliczne czy te związane z cyklem komórkowym bakterii.

Regulacja transkrypcji wielu genów zaangażowanych w centralne procesy metaboliczne pozostaje w *P. aeruginosa* wciąż niescharakteryzowana. Przykładem może być cykl glioksylanowy (ang. *glyoxylate shunt*), będący dopełniającą ścieżką metabolizmu węgla obok cyklu Krebsa, umożliwiającą wzrost bakterii na octanie jako jedynym źródle węgla [254]. Geny kodujące ważne enzymy cyklu glioksylanowego w *P. aeruginosa*, takie jak *aceA* czy *glcB*, są silnie ekspresjonowane podczas wzrostu na podłożu z octanem jako źródłem węgla. Jednocześnie są silnie reprimowane, gdy bakterie rosną w podłożu z dodatkiem glukozy, która zapoczątkowuje glikolizę [254]. Mechanizm tych zmian ekspresji genów jest jednak nieznan.

Podczas infekcji i zmiany środowiska życia bakterii na tkanki gospodarza, silnym zmianom i modyfikacjom ulega typ i ilość dostępnych składników odżywczych, przez co następuje przeprogramowanie metabolizmu patogena [255]. Stąd obserwuje się duże zmiany w transkryptomie związanym z centralnym metabolizmem, zachodzące w *P. aeruginosa* podczas infekcji [256]. Wykazano, że ekspresja genów kodujących większość białek cyklu kwasów tricarboxylowych (ang. *tricarboxylic acid cycle*, cykl TCA) jest obniżona *in vivo* w porównaniu do warunków laboratoryjnych. Dotyczy to genów kodujących enzymy takie jak syntaza cytrynianu, dehydrogenaza izocytrynianowa czy dehydrogenaza alfa-ketoglutaranu [257]. Obniżona ekspresja *in vivo* genów dehydrogenazy i karboksylazy pirogronianu, których aktywność poprzedza wejście pirogronianu w cykl TCA sugerować może, że w *P. aeruginosa* podczas infekcji zachodzi glukoneogeneza zamiast glikolizy [258]. Oprócz metabolizmu węgla, także procesy metaboliczne aminokwasów (będących zarówno źródłem węgla jak i azotu) i ich regulacja są istotną częścią przemian zachodzących w komórce [259].

Najlepiej poznanym regulatorem związanym z metabolizmem węgla u *P. aeruginosa* jest białko Crc (ang. *Catabolite repression control*) [260–262]. Jest to globalny post-transkrypcyjny regulator, który działa jako represor translacji mRNA kodującego białka związane z pobieraniem i rozkładem różnych źródeł węgla. Aktywność Crc prowadzi do wykorzystywania przez bakterie preferowanych źródeł węgla w pierwszej kolejności – dla *P. aeruginosa* są to związki takie jak cytrynian, bursztynian, jabłczan, octan czy glukoza [263].

PODSUMOWANIE

Regulacja transkrypcji jest głównym mechanizmem kontrolującym ekspresję genów i najbardziej ekonomicznym sposobem reagowania komórki na szybko zmieniające się środowisko. Prowadzone badania w różnych mikroorganizmach ujawniły istnienie rozbudowanych sieci regulacyjnych, kaskadowych zależności i współpracę różnych transkrypcyjnych regulatorów w kontroli ekspresji genów. Sieć regulacyjna *P. aeruginosa*, oportunistycznego patogena

człowieka, jest bardzo złożona, a badania pokazują wielopoziomowe zależności zawiadujące ekspresją genów zaangażowanych w podstawowe procesy życiowe czy związane z wirulencją, tworzeniem biofilmu lub zdolnością do ruchu. Prowadzone badania pozwalają lepiej zrozumieć skomplikowaną sieć regulacyjną oraz strategie adaptacji i przetrwania w różnych środowiskach bakterii. Uzyskana wiedza, dostarcza informacji, które mogą pomóc w stworzeniu nowych systemów regulacyjnych dla potrzeb biotechnologii, czy też w zaprojektowaniu wartościowych narzędzi do kontroli metabolizmu bakterii, które znajdują potencjalne zastosowanie w przemyśle, ochronie środowiska oraz w zwalczaniu patogenów roślinnych, zwierzęcych i ludzkich, jako cele terapii antybakteryjnej.

PIŚMIENNICTWO

1. Jacob F, Monod J (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J Mol Biol* 3:318–356
2. Jacob F, Monod J (1959) Genes of structure and genes of regulation in the biosynthesis of proteins. *Comptes Rendus Hebd Seances Acad Sci* 249:1282–1284
3. Ptashne M (1965) The detachment and maturation of conserved lambda prophage DNA. *J Mol Biol* 11:90–96
4. Ptashne M (1967) Specific binding of the λ phage repressor to λ DNA. *Nature* 214:232–234
5. Goelzer A, Bekkal Brikci F, Martin-Verstraete I, Noirot P, Bessières P, Aymerich S, Fromion V (2008) Reconstruction and analysis of the genetic and metabolic regulatory networks of the central metabolism of *Bacillus subtilis*. *BMC Syst Biol* 2:20
6. Chubukov V, Gerosa L, Kochanowski K, Sauer U (2014) Coordination of microbial metabolism. *Nat Rev Microbiol* 12:327–340
7. Klumpp S, Zhang Z, Hwa T (2009) Growth-rate dependent global effects on gene expression in bacteria. *Cell* 139:1366
8. Berthoumieux S, de Jong H, Baptist G, Pinel C, Ranquet C, Ropers D, Geiselmann J (2013) Shared control of gene expression in bacteria by transcription factors and global physiology of the cell. *Mol Syst Biol* 9:634
9. Dorman CJ (1995) 1995 Flemming Lecture. DNA topology and the global control of bacterial gene expression: implications for the regulation of virulence gene expression. *Microbiol Read Engl* 141:1271–1280
10. Hatfield GW, Benham CJ (2002) DNA topology-mediated control of global gene expression in *Escherichia coli*. *Annu Rev Genet* 36:175–203
11. Travers A, Muskhelishvili G (2005) DNA supercoiling – a global transcriptional regulator for enterobacterial growth? *Nat Rev Microbiol* 3:157–169
12. Waters LS, Storz G (2009) Regulatory RNAs in Bacteria. *Cell* 136:615–628
13. Morris KV, Mattick JS (2014) The rise of regulatory RNA. *Nat Rev Genet* 15:423–437
14. Maeda H, Fujita N, Ishihama A (2000) Competition among seven *Escherichia coli* σ subunits: relative binding affinities to the core RNA polymerase. *Nucleic Acids Res* 28:3497–3503
15. Helmann JD (2002) The extracytoplasmic function (ECF) sigma factors. *Adv Microb Physiol* 46:47–110
16. Paget MS, Helmann JD (2003) The $\sigma 70$ family of sigma factors. *Genome Biol* 4:203
17. Kazmierczak MJ, Wiedmann M, Boor KJ (2005) Alternative sigma factors and their roles in bacterial virulence. *Microbiol Mol Biol Rev* 69:527–543
18. Griffiths A, Lewontin R, Miller J, Suzuki D, Gelbart W (2000) An introduction to genetic analysis. Seventh Edition
19. Browning DF, Busby SJ (2004) The regulation of bacterial transcription initiation. *Nat Rev Microbiol* 2:57–65

20. Ghosh T, Bose D, Zhang X (2010) Mechanisms for activating bacterial RNA polymerase. *FEMS Microbiol Rev* 34:611–627
21. Paget MS (2015) Bacterial sigma factors and anti-sigma factors: structure, function and distribution. *Biomolecules* 5:1245–1265
22. Balleza E, Alvarez-Buylla ER, Chaos A, Kauffman S, Shmulevich I, Aldana M (2008) Critical dynamics in genetic regulatory networks: examples from four kingdoms. *PLoS One* 3:e2456
23. Murakami KS, Masuda S, Darst SA (2002) Structural basis of transcription initiation: RNA polymerase holoenzyme at 4 Å resolution. *Science* 296:1280–1284
24. Gruber TM, Gross CA (2003) Multiple sigma subunits and the partitioning of bacterial transcription space. *Annu Rev Microbiol* 57:441–466
25. Potvin E, Sanschagrin F, Levesque RC (2008) Sigma factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Rev* 32:38–55
26. Pérez-Rueda E, Hernandez-Guerrero R, Martínez-Núñez MA, Armenta-Medina D, Sanchez I, Ibarra JA (2018) Abundance, diversity and domain architecture variability in prokaryotic DNA-binding transcription factors. *PLoS One* 13:e0195332
27. Goulian M (2004) Robust control in bacterial regulatory circuits. *Curr Opin Microbiol* 7:198–202
28. Alon U (2006) An introduction to systems biology: design principles of biological circuits. Chapman and Hall/CRC, New York
29. Alon U (2007) Network motifs: theory and experimental approaches. *Nat Rev Genet* 8:450–461
30. Bintu L, Buchler NE, Garcia HG, Gerland U, Hwa T, Kondev J, Phillips R (2005) Transcriptional regulation by the numbers: models. *Curr Opin Genet Dev* 15:116–124
31. Browning DF, Butala M, Busby SJW (2019) Bacterial transcription factors: regulation by pick “N” mix. *J Mol Biol* 431:4067–4077
32. Lee DJ, Minchin SD, Busby SJW (2012) Activating transcription in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 66:125–152
33. Busby S, Ebright RH (1994) Promoter structure, promoter recognition, and transcription activation in prokaryotes. *Cell* 79:743–746
34. Brown NL, Stoyanov JV, Kidd SP, Hobman JL (2003) The MerR family of transcriptional regulators. *FEMS Microbiol Rev* 27:145–163
35. Plumbridge J (2002) Regulation of gene expression in the PTS in *Escherichia coli*: the role and interactions of Mlc. *Curr Opin Microbiol* 5:187–193
36. Browning DF, Godfrey RE, Richards KL, Robinson C, Busby SJW (2019) Exploitation of the *Escherichia coli lac* operon promoter for controlled recombinant protein production. *Biochem Soc Trans* 47:755–763
37. Fic E, Bonarek P, Gorecki A, Kedracka-Krok S, Mikolajczak J, Polit A, Tworzydło M, Dziedzicka-Wasylewska M, Wasylewski Z (2009) cAMP receptor protein from *Escherichia coli* as a model of signal transduction in proteins—a review. *J Mol Microbiol Biotechnol* 17:1–11
38. Wilson CJ, Zhan H, Swint-Kruse L, Matthews KS (2007) The lactose repressor system: paradigms for regulation, allosteric behavior and protein folding. *Cell Mol Life Sci CMLS* 64:3–16
39. Liu B, Hong C, Huang RK, Yu Z, Steitz TA (2017) Structural basis of bacterial transcription activation. *Science* 358:947–951
40. Valentin-Hansen P, Søgaard-Andersen L, Pedersen H (1996) A flexible partnership: the CytR anti-activator and the cAMP-CRP activator protein, comrades in transcription control. *Mol Microbiol* 20:461–466
41. Decker KB, James TD, Stibitz S, Hinton DM (2012) The *Bordetella pertussis* model of exquisite gene control by the global transcription factor BvgA. *Microbiol Read Engl* 158:1665–1676
42. Butala M, Sonjak S, Kamenšek S, Hodošček M, Browning DF, Žgur-Bertok D, Busby SJW (2012) Double locking of an *Escherichia coli* promoter by two repressors prevents premature colicin expression and cell lysis. *Mol Microbiol* 86:129–139
43. Culyba MJ, Kubiak JM, Mo CY, Goulian M, Kohli RM (2018) Non-equilibrium repressor binding kinetics link DNA damage dose to transcriptional timing within the SOS gene network. *PLoS Genet* 14:e1007405
44. Fornelos N, Butala M, Hodnik V, Anderluh G, Bamford JK, Salas M (2015) Bacteriophage GIL01 gp7 interacts with host LexA repressor to enhance DNA binding and inhibit RecA-mediated auto-cleavage. *Nucleic Acids Res* 43:7315–7329
45. Kamenšek S, Browning DF, Podlesek Z, Busby SJW, Žgur-Bertok D, Butala M (2015) Silencing of DNase colicin E8 gene expression by a complex nucleoprotein assembly ensures timely colicin induction. *PLoS Genet* 11:e1005354
46. Richet E, Vidal-Ingigliardi D, Raibaud O (1991) A new mechanism for coactivation of transcription initiation: repositioning of an activator triggered by the binding of a second activator. *Cell* 66:1185–1195
47. Wade JT, Belyaeva TA, Hyde EI, Busby SJW (2001) A simple mechanism for co-dependence on two activators at an *Escherichia coli* promoter. *EMBO J* 20:7160–7167
48. Jaskólska M, Gerdes K (2015) CRP-dependent positive autoregulation and proteolytic degradation regulate competence activator Sxy of *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 95:833–845
49. Lawson CL, Swigon D, Murakami KS, Darst SA, Berman HM, Ebright RH (2004) Catabolite activator protein: DNA binding and transcription activation. *Curr Opin Struct Biol* 14:10–20
50. Busby SJW (2019) Transcription activation in bacteria: ancient and modern. *Microbiol Read Engl* 165:386–395
51. Rossiter AE, Godfrey RE, Connolly JA, Busby SJW, Henderson IR, Browning DF (2015) Expression of different bacterial cytotoxins is controlled by two global transcription factors, CRP and Fis, that co-operate in a shared-recruitment mechanism. *Biochem J* 466:323–335
52. Wu H, Tyson KL, Cole JA, Busby SJ (1998) Regulation of transcription initiation at the *Escherichia coli nir* operon promoter: a new mechanism to account for co-dependence on two transcription factors. *Mol Microbiol* 27:493–505
53. Balleza E, López-Bojorquez LN, Martínez-Antonio A, Resendis-Antonio O, Lozada-Chávez I, Balderas-Martínez YI, Encarnación S, Collado-Vides J (2009) Regulation by transcription factors in bacteria: beyond description. *Fems Microbiol Rev* 33:133–151
54. Babu MM, Teichmann SA (2003) Evolution of transcription factors and the gene regulatory network in *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Res* 31:1234–1244
55. Ptashne M, Gann A (2002) *Genes & Signals*. Cold Spring Harbor Laboratory Press
56. Martínez-Antonio A, Janga SC, Salgado H, Collado-Vides J (2006) Internal-sensing machinery directs the activity of the regulatory network in *Escherichia coli*. *Trends Microbiol* 14:22–27
57. Cuthbertson L, Nodwell JR (2013) The TetR family of regulators. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR* 77:440–475
58. Maddocks SE, Oyston PCF (2008) Structure and function of the LysR-type transcriptional regulator (LTTR) family proteins. *Microbiol Read Engl* 154:3609–3623
59. Brinkman AB, Ettema TJG, Vos WMD, Oost JVD (2003) The Lrp family of transcriptional regulators. *Mol Microbiol* 48:287–294
60. Wilkinson SP, Grove A (2006) Ligand-responsive transcriptional regulation by members of the MarR family of winged helix proteins. *Curr Issues Mol Biol* 8:51–62
61. Gallegos MT, Michán C, Ramos JL (1993) The XylS/AraC family of regulators. *Nucleic Acids Res* 21:807–810
62. Bush M, Dixon R (2012) The role of bacterial enhancer binding proteins as specialized activators of σ 54-dependent transcription. *Microbiol Mol Biol Rev* 76:497–529
63. Seshasayee ASN, Bertone P, Fraser GM, Luscombe NM (2006) Transcriptional regulatory networks in bacteria: from input signals to output responses. *Curr Opin Microbiol* 9:511–519
64. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2002) *Molecular biology of the cell*, 4th edition Garland Science
65. Pérez-Rueda E, Gralla JD, Collado-Vides J (1998) Genomic position analyses and the transcription machinery. *J Mol Biol* 275:165–170
66. Babu MM, Teichmann SA (2003) Functional determinants of transcription factors in *Escherichia coli*: protein families and binding sites. *Trends Genet* 19:75–79

67. Ishihama A (2012) Prokaryotic genome regulation: a revolutionary paradigm. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 88:485–508
68. Ishihama A (2009) The nucleoid: an overview. *EcoSal Plus* 3
69. Ramos JL, Martínez-Bueno M, Molina-Henares AJ, Terán W, Watanabe K, Zhang X, Gallegos MT, Brennan R, Tobes R (2005) The TetR family of transcriptional repressors. *Microbiol Mol Biol Rev* 69:326–356
70. Pérez-Rueda E, Collado-Vides J (2000) The repertoire of DNA-binding transcriptional regulators in *Escherichia coli* K-12. *Nucleic Acids Res* 28:1838–1847
71. Schell MA (1993) Molecular biology of the LysR family of transcriptional regulators. *Annu Rev Microbiol* 47:597–626
72. Colclough AL, Scadden J, Blair JMA (2019) TetR-family transcription factors in Gram-negative bacteria: conservation, variation and implications for efflux-mediated antimicrobial resistance. *BMC Genomics* 20:731
73. Martin RG, Rosner JL (2001) The AraC transcriptional activators. *Curr Opin Microbiol* 4:132–137
74. Jain D (2015) Allosteric control of transcription in GntR family of transcription regulators: A structural overview. *IUBMB Life* 67:556–563
75. Hoskisson PA, Rigali S (2009) Chapter 1: Variation in form and function the helix-turn-helix regulators of the GntR superfamily. *Adv Appl Microbiol* 69:1–22
76. Beggs GA, Brennan RG, Arshad M (2020) MarR family proteins are important regulators of clinically relevant antibiotic resistance. *Protein Sci Publ Protein Soc* 29:647–653
77. Yokoyama K, Ishijima SA, Clowney L, Koike H, Aramaki H, Tanaka C, Makino K, Suzuki M (2006) Feast/famine regulatory proteins (FFRPs): *Escherichia coli* Lrp, AsnC and related archaeal transcription factors. *FEMS Microbiol Rev* 30:89–108
78. Thaw P, Sedelnikova SE, Muranova T, Wiese S, Ayora S, Alonso JC, Brinkman AB, Akerboom J, van der Oost J, Rafferty JB (2006) Structural insight into gene transcriptional regulation and effector binding by the Lrp/AsnC family. *Nucleic Acids Res* 34:1439–1449
79. Gao F, Danson AE, Ye F, Jovanovic M, Buck M, Zhang X (2020) Bacterial enhancer binding proteins-AAA+ proteins in transcription activation. *Biomolecules* 10:E351
80. Shen-Orr SS, Milo R, Mangan S, Alon U (2002) Network motifs in the transcriptional regulation network of *Escherichia coli*. *Nat Genet* 31:64–68
81. Martínez-Antonio A, Collado-Vides J (2003) Identifying global regulators in transcriptional regulatory networks in bacteria. *Curr Opin Microbiol* 6:482–489
82. Antigueira L, Janga SC, Costa L da F (2012) Extensive cross-talk and global regulators identified from an analysis of the integrated transcriptional and signaling network in *Escherichia coli*. *Mol Biosyst* 8:3028–3035
83. Saxer G, Krepps MD, Merkley ED, Ansong C, Kaiser BLD, Valovska M-T, Ristic N, Yeh PT, Prakash VP, Leiser OP, Nakhleh L, Gibbons HS, Kreuzer HW, Shamoo Y (2014) Mutations in global regulators lead to metabolic selection during adaptation to complex environments. *PLOS Genet* 10:e1004872
84. Gottesman S (1984) Bacterial regulation: global regulatory networks. *Annu Rev Genet* 18:415–441
85. Thapa SS, Grove A (2019) Do global regulators hold the key to production of bacterial secondary metabolites? *Antibiotics* 8:160
86. Shim SH (2020) Global regulators to activate silent biosynthetic gene clusters. *Nat Prod Sci* 26:183–190
87. Dorman CJ, Schumacher MA, Bush MJ, Brennan RG, Buttner MJ (2020) When is a transcription factor a NAP? *Curr Opin Microbiol* 55:26–33
88. Amemiya HM, Schroeder J, Freddolino PL (2021) Nucleoid-associated proteins shape chromatin structure and transcriptional regulation across the bacterial kingdom. *Transcription* 12:182–218
89. Dillon SC, Dorman CJ (2010) Bacterial nucleoid-associated proteins, nucleoid structure and gene expression. *Nat Rev Microbiol* 8:185–195
90. Hales LM, Gumport RI, Gardner JF (1994) Determining the DNA sequence elements required for binding integration host factor to two different target sites. *J Bacteriol* 176:2999–3006
91. Nash HA, Robertson CA (1981) Purification and properties of the *Escherichia coli* protein factor required for lambda integrative recombination. *J Biol Chem* 256:9246–9253
92. Dorman CJ, Dorman MJ (2017) Control of virulence gene transcription by indirect readout in *Vibrio cholerae* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Environ Microbiol* 19:3834–3845
93. Bokal AJ, Ross W, Gaal T, Johnson RC, Gourse RL (1997) Molecular anatomy of a transcription activation patch: FIS-RNA polymerase interactions at the *Escherichia coli* *rrnB* P1 promoter. *EMBO J* 16:154–162
94. Pettijohn DE (1988) Histone-like proteins and bacterial chromosome structure. *J Biol Chem* 263:12793–12796
95. Browning DF, Grainger DC, Busby SJ (2010) Effects of nucleoid-associated proteins on bacterial chromosome structure and gene expression. *Curr Opin Microbiol* 13:773–780
96. Buck M, Gallegos MT, Studholme DJ, Guo Y, Gralla JD (2000) The bacterial enhancer-dependent sigma(54) (sigma(N)) transcription factor. *J Bacteriol* 182:4129–4136
97. Grainger DC, Goldberg MD, Lee DJ, Busby SJW (2008) Selective repression by Fis and H-NS at the *Escherichia coli* *dps* promoter. *Mol Microbiol* 68:1366–1377
98. McAdams HH, Arkin A (1998) Simulation of prokaryotic genetic circuits. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 27:199–224
99. Thieffry D, Thomas R (1998) Qualitative analysis of gene networks. *Pac Symp Biocomput Pac Symp Biocomput* 77–88
100. Lee TI, Rinaldi NJ, Robert F, Odom DT, Bar-Joseph Z, Gerber GK, Hannett NM, Harbison CT, Thompson CM, Simon I, Zeitlinger J, Jennings EG, Murray HL, Gordon DB, Ren B, Wyrick JJ, Tagne J-B, Volkert TL, Fraenkel E, Gifford DK, Young RA (2002) Transcriptional regulatory networks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 298:799–804
101. Maas WK (1964) Studies on the mechanism of repression of arginine biosynthesis in *Escherichia coli*. II. Dominance of repressibility in diploids. *J Mol Biol* 8:365–370
102. DiRita VJ, Parsot C, Jander G, Mekalanos JJ (1991) Regulatory cascade controls virulence in *Vibrio cholerae*. *Proc Natl Acad Sci* 88:5403–5407
103. Nizan-Koren R, Manulis S, Mor H, Iraki NM, Barash I (2003) The regulatory cascade that activates the Hrp regulon in *Erwinia herbicola* pv. *gypsophylae*. *Mol Plant-Microbe Interactions* 16:249–260
104. Roberts SA, Scott JR (2007) RivR and the small RNA RivX: the missing links between the CovR regulatory cascade and the Mga regulon. *Mol Microbiol* 66:1506–1522
105. Zhou D, Yang R (2006) Global analysis of gene transcription regulation in prokaryotes. *Cell Mol Life Sci CMLS* 63:2260–2290
106. Lengeler JW, Postma PW (1999) Global regulatory networks and signal transduction pathways. *Biology of the Prokaryotes* (Lengeler JW, Drews G, Schlegel HG), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Niemcy, str. 491–523
107. Babu MM, Luscombe NM, Aravind L, Gerstein M, Teichmann SA (2004) Structure and evolution of transcriptional regulatory networks. *Curr Opin Struct Biol* 14:283–291
108. Gelfand MS (2006) Evolution of transcriptional regulatory networks in microbial genomes. *Curr Opin Struct Biol* 16:420–429
109. Janga SC, Collado-Vides J (2007) Structure and evolution of gene regulatory networks in microbial genomes. *Res Microbiol* 158:787–794
110. Perez JC, Groisman EA (2009) Evolution of transcriptional regulatory circuits in bacteria. *Cell* 138:233–244
111. Hendriksen WT, Silva N, Bootsma HJ, Blue CE, Paterson GK, Kerr AR, de Jong A, Kuipers OP, Hermans PWM, Mitchell TJ (2007) Regulation of gene expression in *Streptococcus pneumoniae* by response regulator 09 is strain dependent. *J Bacteriol* 189:1382–1389
112. Price MN, Dehal PS, Arkin AP (2007) Orthologous transcription factors in bacteria have different functions and regulate different genes. *PLoS Comput Biol* 3:1739–1750

113. Babu MM, Teichmann SA, Aravind L (2006) Evolutionary dynamics of prokaryotic transcriptional regulatory networks. *J Mol Biol* 358:614–633
114. Hershberg R, Margalit H (2006) Co-evolution of transcription factors and their targets depends on mode of regulation. *Genome Biol* 7:R62
115. van Hijum SAFT, Medema MH, Kuipers OP (2009) Mechanisms and evolution of control logic in prokaryotic transcriptional regulation. *Microbiol Mol Biol Rev* 73:481–509
116. Balasubramanian D, Schneper L, Kumari H, Mathee K (2013) A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Nucleic Acids Res* 41:1–20
117. Diggle SP, Whiteley M (2020) Microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiol Read Engl* 166:30–33
118. Poole K (2004) Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect* 10:12–26
119. Kerr KG, Snelling AM (2009) *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *J Hosp Infect* 73:338–344
120. Valderrey AD, Pozuelo MJ, Jiménez PA, Maciá MD, Oliver A, Rotger R (2010) Chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa* of patients with obstructive lung diseases: cystic fibrosis, bronchiectasis, and chronic obstructive pulmonary disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 68:20–27
121. Manfredi R, Nanetti A, Ferri M, Chiodo F (2000) *Pseudomonas* spp. complications in patients with HIV disease: an eight-year clinical and microbiological survey. *Eur J Epidemiol* 16:111–118
122. Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP, Welsh MJ (1996) Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell* 85:229–236
123. Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS (2020) Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect* 81:266–275
124. Stover CK, Pham XQ, Erwin AL, Mizoguchi SD, Warriner P, Hickey MJ, Brinkman FS, Hufnagle WO, Kowalik DJ, Lagrou M, Garber RL, Goltry L, Tolentino E, Westbrook-Wadman S, Yuan Y, Brody LL, Coulter SN, Folger KR, Kas A, Larbig K, Lim R, Smith K, Spencer D, Wong GK, Wu Z, Paulsen IT, Reizer J, Saier MH, Hancock RE, Lory S, Olson MV (2000) Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature* 406:959–964
125. Mathee K, Narasimhan G, Valdes C, Qiu X, Matewish JM, Koehrsen M, Rokas A, Yandava CN, Engels R, Zeng E, Olavarietta R, Doud M, Smith RS, Montgomery P, White JR, Godfrey PA, Kodira C, Birren B, Galagan JE, Lory S (2008) Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:3100–3105
126. Winsor GL, Lam DKW, Fleming L, Lo R, Whiteside MD, Yu NY, Hancock REW, Brinkman FSL (2011) *Pseudomonas* Genome Database: improved comparative analysis and population genomics capability for *Pseudomonas* genomes. *Nucleic Acids Res* 39:596–600
127. Galán-Vásquez E, Luna B, Martínez-Antonio A (2011) The regulatory network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Inform Exp* 1:3
128. Cunliffe HE, Merriman TR, Lamont IL (1995) Cloning and characterization of *pvdS*, a gene required for pyoverdine synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: PvdS is probably an alternative sigma factor. *J Bacteriol* 177:2744–2750
129. Otero-Asman JR, García-García AI, Civantos C, Quesada JM, Llamas MA (2019) *Pseudomonas aeruginosa* possesses three distinct systems for sensing and using the host molecule haem. *Environ Microbiol* 21:4629–4647
130. Schurr MJ, Yu H, Martinez-Salazar JM, Boucher JC, Deretic V (1996) Control of AlgU, a member of the sigma E-like family of stress sigma factors, by the negative regulators MucA and MucB and *Pseudomonas aeruginosa* conversion to mucoidy in cystic fibrosis. *J Bacteriol* 178:4997–5004
131. Brinkman FS, Schoofs G, Hancock RE, De Mot R (1999) Influence of a putative ECF sigma factor on expression of the major outer membrane protein, OprF, in *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*. *J Bacteriol* 181:4746–4754
132. McGuffie BA, Vallet-Gely I, Dove SL (2016) σ factor and anti- σ factor that control swarming motility and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 198:755–765
133. Chevalier S, Bouffartigues E, Bazire A, Tahrioui A, Duchesne R, Tortuel D, Maillot O, Clamens T, Orange N, Feuilloley MGJ, Lesouhaitier O, Dufour A, Cornelis P (2019) Extracytoplasmic function sigma factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* 1862:706–721
134. Livny J, Brenic A, Lory S, Waldor MK (2006) Identification of 17 *Pseudomonas aeruginosa* sRNAs and prediction of sRNA-encoding genes in 10 diverse pathogens using the bioinformatic tool sRNA-Predict2. *Nucleic Acids Res* 34:3484–3493
135. Storz G, Altuvia S, Wassarman KM (2005) An abundance of RNA regulators. *Annu Rev Biochem* 74:199–217
136. Goodman AL, Kulasekara B, Rietsch A, Boyd D, Smith RS, Lory S (2004) A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infection and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Dev Cell* 7:745–754
137. Heurlier K, Williams F, Heeb S, Dormond C, Pessi G, Singer D, Cámara M, Williams P, Haas D (2004) Positive control of swarming, rhamnolipid synthesis, and lipase production by the posttranscriptional RsmA/RsmZ system in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J Bacteriol* 186:2936–2945
138. Huang H, Shao X, Xie Y, Wang T, Zhang Y, Wang X, Deng X (2019) An integrated genomic regulatory network of virulence-related transcriptional factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nat Commun* 10:2931
139. Rutherford ST, Bassler BL (2012) Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:a012427
140. Lee J, Wu J, Deng Y, Wang J, Wang C, Wang J, Chang C, Dong Y, Williams P, Zhang L-H (2013) A cell-cell communication signal integrates quorum sensing and stress response. *Nat Chem Biol* 9:339–343
141. Lee J, Zhang L (2015) The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein Cell* 6:26–41
142. Passador L, Cook JM, Gambello MJ, Rust L, Iglewski BH (1993) Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science* 260:1127–1130
143. Pearson JP, Passador L, Iglewski BH, Greenberg EP (1995) A second N-acylhomoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:1490–1494
144. Pesci EC, Milbank JB, Pearson JP, McKnight S, Kende AS, Greenberg EP, Iglewski BH (1999) Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:11229–11234
145. van Kessel JC (2019) PQS signaling for more than a quorum: the collective stress response protects healthy *Pseudomonas aeruginosa* populations. *J Bacteriol* 201:00568–19
146. Déziel E, Gopalan S, Tampakaki AP, Lépine F, Padfield KE, Saucier M, Xiao G, Rahme LG (2005) The contribution of MvfR to *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and quorum sensing circuitry regulation: multiple quorum sensing-regulated genes are modulated without affecting *lasRI*, *rhlRI* or the production of N-acyl-L-homoserine lactones. *Mol Microbiol* 55:998–1014
147. Ding F, Oinuma K-I, Smalley NE, Schaefer AL, Hamwy O, Greenberg EP, Dandekar AA (2018) The *Pseudomonas aeruginosa* orphan quorum sensing signal receptor QscR regulates global quorum sensing gene expression by activating a single linked operon. *mBio* 9:01274–18
148. Williams P, Cámara M (2009) Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Curr Opin Microbiol* 12:182–191
149. Tian Z, Cheng S, Xia B, Jin Y, Bai F, Cheng Z, Jin S, Liu X, Wu W (2019) *Pseudomonas aeruginosa* ExsA regulates a metalloprotease, ImpA, that inhibits phagocytosis of macrophages. *Infect Immun* 87:00695–19
150. Palma M, Zurita J, Ferreras JA, Worgall S, Larone DH, Shi L, Campaigne F, Quadri LEN (2005) *Pseudomonas aeruginosa* SoxR does not

- conform to the archetypal paradigm for SoxR-dependent regulation of the bacterial oxidative stress adaptive response. *Infect Immun* 73:2958–2966
151. Schuster M, Hawkins AC, Harwood CS, Greenberg EP (2004) The *Pseudomonas aeruginosa* RpoS regulon and its relationship to quorum sensing. *Mol Microbiol* 51:973–985
 152. Ledgham F, Soscia C, Chakrabarty A, Lazdunski A, Foglino M (2003) Global regulation in *Pseudomonas aeruginosa*: the regulatory protein AlgR2 (AlgQ) acts as a modulator of quorum sensing. *Res Microbiol* 154:207–213
 153. Parkins MD, Ceri H, Storey DG (2001) *Pseudomonas aeruginosa* GacA, a factor in multihost virulence, is also essential for biofilm formation. *Mol Microbiol* 40:1215–1226
 154. Reimann C, Beyeler M, Latifi A, Winteler H, Foglino M, Lazdunski A, Haas D (1997) The global activator GacA of *Pseudomonas aeruginosa* PAO positively controls the production of the autoinducer N-butyryl-homoserine lactone and the formation of the virulence factors pyocyanin, cyanide, and lipase. *Mol Microbiol* 24:309–319
 155. Diggle SP, Winzer K, Lazdunski A, Williams P, Cámara M (2002) Advancing the quorum in *Pseudomonas aeruginosa*: MvaT and the regulation of N-acylhomoserine lactone production and virulence gene expression. *J Bacteriol* 184:2576–2586
 156. Seet Q, Zhang L-H (2011) Anti-activator QslA defines the quorum sensing threshold and response in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 80:951–965
 157. Heurlier K, Déneraud V, Pessi G, Reimann C, Haas D (2003) Negative control of quorum sensing by RpoN (σ_{54}) in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J Bacteriol* 185:2227–2235
 158. Thompson LS, Webb JS, Rice SA, Kjelleberg S (2003) The alternative sigma factor RpoN regulates the quorum sensing gene *rhlI* in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol Lett* 220:187–195
 159. Latifi A, Foglino M, Tanaka K, Williams P, Lazdunski A (1996) A hierarchical quorum-sensing cascade in *Pseudomonas aeruginosa* links the transcriptional activators LasR and RhIR (VsmR) to expression of the stationary-phase sigma factor RpoS. *Mol Microbiol* 21:1137–1146
 160. Whiteley M, Parsek MR, Greenberg EP (2000) Regulation of quorum sensing by RpoS in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 182:4356–4360
 161. Pessi G, Williams F, Hindle Z, Heurlier K, Holden MT, Cámara M, Haas D, Williams P (2001) The global posttranscriptional regulator RsmA modulates production of virulence determinants and N-acyl-homoserine lactones in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 183:6676–6683
 162. Albus AM, Pesci EC, Runyen-Janecky LJ, West SE, Iglewski BH (1997) Vfr controls quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 179:3928–3935
 163. Donlan RM, Costerton JW (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 15:167–193
 164. Flemming H-C, Wingender J (2010) The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 8:623–633
 165. López D, Vlamakis H, Kolter R (2010) Biofilms. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2:a000398
 166. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284:1318–1322
 167. Klausen M, Heydorn A, Ragas P, Lambertsen L, Aaes-Jørgensen A, Molin S, Tolker-Nielsen T (2003) Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Mol Microbiol* 48:1511–1524
 168. Harmsen M, Yang L, Pamp SJ, Tolker-Nielsen T (2010) An update on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, tolerance, and dispersal. *FEMS Immunol Med Microbiol* 59:253–268
 169. Caiazza NC, O'Toole GA (2004) SadB is required for the transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *J Bacteriol* 186:4476–4485
 170. Merritt JH, Brothers KM, Kuchma SL, O'Toole GA (2007) SadC reciprocally influences biofilm formation and swarming motility via modulation of exopolysaccharide production and flagellar function. *J Bacteriol* 189:8154–8164
 171. Fazli M, Alnblad H, Rybtke ML, Givskov M, Eberl L, Tolker-Nielsen T (2014) Regulation of biofilm formation in *Pseudomonas* and *Burkholderia* species. *Environ Microbiol* 16:1961–1981
 172. Hengge R (2009) Principles of c-di-GMP signalling in bacteria. *Nat Rev Microbiol* 7:263–273
 173. Ventre I, Goodman AL, Vallet-Gely I, Vasseur P, Soscia C, Molin S, Bleves S, Lazdunski A, Lory S, Filloux A (2006) Multiple sensors control reciprocal expression of *Pseudomonas aeruginosa* regulatory RNA and virulence genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:171–176
 174. Hickman JW, Tifrea DF, Harwood CS (2005) A chemosensory system that regulates biofilm formation through modulation of cyclic diguanylate levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:14422–14427
 175. Hickman JW, Harwood CS (2008) Identification of FleQ from *Pseudomonas aeruginosa* as a c-di-GMP-responsive transcription factor. *Mol Microbiol* 69:376–389
 176. Ueda A, Wood TK (2009) Connecting quorum sensing, c-di-GMP, *pel* polysaccharide, and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through tyrosine phosphatase TpbA (PA3885). *PLoS Pathog* 5:e1000483
 177. Attila C, Ueda A, Wood TK (2008) PA2663 (PpyR) increases biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 through the *psl* operon and stimulates virulence and quorum-sensing phenotypes. *Appl Microbiol Biotechnol* 78:293–307
 178. Allesen-Holm M, Barken KB, Yang L, Klausen M, Webb JS, Kjelleberg S, Molin S, Givskov M, Tolker-Nielsen T (2006) A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms. *Mol Microbiol* 59:1114–1128
 179. Heurlier K, Déneraud V, Haenni M, Guy L, Krishnapillai V, Haas D (2005) Quorum-sensing-negative (*lasR*) mutants of *Pseudomonas aeruginosa* avoid cell lysis and death. *J Bacteriol* 187:4875–4883
 180. Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS (2002) Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science* 295:1487
 181. Petrova OE, Sauer K (2009) A novel signaling network essential for regulating *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *PLoS Pathog* 5:e1000668
 182. Petrova OE, Sauer K (2011) SagS contributes to the motile-sessile switch and acts in concert with BfiSR to enable *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *J Bacteriol* 193:6614–6628
 183. Vallet I, Olson JW, Lory S, Lazdunski A, Filloux A (2001) The chaperone/usher pathways of *Pseudomonas aeruginosa*: identification of fimbrial gene clusters (*cup*) and their involvement in biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci* 98:6911–6916
 184. Vallet-Gely I, Donovan KE, Fang R, Joung JK, Dove SL (2005) Repression of phase-variable *cup* gene expression by H-NS-like proteins in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Natl Acad Sci* 102:11082–11087
 185. Vallet I, Diggle SP, Stacey RE, Cámara M, Ventre I, Lory S, Lazdunski A, Williams P, Filloux A (2004) Biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*: fimbrial *cup* gene clusters are controlled by the transcriptional regulator MvaT. *J Bacteriol* 186:2880–2890
 186. Kulasekara HD, Ventre I, Kulasekara BR, Lazdunski A, Filloux A, Lory S (2005) A novel two-component system controls the expression of *Pseudomonas aeruginosa* fimbrial *cup* genes. *Mol Microbiol* 55:368–380
 187. Kuchma SL, Connolly JP, O'Toole GA (2005) A three-component regulatory system regulates biofilm maturation and type III secretion in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 187:1441–1454
 188. Modrzejewska M, Kawalek A, Bartosik AA (2021) The LysR-type transcriptional regulator BsrA (PA2121) controls vital metabolic pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. *mSystems* 6:e00015-21
 189. Montie TC, Doyle-Huntzinger D, Craven RC, Holder IA (1982) Loss of virulence associated with absence of flagellum in an isogenic mutant of *Pseudomonas aeruginosa* in the burned-mouse model. *Infect Immun* 38:1296–1298
 190. Fleiszig SM, Arora SK, Van R, Ramphal R (2001) FlhA, a component of the flagellum assembly apparatus of *Pseudomonas aeruginosa*, plays

- a role in internalization by corneal epithelial cells. *Infect Immun* 69:4931–4937
191. Dasgupta N, Wolfgang MC, Goodman AL, Arora SK, Jyot J, Lory S, Ramphal R (2003) A four-tiered transcriptional regulatory circuit controls flagellar biogenesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 50:809–824
 192. Arora SK, Ritchings BW, Almira EC, Lory S, Ramphal R (1997) A transcriptional activator, FleQ, regulates mucin adhesion and flagellar gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* in a cascade manner. *J Bacteriol* 179:5574–5581
 193. Ritchings BW, Almira EC, Lory S, Ramphal R (1995) Cloning and phenotypic characterization of *fleS* and *fleR*, new response regulators of *Pseudomonas aeruginosa* which regulate motility and adhesion to mucin. *Infect Immun* 63:4868–4876
 194. Totten PA, Lara JC, Lory S (1990) The *rpoN* gene product of *Pseudomonas aeruginosa* is required for expression of diverse genes, including the flagellin gene. *J Bacteriol* 172:389–396
 195. Starnbach MN, Lory S (1992) The *fliA* (*rpoF*) gene of *Pseudomonas aeruginosa* encodes an alternative sigma factor required for flagellin synthesis. *Mol Microbiol* 6:459–469
 196. Dasgupta N, Ferrell EP, Kanack KJ, West SEH, Ramphal R (2002) *fleQ*, the gene encoding the major flagellar regulator of *Pseudomonas aeruginosa*, is sigma70 dependent and is downregulated by Vfr, a homolog of *Escherichia coli* cyclic AMP receptor protein. *J Bacteriol* 184:5240–5250
 197. Frisk A, Jyot J, Arora SK, Ramphal R (2002) Identification and functional characterization of *flgM*, a gene encoding the anti-sigma28 factor in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 184:1514–1521
 198. Jyot J, Dasgupta N, Ramphal R (2002) FleQ, the major flagellar gene regulator in *Pseudomonas aeruginosa*, binds to enhancer sites located either upstream or atypically downstream of the RpoN binding site. *J Bacteriol* 184:5251–5260
 199. Pallen MJ, Matzke NJ (2006) From the origin of species to the origin of bacterial flagella. *Nat Rev Microbiol* 4:784–790
 200. Macnab RM (2003) How bacteria assemble flagella. *Annu Rev Microbiol* 57:77–100
 201. Dasgupta N, Arora SK, Ramphal R (2000) *fleN*, a gene that regulates flagellar number in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 182:357–364
 202. Dasgupta N, Ramphal R (2001) Interaction of the antiactivator FleN with the transcriptional activator FleQ regulates flagellar number in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 183:6636–6644
 203. Diepold A, Armitage JP (2015) Type III secretion systems: the bacterial flagellum and the injectisome. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 370:20150020
 204. Bleves S, Viarre V, Salacha R, Michel GPF, Filloux A, Voulhoux R (2010) Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: a wealth of pathogenic weapons. *Int J Med Microbiol* 300:534–543
 205. Hauser AR (2009) The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. *Nat Rev Microbiol* 7:654–665
 206. Guzzo J, Pages JM, Duong F, Lazdunski A, Murgier M (1991) *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease: evidence for secretion genes and study of secretion mechanism. *J Bacteriol* 173:5290–5297
 207. Wandersman C, Delepelaire P (2004) Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol* 58:611–647
 208. Duong F, Bonnet E, Géli V, Lazdunski A, Murgier M, Filloux A (2001) The AprX protein of *Pseudomonas aeruginosa*: a new substrate for the Apr type I secretion system. *Gene* 262:147–153
 209. Létoffé S, Redeker V, Wandersman C (1998) Isolation and characterization of an extracellular haem-binding protein from *Pseudomonas aeruginosa* that shares function and sequence similarities with the *Serratia marcescens* HasA haemophore. *Mol Microbiol* 28:1223–1234
 210. Folders J, Tommassen J, Loon LC van, Bitter W (2000) Identification of a chitin-binding protein secreted by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 182:1257–1263
 211. Braun P, Groot A de, Bitter W, Tommassen J (1998) Secretion of elastolytic enzymes and their propeptides by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 180:3467–3469
 212. Jaeger K-E, Ransac S, Dijkstra BW, Colson C, van Heuvel M, Misset O (1994) Bacterial lipases. *FEMS Microbiol Rev* 15:29–63
 213. Martínez A, Ostrovsky P, Nunn DN (1999) LipC, a second lipase of *Pseudomonas aeruginosa*, is LipB and Xcp dependent and is transcriptionally regulated by pilus biogenesis components. *Mol Microbiol* 34:317–326
 214. Vance RE, Hong S, Gronert K, Serhan CN, Mekalanos JJ (2004) The opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* carries a secretable arachidonate 15-lipoxygenase. *Proc Natl Acad Sci* 101:2135–2139
 215. Filloux A, Bally M, Soscia C, Murgier M, Lazdunski A (1988) Phosphate regulation in *Pseudomonas aeruginosa*: cloning of the alkaline phosphatase gene and identification of *phoB*- and *phoR*-like genes. *Mol Gen Genet* 212:510–513
 216. Barker AP, Vasil AI, Filloux A, Ball G, Wilderman PJ, Vasil ML (2004) A novel extracellular phospholipase C of *Pseudomonas aeruginosa* is required for phospholipid chemotaxis. *Mol Microbiol* 53:1089–1098
 217. Voulhoux R, Ball G, Ize B, Vasil ML, Lazdunski A, Wu L-F, Filloux A (2001) Involvement of the twin-arginine translocation system in protein secretion via the type II pathway. *EMBO J* 20:6735–6741
 218. Fox Á, Haas D, Reimann C, Heeb S, Filloux A, Voulhoux R (2008) Emergence of secretion-defective sublines of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 resulting from spontaneous mutations in the *vfr* global regulatory gene. *Appl Environ Microbiol* 74:1902–8
 219. Lu HM, Mizushima S, Lory S (1993) A periplasmic intermediate in the extracellular secretion pathway of *Pseudomonas aeruginosa* exotoxin A. *J Bacteriol* 175:7463–7467
 220. Ball G, Durand E, Lazdunski A, Filloux A (2002) A novel type II secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 43:475–485
 221. Yahr TL, Mende-Mueller LM, Friese MB, Frank DW (1997) Identification of type III secreted products of the *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S regulon. *J Bacteriol* 179(22):7165–7168
 222. He J, Baldini RL, Déziel E, Saucier M, Zhang Q, Liberati NT, Lee D, Urbach J, Goodman HM, Rahme LG (2004) The broad host range pathogen *Pseudomonas aeruginosa* strain PA14 carries two pathogenicity islands harboring plant and animal virulence genes. *Proc Natl Acad Sci* 101:2530–2535
 223. van den Berg B (2010) Crystal structure of a full-length autotransporter. *J Mol Biol* 396:627–633
 224. Borlee BR, Goldman AD, Murakami K, Samudrala R, Wozniak DJ, Parsek MR (2010) *Pseudomonas aeruginosa* uses a cyclic-di-GMP-regulated adhesin to reinforce the biofilm extracellular matrix. *Mol Microbiol* 75:827–842
 225. Kida Y, Higashimoto Y, Inoue H, Shimizu T, Kuwano K (2008) A novel secreted protease from *Pseudomonas aeruginosa* activates NF-κB through protease-activated receptors. *Cell Microbiol* 10:1491–1504
 226. Ruer S, Ball G, Filloux A, de Bentzmann S (2008) The ‘P-usher’, a novel protein transporter involved in fimbrial assembly and TpsA secretion. *EMBO J* 27:2669–2680
 227. Salacha R, Kovačić F, Brochier-Armanet C, Wilhelm S, Tommassen J, Filloux A, Voulhoux R, Bleves S (2010) The *Pseudomonas aeruginosa* patatin-like protein PlpD is the archetype of a novel Type V secretion system. *Environ Microbiol* 12:1498–1512
 228. Hood RD, Singh P, Hsu F, Güvener T, Carl MA, Trinidad RRS, Silverman JM, Ohlson BB, Hicks KG, Plemel RL, Li M, Schwarz S, Wang WY, Merz AJ, Goodlett DR, Mougous JD (2010) A type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* targets a toxin to bacteria. *Cell Host Microbe* 7:25–37
 229. Hachani A, Lossi NS, Hamilton A, Jones C, Bleves S, Albesa-Jové D, Filloux A (2011) Type VI secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*: secretion and multimerization of VgrG proteins. *J Biol Chem* 286:12317–12327
 230. Whitney JC, Beck CM, Goo YA, Russell AB, Harding BN, De Leon JA, Cunningham DA, Tran BQ, Low DA, Goodlett DR, Hayes CS, Mougous JD (2014) Genetically distinct pathways guide effector export through the type VI secretion system. *Mol Microbiol* 92:529–542
 231. Mougous JD, Cuff ME, Raunser S, Shen A, Zhou M, Gifford CA, Goodman AL, Joachimiak G, Ordoñez CL, Lory S, Walz T, Joachimi-

- ak A, Mekalanos JJ (2006) A virulence locus of *Pseudomonas aeruginosa* encodes a protein secretion apparatus. *Science* 312:1526–1530
232. Han Y, Wang T, Chen G, Pu Q, Liu Q, Zhang Y, Xu L, Wu M, Liang H (2019) A *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion system regulated by CueR facilitates copper acquisition. *PLoS Pathog* 15:e1008198
233. Schuster M, Loistro CP, Ogi T, Greenberg EP (2003) Identification, timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-controlled genes: a transcriptome analysis. *J Bacteriol* 185:2066–2079
234. Chapon-Hervé V, Akrim M, Latifi A, Williams P, Lazdunski A, Bally M (1997) Regulation of the *xcp* secretion pathway by multiple quorum-sensing modulons in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 24:1169–1178
235. Lazdunski AM, Ventre I, Sturgis JN (2004) Regulatory circuits and communication in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol* 2:581–592
236. Sana TG, Hachani A, Bucior I, Soscia C, Garvis S, Termine E, Engel J, Filloux A, Bleves S (2012) The second type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1 is regulated by quorum sensing and Fur and modulates internalization in epithelial cells. *J Biol Chem* 287:27095–27105
237. Lescic B, Starkey M, He J, Hazan R, Rahme LG (2009) Quorum sensing differentially regulates *Pseudomonas aeruginosa* type VI secretion locus I and homologous loci II and III, which are required for pathogenesis. *Microbiol Read Engl* 155:2845–2855
238. Chen L, Zou Y, She P, Wu Y (2015) Composition, function, and regulation of T6SS in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Res* 172:19–25
239. Turner KH, Vallet-Gely I, Dove SL (2009) Epigenetic control of virulence gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* by a LysR-type transcription regulator. *PLoS Genet* 5:e1000779
240. Filloux A (2011) Protein secretion systems in *Pseudomonas aeruginosa*: an essay on diversity, evolution, and function. *Front Microbiol* 2:155
241. Yahr TL, Wolfgang MC (2006) Transcriptional regulation of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system. *Mol Microbiol* 62:631–640
242. Frank DW (1997) The exoenzyme S regulon of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 26:621–629
243. Vallis AJ, Yahr TL, Barbieri JT, Frank DW (1999) Regulation of ExoS production and secretion by *Pseudomonas aeruginosa* in response to tissue culture conditions. *Infect Immun* 67:914–920
244. Hovey AK, Frank DW (1995) Analyses of the DNA-binding and transcriptional activation properties of ExsA, the transcriptional activator of the *Pseudomonas aeruginosa* exoenzyme S regulon. *J Bacteriol* 177:4427–4436
245. Shen DK, Filopon D, Kuhn L, Polack B, Toussaint B (2006) PsrA is a positive transcriptional regulator of the type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun* 74:1121–1129
246. Hogardt M, Roeder M, Schreff AM, Eberl L, Heesemann J (2004) Expression of *Pseudomonas aeruginosa* *exoS* is controlled by quorum sensing and RpoS. *Microbiol Read Engl* 150:843–851
247. Dasgupta N, Lykken GL, Wolfgang MC, Yahr TL (2004) A novel anti-anti-activator mechanism regulates expression of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system. *Mol Microbiol* 53:297–308
248. Wu W, Jin S (2005) PtrB of *Pseudomonas aeruginosa* suppresses the type III secretion system under the stress of DNA Damage. *J Bacteriol* 187:6058–6068
249. Rietsch A, Mekalanos JJ (2006) Metabolic regulation of type III secretion gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 59:807–820
250. Dacheux D, Epaulard O, de Groot A, Guery B, Leberre R, Attree I, Polack B, Toussaint B (2002) Activation of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system requires an intact pyruvate dehydrogenase *aceAB* operon. *Infect Immun* 70:3973–3977
251. Horne MW, Roggenkamp A, Geiger AM, Hogardt M, Jacobi CA, Heesemann J (2000) Triggering the ExoS regulon of *Pseudomonas aeruginosa*: A GFP-reporter analysis of exoenzyme (Exo) S, ExoT and ExoU synthesis. *Microb Pathog* 29:329–343
252. O’Callaghan J, Reen FJ, Adams C, O’Gara F (2011) Low oxygen induces the type III secretion system in *Pseudomonas aeruginosa* via modulation of the small RNAs rsmZ and rsmY. *Microbiol Read Engl* 157:3417–3428
253. Modrzejewska M, Kawalek A, Bartosik AA (2021) The Lrp/AsnC-type regulator PA2577 controls the EamA-like transporter gene PA2576 in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Sci* 22:13340
254. Crousilles A, Dolan SK, Brear P, Chirgadze DY, Welch M (2018) Gluconeogenic precursor availability regulates flux through the glyoxylate shunt in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem* 293:14260–14269
255. La Rosa R, Johansen HK, Molin S (2019) Adapting to the airways: metabolic requirements of *Pseudomonas aeruginosa* during the infection of cystic fibrosis patients. *Metabolites* 9:234
256. Dolan SK, Pereira G, Silva-Rocha R, Welch M (2020) Transcriptional regulation of central carbon metabolism in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microb Biotechnol* 13:285–289
257. Dolan SK (2020) Current knowledge and future directions in developing strategies to combat *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Mol Biol* 432:5509–5528
258. Cornforth DM, Dees JL, Ibberson CB, Huse HK, Mathiesen IH, Kirketerp-Møller K, Wolcott RD, Rumbaugh KP, Bjarnsholt T, Whitley M (2018) *Pseudomonas aeruginosa* transcriptome during human infection. *Proc Natl Acad Sci* 115:5125–5134
259. Frimmersdorf E, Horatzek S, Pelnikevich A, Wiehlmann L, Schomburg D (2010) How *Pseudomonas aeruginosa* adapts to various environments: a metabolomic approach. *Environ Microbiol* 12:1734–1747
260. MacGregor CH, Wolff JA, Arora SK, Phibbs PV (1991) Cloning of a catabolite repression control (*crc*) gene from *Pseudomonas aeruginosa*, expression of the gene in *Escherichia coli*, and identification of the gene product in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 173:7204–7212
261. Morales G, Linares JF, Beloso A, Albar JP, Martínez JL, Rojo F (2004) The *Pseudomonas putida* Crc global regulator controls the expression of genes from several chromosomal catabolic pathways for aromatic compounds. *J Bacteriol* 186:1337–1344
262. Moreno R, Ruiz-Manzano A, Yuste L, Rojo F (2007) The *Pseudomonas putida* Crc global regulator is an RNA binding protein that inhibits translation of the AlkS transcriptional regulator. *Mol Microbiol* 64:665–675
263. Collier DN, Hager PW, Phibbs PV (1996) Catabolite repression control in the Pseudomonads. *Res Microbiol* 147:551–561

The role of transcriptional regulators in the control of gene expression in prokaryotes based on *Pseudomonas aeruginosa* model bacterium

dr Magdalena Modrzejewska-Balcerek¹✉, dr hab. Aneta Agnieszka Bartosik²✉

¹Faculty of Biology and Environmental Sciences, Institute of Biological Sciences, Cardinal Stefan Wyszyński University in Warsaw

²Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Warsaw

✉corresponding authors: m.modrzejewska-balcerek@uksw.edu.pl, anetab2@ibb.waw.pl

Keywords: gene expression, regulation, transcriptional factors, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

Bacteria from *Pseudomonas aeruginosa* species are often found in environments such as water or soil, but are also known to be opportunistic pathogens of humans and animals. Characteristic feature of these bacteria is their high ability to survive in very different ecological niches. Such capability of adaptation to changing conditions is derived from the extended regulatory networks and the use of a rich repertoire of genome-encoded proteins, pathways and adaptive mechanisms. Transcriptional regulators are key components of gene expression regulation responding to environmental signals by turning on or off specific pathways. Studies on transcription factors using transcriptomic and genomic methods provide knowledge about the mechanisms of their action, regulated genes and processes enabling understanding complex regulatory networks controlling cell life. The aim of this work is to present the results of research on the regulation of bacterial transcription visualized on the basis of *P. aeruginosa* pathogen and the characteristics of the mechanism of regulation of genes involved in the virulence of this bacterium.

