

РОЛЬ АЛАРМОНА (p)ppGpp В РЕГУЛЯЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ ИНДОЛА КЛЕТКАМИ *ESCHERICHIA COLI* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ

Кашеварова Н.М.,
Ахова А.В.,
Хаова Е.А.,
Ткаченко А.Г.

«Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН» –
филиал ФГБУН Пермского федерального
исследовательского центра УрО РАН
(614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кашеварова Наталья Михайловна,
e-mail: nkashev@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Сигнальные молекулы индол (продукт катаболизма триптофана) и (p)ppGpp (регулятор стринджен-ответа) принимают участие в регуляции физиологических процессов, направленных на адаптацию бактериальных клеток к антибиотикам и стрессам. Однако вопрос о существовании связи между стринджен-ответом и индукцией синтеза индола требует более детального изучения.

Цель работы. Изучить влияние регулятора стринджен-ответа (p)ppGpp на продукцию индола клетками *Escherichia coli* в зависимости от содержания глюкозы в среде.

Материалы и методы. В данной работе исследована динамика накопления индола в периодических культурах родительского штамма *E. coli* BW25141 ((p)ppGpp⁺ штамм) и делеционного мутанта BW25141 Δ relA Δ spoT ((p)ppGpp⁰ штамм) в глюкозо-минеральной среде М9, не содержащей триптофана, а также с добавкой 2 мМ триптофана. С целью изучения эффекта стресса голодания на способность бактериальных клеток синтезировать индол использовали модель лимитирования роста углеродным субстратом при двух концентрациях глюкозы – 0,1 % и 0,4 %.

Результаты. Показано, что отсутствие (p)ppGpp в клетках *E. coli* снижает их способность продуцировать индол в бестриптофановой среде и значительно замедляет скорость его накопления в среде, содержащей триптофан. Низкое содержание глюкозы (0,1 %) приводит к снижению образования индола клетками в среде, не содержащей триптофана. Наличие в среде предшественника синтеза индола триптофана, напротив, увеличивает продукцию индола в условиях добавки более низкой концентрации глюкозы как в (p)ppGpp⁺, так и в (p)ppGpp⁰ штаммах, демонстрируя прямую зависимость времени задержки начала образования индола от концентрации глюкозы, более выраженную в культуре мутанта, не способного к синтезу (p)ppGpp. Полученные данные интерпретируются нами как результат комплексного регуляторного воздействия механизма катаболитной репрессии и стринджен-ответа, вызванного действием алармона (p)ppGpp, на уровень экспрессии *tnaCAB* оперона, ответственного за биосинтез индола.

Ключевые слова: индол, (p)ppGpp, триптофан, триптофаназа, глюкоза, *Escherichia coli*, *relA*, *spoT*, адаптация

Статья получена: 17.03.2022

Статья принята: 20.04.2022

Статья опубликована: 05.07.2022

Для цитирования: Кашеварова Н.М., Ахова А.В., Хаова Е.А., Ткаченко А.Г. Роль алармона (p)ppGpp в регуляции образования индола клетками *Escherichia coli* в зависимости от содержания глюкозы. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 162-168. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.17

ROLE OF ALARMONE (p)ppGpp IN THE REGULATION OF INDOLE FORMATION DEPENDING ON GLUCOSE CONTENT IN *ESCHERICHIA COLI*

Kashevarova N.M.,
Akhova A.V.,
Khaova E.A.,
Tkachenko A.G.

Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Ural Branch
Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, Perm 614081,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalya M. Kashevarova,
e-mail: nkashev@mail.ru

ABSTRACT

Signaling molecules such as indole (product of tryptophan catabolism) and (p)ppGpp (stringent response regulator) are involved in regulation of physiological processes in bacterial cells aimed to adapt to antibiotics and stresses. However, question of existence of relationship between the stringent response and indole signaling requires more detailed investigation.

The aim. To study effect of stringent response regulator (p)ppGpp on indole production in *Escherichia coli* depending on glucose content.

Materials and methods. In this work, we studied the dynamics of indole accumulation in batch cultures of parent *E. coli* BW25141 ((p)ppGpp⁺ strain) and deletion mutant BW25141ΔrelAΔspoT ((p)ppGpp⁰ strain) in glucose-mineral tryptophan-free M9 medium, as well as with 2 mM tryptophan addition. In order to study effect of starvation stress on bacterial cell ability to synthesize indole, we used a model of growth limitation by carbon substrate at two glucose concentrations, 0.1 % and 0.4 %.

Results. We have shown here that (p)ppGpp absence in *E. coli* cells reduces their ability to produce indole in the tryptophan-free medium and significantly slows down the rate of its accumulation in the tryptophan-containing one. Low glucose concentration (0.1 %) leads to decrease in indole production by (p)ppGpp⁺ cells in the tryptophan-free medium. The presence of indole synthesis precursor, tryptophan, in growth medium, on the contrary, increases the production of indole at lower glucose concentration in both (p)ppGpp⁺ and (p)ppGpp⁰ strains demonstrating direct dependence of delay time for onset of indole formation on glucose content, which is more pronounced in the culture of deletion mutant unable of synthesizing (p)ppGpp. The data obtained can be interpreted as result of complex regulatory effect of catabolic repression and the stringent response caused by alarmone (p)ppGpp action on expression level of *tnaCAB* operon responsible for indole biosynthesis.

Key words: indole, (p)ppGpp, tryptophan, tryptophanase, glucose, *Escherichia coli*, *relA*, *spoT*, adaptation

Received: 17.03.2022
Accepted: 20.04.2022
Published: 05.07.2022

For citation: Kashevarova N.M., Akhova A.V., Khaova E.A., Tkachenko A.G. Role of alarmone (p)ppGpp in the regulation of indole formation depending on glucose content in *Escherichia coli*. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 162-168. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.17

Индол – гетероциклическое ароматическое соединение, выполняющее регуляторные функции в метаболизме бактерий и продуцируемое более чем 85 их видами, – привлекает внимание исследователей на протяжении более 100 лет благодаря его значительному влиянию на физиологические процессы, направленные на адаптацию бактериальных клеток к стрессовым воздействиям, включая биоплёнообразование, антибиотикорезистентность, вирулентность, образование персистеров, подвижность [1]. Показано, что продукция индола клетками *E. coli*, осуществляемая при участии фермента триптофаназы TnaA и транспортного белка TnaB, максимальна в стационарной фазе роста на полноценной питательной среде. Стационарная фаза роста характеризуется формированием целого комплекса неблагоприятных воздействий на бактерии, что указывает на участие индола в адаптивном ответе клеток на стресс [2].

(p)ppGpp (гуанозинтетрафосфат/гуанозинпентафосфат) является ключевым компонентом строгого ответа (stringent response, стринджен-ответ) – регуляторного механизма бактерий при адаптации к различным стрессовым воздействиям, включая голодание по аминокислотам и источникам углерода и энергии. (p)ppGpp, выполняя роль сигнала стресса, за что он отнесён к группе алармонов, принимает участие в регуляции множества процессов в бактериальной клетке, включая транскрипцию, белковый и нуклеотидный синтез, репликацию, фосфатный метаболизм [3]. Показано также, что он играет ключевую роль в формировании бактериальной вирулентности и персистенции [4, 5, 6]. Синтез (p)ppGpp в клетках катализируется белками семейства RSH (RelA/SpoT Homolog) [7]. В клетках *E. coli* эту функцию выполняют белки RelA и SpoT [8].

Анализ литературы свидетельствует о том, что две сигнальные молекулы – алармон (p)ppGpp и индол – участвуют в регуляции сходных физиологических процессов в бактериальных клетках. Ранее высказано предположение о возможном существовании связи между стринджен-ответом и индольным сигналом [9], однако этот вопрос мало исследован и требует более детального изучения. В частности, до конца неизвестной остаётся природа сигнала, индуцирующего транспорт триптофана в клетку и его расщепление в цитоплазме до индола. Ранее показано, что эти процессы находятся под контролем катаболитной репрессии, и существенная роль в индукции индольного синтеза принадлежит циклическому АМФ (сАМР) [10]. Однако появляются работы, указывающие на то, что наряду с сАМР в регуляции синтеза индола определённая роль может принадлежать также (p)ppGpp [11]. В связи с этим **целью данной работы** является изучение влияния регулятора стринджен-ответа (p)ppGpp на продукцию индола клетками *E. coli* в глюкозо-минеральной среде М9 в зависимости от содержания глюкозы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использованы штаммы *E. coli* BW25141 [12] и BW25141Δ*relA*Δ*spoT* (лабо-

раторная коллекция). Культуры, хранившиеся на агаризованной среде Лурия – Бертани (LB) (Sigma, США), высеивали на пробирки с 5 мл жидкой среды LB (Sigma, США). Спустя 5 часов клетки пересевали на колбы Эрленмейера объёмом 250 мл со средой М9, содержащей 0,1 % или 0,4 % глюкозы, и культивировали в течение 18 ч в термостатируемой шейкере (GFL 1092, Германия) при 37 °С и 120 об./мин. Ночные культуры разводили в 50 мл свежей среды М9 с соответствующими концентрациями глюкозы до оптической плотности $A_{600} = 0,2$ с внесением 2 мМ триптофана и без добавок (бестриптофановая среда) и далее культивировали при тех же условиях. В ходе экспоненциального роста пробы отбирали через каждые 2 часа для определения индола в среде культивирования, далее – в стационарной фазе – 1 раз в сутки. Оптическую плотность культур (A_{600}) измеряли на спектрофотометре UV-1650PC (Shimadzu, Япония) по величине абсорбции при 600 нм.

Генетическое конструирование. Генные нокауты получены с использованием системы сайт-специфической рекомбинации FLP/FRT по методу Datsenko и Wanner [12].

Концентрацию индола в среде измеряли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, предложенным Kim D. et al. [13], с небольшими изменениями. Хроматографическая система состояла из хроматографа LC-20A со спектрофотометрическим детектором SPD-M20A (Shimadzu, Япония), колонки Luna C18 (250 × 4,6 мм, 5 мкм) (Phenomenex, США), предколонки SecurityGuard C18 (4 × 3 мм) (Phenomenex, США). Разделение проводили при скорости потока мобильной фазы равной 1 мл/мин в изократическом режиме и 25 °С. Мобильная фаза состояла из смеси ацетонитрила (Криохром, Россия) и уксусной кислоты (0,039 %) в соотношении 1 : 1. Детектирование проводили при длине волны 280 нм. Для расчёта концентрации индола применяли метод внешнего стандарта с использованием предварительно построенной калибровочной кривой.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета стандартных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). На графиках представлены средние значения (3–5 экспериментов) ± стандартная ошибка среднего. Оценка статистической значимости различий средних произведена с использованием t-критерия Стьюдента ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Многие виды грамположительных и грамотрицательных бактерий синтезируют значительные количества индола в качестве сигнальной молекулы межклеточного взаимодействия в микробных сообществах. Биосинтез индола хорошо изучен у *E. coli*, культивируемых на разных источниках углерода и аминокислотах, показано влияние других факторов окружающей среды, таких как pH, температура, антибиотический стресс, на продукцию индола [14]. Основным его предшественником у индол-продуцирующих бактерий является аминокислота триптофан. Фермент триптофаназа, кодируемая геном *tnaA*, расщепляет триптофан до индола, пиру-

вата и аммония. В триптофановый путь синтеза индола вовлечены многие другие гены, включая *aroP*, *tnaB*, *trpE*, *tnaC*, *trpL*, *acrEF*, *mtr* [15]. Ранее показано, что источники углерода, такие как глюкоза, могут подавлять экспрессию *tnaA*, однако репрессивный эффект глюкозы полностью снимался при добавке в ростовую среду сAMP [16]. Известно, что гены триптофаназы *tnaA* и транспортного белка *tnaB*, входящие в *tnaCAB* оперон, находятся под контролем сAMP/CRP-зависимого механизма катаболитной репрессии и индуцируются на уровне транскрипции при исчерпании углеводов и переходе клеток в стационарную фазу [17]. Другим механизмом, участвующим в адаптации бактерий к различным видам стресса, включая стационарную фазу роста, является стринджен-ответ, сопровождающийся синтезом (p)ppGpp. Исходя из этого, нельзя исключить, что, наряду с сAMP, (p)ppGpp также мог бы участвовать в регуляции синтеза индола. Это послужило основанием для предположения о возможности синергического эффекта двух регуляторных молекул на продукцию индола, которое косвенно подкрепляется данными о стимулирующем эффекте сAMP на синтез белка RelA, основного продуцента (p)ppGpp в клетках *E. coli* [18].

В качестве подтверждения этого предположения нами продемонстрировано участие (p)ppGpp в регуля-

ции биосинтеза индола клетками *E. coli* в зависимости от содержания глюкозы в среде, лишённой триптофана, и с добавкой 2 мМ экзогенного триптофана. Поскольку ответственными за поддержание определённого уровня (p)ppGpp в клетках *E. coli* являются белки RelA и SpoT, нами сконструирован делеционный мутант по 2 генам $\Delta relA\Delta spoT$, кодирующим основные ферменты синтеза (p)ppGpp. С целью изучения эффекта стресса голодания на способность клеток *E. coli* синтезировать индол использовали модель лимитирования роста углеродным субстратом в условиях периодического культивирования *E. coli* при двух концентрациях глюкозы – 0,1 % и 0,4 %.

Низкое содержание глюкозы в среде (0,1 %) в момент начала культивирования приводило к статистически значимому снижению оптической плотности культуры в стационарной фазе роста как родительского штамма, так и (p)ppGpp⁰ штамма (рис. 1). При этом внесение триптофана в концентрации 2 мМ не оказывало влияния на этот показатель для обоих штаммов. Делеция генов $\Delta relA\Delta spoT$ также приводила к снижению оптической плотности культуры мутантного штамма по сравнению с (p)ppGpp⁺ штаммом в стационарной фазе роста при обеих исследованных концентрациях глюкозы как в бестриптофановой среде, так и в условиях добавки триптофана (рис. 1а, б).

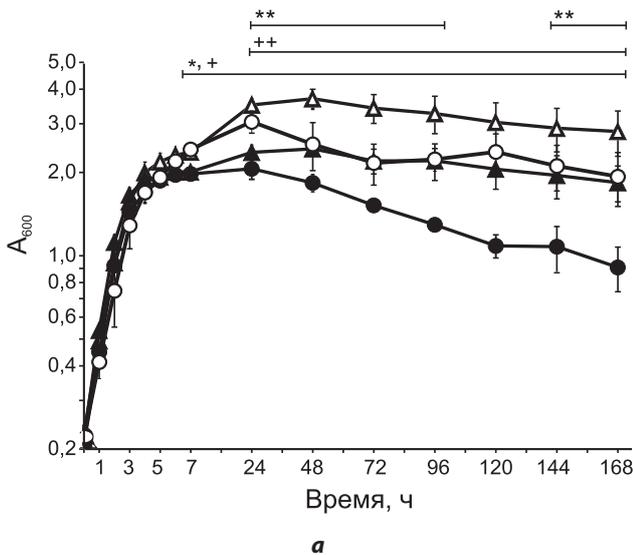


РИС. 1.

Изменение оптической плотности культур *E. coli* (p)ppGpp⁺ штамма (треугольники) и (p)ppGpp⁰ штамма (круги) при содержании 0,1 % и 0,4 % глюкозы (закрашенные и незакрашенные символы соответственно) при росте в среде без триптофана (а) и с добавкой 2 мМ триптофана (б): * – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁺ штамма при 0,4 % глюкозы; + – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ** – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ++ – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы ($p \leq 0,05$)

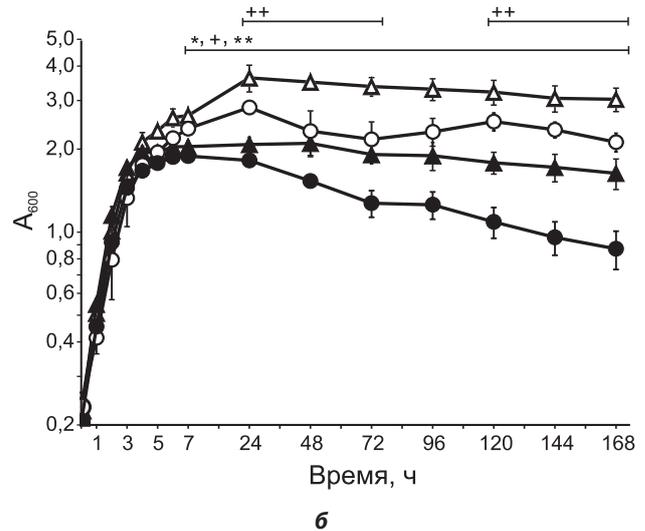


FIG. 1.

Changes in the optical density of *E. coli* cultures of (p)ppGpp⁺ strain (triangles) and (p)ppGpp⁰ strain (circles) at 0.1 % and 0.4 % glucose (filled and unfilled symbols, respectively) during growth in the medium without tryptophan (a) and with the addition of 2 mM tryptophan (b): * – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁺ strain at 0.4 % glucose; + – statistically significant difference between (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ** – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ++ – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose ($p \leq 0.05$)

При росте родительского (p)ppGpp⁺ штамма в минимальной среде M9 без триптофана с добавкой глюкозы в концентрации 0,4 % внеклеточный индол начал обнаруживаться только после 24 ч культивирования и достигал максимальных значений к 96 ч, после чего его содержание в среде оставалось на постоянном уровне (около 20 мкМ) (рис. 2а). В то же время в культуре (p)ppGpp⁰ штамма уровень внеклеточного индола на протяжении 120 ч культивирования оставался значительно ниже, варьируя в диапазоне 0,1–0,5 мкМ и только к 168 ч достигал 1,7 мкМ. Таким образом, делеция генов *relA* и *spoT*, кодирующих основные ферменты синтеза (p)ppGpp в клетках, приводила к снижению продукции индола приблизительно в 10 раз в среде с добавкой глюкозы в концентрации 0,4 %. В условиях низкого содержания глюкозы (0,1 %) также отмечалось снижение содержания внеклеточного индола, синтезируемого клетками (p)ppGpp⁺ штамма, в 6 раз по сравнению с таковым в культуре с добавкой 0,4 % глюкозы (рис. 2а). Однако лимитирование субстратом в момент начала культивирования (0,1 % глюкозы) не оказывало влияния на образование индола в культуре (p)ppGpp⁰ мутанта.

Экзогенная добавка 2 мМ триптофана приводила к накоплению одинакового уровня индола к 96 ч культивирования в культурах (p)ppGpp⁺ штамма (при обеих исследованных концентрациях глюкозы), а также (p)ppGpp⁰ мутанта в условиях низкого содержания глю-

козы в среде (0,1 %) (рис. 2б). При этом в среде, содержащей 0,1 % глюкозы, возрастание концентрации индола в клетках (p)ppGpp⁺ штамма начиналось после 3 ч культивирования, а в среде с добавкой 0,4 % глюкозы – спустя 7 ч. Таким образом, длительность периода задержки начала возрастания продукции индола была пропорциональна концентрации глюкозы, внесённой в питательную среду в начале культивирования, что, очевидно, обусловлено более быстрым исчерпанием субстрата в среде с 0,1 % глюкозы, сопровождаемым синтезом в клетках cAMP, ответственного за индукцию *tnaCAB* оперона [10].

Делеционный мутант продемонстрировал значительную задержку во времени начала продукции индола по сравнению с (p)ppGpp⁺ штаммом пропорционально концентрации глюкозы. В культуре (p)ppGpp⁰ мутанта резкое возрастание продукции индола к 24 ч культивирования до 1,8 мМ, сходное с таковым в (p)ppGpp⁺ штамме, происходило только в условиях низкого содержания глюкозы в среде (0,1 %). При этом отсутствие (p)ppGpp статистически значимо снижало образование индола в экспоненциальной фазе роста на 5 и 7 ч культивирования, а также на 24 ч стационарной фазы по сравнению с родительским штаммом в 10, 5,5 и 1,5 раза соответственно. Однако при достижении максимальных уровней накопления индола к 48 ч культивирования его концентрация была лишь незначительно (~ в 1,2 раза)

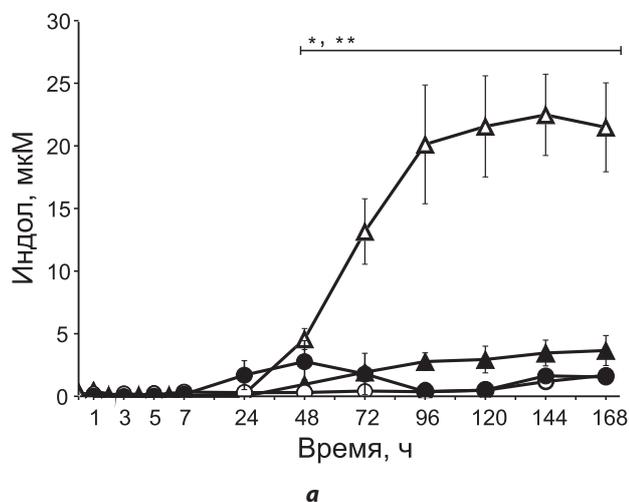


РИС. 2. Продукция индола в культурах *E. coli* (p)ppGpp⁺ штамма (треугольники) и (p)ppGpp⁰ мутанта (круги) при содержании 0,1 % и 0,4 % глюкозы (закрашенные и незакрашенные символы соответственно) при росте в среде без триптофана (а) и с добавкой 2 мМ триптофана (б): * – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁺ штамма при 0,4 % глюкозы; + – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ** – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,4 % глюкозы; ++ – статистически значимое отличие (p)ppGpp⁺ штамма от (p)ppGpp⁰ штамма при 0,1 % глюкозы ($p \leq 0,05$)

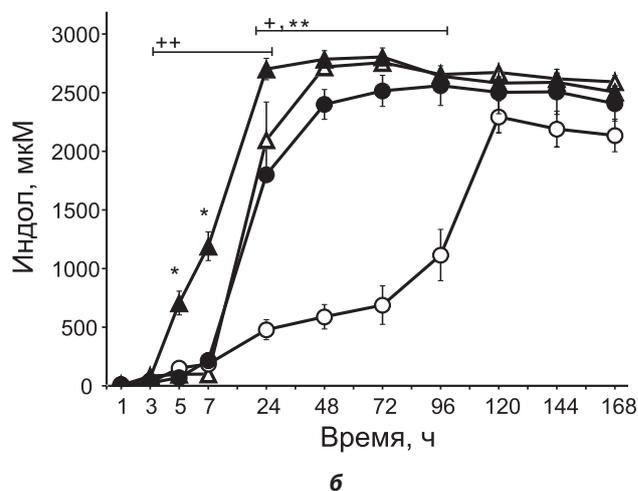


FIG. 2. Indole production in *E. coli* cultures (p)ppGpp⁺ strain (triangles) and (p)ppGpp⁰ mutant (circles) at 0.1 % and 0.4 % glucose (filled and unfilled symbols, respectively) during growth in the medium without tryptophan (a) and with the addition of 2 mM tryptophan (b): * – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁺ strain at 0.4 % glucose; + – statistically significant difference between (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ** – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.4 % glucose; ++ – statistically significant difference between (p)ppGpp⁺ strain and (p)ppGpp⁰ strain at 0.1 % glucose ($p \leq 0.05$)

ниже, чем у (p)ppGpp⁺ штамма. При дальнейшем культивировании различия в продукции индола между мутантным и родителем штаммами при низком содержании глюкозы (0,1 %) полностью исчезали после 72 ч культивирования. В отличие от этого в условиях внесения 0,4 % глюкозы к 48 ч культивирования (p)ppGpp⁰ мутант показал приблизительно 5-кратное снижение продукции индола по сравнению с (p)ppGpp⁺ штаммом. Следующее за этим возрастание содержания индола в (p)ppGpp⁰ культуре наблюдалось лишь по истечении 96 часов и достигало максимальных значений (2,3 мМ) к 120 ч культивирования. Это, по-видимому, совпадает с исчерпанием в среде источников углерода и энергии и снятием катаболитной репрессии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что биосинтез индола клетками *E. coli* является (p)ppGpp-зависимым процессом. Так, отсутствие (p)ppGpp в клетках снижает их способность продуцировать индол в бестриптофановой среде и значительно замедляет скорость его накопления в среде, содержащей триптофан. Низкое содержание глюкозы (0,1 %) приводит к снижению образования индола клетками *E. coli* в среде, не содержащей триптофана. Наличие в среде предшественника синтеза индола – триптофана, напротив, увеличивает продукцию индола в условиях добавки более низкой концентрации глюкозы как в (p)ppGpp⁺ штамме, так и в (p)ppGpp⁰ штамме, демонстрируя прямую зависимость времени задержки начала образования индола от концентрации глюкозы, более выраженную в культуре мутанта, не способного к синтезу (p)ppGpp. Таким образом, эффект (p)ppGpp, сигнальной молекулы стринджен-ответа, в регуляции продукции индола клетками *E. coli* зависит от содержания глюкозы в среде культивирования, что проявляется в возрастании скорости накопления индола и сокращении времени достижения его максимальных значений при 0,1 % глюкозы на 24 ч, а в условиях 0,4 % глюкозы – на 72 ч в среде с добавкой триптофана.

Полученные результаты дают основание считать, что в основе индукции синтеза индола в клетках *E. coli* лежит взаимодействие различных адаптивных механизмов, формируемых в ответ на комплексное воздействие стрессовых факторов, действующих при переходе бактериальных клеток в стационарную фазу. Одним из них является стринджен-ответ, который сопровождается синтезом (p)ppGpp в ответ на аминокислотное голодание и замедление скорости роста клеток. Он действует в комплексе с механизмом катаболитной репрессии, снятие которой индуцируется при исчерпании глюкозы и регулируется при участии cAMP.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (AAAA-A19-119112290009-1).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kim J, Park W. Indole: A signaling molecule or a mere metabolic byproduct that alters bacterial physiology at a high concentration? *J Microbiol.* 2015; 53(7): 421-428. doi: 10.1007/s12275-015-5273-3
2. Vega N, Allison K, Khalil A, Collins J. Signaling-mediated bacterial persister formation. *Nat Chem Biol.* 2012; 8(5): 431-433. doi: 10.1038/nchembio.915
3. Potrykus K, Cashel M. (p)ppGpp: Still magical? *Annu Rev Microbiol.* 2008; 62: 35-51. doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162903
4. Korch SB, Henderson TA, Hill TM. Characterization of the *hipA7* allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol Microbiol.* 2003; 50(4): 1199-1213. doi: 10.1046/j.1365-2958.2003.03779.x
5. Hauryliuk V, Atkinson GC, Murakami KS, Tenson T, Gerdes K. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. *Nat Rev Microbiol.* 2015; 13(5): 298-309. doi: 10.1038/nrmicro3448
6. Wood TK, Song S. Forming and waking dormant cells: The ppGpp ribosome dimerization persister model. *Biofilm.* 2020; 2: 100018. doi: 10.1016/j.biofilm.2019.100018
7. Atkinson GC, Tenson T, Hauryliuk V. The RelA/SpoT Homolog (RSH) superfamily: Distribution and functional evolution of ppGpp synthetases and hydrolases across the tree of life. *PLoS One.* 2011; 6(8): e23479. doi: 10.1371/journal.pone.0023479
8. Srivatsan A, Wang J. Control of bacterial transcription, translation and replication by (p)ppGpp. *Curr Opin Microbiol.* 2008; 11(2): 100-105. doi: 10.1016/j.mib.2008.02.001
9. Liu S, Wu N, Zhang S, Yuan Y, Zhang W, Zhang Y. Variable persister gene interactions with (p)ppGpp for persister formation in *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2017; 8: 1795. doi: 10.3389/fmicb.2017.01795
10. Zarkan A, Liu J, Matuszewska M, Gaimster H, Summers DK. Local and universal action: The paradoxes of indole signalling in bacteria. *Trends Microbiol.* 2020; 28(7): 566-577. doi: 10.1016/j.tim.2020.02.007
11. Sanchez-Vazquez P, Dewey CN, Kitten N, Ross W, Gourse RL. Genome-wide effects on *Escherichia coli* transcription from ppGpp binding to its two sites on RNA polymerase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019; 116(17): 8310-8319. doi: 10.1073/pnas.1819682116
12. Datsenko KA, Wanner BL. One-step inactivation of chromosomal genes in *Escherichia coli* K-12 using PCR products. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97(12): 6640-6645. doi: 10.1073/pnas.120163297
13. Kim D, Sitepu IR, Hashidokoa Y. Induction of biofilm formation in the betaproteobacterium *Burkholderia unamae* CK43B exposed to exogenous indole and gallic acid. *Appl Environ Microbiol.* 2013; 79(16): 4845-4852. doi: 10.1128/AEM.01209-13
14. Han TH, Lee JH, Cho MH, Wood TK, Lee J. Environmental factors affecting indole production in *Escherichia coli*. *Res Microbiol.* 2011; 162(2): 108-116. doi: 10.1016/j.resmic.2010.11.005
15. Hu M, Zhang C, Mu Y, Shen Q, Feng Y. Indole affects biofilm formation in bacteria. *Indian J Microbiol.* 2010; 50(4): 362-368. doi: 10.1007/s12088-011-0142-1
16. Isaacs HJr, Chao D, Yanofsky C, Saier MHJr. Mechanism of catabolite repression of tryptophanase synthesis in *Escherichia coli*. *Microbiology.* 1994; 140(8): 2125-2134. doi: 10.1099/13500872-140-8-2125

17. Stewart V, Yanofsky C. Evidence for transcription anti-termination control of tryptophanase operon expression in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol.* 1985; 164(2): 731-740. doi: 10.1128/jb.164.2.731-740.1985

18. Amato SM, Orman MA, Brynildsen MP. Metabolic control of persister formation in *Escherichia coli*. *Mol Cell.* 2013; 50(4): 475-487. doi: 10.1016/j.molcel.2013.04.002

Сведения об авторах

Кашеварова Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: nkashev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3751-8156>

Ахова Анна Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: akhovan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

Хаова Елена Александровна – лаборант лаборатории адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4457-2652>

Ткаченко Александр Георгиевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией адаптации микроорганизмов, «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Information about the authors

Natalya M. Kashevarova – Junior Research Officer at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: nkashev@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3751-8156>

Anna V. Akhova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: akhovan@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3477-750X>

Elena A. Khaova – Laboratory Assistant at the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: akkuzina-elena510@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4457-2652>

Alexander G. Tkachenko – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Microbial Adaptation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: agtkachenko@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8631-8583>

Статья опубликована в рамках Второй Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания».