

УДК 579.222:579.262

В.О. Іваниця, М.Б. Галкін

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: +38 (048) 765 33 61,
e-mail: volandaron@ukr.net

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО МЕХАНІЗМІВ ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВКИ

В оглядовій статті викладено сучасні уявлення щодо процесу формування біоплівки умовно-патогенними та патогенними мікроорганізмами. Сьогодні біоплівка розглядається як основна форма існування мікробних угруповань у природних умовах, процеси, що протікають у них, обумовлюють реалізацію багатьох притаманних бактеріям ознак. Численні дослідження дозволили розкрити ключові механізми, що лежать в основі цього процесу.

Ключові слова: біоплівка, міжклітинна комунікація, quorum sensing, аутоіндуктори, месенджери.

Розуміння процесів формування біоплівки мікроорганізмами має велике значення, як з наукового, так і з практичного погляду. Біоплівка за своєю суттю є основною формою існування мікробного співтовариства у природних умовах, яка характеризується набором досить унікальних властивостей.

Цей процес може відігравати як позитивну, так і негативну роль. Використання біоплівок у біотехнології дозволяє значно підвищити вихід корисних продуктів мікробного синтезу. У біоплівках відбувається посилення активності більшості ферментів, що є наслідком їх іммобілізації та концентрування в досить обмеженому просторі.

У медичній практиці формування біоплівки умовно-патогенними та патогенними мікроорганізмами спричиняє значне ускладнення терапії інфекцій, обумовлених ними. Це є наслідком значного підвищення у біоплівках резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів, оскільки у біоплівках реалізуються процеси, які практично не відбуваються у вільних форм існування бактерій [13].

Процес формування біоплівки мікроорганізмами є дуже складним [27]. Він включає багато стадій, які характеризуються різними механізм-



мами їх реалізації. Одним з таких механізмів є система *quorum sensing* (дослівно — почуття кворуму). *Quorum sensing* є глобальною системою регуляції експресії генів, у якій використовуються низькомолекулярні сигнальні молекули — аутоіндуктори. Ця система регулює такі ознаки, як синтез деяких корисних продуктів, факторів патогенності, міжклітинну комунікацію, як в межах виду так і між представниками різних видів мікроорганізмів [10].

Загальні уявлення

Термін біоплівка використовується для визначення окремих сукупностей мікроорганізмів і продуктів їх метаболізму на межі твердої та рідкої фаз. Звичайно така біоплівка являє собою клітини мікроорганізмів на твердій поверхні, якою може бути поверхня каменів і окремих часток у водному середовищі; вологий ґрунт і частки опадів; листя, коріння, насіння рослин, що проростає; поверхня зубів; епітеліальні тканини рубця жуйних тварин; медичне обладнання, таке як катетери; корпуси кораблів, палі морських споруд, внутрішні поверхні хімічного та мікробіологічного устаткування, наприклад, фільтри і таке інше [10].

Будь-яка біоплівка складається щонайменше з двох компонентів [28]. Першим компонентом є самі мікроорганізми, здатні до біоплівкоутворення. Біоплівки можуть складатися як з клітин одного, так і різних видів мікроорганізмів. В них можуть бути присутні не тільки представники прокариотних, а і еукаріотних мікроорганізмів, наприклад бактерії та гриби роду *Candida*. Полівидові біоплівки є значно більш поширеними у природі.

Іншим важливим компонентом у біоплівках є продукти життєдіяльності мікроорганізмів, які створюють так званий матрикс біоплівки, що відіграє важливу роль в її функціонуванні [18, 23]. Основне місце серед таких метаболітів займають екзополісахариди. Структура деяких з них досить добре вивчена. Так, *Serratia macedonicus* синтезує екзополісахарид високої молекулярної маси та складної просторової організації, який складається з D-глюкози, D-галактози та N-ацетил-D-глюкозаміну у молярному співвідношенні 3:2:1 [35]. Такі полісахариди високо специфічні, і зустрічаються у певних видів мікроорганізмів. Наприклад, було показано, що *Staphylococcus epidermidis* синтезує унікальний полісахарид, який складається, щонайменше, з 130 залишків 2-диокси-2-аміно-D-глюкопіронозилу [24, 35]. Цей полісахарид не тільки сприяє агрегації клітин *S. epidermidis* між собою, але також виконує функції бактеріального адгезину. Характерною відмінністю цього полісахариду є те, що він існує у двох формах: мажорній (близько 80%) та мінорній (близько 20%). Мінорна форма містить у своєму складі менше не N-ацетильованих залишків, а також багато фосфатних залишків, які надають цьому полісахариду аніонні властивості [24].



Загальний профіль екзополісахаридів у грамнегативних бактерій є схожим з описаним вище у грампозитивних. Біоплівки, що формують *E. coli* та види роду *Pseudomonas*, практично не відрізняються за вмістом полі-N-ацетил-глюкозамінових полімерів від біоплівок грампозитивних бактерій [35]. Але в деяких випадках спостерігаються і суттєві відмінності. Так, для деяких штамів *E. coli*, а також *Salmonella typhimurium* дуже важливим компонентом біоплівки є целюлоза [35]. Для бактерій роду *Bordetella* основним складовим компонентом матрикса біоплівки є ксиліоза, з якої також будуються капсули цих бактерій [35].

Особливістю грамнегативних бактерій є також і те, що полісахариди у них практично не беруть участі у першому етапі формування біоплівки — адгезії до поверхні. Так, широко відомо, що у бактерій роду *Pseudomonas*, зокрема у *P. aeruginosa*, адгезія здійснюється за рахунок фімбрій, які здатні скорочуватися, тоді як полісахаридний матрикс починає формуватися лише на більш пізніх етапах [18, 34]. Окрім полісахаридів, до складу матриксу входять також білки, ліпіди та нуклеїнові кислоти [37].

Вивчення механізмів формування біоплівки показало, що цей процес у мікроорганізмів проходить під контролем генетичного апарату клітин. Генетичне типування 48 штамів *P. aeruginosa* дозволило розділити ці штами на групи від А до Е. На основі отриманих даних встановлено зв'язок між належністю штамів до конкретних генетичних груп та здатністю до біоплівкоутворення. Так, найбільш високу здатність до формування біоплівки продемонстрували штами, які відносилися до груп D та Е. Усі штами, що належали до цих груп, мали у складі хромосомної ДНК однакові фрагменти, розміром близько 4 кБ [34].

Для *Bordetella bronchiseptica* була встановлена залежність здатності до формування біоплівки з експресією конкретних генів. Результати досліджень показали, що цією властивістю володіють штами мікроорганізмів з генотипом *Bvg⁺*, а також здатні до експресії аденилатциклази/гемолізіну *SuaA* і компонентів системи секреції третього типу [34]. При цьому ген *Bvg* виступає як регуляторний ген.

Механізми утворення біоплівок

Наразі не має сумнівів у тому, що процес утворення біоплівок є дуже складним. Він відбувається у декілька стадій, які послідовно змінюють одна одну [5]. Формально можна виділити наступні стадії цього процесу: адгезія до субстрату, моношар, формування мікроколоній, зріла біоплівка, розпад.

Кожна зі стадій процесу утворення біоплівки має фіксований проміжок часу та реалізується за рахунок різних факторів. Найбільш повно ці процеси вивчені у грамнегативних бактерій. Дослідження багатьох авторів показали, що у різних груп грамнегативних бактерій кожна з наведених вище стадій обумовлена дією різних факторів і систем, які характерні для представників цих груп [5].



У більшості грамнегативних бактерій основну роль у процесі адгезії відіграють фібрії. Якщо у *E. coli* це фібрії першого типу, то у *P. aeruginosa* процес адгезії обумовлюють спеціальні фібрії четвертого типу, які мають здатність скорочуватися [21]. Значну роль на перших стадіях адгезії відіграють також інші структури, такі як джгутики та компоненти клітинної стінки, різноманітність яких і обумовлює особливості різних груп мікрорганізмів [21]. Наприклад, якщо у *P. aeruginosa* джгутики є лише засобом «доставки» клітин до твердого субстрату і на самих ранніх етапах адгезія починається за рахунок взаємодії з поверхнею ліпополісахариду та спеціальних білків зовнішньої мембрани, то у представників родин *Enterobacteriaceae* та *Vibrionaceae* джгутики відіграють більш значну роль [10]. Це пов'язано з тим, що ранні етапи взаємодії цих бактерій з поверхнею не характеризуються жорсткою адгезією. Досліди показали, що клітини таких мікроорганізмів, як *E. coli* та *V. cholerae*, здатні завдяки джгутикам вільно переміщуватися по твердій поверхні [38]. Жорсткий зв'язок з твердою поверхнею у цих бактерій обумовлюється дією так званих стабілізуючих факторів [38]. Одним з найбільш вивчених є фактор Ag 43 у *E. coli* [9]. Фактор Ag 43 являє собою білок групи аглютининів, локалізований на зовнішній мембрані бактерій. У *E. coli* він відіграє роль кофактора адгезії, а також обумовлює зв'язок клітин бактерій між собою шляхом міжклітинної взаємодії молекул цього білка [9].

Процес адгезії призводить до формування на твердій поверхні моношару клітин. Після цього починається формування основних структурних одиниць біоплівки — мікроколоній [20, 30]. У грамнегативних бактерій формування мікроколоній, як і процес адгезії, відбувається двома принципово різними шляхами. Перший шлях є характерним для представників родин *Enterobacteriaceae* та *Vibrionaceae*. Формування мікроколоній у цих бактерій відбувається за рахунок агрегації між собою адгезованих до поверхні клітин, а також додаткової адгезії частини клітин планктону до моношару [30]. Це відбувається за рахунок аглютиніноподібних білків, зокрема описаного вище Ag 43.

Другий шлях формування мікроколоній є характерним для представників родини *Pseudomonadaceae*, зокрема *P. aeruginosa*. Як було описано вище, для представників цієї родини та деяких інших груп мікроорганізмів (особливо тих, що не мають джгутиків) є характерною жорстка адгезія з самого початку формування біоплівки. Таким чином, мікроколонії у них формуються шляхом поділу клітин, які формують моношар [20].

Значну роль у формуванні мікроколоній у цих бактерій відіграє також так звана *twitching motility* (смикальна рухливість) [27]. Цей процес є протиставленням *swarming motility* (роїнню), яке є характерним для представників родин *Enterobacteriaceae* та *Vibrionaceae* [3]. Обидва процеси надають змогу бактеріям рухатися по твердій поверхні. Але, тоді як *swarming motility* обумовлена наявністю джгутиків, то



механізм *twitching motility* принципово інший. У *P. aeruginosa* цей тип переміщення здійснюється за участі фімбрій четвертого типу [2]. Завдяки здатності до скорочування вони працюють як «пружини», які ніби підкидають клітини над поверхнею, але електростатичні сили не дають повністю відірватися від поверхні і клітини, «пролетівши» деяку відстань, знову прикріплюються до поверхні [2]. Але з цього правила є і виключення. Так, для тієї ж самої *P. aeruginosa* показана можливість здійснення *swarming motility*, тоді як для видів роду *Burkholderia*, які також входять до родини *Pseudomonodaceae*, *twitching motility* є менш характерною [27]. Встановлено, що в процесі агрегації у *P. aeruginosa* відбувається активація генів синтезу альгінату та пригнічення синтезу компонентів джгутиків, що проходить під контролем регуляторного білка Crc [10].

Після появи мікроколоній починається стадія формування саме біоплівки. У цей час проходять такі процеси, як структуризація біоплівки, синтез позаклітинного матриксу та запуск системи групової регуляції (*quorum sensing*). Так, у *V. cholerae* синтез екзополісахаридів починається вже на ранніх етапах, і вони являють собою важливий стабілізуючий фактор [38]. Сформована біоплівка має складну тривимірну структуру. Ці структури дуже різняться за своєю формою. Зокрема, зріла біоплівка *P. aeruginosa* має форму, яка нагадує плодові тіла грибів. Через деякий час існування біоплівка розпадається, як за рахунок відкріплення клітин, так і за рахунок загибелі частини клітин, що часто обумовлюється лізогенними бактеріофагами [39, 41].

Міжклітинна комунікація в біоплівках — *quorum sensing*

Одним з важливих досягнень сучасної науки було відкриття та встановлення принципів функціонування системи міжклітинної комунікації в біоплівках. Ця система зараз відома під назвою *quorum sensing*. [4].

Quorum sensing — це механізм, за яким мікрорганізми здатні координувати експресію деяких генів у своїх популяціях за рахунок використання малих сигнальних молекул. Цей механізм був уперше відкритий Nealon et al. у 1970 році у морської бактерії *Vibrio fischeri* [26] і на думку авторів, був притаманний лише досить вузькому колу бактерій. Пізніше його виявили практично у всіх представників грампозитивних та грамнегативних бактерій і у деяких еукаріотних мікроорганізмів [33]. Встановлено здатність до комунікації мікроорганізмів за допомоги не тільки близьких, а і далеких у філогенетичному відношенні таксонів цієї системи [33]. Завдяки *quorum sensing* у мікроорганізмів регулюється експресія значної кількості різноманітних генів, у тому числі важливих генів, які обумовлюють нормальну життєдіяльність, синтез факторів патогенності та розвиток біоплівки [4]. Ця система дозволяє також мікроорганізмам у складі біоплівок координувати, всією популяцією, відповідати на вплив різних чинників зовнішнього середовища.



Дослідження показали, що існує декілька типів системи *quorum sensing* [11]. Ці типи розрізняють за тим, які молекули використовуються для передачі сигналів та за деякими іншими параметрами. Сьогодні виділяють три основні типи системи *quorum sensing*. До основних типів відносять:

- гомосеринлактонзалежну систему *quorum sensing* грамнегативних бактерій [11];
- пептидзалежну систему *quorum sensing* грампозитивних бактерій [15];
- систему *quorum sensing* у *Vibrio harveyi* [11].

Додатковими є хінолонова система *quorum sensing* та система, у якій як сигнальні молекули використовуються фуранони [6, 25, 29]. Схематично основні системи представлені на рис. 1.

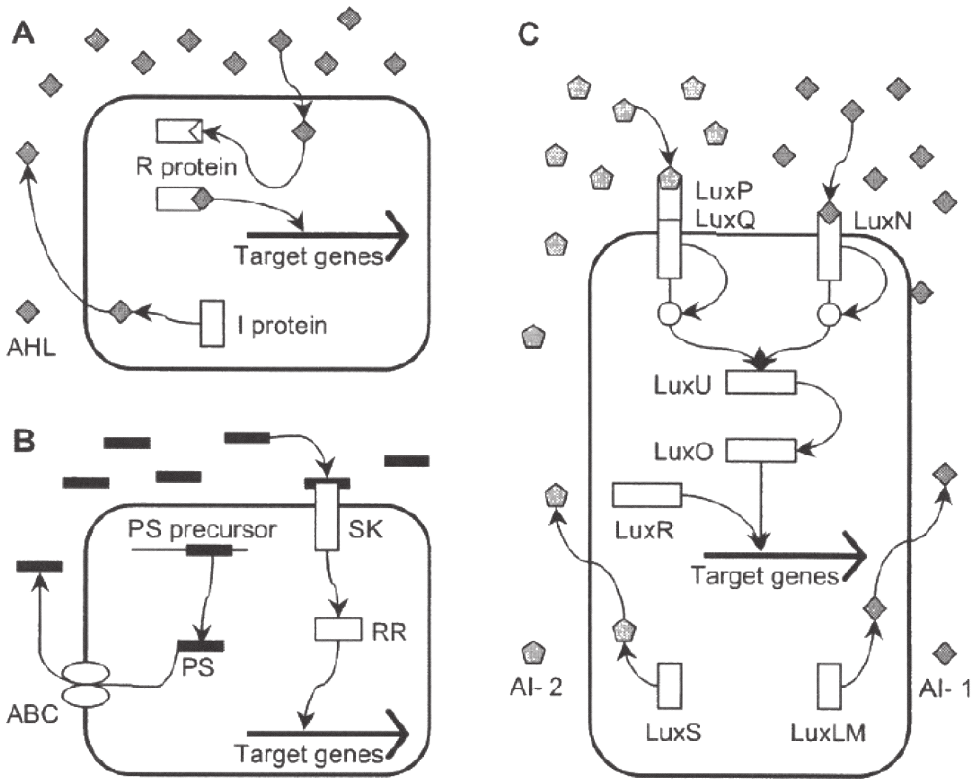


Рис. 1. Типи систем *quorum sensing* [19]

- A) гомосеринлактонзалежна система *quorum sensing* грамнегативних бактерій;
- B) пептид-залежна система *quorum sensing* грампозитивних бактерій;
- C) система *quorum sensing* у *Vibrio harveyi*!

Fig. 1. Three types of *quorum sensing* systems [19]

- A) homoserinlacton depend *quorum sensing* system of gram-negative bacteria;
- B) peptide depend *quorum sensing* system of gram-positive bacteria;
- C) *Vibrio harveyi quorum sensing* system.

Гомосеринлактонзалежна система грамнегативних бактерій складається з І-білку, який являє собою ацилгосерин лактон (АГЛ) синтетазу. Попередниками ацильованих гомосеринлактонів є ацилацетат (попередник ацильного ланцюга) та S-аденозилметионін (попередник гомосеринлактону). Біосинтез гомосеринлактону (рис. 2) відбувається шляхом відщеплення залишку метионіну від попередника за сульфідним зв'язком. У результаті реакції утворюється гомосеринлактон та високотоксична сполука – метилтіоаденозин. Остання інактивується шляхом гідролізу за участю ферменту Pfs (метилтіоаденозин/S-аденозингомоцистеїн нуклеази) з формуванням менш токсичного продукту – метилтіорибози [17].

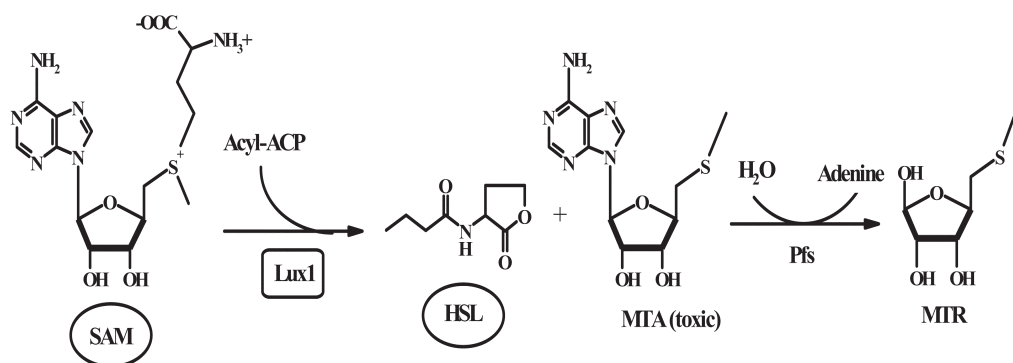


Рис. 2. Біосинтез гомосеринлактону [17]

Fig. 2. Homoserinlactone biosynthesis [17]

Біосинтез ацильного ланцюга (рис. 3) відбувається в циклі біосинтезу жирних кислот за допомоги ферментів родини Fab [17]. У ході циклу елонгації синтезуються два основних інтермедіати: 3-оксо-додеканоїл-ацетилфосфат та кротоніл-ацетилфосфат, які використовуються І-білками для синтезу ацильованих гомосеринлактонів. І-білки за своєю суттю є ацилтрансферазами, що переносять сформовані ацильні ланцюги на молекулу гомосеринлактону. Вважається, що як субстрат для біосинтезу АГЛ використовується D-3-гідрокси-кетоацил-ацетилфосфат. Таким чином синтезується також багато інших сполук, такі як гемолізину, ліпід А та фосфоліпіді. Різні види грамнегативних бактерій характеризуються різною довжиною ацильного ланцюга в аутоіндукторах.

Синтезовані молекули АГЛ вільно дифундують через цитоплазматичну мембрану. У зв'язку з ростом чисельності популяції відбувається зростання концентрації АГЛ і при досягненні критичного рівня вони починають зв'язуватися з R-білком, який являє собою універсальний регулятор. Сформований АГЛ-R комплекс димеризується та активує експресію генів мішеней [11, 12].

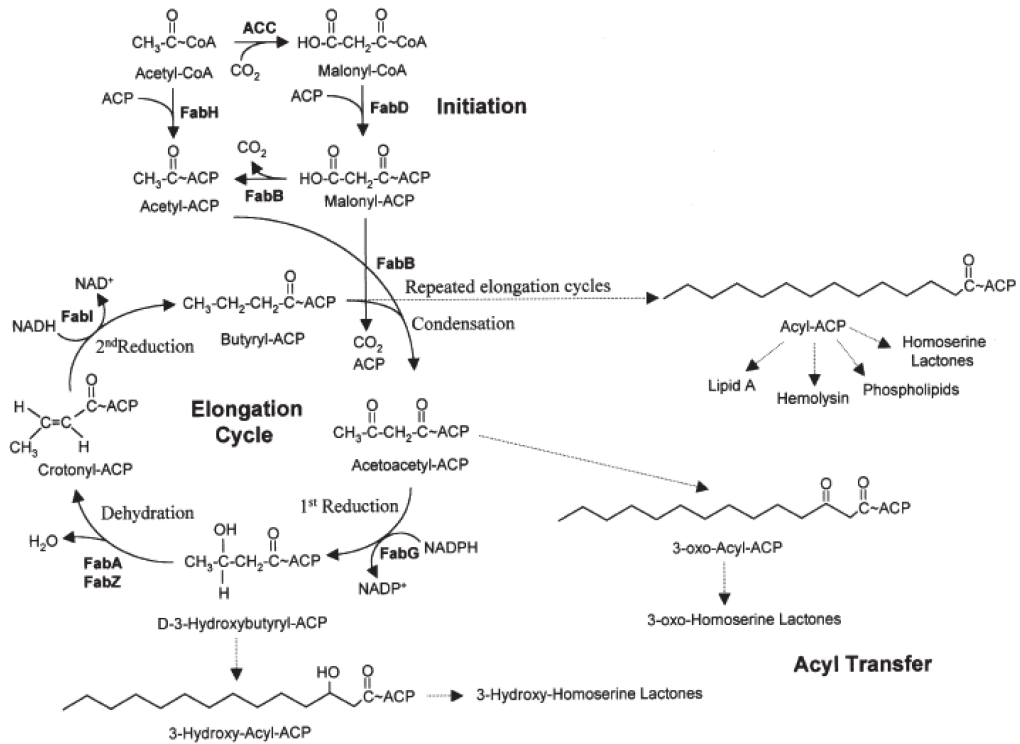


Рис. 3. Біосинтез ацильних ланцюгів гомосеринлактонів на прикладі аутоіндукторів *P. aeruginosa* [17]

Fig. 3. Homoserine lactone acyl-chains biosynthesis in *P. aeruginosa* [17]

Пептид-залежна система *quorum sensing* грамположитивних бактерій функціонує за іншим принципом — двокомпонентної сигнальної системи [24]. Синтезований попередник сигнальних пептидів нарізається на окремі сигнальні молекули. Вони транспортуються з клітин завдяки АТФ-залежному касетному транспортеру. По досягненні критичного рівня ці пептиди зв'язуються зі специфічним рецептором на поверхні клітин та активують сенсорні кінази, які у свою чергу активують білок-регулятор шляхом його фосфорильовання. Активованій таким чином білок-регулятор діє на гени мішені, що спричиняє їх експресію [15]. Третій тип системи *quorum sensing*, який функціонує у *V. harveyi*, на відміну від першого та другого типу, характеризується наявністю не одного, а двох типів сигнальних молекул — аутоіндуктор-1 (AI-1) та аутоіндуктор-2 (AI-2). AI-1 являє собою гомосеринлактон, біосинтез якого каталізується ферментом LuxLM. AI-2 — це фуранозил борат дієстер. Його біосинтез каталізується ферментом LuxS [40]. AI-1 та AI-2 розпізнаються на поверхні клітин рецепторними білками LuxN і LuxP-LuxQ. За малої чисельності клітин LuxN та LuxQ аутофосфорильовуються і транспортують фосфат на LuxO через LuxU. Фосфорильований LuxQ є репресором

генів-мішеней. За високої чисельності клітин LuxN та LuxQ зв'язуються зі своїми аутоіндукторами та змінюють свою активність з кіназної на фосфатазну, дефосфорилуючи LuxO через перенос фосфату на LuxU. При цьому репресор LuxO переходить у неактивну форму і гени-мішені активуються за допомогою LuxR [11].

У 2003 році Xavier і Bassier [40] встановили, що системи, які використовують AI-2 як сигнальні молекули, існують не тільки у *V. harveyi*, а і у деяких інших видів бактерій, як грамнегативних, так і грампозитивних. Автори також показали зв'язок між біосинтезом AI-2 і метильним циклом у мікроорганізмів. Таким чином, можна зробити припущення, що система *quorum sensing*, яка базується на AI-2, можливо, використовується бактеріями для міжвидової комунікації [11, 16].

Pesci E. C. та ін. показали, що у *P. aeruginosa* існує ще одна додаткова система *quorum sensing* — хінолонова, яка відіграє роль перемикача між двома компонентами основної системи [29].

Система месенджерів у бактерій

Незважаючи на те, що за сучасними даними у бактерій відсутня система метаболізму арахідонової кислоти, яка у еукаріот є постачальником основних месенджерів — простагландинів, лейкотриєнів та тромбоксанів, прокаріоти здатні використовувати низку хімічних сполук як месенджери. Основними месенджерами бактерій є дицикло-ГМФ та нуклеотидгуанізин-3',5'-бісдифосфат (ppGpp).

Дицикло-ГМФ є циклічним динуклеотидом, який здатний модифікувати значну кількість процесів метаболізму бактерій. Вперше ця сполука була описана у *Gluconacetobacter xylinus*, у якої вона контролює синтез целюлози [32]. Це досягається за рахунок підвищення або зниження рівня цієї сполуки у середині клітини. Рівень дицикло-ГМФ регулюється двома протилежними типами активності — нуклеотидциклазною (для підвищення рівня) та фосфотидилестеразною (для зниження рівня цієї сполуки) [7]. Пізніше було встановлено, що рівень дицикло-ГМФ здатний впливати не тільки на активність ферментів, а і на перехід бактерій від вільного рухливого існування до біоплівки [8]. Так, Ferreira та ін. [14] та два більш ранніх дослідження [19, 31] показали, що у *Vibrio parahaemolyticus* підвищення рівня дицикло-ГМФ призводить до припинення *swarming motility* та переходу клітин цього мікроорганізму до формування біоплівки. Ці дослідження також показали, що локуси *scrABC* та *scrG*, які вперше були ідентифіковані як регулятори генів родини *laf* за умов росту на рідкому середовищі (умови коли ці гени звичайно репресовані), здатні також зворотньо регулювати *swarming motility* та процес утворення біоплівки у *V. parahaemolyticus*, за рахунок зростання чи зниження рівня дицикло-ГМФ.

Останні дослідження також показали, що та ж сама картина притаманна і іншим мікроорганізмам, зокрема *P. aeruginosa*. *Swarm-*



ing motility у цього мікроорганізму здійснюється за рахунок полярних джгутиків та синтезу рамноліпиду, тоді як формування біоплівки залежить від фімбрій IV типу та активності генів *pel* та *psl*, які регулюють синтез полісахаридного матриксу [18].

Дослідження показали, що у *P. aeruginosa* існують два мембранно-з'язані білки SadC та BifA. Перший являє собою нуклеотидциклазу, а другий — фосфотидилестеразу. Нуль мутанти за першим білком втрачають здатність до формування біоплівки, тоді як інактивація гену *bifA* призводить до повної втрати здатності *P. aeruginosa* рухатися по твердій поверхні. Подальші дослідження призвели до виявлення цитоплазматичного регуляторного білка SadB, який регулює роботу джгутиків у залежності від в'язкості середовища та асоційований з хемотаксис IV кластерною системою [22]. Було показано, що мутанти за цим білком виявляли більш сильну здатність до утворення біоплівки, але втрачали здатність до здійснення *swarming motility* та відповідати на зміни в'язкості середовища. У таких мутантів було зареєстровано також різке зростання активності SadC і, як наслідок, вищий рівень дицикло-ГМФ у порівнянні з диким типом. Результати цих досліджень показують що SadB, SadC та BifA регулюють здатність *P. aeruginosa* здійснювати *swarming motility* та формування біоплівки за рахунок хемотаксис-подібної регуляторної системи [22].

На сьогодні відомі ще декілька факторів, які можуть бути сигналами до змінення концентрації дицикло-ГМФ у клітинах бактерій. Серед них можна виділити опромінення світлом, зв'язування ДНК, амінокислот, фосфотиранину/фосфотирозину, NO, тощо. Відомо, що зниження концентрації дицикло-ГМФ обумовлює рухливість, патогенність, зниження чутливості до фагів та важких металів, тоді як підвищення концентрації цієї сполуки у клітинах мікроорганізмів обумовлює формування біоплівки, запуск системи *quorum sensing*, посилення синтезу екзополісахаридів, тощо [22].

Іншим важливим вторинним месенджером у бактерій, який зв'язаний з процесом формування біоплівки, є нуклеотид гуанізин-3',5'-бісдифосфат (ppGpp). Van Delden та ін. показали що накопичення цієї сполуки у клітинах призводить до активації ранніх регуляторних генів системи *quorum sensing* у *P. aeruginosa* за рахунок інактивації білків репресорів — RsmA, RpoS та QscR. Для *Rhodobacter sphaeroides* було показано, що ця сполука синтезується з дицикло-ГМФ за участю бактеріофітохрому [36]. Бактеріофітохром, який присутній у багатьох бактерій, характеризується досить цікавою організацією. Як кофактор до його складу входить білівердин, який накопичується за рахунок дії гемоксигенази, тобто функціонування бактеріофітохрому тісно пов'язано з метаболізмом геміну. Активація бактеріофітохрому відбувається або за рахунок опромінення світлом, або за рахунок енергії окисно-відновного потенціалу. Природа виникнення останнього на сьогодні ще остаточно не відома, але існує

припущення, що він формується за рахунок енергії переходу $\text{Fe (II)} \leftrightarrow \text{Fe (III)}$ [1].

Таким чином, сучасні уявлення щодо формування біоплівки мікроорганізмами ґрунтуються на тому, що це є складний процес, реалізація якого відбувається за рахунок тонких механізмів регуляції. Складність та багатогранність цих процесів дозволяє мікроорганізмам і їх угрупованням активно існувати в біоценозах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Barkovits K., Harms A., Benkartek C., Smart J.L., Frankenberg-Dinkel N. Expression of the phytochrome operon in *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on the alternative sigma factor RpoS // FEMS Microbiol Lett. — 2008. — V. 280. — P. 160–168.
2. Beatson Scott A., Whitchurch Cynthia B., Semmler Annalese B.T., Mattick John S. Quorum Sensing Is Not Required for Twitching Motility in *Pseudomonas aeruginosa* // J. Bacteriol. — 2002. — V. 184, № 13. — P. 3598–3604.
3. Birgit H., Riedel K., Hentzer M. *Vibrio parahaemolyticus* *scrABC*, a novel operon affecting swarming and capsular polysaccharide regulation // J. Bacteriol. — 2002. — V. 184. — P. 5946–5954.
4. Brown Sam P., Johnstone Rufus A. Cooperation in the dark: signaling and collective action in quorum-sensing bacteria // Proc. R. Soc. Lond. B. — 2001. — V. 268. — P. 961–965.
5. Bryers J.D., Characklis W.G. Processes governing primary biofilm formation // Biotechnol Bioeng. — 1982. — V. 24. — P. 2451–2476.
6. Camilli A., Bassler B.L. Bacterial small-molecule signaling pathways // Science. — 2006. — V. 311. — P. 1113–1116.
7. Christen M., Christen B., Folcher M., Schauerte A., Jenal U. Identification and characterization of a cyclic di-GMP-specific phosphodiesterase and its allosteric control by GTP // J. Biol. Chem. — 2005. — V. 280. — P. 30829–30837.
8. Cotter P.A., Stibitz S. C-di-GMP-mediated regulation of virulence and biofilm formation // Curr. Opin. Microbiol. — 2007. — V. 10. — P. 17–23.
9. Danese P.N., Pratt L. A., Dove S., Kolter R. The outer membrane protein, Ag43, mediates cell-to-cell interactions in *E. coli* biofilms // Mol. Microbiol. — 2000. — V. 37. — P. 424–432.
10. Davey M.E., O'Toole G.A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics // Microbiology and molecular biology reviews. — 2000. — V. 64, № 4. — P. 847–867.
11. Defoirdt T., Boona N., Bossier P., Verstraete W. Disruption of bacterial quorum sensing: an unexplored strategy to fight infections in aquaculture // Aquaculture. — 2004. — V. 240. — P. 69–88.



12. Diggle S.P., Winzer K., Lazdunski A., Williams P., Camara M. Advancing the quorum in *Pseudomonas aeruginosa*: MvaT and the regulation of *N*-acylhomoserine lactone production and virulence gene expression // Journal of Bacteriology. — 2002. — V. 184, № 10. — P. 2576–2586.

13. Donlan R., Costerton J. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // Clin. Microbiol. Rev. — 2001. — V. 15. — P.167–193

14. Ferreira R.B.R., Antunes L.C.M., Greenberg E.P., McCarter L.L. *Vibrio parahaemolyticus* ScrC modulates cyclic dimeric GMP regulation of gene expression relevant to growth on surfaces // J. Bacteriol. — 2008. — V. 190. —P. 851–860.

15. Fujii T., Ingham C., Nakayama J. Two Homologous Agr-Like Quorum-Sensing Systems Cooperatively Control Adherence, Cell Morphology, and Cell Viability Properties in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 // J. Bacteriol. — 2008. — V. 190, № 23. — P. 7655–7665.

16. Geszvain K., Visick K.L. The Hybrid Sensor Kinase RscS Integrates Positive and Negative Signals To Modulate Biofilm Formation in *Vibrio fischeri* // J. Bacteriol.— 2008. — V. 190, № 13. — P. 4437–4446.

17. Hoang T.T., Sullivan S.A., Cusick J.K. Schweizer H.P. β -Ketoacyl acyl carrier protein reductase (FabG) activity of the fatty acid biosynthetic pathway is a determining factor of 3-oxo-homoserine lactone acyl chain lengths // Microbiology. — 2002. — V. 148. — P. 3849–3856.

18. Jackson, K.D., Starkey M., Kremer S., Parsek M.R., Wozniak D.J. Identification of *psl*, a locus encoding a potential exopolysaccharide that is essential for *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm formation // J. Bacteriol. — 2004. — V. 186. — P. 4466–4475.

19. Jenal U., Malone J. Mechanisms of cyclic-di-GMP signaling in bacteria // Annu. Rev. Genet. — 2006. — V. 40. — P. 385–407.

20. Klausen M., Aaes-Jorgensen A., Molin S., Tolker-Nielsen T. Involvement of bacterial migration in the development of complex multicellular structures in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms // Molecular Microbiology. — 2003. — V. 50, № 1. — P. 61–68.

21. Klausen M., Heydorn A., Ragas P. Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. // Mol Microbiol. — 2003. — V. 48. — P. 1511–1524.

22. Kuchm S.L., Brothers K. Merritt M., J. H., Liberati N.T., Ausubel F. M., O'Toole G. A. BifA, a cyclic-di-GMP phosphodiesterase, inversely regulates biofilm formation and swarming motility by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 // J. Bacteriol. — 2007. — V. 189. — P. 8165–8178.

23. Leid J.G., Willson C.J., Shirtliff M.E., Hassett D.J., Parsek M.R., Jeffers A. K. The Exopolysaccharide Alginate Protects *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Bacteria from IFN-Mediated Macrophage Killing // The Journal of Immunology. — 2005. — V. 175. — P. 7512–7518.



24. Mack D., Becker P., Chatterjee I., Dobinskya S., Knoblocha J.K.M., Peters G., Rohdea H., Herrmann M. Mechanisms of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*: functional molecules, regulatory circuits, and adaptive responses // International Journal of Medical Microbiology. — 2004. — V. 294. — P. 203–212.

25. McGrath S, Wade D.S., Pesci E.C. Dueling quorum sensing systems in *Pseudomonas aeruginosa* control the production of the *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) // FEMS Microbiol Lett. — 2004. — V. 230. — P. 27–34.

26. Nealson K.H., Platt T., Hastings J.W. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescence system // Journal of Bacteriology. — 1970. — V. 104. — P. 313–322.

27. O'Toole G. A. To Build a Biofilm // J. Bacteriol. — 2003. — V. 185, № 9. — P. 2687–2689.

28. Parsek M.R., Greenberg E.P. Sociomicrobiology: the connections between *quorum sensing* and biofilms // Trends Microbiol. — 2005. — V. 13. — P. 27–33.

29. Pesci E. C., J. Milbank B.J., Pearson J.P. Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1999. — V. 96. — P. 11229–11234.

30. Rickard A. Gilbert H.P., High N.J. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms // Trends Microbiol. — 2003. — V. 11. — P. 94–100.

31. Römling U., Gomelsky M., Galperin M. Y. C-di-GMP: the dawning of a novel bacterial signalling system // Molecular Microbiology. — 2005. — V. 57, № 3. — P. 629–639.

32. Ross P., Weinhouse H., Alon Y., Michaeli D., Weinberger-Ohana P., Mayer R., Braun S., de Vroom E., van der Marel G.A., van Boom J.H., Benziman M. Regulation of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum* by cyclic diguanylic acid // Nature. — 1987. — V. 325. — P. 279–281.

33. Shiner E.K, Rumbaugh K.P., Williams S.C. Interkingdom signaling: Deciphering the language of acyl-homoserine lactones // FEMS Microbiology Reviews. — 2005. — V. 29. — P. 935–947.

34. Stoodley P., Sauer K., Davies D.G., Costerton J.W. Biofilms as complex differentiated communities. // Annu. Rev. Microbiol. — 2002. — V. 56. — P. 187–209.

35. Sutherland I. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. // Microbiology. — 2001. — V. 147. — P. 3–9.

36. Tarutina M., Ryjenkov D.A., Gomelsky M. An Unorthodox Bacteriophytochrome from *Rhodobacter sphaeroides* Involved in Turnover of the Second Messenger c-di-GMP // J. Biol. Chem. — 2006. — V. 281. — P. 34751–34758.

37. Vinai C.T., Thurlow L.R., Boyle D., Hancock L.E. Regulation of Autolysis-Dependent Extracellular DNA Release by *Enterococcus faecalis*



Extracellular Proteases Influences Biofilm Development // J. Bacteriol. — 2008. — V. 190, № 16. — P. 5690–5698

38. *Watnick P.I., Kolter R.* Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm // Mol. Microbiol. — 1999. — V. 34. — P. 586–595

39. *Webb J.S., Thompson L.S., Sally J.* Cell Death in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Development // J. Bacteriol. — 2003. — V. 185, № 15. — P. 4585–4592.

40. *Xavier K.B., Bassler B.L.* LuxS quorum sensing: more than just a numbers game // Curr. Opin. Microbiol. — 2003. — V. 6. — P. 191–197.

41. *Zegans M.E, Wagner J.C., Cady K.C.* Interaction between Bacteriophage DMS3 and Host CRISPR Region Inhibits Group Behaviors of *Pseudomonas aeruginosa* // J. Bacteriol. — 2009. — V. 191, № 1. — P. 210–219.

В.А. Иваница, Н.Б. Галкин

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, тел.: +38 (048) 765 33 61,
e-mail: volandaron@ukr.net

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЁНКИ

Реферат

В обзорной статье описано современное представление о процессе образования биоплёнки. На сегодняшний день, биоплёнка рассматривается как основная форма существования микробных сообществ в природных условиях, процессы, которые происходят в биоплёнках, обуславливают реализацию многих характерных для бактерий признаков. Многочисленные исследования позволили раскрыть ключевые механизмы, которые лежат в основе этого процесса.

Ключевые слова: биоплёнка, межклеточная коммуникация, *quorum sensing*, аутоиндукторы, мессенджеры.



V.O. Ivanytsia, M.B. Galkin

Odesa National Mechnykov University,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine, tel.: +38 (048) 765 33 61,
e-mail: volandaron@ukr.net

MODERN LOOKS ABOUT BIOFILM FORMATION MECHANISMS

Summary

Biofilm formation process play an important role in microorganisms existence. Numerous investigations improve our knowledge about basic mechanisms involved in this process. Nowadays the biofilm is identified as a basic form of microbial community existence in nature and the processes taking place in the biofilms provide realization of all the major properties of bacteria. This work is dedicated to a review of the basic works forming contemporary minds about biofilm formation processes.

Key words: biofilm, cell-to-cell communication, *quorum-sensing*, autoinductors, messengers.

