

## 環境細菌の走化性— *Pseudomonas* を中心に—

### Chemotaxis in environmental bacteria: review of chemotaxis researches in *Pseudomonas*

加藤 純一\*, 金 慧恩

JUNICHI KATO, HYE-EUN KIM

広島大学大学院先端物質科学研究科 〒739-8530 東広島市鏡山 1-3-1

\* TEL: 082-424-7757 FAX: 082-424-7047

\* E-mail: jun@hiroshima-u.ac.jp

Graduate School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University, 1-3-1

Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8530, Japan

キーワード: 走化性, 走化性センサー, 環境細菌, *Pseudomonas*

Key words: chemotaxis, chemotactic transducer, environmental bacteria, *Pseudomonas*

(原稿受付 2007年10月28日/原稿受理 2007年11月1日)

#### 1. はじめに

運動性細菌は環境中の化学物質の濃度変化を感知し、運動方向を変えることによりそれに応答することができる。これを走化性と称する。運動性細菌である *Pseudomonas* 属細菌も様々な化学物質(アミノ酸, 有機酸, 糖, 芳香族化合物, リン酸など)に対する走化性が報告されている。走化性の研究が最も進んでいるのは腸内細菌の *Escherichia coli* である。走化性はほ乳類のセンシングシステムの原始的モデルとして扱えるとの考えから, *E. coli* の走化性研究は主にその詳細な分子機構の解明に焦点が当てられてきている。それに対し, *Pseudomonas* 属細菌の走化性研究ではむしろ走化性の生態学的側面に焦点が当てられている傾向がある。それは, *Pseudomonas* 属細菌が病原菌, バイオコントロール, 物質循環, バイオレメディエーションなどで重要な役割を果たしていること, ならびに走化性は宿主との相互作用や基質との接触の初期過程に大きく寄与していると考えられているためである。本章では, まず *Pseudomonas* 属細菌の生態学的側面について概説し, ついで, *Pseudomonas* 属細菌の走化性の分子機構について概説する。

#### 2. *Pseudomonas* 属細菌の生態学的側面

*Pseudomonas* 属細菌は生態系における物質循環で重要な役割を果たしている。脱窒もそのひとつである。土壌中の脱窒細菌を調べるとそのほとんどが *Pseudomonas* 属細菌であることが報告されている<sup>18)</sup>。Kennedy と Lawless は脱窒能を有する *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* および *P. stutzeri* の  $\text{NO}_3^-$  および  $\text{NO}_2^-$  に対する走化性応答を調べたところ, いずれも誘因応答を示すことを見いだした<sup>30)</sup>。また土壌中の微生物叢 (microflora) で

$\text{NO}_3^-$  に誘因応答を示す細菌のほとんどは *Pseudomonas* 属細菌であった。このことから彼らは, 本来好気条件でよりよい増殖を示す *Pseudomonas* 属細菌が, 脱窒が生じる好気-嫌気界面の脱窒菌として優占していることには, *Pseudomonas* 属脱窒菌の  $\text{NO}_3^-$  および  $\text{NO}_2^-$  への走化性応答が寄与していると論じた。

Predator-prey 関係においても走化性が着目されている。Phycomycete *Pythium debaryanum* および diatom *Skeletonema costatum* の predators である *Pseudomonas* 属細菌はそれぞれの滲出液に強い誘因応答を示した<sup>8)</sup>。しかし nonpredator である *Pseudomonas* 属細菌は有意な応答を示さなかった。*P. debaryanum* の predator はセルロースおよびその分解産物に誘因応答を示すことから, *P. debaryanum* の細胞壁成分に応答していることが示された。*S. costatum* の predator は主に *S. costatum* 滲出液の熱安定で高分子の成分に応答していた。

*P. fluorescens* や *P. putida* のある株は, 植物の生長促進能や植物病原微生物の感染を阻害する biocontrol 能を有することが知られている<sup>4,19,21,34,35,48)</sup>。それに対し, *P. syringae* は主要な植物病原菌である。*P. fluorescens* や *P. putida* が植物成長促進およびバイオコントロール能を発揮するためには, 植物根にコロニー形成することが必要である<sup>6,39)</sup>。また *P. syringae* は植物の表面の natural openings が傷口からでないとい植物内に侵入できない<sup>20,50)</sup>。以上のことから, これら *Pseudomonas* 属細菌の微生物-植物相互作用の開始と植物に対する走化性との関連性が注目されてきた。初期の研究では, 植物の根や種子, かびの胞子などの滲出液および滲出液に含有される有機物(アミノ酸, 有機酸, 糖)に対する走化性応答が調べられた<sup>1,9,21,38,49)</sup>。近年, 植物ホルモンであるエチレンに対してもこれら *Pseudomonas* 属細菌が応答することが見いだされている<sup>33)</sup>。また, *in vitro* 系だけでなく土壌中でも走化

性応答を起こすことについても確認されている<sup>1,2,3,38,49)</sup>。コロニー形成と運動性および走化性との関連は、走化性もしくは運動性欠損株を用いて解析されている。*P. fluorescens* の root-colonizing 株は運動性欠損変異が生じて、単独で植菌した場合は植物根にコロニーを形成しうる<sup>11,13,29,51)</sup>。しかし、運動性が正常な親株と 1:1 に混合して植菌する競合的コロニー形成試験を行うと非常に劣った競合性を示す<sup>11,13)</sup>。*P. fluorescens* の走化性一般を欠損した *cheA* 変異株を作成して試したところ、同様な結果が得られた<sup>12)</sup>。以上のことから、運動性/走化性はコロニー形成の競合性に影響を持つことが考えられる。*P. syringae* の植物感染性と運動性の関連については、*P. syringae* pv. *phaseolicola* において、運動性を示すことにより葉への侵入と感染性が増加することが示されている<sup>45)</sup>。

動物での感染と運動性/走化性の関連では、*P. aeruginosa* の報告がある。Drake と Montie は *P. aeruginosa* の運動性欠損株は mouse burn model における virulence が親株より大幅に劣っていることを報告している<sup>15)</sup>。この運動性欠損株は患部で増殖するものの、菌血症および全身性侵入は起こさない。また Nelson らは CF 患者から分離した *P. aeruginosa* の clinical isolates が CF 患者の痰から精製した mucin に吸着性を示すとともに、誘引応答も示した<sup>42)</sup>。このことから CF 患者における pulmonary colonization の初期過程に走化性が寄与している可能性があると考えた。

*Pseudomonas* 属細菌は非常に多様な物質変換能を有しており、種々の軟分解性環境汚染物質を分解する能力を持つものもある。そのため、*Pseudomonas* 属細菌はバイオレメディエーションの agent として期待されている。走化性はバイオレメディエーション、ことに *in situ* バイオレメディエーションの効率を向上させるであろう微生物機能として注目されてきた<sup>24)</sup>。すなわち、物質移動の制限、難溶性および土壌マトリックスへの吸着 (sequestration) に起因するバイオアベイラビリティの低さなどの *in situ* バイオレメディエーションの制限を走化性は克服することが可能であると考えられるのである<sup>47)</sup>。そのため、*Pseudomonas* 属細菌においては環境汚染物質に対する研究が行われてきている。安息香酸資化菌 *P. putida* PRS2000 は aromatic acids (安息香酸, *p*-ヒドロキシ安息香酸, トルイル酸, サルチル酸, クロロ安息香酸) に誘引応答を示す<sup>23,25)</sup>。これら Aromatic acids に対する走化性は、安息香酸や *p*-ヒドロキシ安息香酸の代謝中間体である  $\beta$ -ケトアジピン酸によって誘導される。ナフタレン資化菌 *P. putida* G7 はナフタレンもしくはサルチル酸で培養するとナフタレンに対し誘引応答するようになる。また、資化できないビフェニルに対しても誘引応答を示す。*P. putida* F1 および *P. stutzeri* OX1 はトルエン資化菌であり、それぞれトルエンジオキシゲナーゼおよびトルエンモノオキシゲナーゼ経路でトルエンを代謝するだけでなく、主要な環境汚染物質であるトリクロロエチレン (TCE) も共酸化的に分解する。この 2 株は、増殖基質としうるトルエンに対して誘引応答を示すのみならず、増殖基質として利用できない揮発性有機塩素化合物 (テトラクロロエチレン, TCE, DCE の 3 異性体) に対しても誘引応答を示すことがわ

かった<sup>46,57)</sup>。*P. putida* F1 のこれら化合物に対する走化性は、トルエンにより誘導される。また、これら応答はトルエン分解能に依存していないものの、トルエンジオキシゲナーゼオペロンの発現調節遺伝子である *todT* および *todS* は必須である。*P. stutzeri* OX1 では、トルエンモノオキシゲナーゼをコードする *touA* 遺伝子の欠損で PCE への走化性も欠損する。また、*o*-キシレンに走化性応答を示さない *P. putida* PaW340 に OX1 のトルエンモノオキシゲナーゼオペロン (*touABCDEF*) を導入すると *o*-キシレンに誘引応答を示すようになることから、*P. stutzeri* OX1 のこれら環境汚染物質に対する応答には機能的なトルエンモノオキシゲナーゼが必要であると考えられている。*P. aeruginosa* PAO1 はトルエン分解菌とは逆に揮発性有機塩素化合物に対して忌避応答を示す<sup>52)</sup>。面白いことに負の走化性に関与する chemosensory protein genes を欠失した変異株は、TCE に対して正の走化性を示すようになる<sup>32)</sup>。すなわち、*P. aeruginosa* PAO1 は TCE に対する正の走化性と負の走化性の chemosensory proteins を別個に持っているのである。

### 3. *Pseudomonas* 属細菌の走化性分子機構

走化性の分子機構はまず腸内細菌で解明された

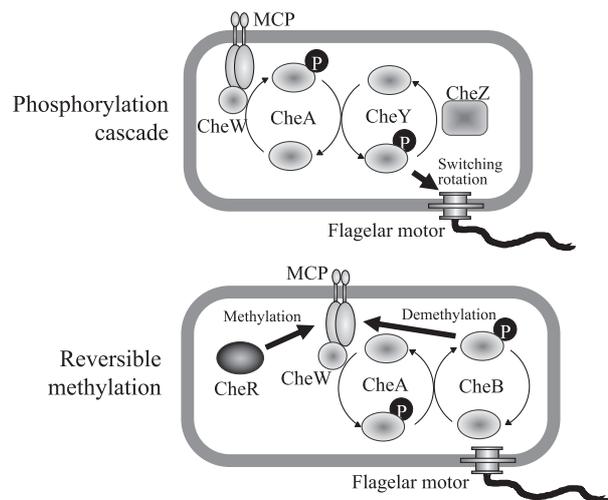


図 1. 走化性の分子機構  
図の説明は本文を参照のこと。

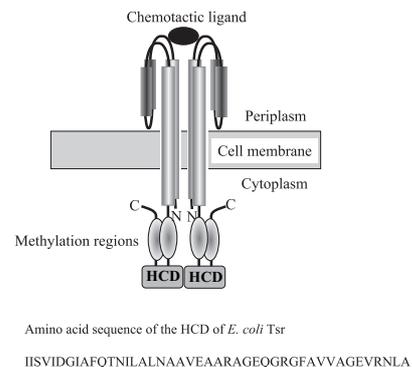


図 2. 走化性センサーである MCP の構造 (上) と HCD の配列 (下)

(図1)<sup>55)</sup>。ヒスチジンプロテインキナーゼである CheA は ATP を基質とした自己リン酸化の後、レスポンスレギュレーターである CheY のアスパラギン酸残基にリン酸基を移す。リン酸化された CheY はべん毛モーターのスイッチ蛋白質に相互作用し、べん毛モーターの回転方向を時計回りに逆転させる。CheZ はリン酸化 CheY の脱リン酸化を促進する蛋白質である。CheA の自己リン酸化能は膜貫通型のメチル基受容走化性蛋白質 (MCP, 図2) と CheW の複合体により化学刺激の強さに応じて制御されている。MCP に走化性リガンドが結合すると MCP-CheW 複合体は CheA の自己リン酸化活性を抑制するようになる。MCP が正常に機能するためには、可逆的メチル化修飾系が必須である。ここで、CheR はメチルトランスフェラーゼ、CheB はメチルエステラーゼとして機能し、それぞれ MCP 上の複数のグルタミン酸残基のメチル化、脱メチル化を行う。CheB はもうひとつのレスポンスレギュレーターであり、リン酸化 CheA からリン酸基を受け取る。CheB はリン酸化により活性化され、メチルエステラーゼ活性は増加する。したがって、MCP は化学刺激の強さに応じてメチル化修飾を受けることになる。このような機構で化学物質の時間的な濃度変化を感知し、それに基づいて三次元ランダ

ムウォークを偏向させ、結果的に誘引物質に集積したり、忌避物質から逃避したりする。

何株かの *Pseudomonas* 属細菌のゲノム配列が解読されている。それらのゲノムの配列解析を行ってみると、いずれの株も MCP および走化性シグナル伝達系の 6 つの Che 蛋白質のホモログをすべて有している。特徴的なのは、後述するようにその数が多いことである。しかし、*Pseudomonas* 属細菌で最も走化性研究が進んでいる *P. aeruginosa* PAO1 の結果を見ると、その分子機構は基本的に腸内細菌のものと同様であると考えられている。

MCP は原核生物で高度に保存された 44 アミノ酸残基からなる細胞内シグナリングドメインを有するので<sup>5)</sup>、ゲノム配列から相同検索により容易に MCP 候補遺伝子を見つけ出すことができる。*E. coli* はわずか 5 つしか *mcp* 遺伝子を持っていないのに対し、*P. aeruginosa* PAO1、*P. putida* KT2440、*P. fluorescens* Pf-5 および *P. syringae* pv. *Syringae* B728a はそれぞれ 26、42、49 もの *mcp* 候補遺伝子を有しており、*Pseudomonas* 属細菌が *E. coli* より大幅に多様な化学刺激に応答するであろうことが推測される。しかし、特性化されている MCPs はごく一部であり、それらは *P. aeruginosa* PAO1 に集中している (表 1)。前節との関連でいうと、植物-微生物相

表 1. 特性化されている MCP およびケモセンサリー蛋白質

蛋白質 <sup>a</sup>	登録番号 <sup>b</sup>	菌株	走化性応答 <sup>c</sup>	主な特徴	文献
<b>MCP</b>					
PctA (PA4309)	AAG07697	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	18 種のアミノ酸の感知	[36, 56]
			R	TCE, クロロフォルム, チオシアン酸メチルの感知	[53]
PctB (PA4310)	AAG07698	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	6 種のアミノ酸の感知	[56]
			R	TCE, クロロフォルム, チオシアン酸メチルの感知	[53]
PctC (PA4307)	AAG07695	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	2 種のアミノ酸の感知	[56]
			R	TCE, クロロフォルム, チオシアン酸メチルの感知	[53]
CtpH (PA2561)	AAG05949	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	高濃度のリン酸の感知	[59]
CtpL (PA4844)	AAG08229	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	低濃度のリン酸の感知	[59]
Aer (PA1561)	AAG04950	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	走気性センサー	[28]
Aer2 (PA0176)	AAG03566	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	走気性センサー	[28]
CttP (PA0180)	AAG03570	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	TCE, テトラクロロエチレン, ジクロロエチレンの感知	[32]
			—	バイオフィルムの成熟化に必要	[54]
TlpQ (PA2654)	AAG06402	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	A	エチレンの感知	[33]
PilJ (PA0411)	AAG03800	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	—	ピリの合成に必要	[10]
BdlA (PA1423)	AAG04812	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	—	バイオフィルムの分散に必要	[54]
Aer	AAD22405	<i>P. putida</i> PRS2000	A	走気性センサー	[44]
NahY	AAD13223	<i>P. putida</i> G7	A	ナフトレンの感知, NAH7 プラスミドにコードされている。	[22]
<b>MCP 以外の蛋白質</b>					
PcaK	AAA85137	<i>P. putida</i> PRS2000	A	4-ヒドロキシ安息香酸の感知。4-ヒドロキシ安息香酸, プロトカテキユ酸のパーミアーゼ	[26]

<sup>a</sup> *Pseudomonas aeruginosa* sequencing project (<http://www.pseudomonas.com>) で用いられている遺伝子番号を括弧内に記載した。

<sup>b</sup> DDBJ/EMBL/NCBI データバンクの登録番号。

<sup>c</sup> A, 誘引応答; R, 忌避応答; —, 走化性とは関連しない特徴。

相互作用の関連では, アミノ酸 (PstA, PctB, PctC), エチレン (TlpQ) の MCP が特定・特性化されている。バイオレメディエーション関連では, ナフタレン (NahY), *p*-ヒドロキシ安息香酸 (PcaK), 揮発性有機塩素化合物 (CttP) への正の走化性に関するセンサー蛋白質と TCE (PctA, PctB, PctC) に対する負の走化性の MCP が特定されている。このうち PcaK は *p*-ヒドロキシ安息香酸およびプロトカテキユ酸のトランスポーターとして機能しており, MCP の構造的モチーフを持たない<sup>43)</sup>。PcaK が細胞内走化性シグナル伝達系に直接シグナルを発信しているのか, あるいは MCP を介してシグナルを発信しているのかについては, まだ明らかになっていない。面白いことに, PilJ および BdlA は MCP モチーフを持つにもかかわらず, 走化性以外の機能, すなわち, ペリ合成およびバイオフィームの dispersion に関与している。また, CttP は TCE の正の走化性の MCP として機能するとともに, バイオフィームの形成にも関与している。*Pseudomonas* 属細菌の MCP の特性化が進むにつれ, 走化性以外の機能に関与する MCP が他にも見つかるのではないかと考えられる。

*che* 遺伝子も多数 *P. aeruginosa* PAO1 ゲノム上に存在する (図 3, 4)。*E. coli* は 1 セットの *che* 遺伝子 (*cheA*, *cheB*, *cheR*, *cheW*, *cheY* 及び *cheZ*) しか持たないが, *P. aeruginosa* PAO1 では 4 セットの *che* 遺伝子クラスターが存在する (表 1)。これは *P. aeruginosa* PAO1 だけの

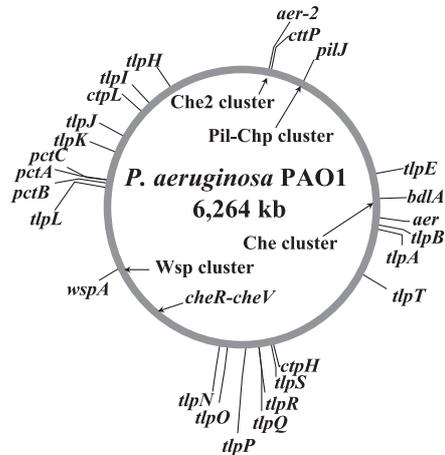


図 3. *Pseudomonas aeruginosa* ゲノム上で見いだされた MCP 遺伝子 (輪の外側) と走化性シグナル伝達系遺伝子群 (輪の内側)

特徴ではなく, *P. putida* KT2440, *P. fluorescens* PfO-1, *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 でも 3 ~ 4 セット *che* クラスターが存在する。*P. aeruginosa* PAO1 の走化性に必須であることが判明しているのは, Che クラスターとクラスター以外の部分に存在する *cheR* 遺伝子である<sup>31,40)</sup>。*P. putida* PRS2000 でもこの Che クラスターに相当する遺伝子クラスターが走化性に必須である<sup>14)</sup>。他のクラスターは破壊しても走化性に異常が見られないか, 多少応答が減少する程度である<sup>17,28)</sup>。しかし興味あることに, Pil-Chp クラスターと Wsp クラスターは走化性以外の細胞機能に関与していることが示されている。Pil-Chp クラスターは, type IV ペリの合成<sup>10)</sup>, twitching motility の制御<sup>58)</sup> に関与している。また, Wsp クラスターはバイオフィーム形成に関与している<sup>27)</sup>。Wsp クラスターの *wspR* の遺伝子産物は, GTP を基質とする cyclic di-guanylate (c-diGMP) 合成酵素であり, WspF は WspR の活性を負に制御している。*wspF* 欠損株では細胞内 c-diGMP 濃度が増加しそれが引き金になってバイオフィーム形成が増進し, 逆に c-diGMP 分解酵素を高発現すると c-diGMP が減少してバイオフィーム形成が阻害される。MCP 様蛋白質 BdlA も細胞内の c-diGMP 量の制御を通じてバイオフィーム形成に関与していることから<sup>41)</sup>, BdlA と Wsp クラスターの遺伝子産物とシグナルのやりとりがあるのかもしれない。

#### 4. モデル微生物としての *Pseudomonas*

不均一な環境の細菌の大部分は運動性細菌であるという指摘がある<sup>16)</sup>。また, 不均一な環境中でランダムに運動することは, 栄養の確保や宿主との遭遇の面でむしろ不利であり, 走化性応答を発揮することにより初めて有利になるとの理論的解析が報告されている<sup>7,37)</sup>。さらに, これら運動性細菌は数十億年にわたる進化を経てきていると言う事実もある。以上を考え合わせると, 少なくとも不均一な環境において走化性は環境細菌が生き延びていくために重要な役割を果たしているといつて間違いないであろうと考えられる。これまで数々の運動性の環境細菌のゲノムが解読されている。それらゲノムデータをみると, 多数の MCP 様遺伝子および *che* 遺伝子を有する細菌が少なくない。環境細菌の生態学的振舞いにおける走化性の役割を分子レベルで解明するにあたり, 比較的単純な走化性システムである腸内細菌よりも

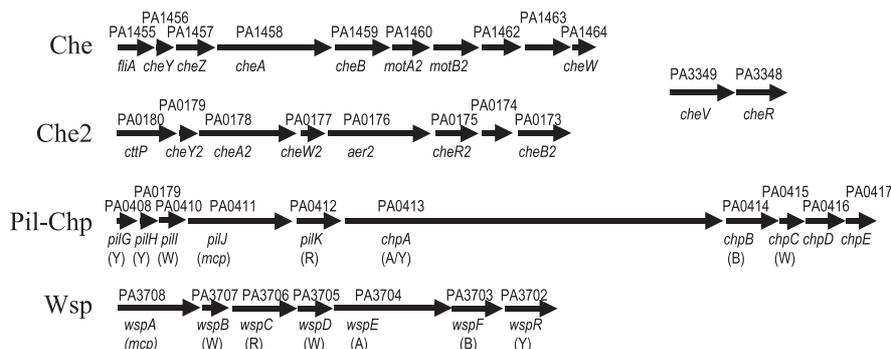


図 4. *Pseudomonas aeruginosa* の走化性シグナル伝達系遺伝子群

多数の MCP と複雑な *che* 遺伝子クラスターを持つ *Pseudomonas* 属細菌がモデル微生物として有効ではないかと考える。

## 文 献

- 1) Arora, D.K., A.B. Filonow, and J.L. Lockwood. 1983. Decreased aggressiveness of *Bipolaris sorokiniana* conidia in response to nutrient stress. *Can. J. Microbiol.* 29: 1104–1109.
- 2) Arora, D.K., and S. Gupta. 1993. Effects of different environmental conditions on bacteria chemotaxis toward fungal spores. *Can. J. Microbiol.* 39: 922–931.
- 3) Bashan, Y. 1986. Migration of the rhizosphere bacteria *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens* towards wheat roots in the soil. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2407–2414.
- 4) Bolwerk, A., A.L. Lagopodi, A.H.M. Wijffes, G.E.M. Lamers, T.F.C. Chin-A-Woeng, B.J.J. Lugtenberg, and G.V. Bloemberg. 2003. Interactions in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 16: 983–993.
- 5) Boyd, A.W., K. Kendall, and M.I. Simon. 1983. Structure of the serine chemoreceptor in *Escherichia coli*. *Nature* 301: 623–626.
- 6) Bull, C.T., D.M. Weller, and L.S. Thomashow. 1991. Relationship between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* strain 2-79. *Phytopathology* 81: 954–959.
- 7) Charnick, S.B., and D. Lauffenburger. 1990. Mathematical analysis of cell-target encounter rates in three dimensions. Effect of chemotaxis. *Biophys. J.* 57: 1009–1023.
- 8) Chet, I., S. Fogel, and R. Mitchell. 1971. Chemical detection of microbial prey by bacterial predators. *J. Bacteriol.* 106: 863–867.
- 9) Cuppels, D.A. Chemotaxis by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. 1988. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 629–632.
- 10) Darzins, A. 1994. Characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* gene cluster involved in pilus biosynthesis and twitching motility: sequence similarity to the chemotaxis proteins of enterics and the gliding bacterium *Myxococcus xanthus*. *Mol. Microbiol.* 11: 137–153.
- 11) Dekkers, L.C., A.J. van der Bij, I.H.M. Mulders, C.C. Phoelich, R.A. Wentwoord, D.C. Glandorf, C.A. Wijffelman, and B.J.J. Lugtenberg. 1998. Role of the O-antigen of lipopolysaccharide, and possible roles of growth rate and of NADH:ubiquinone oxidoreductase (*nuo*) in competitive tomato root-tip colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365. *Mol. Plant Microbe Interact.* 11: 763–771.
- 12) de Weert, S., H. Vemeiren, I.H.M. Mulders, I. Kuiper, N. Hendrickx, G.V. Bloemberg, J. Vanderleyden, R. De Mot, and B.J.J. Lugtenberg. 2002. Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 15: 1173–1180.
- 13) De Weger, L.A., C.I. van der Vlugt, A. Wijffes, P.A. Bakker, B. Schippers, and B.J.J. Lugtenberg. 1987. Flagella of a plant-growth-stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots. *J. Bacteriol.* 169: 2769–2773.
- 14) Ditty, J.L., A.C. Grimm, and C.S. Harwood. 1998. Identification of a chemotaxis gene region from *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiol. Lett.* 159: 267–273.
- 15) Drake, D., and T.C. Montie. 1988. Flagella, motility and invasive virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Gen. Microbiol.* 134: 43–52.
- 16) Fenchel, T. 2002. Microbial behavior in a heterogeneous world. *Science* 296: 1068–1071.
- 17) Ferrández, A., A.C. Hawkins, D.T. Summerfield, and C.S. Harwood. 2002. Cluster II *che* genes from *Pseudomonas aeruginosa* are required for an optimal chemotactic response. *J. Bacteriol.* 184: 4374–4383.
- 18) Gamble, T.N., M.R. Belach, and J.M. Tiedje. 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 926–939.
- 19) Geels, F.P., and B. Schippers. 1983. Selection of antagonistic fluorescent *Pseudomonas* spp. and their root colonization and persistence following treatment of seed potatoes. *Phytopathol. Z.* 108: 207–214.
- 20) Getz, S., D.W. Fullbright, and C.T. Stephens. 1983. Scanning electron microscopy of infection sites and lesion development on tomato fruit infected with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. *Phytopathology* 73: 39–43.
- 21) Grewal, S.I.S., and P.B. Rainey. 1991. Phenotypic variation of *Pseudomonas putida* and *P. tolaasii* affects the chemotactic response to *Agaricus bisporus* mycelial exudate. *J. Gen. Microbiol.* 137: 2761–2768.
- 22) Grimm, A.C., and C.S. Harwood. 1999. NahY, a catabolic plasmid-encoded receptor required for chemotaxis of *Pseudomonas putida* to the aromatic hydrocarbon naphthalene. *J. Bacteriol.* 181: 310–3316.
- 23) Harwood, C.S., M. Rivelli, and L.N. Ornston. 1984. Aromatic acids are chemoattractants for *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* 160: 622–628.
- 24) Harwood, C.S., R.E. Parales, and M. Dispensa. 1990. Chemotaxis of *Pseudomonas putida* toward chlorinated benzoates. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1501–1503.
- 25) Harwood, C.S., R.E. Parales, and M. Dispensa. 1990. Chemotaxis of *Pseudomonas putida* toward chlorinated benzoates. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1501–1503.
- 26) Harwood, C.S., N.N. Nichols, M.-K. Kim, J.L. Ditty, and R.E. Parales. 1994. Identification of the *pcaRKF* gene cluster from *Pseudomonas putida*: involvement in chemotaxis, biodegradation, and transport of 4-hydroxybenzoate. *J. Bacteriol.* 176: 6479–6488.
- 27) Hickman, J.W., D.F. Tifrea, and C.S. Harwood. 2005. A chemosensory system that regulates biofilm formation through modulation of cyclic diguanylate levels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 14422–14427.
- 28) Hong, C.S., M. Shitashiro, A. Kuroda, T. Ikeda, N. Takiguchi, H. Ohtake, and J. Kato. 2004. Chemotaxis proteins and transducers for aerotaxis in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 231: 247–252.
- 29) Howie, W.J., R.J. Cook, and D.M. Weller. 1987. Effects of soil matric potential and cell motility on wheat root colonization by fluorescent pseudomonads suppressive to take-all. *Phytopathology* 77: 286–292.
- 30) Kennedy, M.J., and J.G. Lawless. 1985. Role of Chemotaxis in the ecology of denitrifiers. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 109–114.
- 31) Kato, J., T. Nakamura, A. Kuroda, and H. Ohtake. 1999. Cloning and characterization of chemotaxis genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63: 151–161.
- 32) Kim, H.-E., M. Shitashiro, A. Kuroda, N. Takiguchi, H. Ohtake, and J. Kato. 2006. Identification and characterization of the chemotactic transducer in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 for positive chemotaxis to trichloroethylene. *J. Bacteriol.* 188: 6700–6702.
- 33) Kim H.-E., A. Kuroda, N. Takiguchi, and J. Kato. 2007. Ethylene chemotaxis in *Pseudomonas aeruginosa* and other *Pseudomonas* species. *Microbes Environ.* 22: 186–189.
- 34) Kloepper, J.W., J. Leong, M. Teintze, and M.N. Schroth, 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885–886.
- 35) Kloepper, J.W., and M.N. Schroth. 1981. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phyto-*

- pathology 71: 1020–1024.
- 36) Kuroda, A., T. Kumano, K. Taguchi, T. Nikata, J. Kato, and H. Ohtake. 1995. Molecular cloning and characterization of a chemotactic transducer gene in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 177: 7019–7025.
  - 37) Lauffenburger, D., R. Aris, and K. Keller. 1982. Effects of cell motility and chemotaxis on microbial population growth. *Biophys. J.* 40: 209–219.
  - 38) Lim, W.C., and J.L. Lockwood. 1988. Chemotaxis of some phytopathogenic bacteria to fungal propagules *in vitro* and in soil. *Can. J. Microbiol.* 34: 196–199.
  - 39) Lugtenberg, B.J.J., L.A. De Weger, and J.W.B. Bennett. 1991. Microbial stimulation of plant growth and protection from disease. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2: 457–464.
  - 40) Masduki, A., J. Nakamura, T. Ohga, R. Umezaki, J. Kato, and H. Ohtake. 1995. Isolation and characterization of chemotaxis mutants and genes of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 177: 948–952.
  - 41) Morgan, R., S. Kohn, S.H. Hwang, D.J. Hassett, and K. Sauer. 2006. BdlA, a chemotaxis regulator essential for biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 188: 7335–7343.
  - 42) Nelson, J.W., M.W. Tredgett, J.K. Sheehan, D.J. Thornton, D. Notman, and J.R.W. Govan. 1990. Mucinophilic and chemotactic properties of *Pseudomonas aeruginosa* in relation to pulmonary colonization in cystic fibrosis. *Infect. Immun.* 58: 1489–1495.
  - 43) Nichols, N.N., and C.S. Harwood. 1997. PcaK, a high-affinity permease for the aromatic compounds 4-hydroxybenzoate and protocatechuate from *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* 179: 5056–5061.
  - 44) Nichols, N.N., and C.S. Harwood. 2000. An aerotaxis transducer gene from *Pseudomonas putida*. *FEMS Microbiol. Lett.* 182: 177–183.
  - 45) Panopoulos, N.J., and M.N. Schroth. 1974. Role of flagellar motility in the invasion of beanleaves by *Pseudomonas phaseolicola*. *Phytopathology* 64: 1389–1397.
  - 46) Parales, R.E., J.L. Ditty, and C.S. Harwood. 2000. Toluene-degrading bacteria are chemotactic towards the environmental pollutants benzene, toluene, and trichloroethylene. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 4098–4104.
  - 47) Parales, R.E., and C.S. Harwood. 2002. Bacterial chemotaxis to pollutants and plant-derived aromatic molecules. *Curr. Opin. Microbiol.* 5: 266–273.
  - 48) Scher, F.M., and R. Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathology* 72: 1567–1573.
  - 49) Scher, F.M., J.W. Kloepper, and C.A. Singleton. 1985. A method for assessing the root-colonizing capacity of bacteria on maize. *Can. J. Microbiol.* 31: 570–573.
  - 50) Schneider, R.W., and R.G. Grogan. 1977. Bacterial speck of tomato (*Pseudomonas tomato*): sources of inoculum and establishment of a resident population. *Phytopathology* 67: 898–902.
  - 51) Scher, F.M., J.W. Kloepper, C. Singleton, I. Zaleski, and M. Laliberte. 1988. Colonization of soybean roots by *Pseudomonas* and *Serratia* species: relationship to bacterial motility, chemotaxis, and generation time. *Phytopathology* 78: 1055–1059.
  - 52) Shitashiro, M., J. Kato, T. Fukumura, A. Kuroda, T. Ikeda, N. Takiguchi, and H. Ohtake. 2003. Evaluation of bacterial aerotaxis for its potential use in detecting the toxicity of chemicals to microorganisms. *J. Biotechnol.* 101: 11–18.
  - 53) Shitashiro, M., H. Tanaka, C.S. Hong, A. Kuroda, N. Takiguchi, H. Ohtake, and J. Kato. 2005. Identification of chemosensory proteins for trichloroethylene in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biosci. Bioeng.* 99: 396–402.
  - 54) Southey-Pillig, C.J., D.G. Davies, and K. Sauer. 2005. Characterization of temporal protein production in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *J. Bacteriol.* 187: 8114–8126.
  - 55) Stock, J.B., and M.G. Surette. 1996. Chemotaxis, pp. 1103–1129. In F.C. Neidhardt, R. Curtiss III, J.L. Ingraham, E.C.C. Lin, K.B. Low, B. Magasanik, W. S. Reznikoff, M. Riley, M. Schaechter, and H.E. Umberger (ed.), *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology. American Society for Microbiology, Washington, D. C., USA.
  - 56) Taguchi, K., H. Fukutomi, A. Kuroda, J. Kato, and H. Ohtake. 1997. Genetic identification of chemotactic transducers for amino acids in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* 143: 3223–3229.
  - 57) Vardar, G., P. Barbieri, and T.K. Wood. 2005. Chemotaxis of *Pseudomonas stutzeri* OX1 and *Burkholderia cepacia* G4 toward chlorinated ethenes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66: 696–701.
  - 58) Whitchurch, C.B., A.J. Leech, M.D. Young, D. Kennedy, J.L. Sargent, J.J. Bertrand, A.B. Semmler, A.S. Mellick, P.R. Martin, R.A. Alm, M. Hobbs, S.A. Beatson, B. Huang, L. Nguyen, J.C. Commolli, J.N. Engel, A. Darzins, and J.S. Mattick. 2004. Characterization of a complex chemosensory signal transduction system which controls twitching motility in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.* 52: 873–893.
  - 59) Wu, H., J. Kato, A. Kuroda, T. Ikeda, N. Takiguchi, and H. Ohtake. 2000. Identification and characterization of two chemotactic transducers for inorganic phosphate in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 182: 3400–3404.