

# 紫色非硫细菌光合基因表达调控研究进展\*

吴大庆 钱新民

(山东大学微生物所, 济南 250100)

紫色非硫细菌 purple nonsulfur bacteria, 以下简称 PNS 菌, 即红螺菌科 (Rhodospirillaceae), 属于光合细菌的  $\alpha$  和  $\beta$  亚门, 具有较大的代谢变通性。在好氧环境中, 它们可以进行化能生长; 而当氧分压降低时, 细胞迅速合成光合器官, 通过光合磷酸化反应获取能量。PNS 菌的光合系统具有古老的进化历史与独特的生理结构, 有助于了解光合系统的进化历程, 对植物光合作用机理的研究也具有重要价值。随着分子生物学的发展, 已经开始在分子水平上对 PNS 菌光合作用机制进行深入的探讨<sup>[1~6]</sup>。本文着重介绍近年来有关光合基因表达调控机制研究的主要进展。

## 1 光合基因结构

光照条件下, PNS 菌细胞膜内陷分化为内质膜系统 (intracytoplasmic membrane system, ICM), 合成几种特殊的色素蛋白质复合物 (表 1)。ICM 的合成、组分与含量受氧分压、光强度的调节<sup>[3~6]</sup>。

**1.1 光合基因簇:** PNS 菌的大部分光合作用基因都簇集于染色体上大约 46kb 片段内, 称为“光合基因簇” (photosynthesis gene

cluster), 它包括 RC 多肽基因、puf 操纵子、crt 基因以及 bch 基因。bch 和 crt 位于光合基因簇中心, 两侧是 puf 和 puh 操纵子<sup>[2~10]</sup>。puc 操纵子、cyc 操纵子独立于光合基因簇而分散存在于染色体上<sup>[5, 6, 11~13]</sup> (图 1)。

最近阐明了光合基因簇中一些结构基因 (如 pufQ、pufX、pucC、pucE) 产物的功能<sup>[12, 14, 15]</sup>; 在浑球红细菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 和荚膜红细菌 (*Rhodobacter capsulatus*) bchA 座位内找到了三个新基因 (bchX、bchY、bchZ), 并分析了其产物功能<sup>[16, 17]</sup>。发现 crt 基因形成 4 个转录单位 (crtA、crtIBK、crtDC 和 crtEF) 并簇集于 11kb 的区域内<sup>[18]</sup>。

**1.2 超操纵子:** 在 *R. capsulatus* 中至少发现了三个所谓“超操纵子” (superoperon) 结构 (图 2)。

Young 等在 1989 年观察到 crtEF、bchCA (应为 bchCXYZ) 与 puf 三个操纵子是共转录

\* 山东省自然科学基金资助项目  
1994-06-06 收稿

的, *bchCXYZ* 和 *puf* 可以从几个交叠的 mRNA 起始表达, 这样 *crtEF-bchCXYZ-puf* 构成了一个大的转录单位, Young 称之为光合基因的“超操纵子组织” (superoperon organization)<sup>[19-21]</sup>。在光合基因簇另一端具有相似结构, 由 *puhA* 和 *bchBFKHLM-F1696* 两个

操纵子形成超操纵子区, 从 *bchBFKHLM-F1696* 起始的转录通读影响 *puf* 基因的表达, 尤其是在好氧生长时<sup>[22]</sup>。色素合成基因 *crtA* 与 *bch I* 也组成超操纵子, *bch I* 启动子位于上游的 *crtA* 内部, 其起始密码子被 *crtA* 的终止密码子覆盖<sup>[23]</sup>。

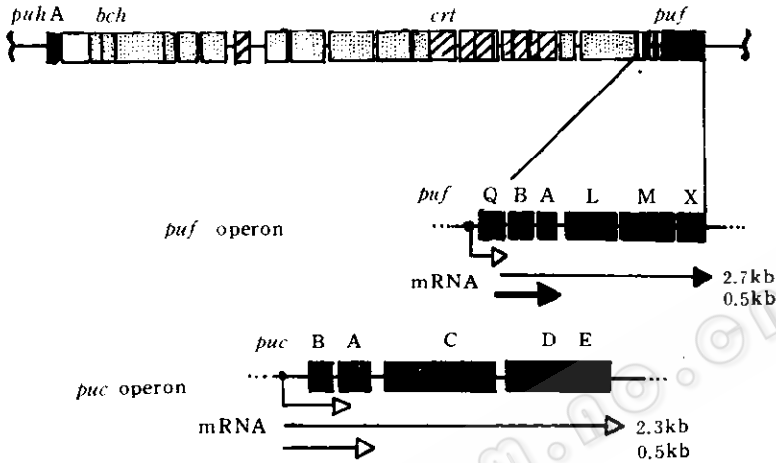


图1 PNS 菌光合基因簇及 *puf*, *puc* 操纵子的结构

表1 PNS 细菌 ICM 主要组分及其基因

ICM 组分	基因	蛋白质* 分子量
反应中心复合物	RC-L	21000
(RC)色素结合蛋白质	RC-M	24000
	RC-H	28000
光捕获复合物(LH)色素结合蛋白质	LH I (B875) LH I- $\alpha$	6809
	LH I- $\beta$	5457
	LH II (B800~B850) LH II- $\alpha$	5599
	LH II- $\beta$	5448
细胞色素 <i>b/c<sub>1</sub></i> (Cyt <i>b/c<sub>1</sub></i> )复合物	Cyt <i>c<sub>1</sub></i>	33000
	Cyt <i>b</i>	40000
	铁硫蛋白	24000
细胞色素 <i>c<sub>2</sub></i>	(Cyt <i>c<sub>2</sub></i> )	14000
细菌色素	细菌叶绿素(Bchl)	<i>bchB</i> , <i>bchCXYZ</i> , <i>bchE</i> , <i>bchL</i> , <i>bchM</i> 等
	类胡萝卜素(Crt)	<i>crtA</i> , <i>crtDC</i> , <i>crtIBK</i> , <i>crtEF</i> 等

\* 蛋白质分子量以浑球红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*)为例

Hunter 曾发现, *R. sphaeroides* 的 *bchZ* 覆盖了下游 *pufQ* 的起始密码子<sup>[24]</sup>。McGlynn 也观察到了一个足以包括 *crtE-pufX* 的大转录子, 它很可能是一个超操纵子的转录产物<sup>[25]</sup>。

## 2 转录水平的调控

2.1 启动子: 光合基因启动子一般都具有多个启动子区。1985年, Belasco 描述了 *R. capsulatus* 操纵子结构<sup>[26]</sup>。后来发现了 *puf* 操纵子一个主要的氧依赖型启动子。它位于

pufB<sup>5'</sup>端上游 699 bp, 包括一个二分对称序列, 与 ntrA ( $\sigma^{60}$ ) 型启动子相似。pufB 上游 511bp 处还有一个组成型启动子, 负责 puf 的低水平表达<sup>[21, 27]</sup>。 *R. sphaeroides*<sup>[24]</sup>、深红红螺菌 (*Rhodospirillum rubrum*)<sup>[28]</sup> 的 puf 操纵子也有类似结构。 *R. capsulatus* 的 puc 操纵子的两个

主要启动子分别位于 pucB 上游 110bp 和 125bp 处<sup>[29]</sup>。它们负责大约 90% 的 puc 表达, 余下的 10% 表达量可能来自位于 pucC 与 pucD 间的某个未知小启动子区, 也可能是由于 pucD 与 pucE 的翻译偶联 (translation coupling)<sup>[17]</sup>。

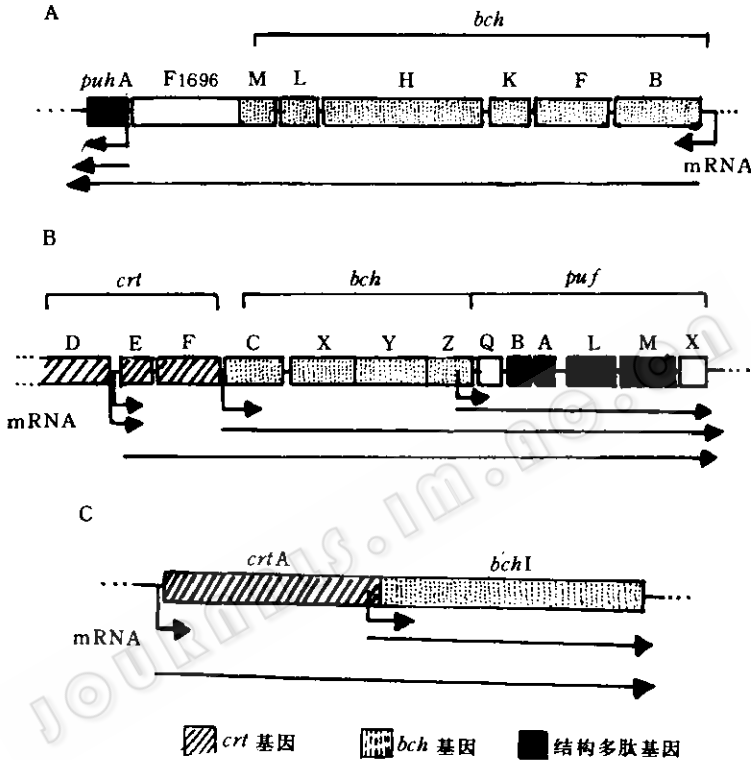


图2 *R. capsulatus* 光合基因“超操纵子”结构

A. bchBFKHLM-F1696-puhA 超操纵子 B. crtEF-bchCXYZ-pufQBALMX 超操纵子 C. crtA-bchI 超操纵子

*R. sphaeroides* 的 puc 操纵子中只在 pucB 上游 117bp 处发现了一个启动子 (-92—-57 之间), 与 *R. capsulatus* puc 上游 -80—-40 区具有一致性<sup>[30]</sup>。cycA 上游也找到了两个启动子。下游启动子在化能异养细胞中比较活跃, 而上游启动子区则在光养条件下负责促进 cycA 的高效表达<sup>[31]</sup>。

光合基因启动子结构有不同类型 (图 3)。 *R. capsulatus* 色素合成基因 (crtID、bch-CXYZ、ORFJ 等) 启动子与 *E. coli*  $\sigma^{70}$  型启动子相似, 在 -10 区域或 -35 区有一致性。puc、puf 与 bchCXYZ 等启动子的 -10 区有 (T)

ACAC 保守序列<sup>[15, 32~34]</sup>, 而这一序列在 *R. sphaeroides* 的 puf 启动子中却未发现<sup>[24]</sup>。 *R. sphaeroides* 的 cycA 上游 -28 区和 -274 区也与 *E. coli* 的  $\sigma^{70}$  型启动子相似, 而 -82 区和 -250 区则只有很弱的同源性<sup>[31]</sup>。Sganga 发现反式调控因子突变 (regA) 明显降低厌氧条件对结构多肽合成的诱导效果, 而对色素合成基因的表达不产生任何有害影响<sup>[33]</sup>。

启动子序列的差异表明细胞中可能存在着 RNA 聚合酶 (RNAPol) 的不同形式。Wiggs 等研究了 *R. rubrum*、*R. capsulatus* 和 *R. sphaeroides* 的 RNAPol<sup>[35]</sup>。1989 年 Kansy 和

Kaplan 首次进行了 PNS 菌启动子体外转录实验, 鉴定出与 *E. coli* 的 RNAPol $\beta$ 、 $\beta'$ 、 $\alpha$  和  $\sigma^{70}$  亚基分子量相近的一些多肽<sup>[36]</sup>。Karis 等使用一系列 *E. coli* 启动子序列对 *R. sphaeroides* 的 RNAPol 全酶的转录性质进行分析。结果表明, 在细胞中存在至少两种形式的全酶 ( $E\sigma^{93}$  和  $E\sigma^{37}$ ), 分别识别 *E. coli* 的  $\sigma^{70}$  型和  $E\sigma^{32}$  型启动子。另一方面, 还发现  $E\sigma^{93}$  可以

识别自身 rRNA 操纵子 (*rrn*) 的启动子, 而 *E. coli* 的  $E\sigma^{70}$  则不能起始该操纵子的转录。这表明, PNS 菌 RNAPol 在启动子特异性方面与 *E. coli* RNAPol 有显著差异, 可能是因为不同种属细菌的“持家” (housekeeping)  $\sigma$  因子具有不同的识别功能, 也可能是由于启动子保守序列的轻微差异而阻止异源 RNAPol 与启动子区形成稳定的转录起始复合物<sup>[37]</sup>。

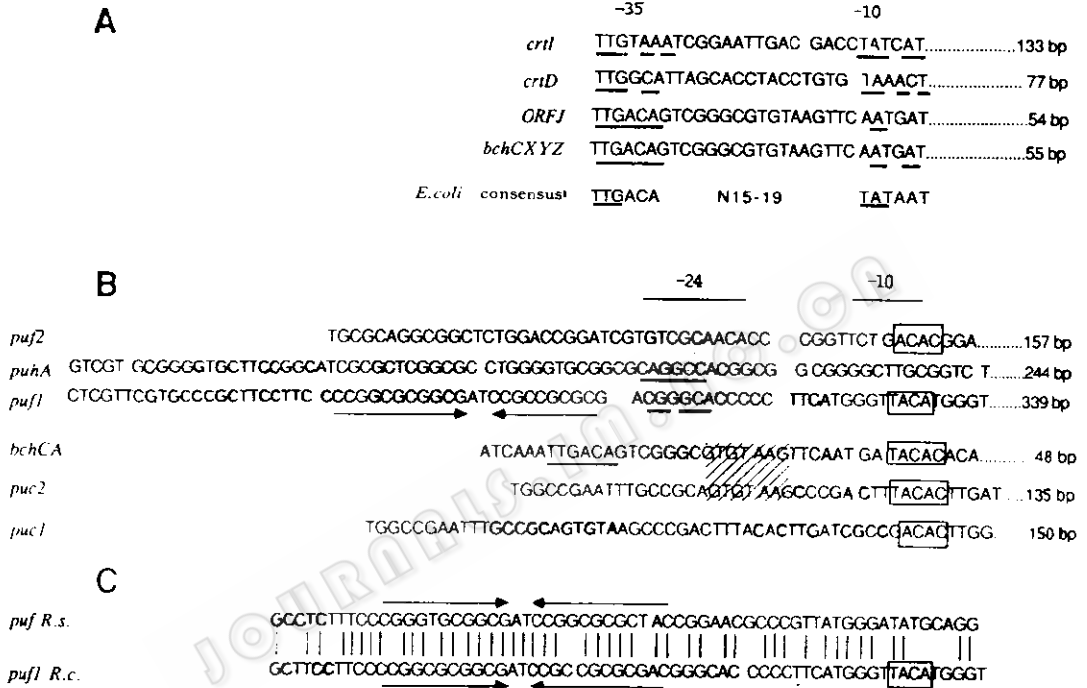


图3 光合基因启动子的结构

A. 色素合成基因启动子与 *E. coli*  $\sigma^{70}$  型启动子的同源性

B. -10 区具有 ACAC 结构的启动子。横线所示为与 *E. coli*  $\sigma^{70}$  型 (-35 区) 或  $\sigma^{54}$  型 (-24 区) 启动子有同源性的序列

C. *R. capsulatus* 与 *R. sphaeroides* 的 *puf* 启动子上游区结构的比较

**2.2 顺式作用因子: *R. capsulatus* 的 bch-CXYZ 启动子回文序列**对于 DNA-蛋白质转录复合物的形成是必要的, 但具体作用还有待了解<sup>[34]</sup>。有趣的是, 在光合基因簇其它一些基因中也找到了类似结构(图 4)。光合基因中这一保守序列的出现可能与色素合成和结构多肽的协调表达有关。

*R. capsulatus* 的 *puf* 操纵子的氧调节启动子上游具有一些回文序列。Narro 等认为, 其中的一个 (-57~-30 区) 是调节蛋白的结合位点, 受光照与氧压的双重调节。 *puf* 操纵子在

高氧压下被阻遏, 而低氧压下的高表达则是去阻遏的结果<sup>[38, 39]</sup>。

Lee 认为, *R. sphaeroides* 的 *puc* 操纵子上游的回文区对 *puc* 转录具负调节效应。用缺失分析与 LacZ 启动子融合方法, 发现了受氧控制的两个转录顺式作用因子: “上游调节区” (URS, -629~-150) 可以增强氧和光照对 *puc* 的调节作用; 而“下游调节区” (DRS, -150~-1) 则含有启动子、操纵子以及 IHF 和 FNR 结合位点, 它负责 *puc* 的氧依赖性表达。URS 与 DRS 之间存在直接作用<sup>[30]</sup>。

TGTAA	N8	TGACA	... 63bp... hcbB
TGTCA	N8	TTACA	... 22bp... bchE
TGTAA	N8	TTACA	... 20bp... crtA
TGTAA	N8	TTACA	51(69)bp... crtE(crtD)
TGTAA	N8	ATACA	... 51bp... bchXYZ
TGTAA	N8	TTACA	.. 143bp... puc
TGTAA	N8	TTACA	<i>R. capsulatus</i> consensus
TGTGT	N6-10	ACACA	prokaryotic consensus

图4 光合基因簇回文序列的保守性

**2.3 反式调节因子:**基于体外结合分析结果, Taremi 和 Marrs 提出了 *puf* 操纵子氧调节模型。低氧压下, 磷酸化的 PPBP (*puf* promoter binding protein, *puf* 启动子结合蛋白) 结合到启动子上游的-57~-30 对称序列右臂, 促进了 *puf* 转录; 高氧压下, PPBP 脱磷酸化, 两分子 PPBP 完全覆盖回文区, 从而阻遏转录的进行<sup>[4]</sup>。Klug 则认为, 当回文区上无任何蛋白结合时, *puf* 转录最为活跃(这通常发生在细胞从高氧压向低氧压环境的转换之后), 而磷酸化 PPBP 的结合也造成转录被部分阻遏<sup>[39]</sup>。

以上模型颇类似于原核生物的所谓“双组分调节系统”, PPBP 充当了“反应调节者”(response regulator) 的角色<sup>[40]</sup>。Sganga 观察到 *R. capsulatus* 光合基因在低氧压下表达时, 有 RegA 蛋白参与<sup>[33]</sup>。Eraso 与 Kaplan 又在 *R. sphaeroides* 2, 4, 1 染色体 I 上发现了调节基因 *prA* (photosynthesis response regulator)。它所编码的蛋白因子 PrrA 对 *puc*、*puf*、*puhA* 和 *cycA* 的转录具有促进作用。PrrA 和 RegA 的 N-端氨基酸顺序与“双组分调节系统”的反应调节者是相似的。它们可能被某种氧敏感的蛋白激酶磷酸化, 并有可能激活其它调节蛋白, 最终使启动子上结合的阻遏物脱落或失活, 从而在转录水平上促进基因表达。因此, RegA 和 PrrA 可能是受氧控制的 ICM 合成的“全局调节子”(global regulator)<sup>[41, 42]</sup>。

1992 年, McGlynn 等首次从 *R. sphaeroides* 中分离到一个光合细菌基因转录调控因子。这是一个分子量 26ku 的蛋白质,

其结合区位于 *pucBA* 操纵子上游 120bp, 覆盖了约 20bp 序列, 中心是一回文区 A4N7T8。目前还不清楚这一因子的作用过程<sup>[25]</sup>。在 *R. sphaeroides* 的 2, 4, 1 中, PrrA 的作用位点包括了 *puc* 操纵子的 DRS 区<sup>[42]</sup>。

### 3 降解速率的影响

光合器官各组分间必须保持一定比例才能进行正确组装<sup>[3]</sup>。mRNA 稳定性的差异在一定程度上影响着光合基因的表达。*R. capsulatus* 2.7kb *pufBALMX* mRNA (编码 LHI 和 RC 多肽) 半衰期只有 5min, 而 0.5kb *pufBA* mRNA (编码 LHI 多肽) 半衰期则为 20min (图 1), 后者的细胞含量是前者的 10 倍以上<sup>[26]</sup>, 这与 ICM 中 LHI 复合物与 RC 复合物的比例大体一致<sup>[3, 6]</sup>。实际上 0.5kb mRNA 是 2.7kb mRNA 的降解产物中最稳定的一种, 它的 5'端存在发夹结构, 保证了自身的稳定性<sup>[43]</sup>。

2.7kbpufBALMX mRNA 降解过程的限速步骤是核酸分子内部切割反应。它首先发生在 *pufL* 和 *pufM* 的 1.4kb mRNA 片段上, 然后向两侧延伸直至 0.5kb mRNA 茎-环结构处。参与这个过程的核酸酶与 *E. coli* RNaseH 非常相似<sup>[44]</sup>。*puf* 和 *puc* 的降解受氧的调节。高氧压与低氧压下 2.7kb mRNA 的半衰期分别是 3min 和 5min。0.5kb mRNA 的情况与之相似。低氧压下 2.7kb *puf* mRNA 的稳定性对于 *puf* 的调节有重要意义<sup>[4, 44]</sup>。

### 4 转录后及翻译水平的调控

在 30% 氧环境中营化能生长的 *R. sphaeroides* 细胞中可以检测到 *puhA*、*pufBALMX* 和 *pucBA* 的转录子, 而且有 *puhA* 产物 RC-H 多肽出现, 但没有发现 RC-L、RC-M、LHI- $\alpha$  或 LHII- $\beta$  多肽<sup>[45]</sup>。光合生长的 *R. sphaeroides* *puf*-和 *puh*-特异性 mRNA 含量是化能异养细胞中的 3~6 倍, 而 *puc* mRNA 的含量则恰恰相反<sup>[3]</sup>。这表明, 细胞中还存在着受生理条件控制的转录后调节系统, 它们改变了 mRNA 水平, 从而影响相应产物的表达。Klug 等认为, 化能异养条件下结

构多肽的缺失,是由于没有配基 Bchl 存在时 Bchl 结合基因产物的不稳定性造成的<sup>[46]</sup>。

在 *R. capsulatus* 的 bchCXYZ 操纵子中, bchY 位于下游的 bchZ mRNA 内, bchZ 的翻译只有在 bchY 翻译后才能开始。当 bchY 翻译提前终止时, bchZ 不能表达。因此, bchY 与 bchZ 是翻译偶联的,很可能由 bchY mRNA 3'端的终止序列负责把核糖体运送到 bchZ mRNA 起始端,从而起始 bchZ mRNA 的翻译<sup>[47]</sup>。Williams 发现, pufL 和 pufM 编码序列也存在交叠现象,从而可能导致二者的翻译偶联,这有助于调节不同多肽表达量的比例<sup>[48]</sup>。总之,相邻基因翻译起始序列附近的 mRNA 二级结构可以影响翻译的起始效率,而茎-环结构中终止密码子与起始密码子的交叠则是翻译偶联系统的常见模式。

## 5 光合作用基因表达的协调控制

最近在 *R. capsulatus* 中发现的超操纵子调控方式,既不同于基因表达的“全局调控方式”(global regulator)也不同于 Lewin 提出的“调控子”(regulon)概念<sup>[49]</sup>。它是一种局部的全局调控方式,对具有相关功能的、簇集于一起的不同操纵子进行精细、简单而有效的协调控制。

在其它生物中只有很少的超操纵子或基因转录交叠现象。人们认为 *Rhizobium meliloti* 中的 fixABC / nifA 的转录交叠<sup>[50]</sup>以及 *E. coli* 中的 frdABCD / ampC 转录交叠<sup>[51]</sup>都有利于提高细胞的生存能力。同样, PNS 菌中色素合成基因-结构多肽基因超操纵子结构的存在,对于光合细菌的适应能力也具有重要的生物学意义。光合结构多肽基因与色素合成基因有着不同的调节途径。结构多肽基因启动子受高氧压的阻遏,而色素合成基因则几乎不受氧的影响<sup>[19-21, 55]</sup>。因此,超操纵子中 bch 与 puf 或 puh 操纵子的交叠便具有明显的选择优势:从 bch 启动子起始的转录通读可以有效地维持 puf 与 puh 在好氧生长时的本底表达,而 crtF 插入子突变或点突变株都不能很好地适应培养条件从好氧生长向光合生长的转换<sup>[20]</sup>。

目前还不清楚 PNS 菌超操纵子结构的发生途径。光合细菌是一类古老的生命,在它的基因组中可能保留了一些进化早期基因结构变化的痕迹。偶然性的基因重排形成了相关操纵子的交叠,而环境变化的选择压力则使这种具有选择优势的基因结构固定并延续下来,成为现代 PNS 菌中的超操纵子。

尽管有许多相似之处,但 *R. capsulatus* 与 *R. sphaeroides* 的氧调节系统仍存在差异。例如, *R. capsulatus* RegA<sup>-</sup>突变体在好氧条件下仍具有足够量的光合反应复合体,而 *R. sphaeroides* PrrA<sup>-</sup>细胞则完全丧失;前者可以在高光强下生长,而后者则不能。Eraso 等认为, *R. sphaeroides* 并不存在 *R. capsulatus* 的超操纵子调控方式,而是通过“双组分调节系统”对 ICM 的合成进行控制<sup>[42]</sup>。这或许可以解释为什么 *R. capsulatus* 在高氧压下仍含有光合反应器官,而 *R. sphaeroides* 却没有<sup>[3]</sup>。

最近, Calero 研究了 *R. sphaeroides* 的 recA 基因,它可以被 DNA 损伤所诱导,但未找到与 *E. coli* 相似的“SOS 盒”(SOS box)。因此, *R. sphaeroides* recA 基因的表达很可能是通过自身调节方式进行的。这是第一次在 G<sup>-</sup>菌中发现如此特殊的 recA 基因<sup>[53]</sup>,进一步说明 PNS 菌在基因表达整体调控机制上与其它原核生物有较大区别。

## 6 结语

PNS 菌光合基因簇结构及其调控机制是近年研究最多、最深入的领域之一。目前对于红细菌属 (*Rhodobacter*) 的荚膜红细菌和浑球红细菌光合作用过程的了解最为透彻,对其它种属 PNS 菌的研究则刚刚起步。对于光合基因调节机制还存在许多非常关键的问题有待解决,例如不同启动子结构的生物学意义、转录调控因子的性质及作用方式、转录后 mRNA 加工过程及翻译水平的调控、细胞在整体上对相关基因进行协调控制的具体方式、生理环境信号尤其是氧分压与光照强度影响光合基因开闭的差异等。随着分子生物学的迅速发展,上述问题将逐步得到阐明,从而可以更好地认识光

合作用这一最为普遍而又充满奥秘的生命过程。

### 参 考 文 献

- [1] Marrs B L. In *The Photosynthetic Bacteria* (edited by R K Clayton W R Sistrom), N. Y: Plenum Press, 1978, 873~885.
- [2] Scolnik P A, Marrs B L. *Ann Rev Microbiol.* 1987, **41**: 703.
- [3] Kiley P J, Kaplan S. *Microbiol Rev*, 1988, **52**: 50.
- [4] Klug G. *Arch Microbiol*, 1993, **159**: 397.
- [5] 吴永强. *植物生理学通讯*, 1989(6): 13.
- [6] Drews G. In: *Variations in Autotrophic Life* (edited by J M. Shively), London: Academic Press, 1991, 51~97.
- [7] Zsebo K M, Hearst J E. *Cell*, 1984, **37**: 937.
- [8] Wu Y Q, MacGregor B J, Donohue T J, *et al.* *Plasmid*, 1991, **25**: 163.
- [9] Coomber S A, Hunter C N. *Arch Microbiol*, 1989, **151**: 454.
- [10] Taylor D P, Cohen S N, Clark W G. *et al.* *J Bacteriol.* 1983, **154**: 580.
- [11] Tichy H V, Albién K U, Gad'on N. *et al.* *EMBO J*, 1991, **10**: 2949.
- [12] LeBlanc H N, Betty J T. *J Gen Microbiol.* 1993, **139**: 101.
- [13] Donohue T J, McEwan A G, Kaplan S. *J Bacteriol*, 1986, **168**: 962.
- [14] Forrest M E, Zucconi A P, Betty J T. *Curr Microbiol*, 1989, **19**: 123.
- [15] Lilburn T G, Betty J T. *FEMS Lett.* 1992, **100**: 155.
- [16] McGlynn P, Hunter C N. *Mol Gen Genet*, 1993, **236**: 227.
- [17] Burke D H, Hearst J E, Sidow A. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993, **90**: 7134.
- [18] Armstrong G A, Alberti M, Leach F. *et al.* *Mol Gen Gene*, 1989, **216**: 254.
- [19] Young D A, Bauer C E, Williams J C, *et al.* *Mol Gen Genet*, 1989, **218**: 1.
- [20] Wellington C L, Taggart A K P, Beatty J T. *J Bacteriol*, 1991, **173**: 2954.
- [21] Adams C W, Forrest M E, Cohen S N. *et al.* *J Bacteriol*, 1989, **171**: 473.
- [22] Bauer C E, Buggy J, Yang Z, *et al.* *Mol Gen Genet*, 1991, **228**: 433.
- [23] Young D A, Rudzik M B, Marrs B L. *FEMS Lett*, 1992, **95**: 213.
- [24] Hunter C N, McGlynn P, Ashby M K, *et al.* 1991, **5**: 2649.
- [25] McGlynn P, Hunter C N. *J Biol Chem.* 1992, **267**: 11098.
- [26] Belasco J G, Beatty J T, Adams C W, *et al.* *Cell.* 1985, **40**: 171.
- [27] Bauer C E, Young D A, Marrs B L. *J Biol Chem*, 1988, **263**: 4820.
- [28] Bélanger G, Bérard J, Corriveau P. *et al.* *J Biol Chem*, 1988, **263**: 7639.
- [29] Zucconi A P, Beatty J T. *J Bacteriol*, 1988, **170**: 877.
- [30] Lee J K, Kaplan S. *J Bacteriol*, 1992, **174**: 1146.
- [31] MacGregor B J, Donohue T J. *J Bacteriol.* 1991, **173**: 3949.
- [32] Wellington C L. *Gene*, 1989, **83**: 251.
- [33] Sganga M W, Bauer C E. *Cell*, 1992, **68**: 945.
- [34] Ma D, Cook D N, O'Brien D A, *et al.* *J Bacteriol.* 1993, **175**: 2037.
- [35] Wiggs J L, Bush J W, Chamberlin M J. *Cell*, 1979, **16**: 97.
- [36] Kansy J W, Kaplan S. *J Biol Chem*, 1989, **264**: 13751.
- [37] Karis R K. *J Bacteriol.* 1993, **175**: 7629.
- [38] Narro M L, Adams C W, Cohen S N. *J Bacteriol.* 1990, **172**: 4549.
- [39] Klug G. *Mol Gen Genet.* 1991, **226**: 167.
- [40] Bourret R B, Borkovich K A, Simon M I. *Ann Rev Biochem.* 1991, **60**: 401.
- [41] Lee J K, Kaplan S. *J Bacteriol*, 1992, **174**: 1158.
- [42] Eraso J M, Kaplan S. *J Bacteriol.* 1994, **176**: 32.
- [43] Chen C Y A, Beatty J T, Cohen S N. *Cell*, 1988, **52**: 609.
- [44] Klug G, Jock S, Rothfuchs R. *Gene*, 1992, **121**: 95.
- [45] Donohue T J, Hoger J H, Kaplan S. *J Bacteriol*, 1986, **168**: 953.
- [46] Klug G, Liebetanz R, Drews G. *Arch Microbiol*, 1986, **146**: 284.
- [47] Burke D H, Alberti M, Hearst J E. *J Bacteriol*, 1993, **175**: 2407.
- [48] Willims J C, Steiner L A, Feher G, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984, **81**: 7303.
- [49] Lewin B. In *Genes*, N. Y: John Wiley, 1983, 247.
- [50] Kim C H, Helinski D R, Ditta G. *Gene*, 1986, **50**: 141.
- [51] Grundström T, Jaurin B. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1982, **79**: 1111.
- [52] Wellington C L, Bauer C E, Beatty J T. *Can J Microbiol*, 1992, **38**: 20.
- [53] Calero S C, Fernandez de Henestrosa A R, Barbo J. *Mol Gen Genet*, 1994, **242**: 116.