

Aneta Domańska^{1*}, Mirosław Godlewski¹

¹Katedra Cytologii i Cytochemii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytet Łódzki, Łódź

Wpłynęło w marcu 2012 r.

1. Wstęp. 2. Szlaki sygnalizacyjne cyklicznych nukleotydów u sinic. 2.1. cAMP w komórkach sinic. 2.2. Synteza cAMP u sinic. 2.3. Hydroliza cAMP u sinic. 2.4. Szlak sygnalizacyjny cGMP u sinic. 3. Biologiczna rola cAMP u sinic. 3.1. Rola szlaku cAMP w reakcji na czynniki środowiskowe i w regulacji wzrostu komórek sinic. 3.2. Regulacja transkrypcji przez szlak sygnalizacyjny cAMP u sinic. 4. Podsumowanie

cAMP signaling pathway in *Cyanobacteria*

Abstract: cAMP signaling pathway is a common functional pathway of signal transduction in *Prokaryota* and in *Eukaryota*. Participation of cAMP signaling pathway in the regulation of metabolic processes in cyanobacteria cells has been demonstrated by the studies showing a distinct response of these organisms to exogenous cAMP in the medium. cAMP was detected in cyanobacteria cells with changes in its level depending on environmental factors. In these organisms the presence of cAMP synthesis and degradation enzymes (AC and PDE, respectively) was demonstrated and genes encoding proteins involved in signal transduction pathway of cAMP were identified. Currently the sequences of 29 complete genomes of different species of cyanobacteria (and their strains) are known in which different genes connected with cAMP pathway have been identified. There include the genes encoding AC and PDE cAMP acceptors (CRP), which are transcription factors activated by this nucleotide and genes encoding proteins playing an important role in different physiological processes whose promoters have the CRP binding sequence. These genes encode proteins involved in photosynthesis, carbon metabolism and nitrogen assimilation as well as transporter and porin proteins, protein kinases and transcription factors etc. Current studies of cAMP signaling pathway in cyanobacteria may indicate that it is not a universal pathway regulating cell functioning in the genomes of some cyanobacteria AC, PDE, CRP genes and genes whose activity is regulated by CRP were not detected. However, there is a possibility that their genomes may contain modified, not yet identified sequences encoding individual elements of the cAMP pathway.

1. Introduction. 2. Cyclic nucleotide signaling pathways in cyanobacteria. 2.1. cAMP in cyanobacteria. 2.2. cAMP synthesis in cyanobacteria. 2.3. cAMP hydrolysis in cyanobacteria. 2.4. cGMP signaling pathway in cyanobacteria. 3. Biological role of cAMP in cyanobacteria. 3.1. Role of cAMP pathway in the reaction to environmental factors and in the regulation of cell growth of cyanobacteria. 3.2. Regulation of transcription in cyanobacteria by cAMP signaling pathway. 4. Summary

Słowa kluczowe: cAMP, cGMP, CRP, *Cyanobacteria*, cyklaza adenylanowa, fosfodiesteraza cAMP

Key words: adenyl cyclase, cAMP, cAMP phosphodiesterase, cGMP, CRP, *Cyanobacteria*

1. Wstęp

Sinice (*Cyanobacteria*) są dużą, zróżnicowaną morfologicznie i ekologicznie grupą Gram-ujemnych autotroficznych *Prokaryota*, u których fotosynteza, podobnie jak u roślin, zachodzi z udziałem chlorofilu *a*, a donorem wodoru jest woda. Część gatunków sinic ma zdolność do wiązania N₂. Sinice skolonizowały zadziwiająco różnorodne siedliska – od przybrzeżnych jezior Antarktyki do gorących, geotermalnych źródeł i od suchych pustyń poprzez wody słodkie do tworzenia zakwitów w morzach. Występują na terenach o różnym nasłonecznieniu, dostępności wody, pokarmu i zasoleniu oraz w warunkach ekstremalnych temperatur i pH. Sinice mogą też tworzyć symbiotyczne asocjacje z organizmami eukariotycznymi, głównie z niższymi i wyższymi roślinami oraz lichenizującymi grzybami.

Zasiedlenie przez sinice tak różnych ekologicznie siedlisk o znaczących zmianach nasilenia oddziaływa-

nia czynników środowiskowych wskazuje na ich zdolności adaptacyjne. Przeżycie organizmu w tak zróżnicowanych środowiskach wymaga, więc przystosowań do odbierania pozakomórkowych sygnałów i sprawnie funkcjonującego mechanizmu transdukcji sygnału w komórkach prowadzącego do modyfikacji przebiegu procesów fizjologicznych. U sinic wykazano funkcjonowanie dwu-składnikowego systemu regulacyjnego [2] i kinaz eukariotyczno-podobnych [105].

Istotną rolę w wewnątrzkomórkowej sieci sygnalizacyjnej odgrywa szlak cyklicznego adenylozynomonofosforanu (cAMP, *adenosine 3',5'-cyclic monophosphate*). Wykazano, że u ssaków, niższych zwierząt, grzybów i roślin uczestniczy on w regulacji aktywności enzymów, funkcjonowania kanałów jonowych, ekspresji genów, a także w reakcjach na stres abiotyczny i biotyczny [7, 76].

Piśmiennictwo zawiera liczne, chociaż nadal fragmentaryczne, dane wskazujące, że cAMP jest ważnym wtórnym przekaźnikiem w regulacji funkcjonowania

* Autor korespondencyjny: Katedra Cytologii i Cytochemii Roślin, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki; 90-237 Łódź, ul. Banacha 12/16; tel. 42-635-44-27; fax 42-635-44-23; e-mail: adomansk@biol.uni.lodz.pl

komórek sinic. Wykazano bowiem wyraźną reakcję tych organizmów na egzogeny cAMP, w komórkach sinic wykryto cAMP, a także obserwowano zmiany jego poziomu zależne od czynników środowiskowych. U sinic wykazano też obecność cyklaz adenylanowych (ACs, *adenylyl cyclases*) oraz fosfodiesteraz cAMP (PDEs, *cAMP phosphodiesterases*), które są, odpowiednio, enzymami syntezy i hydrolizy cAMP. Następnie zidentyfikowano w genomach sinic geny kodujące białka zaangażowane w szlak transdukcji sygnału cAMP. Obecność i rola tych genów zastała potwierdzona w badaniach prowadzonych na mutantach sinic, a także na podstawie komplementacji po transdukcji genów sinic do defektywnych mutantów *E. coli*.

Obecnie znana jest pełna sekwencja genomów 29 gatunków sinic (i ich szczepów). Ich analiza pozwoliła na wykazanie obecności genów poszczególnych składników szlaku sygnalizacyjnego cAMP. Zidentyfikowano geny AC i PDE, akceptorów cAMP (CRP, *cAMP receptor protein*), które są czynnikami transkrypcyjnymi aktywowanymi przez ten nukleotyd oraz geny kodujące białka pełniące ważną rolę w przebiegu różnych procesów fizjologicznych. Promotory tych genów zawierają sekwencje odpowiedzialne za wiązanie CRP.

W tym przeglądzie zreferowano wyniki badań wskazujących na znaczenie szlaku sygnalizacyjnego cAMP u sinic. Przedstawiono obecność różnych form AC i poznane mechanizmy regulacji aktywności tych enzymów, a także obecność i regulację aktywności PDE. Omówiono też problem występowania cGMP (*guanosine 3,5-cyclic monophosphate*) u sinic. Znaczącą część tego opracowania poświęcono wynikom przeszukiwania zsekwencjonowanych genomów sinic, w których wykazano obecność genów zaangażowanych w szlak cAMP i genów, których ekspresja jest regulowana z udziałem tego szlaku.

2. Szlaki sygnalizacyjne cyklicznych nukleotydów u sinic

2.1. cAMP w komórkach sinic

Obecność cAMP i jego zaangażowanie w regulację licznych procesów komórkowych wykazano u *Prokaryota* i u *Eukaryota*. Na wykorzystanie tego cyklicznego nukleotydu, jako wtórnego przekaźnika w komórkach sinic wskazują z jednej strony badania ze stosowaniem egzogenego cAMP, z drugiej zaś jego obecność w komórkach sinic oraz zmiany poziomu cAMP związane z działaniem czynników środowiskowych.

Stwierdzono, że dodanie cAMP do podłoża hodowlanego powodowało m.in. zmiany morfogenetyczne u *Nostoc muscorum* [53], stymulowało ruchliwość, skupianie się i oddychanie u *Spirulina platensis* [67] oraz tworzenie heterocyst u *Anabaena variabilis* [84].

Obecność cAMP wykryto w komórkach licznych gatunków sinic. H o d i w s p. [35] stosując kilka metod identyfikacji cAMP stwierdzili, że u *Anabaena variabilis* poziom tego nukleotydu wynosi 0,27–2,7 pmol mg⁻¹ białka, przy czym na te stosunkowo niskie wartości mogły mieć wpływ fosfodiesterazy (enzymy hydrolizy cAMP) obecne w ekstraktach z komórek tej sinicy. Stosunkowo niskie stężenie stwierdzono też u *Synechocystis* PCC 6803 (11–24 pmol cAMP mg⁻¹ białka) [31]. U innych sinic poziom cAMP był niski lub stosunkowo wysoki, co mogło być gatunkowo-zależne lub związane z warunkami i fazą wzrostu kultur.

Znaczący wpływ na zawartość tego nukleotydu może mieć m.in. dostępność światła, obecność azotu w podłożu, a także dodanie do podłoża hodowlanego NaCl. F r a n c k o i W e t z e l [25] opisali wyraźne różnice zawartości cAMP w komórkach w fazie intensywnego wzrostu i w fazie stacjonarnej kultur *Anabaena flos-aquae*, a także w hodowlach prowadzonych w różnych warunkach oświetlenia. Szybkie i znaczne podwyższenie poziomu cAMP obserwowano po przeniesieniu hodowli *Anabaena cylindrica* ze światła do ciemności, natomiast obniżenie po włączeniu oświetlenia [69]. S a k a m o t o i w s p. [78] stosując technikę radioimmunologiczną porównali zawartość cAMP u *A. cylindrica*, *S. platensis* i *Synechocystis* sp. PCC6803 hodowanych w ciemności i na świetle. W ciemności nitkowate cyjanobakterie *Anabaena cylindrica* i *Spirulina platensis* zawierały wysoki poziom tego nukleotydu (odpowiednio, 179 i 189 pmol mg⁻¹ chlorofilu), a w hodowlach na świetle ulegał on kilkakrotnemu zmniejszeniu (odpowiednio do 48 i 51 pmol mg⁻¹ chlorofilu). Autorzy nie stwierdzili mierzalnej ilości cAMP u jednokomórkowej *Synechocystis* sp. PCC6803, jednak w późniejszych badaniach wykazano obecność cAMP i wpływ światła na jego zawartość także u tego gatunku [91].

Zmiana poziomu cAMP w komórkach sinic może być zależna od długości fali świetlnej zastosowanego oświetlenia. Efekt szybkiego podwyższenia zawartości cAMP w komórkach *A. cylindrica* i *Anabaena* sp. PCC7120 powoduje daleka czerwien (720 nm), natomiast czerwien (630 nm) obniża poziom tego nukleotydu [71, 72]. Autorzy sugerują, że w tej reakcji na światło może uczestniczyć białko fitochromo-podobne. U jednokomórkowej sinicy *Synechocystis* ekspozycja na światło szybko zwiększała zawartość cAMP i ten efekt uzyskano także po oświetleniu światłem niebieskim (450 nm) [70].

Inne przykłady wpływu zmian w środowisku na poziom cAMP w komórkach sinic pochodzą z badań prowadzonych na kulturach hodowanych na pożywce bez azotu lub z dodaniem NaCl. Przeniesienie *A. flos-aquae* do pożywki bez azotu powodowało podwyższenie komórkowego poziomu cAMP [25]. Podobnie, u *A. variabilis* głodzenie azotowe powodowało 3–5-krotne zwiększenie poziomu cAMP [25, 35]. Doda-

nie NaCl do pożywki szybko, przejściowo podwyższało poziom cAMP u *Anabaena* sp. PCC 7120, a także zwiększało ekspresję genów syntezy otoczki heterocyst poprzez szlak cykloza adenylnowa-cAMP [38].

cAMP wykryto w środowisku hodowlanym sinic, co świadczy o wydzielaniu tego nukleotydu do podłoża. Obecność pozakomórkowego cAMP wykazano m.in. w hodowlach *Microcystis aeruginosa*, *A. flos-aquae*, *Synechococcus leopoliensis* [26] i *Spirulina* [66]. Nasilenie tego zjawiska może być bardzo duże. Z oceny poziomu komórkowego i pozakomórkowego cAMP wykonanej dla hodowli *A. variabilis* wynika, że prawie 90% wykrytego nukleotydu stanowił pozakomórkowy cAMP [35]. Sekretację znacznych ilości cAMP stwierdzono też u *A. flos-aquae*, przy czym to wydzielanie było ok. 10-krotnie większe przez komórki w stacjonarnej fazie wzrostu kultury w porównaniu z komórkami w aktywnej fazie wzrostu [25]. *A. cylindrica* i *Spirulina platensis* wydzielają znaczne ilości cAMP w ciemności i na świetle [78]. W badaniach prowadzonych na *S. platensis* intensywniejsze i szybsze wydzielanie stwierdzono w ciemności niż w oświetlanych hodowlach. Po 60 minutach od zmiany warunków oświetlenia (światło/ciemność) w ciemności podłoże hodowlane zawierało ok. 300 pmol mg⁻¹ chlorofilu (4,2 nmol litr⁻¹ pożywki), a na świetle ok. 200 pmol mg⁻¹ chlorofilu (2,8 nmol litr⁻¹ pożywki). Analogicznie u *E. coli* ponad 90% cAMP zsyntetyzowanego przez wewnątrzkomórkową cyklazę adenylnową wykryto w środowisku hodowlanym [29].

Rola wydzielania cAMP do środowiska przez sinice nie jest znana, chociaż na fizjologiczne znaczenie tego zjawiska może wskazywać ilość pozakomórkowego cAMP, która często była wyraźnie większa niż jego zawartość w komórkach. Wiadomo, że u ssaków cAMP jest wydzielany przez komórki różnych tkanek i wykazano, że może być on wykorzystywany, jako pierwotny przekaźnik i jako substrat, który ulega konwersji do adenozyliny będącej innym pierwotnym przekaźnikiem. U ssaków zidentyfikowano receptory błonowe dla tych ligandów [58]. Opisano też wydzielanie i wykorzystanie cAMP, jako cząsteczki sygnałowej podczas tworzenia wielokomórkowych ciał owocujących u jednokomórkowego śluzowca *Dictyostelium discoideum* (*Myxomycetes*) [77]. U bakterii pasożytniczych wydzielanie cAMP może być jednym z mechanizmów oddziaływania na komórki gospodarza [3]. Przypuszcza się, że wydzielanie cAMP przez sinice może mieć nieopisane jeszcze znaczenie w adaptacji do warunków środowiska, może też mieć analogiczny wpływ na fenotyp sinic, jaki obserwowano po dodaniu do pożywki egzogenego cAMP.

2.2. Synteza cAMP u sinic

Cyklaza adenylnowa (AC) odgrywa kluczową rolę w szlaku transdukcji sygnału cAMP, katalizuje bowiem cyklizację ATP do cAMP, podwyższa poziom tego wtór-

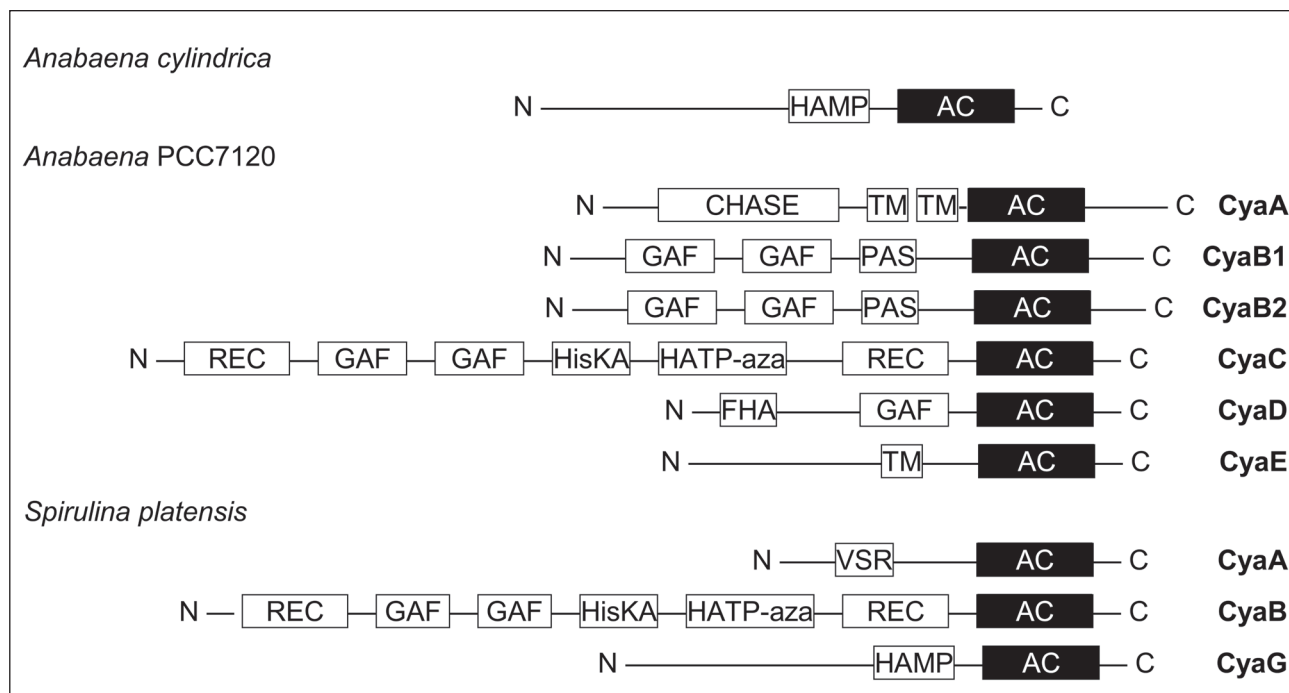
nego przekaźnika i w ten sposób włącza sygnał szlaku cAMP. Obecność AC wykazano zarówno u *Prokaryota* jak i u *Eukaryota*. U ssaków funkcjonuje, co najmniej 10 różnych izoform AC, z których dziewięć jest zlokalizowanych w błonie komórkowej (tmAC; *transmembrane AC*) [75], a jedna funkcjonująca wewnątrz komórek jest tzw. rozpuszczalną AC (sAC; *soluble AC*) [108].

Cyklazy nukleotydów purynowych (AC i GC; cyklaza adenylnowa i cyklaza guanylnowa) tworzą stosunkowo dużą rodzinę białek i ze względu na znaczne różnicowanie ich struktury I-rzędowej, na podstawie podobieństwa sekwencji aminokwasowej zostały one podzielone na sześć filogenetycznie zdefiniowanych klas [4, 5, 23, 24, 83, 89]. Klasę I tworzą AC obecne u *Enterobacteria*, np. u *E. coli*. Mają one wspólną organizację N-terminalnej domeny katalitycznej i wszystkie posiadają C-terminalną, glukoza-wrażliwą domenę regulacyjną. U sinic domenowa struktura AC jest inna a domena katalityczna nie jest homologiczna z AC *E. coli*. Klasa II AC jest obecna tylko u patogennych bakterii produkujących toksyny (np. *Bordetella pertussis*, *Bacillus anthracis* i *Pseudomonas aeruginosa*). Enzymy tej klasy są aktywowane przez kalmodulinę komórek gospodarza. Najbardziej rozpowszechnioną klasą AC jest obecna u wszystkich *Eukaryota* i niektórych bakterii (np. *R. meliloti* i *S. aurantiaca*) klasa III AC. Enzymy tej klasy mają wspólną domenę katalityczną i do niej zaliczane są AC sinic, ponieważ ich domena katalityczna jest homologiczna z tą domeną AC eukariontów. Ta klasa obejmuje też GC ssaków. Klasę IV tworzy AC zidentyfikowana u *Aeromonas hydrophila*, klasa V AC jest obecna tylko u obligatoryjnej anaerobowej bakterii *Prevotella ruminicola*, natomiast klasę VI tworzą AC zidentyfikowane w genomie *Rhizobiaceae*.

AC zidentyfikowano u licznych gatunków *Prokaryota* [5]. Pierwsze dowody obecności AC u sinic pochodzą z badań, w których wykrywano aktywność tego enzymu w ekstraktach z komórek. W ten sposób zidentyfikowano AC m.in. u *Anacystis nidulans* [34], *Anabaena cylindrica* i u *Spirulina platensis* [78]. Stwierdzano też pozytywną korelację między aktywnością AC a poziomem cAMP w komórkach.

Istotny postęp w poznaniu AC sinic nastąpił po zastosowaniu metody identyfikacji genów AC, w której przeniesienie genów sinic do defektywnych mutantów *cya⁻ E. coli* (która ma tylko jeden gen AC) powodowało produkcję cAMP [93]. Pierwsze eksperymenty komplementacji przeprowadzono z DNA *A. cylindrica*, co pozwoliło na identyfikację genu AC uczestniczącego w zmianie poziomu cAMP po przeniesieniu tych sinic ze światła do ciemności. Ten gen koduje białko, które oprócz domeny katalitycznej homologicznej z AC klasy III, ma podwójną domenę transbłonową i wykazuje immunologizację w błonach tylakoidów [47].

U *Spirulina platensis* metodą komplementacji genomowej biblioteki DNA tej sinicy do mutantu *cya⁻ E. coli*



Rys. 1. Domenowa struktura AC sinic określona metodą komplementacyjnego klonowania

Struktura domenowa AC została sporządzona z użyciem SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) i danych z literatury [wg 17 i 70]. AC – domena katalityczna AC; FHA – domena rozwidłonej głowy (*forkhead-associated domain*); GAF – domena obecna w PDE cGMP, cyklicznej adenylanowej i w domenie FhlA (*formate hydrogen lyase transcriptional activator*); HAMP – domena obecna w kinazie histydynowej, cyklicznej adenylanowej, białku wiążącym grupę metylową i w fosfatazach; HATPaza – domena kinazy histydyno-podobnej ATPazy (*ATPase domains of histidine kinase*); HisKA – domena dimeryzacji i fosfoakceptora kinazy histydynowej; PAS – domena obecna w białku PAR (*period circadian protein*), w białku ARNT (*aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*) i białku SIN (*single-minded protein*); REC – domena odbiornika regulacji odpowiedzi (*response regulator receiver domain*); (homologiczna z cheY); VSR – domena podobna do pozakomórkowego regionu VsrA ORF (*open reading frame*) *Pseudomonas solanacearum*; CHASE – przypuszczalna domena wiązania ligandu; TM – domeny transbłonowe AC (u *Anabaena* sp. PCC 7120)

zidentyfikowano sześć fragmentów DNA zawierających geny AC, które wywoływały akumulację cAMP u tego mutantu [99]. Jeden z tych genów (*cyaA*) koduje AC z C-terminalną domeną katalityczną AC, która ma przejście transbłonowe i N-terminalny region pozakomórkowy. Inny gen (*cyaC*) koduje białko z C-terminalną domeną katalityczną AC klasy III, ale w części N-terminalnej posiadające kilka domen, takich jak: dwie domeny odbiornikowe (R1 i R2), dwie domeny podobne do ETR1 u *Arabidopsis* i domenę przekaźnikową kinazy histydynowej [44]. Domena przekaźnikowa CyaC o właściwościach kinazy histydynowej posiada miejsce fosforylacji, jest zdolna do przeniesienia grupy fosforanowej i autofosforylacji reszt asparaginianowych w domenach odbiornikowych (R1 and R2). Trzeci fragment DNA pochodzący ze *Spirulina platensis*, który komplementował u *cya⁻ E. coli*, zawierał gen *cyaG* [43]. CyaG ma także C-terminalną domenę katalityczną AC klasy III, a w regionie N-terminalnym domenę homologiczną z domeną dimeryzacji, a także pojedynczą domenę transbłonową i domenę pozakomórkową.

Badania przeprowadzone metodą komplementacji u *cya⁻ E. coli* pozwoliły na identyfikację w genomie *Anabaena PCC 7120* pięciu genów [43, 46], a szóstą AC tej sinicy została zidentyfikowana podczas przeglądu

genomu *Anabaena* [43, 68]. Te sześć AC *Anabaena PCC 7120* (*cyaA*, *cyaB1*, *cyaB2*, *cyaC*, *cyaD* i *cyaE*) ma różną strukturę domenową cząsteczek (Rys. 1).

Metoda komplementacji w *cya⁻ E. coli* pozwoliła na identyfikację AC u różnych gatunków sinic, ale pełniejsze poznanie różnorodności genów kodujących AC u poszczególnych gatunków umożliwiło przeszukiwanie zsekwencjonowanych genomów tych organizmów. Taką analizę genomu wykonano dla *Anabaena* sp. PCC 7120 [68]. Analizę 21 całkowicie zsekwencjonowanych genomów jednokomórkowych i nitkowatych sinic przeprowadzili Wu i wsp. [96]. Ci badacze wykorzystali IMG database (<http://img.jgi.doe.gov/>) i dla identyfikacji genów AC stosowali kombinację przeszukiwań opartych na systemach BLAST (*BLAST-based*) i HMM (*HMM-based*). Dzięki zastosowaniu tej metody, która wykorzystuje homologię sekwencji zidentyfikowano ogółem 51 cyklaz nukleotydów purynowych.

Badania Wu i wsp. [96] wykazały, że geny poszczególnych gatunków sinic mają różną liczbę genów cyklaz, przy czym u nitkowatych sinic jest ona większa niż u sinic jednokomórkowych. U jednokomórkowych sinic nie przekracza ona trzech, a u nitkowatych wahała się od pięciu u *Anabaena variabilis* ATCC 29413 do trzynastu cyklaz u *Trichodesmium erythraeum* IMS101

Tabela I

Cyklazy nukleotydów purynowych zidentyfikowane w genomach sinic nitkowatych i jednokomórkowych [wg 96]

Gatunek	Liczba cyklaz / ORF	Locus tag
Sinice nitkowane <i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	13/5076	<i>Tery_0400, Tery_0647, Tery_0661, Tery_0662, Tery_1986, Tery_2417, Tery_2729, Tery_2857, Tery_3155, Tery_3412, Tery_3993, Tery_3999, Tery_4585</i>
<i>Nostoc punctiforme</i> PCC73102	8/7364	<i>NpR0352, NpR0896, NpR1313, NpR1485, NpF2925, NpR3592, NpR4632, NpF5680</i>
<i>Anabaena</i> PCC 7120	6/6132	<i>all0661(CyaE), all0743(CyaD), all1118(CyaA), all1904(CyaB2), alr2266(CyaB1), all4963(CyaC)</i>
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	5/5746	<i>Ava0091, Ava2239, Ava3735, Ava4645, va4698</i>
Sinice jednokomórkowe <i>Crocospaera watsonii</i> WH8501	3/5077	<i>cwat1781, cwat2344, cwat2721</i>
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	3/3564	<i>sll1161(Cya3), sll0646(Cya2), slr1991(Cya1)</i>
<i>Gloeobacter violaceus</i> PCC 7421	1/4430	<i>gll0479</i>
<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 6301	2/2525	<i>syc0865_c, syc1902_d</i>
<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942	2/2613	<i>Syn2195, Syn0663</i>
<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	2/2475	<i>tll2280, tll2410</i>
<i>Synechococcus</i> sp. JA-3-3Ab	1/2760	<i>CYA_2405</i>
<i>Synechococcus</i> sp. JA-2-3Ba	1/2862	<i>CYB_2200</i>
<i>Synechococcus</i> sp. CC9605	1/2702	<i>Syn_cc2515</i>
<i>Synechococcus</i> sp. CC9311	1/2892	<i>sync_2745</i>
<i>Prochlorococcus marinus</i> MIT 9313	2/2275	<i>PMT2146, PMT2152</i>

Ogólna liczba ORF (open reading frame) uzyskana z IMG database.

Nie zidentyfikowano cyklaz nukleotydów purynowych u: *Synechococcus* sp. CC9902, *Synechococcus* sp. WH 8102, *Prochlorococcus marinus* CCMP1986, *Prochlorococcus marinus* MIT 9312, *Prochlorococcus marinus* NATL2A i *Prochlorococcus marinus* CCMP1375

(Tabela I). Typowych cyklaz nie wykryto w genomach dziesięciu szczepów (z 12 badanych) morskiej sinicy *Prochlorococcus* i czterech szczepów (z 8 badanych) *Synechococcus*. Autorzy sugerują, że genomy tych sinic mogą zawierać cyklazy, które nie są wykrywalne na podstawie zastosowanej przez nich metodyki.

Większa liczba genów AC w genomach nitkowatych w porównaniu z sinicami jednokomórkowymi może być związana ze znacznie większymi rozmiarami ich genomów [51]. Podobna sytuacja dotyczy też kinaz serynowo/treoninowych sinic [105], czynników transkrypcyjnych [97] i genów restrykcyjno-modyfikacyjnych [106]. Takie zwiększenie liczby cyklaz u nitkowatych sinic może być też związane z zaangażowaniem różnych cyklaz w bardziej złożoną biologię tych organizmów (np. tworzenie heterocyst, oddychanie lub ruch ślizgowy) [16].

Z badań prowadzonych na różnych organizmach wynika, że białka uczestniczące w komórkowej transdukcji sygnałów często mają strukturę domenową [2, 105]. Taką domenową strukturę białek AC wykazano też u większości sinic (Rys. 1). Wszystkie AC u sinic mają dobrze zachowaną cyklazową domenę katalityczną w pobliżu C-końca i mogą mieć różne domeny regulacyjne zlokalizowane powyżej tej domeny (Rys. 1).

Badania genomów sinic [96] wykazały, że wśród 51 zidentyfikowanych genów AC 5 kodowało białka zawierające tylko domenę katalityczną, a pozostałe białka AC mają ogółem 13 typów dodatkowych domen, które tworzą 14 różnych wzorów. Te dodatkowe domeny dzięki wiązaniu różnych ligandów mogą regulować aktywność katalityczną AC. Wu i wsp. [96] przeprowadzili szczegółową charakterystykę domenowej struktury cyklaz zidentyfikowanych w poszczególnych genomach sinic, porównali ich strukturę z cyklazami opisanymi u innych organizmów oraz zaproponowali drzewo filogenetyczne cyklaz sinic.

Allosteryczna regulacja aktywności AC. Analiza 21 genomów sinic wykazała obecność ogółem 51 różnych AC [96], ale piśmiennictwo zawiera tylko fragmentaryczne dane opisujące mechanizm regulacji ich aktywności. U *Anabaena* PCC7120 cyklazy CyaB1 i CyaB2, oprócz domeny katalitycznej, mają domenę PAS i w N-końcowej części cząsteczki tandem domen GAF (Rys. 1). Domeny GAF tych cyklaz wiążą (odpowiednio, jedną lub dwie) cząsteczki cAMP i uczestniczą w allosterycznej ich aktywacji [12, 18, 41, 59]. Domena GAF jest, więc wykorzystywana w autoregulacji syntezy cAMP. Aktywację tych AC przez wiązanie cAMP może zakłócić wysokie stężenie jonów Na⁺ [18]. Jony Na⁺

specyficznie hamują aktywność obu cyklaz, ponieważ wiążą się z domeną GAF, zmieniają konformację tandemu tych domen i osłabiają pozytywną autoregulację przez niskie stężenia cAMP ($< 1 \mu\text{M}$). Wykazano, że u tej sinicy wysokie stężenie Na^+ (4 mM) działa negatywnie na autoregulację CyaB1 i CyaB2 przez cAMP, natomiast obniżenie stężenia Na^+ (0,2 mM) uwalnia Na^+ z GAF i przywraca tę autoregulację [18].

Białko cyklazy adenylanowej CyaC u *Spirulina platensis* ma unikalną strukturę pierwszorzędową, zawiera bowiem, oprócz domeny katalitycznej AC, domeny bakteryjnego dwu-składnikowego systemu regulacyjnego: jedną domenę przekaźnika i dwie domeny odbiornika [44, 46]. Domena przekaźnika ma aktywność kinazy histydynowej zdolnej do przeniesienia grupy fosforanowej i autofosforylowania reszt asparaginianowych domeny odbiornika. Autofosforylacja aktywuje tę cyklazę adenylanową.

Regulacja aktywności AC przez światło. Światło jest istotnym czynnikiem środowiskowym w biologii sinic, podobnie jak u innych organizmów fotoautotroficznych. Sinice dzięki zdolności do ruchu mogą adaptować się do warunków świetlnych i w tej reakcji może pośredniczyć cAMP. Na taką możliwość wskazują badania, w których stwierdzono zmianę poziomu cAMP spowodowaną natężeniem i barwą światła. Wykazano, że zmiany poziomu cAMP w komórkach mogą być związane z wpływem światła na aktywność AC (lub aktywność PDE).

U *Spirulina platensis* i *Anabaena cylindrica* wyższą zawartość cAMP stwierdzono w ciemności niż na świetle [78]. U *A. cylindrica* znaczne podwyższenie poziomu tego nukleotydu obserwowano już po 1 min po przeniesieniu hodowli ze światła do ciemności [69]. W badaniach prowadzonych na tej sinicy wykazano, że przeniesienie hodowli z ciemności do światła o długości fali bliskiej UV (340 nm), światła niebieskiego (450 nm) i światła czerwonego (630 nm) powoduje szybkie obniżenie koncentracji cAMP w komórkach [71], natomiast daleka czerwień (730 nm) powodowała szybkie (1 min) zwiększenie poziomu cAMP. Obniżenia poziomu cAMP po przeniesieniu z ciemności do światła (białego) nie stwierdzono u mutantu *Anabaena* PCC 7120 z defektywnym genem *cyaC* [46], co wskazuje na zaangażowanie tej cyklazy w reakcję na światło.

Światło niebieskie (450 nm) podwyższa poziom cAMP u *Synechocystis* 6803 i stymuluje ruchliwość komórek tej sinicy [91]. Wykazano, że światło niebieskie wpływa na aktywność Cya1 u *Synechocystis* sp. PCC 6803 [91], jednak oczyszczone białko tej cyklazy nie reaguje na światło, nie zawiera, więc chromoforu. Ta obserwacja sugeruje, że kontrola aktywności tej AC może zachodzić z udziałem fototropiny i kryptochromu, które mogłyby reagować na światło niebieskie i oddziaływać z N-terminalnymi domenami Cya1 [61]. W genomie *Synechocystis* 6803 zidentyfikowano dwa geny (*slr0854* i *sll1629*)

kodujące białko o sekwencji aminokwasowej podobnej do fotolizy, jednak mutacje tych genów nie wpływały na reakcję na światło niebieskie. Dotychczas nie udało się zidentyfikować receptora światła niebieskiego u sinic [70].

Światło niebieskie (450 nm) zwiększa poziom cAMP u *Synechocystis* 6803, natomiast działania takiego nie stwierdzono u *Anabaena cylindrica* [71, 91]. Sugeruje to różnice w percepcji światła u tych dwóch gatunków sinic. U *Anabaena* sp. PCC7120 światło czerwone obniża, natomiast daleka czerwień podwyższa poziom cAMP, co sugeruje kontrolę aktywności AC przez światło i że fitochrom jest zaangażowany w regulację aktywności AC [72]. U tej sinicy zidentyfikowano fitochromo-podobne białko AphC, które odbiera sygnał dalekiej czerwieni, przenosi go na N-terminalną domenę odbiornikową cyklazy adenylanowej CyaC i powoduje stymulację jej aktywności [72]. Z tej obserwacji wynika, że u *Anabaena* daleka czerwień aktywuje, natomiast światło czerwone inaktywuje AC, a więc to fitochromo-podobne białko funkcjonuje inaczej niż fitochrom u roślin wyższych, u których aktywująco działa światło czerwone, a daleka czerwień inaktywuje fitochrom.

Analiza genomu *Synechocystis* sp. PCC 6803 wykazała obecność genu kodującego białko fitochromo-podobne, które na oświetlenie światłem czerwonym i daleką czerwień reaguje podobnie jak białko AphC u *Anabaena* [2, 100]. Wykryte u *Synechocystis* sp. PCC 6803 białko Cph1 ma domenę kinazy histydynowej [100] i reakcja fosfotransferu z Cph1 do Rcp1 (regulatora reakcji fitochromu sinicy) zachodzi, kiedy Cph1 absorbowało daleką czerwień, natomiast światło czerwone hamowało tę reakcję [100].

Uzyskano też dane wskazujące, że adaptacja chromatyczna u nitkowatej sinicy *Fremyella diplosiphon* jest regulowana przez fitochromo-podobny receptor (RcaE) [49].

Regulacja aktywności AC przez CO_2 . W komórkach ssaków, oprócz tmAC [75] regulowanej przez heterotrimerowe białka G, funkcjonuje sAC aktywowana przez HCO_3^- i Ca^{2+} [22, 39, 108]. W biologii sinic jony HCO_3^- mają podstawowe znaczenie, ponieważ ten nieorganiczny węgiel jest akumulowany w komórkach i transportowany do karboksosomów. Jony HCO_3^- mogą indukować lub hamować aktywność niektórych AC u sinic.

Pierwszą AC u sinic, u której stwierdzono aktywację przez HCO_3^- była CyaC u *Spirulina platensis* [22]. Wykazano też, że CyaB1 u *Anabaena* sp. PCC7120 jest specyficznie stymulowana przez jony HCO_3^- [17], a mutacja punktowa (Lys-646) kodującego ją genu prawie całkowicie redukuje tę aktywację. Przez HCO_3^- jest też aktywowana cyklaza adenylanowa CyaB u *Stigmatella aurantiaca* [17]. W przypadku Cya1 u *Synechocystis* sp. PCC 6803 stwierdzono hamowanie aktywności przez HCO_3^- [60]. Badania Hammer i wsp. [28] wykazały, że cyklaza adenylanowa Slr1991 (Cya1) u *Synecho-*

cystis PCC 6803 i cyklaza adenylanowa CyaB1 u *Anabaena* PCC 7120 są aktywowane raczej przez CO₂ a nie przez jony HCO₃⁻.

2.3. Hydroliza cAMP u sinic

Poziom cAMP u sinic, podobnie jak i u innych organizmów, zależy z jednej strony od aktywności cyklazy adenylanowej, z drugiej zaś od aktywności fosfodiesterazy cAMP (PDE; EC 3.1.4.17), która hydrolizuje ten cykliczny nukleotyd do 5'-AMP. W ten sposób AC włącza, a PDE wyłącza sygnał cAMP w komórkach.

U *Eukaryota* PDE są dużą zróżnicowaną grupą enzymów, którą podzielono na dwie klasy (I i II) [6], natomiast o PDE *Prokaryota* wiadomo niewiele. PDE wykryte u *E. coli* (CpdA) i u *Haemophilus influenzae* zostały zakwalifikowane do dodatkowej klasy III, natomiast PDE *Vibrio fisheri* (CpdP) do eukariotycznej klasy II.

Już w 1974 roku aktywność PDE cAMP (PDE hydrolizujące cAMP) wykryto w ekstraktach z komórek *Anacystis nidulans* i *A. cylindrica* [1], a następnie jej wysoką aktywność stwierdzono u *A. variabilis* hodowanej na podłożu pozbawionym azotu [74]. Zależną od poziomu ogólnego cAMP w komórkach aktywność PDE cAMP wykazano też u *A. cylindrica* i *Spirulina platensis*, a jej niska aktywność u *Synechocystis* sp. PCC6803 była skorelowana z niskim poziomem cAMP u tej sinicy [78].

PDE obniża poziom cAMP w komórkach. Hamowanie jej aktywności może zwiększać zawartość tego nukleotydu i w ten sposób wpływać na procesy komórkowe regulowane przez szlak cAMP. U *Spirulina platensis* efekt fenotypowy (ruch i skupianie się nici) obserwowano po dodaniu do podłoża cAMP lub IBMX (3-izomaślan-1-metyloksantyna), która jest inhibitorem PDE u *Eukaryota* [67]. Obie substancje podobnie (choć cAMP nieco silniej) podwyższyły poziom cAMP w komórkach i stymulowały ruchliwość tej sinicy. Hamowanie aktywności PDE sinicy przez ten inhibitor sugeruje, że przynajmniej ta PDE może być podobna do PDE *Eukaryota*.

Fujisawa i Ohmori [27] określili biochemiczne właściwości PDE u *Anabaena* sp. PCC 7120. Zidentyfikowali oni gen (*alr5338*), który jest homologiem genu PDE *E. coli* i który nazwali *cpdA*. Obecności takiego homologa nie stwierdzono u *Synechocystis* sp. PCC6803, autorzy sądzą więc, że ta sinica ma inny typ PDE. PDE *Anabaena* jest białkiem 266-aminokwasowym podobnym (identyczność 33,5–35,3%) do PDE *Thermosynechococcus elongates*, *Haemophilus influenzae* i *E. coli* [27]. Wyizolowane białko PDE z *Anabaena* (35 kDa) wykazuje maksymalną aktywność *in vitro* przy 1 mM stężeniu cAMP, natomiast w komórkach PDE może być aktywna przy stężeniu 45 μM cAMP podobnie jak u *E. coli*. Aktywność PDE *Anabaena* sp. PCC 7120 jest stymulowana przez kationy Fe²⁺ i Mn²⁺. Określenie preferencji substratowej wskazuje, że PDE *Anabaena* sp. PCC 7120 hydrolizuje zarówno cAMP jak i cGMP.

2.4. Szlak sygnalizacyjny cGMP u sinic

Szlak sygnalizacyjny cGMP (*guanosine 3,5-cyclic monophosphate*) i jego rola u sinic była mniej intensywnie badana niż szlak cAMP, tym niemniej obecność tego cyklicznego nukleotydu oraz enzymów jego syntezy i degradacji wykazano u co najmniej kilku gatunków tych organizmów.

cGMP (analogicznie jak cAMP) jest wtórnym przekaznikiem w transdukcji sygnału w komórkach niższych i wyższych roślin i zwierząt. Jest on syntetyzowany przez cyklazy guanylanowe (GC, *guanylyl cyclase*; EC 4.6.1.2), a hydrolizowany przez fosfodiesterazy cGMP (PDE, *phosphodiesterases cGMP*). cGMP uczestniczy w regulacji procesów komórkowych, rozwojowych i pośredniczy w adaptacyjnych reakcjach komórek *Eukaryota*, m.in. poprzez wpływ na funkcjonowanie kanałów jonowych i przez aktywację cGMP-zależnej serynowo-treoninowej kinazy proteinowej [48, 56].

Badania zawartości cGMP wykazały, że komórki *Synechocystis* PCC 6803 zawierają 3,5–6,0 pmol mg⁻¹ białka tego nukleotydu, a jego poziom zwiększał się do ok. 9,5 pmol mg⁻¹ białka podczas hodowli w mikstotroficznym warunkach i do 20 pmol mg⁻¹ białka po przeniesieniu do pożywki bez azotu [31]. W badaniach prowadzonych na innych sinicach poziom cGMP był następujący: *Synechocystis* PCC 6308 zawierała 17–35 pmol mg⁻¹ białka, *Plectonema* PCC 73110 – 4 pmol mg⁻¹ białka, a *Nostoc* PCC 8009 – 1–3,5 pmol mg⁻¹ białka [31].

cGMP jest syntetyzowany przez cyklazy guanylanowe (GC). Molekularna charakterystyka tych enzymów pozwoliła na wyróżnienie u *Eukaryota* trzech typów GC (94):

- 1) zidentyfikowaną u wyższych *Eukaryota* formę rozpuszczalną, będącą heterodimerem podjednostek α i β, która jest zaangażowana w reakcje komórek na NO,
- 2) zidentyfikowane u *Eukaryota* izoformy, które mają pozakomórkową domenę wiązania ligandu, pojedynczą domenę transbłonową i wewnątrzkomórkową domenę homologiczną z kinazą oraz cyklazową domenę katalityczną, oraz
- 3) liczne zidentyfikowane u niektórych niższych *Eukaryota* formy GC z domeną transbłonową.

Cyklazy GC mogą być zaliczone do klasy III cyklaz adenylanowych, ponieważ ich katalityczna cyklazowa domena jest podobna do katalitycznych domen cyklazowych tej klasy AC [5].

U sinic cyklazę GC-podobną początkowo wykryto tylko u *Synechocystis* PCC 6803, jako jedyną GC u *Prokaryota*, później w jej genomie zidentyfikowano gen *sl0646*, który prawdopodobnie koduje GC i którego mutacja znacznie zmniejszyła akumulację cGMP w komórkach [65]. Analiza 21 zsekwencjonowanych genomów sinic pozwoliła na identyfikację innych prawdopodobnych genów GC [96]. W tych badaniach

uwzględniono znaczne zróżnicowanie struktury pierwszorzędowej domeny katalitycznej cyklaz nukleotydów purynowych, które jednak zawierają konserwatywne trzy grupy reszt aminokwasowych warunkujących ich katalityczne właściwości [4, 81]. Badania wzoru substytucji tych ważnych reszt wykazały, że 42 cyklazy zidentyfikowane w genomach sinic zawierały wszystkie reszty charakterystyczne dla AC, natomiast nie zawierała ich cyklaza *sll1161* u *Synechocystis* sp. PCC 6803 i cyklaza *cwat1781* u *Crocospaera watsonii* WH8501. Z wcześniejszych badań wiadomo, że AC i GC odróżniają pary reszt: GC zawiera pary Glu-Gly lub Glu-Thr, zaś AC pary Lys-Asp lub Lys-Thr [4, 82, 85]. Analiza genomów sinic przeprowadzona przez Wu i wsp. [96] wykazała, że, oprócz GC (*sll0646*) zidentyfikowanej u *Synechocystis* sp. PCC 6803 [64] zawierają one sześć innych genów prawdopodobnych cyklaz guanylanowych, a mianowicie: u *Anabaena* PCC7120 (*all1118*), *Anabaena variabilis* ATCC29413 (*Ava4698*), *Nostoc punctiforme* PCC73102 (*NpR1313* i *NpR0352*) oraz u *Trichodesmium erythraeum* IMS101 (*Tery3412* i *Tery4585*). Te cyklazy mają region transbłonowy, są więc prawdopodobnie cyklazami związanymi z błoną.

Obecność fosfodiesterazy cGMP badano tylko u niewielkich gatunków sinic. Analiza *null* mutantów *Synechocystis* PCC 6803 pozwoliła na identyfikację dwóch genów (*sll1624* i *slr2100*), z których gen *slr2100* może kodować fosfodiesterazę cGMP [14]. W badaniach prowadzonych na *Anabaena* sp. 7120 zidentyfikowano PDE (*cpdA*), która hydrolizuje zarówno cAMP jak i cGMP [27]. Obecności homologa tej PDE nie stwierdzono u *Synechocystis* sp. PCC6803 i autorzy sądzą, że ta cyjanobakteria ma inny typ PDE.

Chociaż cGMP wykryto w komórkach sinic, nie została określona funkcja tego nukleotydu. cGMP dodany do pożywki nie powodował efektów fenotypowych [16]. Działanie specyficzne dla tego nukleotydu obserwowano w badaniach *null* mutantów *Synechocystis* PCC 6803, w których zidentyfikowano gen *slr2100*, który prawdopodobnie koduje PDE cGMP. Stwierdzono też, że ten gen jest potrzebny w adaptacji komórek podczas stresu UV-B [14]. Wskazuje to na ważną rolę szlaku sygnalizacyjnego cGMP w procesie fotoaklimatyzacji podczas stresu UV-B.

3. Biologiczna rola cAMP u sinic

3.1. Rola szlaku cAMP w reakcjach na czynniki środowiskowe i w regulacji wzrostu komórek sinic

Sinice zasiedlają różne środowiska wodne i lądowe o znacznych zmianach nasilenia oddziaływania czynników środowiskowych. Przeżycie organizmu w tych środowiskach wymaga zdolności do odbierania poza-

komórkowych sygnałów, ich transdukcji w komórkach i modyfikacji procesów fizjologicznych. Istotną rolę w wewnątrzkomórkowej sieci sygnalizacyjnej, która uczestniczy w regulacji procesów komórkowych w odpowiedzi na sygnały pozakomórkowe u ssaków, niższych zwierząt, grzybów i roślin, pełni szlak sygnalizacyjny cAMP. Wykazano, że ten szlak może regulować aktywność enzymów, funkcjonowanie kanałów jonowych, ekspresję genów, uczestniczy, więc w regulacji licznych procesów fizjologicznych, w tym proliferacji komórek i w reakcji na stres abiotyczny i biotyczny [7, 48, 76].

cAMP uczestniczy w regulacji funkcjonowania komórek sinic, w ich adaptacji do warunków środowiskowych, o czym świadczą znaczne zmiany poziomu tego cyklicznego nukleotydu w komórkach indukowane czynnikami środowiskowymi. Obserwowano je m.in. w reakcjach na zmiany: światło-ciemność, niskie-wysokie pH, warunki tlenowe-beztlenowe, głodzenie-dostępność pokarmu [70, 71]. Uzyskano dane wskazujące, że cAMP pośredniczy w regulacji m.in. wzoru tworzenia heterocyst, intensywności oddychania, ruchu i reakcji na światło, pH [17] i odwodnienia/uwodnienia komórek [32].

Ruch w reakcji na światło. Podobnie jak u innych organizmów autotroficznych, światło ogrywa istotną rolę w biologii sinic. Sinice po odebraniu sygnału świetlnego na drodze fototaksji mogą adaptować się do warunków oświetlenia. Liczne gatunki sinic poruszają się ruchem ślizgowym (*gliding*), drganiem (*twithing*) lub pływaniem (*swimming*) [70]. Sinice nie tworzą wici jak np. *E. coli*, natomiast używają wytworów powierzchniowych typu pili. Ruchem szybowcowym poruszają się nitkowate sinice, np. *Spirulina* i *Oscillatoria*, morska jednokomórkowa *Synechococcus* sp. WH8102 porusza się przez pływanie (w czym wykorzystywane jest powierzchniowe białko SwmA), a *Synechocystis* 6803 wykonuje ruchy drgania (do czego u jest potrzebna PilA1, która jest strukturalnym składnikiem pili typu IV oraz ATPaza PilT).

Szlak sygnalizacyjny cAMP uczestniczy w regulacji ruchu sinic. Egzogenny cAMP stymuluje ruchliwość *Synechocystis* 6803 [90] i ruch szybowania u *Spirulina platensis* [67]. O zaangażowaniu szlaku cAMP w regulacji ruchliwości sinic świadczą badania prowadzone na mutantach *Synechocystis* 6803. Mutanty *cya1* tej sinicy, które mają 5-krotnie niższy poziom cAMP od szczepu dzikiego, nie mają zdolności do poruszania się, a dodanie cAMP do pożywki przywraca tę zdolność [90]. Unieruchomienie komórek tej sinicy następowało też po mutacji genu *syrcp1* kodującego białko receptora cAMP [104]. Badania ultrastruktury wykazały, że ten mutant ma zredukowaną liczbę grubych pili.

Obserwacje prowadzone na *Synechocystis* 6803 wykazały, że ruchliwość sinic może zależeć od barwy światła. Na płytkach agarowych przy oświetleniu światłem czerwonym poruszało się tylko 24% komórek, natomiast

przy oświetleniu światłem niebieskim ruchy wykonywało 63% komórek [91]. Reakcja na światło niebieskie była związana z szybkim podwyższeniem poziomu cAMP, a mutanty *cya1* prawie nie reagowały na światło. Te wyniki dostarczają mocnego dowodu, że system transdukcji sygnału światła niebieskiego-cAMP reguluje ruchliwość tej sinicy, że w tę reakcję jest zaangażowana Cya1, a także, że ta cyklaza może uczestniczyć w regulacji fototaksji u sinic.

Głodzenie azotowe a cAMP. U sinic poziom cAMP zazwyczaj ulega zwiększeniu w reakcji na głodzenie azotowe [35]. W doświadczeniach prowadzonych na typie dzikim i mutantach *cya⁻* *Anabaena* 7120 wykazano, że taka reakcja zachodzi u typu dzikiego i mutantów z wyjątkiem mutantu *cyaC⁻*, u którego zmiana poziomu tego nukleotydu była znacznie mniejsza [45]. U transformantów tej sinicy (wprowadzono gen AC *Anabaena cylindrica* i bakteryjny promotor tac), u których poziom cAMP uległ znacznemu zwiększeniu (170 razy) nie obserwowano wpływu dostępności azotu na zawartość tego nukleotydu [45]. Badania prowadzone na *Anabaena variabilis* wykazały, że podwyższenie poziomu cAMP podczas głodzenia azotowego może być związane z obniżeniem aktywności fosfodiesterazy cAMP [74].

Symbioza sinic z roślinami. Sinice mogą tworzyć symbiotyczne asocjacje z różnymi *Eukaryota* (roślinami, grzybami, gąbkami i pierwotniakami). Symbiontami są zazwyczaj nitkowate sinice z rodzaju *Nostoc* zdolne do wiązania N₂. O zaangażowaniu szlaku cAMP w tworzeniu symbiozy sinicy z rośliną świadczą badania tego procesu u *Nostoc punctiforme*, która wchodzi w symbiozę z *Blasia pusilla*. Mutacja genu cyklazy adenylanowej (*CyaC*) sinicy w domenie katalitycznej zwiększa symbiotyczną kompetencję, natomiast uszkodzenie części N-terminalnej zmniejszało infekcyjność [21].

Stres solny. U sinic szlak cAMP może uczestniczyć w reakcji na stres solny poprzez wpływ NaCl na aktywność cyklaz adenylanowych, co wykazano w badaniach prowadzonych na *Anabaena* PCC 7120. U tej sinicy aktywność *CyaB1* i *CyaB2* jest allosterycznie regulowana przez wiązanie cAMP (odpowiednio, jedną lub dwie cząsteczki) z domenami GAF. Te domeny na zasadzie pozytywnego sprzężenia zwrotnego uczestniczą w regulacji aktywności tych enzymów w reakcji na CO₂ [12, 28, 59]. Jony Na⁺ specyficznie hamują aktywność obu cyklaz ponieważ wiążą się z domeną GAF, zmieniają konformację tandemu tych domen i osłabiają pozytywną autoregulację przez niskie stężenia cAMP (< 1 μM) [18]. Doświadczalnie wykazano, że wysokie stężenie Na⁺ (4 mM) specyficznie hamuje autoregulację *CyaB1* i *CyaB2* przez cAMP, natomiast obniżenie stężenia tych jonów (0,2 mM) uwalnia Na⁺ z GAF i przywraca autoregulację syntezy cAMP.

Wzrost komórek sinic a cAMP. O wpływie szlaku cAMP na wzrost komórek sinic wiadomo niewiele.

Pomiary rozmiarów komórek formy dzikiej i mutantów *cya⁻* *Anabaena* 7120 wykazały, że komórki mutantów *cyaB2⁻* i *cyaB⁻* były nieco mniejsze, natomiast komórki mutantów *CyaD⁻* były większe niż u typu dzikiego, poza tym komórki mutantu *CyaD⁻* po trzech tygodniach hodowli stawały się żółte [45]. Po wielokrotnym podwyższeniu zawartości cAMP u tej sinicy, uzyskanym dzięki wprowadzeniu do *Anabaena* 7120 genu AC z *Anabaena cylindrica*, stwierdzono fragmentację nici i hamowanie wzrostu w warunkach wiązania N₂ [45].

Przytoczone przykłady przemawiają za zaangażowaniem cAMP w procesy fizjologiczne i morfogenetyczne u sinic. Dalszych dowodów dostarczyły badania roli tego wtórnego przekaźnika w regulacji ekspresji genów. Analiza zsekwencjonowanych genomów sinic wykazała, że liczne geny zawierają w promotorach sekwencję wiążącą CRP, który jest czynnikiem transkrypcyjnym aktywowanym przez wiązanie cAMP [98]. Sekwencje takie mają geny związane z fotosyntezą, asymilacją azotu, geny przenośników i poryn, geny kinaz i dwuskładnikowego systemu transdukcji sygnału oraz geny o nieznanym jeszcze funkcji [98].

3.2. Regulacja transkrypcji u sinic przez szlak cAMP

Analiza zsekwencjonowanych genomów sinic umożliwiła identyfikację składników szlaku sygnalizacyjnego cAMP. Zidentyfikowano m.in. geny AC, PDE, oraz geny CRP i geny, których transkrypcja jest regulowana przez CRP.

Zaangażowanie szlaku sygnalizacyjnego cAMP w regulację ekspresji genów opisano u *Prokaryota* i u *Eukaryota*. U *Eukaryota* podwyższenie poziomu cAMP w komórkach aktywuje kinazę cAMP-zależną (PKA, *cAMP-dependent protein kinase*), która fosforyluje m.in. czynniki transkrypcyjne z rodziny CREB (m.in. CREB, *cyclic AMP-responsive element binding protein*; CREM, *cAMP-responsive element modulator*) i ICER, *inducible cyclic AMP early repressor*) wiążące się z sekwencją CRE (*cAMP response element*) promotora [19]. U *Prokaryota* cAMP wiąże się i bezpośrednio aktywuje czynnik transkrypcyjny, białko CRP (*cAMP receptor protein*), które znane jest też, jako białko regulatora katabolicznego CAP (*catabolite gene activator protein*). CRP jest czynnikiem transkrypcyjnym obecnym powszechnie u różnych grup bakterii [9, 50, 107]. Wykazano, że u bakterii czynnik ten uczestniczy w regulacji ekspresji genów zaangażowanych w różne procesy biologiczne, m.in. w asymilację organicznego węgla i przemiany energetyczne [11, 95], podziały komórek [92], produkcję toksyn [50], kompetencję rozwojową [20], wrażliwość i tworzenie *quorum sensing* [55].

CRP należy do nadrodziny czynników transkrypcyjnych CRP/FNR (TF) [52], które są regulatorami

transkrypcji powszechnie działającymi u eubakterii [57]. TF zawierają N-terminalną domenę efektorową i C-terminalną domenę wiązania z DNA (DBD, *DNA binding domain*) typu HTH (*helix-turn-helix*) [62]. TF tej nadrodziny tworzą *in vivo* homodimer, który jest aktywowany przez wiązanie specyficznych małych cząsteczek efektorowych przez domenę efektorową [62]. Dimery CRP są aktywowane po związaniu dwóch cząsteczek cAMP przez każdą podjednostkę. Przyłączenie cAMP powoduje zmianę konformacyjną DBD, co warunkuje wiązanie CRP ze specyficzną sekwencją DNA w promotorze genów docelowych [30] i oddziaływanie z C-terminalną domeną podjednostki α polimerazy RNA i jej wiązanie z promotorem [13, 37, 54, 63, 88].

Badania zsekwencjonowanych genomów *E. coli* i innych heterotroficznych bakterii wskazują, że ich genomy zawierają jedną kopię genu *crp* [10]. CRP u *E. coli* kontroluje ekspresję ponad 200 jednostek transkrypcyjnych [79, 80]. U tej bakterii CRP wiąże się z pseudo-palindromową sekwencją najwyższej zgodności TGTGAN₆TCACA [79], chociaż ostatnio u *E. coli* i innych γ -proteobakterii zidentyfikowano nieco inne miejsce wiązania CRP z sekwencją konsensus TGC-GAN₆TCGCA [15]. Główna funkcja CRP u *E. coli* jest związana z transkrypcyjną regulacją genów uczestniczących w asymilacji organicznego węgla i przemianach energetycznych [95, 107].

Sinice są fotoautotrofami, a część gatunków jest zdolna do wykorzystywania N₂ jako źródła azotu, dlatego u tych organizmów nie dziwi zaangażowanie szlaku cAMP w regulację innych genów niż u *E. coli*. U ponad połowy zsekwencjonowanych genomów sinic zidentyfikowano, co najmniej jeden gen *crp*. Eksperymentalnie białka CRP badano m.in. u *Synechocystis* sp. PCC 6803 [8, 64, 73, 103] i *Anabaena* sp. PCC 7120 [86, 87]. W genomie *Synechocystis* sp. PCC 6803 zidentyfikowano ORF (*open reading frame*) genu *sll1371*, który koduje homolog produktu genu *crp* *E. coli* i który nazwano *sycrp1* [65]. Wykazano też, że SyCRP1 tworzy homodimer wiążący z dużym powinowactwem cAMP [102] i w obecności cAMP, podobnie jak u *E. coli*, tworzy kompleks z sekwencją DNA (TGTGAN₆TCACA) [102]. Wykazano, że SyCRP1 u tej sinicy pełni ważną rolę w biogenezie pilus typu IV i uczestniczy w regulacji ruchu komórek [8, 101, 104]. W genomie *Anabaena* sp. PCC 7120 zidentyfikowano dwie ORF (*alr0295* i *alr2325*), które kodują CRP (odpowiednio, *ancrpA* i *ancrpB*) [87]. Produkty tych genów (*AnCRPA* i *AnCRPB*) wiążą cAMP, a stosując EMSA (*electrophoresis mobility shift assay*) wykazano, że *AnCrpA* może wiązać się z miejscem wiązania CRP u *E. coli* [87]. Stwierdzono, że *AnCrpA* i *AnCrpB* u *Anabaena* sp. PCC 7120 regulują, odpowiednio, ekspresję kilku genów uczestniczących w wiązaniu azotu [86] i kontrolują ekspresję genów indukowanych przez brak azotu [33].

Xu i Su [98], stosując wysoce precyzyjny algorytm skanowania, przeprowadzili analizę 29 zsekwencjonowanych genomów sinic (gatunków i ich szczepów) wykorzystując bazę danych NCBI <ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/Bacteria>. Autorzy ci zidentyfikowali obecność genów *crp*, które kodują aktywowany przez cAMP czynnik transkrypcyjny CRP oraz TU (*transcription unit*; operony wielo- i jednogenowe) zawierające w promotorach sekwencję wiązania CRP z DNA. Brak genów *crp* wskazywałby, że szlak cAMP/CRP nie jest wykorzystywany w regulacji aktywności transkrypcyjnej u danego organizmu. W 29 przeanalizowanych genomach sinic geny *crp*, które są ortologami SyCRP1 (*sll1371*) *Synechocystis* sp. PCC 6803, zidentyfikowano tylko w 12 genomach, a mianowicie: *A Caryochloris marina* MBIC11017, *Anabaena variabilis* ATCC 29413, *Anabaena* sp. PCC 7120, *Prochlorococcus marinus* MIT 9313 i MIT9303, *Synechococcus* sp. CC9311, CC9605, JA-2-3B'a(2-13) i JA-3-3Ab, *Synechocystis* sp. PCC 6803, *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 oraz *Trichodesmium erythraeum* IMS101. W większości genomów obecny był jeden homolog genu *crp*, a po dwa geny *crp* mają genomy *Synechocystis* sp. PCC 6803 [(*sll1371* i *sll1924* (SyCRP2)) i *Anabaena* sp. PCC 7120 [*alr0295* (*AnCRPA*) i *alr2325* (*AnCRPB*)]. Analiza genomów przeprowadzona przez Xu i Su [98] nie wykazała obecności genów *crp* w 17 genomach sinic, tj. u *Gloeobacter violaceus* PCC 7421, *Prochlorococcus marinus* u szczepów: AS9601, MIT 9211, MIT 9215, MIT 9301, MIT 9515, NATL1A, NATL2A, MIT9312, CCMP1375 i MED4, u *Synechococcus elongatus* PCC 6301 i PCC 7942 oraz u *Synechocystis* sp. CC9902, RCC307, WH 7803 i WH8102.

Omówione analizy wskazują, że genomy, które mają gen kodujący CRP mają też geny zawierające w promotorach miejsce wiązania czynnika transkrypcyjnego CRP. Liczba tych miejsc była różna i wahała się od 29 u *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 (zawierającego 1075 TU) do 249 u *Anabaena variabilis* ATCC 29413 (zawierającego 3300 TU) (Tabela II). W większości przypadków były one charakterystyczne dla gatunku i szczepu, a niewielka ich liczba była obecna w więcej niż dwóch genomach.

Analiza porównawcza genomu *E. coli* K12, u której CRP kontroluje ponad 200 TU i który zawiera 288 eksperymentalnie potwierdzonych miejsc wiązania CRP [107] z genomami sinic, wskazuje na obecność 13,88~32,19% wspólnych genów. Sugeruje to, że CRP u sinic ewolucyjnie zaadaptowały się do regulacji aktywności innej grupy genów niż u *E. coli*. Ogólnie, u *E. coli* i innych heterotroficznych bakterii produkty genów aktywowanych przez CRP uczestniczą przede wszystkim w asymilacji organicznego węgla i w metabolizmie energetycznym [95, 107], natomiast u sinic uczestniczą w regulacji procesów związanych z autotroficznym

Tabela II
Liczba miejsc wiązania CRP w genomach sinic zawierających gen kodujący CRP oraz geny regulowane przez CRP uczestniczące w różnych procesach biologicznych [wg 98]

Genom	Liczba miejsc wiązania CRP	Fotosynteza	Metabolizm węgla	Asymilacja azotu	Przenośniki /poryny	Kinazy	Czynniki transkrypcyjne
<i>Acaryochloris marina</i> MBIC11017	174	AMI_1272 AMI_1560 AMI_0526	AMI_2193 AMI_2114	AMI_2462 AMI_5490 AMI_0481	AMI_1165 AMI_6038 AMI_0773 AMI_2986 AMI_3534 AMI_4901 AMI_2335	AMI_5208 AMI_5107 AMI_2792 AMI_5169	AMI_3844 AMI_4185 AMI_5140 AMI_0632
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	211	Ava_4451 Ava_3710 Ava_0640	Ava_1491	Ava_4669	Ava_0687 Ava_4995 Ava_1172 Ava_0874	Ava_4457 Ava_0873 Ava_0613 Ava_4753 Ava_1559 Ava_3542 Ava_1149 Ava_3207 Ava_3867 Ava_4503 Ava_3009	Ava_3703 Ava_1629 Ava_2629 Ava_1558 Ava_1021
<i>Synechococcus</i> sp. JA-3-3Ab (A-Prime)	41	CYA_0295			CYA_2315		
<i>Synechococcus</i> sp. JA-2-3Ba(2-13) (B-Prime)	44	CYB_2824				CYB_0465 CYB_2795	
<i>Anabaena</i> sp. PCC 7120	249	asr0847 alr0317 alr0318 alr0523 alr0524 alr0525	alr0169	alr0874 all3335 all3334 all3333 all3332	alr2210 alr2211 alr2212 alr2213 alr2118 alr2119 asr2220 all3335 alr3938	alr0853 alr3037 alr1192 all1191 all3207 alr0428 all4668 alr1665 alr3268 alr2137 all0323 all3767 all2883	alr1044 all0187 all2962 alr1941

Tabela II s.c.d

Genom	Liczba miejsc wiązania CRP	Fotosynteza	Metabolizm węgla	Asymilacja azotu	Przenośniki /poryny	Kinazy	Czynniki transkrypcyjne
<i>Prochlorococcus marinus</i> str. MIT 9313	63	PMT1665			PMT2110 PMT1524	PMT0265 PMT0845	PMT0986
<i>Prochlorococcus marinus</i> MIT9303	55	P9303_22121 P9303_22711			P9303_04171		P9303_17661 P9303_11401
<i>Synechococcus</i> sp. CC9311	34				sync_0219		
<i>Synechococcus</i> sp. CC9605	90	Sync9605_1640 Sync9605_0485		Sync9605_1575 Sync9605_2642		Sync9605_2284	
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	59	sll1577 sll1578 sll1579 sll1580 ssl3093 sll0634 slr1739 sll1874 sll1875 slr1459 slr1838 slr1839 slr1838	sll1709 slr2082 slr2083 ssl2153 sll0084 slr1349 slr1350		slr1392 sll0537 sll0240 slr1452 slr1453 slr1454 slr1455 slr1457 slr1453 slr1488 sll0273 slr1950	slr1400 slr1805 slr0484	sll1708 sll1371 slr1489
<i>Trichodesmium erythraeum</i> IMS101	132	Tery_4669			Tery_2879 Tery_1324 Tery_4986 Tery_3858 Tery_0199 Tery_2779	Tery_1627 Tery_3423 Tery_2051 Tery_4912	Tery_1557
<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	29	tsr0033	tlr1171	tll0330 ttr2000 ttr2001 ttr2002 ttr2003	tll0559 ttr0335 ttr2000 ttr2001 ttr2002 ttr2003		tll0328

odżywianiem, adaptacją do warunków środowiska, wiązaniem N_2 oraz innymi procesami, przy czym u poszczególnych gatunków i szczepów są to często różne geny regulowane przez CRP.

W Tabeli II zestawiono geny, których promotory zawierają miejsca wiązania CRP sklasyfikowane przez Xu i Su [98] według pełnionej funkcji. Poniżej podano też ich omówienie częściowo korzystając z komentarzy tych autorów.

Geny związane z fotosyntezą. Jak wspomniano powyżej, u sinic światło wpływa na poziom cAMP w komórkach [69], a zmiana poziomu tego wtórnego przekaźnika może poprzez CRP wpływać na ekspresję genów związanych z fotosyntezą. Analiza genomów sinic zawierających geny *crp* wykazała, że liczba takich genów może być różna. W sumie zidentyfikowano 14 genów potencjalnie regulowanych przez CRP, które kodują białka centrum reakcji fotosystemów (w tym: *AM1_0526*, *asr0847*, *Ava_4451*, *Ava_0640*, *asr0847*, *CYA_0295*, *CYB_2824*, *PMT1665*, *P9303_22121*, *P9303_22711*, *Syncc9605_1640*, *sll0634*, *slr1739*, i *Tery_4669*); białka mechanizmu oceny koncentracji CO_2 (*ccmK*) (w tym *alr0317-0318* i *slr1838-slr1839*) i geny białek z rodziny fikobiloprotein (w tym *alr0523-0525*, *sll1577-1580*, *ssl3093*, *slr1459* i *tsr0033*) (Tabela II).

Geny asymilacji azotu. Sinice pobierają azot w postaci jonowej, a część gatunków jest zdolna do asymilacji N_2 . W genomach *Acaryochloris marina* MBIC11017, *Anabaena variabilis* ATCC29413 i *Nostoc* sp. PCC7120 zidentyfikowano geny, odpowiednio, *AM1_2462*, *Ava_4669* i *alr0874*, których ekspresja jest regulowana przez CRP i które kodują białko nitrogenazo-podobne. U *Nostoc* sp. PCC7120 zidentyfikowano operon (*all3332-3335*) kodujący transporter azotanu, który zawiera miejsca wiązania CRP. Xu i Su [98] proponują następujący scenariusz reakcji u *Anabaena variabilis* na głodzenie azotowe. Głodzenie powoduje zwiększenie aktywności AC, co prowadzi do 3–4-krotnego zwiększenia poziomu cAMP w komórkach i aktywację CRP. Aktywacja CRP obniża poziom transkrypcji genów transporterów azotanu (*all3332-3335*), natomiast zwiększa ekspresję genów reduktazy nitrogenazy (*alr0874*) i nitrogenazy (*AM1_2462*, *Ava_4669*) (Tabela II). Taka regulacja ekspresji genów ma na celu skuteczniejsze wykorzystanie energii dla wiązania gazowego azotu.

Geny przENOŚNIKÓW I PORYN. W genomach sinic zidentyfikowano niewiele genów kodujących przENOŚniki i poryny, których aktywność może być regulowana przez CRP, np. u *Nostoc* sp. PCC 7120 geny *alr2210-2213* i *alr2118-2120*, a u *Synechocystis* sp. PCC 6803 geny *slr1392* i *slr1950*. Poza tym w genomach różnych sinic zidentyfikowano geny regulowane przez CRP, np. *CYA_2315*, *Ava_0687*, *sll0240*, *slr1452-1457*, *tll0559*, których produkty są antyporterami i transporterami ABC (Tabela II).

Geny kinaz i dwuskładnikowego systemu transdukcji sygnału. U bakterii dwuskładnikowy system transdukcji sygnału, składający się kinazy histydynowej i regulatora odpowiedzi [40], odgrywa istotną rolę w adaptacji do zmian w środowisku. Istnieją też białka regulacyjne zawierające zarówno domenę sensorową i przekaźnikową oraz regulator odpowiedzi; są to tzw. hybrydowe kinazy sensorowe (*hybrid sensory kinases*). Ich przykładem może być cyklaza *CyaC*, której cząsteczka zawiera domeny „hybrydowej kinazy sensorowej” oraz domenę katalityczną [42]. Oba elementy dwuskładnikowego systemu regulacyjnego tworzą liczne rodziny białek. Ten system odgrywa istotną rolę w reakcjach sinic na zmiany warunków środowiska, a liczne geny zaangażowane w jego funkcjonowanie regulowane przez CRP świadczą o tym, że przynajmniej u gatunków i szczepów zawierających w genomach gen *crp*, regulacja dwuskładnikowego systemu zachodzi z udziałem cAMP (Tabela II). Jest interesujące, że chociaż u *Synechocystis* sp. PCC 6803 CRP uczestniczy w fototaksji, na co wskazuje wyraźne jej osłabienie u mutantów *sycrp1* i AC [8, 101], to nie udało się wykazać, że geny uczestniczące w transdukcji sygnału dla tworzenia pilus i fototaksji [101] są regulowane przez CRP.

Inne geny. W genomach sinic zawierających gen *cre* zidentyfikowano też liczne geny zawierające miejsce wiązania CRP, które stwierdzono u niektórych gatunków czy szczepów oraz geny o nieznannej jeszcze funkcji [98].

Wśród przeanalizowanych 29 genomów sinic stwierdzono, że 17 genomów może nie mieć genu kodującego CRP, co wskazuje, że te organizmy mogą funkcjonować bez regulacji genów przez ten czynnik transkrypcyjny i że szlak sygnalizacyjny cAMP/CRP nie jest uniwersalnym systemem uczestniczącym w regulacji transkrypcji u sinic. Zwraca też uwagę fakt, że geny regulowane przez CRP u sinic pełnią raczej inną rolę niż u *E. coli*, zaś u sinic oprócz genów zaangażowanych w analogiczną funkcję, u poszczególnych gatunków/szczepów CRP może regulować aktywność genów związanych z innymi procesami.

Nie można wykluczyć, chociaż nie ma danych potwierdzających taką możliwość, że u sinic cAMP może uczestniczyć w regulacji aktywności transkrypcyjnej nie poprzez CRP i że taką rolę mogą pełnić inne TF. Poszukując ewolucyjnego wyjaśnienia obecności i braku genów *crp* w zsekwencjonowanych genomach sinic Xu i Su [98] dla badanych gatunków/szczepów sinic skonstruowali drzewo filogenetyczne w oparciu o sekwencję 16S rRNA. Okazało się, że genomy zawierające gen *crp* nie tworzą monofiletycznej grupy, że genomy z genami kodującymi CRP są rozproszone w tym drzewie. Autorzy sądzą, że w czasie adaptacji do odpowiednich warunków środowiskowych mogła nastąpić ewolucyjna utrata genów *crp*, szczególnie u morskich sinic. Przeprowadzona przez Xu i Su [98] analiza dystrybucji

nadrodziny CRP/FNR we wszystkich 29 badanych genomach wykazała, że we wszystkich genomach jest przynajmniej jeden gen kodujący białko z tej nadrodziny i sądzą, że jest prawdopodobne, że mogą one rozpoznawać CRP-podobne miejsca wiązania z DNA.

4. Podsumowanie

Szlak cAMP jest powszechnie funkcjonującym wtórnym szlakiem sygnalizacyjnym u *Prokaryota* i u *Eukaryota*. Na udział tego szlaku w regulacji przebiegu różnych procesów metabolicznych w komórkach sinic wskazuje wykrycie cAMP w komórkach tych organizmów, wyraźna reakcja ich komórek obserwowana po stosowaniu egzogenego cAMP i zmiana jego poziomu w komórkach zależnie od czynników środowiskowych. U sinic wykazano obecność enzymów syntezy oraz degradacji cAMP (odpowiednio, AC i PDE) oraz zidentyfikowano geny kodujące białka zaangażowane w szlak transdukcji sygnału przez cAMP. Obecnie znana jest sekwencja 29 całych genomów różnych gatunków sinic (i ich szczepów), w których zidentyfikowano geny AC i PDE, geny akceptorów cAMP (CRP), które są czynnikami transkrypcyjnymi aktywowanymi przez ten nukleotyd oraz geny, które w promotorach mają sekwencję wiązania CRP. Zidentyfikowano też geny kodujące białka pełniące ważną rolę w przebiegu różnych procesów fizjologicznych, m.in. białka związane z fotosyntezą, metabolizmem węgla, asymilacją azotu, białka przekaźników i poryn, kinaz białkowych i czynników transkrypcyjnych.

Dotychczasowe badania szlaku sygnalizacyjnego cAMP u sinic mogą wskazywać, że nie jest on uniwersalnym szlakiem regulacji funkcjonowania komórek sinic. Istnieje jednak możliwość, że genomy sinic, u których nie stwierdzono obecności genów AC, PDE, genów kodujących CRP i genów, których aktywność jest regulowana przez CRP, mogą zawierać zmodyfikowane, jeszcze niezidentyfikowane sekwencje kodujące poszczególne elementy szlaku cAMP.

Szlak sygnalizacyjny cAMP u sinic ma prostszy, prawdopodobnie bardziej pierwotny przebieg niż u ssaków, chociaż kluczowe jego elementy są obecne i u *Eukaryota* i u sinic. Różnice w organizacji szlaku cAMP u sinic i ssaków, u których jest on najlepiej poznany wtórnym szlakiem sygnalizacyjnym i uczestniczy w regulacji licznych fundamentalnych procesów fizjologicznych, mogą wynikać z prokariotycznej budowy komórek sinic, a co za tym idzie z braku tkankowo-organowego zróżnicowania struktury i funkcji komórek sinic. U ssaków efektywność i specyficzność regulacyjna szlaku sygnalizacyjnego cAMP z jednej strony wynika z tkankowo-zależnej ekspresji różnych heterotrimerowych białek G, różnych izoform tmAC

i PDE oraz z obecności różnych PKA w komórkach, z drugiej zaś strony z kompartmentacji tego szlaku w komórkach, ponieważ PKA będąca istotnym efekтором cAMP, może być związana z AKAP (*A-kinase-anchoring proteins*), które są zlokalizowane na różnych organellach komórkowych. U ssaków aktywacja czynników transkrypcyjnych z rodziny CREB zachodzi poprzez aktywację PKA przez cAMP, natomiast u sinic czynnik transkrypcyjny (CRP) jest aktywowany bezpośrednio przez wiązanie cAMP.

Podziękowania

Autorzy dziękują Panu Prof. dr hab. Adamowi Jaworskiemu za cenne merytoryczne i redakcyjne uwagi pomocne w przygotowaniu niniejszego artykułu, oraz Panu Prof. nadzw. dr hab. Tomaszowi Sakowiczowi za krytyczne uwagi dotyczące manuskryptu.

Piśmiennictwo

1. Amrhein N.: Cyclic nucleotide phosphodiesterases in plants. *Z. Pflanzenphysiol.* **72**, 249–261 (1974)
2. Ashby M.K., Houmard J.: Cyanobacterial two-component proteins: structure, diversity, distribution, and evolution. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **70**, 472–509 (2006)
3. Bai G., Knapp G.S., McDonough K.A.: Cyclic AMP signalling in mycobacteria: redirecting the conversation with a common currency. *Cell Microbiol.* **13**, 349–358 (2011)
4. Baker D.A., Kelly J.M.: Structure, function and evolution of microbial adenyllyl and guanylyl cyclases. *Mol. Microbiol.* **52**, 1229–1242 (2004)
5. Barzu O., Danchin A.: Adenyllyl cyclases: a heterogeneous class of ATP-utilizing enzymes. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **49**: 241–283 (1994)
6. Beavo J.A.: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol. Rev.* **75**: 725–748 (1995)
7. Beavo J.A., Brunton, L.L.: Cyclic nucleotide research—still expanding after half a century. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**, 710–718 (2002)
8. Bhaya D., Nakasugi K., Fazeli F., Burriesci M.S.: Phototaxis and impaired motility in adenyllyl cyclase and cyclase receptor protein mutants of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *J. Bacteriol.* **188**, 7306–7310 (2006)
9. Błaszczak U.: Białko wiążące cykliczny AMP z *Escherichia coli* – globalny regulator transkrypcji. *Post. Mikrobiol.* **47**, 127–135 (2008)
10. Botsford J.L., Harman J.G.: Cyclic AMP in prokaryotes. *Microbiol. Rev.* **56**, 100–122 (1992)
11. Bott M.: Anaerobic citrate metabolism and its regulation in enterobacteria. *Arch. Microbiol.* **167**, 78–88 (1997)
12. Bruder S., Linder J.U., Martinez S.E., Zheng N., Beavo J.A., Schultz J.E.: The cyanobacterial tandem GAF domains from the cyaB2 adenyllyl cyclase signal via both cAMP-binding sites. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **102**, 3088–3092 (2005)
13. Busby S., Ebricht R.H.: Transcription activation by catabolite activator protein (CAP). *J. Mol. Biol.* **293**, 199–213 (1999)
14. Cadoret J.C., Rousseau B., Perewoska I., Sicora C., Cheregi O., Vass I., Houmard J.: Cyclic nucleotides, the photosynthetic apparatus and response to a UV-B stress in the cyanobacterium *Synechocystis* sp PCC 6803. *J. Biol. Chem.* **280**, 33935–33944 (2005)

15. Cameron A.D., Redfield R.J.: Non-canonical CRP sites control competence regulons in *Escherichia coli* and many other gamma-proteobacteria. *Nucleic Acids Res.* **34**, 6001–6014 (2006)
16. Cann M. J.: Signalling through cyclic nucleotide monophosphates in cyanobacteria. *New Phytol.* **161**, 23–34 (2003)
17. Cann M.J., Hammer A., Zhou J., Kanacher T.: A defined subset of adenylyl cyclases is regulated by bicarbonate ion. *J. Biol. Chem.* **278**, 35033–35038 (2003)
18. Cann M.J.: Sodium regulation of GAF domain function. *Biochem. Soc. Trans.* **35**, 1032–1034 (2007)
19. Cesare D., De Fimia G.M., Sassone-Corsi P.: Signalling routes to CREM and CREB. *Trends Biochem. Sci.* **24**, 281–285 (1999)
20. Chandler M.S.: The gene encoding cAMP receptor protein is required for competence development in *Haemophilus influenzae* Rd. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 1626–1630 (1992)
21. Chapman K.E., Duggan P.S., Billington N.A., Adams D.G.: Mutation at different sites in the *Nostoc punctiforme* *cyaC* gene, encoding the multiple-domain enzyme adenylate cyclase, results in different levels of infection of the host plant *Blasia pusilla*. *J. Bacteriol.* **190**, 1843–1847 (2008)
22. Chen Y., Cann M.J., Litvin T.N., Iourgenko V., Sinclair M.L., Levin L.R., Buck J.: Soluble adenylyl cyclase as an evolutionary conserved bicarbonate sensor. *Science*, **289**, 625–628 (2000)
23. Cotta M.A., Whitehead T.R., Wheeler M.B.: Identification of a novel adenylate cyclase in the ruminal anaerobe, *Prevotella ruminicola* D31d. *FEMS Microbiol. Lett.* **164**, 257–260 (1998)
24. Danchin A.: Phylogeny of adenylyl cyclases. *Adv. Second Messenger Phosphoprotein Res.* **27**, 109–162 (1993)
25. Francko D., Wetzel R.: Dynamics of cellular and extracellular cAMP in *Anabaena flos-aquae* (Cyanophyta): Intrinsic culture variability and correlation with metabolic variables. *J. Phycol.* **17**, 129–134 (1981)
26. Franco, D.A., Wetzel, R.G.: Cyclic AMP production and extracellular release from green and blue-green alga. *Physiol. Plant.* **49**, 65–67 (1980)
27. Fujisawa T., Ohmori M.: Biochemical properties of a cAMP phosphodiesterase in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *Microbes Environ.* **20**, 92–95 (2005)
28. Hammer A., Hodgson D.R.W., Cann M.J.: Regulation of prokaryotic adenylyl cyclases by CO₂. *Biochem. J.* **396**, 215–218 (2006)
29. Hantke, K., Winkler, K., Schultz J.E.: *Escherichia coli* exports cyclic AMP via TolC. *J. Bacteriol.* **193**, 1086–1089 (2011)
30. Harman J.G.: Allosteric regulation of the cAMP receptor protein. *Biochim. Biophys. Acta*, **1547**, 1–17 (2001)
31. Herdman M., Elmorjani K.: Cyclic nucleotides. *Methods Enzymol.* **167**, 584–591 (1988)
32. Higo A., Ikeuchi M., Ohmori M.: cAMP regulates respiration and oxidative stress during rehydration in *Anabaena* sp. PCC 7120. *FEBS Lett.* **582**, 1883–1888 (2008)
33. Higo A., Suzuki T., Ikeuchi M., Ohmori M.: Dynamic transcriptional changes in response to rehydration in *Anabaena* sp. PCC 7120. *Microbiology*, **153**, 3685–3694 (2007)
34. Hintermann R., Parish R.W.: Determination of adenylate cyclase activity in a variety of organisms: evidence against the occurrence of the enzyme in higher plants. *Planta*, **146**, 459–461 (1979)
35. Hood E.E., Armour S., Ownby J.D., Handa A.K., Bressan R.A.: Effect of nitrogen starvation on the level of adenosine 3',5'-monophosphate in *Anabaena variabilis*. *Biochim. Biophys. Acta*, **588**, 193–200 (1979)
36. Hughes J., Lamparter T., Mittmann F., Hartmann E., Gartner W., Wilde A., Borner T.: A prokaryotic phytochrome. *Nature*, **386**, 663 (1997)
37. Igarashi K., Ishihama A.: Bipartite functional map of the *E. coli* RNA polymerase alpha subunit: involvement of the C-terminal region in transcription activation by cAMP-CRP. *Cell*, **65**, 1015–1022 (1991)
38. Imashimizu M., Yoshimura H., Katoh H., Ehira S., Ohmori M.: NaCl enhances cellular cAMP and upregulates genes related to heterocyst development in the cyanobacterium, *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *FEMS Microbiol. Lett.* **252**, 97–103 (2005)
39. Jaiswal B.S., Conti M.: Calcium regulation of the soluble adenylyl cyclase expressed in mammalian spermatozoa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 10676–10681 (2003)
40. Juda M., Dadas E., Malm A.: Rola dwuskładnikowych systemów regulacyjnych w chorobotwórczości i lekooporności bakterii. *Post. Mikrobiol.* **45**, 237–247 (2007)
41. Kanacher T., Schultz A., Linder J.U., Schultz J.E.: A GAF-domain regulated adenylyl cyclase from *Anabaena* is a self-activating cAMP switch. *EMBO J.* **21**, 3672–3680 (2002)
42. Kasahara M., Ohmori M.: Activation of a cyanobacterial adenylate cyclase, CyaC, by autophosphorylation and a subsequent phosphotransfer reaction. *J. Biol. Chem.* **274**, 15167–15172 (1999)
43. Kasahara M., Unno T., Yashiro K., Ohmori M.: CyaG, a novel cyanobacterial adenylyl cyclase and a possible ancestor of mammalian guanylyl cyclases. *J. Biol. Chem.* **276**, 10564–10569 (2001)
44. Kasahara M., Yashiro K., Sakamoto T., Ohmori M.: The *Spirulina platensis* adenylate cyclase gene, *cyaC*, encodes a novel signal transduction protein. *Plant Cell Physiol.* **38**, 828–836. (1997)
45. Katayama M., Ohmori M.: Expression of adenylate cyclase gene of *Anabaena cylindrica* in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *Plant Cell Physiol.* **39**, 786–789 (1998)
46. Katayama M., Ohmori M.: Isolation and characterization of multiple adenylate cyclase genes from the cyanobacterium *Anabaena* sp. Strain PCC 7120. *J. Bacteriol.* **179**, 3588–3593 (1997)
47. Katayama M., Wada Y., Ohmori M.: Molecular cloning of the cyanobacterial adenylate cyclase gene from the filamentous cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *J. Bacteriol.* **177**, 3873–3878 (1995)
48. Kaupp U.B., Seiferr R.: Cyclic nucleotide-gated channels. *Physiol. Rev.* **82**, 769–824 (2002)
49. Kehoe D.M., Grossman A.R.: Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors, *Science*, **273**, 1409–1412 (1996)
50. Kolb A., Busby S., Buc H., Garges S., Adhya S.: Transcriptional regulation by cAMP and its receptor protein. *Annu. Rev. Biochem.* **62**, 749–795 (1993)
51. Konstantinidis K.T., Tiedje J.M.: Trends between gene content and genome size in prokaryotic species with larger genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 3160–3165 (2004)
52. Korner H., Sofia H.J., Zumft W.G.: Phylogeny of the bacterial superfamily of Crp-Fnr transcription regulators: exploiting the metabolic spectrum by controlling alternative gene programs. *FEMS Microbiol. Rev.* **27**, 559–592 (2003)
53. Kumar H.D., Gupta M.: Effects of cyclic nucleotides on morphogenesis in *Nostoc muscorum*. *Archiv. Microbiol.* **119**, 183–186 (1978)
54. Lee T.W., Won H.S., Park S.H., Kyogoku Y., Lee B.J.: Detection of the protein-protein interaction between cyclic AMP receptor protein and RNA polymerase, by (13)C-carbonyl NMR. *J. Biochem.* **130**, 57–61 (2001)
55. Liang W., Pascual-Montano A., Silva A.J., Benitez J.A.: The cyclic AMP receptor protein modulates quorum sensing, motility and multiple genes that affect intestinal colonization in *Vibrio cholerae*. *Microbiology*, **153**, 2964–2975 (2007)

56. Lohmann S.M., Vaandrager A.B., Smolenski A., Walter U., De Jonge H.R.: Distinct and specific functions of cGMP-dependent protein kinases. *Trends Biochem. Sci.* **22**, 307–312 (1997)
57. Madan Babu M., Teichmann S.A., Aravind L.: Evolutionary dynamics of prokaryotic transcriptional regulatory networks. *J. Mol. Biol.* **358**, 614–633 (2006)
58. Mamenko M.V., Chizhnikov I.V., Volkova T.M., Verkhratsky A., Krishtal O.A.: Extracellular cAMP inhibits P2X(3) receptors in rat sensory neurones through G protein-mediated mechanism. *Acta Physiol.* **199**, 199–204 (2010)
59. Martinez S.E., Bruder S., Schultz A., Zheng N., Schultz J.E., Beavo J.A., Linder J.U.: Crystal structure of the tandem GAF domains from a cyanobacterial adenylyl cyclase: modes of ligand binding and dimerization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 3082–3087 (2005)
60. Masuda S., Ono T.A.: Adenylyl cyclase activity of Cya1 from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 is inhibited by bicarbonate. *J. Bacteriol.* **187**, 005032–5035 (2005)
61. Masuda S., Ono T.A.: Biochemical characterization of the major adenylyl cyclase, Cya1, in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.* **577**, 255–258 (2004)
62. McKay D.B., Steitz T.A.: Structure of catabolite gene activator protein at 2.9 Å resolution suggests binding to left-handed B-DNA. *Nature*, **290**, 744–749 (1981)
63. Niu W., Kim Y., Tau G., Heyduk T., Ebright R.H.: Transcription activation at class II CAP-dependent promoters: two interactions between CAP and RNA polymerase. *Cell*, **87**, 1123–1134 (1996)
64. Ochoa De Alda J.A., Ajlani G., Houmard J.: *Synechocystis* strain PCC 6803 *cya2*, a prokaryotic gene that encodes a guanylyl cyclase. *J. Bacteriol.* **182**, 3839–3842 (2000a)
65. Ochoa de Alda J.A., Houmard J.: Genomic survey of cAMP and cGMP signalling components in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Microbiology*, **146**, 3183–3194 (2000b)
66. Ogawa T., Terui G.: Studies on the growth of *Spirulina platensis*. *J. Ferment. Technol.* **48**, 361–367 (1970)
67. Ohmori K., Hirose M., Ohmori M.: An increase in the intracellular concentration of cAMP triggers formation of an algal mat by the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Plant Cell Physiol.* **34**, 169–171 (1993)
68. Ohmori M., Ikeuchi M., Sato N., Wolk P., Kaneko T., Ogawa T., Kanehisa M., Goto S., Kawashima S., Okamoto S., Yoshimura H., Katoh H., Fujisawa T., Ehira S., Kamei A., Yoshihara S., Narikawa R., Tabat S.: Characterization of genes encoding multi-domain proteins in the genome of the filamentous nitrogen-fixing *Cyanobacterium anabaena* sp. strain PCC 7120. *DNA Res.* **8**, 271–284 (2001)
69. Ohmori M., Ohmori K., Hasunuma K.: Rapid change in cyclic-3',5'-AMP concentration triggered by a light-off or light-on signal in *Anabaena cylindrica*. *Archiv. Microbiol.* **150**, 203–204 (1988)
70. Ohmori M., Okamoto S.: Photoresponsive cAMP signal transduction in cyanobacteria. *Photochem. Photobiol. Sci.* **3**, 503–511 (2004)
71. Ohmori M., Terauchi K., Okamoto S., Watanabe M.: Regulation of cAMP-mediated photosignaling by a phytochrome in the cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Photochem. Photobiol.* **75**, 675–679 (2002)
72. Okamoto S., Kasahara M., Kamiya A., Nakahira Y., Ohmori M.: A phytochrome-like protein AphC triggers the cAMP signaling induced by far-red light in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC7120. *Photochem. Photobiol.* **80**, 429–433 (2004)
73. Omagari K., Yoshimura H., Takano M., Hao D., Ohmori M., Sarai A., Suyama A.: Systematic single base-pair substitution analysis of DNA binding by the cAMP receptor protein in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.* **563**, 55–58 (2004)
74. Ownby J.D., Kuenzi F.E.: Changes in cyclic AMP phosphodiesterase activity in *Anabaena variabilis* during growth and nitrogen starvation. *FEMS Microbiol. Lett.* **15**, 243–247 (1982)
75. Patel T.B., Du Z., Pierre S., Cartin L., Scholich K.: Molecular biological approaches to unravel adenylyl cyclase signaling and function. *Gene*, **269**, 13–25 (2001)
76. Rich T.C., Karpen J.W.: Review article: Cyclic AMP sensors in living cells: What signals can they actually measure? *Ann. Biomed. Eng.* **30**, 1088–1099 (2002)
77. Ritchie A.V., Vanes S., Fouquet C., Schaap P.: From drought sensing to developmental control: Evolution of cyclic AMP signaling in social amoebas. *Mol. Biol. Evol.* **25**, 2109–2118 (2008)
78. Sakamoto T., Murata N., Ohmori M.: The concentration of cyclic AMP and adenylate cyclase activity in cyanobacteria. *Plant Cell Physiol.* **32**, 581–584 (1991)
79. Salgado H., Gama-Castro S., Martinez-Antonio A., Diaz-Peredo E., Sanchez-Solano F., Peralta-Gil M., Garcia-Alonso D., Jimenez-Jacinto V., Santos-Zavaleta A., Bonavides-Martinez C. i wsp.: Regulon DB (version 4.0): transcriptional regulation, operon organization and growth conditions in *Escherichia coli* K-12. *Nucleic Acids Res.* **D303**–306 (2004)
80. Salgado H., Santos-Zavaleta A., Gama-Castro S., Peralta-Gil M., Penaloza-Spinola M.I., Martinez-Antonio A., Karp P.D., Collado-Vides J.: The comprehensive updated regulatory network of *Escherichia coli* K-12. *BMC Bioinformatics*, **7**, 5 (2006)
81. Shenoy A.R., Visweswariah S.S.: Mycobacterial adenylyl cyclases: biochemical diversity and structural plasticity. *FEBS Lett.* **580**, 3344–3352 (2006)
82. Shenoy A.R., Visweswariah S.S.: Class III nucleotide cyclases in bacteria and archaeobacteria: lineage-specific expansion of adenylyl cyclases and a dearth of guanylyl cyclases. *FEBS Lett.* **561**, 11–21 (2004)
83. Sismeiro O., Trotot P., Biville F., Vivares C., Danchin A.: *Aeromonas hydrophila* adenylyl cyclase 2: a new class of adenylyl cyclases with thermophilic properties and sequence similarities to proteins from hyperthermophilic archaeobacteria. *J. Bacteriol.* **180**, 3339–3344 (1998)
84. Smith G., Ownby J.: Cyclic AMP interferes with pattern formation in the cyanobacterium *Anabaena variabilis*. *FEMS Microb. Lett.* **11**, 175–180 (1981)
85. Sunahara R.K., Beuve A., Tesmer J.J., Sprang S.R., Garbers D.L., Gilman A.G.: Exchange of substrate and inhibitor specificities between adenylyl and guanylyl cyclases. *J. Biol. Chem.* **273**, 16332–16338 (1998)
86. Suzuki T., Yoshimura H., Ehira S., Ikeuchi M., Ohmori M.: AnCrpA, a cAMP receptor protein, regulates *nif*-related gene expression in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120 grown with nitrate. *FEBS Lett.* **581**, 21–28 (2007)
87. Suzuki T., Yoshimura H., Hisabori T., Ohmori M.: Two cAMP receptor proteins with different biochemical properties in the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *FEBS Lett.* **571**, 154–160 (2004)
88. Tagami H., Aiba H.: A common role of CRP in transcription activation: CRP acts transiently to stimulate events leading to open complex formation at a diverse set of promoters. *EMBO J.* **17**, 1759–1767 (1998)
89. Tellez-Sosa J., Soberon N., Vega-Segura A., Torres-Marquez M.E., Cevallos M.A.: The *Rhizobium etli* *cyaC* product: characterization of a novel adenylate cyclase class. *J. Bacteriol.* **184**, 3560–3568 (2002)
90. Terauchi K., Ohmori M.: An adenylate cyclase, Cya1, regulates cell motility in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* **40**, 248–251 (1999)

91. Terauchi K., Ohmori M.: Blue light stimulates cyanobacterial motility via a cAMP signal transduction system. *Mol. Microbiol.* **51**, 567–577 (2004)
92. Utsumi R., Noda M., Kawamukai M., Komano T.: Control mechanism of the *Escherichia coli* K-12 cell cycle is triggered by the cyclic AMP-cyclic AMP receptor protein complex. *J. Bacteriol.* **171**, 2909–2912 (1989)
93. Wang J.Y., Clegg D.O., Koshland D.E. Jr.: Molecular cloning and amplification of the adenylate cyclase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 4684–4688 (1981)
94. Wedel B., Garbers D.: The guanylyl cyclase family at Y2K. *Ann. Rev. Physiol.* **63**, 215–233 (2001)
95. Weickert M.J., Adhya S.: The galactose regulon of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **10**, 245–251 (1993)
96. Wu J., Bai J., Bao Q., Zhao F.: Lineage-specific domain fusion in the evolution of purine nucleotide cyclases in cyanobacteria. *J. Mol. Evol.* **67**, 85–94 (2008)
97. Wu J., Zhao F., Wang S., Deng G., Wang J., Bai J., Lu J., Qu J., Bao Q.: cTFbase: a database for comparative genomics of transcription factors in cyanobacteria. *BMC Genomics*, **8**, 104 (2007)
98. Xu M., Su Z.: Computational prediction of cAMP receptor protein (CRP) binding sites in cyanobacterial genomes. *BMC Genomics*, **10**, 23; doi:10.1186/1471-2164-10-23 (2009)
99. Yashiro K., Sakamoto T., Ohmori M.: Molecular characterization of an adenylate cyclase gene of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Plant Mol. Biol.* **31**, 175–181 (1996)
100. Yeh K., Wu S., Murphy J.T., Lagarias J.C.: A cyanobacterial phytochrome two-component light sensory system. *Science*, **227**, 1505–1508 (1997)
101. Yoshihara S., Ikeuchi M.: Phototactic motility in the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photochem. Photobiol. Sci.* **3**, 512–518 (2004)
102. Yoshimura H., Hisabori T., Yanagisawa S., Ohmori M.: Identification and characterization of a novel cAMP receptor protein in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* **275**, 6241–6245 (2000)
103. Yoshimura H., Yanagisawa S., Kanehisa M., Ohmori M.: Screening for the target gene of cyanobacterial cAMP receptor protein SYCRP1. *Mol. Microbiol.* **43**, 843–853 (2002a)
104. Yoshimura H., Yoshihara S., Okamoto S., Ikeuchi M., Ohmori M.: A cAMP receptor protein, SYCRP1, is responsible for the cell motility of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant. Cell. Physiol.* **43**, 460–463 (2002b)
105. Zhang X., Zhao F., Guan X., Yang Y., Liang C., Qin S.: Genomewide survey of putative serine/threonine protein kinases in cyanobacteria. *BMC Genomics*, **8**, 395 (2007)
106. Zhao F., Zhang X., Liang C., Wu J., Bao Q., Qin S.: Genome-wide analysis of restriction-modification system in unicellular and filamentous cyanobacteria. *Physiol. Genomics*, **24**, 181–190 (2006)
107. Zheng D., Constantinidou C., Hobman J.L., Minchin S.D.: Identification of the CRP regulon using in vitro and in vivo transcriptional profiling. *Nucleic Acids Res.* **32**, 5874–5893 (2004)
108. Zippin J.H., Levin L.R., Buck J.: CO₂/HCO₃⁻-responsive soluble adenylate cyclase as a putative metabolic sensor. *Trends Endocrinol. Metab.* **12**, 366–370 (2001)