

专论与综述

枯草芽孢杆菌天冬氨酸激酶

陈乃用

(中国科学院微生物研究所, 北京)

(一) 前言

天冬氨酸生物合成途径是细菌氨基酸合成的主要途径之一^[1,2]。途径的终产物有赖氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸和异亮氨酸。此外, 它还提供一些较为特殊的产物, 如二氨基庚二酸(DAP), 吡啶二羧酸(DPA)和S-腺苷甲硫氨酸(SAM)(图1)。DAP是细菌细胞壁肽聚糖和芽孢皮层粘肽的重要组分。DPA则是芽孢的

通过三种天冬氨酸激酶, 结合各分支途径的反馈调节, 控制天冬氨酸途径中各种氨基酸前体的流向。每一种终产物大约降低途径中前体流量的三分之一, 同时仍能形成适量的天冬氨酸磷酸用于合成其他终产物。生物代谢中这类巧妙的组合正是生物在进化中长期演化的结果。

(二) 芽孢杆菌的天冬氨酸激酶

大肠杆菌天冬氨酸生物合成途径的功能相对来说还是比较简单的, 在细菌生长阶段它提供必需的氨基酸, 在细胞不生长时, 合成途径也基本上处于静止状态。但是, 芽孢杆菌的情况就较为复杂。因为在芽孢杆菌生活史中除了营养生长阶段还有芽孢形成阶段。在不利的营养条件下, 细菌进入静止状态并形成芽孢, 使细菌得以在持续高温干旱等恶劣环境条件下生存下来。芽孢形成阶段合成的新结构如芽孢的皮层和外被等只要求最低的外界营养, 无需合成新的蛋白质和核酸, 合成的主要原料可以取自细胞中一些分子的降解物。因此在芽孢形成时, 氨基酸和核苷酸的生物合成途径看来已不活动, 许多生物合成酶实际上在降解。唯有天冬氨酸途径是一个例外。因为芽孢的主要组分吡啶二羧酸^[3]在营养细胞中是没有的, 只在芽孢形成阶段才合成。在芽孢形成时还要求天冬氨酸途径中的赖氨酸分支生产大量DAP, 用于合成芽孢皮层的粘肽。由此看出, 天冬氨酸激酶在芽孢杆菌生活史中有着双重功能, 在营养生长阶段合成氨基酸, 在芽孢形成阶段合成吡啶二羧酸和二氨基庚二酸。

这种双重功能也反映在天冬氨酸激酶的调节上(图1)。芽孢杆菌中有两类不同的天冬氨酸激酶^[4], 营养生长细胞中的主要激酶(V-型)通常受赖氨酸或赖氨酸加苏氨酸的反馈抑制, 它们的功能主要是提供蛋白质氨基酸。芽孢形成时的主要激酶(S-型)其活性受内消旋二氨基庚二酸(*meso*-DAP)的抑制。这种S-型激酶即使在蛋白质氨基酸水平很高的细胞中也能大量产生DPA和DAP, 它们都是芽孢形成必

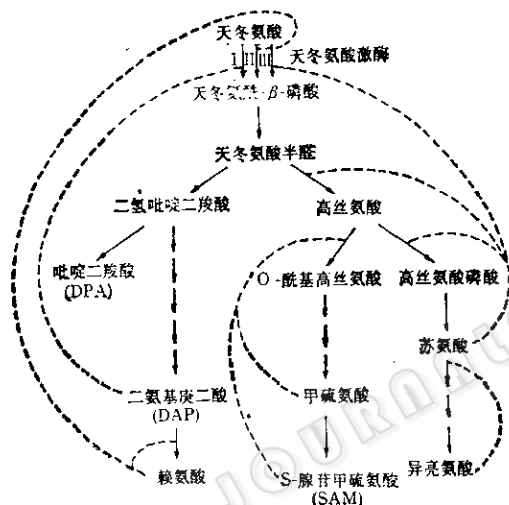


图1 枯草芽孢杆菌天冬氨酸生物合成途径及其反馈调控^[10]
反馈抑制用虚线表示

重要组分, 主要在芽孢杆菌的芽孢形成阶段生成, 在营养细胞中是没有的。SAM是一种普遍存在的生物甲基化剂是ATP和甲硫氨酸衍生的高能化合物。

在细菌代谢生理中, 天冬氨酸途径的调节机制是比较复杂的, 特别是途径中的第一个酶, 天冬氨酸激酶(ATP:L-天冬氨酸 4-磷酸转移酶, EC2.7.2.4), 它的调节必须适当地支持七种终产物的合成。大多数细菌中都有好几种天冬氨酸激酶的同功酶, 它们的调节机制各不相同。例如, 大肠杆菌中已知有三种天冬氨酸激酶^[5]共同催化天冬氨酸途径的第一个反应。天冬氨酸激酶I的活性受苏氨酸的抑制, 它的合成受苏氨酸和异亮氨酸的阻抑; 激酶II的合成受甲硫氨酸的阻抑; 而激酶III的活性和合成则受赖氨酸的抑制和阻抑。也就是说, 大肠杆菌中的这三种激酶是分别受天冬氨酸生物合成途径中三种不同终产物控制的。细菌

本综述的主要内容引自美国波士顿生物医学研究所代谢调节系主任Dr. Henry Paulus实验室和作者1985—1989年在该实验室的研究工作以及以后在私人通信中涉及到的一些最新研究进展。谨此向Dr. Paulus深表谢忱。

不可少的原料。芽孢杆菌天冬氨酸途径的赖氨酸分支中另外两个特点也有利于 DPA 和 DAP 的大量合成:①赖氨酸分支途径的第一个酶,二羧吡啶二羧酸合成酶是不受反馈控制的^[1],即使细胞中存在赖氨酸, DAP 和 DPA 仍然可以继续合成,而大肠杆菌中的这种合成酶是受赖氨酸反馈抑制的^[2]。②DAP 脱羧酶是受赖氨酸反馈抑制的,在芽孢形成阶段 DAP 脱羧酶可能失去活性^[4],这样就防止了 DAP 无谓地转化成赖氨酸。

1. S-型天冬氨酸激酶的性质: 枯草芽孢杆菌中 S-型天冬氨酸激酶只有一种,即天冬氨酸激酶 I(AKI)。AKI 的分子量大约 600000^[5],它的活性受 *meso*-DAP 的抑制,但不受赖氨酸 (10mmol/L) 加苏氨酸 (10mmol/L) 的抑制。S-型和 V-型天冬氨酸激酶虽然都催化天冬氨酸磷酸的合成反应,但它们的性质是很不相同的(表 1)。第一,在枯草芽孢杆菌的各个生长阶段,无论是对数生长期还是静止期,每毫克细菌蛋白质中的 AKI 的单位数(比活)都是恒定的,天冬氨酸合成途径的各种终产物对 AKI 的合成未见阻抑或诱导作用;而 V-型天冬氨酸激酶(AKII, AKIII)在细菌对数生长期的产量最高,到静止期则迅速下降,它们的合成受不同终产物的诱导和阻抑(表 1)。第二, AKI 在营养细胞中的产量相当高,但它在细胞内的活性很可能处于抑制状态^[6]。我们在 V-型激酶缺失突变体 FM6 和 FM27 (AKII⁻AKIII⁻)^[6] 中发现,尽管细胞中 AKI 的水平正常,但在缺少赖氨酸、甲硫氨酸和苏氨酸的条件下,细菌不能生长。也就是说,营养细胞中如果没有 V-型天冬氨酸激酶,单靠 AKI 是不能为细菌生长提供足够的氨基酸合成的前体。有趣的是,这类突变体在生长时并不需要补加 *meso*-DAP,

可能 AKI 的功能是专门提供这种细胞壁组成物的前体,而不能提供蛋白质氨基酸合成的前体^[4]。

Roten 等^[13]在鉴定天冬氨酸激酶 I 的结构基因 *dapG* 时,分析了一组枯草芽孢杆菌热敏溶菌突变体,突变点在 *dapG* 基因座 (144°)。这组突变体在非允许温度 (45℃) 下,不产生对 *meso*-DAP 敏感的 AKI。虽然在突变体细胞中存在 V-型天冬氨酸激酶,但在丰富培养基中却不能为细胞壁肽聚糖合成提供必需的 *meso*-DAP,因而发生溶菌。细菌在丰富培养基中, AKII、AKIII 的相对水平较低,但即使在基本培养基中, AKII、AKIII 处于去阻抑状态, *dapG* 突变体在非允许温度下的生长也极差。说明 *dapG* 突变体细胞中的 V-型激酶是不能充分补偿 AKI 活性的。由此看出,这两型同功酶虽然都催化合成天冬氨酸磷酸,它们之间却是不能或不易相互替代的。

张和 Paulus^[3a]最近在研究 FM6(*lysC::cat*, Thr⁻ Lys⁻ Met⁻) 的回复突变时发现:有一类拟回复子 FM6R30 可以在不加甲硫氨酸和赖氨酸的基本培养基上生长 (FM6R30 仍然是苏氨酸缺陷型),但其细胞中的 AKIII、AKII 水平和 FM6 一样仍然极低。不过 FM6R30 中的 AKI 已不再受 DAP 的反馈抑制。他们认为 FM6 活体内的 AKI 是处于 *meso*-DAP 的抑制状态,一旦这种抑制被突变所解除, AKI 就可以参与氨基酸的生物合成。

2. V-型天冬氨酸激酶的性质: 芽孢杆菌中 V-型天冬氨酸激酶的研究比 S-型激酶多一些。过去认为枯草芽孢杆菌^[7-9]和多粘芽孢杆菌 (*B. polymyxa*)^[10-14] 中只有一种 V-型激酶,即天冬氨酸激酶 II。AKII 的活性有的受赖氨酸反馈抑制(如枯草芽孢杆菌 60015^[11], VB217^[13a]),有的受赖氨酸和苏氨酸多价反馈抑制(如 ATCC 6051^[9] 和多粘芽孢杆菌^[12-13])。当时认为这种反馈调节上的差异是菌株生理上不同的反映^[11]。在短芽孢杆菌 (*B. brevis*)^[13] 和巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*)^[14] 中则各有两种不同的 V-型天冬氨酸激酶。从 AKII 的亚单位结构研究证明^[11],短芽孢杆菌中的一种 V-型激酶与枯草和多粘芽孢杆菌中的 AKII 是等同的,另一种则完全不同。而巨大芽孢杆菌中的两种激酶的调节类型则和其他芽孢杆菌中的完全不同,预示在芽孢杆菌中的 V-型天冬氨酸激酶也存在着好几种同功酶。

最近由于凝胶过滤层析等分析方法的改进^[11]和枯草芽孢杆菌 V-型天冬氨酸激酶缺失突变体 (AKII⁻, AKIII⁻) 的分离^[6],证明过去认为只有一种 V-型激酶 (AKII) 的枯草芽孢杆菌 ATCC 6051 和 GSY225,实际上都包含两种不同的同功酶。受赖氨酸反馈抑制和阻抑的是 AKII,它是控制赖氨酸生物合成的重要激酶, AKII 基因已经克隆^[17,18],并进行了核苷酸序列分析^[19]。另一种同功酶 AKIII 受苏氨酸和赖氨酸协同

表 1 枯草芽孢杆菌天冬氨酸激酶 I、II、III 的比较^[1]

性 质	I	II	III
分子量	>500000	120000	120000
抑制物	<i>meso</i> -DAP	赖氨酸	苏氨酸和赖氨酸
诱导物	未见	甲硫氨酸	赖氨酸
阻抑物	未见	赖氨酸或 20 种氨基酸 ¹⁾	苏氨酸或 20 种氨基酸 ¹⁾
对数生长期的比活 ²⁾ (单位/mg 蛋白质)	恒定	增加	增加
静止期的比活 ²⁾ (单位/mg 蛋白质)	恒定	下降	下降
与 AKII 抗体的交叉反应	负	正	负

1) 20 种常见的蛋白质氨基酸,各 50μg/ml。

2) 细菌在基本培养基中培养,因葡萄糖耗尽进入静止期。

抑制,并受赖氨酸的诱导(表 1),它的主要功能可能是调节苏氨酸的生物合成^[5]。

在基本培养基中,枯草芽孢杆菌 AKII、AKIII 的酶活均很快上升。当葡萄糖耗尽时,二者的活性均很快下降(表 1)。说明这两种 V-型激酶在细菌对数生长期均为氨基酸合成提供天冬氨酸磷酸,到了静止期,这两种激酶均发生降解^[5]。在添加 20 种氨基酸的培养基中 AKII、AKIII 的合成均受到抑制。

枯草芽孢杆菌不同菌株间的 AKII 和 AKIII 相对含量是不同的^[6]。早先认为受苏氨酸和赖氨酸协同抑制的菌株 ATCC 6051 中,占主导的是 AKIII (62%), AKII 只占 17%。而受赖氨酸反馈抑制的菌株 GSY225,占主导的是 AKII(60%), AKIII 含量相对就少得多(15%)。这两株菌的 AKII 基因的核苷酸序列完全相同,但酶的相对含量却相差甚多。据了解,枯草芽孢杆菌 168 (如 GSY225) 原来是由 Marburg 菌株(ATCC 6051)经 X-射线诱变而来^[6],因此二者的 AKII 核苷酸序列完全一致是可以理解的。当然经过 X-射线强烈诱变以后无疑会导致多重遗传损害,这些很可能反映到天冬氨酸激酶的调节上。

(三) 天冬氨酸激酶 II 的结构和功能

枯草芽孢杆菌天冬氨酸激酶中研究比较详细的目前只有 AKII。早期的研究表明,AKII 是由 α 和 β 两个不相等的亚单位组成的 $\alpha_2\beta_2$ 结构^[7]。 α 和 β 亚单位的分子量分别是 43000 和 17000。根据化学和免疫

学分析比较,这两个亚单位有很高的同源性^[11],较小的 β 亚单位和 α 亚单位的羧基末端部分是同源的。AKII 基因的核苷酸序列分析证实,这两个亚单位是由同相重叠基因编码的^[19]。图 2 是枯草芽孢杆菌染色体 DNA 2.9kb *Pst*I 片段的布局图,内含 AKII 编码区^[19]。核苷酸 612-1835 是 AKII 的结构基因部分。现在我们不仅对 AKII 操纵子 α, β 亚单位及其调控机构有了较深入的了解,并且对这个基因的上游和下游将近 8.8kb DNA 片段中的各个基因的核苷酸序列以及它们在染色体上的座位都有了较全面的认识^[11]。

1. AKII 操纵子的转录起始点: AKII α 和 β 亚单位的转录起始点是从两方面加以证实的^[19]。第一,用启动子探测质粒找出核苷酸 1—380 号范围内有完整的启动子活性。在核苷酸 261 号有一个 *Bgl*II 酶切位点,切点前和切点后的 DNA 片段都没有启动子活性,说明启动子的位置可能就在核苷酸 261 号前后(图 3)。在 β 亚单位翻译起始密码子 ATG (核苷酸 1347—1349) 前 0.4kb 范围内都没有查到启动子活性,证明 β 亚单位没有独立的转录起始点, α 和 β 两个亚单位可能是由同一转录本翻译的。第二,用枯草芽孢杆菌 mRNA 和引物延伸法精确作图^[19],找出转录起始点,证明 mRNA 5' 末端和 2.9kb DNA 片段中 281 \pm 1 号核苷酸下游的 DNA 互补。在这个转录起始点的上游 -10 区和 -35 区有两段高度保守的区域,它们的核苷酸序列与枯草芽孢杆菌 σ^A (σ^{43}) 和大肠杆菌 σ^{70} RNA

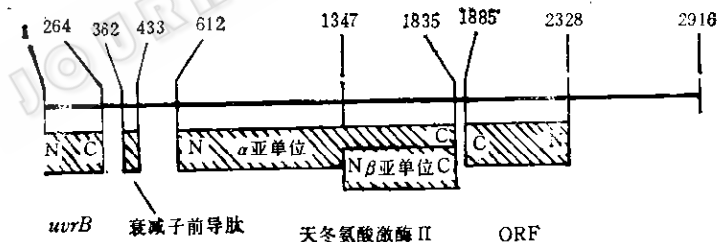


图 2 枯草芽孢杆菌 DNA 2.9kb *Pst*I 片段的可读框布局图^[14]。内含天冬氨酸激酶 II 编码区。图上方的数字按文献 [19] 的核苷酸序列编号。N 和 C 分别代表氨基末端和羧基末端。上游是 *uvrB* 基因的部分编码区,下游是未知的可读框 (ORF)

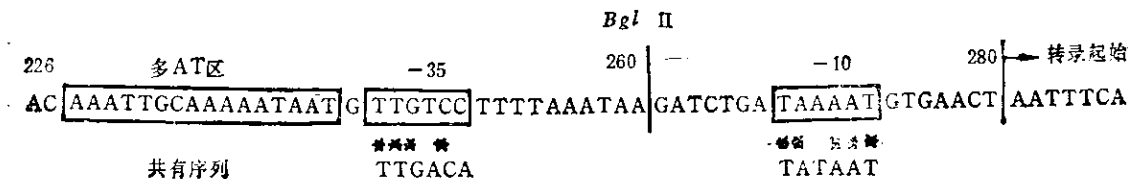


图 3 枯草芽孢杆菌天冬氨酸激酶 II 操纵子的启动子核苷酸编号同图 2。框中的保守区和枯草芽孢杆菌 σ^A RNA-聚合酶全酶识别的共有序列基本相符

素合酶全酶识别的共有序列^[25]基本相同。单一的 *Bgl* III 切点正巧落在 -10 和 -35 区之间,故而破坏了启动子活性。在 -35 区上游还有一段多 AT 的区域,这也是枯草芽孢杆菌启动子常见的特征之一。它对 σ^70 RNA 聚合酶的识别和转录可能也是重要的。

2. α 和 β 亚单位翻译起始密码子: 根据氨基酸顺序分析证实 AKII α 亚单位 N 末端 9 肽的氨基酸顺序和 2.9 kb *Pst* I 片段中 615—641 号核苷酸推导的氨基酸顺序完全相符^[18]。这段序列前面的 ATG (核苷酸 611—614) 在可读框的最前面,可能就是 α 亚单位的翻译起始密码子。核苷酸 597—601 (AAAGG) 可能是它的核糖体结合位点 (图 4)。但是 β 亚单位翻译起始位置的问题就比较复杂。虽然 β 亚单位 N 末端 16 肽和核苷酸 1347—1393 推导的氨基酸顺序相符。在核苷酸 1347—1349 (ATG) 上游有一段很强的核糖体结合位点 AGGAGG (1333—1338), 但因 β 亚单位的核苷酸序列和 α 亚单位的羧基末端部分完全重叠, 因此仅仅根据上述证据尚不足以排除 β 亚单位是由 α 亚单位翻译后加工衍生的可能性。这个疑点现在已用寡核苷酸定位诱变和蛋白质免疫分析法解决了^[19,20]。例如: 把 α 亚单位大部分编码区切除, 或在 α 亚单位结构基因前部切去一个核苷酸造成移码, 都能使细菌不再合成 α 亚单位, 但对 β 亚单位的产生并无影响, 说明 β 亚单位不是由 α 亚单位衍生而是独立翻译的^[20,21]。 β 亚单位的翻译起始密码子 ATG (1347—1349) 也已用定位诱变方法证实^[20]。当这个 ATG

换成 TTA 或 AAT, 对 α 亚单位的合成没有影响, 但 β 亚单位则完全不再合成了。说明这个 ATG 就是 β 多肽链的翻译起始密码子。

3. 转录调节区: 从转录起始点到 α 亚单位翻译起始点, 中间相隔 330 个碱基 (图 4)。仔细分析这段很长的前导序列发现其中可能包含由四组回文环组成的转录衰减子^[11]。它的特征和肠道细菌一些生物合成操纵子中的转录衰减子^[22]有很多相似之处, 比枯草芽孢杆菌色氨酸基因转录衰减子^[23]复杂得多。在第一个回文环中包含由 24 个氨基酸组成的前导短肽 (核苷酸 362—433), 其中赖氨酸占四个。短肽前面有很强的核糖体结合位点。最后一个回文环很象是不依赖于 ρ 的转录终止子。此外, 在这个可能的转录衰减子上游还有一个对称的回文环。现已证明它和 *accA* 突变有关^[19]。

在枯草芽孢杆菌中有两类抗赖氨酸结构类似物 AEC [S-(2-氨基乙基)-L-半胱氨酸] 的突变体^[24-26,33], *accA* 和 *accB*。 *accA* 突变体能分泌赖氨酸和产生去抑制水平的 AKII^[27]。过去认为 *accB* 基因座 (279°) 是 AKII 的结构基因^[28], *accA* 基因座 (250°) 和 AKII 的调节有关^[28,29]。最近经遗传定位和核苷酸序列分析证明, *accA* 和 AKII 操纵子 *lysC* 在同一基因座^[30,31], 而 *accB* 基因座和 AKII 结构基因无关^[31,31]。

为了找出 *accA* 和 *lysC* 基因座之间的关系, 我们分析了三株来源不同的 *accA* 突变体 VB217^[30],

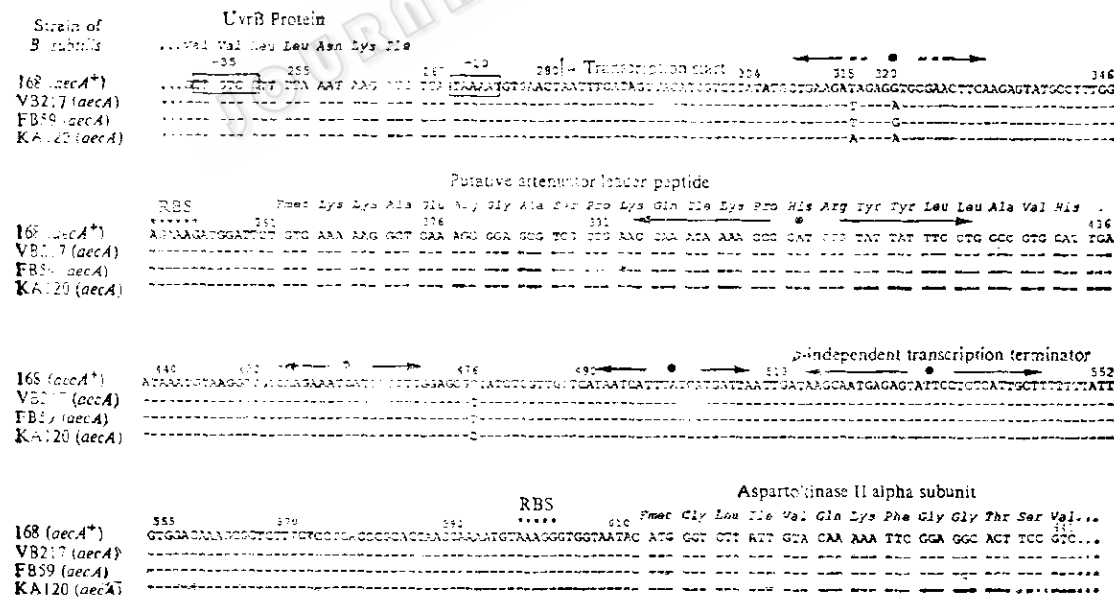


图 4 枯草芽孢杆菌天冬氨酸激酶 II 操纵子 (*lysC*) 前导区的核苷酸序列^[19]。图中示出菌株 168 的全部序列^[19]。*accA* 突变株 VB217, FB59, KA120 只示出它们和 168 不同的核苷酸。箭头表示可能形成回文环的对称序列, 其中包括推断的衰减子前导肽和不依赖 ρ 的转录终止子。R.B.S. 代表核糖体结合位点

实^[1], 插在 AKII 编码区的 *cas* 基因位于 *leuA*(250°) 和 *aroG*(260°) 之间, 距离 *thrA*(279°) 甚远。根据共转录频率计算 *lysC::cas* 的座位在 253° 附近。它的上游是紫外线修复基因 (*uvrB*) 和硫氧还蛋白基因 (*trx*)^[11], 下游为丁二酸脱氢酶复合体基因 (*sdhC*, *A*, *B*)^[12, 13] 和萌发基因 (*gerE*)^[13] (图 6)。这 8.8 kb DNA 片段的全部核苷酸序列都已测定, 其中除了两小段可读框尚待鉴定外, 整个片段的基因排列次序是: *trx-uvrB-lysC-orfX-sdhC-sdhA-sdhB-orfY-gerE*。

(四) 结束语

天冬氨酸激酶在细菌氨基酸生物合成中起着重要作用, 并以其复杂的调节机制协调细菌的生理需求。枯草芽孢杆菌中有两类天冬氨酸激酶分别作用在细菌营养生长阶段和芽孢形成阶段。目前研究较多的是赖氨酸反馈抑制的天冬氨酸激酶 II。AKII 操纵子 (*lysc*) 在枯草芽孢杆菌染色体上的座位定在 253°。上游的 *uvrB* 编码区和 *lysC* 同相, 其后没有明显的转录终止子, 它的转录很可能延续到 *lysC* 操纵子里。 *accA* 基因座也定在 *lysC* 操纵子的前导区里^[10]。 *accA* 突变提高赖氨酸分泌和 AKII 水平, 这方面的研究将为赖氨酸生物合成和 AKII 基因调节机制提供有用资料。

天冬氨酸激酶 III 是新近发现的一种同功酶, 它的研究将有助于阐明营养细胞中天冬氨酸激酶和苏氨酸生物合成中的调节问题。

天冬氨酸激酶 I 是在芽孢形成阶段有特殊功能的一种激酶。枯草芽孢杆菌中两类天冬氨酸激酶的相互关系反映出细菌对营养生长和芽孢形成双重要求的生理适应性。AKI 的研究将帮助我们更深入地了解芽孢形成和细菌进化生理中的复杂问题。

参 考 文 献

1. Paulus H: *Jour. Bio Science*, 6: 403—418, 1984
2. Cohn G N & i Saint-Girons: In "Escherichia coli and Salmonella typhimurium cellular and molecular biology" (Neidhardt F C Ed. in Chief) Amer. Soc. Microbiol., pp429—444, 1987.
3. Powell J F: *Biochem. J.*, 54: 210, 1953.
4. Grandgenett D P & D P Stahly: *J. Bacteriol.*, 106: 551, 1971.
5. Graves L M & R L Switzer: *J. Bacteriol.*, 172: 218—223, 1990.
6. Zhang J J et al.: *J. Bacteriol.*, 172: 701—703, 1990.
7. Moir D & H Paulus: *J. Biol. Chem.*, 252: 4649—4654, 1977.
8. Moir D & H Paulus: *J. Biol. Chem.*, 252: 4655—4661, 1977.
9. Rosner A & H Paulus: *J. Biol. Chem.*, 246: 2965—2971, 1971.
10. Paulus H & E Gray: *J. Biol. Chem.*, 235: PC4008—

- 4009, 1964.
11. Paulus H & E Gray: *J. Biol. Chem.*, 242: 4980—4906, 1967.
12. Paulus H & E Gray: *J. Biol. Chem.*, 243: 1349—1355, 1968.
13. Biswas C et al.: *J. Biol. Chem.*, 245: 4900—4906, 1970.
14. Biswas C et al.: *J. Biol. Chem.*, 248: 2894—2900, 1973.
15. Hitchcock M J M & B Hodgson: *Biochimica et Biophysica Acta*, 445: 350—363, 1976.
16. Chatterjee S P & P J White: *J. Gen. Microbiol.*, 128: 1073, 1982.
17. Bondaryk R P & H Paulus: *J. Biol. Chem.*, 260: 585—591, 1985.
18. Bondaryk R P & H Paulus: *J. Biol. Chem.*, 260: 592—597, 1985.
19. Chen N Y et al.: *J. Biol. Chem.*, 262: 8781—8798, 1987.
20. Chen N Y & H Paulus: *J. Biol. Chem.*, 263: 9526—9532, 1988.
21. Chen N Y et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 135: 2931—2940, 1989.
22. Chen N Y & H Paulus: In "Genetics and Biotechnology of Bacilli" vol 2, Ganesan A T & J A Hoch (eds), Academic Press, pp 69—74, 1988.
23. Chen N Y et al.: In "Genetics and Biotechnology of Bacilli" vol 3, Zukowski M M et al. (eds), Academic Press, pp 49—58, 1990.
24. Paulus H & N Y Chen: *J. Indian Inst. Sci.*, 69: 55—64, 1969.
25. Reznikoff W S: *Ann. Rev. Genet.*, 19: 355—387, 1985.
26. Kolter R & C Yanofsky: *Annu. Rev. Genet.*, 16: 113—134, 1982.
27. Shimotsu H et al.: *J. Bacteriol.*, 166: 461—471, 1986.
28. Marrioli R et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 114: 223—225, 1979.
29. Piggot P J & J A Hoch: *Microbiol Rev.*, 49: 158—179, 1985.
30. Yeh E C & W Steinberg: *Mol. Gen. Genet.*, 158: 287, 1978.
31. Petricek M et al.: *FEMS Microbiol. Lett.*, 51: 85—88, 1989.
32. Postle K & R F Good: *Cell*, 41: 577—585, 1985.
33. Magnusson K et al.: *J. Bacteriol.*, 166: 1067—1071, 1986.
34. Phillips M K et al.: *J. Bacteriol.*, 169: 864—873, 1987.
35. Cutting S & J Manadelstam: *J. Gen. Microbiol.*, 132: 3013—24, 1986.
36. Zhang J J & H Paulus: *J. Bacteriol.*, 172: 4640—4693, 1990.
37. Rozen C-A H et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 137: 951—962, 1991.
38. Lu Y et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 137: 1991.