

Myxococcus xanthus socD500에 의한 포자 형성 및 CsgA 신호에 특이적 유전자의 발현에 관한 연구

이 병 옥*

고신대학교 생명과학과

Myxococcus xanthus socD500 mutation causes Sporulation and Induction of two C-signal Specific Genes

Bheong-Uk Lee*

Dept. of Biological Sciences, Kosin University, Busan 606-701, Korea

Abstract

Myxococcus xanthus is a Gram negative, rod-shaped, soil bacterium that displays a social behaviors, and multicellular development upon nutrient deprivation. The *csgA* gene encoding a cell surface protein is essential for developmental behaviors including rippling, aggregation, fruiting body formation and sporulation. *csgA* mutants show normal vegetative growth, but lack all these developmental phenotypes. Expression of the CsgA (C-signal) specific genes are eliminated or dramatically reduced in *csgA* mutants. In order to identify components of C-signal transduction pathway, second site mutations were introduced into *csgA* mutants and were identified which can fully or partially restore development of *csgA* mutants (Rhie, H. G. et. al. 1989. *J. Bacteriol.* **171**, 3268-3276). One of such *csgA* suppressor mutations, *socD500* restores only sporulation to *csgA* mutants at 15°C. The *socD500* mutation however eliminates the three basic developmental requirements, starvation, high cell density and a solid surface. Only sporulation, not accompanied with fruiting body formation is induced simply by shifting the temperature of vegetatively growing cells from 32°C to 15°C. Spores induced by *socD500* mutation is not as thick as that of wild-type fruiting body. In *socD500* genetic background, two of ten C-signal dependent genes, Ω DK4506 and Ω DK4406 are more highly expressed in growing cells at 15°C. These results indicate that the *socD500* mutation may be partly involved in the regulation of expression of two C-signal dependent genes and genes for sporulation in this transduction pathway.

Key words – *Myxococcus xanthus*, *csgA*, *socD500*, suppressor, C-signal

서 론

Myxobacteria는 수십만 개체가 군집 생활을 하는 간균

형의 그람 음성세균으로 주로 토양에서 생활한다. 이 그룹 중에서는 *Myxococcus xanthus*에 대한 많은 미생물 발생학적, 유전학적 연구가 수행되었다[3,20-22]. *M. xanthus*는 대수기의 성장 시에는 약 4 시간의 generation time을 보이며 이분법으로 증식한다. 영양분의 고갈 시에는 약 10^5 세포들이 한 지점으로 모여서 집단을 이루고, 자실체를 형성한다.

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 051-400-2321, Fax : 051-405-9905
E-mail : bulee@kosin.ac.kr

자실체 안에서는 간균 형태의 세포가 원형의 비활성 원형 포자 (myxospore)로 형태가 바뀐다[27]. 발생 중의 이런 다세포성 형태 형성은 세포간 신호 전달에 의해서 이루어지는데, 현재까지 A, B, C, D, 및 E-signal 이라 명명된 신호 전달체계가 발견되었다. 각 신호전달체계에 대한 순서는 발생시에만 발현되는 유전자 프로모터에 연결된 Tn5 lac 보고유전자를 조사함으로써 연구되어졌으며, 그 중에서도 CsgA 자체 및 이에 기인한 신호 전달체계에 관련된 유전자들이 가장 많이 조사되어졌다[7,8]. csgA 돌연변이체는 *M. xanthus*의 발생과정에서 나타나는 세 가지 현상, 즉 파동 모양의 세포집단 운동인 rippling, 세포의 결집에 의한 포자낭 형성 및 포자형성이 결여되어 있다[24]. 이 현상들은 csgA의 발현이 높아감에 따라서 순차적으로 일어나므로, CsgA를 발생 시계 (developmental timer)라고 한다 [13]. csgA는 분자량이 24.5 kDa인 단백질을 암호화하는데, CsgA는 short chain alcohol dehydrogenase (SCAD) 그룹의 특징을 보인다[11,12]. CsgA 단백질은 anti-CsgA 항체로 조사한 결과 세포외부에 존재하는 것으로 밝혀졌다[25]. 따라서 야생형 균주로부터 분리된 CsgA 혹은 대장균으로부터 생산된 MalE-CsgA 융합 단백질을, csgA 돌연변이체의 발생시에 첨가하면 rippling을 제외한 모든 발생현상이 회복되는 것은 물론, CsgA 신호 전달체계에 관련된 유전자들의 발현도 회복되는 것으로 보고가 되었다[9,11].

csgA 돌연변이체로부터 포자 형성이 회복되는 2차돌연변이 (suppressor mutation)를 갖는 돌연변이체를 분리하는 것은 CsgA 신호 전달체계에 참여한 유전자들을 조사하기 위하여 매우 유용하다. Rhie 등은 csgA 돌연변이체에 적외선 조사, 트랜스포손의 도입 등 여러 돌연변이 유발을 유도하여 csgA 돌연변이를 갖지만 포자의 형성이 회복되는 2차 돌연변이 균주들을 분리하였다[17]. 이 경우에 csgA 돌연변이체에 2차 돌연변이를 유도한 후에, 포자는 초음파에 저항을 갖고 있음으로 생존이 가능하다는 점을 이용하여, 2차 돌연변이체들에 초음파에 의한 균주 파쇄를 수행하여 포자가 형성되어 생존한 균주만을 분리하는 방법을 이용하였다. Complementation 조사 등 유전학적 실험에 의해서 포자를 회복하는 7 그룹의 2차 돌연변이균이 존재하는 것을 밝혀졌는데 그 중에 한 그룹이 socD500이다[17]. socD500을 동시에 갖는 csgA 돌연변이체는 영양분의 고갈 및 자실체의 형성이 없이도 단순히 성장 온도를 32°C에서 15°C로 낮추기만 하면 액체배지나 고체배지에 관계없이 초음파에

저항을 갖는 포자를 형성하였다[17,18]. socD500은 정상 유전자에 우성을 나타냈는데, 정상 유전자와 socD500이 한 균주 안에 동시에 존재하면 socD500 균주의 표현형을 보여주었다[10,18].

본 논문에서는 전자현미경 사진을 통해서 socD500에 의해서 형성되는 포자와 정상 포자의 형태를 비교하고, Tn5lacZ에 의해서 표지된 CsgA 신호에 특이적 유전자들의 발현율을 야생균주와 socD500 돌연변이를 갖는 균주에서 측정하여 상호 비교함으로써, 2개의 CsgA 신호 특이적 유전자들의 발현이 socD500 환경에서는 변화됨을 보고하려 한다.

재료 및 방법

균주 및 박테리오파이지

야생형 *M. xanthus* 균주로는 DK1622을 사용하였으며 [23], csgA 돌연변이 균주는 LS523[22], csgA, socD500 균주로는 LS500, socD500 균주로는 LS637[17]를 사용하였다. 기타 사용균주는 Table 1에 요약하였다. *M. xanthus* 세포는 CTT 배지 [1% Casitone (Difco Laboratories)], 10 mM Tris-HCl, 1 mM KH₂PO₄-KHPO₄, 8 mM MgSO₄ (pH8.0)] 필요시에 1.5% agar (Difco Laboratories)에서 배양되었다. 발생을 유발하기 위해서는 5×10⁸ 세포들이 TPM agar [10 mM Tris-HCl, 1 mM KH₂PO₄-KHPO₄, 8 mM MgSO₄ (pH7.6) plus 1.5% agar] 혹은 CF agar [10 mM Tris-HCl, 1 mM KH₂PO₄-KHPO₄, 8 mM MgSO₄, 0.2 mg of [NH₄]₂SO₄/ml, 150 µg of Casitone/ml, 1 mg sodium pyruvate/ml, 2 mg sodium citrate/ml (pH7.6) plus 1.5% agar]에 도말되었다. 자실체는 해부 현미경으로 관찰되었으며, 포자는 phase contrast 현미경으로 관찰되었다. 일반 형질도입을 위한 박테리오파이지는 CTT 배지의 액체 lysate로 준비되었다.

전자현미경에 의한 포자 관찰

야생형 균주의 정상 포자는 TPM agar 배지 위에 DK1622 균주를 32°C에서 5일간 배양하는 방법에 의해서 준비되었다. socD500 포자를 준비하기 위해서는 LS637 균주를 CTT agar 배지 상에 32°C에서 5일간 배양한 후에 15°C로 온도를 내려 2일 동안 더 배양하였다. 모든 포자들은 sucrose

Table 1. *M. xanthus* strains containing CsgA-specific gene fused to a *lac* gene.

<i>lac</i> insertions ¹⁾	Strains' genetic background			Time of expression ²⁾
	wild-type	<i>soc-500 csgA</i>	<i>csgA</i>	
<i>csgA</i>	LS902	LS1157	LS904	6 h
QDK4531	DK4531	LS559	LS452	5 h
QDK4531	DK4499	LS1159	LS446	6 h
QDK4506	DK4506	LS1160	LS451	10 h
QLS234	LS234	LS1158	LS235	10 h
QDK4406	DK4294	LS584	LS251	12 h
QDK4500	DK4500	LS604	LS246	13 h
<i>ops</i>	LS224	LS1166	LS225	18 h
QDK4435	DK5204	LS572	LS248	22 h
QDK4401	DK4293	LS578	LS244	25 h

¹⁾*lac* insertion means that a *lac* gene is fused to a gene mentioned below, that is, *csgA-lac* or *ops-lac* etc.

²⁾Time of expression during development is the average reported value[2,9,14,28].

밀도 구배법에 의해서 수집되었으며[5] glutaraldehyde가 최종 농도 2%로 첨가되어 4°C에서 2시간 동안 처리되었다. 포자들은 0.1 M cacodylate 완충액 (pH7.25)으로 3 차례 세척되었으며, 2% OsO₄가 함유된 0.1 M cacodylate 완충액에서 4°C, 1시간 배양되었다. 포자들은 다시 0.1 M cacodylate 완충액 (pH7.25)으로 3 차례 세척되었으며, 2% uranyl acetate에 의해서 염색되었다. 시료들은 30%, 50%, 70%, 85%, 95%, 두 번의 100% (v/v)의 에탄올을 각각 15분씩 순차적으로 처리하여 탈수하였다. 포자들은 propylene oxide에 의해서 각각 20분씩 두 번 세척되었으며, Spurr 레진:propylene의 비율이 1:3, 1:2, 1:1, 2:1 및 3:1인 되도록 싸여졌다[26]. 마지막으로 100% Spurr 레진에 시료가 싸여진 후에 진공 상태에서 72시간 처리하고, 70°C에서 6시간동안 처리하여 polymerization이 수행되도록 하였다. 포자는 JOEL 100CXII 주사 전자현미경으로 관찰되었다.

낮은 온도에 의한 CsgA 신호에 특이적인 유전자의 발현 유발

CsgA 특이성 유전자들은 보고 유전자인 *lacZ* 유전자에 연결이 되어있으므로, 특정 배양조건에서 발현율을 측정할 수가 있도록 설계되었다[9]. 5×10^6 세포들이 CTT 배지에 도말되고 32°C에서 24 시간동안 배양된 후에, 15°C로 배양 온도를 낮추었다. 15°C에서 48시간을 더 배양한 후에 세포들은 멸균된 면도날을 사용하여 agar 표면으로부터 수거되고 β -galactosidase 활성이 측정되었다. 본 실험에 이용된

균주들은 Table 1에 표시되었다.

β -galactosidase 활성 측정

*M. xanthus*로부터의 β -galactosidase 활성은 Kroos 등의 방법을 이용하였다[8,9]. 세포 시료는 0.1 M sodium phosphate (pH7.6), 10 mM KCl, 1 mM MgSO₄s이 포함된 완충액에 현탁된후에 얼음 위에서 초음파에 의해서 15초 처리되고 45초 냉각시키는 과정을 3회 반복함으로 파쇄되었다. 시료는 12,000 g에서 1 분간 원심분리하여, 세포 debris를 제거한 후에, 상층액만을 β -galactosidase 활성 측정에 이용하였다. 기질로는 *o*-nitrophenyl- β -D-galactoside (ONPG)를 사용하였으며, 단백질 농도는 BCA 시약을 사용하여 소의 혈장 알부민 (BSA)을 기준으로 분석하였다. β -galactosidase의 특정 활성은 1 분당 단백질 1 milligram이 생성하는 *o*-nitrophenol의 생성이 nanomole을 단위로 계산되었다.

결과 및 고찰

포자의 구조

socD500 돌연변이는 단순히 성장 온도를 32°C에서 15°C로 옮기는 것에 의해서 *csgA* 균주는 물론, *socD500*을 갖는 야생형 균주에서도 포자 형성을 유발할 수가 있다[18]. 주사 전자현미경에 의해서 정상 포자와 *socD500*에 의해 유발된 포자의 미세 구조가 비교 관찰이 되어졌다 (Fig. 1). 정상 포자는 매우 두꺼운 여러 겹의 막으로 쌓여 있는 반면

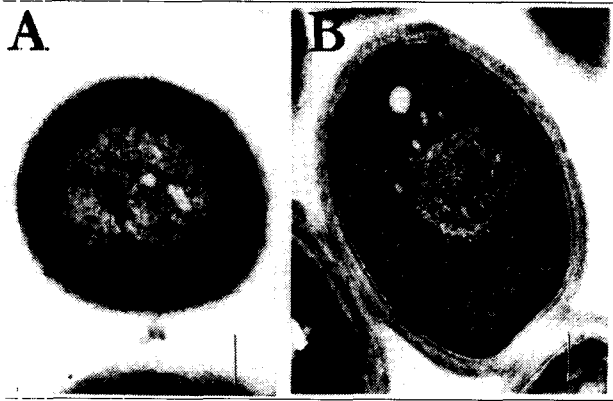


Fig. 1. Ultrastructure of myxospores. A is wild-type DK1622 myxospores. B is *socD500* spores formed by temperature shift to 15°C. Bar equals 0.2 μ m.

어 *socD500*에 의한 포자는 얇은 막들로 쌓여있음을 볼 수가 있다. 이는 *socD500* 돌연변이가 낮은 온도에서 포자를 형성시키는 원인은 되지만, 정상 포자에서 볼수 있는 모든 포자를 구성하는 단백질들의 발현을 일으키지는 못한다는 의미이다. 가장 분명한 차이점은 정상 포자가 *M. xanthus*의 발생 과정에서 가장 많이 생산되는 단백질인 protein S에 의해서 가장 외부의 두꺼운 막을 이루는 것으로 밝혀졌는데[5], *socD500* 포자에서는 protein S가 관찰되지 않았으며, 이는 *socD500* 균주에서 *ops*, protein S를 암호화하는 유전자의 발현이 증가되지 않은 것에서도 확인될 수가 있었다 (Fig. 2).

*socD500*에 의해서 발현이 유발되는 유전자들

최소 10 종류 이상의 유전자들이 발생 및 CsgA의 신호에 따라서 특이적으로 발현된다는 것이 보고되었다[8]. Kroos 등은 보고 유전자인 *lacZ* 및 kanamycin 내성 유전자를 갖는 트랜스포손을 염색체 내로 무작위적으로 삽입하여 kanamycin 내성 균주들을 분리한 후에, A부터 D까지의 세포 간 신호에 의해서 *lacZ*가 발현되는 균주들을 분리하고, 각각의 세포 간 신호에 의해서 특이적으로 발현되는 유전자들을 분리하였다[9]. 이 결과 CsgA 신호 전달에서는 *csgA* 자체의 발현을 조절하는 autoregulation을 포함하여 CsgA 신호에 특이적인 유전자들이 분리되었다[8]. 본 연구에서는 낮은 온도에서 성장한 *socD500* 돌연변이를 갖는 균주에서의 CsgA 신호에 특이적인 10 종류의 유전자들

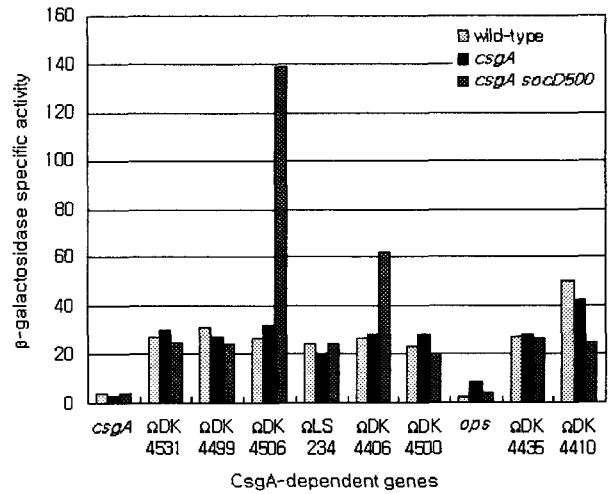


Fig. 2. Expression of *csgA*-dependent genes following temperature shift to 15°C. By measuring β -galactosidase specific activity. Values represent averages from two or three independent experiments.

의 발현을 조사하였다 (Fig. 2). 흥미롭게도 *socD500* 돌연변이를 갖는 균주에서는 낮은 성장 온도에 의해서, 두 종류의 CsgA 특이적 유전자들인 Δ DK4506 및 Δ DK4406가 높게 발현되는 것으로 나타났다. 이 유전자들은 야생형 균주나 *csgA* 돌연변이만을 갖는 균주에서는 낮은 온도에 의해서 발현되지 않음을 관찰할 수가 있었다 (Fig. 2). Δ DK4506의 발현율은 야생 균주에서 측정되는 것보다도 약 5 배가 높게 발현하였으며, Δ DK4406의 발현율은 약 2배가 증가하였다. 정상적인 발생에서 보면, 이 두 유전자들은 각각 영양분이 고갈된 후에 10시간과 12시간 후에 발현이 되는 것으로 보고가 되었으며, 이 경우에도 영양분의 고갈, 고체배지 및 정상적인 CsgA 신호 체계라는 세가지의 조건이 충족해야만 하는 것으로 알려졌다[8]. *socD500* 돌연변이가 균주에서는 *csgA* 돌연변이를 동시에 갖고 있으며, 다량의 영양분이 존재함에도 불구하고, 단순히 낮은 온도로 성장 환경을 변화시킨 것에 의해서 두 유전자의 발현이 관찰되었다. 특히 *socD500* 균주에서는 15°C에서 Δ DK4506의 발현율이, 야생 균주에서 발생 중에 관찰되는 최고치보다도 3 배나 더 높게 유발되는 것으로 나타났다 (Fig. 3).

이 결과들은 *socD500*이 CsgA 신호전달 체계의 한 요소로 참여하고 있다는 생각을 가능하게 한다. 낮은 온도, 그 자체만으로 *socD500* 돌연변이가, 정상적인 환경에서는 발

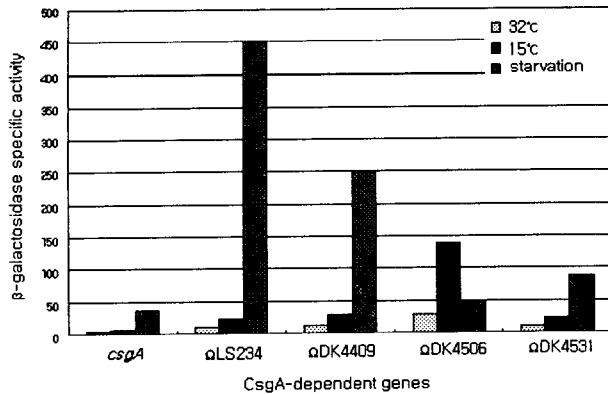


Fig. 3. Comparison of expression of *csgA*, and *csgA*-dependent genes at different conditions. Wild-type cells were used for measuring expression. *csgA scoD-500* cells were used for measuring expression.

생활 수 없는 CsgA 신호 전달 체계의 일부 체계가 작동을 시키기 시작하고, 그 결과로 CsgA 특이적인 두 유전자의 발현이 유발되는 것이다. *socD500* 돌연변이는 낮은 온도에서만 비정상적 신호 전달 체계를 일으킴으로 cold-sensitive 돌연변이일 것으로 생각할 수 있다. 즉 낮은 온도는 SocD500 단백질에 어떤 구조적 변화를 일으키고, 구조적으로 변화된 SocD500이, 존재하지도 않는 CsgA 신호를 있는 것으로 오인하게 함으로서, CsgA 세포간 신호에 의해서만이 특이적으로 발현되는 두 유전자의 전사를 유발하였을 것이라는 유추가 가능하다.

*socD500*의 특성

*M. xanthus*의 발생시에 CsgA에 의한 신호전달 체계의 여러 기능들 중의 하나는 포자 형성을 유발하는 것이다. *csgA* 돌연변이체에 포자형성을 유발하는 돌연변이들을 탐색함으로써 CsgA에 의한 신호전달 체계에 관여하는 유전자들을 분리할 수가 있다는 것이 Rhie 등의 실험의 기본 원리였다[17]. *socD500* 돌연변이는 영양분이 과다하게 존재하는 액체 상태에서 15°C의 낮은 배양 온도에 의해서 포자가 형성되었다[18]. 또한 *socD500* 돌연변이는 CsgA가 존재하고, 발생 과정에서 10 시간과 12 시간 후에만 발현되는 ΔDK4506 및 ΔDK4406 두 유전자의 발현을 유발시켰다. 이것은 *socD500* 돌연변이가 직접 혹은 간접적으로 CsgA 신호전달 체계에 관여하고 있다는 의미이다. *socD500* 유전

자의 서열 분석 자료를 보면 *socD*는 세균, 효모 및 식물에서 관찰되는 two component 신호전달 체계의 구성 요소인 histidine protein kinase를 암호화하는 것으로 나타났다[10]. Two component 신호전달 체계는 두 종류의 단백질 분자로 구성되어 있는데 sensor 역할을 하는 histidine protein kinase와 regulator 역할을 하는 *trans-acting* DNA-binding regulator이다[16,30]. 이 신호전달 체계는 주화성 및 포자 형성 유발 등 세균이 인지하는 매우 다양한 신호의 전달을 위해 사용되는 것으로 밝혀졌다[총설 16,30, 논문 1,4,15,19,31,32]. Two component 신호전달 체계는 현재 수많은 세균들과 진균류 및 식물에도 존재하고 있는 것으로 알려졌다[총설 13,21, 논문 22-25]. *M. xanthus*의 경우에는 *sasS* 유전자가 발생에 참여하는 유전자의 발현을 위해 필요한 histidine protein kinase를 암호화하는 것으로 알려졌다[32], protease의 하나인 LonD의 생산이 two-component 체계의 신호전달에 의해서 조절되는 것으로 보고가 되었다[29]. *socD500* 돌연변이에 의한 포자 발생의 기작의 가설을 세워보면, histidine protein kinase인 *socD* 유전자에 돌연변이가 발생하여 SocD500 돌연변이 단백질이 생산되고, 이 단백질은 15°C의 낮은 성장 온도에 의해서 구조적 변화가 발생하고, 이 변화에 의해서 실제 존재하지도 않는 CsgA 신호가 존재하는 것으로 잘못 인식되어 CsgA 신호 전달 체계의 유전자들의 일부인 ΔDK4506 및 ΔDK4406 두 유전자들 및 포자의 형성에 참여하는 유전자들이 발현되는 것이다. 하지만 *socD500*에 의한 CsgA 신호 전달은 완전하지 못하여 모든 CsgA 특이적 유전자들의 발현이 유발되지는 않으며, 또한 protein S와 같이 포자 형성에 참여하는 모든 단백질들도 생산되는 것이 아니므로 불안정한 포자가 생산된다고 할 것이다.

요 약

군집을 이루어 생활을 하는 세균류의 하나인 *M. xanthus*의 *csgA* 유전자는 세포 표면 단백질을 암호화하는데 이 단백질은 *M. xanthus*의 자실체 및 포자 형성을 수반하는 발생 (development)에 필수적이다. *csgA* 돌연변이들은 정상적인 성장을 보이지만, 발생 과정에서 자실체 및 포자 형성이 불가능하다. 또한, CsgA 세포간 기인한 신호

선달체계에 의해서 유발되는 CsgA 특이적 유전자들의 발현이 없거나 감소한다. socD500 돌연변이는, csgA 돌연변이체로부터 자실체 혹은 포자 형성을 회복하게 해주는 2차 돌연변이 중의 하나로서, csgA 돌연변이체의 포자 형성을 회복하도록 한다. socD500에 의한 포자 형성은 영양원의 고갈 및 자실체의 형성이 없이도, 단순히 성장 온도를 32°C에서 15°C로 낮추는 것이 의해서 이루어진다. 이런 과정을 거쳐 형성된 포자의 구조를 전자현미경으로 관찰한 결과 정상 포자와는 다르게 단지 얇은 여러 겹의 막들이 존재하였다. 또한 socD500 돌연변이체에서 10 개의 CsgA 특이적 유전자들의 발현율을 측정한 결과, 자실체 형성을 수반하는 정상적인 발생시에만 발현하는 Ω DK4506 및 Ω DK4406 유전자들이 15°C에서 높게 발현되는 것으로 나타났다. 이 결과는 socD500은 CsgA에 특이적인 신호 전달체계에 관련된 일부 유전자들의 발현을 조절하는 역할에 관련되었다는 것을 알 수가 있었다.

참 고 문 헌

- Alex, L. A., K. A. Borkovich and M. I. Simon. 1996. Hypal development in *Neurospora crassa*: Involvement of a two-component histidine kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **93**, 3416-3421.
- Cheng, Y. and D. Kaiser. 1989. *dsg*, a gene required for cell-cell interaction early in *Myxococcus xanthus* development. *J. Bacteriol.* **171**, 3719-3726.
- Dworkin, M. 1996. Recent Advances in the Social and Developmental Biology of the Myxobacteria. *Microbiol. Rev.* **60**, 70-102.
- Hwang, I., H. C. Chen and J. Sheen. 2002. Two-component signal transduction pathways in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **129**, 500-515.
- Inouye, M., S. Inouye and D. R. Zusmann. 1979. Biosynthesis and self-assembly of protein S, a development-specific protein of *Myxococcus xanthus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **76**, 209-213.
- Kim, S. and D. Kaiser. 1990a. C-factor; a cell-cell signaling protein required for fruiting body morphogenesis of *M. xanthus*. *Cell* **61**, 19-26.
- Kim, S. and D. Kaiser. 1990b. Purification and properties of *Myxococcus xanthus* C-factor, an intercellular signaling protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **87**, 3635-3639.
- Kroos, L. and D. Kaiser. 1987. Expression of many developmentally regulated genes in *Myxococcus xanthus* depends on a sequence of cell interactions. *Genes Dev.* **1**, 840-854.
- Kroos, L., A. Kuspa and D. Kaiser. 1986. A global analysis of developmentally regulated genes in *Myxococcus xanthus*. *Dev. Biol.* **117**, 252-266.
- Lee, B.-U., M. Johnson and L. J. Shimkets. *manuscript preparation*.
- Lee, B.-U., K. Lee, J. Mendez and L. J. Shimkets. 1995. A tactile sensory system of *Myxococcus xanthus* involves an extracellular NAD[P]⁺-containing protein. *Genes Dev.* **9**, 2964-2973.
- Lee, K. and L. J. Shimkets. 1994. Cloning and characterization of the *socA* operon which restores development to *Myxococcus xanthus* C-signaling mutants. *J. Bacteriol.* **176**, 2200-2209.
- Li, S., B.-U. Lee and L. J. Shimkets. 1992. *csgA* expression entrains *Myxococcus xanthus* development. *Genes Dev.* **6**, 401-410.
- Li, S. and L. J. Shimkets. 1993. Effect of *dsp* mutations on the cell-to-cell transmission of CsgA in *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* **175**, 3648-3652.
- Ota, I. M. and A. Varshavsky. 1993. A yeast protein similar to two-component regulators. *Science* **262**, 566-569.
- Parkinson, J. S. 1993. Signal transduction schemes of bacteria. *Cell* **73**, 857-871.
- Rhie, H. G. and L. J. Shimkets. 1989. Developmental bypass suppression of *Myxococcus xanthus* *csgA* mutations. *J. Bacteriol.* **171**, 3268-3276.
- Rhie, H. G. and L. J. Shimkets. 1991. Low-temperature induction of *Myxococcus xanthus* developmental gene expression in wild-type and *csgA* suppressor cells. *J. Bacteriol.* **173**, 2206-2211.
- Schumacher, M. M., C. S. Enderlin and C. P. Selitrennikoff. 1997. The *osmotic-1* locus of *Neurospora crassa* encodes a putative histidine kinase similar to osmosensors of bacteria and yeast. *Curr. Microbiol.* **34**, 340-347.
- Shimkets, L. J. 1999. Intercellular signaling during fruiting-body development of *Myxococcus xanthus*. *Annu. Rev. Microbiol.* **53**, 525-549.
- Shimkets, L. J. 1990. Social and developmental biology of myxobacteria. *Microbiol. Rev.* **54**, 473-501.

22. Shimkets, L. J. and S. J. Asher. 1988. Use of recombination techniques to examine the structure of the *csgA* locus of *Myxococcus xanthus*. *Mol. Gen. Genet.* **211**, 63-71.
23. Shimkets, L. J., R. E. Gill and D. Kaiser. 1983. Developmental cell interactions in *Myxococcus xanthus* and the *spoC* locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **80**, 1406-1410.
24. Shimkets, L. J. and D. Kaiser. 1982. Induction of coordinated movement of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* **152**, 451-461.
25. Shimkets, L. J. and H. Rafiee. 1990. CsgA, an extracellular protein essential for *Myxococcus xanthus* development. *J. Bacteriol.* **172**, 5299-5306.
26. Spurr, A. R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**, 31.
27. Sudo, S. Z. and M. Dworkin. 1969. Resistance of vegetative cells and microcysts of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* **98**, 883-887.
28. Teintze, M., R. Thomas, T. Furuichi, M. Inouye and S. Inouye. 1985. Two homologous genes coding for spore-specific proteins are expressed at different times during development of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* **163**, 121-125.
29. Ueki T. and S. Inouye. 2002. Transcriptional activation of a heat-shock gene, *lonD*, of *Myxococcus xanthus* by a two component histidine-aspartate phosphorelay system. *J. Biol. Chem.* **277**, 6170-6177.
30. West, A. H. and A. M. Stock. 2001. Histidine kinases and response regulator proteins in two-component signaling systems. *Trends Biochem. Sci.* **26**, 369-376
31. Wolanin, P. M., P. A. Thomason and J. B. Stock. 2002. Histidine protein kinases: key signal transducers outside the animal kingdom. *Genome Biol.* **3**(10).
32. Yang, C. and H. B. Kaplan. 1997. *Myxococcus xanthus sasS* encodes a sensor histidine kinase required for early developmental gene expression. *J. Bacteriol.* **179**, 7759-7767.

(Received January 18, 2003; Accepted April 14, 2003)