

УДК 577.1:576.851.31+577.4

ХИТИН И ПРОДУКТЫ ЕГО ГИДРОЛИЗА В ЭКОЛОГИИ *Vibrio cholerae*

Обзор

© 2015 Е.Ю. Марков^{1*}, Е.С. Куликалова¹, Л.Я. Урбанович¹,
В.С. Вишняков², С.В. Балахонов¹

¹ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, 664002 Иркутск; факс: +7(3952)220-140,
электронная почта: mark_evgenii@mail.ru

² Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанова РАН,
152742 Ярославская область, пос. Борок;
факс: +7(48547)24-042

Поступила в редакцию 24.11.14
После доработки 19.02.14

В обзоре представлены данные о роли хитина и продуктов его гидролиза, образуемых под действием хитиназ холерного вибриона, в механизмах его адаптации в водной окружающей среде, метаболизме, сохранении, приобретении патогенного потенциала и его эпидемиологическом значении. Описано использование микроорганизмом хитина в качестве источника энергии, углерода и азота; ассоциация с ним способствует образованию биопленки на природных хитиновых поверхностях с усилением устойчивости возбудителя холеры к неблагоприятным факторам экологических ниш — организма человека и водной окружающей среды с ее обитателями. Регулируемые соответствующими генами гидролитические ферменты посредством хитиноподобного катаболического каскада приводят к полной биодеградации хитина. Последствия взаимодействия клеток *V. cholerae* с хитином на разных иерархических уровнях включают в себя метаболические и физиологические реакции клетки, такие, как хемотаксис, деление клеток, образование биопленки, индукция генетической компетентности, комменсальные и симбиотические взаимоотношения с высшими организмами, круговорот питательных веществ, патогенность для человека и водных организмов, что служит в экологии микроорганизмов примером успешного взаимоотношения бактерий с субстратом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вибрион эльтор, хитиноподобный каскад, генетическая регуляция, экология.

Для возбудителя холеры (*Vibrio cholerae eltor*) — этиологического агента текущей VII пандемии холеры, существуют две экологические ниши: организм человека и водная окружающая среда с ее гидробионтами [1]. Персистируя в водных экосистемах, холерный вибрион вступает в сложные биоценоотические взаимоотношения с водными организмами и растениями [2]. Особую роль в сохранении и эволюционных преобразованиях холерного вибриона в водных экосистемах играют хитиновые покрытия членистоногих, некоторых диатомовых водорослей и грибов [3]. Хитинсодержащие водные организмы служат для *V. cholerae* местом обитания (резервуаром), питательным субстратом, своеобразным убежищем от неблагоприятных факторов окружающей среды, а для человека — средством его инфицирования при употреблении загрязненной планктоном воды и необработанных

морепродуктов [2]. Показано влияние водной окружающей среды на жизненный цикл холерного вибриона, имеющее существенное значение в эпидемиологии холеры [4].

Холерный вибрион обитает в разнообразных морских и пресноводных водоемах, где он зачастую прикрепляется и питается на биотических и абиотических хитиновых поверхностях [5–7]. Хитин — целлюлозоподобный природный биополимер, поли-*N*-ацетил-*D*-глюкозо-2-амин (GlcNAc)_n, состоящий из остатков 2-ацетида-2-дезоксид-*D*-глюкозы (называемой также *N*-ацетил-*D*-глюкозамин (GlcNAc)), связанных между собой β-(1→4)-гликозидными связями. Хитин — один из наиболее распространенных в природе полисахаридов, каждый год на Земле в живых организмах образуется и разлагается около 10¹¹ т хитина, из них более 10⁹ т вырабатывается только ракообразными. Этот высокостабильный полимер выполняет защитную и опорную функции, является основным компонентом

* Адресат для корреспонденции.

экзоскелета ракообразных, насекомых, яиц членистоногих и нематод, широко распространенных в различных водоемах (реках, эстуариях и океанах), входит в состав клеточных стенок бактерий и грибов. Хитин также обнаруживается в продуктах линьки и погавках членистоногих, в некоторых диатомовых водорослях.

Холерный вибрион способен утилизировать хитин и его деацетилированную форму – хитозан (GlcN)_n – в качестве источника энергии, углерода и азота [8–13] и, как и многие другие морские бактерии, обладает всем необходимым для обнаружения хитиновых поверхностей и прикрепления к ним, гидролиза хитина до олигосахаридов и дисахаридов, транспортировки последних в цитоплазму с их последующим включением в процессы общего метаболизма [14].

МЕХАНИЗМЫ АДГЕЗИИ *V. cholerae* К ХИТИН-СОДЕРЖАЩИМ СУБСТРАТАМ И ИХ БИОДЕГРАДАЦИИ

Случайное столкновение единичных свободно плавающих клеток *V. cholerae* с неколонизированными, покрытыми эпикутикулой поверхностями зоопланктона приводит к опосредованной маннозо-чувствительным гемагглютинином (MSHA) адгезии [5]. Во взаимодействии вибрионов с хитином могут принимать участие и другие поверхностные белки [15]. На поверхности, уже колонизированной хитиноподобными бактериями, градиент концентраций GlcNAc и (GlcNAc)₂ направляет бактерии к хитиновой поверхности и индуцирует экспрессию адгезина, кодируемого геном *VCA0811*. Затем происходит полная индукция регулона сигнальной гистидинкиназы ChiS и координированная экспрессия хитин-регулируемых пилей, а катаболизм хитина способствует его колонизации, эффективному гидролизу и ассимиляции. Там, где встречаются неацетилированные остатки хитина, (GlcN)₂ индуцирует экспрессию набора соответствующих генов, обеспечивая тем самым максимальное использование хитинового субстрата [16]. Установлено, что клетки холерного вибриона располагают механизмами, которые обеспечивают адгезию к хитин-содержащим субстратам, гидролиз этого биополимера до мономеров, транспорт мономеров в цитозоль, и ферментативными системами, осуществляющими катаболизм *N*-ацетилглюкозамина (мономера хитина) до ацетата, аммиака и фруктозо-6-фосфата, включающегося в центральный амфиболизм клетки [14].

Биодеградация хитина требует взаимодействия нескольких гидролитических ферментов

для эффективного и полного расщепления. Вырабатываемые многими микроорганизмами, включая холерный вибрион, хитиназы (ЕС 3.2.1.14) – группа гликозилгидролаз, которые способны расщеплять хитин до низкомолекулярных продуктов [9, 12, 13]. Совместное действие эндохитиназ (ЕС 3.2.1.14), экзохитиназ [(хитобиозиназ) и β-*N*-ацетилгексозаминидазы (ЕС 3.2.1.82)] доводит деградацию полимерной молекулы хитина первоначально до высших хитоолигосахаридов и далее до хитобиозы с последующим превращением ее в *N*-ацетил-*D*-глюкозамин в присутствии *N*-ацетил-β-глюкозаминидазы и в глюкозамин при действии *N*-ацетилглюкозаминдеацетилазы [10]. Конечными же продуктами хитиноподобной системы вибрионов оказываются уже упомянутые фруктозо-6-фосфат, ацетат и аммоний [14]. У вибрионов также обнаружена хитоолигосахариддеацетилаза (COD) (chitin oligosaccharide deacetylase), которая путем гидролиза отщепляет *N*-ацетильную группу на редуцирующем конце GlcNAc дисахарида (GlcNAc)₂ с образованием гетеродисахарида 4-*O*-(*N*-ацетил-β-*D*-глюкозаминил)-*D*-глюкозамина (GlcNAc-GlcN) [11]. Этот гетеродисахарид является уникальным индуктором продукции хитиназ у вибрионов, обладающих COD-продуцирующей способностью, а сам этот фермент (COD), вовлеченный в образование сигнального гетеродисахарида GlcNAc-GlcN, является одним из ключевых ферментов хитинового катаболического каскада у вибрионов.

Как уже отмечено выше, основой взаимодействия холерных вибрионов с ракообразными является продукция хитиназ, утилизирующих хитин, входящий в состав экзоскелета ракообразных. Благодаря хитиноподобной активности морских бактерий, в том числе представителей семейства Vibrionaceae, лишь незначительное количество хитина можно обнаружить в донных отложениях, несмотря на его огромное ежегодное образование морскими гидробионтами, преимущественно ракообразными [14]. Без этой ферментативной активности морских микроорганизмов, возвращающей нерастворимый полисахарид в экосистему в биологически доступной форме, вода в океанах относительно быстро бы обеднела по содержанию углерода и азота (кроме того, происходило бы накопление большого количества осадочных остатков хитиновых скелетов ракообразных и других организмов). Следовательно, изучение взаимодействия между вибрионами и хитин-содержащими поверхностями (субстратами) важно как в отношении воздействия на здоровье человека, так и с точки зрения экологии микроорганизма.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДЕГРАДАЦИИ ХИТИНА

Анализ генома *V. cholerae* [16] показал наличие пяти генов хитиназ (обозначение локусов: *VC0769*, *VC1073*, *VC1952*, *VCA0027* и *VCA0811*) и одной хитодекстриназы (*VCA0700*) [5]. Из пяти хитиназ, три – предполагаемые (*VC0769*, *VC1073* и *VCA0811*). Обнаружено, что другой ген (*VCA0140*) кодирует обозначенный как спиндолин-подобный белок (spindolin-like), содержащий хитин-связывающий домен типа 3 [5]. Продукты этого гена раздельно или совместно гидролизуют хитин до олигосахаридов [17]. Кирн с соавт. в 2005 г. показали, что предполагаемый хитиназный ген *VCA0811* является общим фактором, который способствует адгезии *V. cholerae* к хитину, также как и к слизистой поверхности кишечника [8]. С целью выживания и колонизации клетки *V. cholerae* прикрепляются к остаткам *N*-ацетилглюкозамина (GlcNAc), гликопротеинов и липидов, находящихся в эпителии кишечника и к хитиновым поверхностям зоо- и фитопланктона в водоемах [18]. Показано, что колонизирующая способность мутантов, не способных утилизировать GlcNAc, значительно ослаблена [18]. Таким образом, хитиназы, играющие важную роль в выживании вибрионов и круговороте хитиновой биомассы, могут также участвовать в адгезии этих бактерий к слизистой кишечника человека [17]. Установлено, что хитиназа ChiA2 играет важную роль в выживании холерного вибриона в кишечнике человека и в патогенезе холеры, вызывая дегликозилирование муцина с высвобождением редуцирующих сахаров, таких как GlcNAc и его олигомеры [19].

Гены, необходимые для деградации и утилизации хитина в качестве источника углерода для *V. cholerae*, регулируются гистидинкиназой ChiS (*VC0622*) [5, 20]. Экспрессия этого белка в отсутствие хитина негативно регулируется периплазматическим хитин-связывающим белком СВР (*VC0620*), и эта репрессия снимается, когда СВР связывается с олигомерами хитина [20]. Предполагают, что в активной форме ChiS фосфорилирует неизвестный регулятор, контролирующей экспрессию генов, вовлеченных в деградацию хитина, поступление в периплазму продуктов его распада, с последующим их проникновением и утилизацией в цитоплазме [5].

Недавно у *V. cholerae* обнаружен второй кластер генов, функционирующий в комбинации с классическими генами катаболизма GlcNAc, что позволяет предположить наличие нового варианта процесса биохимического превращения GlcNAc во фруктозо-6-фосфат,

описанного у других микроорганизмов [18]. Также показано, что специфичный репрессор *N*-ацетилглюкозамина (NagC) осуществляет двойную функцию: негативно регулирует экспрессию генов классического пути катаболизма GlcNAc и позитивно регулирует гены второго кластера.

Интересно, что гены, кодирующие хитиназы и хитин-связывающие белки (ХСБ), были также обнаружены у микроорганизмов, не способных использовать хитин в качестве единственного источника углерода [13]. Это позволяет предположить, что указанные гены могут выполнять функции, отличающиеся от связывания или гидролиза хитина, а сами бактериальные хитиназы и ХСБ – играть роль факторов вирулентности.

Геном *V. cholerae* содержит четыре указанных выше гена, кодирующих хитиназы и ХСБ [8, 17]. Экспрессия ХСБ и хитиназ индуцируется, когда *V. cholerae* выращивается на среде, содержащей мономер хитина (GlcNAc), его олигомеры (GlcNAc)₂₋₆ или хитин (полимер GlcNAc), исходя из предположения, что ХСБ и хитиназы могут эффективно связываться с хитином и гидролизовать его [5]. Показано, что ХСБ *V. cholerae*, получивший название GbpA (GlcNAc-binding protein A), является существенным фактором связывания микроба с углеводными компонентами природных хитиновых поверхностей, а также слизистой кишечника человека. Более того, этот хитин-связывающий белок идентифицирован как адгезивный фактор со способностью прикрепляться как к хитиновым поверхностям, так и к слизистой в кишечнике человека [8]. Установлено, что уровень GbpA регулируется чувством кворума [21]. При высокой плотности клеток GbpA подвергается гидролизу под действием гемагглютинин/протеазы (НА/Р) и протеазы PrtV. Этот процесс может способствовать на последних стадиях колонизации откреплению холерных вибрионов и выходу в водную окружающую среду [21]. Показано наличие координированного взаимодействия между GbpA и муцином как *in vitro*, так и *in vivo* (на модели инфицированных мышей) [17]. Рекombинантный белок GbpA может специфически связываться с муцином, зависимым от концентрации способом. Кроме того, муцин и GbpA, по-видимому, взаимно усиливают экспрессию друг друга: муцин усиливает экспрессию GbpA, и экспрессия муцина также повышается после инфицирования *V. cholerae*.

Ключевую роль в контроле экспрессии GbpA и образования биопленки у *V. cholerae* играет регуляция бактериальных генов в ответ на плотность популяции микроорганизмов [21, 22]. По-

казано, что экспрессия GbpA усиливается при низкой плотности популяции *V. cholerae* [21]. Предполагается, что GbpA может участвовать в прикреплении вибриона к слизистой кишечника хозяина на начальных этапах, но его присутствие для образования биопленки не требуется. Таким образом, есть все основания полагать, что хитиназы и хитин-связывающие белки, такие как GbpA, играют важную роль на первых этапах в процессах инфицирования клеток организма хозяина (например, в адгезии и колонизации слизистой кишечника).

Несмотря на то, что деградация хитина осуществляется комплексными путями, включающими действие нескольких хитиназ, большинство исследований сфокусировано на внеклеточной эндохитиназе A (chiA) [23]. К тому же, у микроорганизмов с несколькими хитиназами, chiA, как оказалось, отличается наивысшей экспрессией и активностью в ответ на взаимодействие бактериальных клеток с хитином панциря краба [24].

ХИТИНОЛИТИЧЕСКИЙ КАСКАД *V. cholerae*

Каскад катаболизма хитина у *V. cholerae* начинается с расщепления хитина на олигомеры экстрацеллюлярными хитиназами. Предполагается, что гены хитиназ проявляют дифференциальную активность или регуляцию и действуют совместно, приводя к деградации хитина до олигосахаридов *N*-ацетилглюкозамина (GlcNAc)_n > 2 [10], которые транспортируются в периплазматическое пространство через специфические порыны (хитопорины) [14]. Мономер GlcNAc и димер *N,N'*-диацетилхитобиоза, как полагают авторы, проникают в периплазму через неспецифические порыны. В периплазме олигосахариды хитина расщепляются периплазматическими хитинодекстриназами и β -*N*-ацетилглюкозаминидазами [14] до (GlcNAc)_{1,2}. Хитобиоза (GlcNAc)₂ перемещается через цитоплазматическую мембрану транспортером ABC-типа [20], тогда как GlcNAc может переноситься в цитозоль и фосфорилироваться посредством фосфоенолпируватзависимой фосфотрансферной системы (ФТС) [25]. В цитозоле хитобиоза (GlcNAc)₂ под действием фосфорилазы *N,N'*-диацетилхитобиозы [26], GlcNAc-1P-мутаза [20] и предполагаемой GlcNAc-специфичной АТР-зависимой киназы превращается в две молекулы *N*-ацетилглюкозамин-6-фосфата. Последний, образуемый также фосфорилазой *N,N'*-диацетилхитобиозы (EC 2.4.1.280), конвертируется в фруктозо-6-фосфат посредством действия де-

ацетилазы *N*-ацетилглюкозамин-6-фосфата и деаминазы глюкозамин-6-фосфата [10, 27].

Известно, что хитобиоза и другие олигосахариды (продукты гидролиза хитина) являются мощными хемоаттрактантами. Установлено, что в передаче информации из окружающей среды к геному бактериальной клетки и регуляции экспрессии многих генов, вовлеченных в катаболизм хитина, играет важную роль двухкомпонентная сигнал-передающая система, содержащая сенсорную гистидин-киназу ChiS (ArcB типа), контролирующую экспрессию примерно 50 различных генов [20]. Вероятно, что секретируемая голодающими вибрионами хитиназа вступает в контакт с хитином в окружающей среде и осуществляет гидролиз этого биополимера до олиго- и дисахаридов, которые вызывают хемотаксис и заставляют клетки бактерий двигаться к хитину и хитин-содержащим субстратам, например, к кутикуле ракообразных. Продукты их гидролиза вызывают экспрессию генов, участвующих в дальнейшем катаболизме хитина, под контролем гистидинкиназы ChiS и остаются в таком состоянии, пока не будет исчерпан субстрат. Периплазматический хитин-связывающий белок (СВР, chitin binding protein) в отсутствие хитина связан с периплазматической областью трансмембранного белка ChiS. В таком состоянии киназа инактивирована. Сигнал из внешней среды – продукты гидролиза хитина – способствует диссоциации комплекса хитин-связывающего белка и сенсорной киназы. Освобожденная ChiS осуществляет экспрессию генов, ответственных за гидролиз хитина [20]. Олиго- и дисахариды выступают в качестве сигнала, запускающего каскад хитинолитических реакций. *N*-ацетилглюкозамин же, также образующийся при гидролизе хитина, но в меньшем количестве, чем олигосахариды, может быть получен вибрионами и из других источников, включая гликозаминогликаны, гликопротеины и гликолипиды, и поэтому он не служит специфическим сигналом, сообщаящим бактериям о близости хитин-содержащих субстратов [20].

ХИТИНАЗЫ В РЕАЛИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ *V. cholerae* В ВОДНОЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

Экспериментально установлено, что прикрепление вибрионов к веслоногим рачкам менее эффективно, чем к частицам хитина [28]. Это явление, вероятно, связано с особым строением кутикулы ракообразных: ее наружный слой (эпикутикула) имеет липопротеидную природу, что препятствует тесному контакту бактериаль-

ных клеток с прокутикулой, содержащей хитин. Поэтому у широкой группы морских вибрионов имеется потребность в синтезе наряду с хитиназами ряда протеолитических и липолитических ферментов, способных деградировать эпикутикулярный слой с обнажением прокутикулы.

В ряде исследований была показана роль адгезинов *V. cholerae* в колонизации зоопланктона. В частности, установлено, что клетки *V. cholerae* секретируют, как минимум, две внеклеточные хитиназы, а сигнальная гистидинкиназа ChiS регулирует экспрессию генов, синтезирующих PilA (компонент хитин-регулируемых пилей ChiRP) и продукцию хитопорина ChiP [5]. Хитин-регулируемые пилы, вероятно, нужны для склеивания бактериальных клеток в составе биопленочного сообщества [29].

Обнаруженный, помимо TCP и MSHA, третий вариант пилей типа IV вносит свой вклад в процесс колонизации хитина, вероятно, ориентируя клетки вибрионов таким образом, чтобы обеспечить эффективный выброс хитиназы системой секреции типа II (general secretory pathway, GSP), структурные элементы которой имеют определенную топографию на поверхности бактериальной клетки, что способствует экономии секретируемого вещества и энергии [5]. Секреция хитиназы требует экспрессии *epsE* – одного из генов локуса *eps* (от *англ.* extracellular protein secretion) [30], которые ответственны за секрецию не только хитиназы, но и холерного энтеротоксина, гемагглютинин-протеазы HA/P, нейраминидазы и липазы, что указывает на важную роль этой секреторной системы в патогенезе холеры и персистенции ее возбудителя во внешней среде [1].

По данным Чиавелли с соавт. [31] мутация гена *mshA* у *V. cholerae* O1 eltor значительно уменьшает адгезию бактериальных клеток к экзоскелетам ветвистоусых планктонных ракообразных *Daphnia pulex*, что подтверждает роль пилей MSHA, ответственных за формирование биопленки в колонизации зоопланктона. При этом эффект мутации существенно проявлялся в отношении *V. cholerae* O139, практически устраняя адгезию, что, по мнению авторов, связано с наличием у последнего полисахаридной капсулы. Как сообщили Регуэра и Колтер [32], холерный вибрион, продуцирующий токсин-корегулируемые пилы TCP, в составе биопленочного сообщества достигает большей численности на хитин-содержащем субстрате, чем клетки TCP-штаммов, обеспечивая механический барьер для диффузии продуктов гидролиза хитина, вследствие чего пищевой субстрат расходуется максимально эффективно и предотвращается утечка хемоаттрактантов для других бак-

терий-конкурентов. Кроме того, продукция TCP, являющихся рецептором для фага CTXφ, на субстратах, содержащих хитин, делает клетки *V. cholerae* восприимчивыми к инфекции этим фагом в составе биопленочного сообщества. Авторы предположили, что клоны *V. cholerae*, способные к продукции TCP, вероятно, имеют селективное преимущество в формировании биопленки на хитине, свидетельством чему может служить прямая связь вспышек холеры с массовым развитием зоопланктона. Эти исследования еще раз указывают на универсальность факторов патогенности, необходимых для развития патологического состояния у человека и для персистенции патогена во внешней среде.

Стресс, вызываемый недостатком питательных веществ в поверхностных водоемах, может приводить к селекции клеток *V. cholerae* с особым «персистирующим» (*persistenter*) фенотипом. Эти штаммы впоследствии могут вызывать эпидемии холеры в ответ на появление в окружающей среде хитина и фосфатов [33]. Действительно, показано, что рост персистирующих клеток избирательно усиливается хитином, фосфатами и присутствием сложных углеводов. Связь указанных клеток с хитином согласуется с данными ранее опубликованных работ, которые позволили предположить, что случаи сезонных эпидемий запускаются массовым развитием фитопланктона (феномен «цветения» воды), сопровождающимся увеличением численности компонентов зоопланктона, таких как *Soropoda*, что приводит к увеличению контактов холерного вибриона с хитином [34].

Взаимосвязь между холерным вибрионом и хитином давно интересует исследователей и не только в связи с тем, что многие виды *Vibrio*, живущие в водной среде, могут использовать хитин в качестве источника энергии, углерода и азота. Такая ассоциация способствует образованию биопленки на природных хитиновых поверхностях и усиливает устойчивость возбудителя холеры к неблагоприятным факторам среды обитания и, в частности, к кислой среде желудка человека, защищает микроорганизм от гибели в условиях низких температур в качестве криопротектора, может способствовать выживанию микроорганизма в поверхностных водоемах в течение периода с низким содержанием ионов натрия [3]. Биопленка *V. cholerae*, образуемая даже на одиночном хитин-содержащем планктонном организме, может содержать достаточно высокую инфицирующую дозу [35]. Кроме того, Колвелл [35] считает, что поглощаемые с морепродуктами холерные вибрионы обладают «липкими» молекулами, повышающими их адгезивную способность. В связи с этим вероятность

заболевания холерой повышается при проглатывании загрязненной воды или неправильно приготовленных моллюсков и ракообразных [36]. К тому же, недавно было показано, что прикрепление клеток *V. cholerae* к хитину способствует экспрессии поверхностного белка, который требуется для инфицирования организма человека [32]. Стаудером с соавт. у *V. cholerae* описано два фактора колонизации, способствующие адгезии к хитину: маннозочувствительный гемагглютинин (MSHA) и *N*-ацетилглюкозамин-связывающий белок А (GbpA) [37]. Таким образом, дары моря могут действовать как важный резервуар патогенных вибрионов, представлять серьезную угрозу здоровью человека [38, 39] и риску развития эпидемических осложнений.

РОЛЬ ХИТИНА В ПРИРОДНОЙ КОМПЕТЕНЦИИ *V. cholerae*

Особый интерес к проблеме взаимодействия *V. cholerae* с хитином вызвал обнаруженный у микроба во время роста и размножения с образованием биопленки на хитиновом субстрате феномен индукции особого состояния, получившего название «естественной (природной) генетической компетентности» и заключающегося в способности бактериальной клетки быть трансформированной в результате поглощения и включения в собственный геном экзогенной ДНК [40, 41]. Инициация природной компетентности возникает в результате экспрессии так называемых генов компетентности, которые частично кодируют специализированные белки, входящие в состав аппарата поглощения ДНК [42]. Многие из этих белков проявляют гомологию с пилиями типа IV (Tfp от *англ.* «transformation pilus») и системами секреции типа II (T2SS). Однако сведения о механизме функционирования таких комплексов поглощения ДНК очень ограничены. У *V. cholerae* идентифицирован минимальный набор из 19 генов компетентности, кодирующих белки, гомологичные структурным компонентам Tfp и компонентам их биосинтеза [42].

Как механизм горизонтального переноса генов природная компетентность влияет на бактериальные эволюционные преобразования и способствует приобретению клетками *V. cholerae* новых генов, в том числе определяющих патогенные свойства возбудителя холеры [42, 43]. Включая экзогенную ДНК в хромосомы, бактерии становятся способными приобретать новые свойства, которые могут увеличивать их приспособляемость к различным условиям окружающей среды. Количество переносимых генов,

индуцируемых компетентностью, у разных микроорганизмов значительно варьирует. Предполагается, что в природных экосистемах среди штаммов *V. cholerae* происходит горизонтальный перенос генов системы секреции типа III [44]. Установлен факт замены целого кластера генов O1-специфического антигена *V. cholerae* O1 эльтор на кластеры генов O37- или O139-антигенов посредством индуцируемой хитином природной компетентности [45]. Кроме того, таким же способом могут переноситься профаг холерного токсина [46] и кластеры метаболических генов [47].

В настоящее время установлено, что под действием одного из промежуточных продуктов гидролиза хитина (ацетилхитобиозы – дисахарида *N*-ацетилглюкозамина) клеточная оболочка холерного вибриона становится проницаемой для ДНК, которая может включаться в состав клеточного генома [48, 49]. Поглощение ДНК природно компетентными клетками бактерий связывается с действием специального аппарата, напоминающего комплекс пилей типа IV. Однако сведения о белке (белках), переносящем ДНК через наружную мембрану холерного вибриона остаются гипотетическими. Показано, что ассоциированный с цитоплазматической мембраной белок ComEA (Rec-2 гомолог) связывает поступающую в периплазму ДНК природно компетентных клеток *V. cholerae*, тем самым способствуя поглощению ДНК, возможно, посредством инерционной и энтропийной сил [50]. Предполагается, что белок ComEA участвует не только в рецепции ДНК, но и в процессе поглощения ДНК.

Недавно установлено, что под контролем хитина находится экспрессия основного регулятора компетентности – TfoX [51]. Однако молекулярные механизмы индукции генетической компетентности, лежащие в основе зависимости от хитина, остаются неясными. Ряд исследований выявили регуляторные события, происходящие после распознавания хитина, являющиеся критическими для возникновения естественной компетентности [40, 52, 53]. Основными регуляторами, вовлеченными в активацию состояния естественной компетентности, являются TfoX (VC1153) и NapR (VC0583), которые регулируют гены, требуемые для поглощения ДНК [53]. Экспрессия NapR контролируется механизмом чувства кворума у *V. cholerae*, тогда как продукция регулятора TfoX контролируется хитином [53–55]. Однако молекулярные механизмы, связывающие прикрепление вибрионов к хитиновым поверхностям, колонизацию субстрата и активацию TfoX, требуют дальнейших исследований. Недавно Далиа с соавт. [51] иденти-

фицировали и охарактеризовали мембрано-связанный регулятор транскрипции TfoS, позитивно регулирующий малую РНК (sRNA) TfoR, которая в свою очередь усиливает посттранскрипционную регуляцию трансляции трансформационного регулятора TfoX, продукта трансформационного гена *tfoX* [56]. С использованием конститутивно активной формы TfoS показано, что активность этого регулятора существенна для активации компетенции *V. cholerae* в отсутствие хитина. TfoS также содержит большой периплазматический домен, который, как предполагают, регулируется взаимодействием с хитином. В гетерологичном хозяине *Escherichia coli* установлено, что олигосахариды хитина существенны для активации TfoS на *tfoR*-промоторе. В целом эти данные характеризуют TfoS как новый хитин-распознающий транскрипционный регулятор, осуществляющий прямую связь между хитином и возникновением природной компетенции у *V. cholerae*.

Феномен трансформации ДНК обеспечивает *V. cholerae* новым для этого микроорганизма механизмом эффективно приобретать гены, необходимые для адаптации к водным местам обитания или для инфицирования организма человека, способствуя тем самым разнообразию эпидемических штаммов *V. cholerae* [46]. Тем не менее маловероятно, что только ассоциация с ракообразными непосредственно приводит к появлению эпидемических штаммов *V. cholerae*. По-видимому, наряду с хитиновой индукцией, немаловажную роль в возникновении новых штаммов *V. cholerae* играют наличие литических фагов. В то время как хитин способствует природной трансформации, вибриофаги, действуя на восприимчивые клетки *V. cholerae*, могут обеспечивать готовый источник ДНК, высвобождаемой из этих донорских бактерий [46]. Это наблюдение может иметь огромное значение для понимания взаимодействия множественных факторов, способствующих эволюции *V. cholerae* и возникновению генетически разнообразных патогенных штаммов.

Более того, недавние исследования показали, что, несмотря на то, что наличие хитина существенно для индукции состояния компетенции у *V. cholerae*, одного его влияния для этого недостаточно [57]. Дополнительные факторы внешней среды также вносят свой вклад в ин-

дукцию природной компетенции у *V. cholerae* и процесс трансформации [43, 45, 52, 53, 57, 58]. Этими факторами являются: недостаток питательных веществ, доступность внеклеточных нуклеозидов, высокая плотность клеток, аккумуляция внутриклеточного цАМФ, способствующая активации сАМР-рецепторного белка (CRP). CRP-связанный сАМР необходим, по крайней мере, на трех этапах природной компетенции и трансформации: колонизация и деградация хитина, а также экспрессия генов компетенции [57]. Вполне возможно, что транскрипция *tfoX* может регулироваться комплексом CRP-сАМР и, следовательно, ФТС-системой. Эти и, возможно, другие факторы таким образом способствуют индукции генетической компетенции и естественной трансформации *V. cholerae* за счет координированной экспрессии регуляторов CRP, CytR, NapR и TfoX соответственно [41].

Таким образом, взаимодействие клеток *V. cholerae* с хитином служит в экологии микроорганизмов примером успешного взаимоотношения бактерий с субстратом, оказывающего комплексное и существенное влияние на образ жизни возбудителя холеры [3]. Как уже отмечалось, хитин является одним из распространенных в природе полимеров и в водных экосистемах его ассоциация с *V. cholerae* дает микроорганизму ряд преимуществ, включая предоставление поверхности для роста и размножения, доступность питательных веществ, адаптацию к их градиенту в окружающей среде, устойчивость к стрессовым воздействиям и защиту от поедания хищными протозойными организмами [59]. Возникающие последствия взаимодействия клеток *V. cholerae* с хитином на разных иерархических уровнях включают в себя метаболические и физиологические реакции клетки, такие, как хемотаксис, деление клеток, образование биопленки, индукция генетической компетентности, комменсальные и симбиотические взаимоотношения с высшими организмами, круговорот питательных веществ и патогенность для человека и водных организмов [60]. Поскольку факторы, опосредующие вирулентность *V. cholerae*, вытекают из механизмов адаптации микроба к окружающей среде, взаимодействие с хитином представляет собой полезную модель для исследования формирования вирулентных штаммов возбудителя холеры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Sikora, A.E. (2013) Proteins secreted via the type II secretion system: smart strategies of *Vibrio cholerae* to maintain fitness in different ecological niches, *PLoS Pathog.*, **9**, e1003126.
- Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Марков Е.Ю., Вишняков В.С., Миронова Л.В., Балахонов С.В., Шкаруба Т.Т. (2014) Связь холерного вибриона с водными организмами и ее значение в эпидемиологии холеры, *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*, **4**, 19–25.
- Pruzzo, C., Vezzulli, L., and Colwell, R.R. (2008) Global impact of *Vibrio cholerae* interactions with chitin, *Environ. Microbiol.*, **10**, 1400–1410.
- Марамович А.С., Урбанович Л.Я., Куликалова Е.С., Шкаруба Т.Т. (2009) Роль и значение поверхностных водоемов в становлении и развитии VII пандемии холеры, *Эпидемиология и инфекционные болезни*, **2**, 21–25.
- Meibom, K.L., Li, X.B., Nielsen, A.T., Wu, C.Y., Roseman, S., and Schoolnik, G.K. (2004) The *Vibrio cholerae* chitin utilization program, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 2524–2529.
- Bartlett, D.H., and Azam, F. (2005) Chitin, cholera, and competence, *Science*, **310**, 1775–1777.
- Lutz, C., Erken, M., Noorian, P., Sun, S., and McDougald, D. (2013) Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*, *Front. Microbiol.*, **4**, 375.
- Kirn, T.J., Jude, B.A., and Taylor, R.K. (2005) A colonization factor links *Vibrio cholerae* environmental survival and human infection, *Nature*, **438**, 863–866.
- Бабенко А.Ю., Шелегедин В.Н. (2006) Исследование хитиназного комплекса бактериального штамма *Vibrio* sp. X, *Биотехнология*, **1**, 12–19.
- Hunt, D.E., Gevers, D., Vahora, N.M., and Polz, M.F. (2008) Conservation of the chitin utilization pathway in the *Vibrionaceae*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 44–51.
- Hirano, T., Kadokura, K., Ikegami, T., Shigeta, Y., Kumaki, Y., Hakamata, W., Oku, T., and Nishio, T. (2009) Heterodisaccharide 4-*O*-(*N*-acetyl- β -D-glucosaminyl)-D-glucosamine is a specific inducer of chitinolytic enzyme production in *Vibrios* harboring chitin oligosaccharide deacetylase genes, *Glycobiology*, **19**, 1046–1053.
- Мишанькин Б.Н., Шиманюк Н.Я., Водопьянов С.О., Романова Л.В., Водопьянов А.С., Дуванова О.В., Атарова Г.Т., Демьяненко С.В. (2010) Изучение хитинолитического комплекса холерного вибриона сероварианта O139, *Биотехнология*, **1**, 32–40.
- Tran, H.T., Barnich, N., and Mizoguchi, E. (2011) Potential role of chitinases and chitin-binding proteins in host-microbial interactions during the development of intestinal inflammation, *Histol. Histopathol.*, **26**, 1453–1464.
- Keyhani, N.O., Li, X., and Roseman, S. (2000) Chitin catabolism in the marine bacterium *Vibrio furnissii*: identification and molecular cloning of a chitoporin, *J. Biol. Chem.*, **275**, 33068–33076.
- Vezzulli, L., Pezzati, E., Repetto, B., Stauder, M., Giusto, G., and Pruzzo, C. (2008) A general role for surface membrane proteins in attachment to chitin particles and copepods of environmental and clinical vibrios, *Lett. Appl. Microbiol.*, **46**, 119–125.
- Heidelberg, J.F., Eisen, J.A., Nelson, W.C., Clayton, R.A., Gwinn, M.L., Dodson, R.J., Haft, D.H., Hickey, E.K., Peterson, J.D., Umayam, L., Gill, S.R., Nelson, K.E., Read, T.D., Tettelin, H., Richardson, D., Ermolaeva, M.D., Vamathevan, J., Bass, S., Qin, H., Dragoi, I., Sellers, P., McDonald, L., Utterback, T., Fleishmann, R.D., Nierman, W.C., White, O., Salzberg, S.L., Smith, H.O., Colwell, R.R., Mekalanos, J.J., Venter, J.C., and Fraser, C.M. (2000) DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*, *Nature*, **406**, 477–484.
- Bhowmick, R., Ghosal, A., and Chatterjee, N.S. (2007) Effect of environmental factors on expression and activity of chitinase genes of vibrios with special reference to *Vibrio cholerae*, *J. Appl. Microbiol.*, **103**, 97–108.
- Ghosh, S., Rao, K.H., Sengupta, M., Bhattacharya, S.K., and Datta, A. (2011) Two gene clusters co-ordinate for a functional *N*-acetylglucosamine catabolic pathway in *Vibrio cholerae*, *Mol. Microbiol.*, **80**, 1549–1560.
- Mondal, M., Nag, D., Koley, H., Saha, D.R., and Chatterjee, N.S. (2014) The *Vibrio cholerae* extracellular chitinase ChiA2 is important for survival and pathogenesis in the host intestine, *PLoS One*, **9**, e103119.
- Li, X., and Roseman, S. (2004) The chitinolytic cascade in *Vibrios* is regulated by chitin oligosaccharides and a two-component chitin catabolic sensor/kinase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 627–631.
- Jude, B.A., Martinez, R.M., Skorupski, K., and Taylor, R.K. (2009) Levels of the secreted *Vibrio cholerae* attachment factor GbpA are modulated by quorum-sensing-induced proteolysis, *J. Bacteriol.*, **191**, 6911–6917.
- Hammer, B.K., and Bassler, B.L. (2007) Regulatory small RNAs circumvent the conventional quorum sensing pathway in pandemic *Vibrio cholerae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 11145–11149.
- LeClerc, G.R., Buchan, A., and Hollibaugh, J.T. (2004) Chitinase gene sequences retrieved from diverse aquatic habitats reveal environment-specific distributions, *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 6977–6983.
- Orikoshi, H., Nakayama, S., Miyamoto, K., Hanato, C., Yasuda, M., Inamori, Y., and Tsujibo, H. (2005) Roles of four chitinases (ChiA, ChiB, ChiC, and ChiD) in the chitin degradation system of marine bacterium *Alteromonas* sp. strain O-7, *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 1811–1815.
- Bouma, C.L., and Roseman, S. (1996) Sugar transport by the marine chitinolytic bacterium *Vibrio furnissii*: molecular cloning and analysis of the glucose and *N*-acetylglucosamine permeases, *J. Biol. Chem.*, **271**, 33457–33467.
- Park, J.K., Keyhani, N.O., and Roseman, S. (2000) Chitin catabolism in the marine bacterium *Vibrio furnissii*. Identification, molecular cloning, and characterization of a *N*-*N*-diacetylchitobiose phosphorylase, *J. Biol. Chem.*, **275**, 33077–33083.
- Li, X., Wang, L.X., Wang, X., and Roseman, S. (2007) The chitin catabolic cascade in the marine bacterium *Vibrio cholerae*: characterization of a unique chitin oligosaccharide deacetylase, *Glycobiology*, **17**, 1377–1387.
- Kaneko, T., and Colwell, R.R. (1975) Adsorption of *Vibrio parahaemolyticus* onto chitin and copepods, *Appl. Microbiol.*, **29**, 269–274.
- Shime-Hattori, A., Iida, T., Arita, M., Park, K.S., Kodama, T., and Honda, T. (2006) Two type IV pili of *Vibrio parahaemolyticus* play different roles in biofilm formation, *FEMS Microbiol. Lett.*, **264**, 89–97.
- Folster, J.P., and Connell, T.D. (2002) The extracellular transport signal of the *Vibrio cholerae* endochitinase (ChiA) is a structural motif located between aminoacids 75 and 555, *J. Bacteriol.*, **184**, 2225–2234.
- Chiavelli, D.A., Marsh, J.W., and Taylor, R.K. (2001) The mannose-sensitive hemagglutinin of *Vibrio cholerae* promotes adherence to zooplankton, *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 3220–3225.
- Reguera, G., and Kolter, R. (2005) Virulence and the environment: a novel role for *Vibrio cholerae* toxin-coregulated

- pili in biofilm formation on chitin, *J. Bacteriol.*, **187**, 3551–3555.
33. Jubair, M., Morris, J.G., and Ali, A. (2012) Survival of *Vibrio cholerae* in nutrient-poor environments is associated with a novel “persister” phenotype, *PLoS One*, **7**, e45187.
 34. Huq, A., Sack, R.B., Nizam, A., Longini, I.M., Nair, G.B., Ali, A., Morris, J.G., Jr., Khan, M.N., Siddique, A.K., Yunus, M., Albert, M.J., Sack, D.A., and Colwell, R.R. (2005) Critical factors influencing the occurrence of *Vibrio cholerae* in the environment of Bangladesh, *Appl. Environ. Microbiol.*, **71**, 4645–4654.
 35. Colwell, R.R. (2004) Infectious disease and environment: cholera as a paradigm for waterborne disease, *Int. Microbiol.*, **7**, 285–289.
 36. Castro-Rosas, J., and Escartin, E.F. (2002) Adhesion and colonization of *Vibrio cholerae* O1 on shrimp and crab carapaces, *J. Food Prot.*, **65**, 492–498.
 37. Stauder, M., Huq, A., Pezzati, E., Grim, C.J., Ramoino, P., Pane, L., Colwell, R.R., Pruzzo, C., and Vezzulli, L. (2012) Role of GbpA protein, an important virulence-related colonization factor, for *Vibrio cholerae*'s survival in the aquatic environment, *Environ. Microbiol. Rep.*, **4**, 439–445.
 38. Suzita, R., Abdulmir, A.S., Bakar, F.A., and Son, R. (2009) A mini review: cholera outbreak via shellfish, *Am. J. Infect. Dis.*, **5**, 40–47.
 39. Sathiyamurthy, K., Baskaran, A., and Kumar, S.D. (2013) Prevalence of *Vibrio cholerae* and other vibrios from environmental and seafood sources, Tamil Nadu, India, *Brit. Microbiol. Res. J.*, **3**, 538–549.
 40. Meibom, K.L., Blokesch, M., Dolganov, N.A., Wu, C.Y., and Schoolnik, G.K. (2005) Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*, *Science*, **310**, 1824–1827.
 41. Sun, Y., Bernardy, E.E., Hammer, B.K., and Miyashiro, T. (2013) Competence and natural transformation in vibrios, *Mol. Microbiol.*, **89**, 583–595.
 42. Metzger, L.C., and Blokesch, M. (2014) Composition of the DNA-uptake complex of *Vibrio cholerae*, *Mob. Genet. Elements*, **4**, e28142.
 43. Seitz, P., and Blokesch, M. (2013) Cues and regulatory pathways involved in natural competence and transformation in pathogenic and environmental Gram-negative bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.*, **37**, 336–363.
 44. Morita, M., Yamamoto, S., Hiyoshi, H., Kodama, T., Okura, M., Arakawa, E., Alam, M., Ohnishi, M., Izumiya, H., and Watanabe, H. (2013) Horizontal gene transfer of a genetic island encoding a type III secretion system distributed in *Vibrio cholerae*, *Microbiol. Immunol.*, **57**, 334–339.
 45. Blokesch, M., and Schoolnik, G.K. (2007) Serogroup conversion of *Vibrio cholerae* in aquatic reservoirs, *PLoS Pathog.*, **3**, e81.
 46. Udden, S.M., Zahid, M.S., Biswas, K., Ahmad, Q.S., Cravioto, A., Nair, G.B., Mekalanos, J.J., and Faruque, S.M. (2008) Acquisition of classical CTX prophage from *Vibrio cholerae* O141 by El Tor strains aided by lytic phages and chitin-induced competence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 11951–11956.
 47. Miller, M.C., Keymer, D.P., Avelar, A., Boehm, A.B., and Schoolnik, G.K. (2007) Detection and transformation of genome segments that differ within a coastal population of *Vibrio cholerae* strains, *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 3695–3704.
 48. De Souza Silva, O., and Blokesch, M. (2010) Genetic manipulation of *Vibrio cholerae* by combining natural transformation with FLP recombination, *Plasmid*, **64**, 186–195.
 49. Yamamoto, S., Morita, M., Izumiya, H., and Watanabe, H. (2010) Chitin disaccharide (GlcNAc)₂ induces natural competence in *Vibrio cholerae* through transcriptional and translational activation of a positive regulatory gene *tfoX^{VC}*, *Gene*, **457**, 42–49.
 50. Seitz, P., Pezeshgi Modarres, H., Borgeaud, S., Bulushev, R.D., Steinbock, L.J., Radenovic, A., Dal Peraro, M., and Blokesch, M. (2014) ComEA is essential for the transfer of external DNA into the periplasm in naturally transformable *Vibrio cholerae* cells, *PLoS Genet.*, **10**, e1004066.
 51. Dalia, A.B., Lazinski, D.W., and Camilli, A. (2014) Identification of a membrane-bound transcriptional regulator that links chitin and natural competence in *Vibrio cholerae*, *MBio*, **5**, e01028.
 52. Antonova, E.S., and Hammer, B.K. (2011) Quorum-sensing autoinducer molecules produced by members of a multispecies biofilm promote horizontal gene transfer to *Vibrio cholerae*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **322**, 68–76.
 53. Lo Scudato, M., and Blokesch, M. (2013) A transcriptional regulator linking quorum sensing and chitin induction to render *Vibrio cholerae* naturally transformable, *Nucleic Acids Res.*, **41**, 3644–3658.
 54. Zhu, J., Miller, M.B., Vance, R.E., Dziejman, M., Bassler, B.L., and Mekalanos, J.J. (2002) Quorum-sensing regulators control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 3129–3134.
 55. Lenz, D.H., Mok, K.C., Lilley, B.N., Kulkarni, R.V., Wingreen, N.S., and Bassler, B.L. (2004) The small RNA chaperone Hfq and multiple small RNAs control quorum sensing in *Vibrio harveyi* and *Vibrio cholerae*, *Cell*, **118**, 69–82.
 56. Yamamoto, S., Mitobe, J., Ishikawa, T., Wai, S.N., Ohnishi, M., Watanabe, H., and Izumiya, H. (2014) Regulation of natural competence by the orphan two-component system sensor kinase ChiS involves a non-canonical transmembrane regulator in *Vibrio cholerae*, *Mol. Microbiol.*, **91**, 326–347.
 57. Blokesch, M. (2012) A quorum sensing-mediated switch contributes to natural transformation of *Vibrio cholerae*, *Mob. Genet. Elements*, **2**, 224–227.
 58. Suckow, G., Seitz, P., and Blokesch, M. (2011) Quorum sensing contributes to natural transformation of *Vibrio cholerae* in a species-specific manner, *J. Bacteriol.*, **193**, 4914–4924.
 59. Matz, C., McDougald, D., Moreno, A.M., Yung, P.Y., Yildiz, F.H., and Kjelleberg, S. (2005) Biofilm formation and phenotypic variation enhance predation driven persistence of *Vibrio cholerae*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 16819–16824.
 60. Blokesch, M. (2014) The lifestyle of *Vibrio cholerae* fosters gene transfers, *Microbe*, **9**, 64–70.

**CHITIN AND PRODUCTS OF ITS HYDROLYSIS
IN *Vibrio cholerae* ECOLOGY****E. Yu. Markov^{1*}, E. S. Kulikalova¹, L. Ya. Urbanovich¹,
V. S. Vishnyakov², S. V. Balakhonov¹**

¹ Irkutsk Antiplague Research Institute of Rosпотребнадзор,
ul. Trilissera 78, Irkutsk 664002, Russia; fax: +7(3952)220-140,
E-mail: mark_evgenii@mail.ru

² I. D. Papanin Institute of Internal Waters Biology,
Russian Academy of Sciences, Borok, Yaroslavskaia obl. 152742,
Russia; fax: +7(48547)24-042

Received November 24, 2014

Revision received February 19, 2015

The role of chitin and its hydrolysis products generated by *Vibrio cholerae* chitinases in mechanisms of its adaptation to an aquatic environment and metabolism, preservation, and acquisition of pathogenic potential and its epidemiological value is reviewed. Chitin utilization by *V. cholerae* as a source of energy, carbon, and nitrogen is described. Chitin association promotes biofilm formation on natural chitinous surfaces, increasing the resistance of *V. cholerae* to adverse factors in ecological niches: in the human body and in an aqueous environment with other inhabitants. Hydrolytic enzymes regulated by the corresponding genes result in complete chitin biodegradation by means of the chitinolytic catabolic cascade. Consequences of *V. cholerae* cell and chitin interaction at different hierarchical levels include metabolic and physiological cell reactions such as chemotaxis, cell division, biofilm formation, induction of genetic competence, and commensalic and symbiotic mutual relations with higher organisms, nutrient cycle, pathogenicity for humans and aquatic organisms, which is an example of successful interrelation of bacteria and substratum in the ecology of microorganisms.

Key words: *Vibrio cholerae* *eltor*, chitinolytic cascade, genetic regulation, ecology