

Krystyna I. Wolska*¹, Anna M. Grudniak¹, Anna Kraczkiewicz-Dowjat¹, Anna Kurek¹

¹Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

Wpłynęło w lutym 2010 r.

1. Wstęp. 2. Pigmenty jako czynniki wirulencji. 2.1. *Pseudomonas aeruginosa* i piocyjanina. 2.2. *Staphylococcus aureus* i stafyloksantyna. 2.3. Inne bakterie chorobotwórcze i ich pigmenty. 3. Funkcje pigmentów nie związane z chorobotwórczością. 3.1. Fotosynteza. 3.2. Pozyskiwanie żelaza. 3.3. Ochrona przed szkodliwym działaniem czynników środowiskowych i związków antybakteryjnych. 4. Możliwość zastosowania pigmentów bakteryjnych w medycynie i przemyśle. 5. Podsumowanie

Various functions of selected bacterial pigments

Abstract: Bacterial pigments are produced by numerous bacterial species. Their production gives the bacteria an advantage in their competition for environmental niches. Several pigments produced by pathogens, e.g. staphyloxanthin of *S. aureus* or pyocyanin of *P. aeruginosa* have been proved to be important factors of virulence and their modes of action are well established. In natural environment, such as soil or water, bacterial pigments are indispensable for photosynthesis. They are also able to protect bacteria against harmful effect of temperature, osmolarity, radiation and antibacterial compounds and also to help bacteria in iron acquisition via the pathways alternative to siderophores. Recently, studies have been conducted on antibacterial therapy based on pigment inhibition and the potential use of pigments in the industry and medicine, mainly as an anticancer agents.

Introduction. 2. Pigments as the virulence factors. 2.1. *Pseudomonas aeruginosa* and pyocyanin. 2.2. *Staphylococcus aureus* and staphyloxanthin. 2.3. Other pathogenic bacteria and their pigments. 3. Functions of pigments other than virulence determinants. 3.1. Photosynthesis. 3.2. Acquisition of iron. 3.3. Protection against harmful environmental factors and antibacterials. 4. Possibility of medical and commercial application of bacterial pigments. 5. Summary

Słowa kluczowe: pigmenty bakteryjne, czynniki wirulencji, fotosynteza, pozyskiwanie żelaza, ochrona przed stresem

Key words: bacterial pigments, virulence factors, photosynthesis, iron acquisition, stress protection

1. Wstęp

Wiele gatunków bakterii należących do kilku typów taksonomicznych posiada zdolność do syntezy związków barwnych. Gatunki barwne, nie tylko bakteryjne, mają istotną przewagę w naturalnym środowisku bytowania, co jest szczególnie widoczne w przypadku zwierząt kręgowych, których jaskrawe ubarwienie zwiększa atrakcyjność osobników dla płci przeciwnej, ułatwia kamuflaż a także odstrasza potencjalnych wrogów. Wszystkie te korzyści związane są ze zdolnością zwierząt do percepcji różnych kolorów, co *a priori* jest niemożliwe u bakterii. Mimo tego, korzyści, które czerpią barwne bakterie są liczne i różnorodne, a ich przewaga selekcyjna nad gatunkami lub mutantami bezbarwnymi jest znaczna. Korzyści te polegają na: zdobywaniu pokarmu i energii (bakterie fotosyntetyzujące), pozyskiwaniu żelaza ze środowiska, ochronie przed szkodliwym działaniem światła widzialnego o dużym natężeniu, promieniowania ultrafioletowego, ekstremalnych temperatur, jak również związków o działaniu antybakteryjnym, produkowanych przez inne organizmy. Poza tym niektóre pig-

menty bakteryjne mają aktywność antybiotyczną oraz, co bardzo ważne, są czynnikami wirulencji chorobotwórczych bakterii. Te wszystkie naturalne funkcje bakteryjnych barwników będą omówione w następnych rozdziałach tego opracowania. Należy także zaznaczyć, że kolorystyka poszczególnych gatunków znajduje odbicie w ich nazwie, na przykład *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty) lub *Chromobacterium violaceum* (gatunek bakteryjny o zabarwieniu fioletowym). Pigmentacja jest także cechą ułatwiającą identyfikację danego gatunku, szczególnie istotną w diagnostyce klinicznej.

Badania funkcji barwników oraz szlaków ich biosyntezy w komórce bakteryjnej prowadzone są intensywnie od około 20 lat. Eksperymenty wykonuje się zarówno *in vivo*, głównie przez porównanie fenotypu bezbarwnego mutantu z barwnym szczepem wyjściowym, jak i *in vitro*, badając wpływ izolowanych pigmentów na środowisko (w wypadku bakterii chorobotwórczych na komórki zainfekowanego gospodarza). W ostatnich latach stało się możliwe wykorzystanie w tych badaniach technik stosowanych w biologii molekularnej i biotechnologii, co przybliży dogłębne

* Autor korespondencyjny: Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, tel.: (22) 554 13 02, e-mail: izabelaw@biol.uw.edu.pl

poznanie zarówno regulacji syntezy pigmentów jak i mechanizmów różnorodnego (plejotropowego) ich działania na komórki organizmów wyższych oraz molekularnych podstaw udziału barwników w chorobotwórczości bakterii.

2. Pigmenty jako czynniki wirulencji

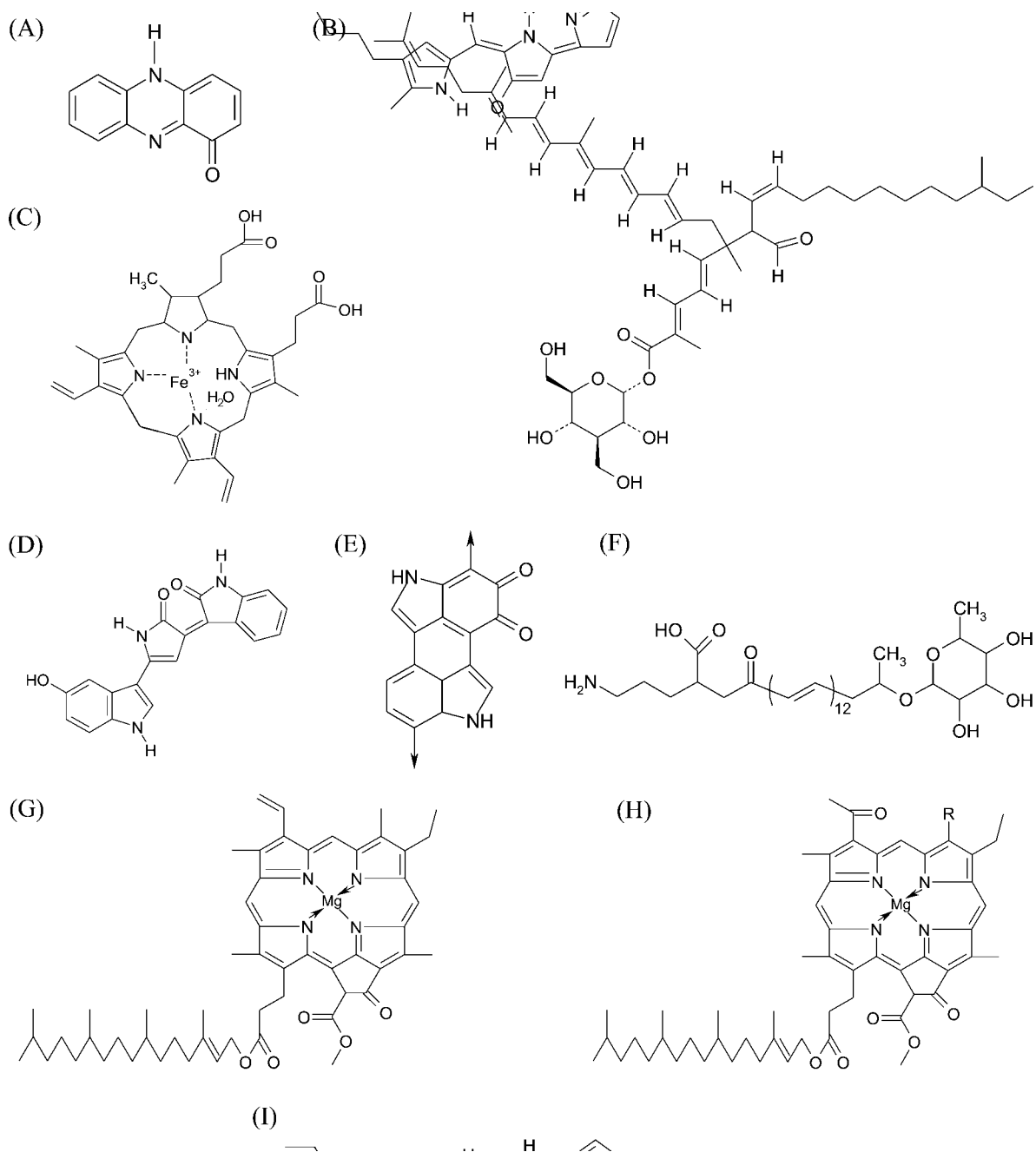
2.1. *Pseudomonas aeruginosa* i piocyjanina

Gramujemne pałeczki, *P. aeruginosa* (klasa *Gammaproteobacteria*, rodzina *Pseudomonadaceae*) charakteryzują się zdolnością do przeprowadzania bardzo licznych reakcji biochemicznych, które należą do różnorodnych szlaków metabolicznych. W związku z tym, bakterie te może rosnąć w różnych środowiskach i mają zdolność do infekcji wielu gatunków organizmów eukariotycznych, od ameby do człowieka. U ludzi wywołują liczne schorzenia, w tym: zapalenie ucha środkowego, zapalenie stawów, zapalenie wsierdzia, choroby układu moczowego, zakażenia ran, na przykład powstałych w wyniku poparzeń. Ogromny potencjał chorobotwórczy *P. aeruginosa* związany jest z syntezą przez tę bakterię kilku czynników wirulencji, z których najważniejszymi są proteazy, hemolizyny, adhezyny i egzotoksyny. Te ostatnie odpowiadają za martwicę tkanek i problemy z leczeniem zainfekowanych ran. Egzotoksyny są transportowane bezpośrednio do komórek eukariotycznych przez system sekrecji typu III, który, jako taki, może być także uważany za czynnik wirulencji tej bakterii [61]. Jednak, mimo obecności tak licznych czynników odpowiedzialnych za patogenność, gatunek ten rzadko infekuje osobniki zdrowe, a to ze względu na słabą zdolność do kolonizacji i niszczenia komórek nabłonka. Dlatego też *P. aeruginosa* jest klasycznym przykładem patogenu oportunistycznego, groźnego dla osób z obniżoną odpornością, z czym wiążą się różnorodne zakażenia szpitalne, których jest przyczyną. Do czynników ryzyka zakażeniem *P. aeruginosa* należą: AIDS, choroba nowotworowa, cukrzyca, a zwłaszcza mukowiscydoza.

Wolno żyjące komórki *P. aeruginosa* są niezwykle ruchliwe dzięki obecności długiej, pojedynczej rzęski umiejscowionej na biegunie bakterii. Gatunek ten ma także zdolność do wzrostu w postaci biofilmu. Pojedyncze komórki tworzące tę strukturę są zlepione, i przez to unieruchomione, przez wielocukier, alginian, tworzący tzw. macierz biofilmu [44]. Biofilmy tworzą się na granicy faz, a więc, między innymi, na powierzchniach urządzeń medycznych np. drenów, cewników, szkieł kontaktowych. Substancje antybakteryjne, w tym antybiotyki, słabo działają na bakterie znajdujące się w biofilmie; w związku z tym wszystkie patogeny zdolne do tworzenia biofilmów,

a szczególnie *P. aeruginosa*, stanowią duże zagrożenie zdrowotne.

P. aeruginosa wytwarza cztery pigmenty, z których najważniejszym jest piocyjanina, koloru niebiesko-zielonego. Barwnik ten jest wydzielany poza komórkę, nadając charakterystyczne szmaragdowe zabarwienie podłożu hodowlanemu lub wydzielinie płucnej osób zakażonych tym patogenem. Innymi barwnikami *P. aeruginosa* są: zielona, zdolna do fluorescencji fluoresceina (piowerdyna), czerwona piourubina oraz brązowa melanina. Barwa dwóch ostatnich bywa maskowana przez zielony kolor piocyjaniny. Piocyjanina (1-hydroksy-5-metylofenozyna) jest zwiterjonem (Rys. 1A). Tą nazwą określane są związki, w których w jednej cząsteczce i blisko siebie znajdują się grupy naładowane dodatnio i ujemnie. Taka struktura umożliwia swobodne przechodzenie cząstek przez błony biologiczne. Piocyjanina jest ważnym czynnikiem wirulencji *P. aeruginosa*. Powoduje znaczny wzrost stężenia reaktywnych form tlenu – RFT (ang. *reactive oxygen substances* – ROS) w komórkach eukariotycznych. Ma to związek ze zdolnością tego barwnika do przenoszenia elektronów ze związków zredukowanych, np. glutationu, na tlen, a to prowadzi do obniżenia w eukariotycznej komórce stężenia antyoksydantów z jednoczesnym zwiększeniem stężenia związków silnie utleniających, którymi są RFT [42]. Obserwowano również zahamowanie aktywności katalazy przez ten barwnik [41]. Wszystkie RFT zawierają w cząsteczkach reaktywne, niesparowane elektrony. Przykładami tych związków są wolne rodniki, nadtlenki oraz tlen singletowy ($O = O$). Ograniczona ilość RFT powstaje w komórkach eukariotycznych jako naturalne produkty metabolizmu i pełni ważne funkcje w oksydatywnej, mitochondrialnej fosforylacji, apoptozie czy krzepnięciu krwi [35]. Zwiększenie stężenia RFT będące typowym skutkiem wielu infekcji bakteryjnych, nazywane stresem oksydacyjnym, jest ważnym czynnikiem obrony gospodarza przed infekującymi patogenami (patrz niżej). Jednak masywny, związany z aktywnością piocyjaniny stres oksydacyjny po infekcji *P. aeruginosa* ma wielorakie skutki destrukcyjne. Olbrzymie zwiększenie RFT w komórkach żernych – neutrofilach prowadzi do ich apoptozy, zanotowano również zmniejszenie wydzielania cytokin, co skutkuje supresją układu immunologicznego [2]. Oksydacyjny stres zaburza także homeostazę jonów wapnia, a co za tym idzie sekrecję śluzu, rytmiczny ruch rzęsek w górnych drogach oddechowych, a nawet prowadzi do uszkodzenia nabłonka [25]. Wyniki badań *in vivo* prowadzone na modelu mysim wykazały, że piocyjanina odpowiedzialna jest za nekrozę tkanki płucnej [29]. Barwnik ten ma także silne działanie antybiotyczne, co zostanie omówione w następnym rozdziale.



Rys. 1. Chemiczna struktura wybranych pigmentów bakteryjnych.

(A) piocyjanina *P. aeruginosa*, (B) stafyloksantyna *S. aureus*, (C) porfiryne *P. gingivalis*, (D) wioleceina *C. violaceum*, (E) melanina *C. neoformans*, (F) granadyna streptokoków grupy B, (G) chlorofil a, (H) bakteriochlorofil a, (J) prodigiozyna *S. marcescens*

W tym miejscu należy wspomnieć, że niedawno ukazało się wyczerpujące opracowanie dotyczące innej klasy pigmentów – piowerdyn, fluoryzujących barwników) zaliczanych do sideroforów. W pracy można znaleźć informacje dotyczące, między innymi, roli piowerdyn w ochronie biologicznej roślin oraz o ich znaczeniu i zastosowaniu w medycynie [24].

2.2. *Staphylococcus aureus* i stafyloksantyna

Staphylococcus aureus (klasa *Bacilli*, rodzina *Staphylococcaceae*) jest Gram-dodatnim, koagulazododatnim ziarniakiem, którego komórki tworzą nieregularne skupienia przypominające grona. Bytuje głównie na skórze i błonach śluzowych naczelnych,

ale również innych ssaków i ptaków. Sporadycznie izolowany jest z gleby, wody słodkiej i morskiej, najprawdopodobniej z miejsc zanieczyszczonych produktami pochodzenia zwierzęcego. Szacuje się, że przynajmniej 10% populacji ludzkiej jest stale lub okresowo nosicielami *S. aureus*, najczęściej w jamie nosowej. W związku z powyższym gatunek ten może być określany mianem patogenu oportunistycznego. Mimo to schorzenia przez niego wywoływane są bardzo groźne i charakteryzują się dużą śmiertelnością. Z chorób o etiologii gronkowcowej należy wymienić: zakażenia skóry i tkanek miękkich (czyraki, jęczmień, ropnie – również ran pooperacyjnych, zapalenie sutka, zapalenie mieszków włosowego), infekcje układowe (zapalenie szpiku kostnego i kości, płuc, wsierdza, opon mózgowo-rdzeniowych, układu moczowego, posocznicy gronkowcowej), oraz choroby związane z działaniem swoistych toksyn (chorobę Rittera, zatrucia pokarmowe). *S. aureus* syntetyzuje wiele czynników wirulencji, z których szczególnie groźne są toksyny – enterotoksyny (odpowiedzialne za zatrucia pokarmowe), hemolizyny, koagulaza, egzofoliatyna, leukocydyna, czynnik CF, hialuronidaza, fibrylizyna. Należy jeszcze nadmienić, że gatunek ten ma dużą zdolność do wzrostu w postaci biofilmów, co podobnie jak w przypadku *P. aeruginosa*, potęguje jego chorobotwórczość. Ostatnio izoluje się coraz więcej szczepów opornych na antybiotyki β -laktamowe powszechnie stosowane w leczeniu chorób wywoływanych przez gronkowce, czego przykładem są szczepy MRSA (methicilin resistant *S. aureus*) [16].

S. aureus wytwarza dwa pigmenty, złotą stafyloksantynę oraz, w mniejszej ilości, żółtą 4'4'-diaponeoporynę, które są odpowiedzialne za barwę komórek. Ta pierwsza jest ważnym czynnikiem wirulencji gronkowca [32]. Stafyloksantyna należy do karotenoidów. Związki te są powszechnie syntetyzowane przez rośliny (β -karoten), grzyby i glony. Wiele z nich znajduje zastosowanie w medycynie, kosmetologii i jako dodatek do pasz. Ostatnio wykazano, że dieta bogata w karotenoidy zmniejsza ryzyko zachorowania na raka [9]. Chemicznie, karotenoidy są mieszanymi cykliczno-liniowymi polienami; stafyloksantyna zawiera szkielet węglowy C30 z naprzemiennie ułożonymi pojedynczymi i podwójnymi wiązaniami (Rys. 1B) [46]. Taka budowa chemiczna sprawia, że stafyloksantyna, jak i inne karotenoidy, jest silnym antyoksydantem, łatwo ulega utlenieniu, absorbując energię z RFT [12]. Jak już wyżej wspomniano, po infekcji bakteryjnej ilość RFT w zaatakowanym organizmie wzrasta, zwłaszcza w komórkach żernych, między innymi neutrofilach, co ma zasadnicze znaczenie w procesie neutralizacji bakterii. Efektywność stafyloksantyny w usuwaniu RFT potęgowana jest jej komórkową lokalizacją – barwnik ten umiejscowiony jest w osłonach

komórkowych. Wykazano eksperymentalnie, że obecność stafyloksantyny czyni komórki bardziej opornymi na szkodliwe działanie wody utlenionej, podchlorynu i wolnych rodników oraz sprawia, że większa ilość bakterii przeżywa w neutrofilach [7]. Udowodniono również, że bezbarwny mutant *S. aureus* charakteryzuje się znacznie mniejszą patogennością dla myszy, po podskórnym wprowadzeniu zawiesiny bakterii [32].

2.3. Inne bakterie i ich pigmenty

Porphyromonas gingivalis (klasa *Bacteroidia*, rodzina *Porphyromonadaceae*) jest beztlenową bakterią wywołującą niektóre odmiany paradontozy. Oprócz tego może powodować schorzenia przewodu pokarmowego i układu oddechowego. Gatunek ten produkuje kolagenazę, i właśnie rozkład kolagenu przyczynia się do rozwoju paradontozy. Podczas wzrostu na agarze z krwią, bakteryjne kolonie mają czarne zabarwienie wskutek syntezy porfiryny. Porfiryny są związkami heterocyklicznymi, zawierającymi cztery pierścienie pirolowe (Rys. 1C) [5]. Pigment produkowany przez *P. gingivalis* powstaje w wyniku proteolitycznej degradacji hemoglobiny [51]. Porfiryna jest silnym przeciwutleniaczem i chroni komórki patogenu przed antybakteryjnym działaniem RFT [52].

Względnie beztlenowa, wytwarzająca antybiotyki bakteria, często izolowana z gleb i wód subtropikalnych i tropikalnych, *Chromobacterium violaceum* (klasa *Betaproteobacteria*, rodzina *Neisseriaceae*), może być sporadyczną przyczyną zakażeń skórnych i sepsy [11]. Gatunek ten zdolny jest do produkcji kilku antybiotyków, a w obecności tlenu wytwarza fioletowy barwnik, wiołaceinę, która ma również właściwości antybiotyczne, o czym będzie wzmianka w następnym rozdziale. Wiołaceina, właściwie wiołaceina 5 (Ryc. 1D), jest pochodną pirolidyny i wytwarzana jest z L-tryptofanu i cząsteczkowego tlenu przy udziale pięciu enzymów, VioA – E [3]. Podobnie do uprzednio omówionych pigmentów, barwnik ten jest silnym przeciwutleniaczem, wydajnie usuwającym RFT z komórek eukariotycznych. Wydaje się, że wiołaceina ma szczególne znaczenie w ochronie przed utlenianiem lipidów znajdujących się w osłonach bakteryjnych [28].

Stosunkowo nieliczne bakterie chorobotwórcze, w tym *Proteus mirabilis* (klasa *Gammaproteobacteria*, rodzina *Enterobacteriaceae*) wywołujący zakażenia układu moczowego i ran, *Vibrio cholerae* (klasa *Gammaproteobacteria*, rodzina *Vibrionaceae*), czynnik etiologiczny cholery oraz *Burkholderia cenocepacia* (klasa *Betaproteobacteria*, rodzina *Burkholderiaceae*), która jest oportunistycznym patogenem i powoduje infekcje osób chorych na mukowiscydozę i chroniczną granulocytozę, mają zdolność do syntezy ciemnobrązowych lub czarnych barwników z grupy melanin

[39]. W tym miejscu należy nadmienić, że barwniki te są bardzo rozpowszechnione u *Eukaryota*, występują u zwierząt i patogennych grzybów takich jak *Cryptococcus neoformans* i *Aspergillus fumigatus* [34]. Liczne pozycje literaturowe dotyczą funkcji melanin właśnie u tych organizmów. Wszystkie pigmenty należące do tej grupy są związkami charakteryzującymi się dużą masą cząsteczkową i ujemnym ładunkiem, składają się z reszt fenolowych i indolowych (Rys. 1E) [59]. Melaniny stanowią przykład silnych przeciwutleniaczy, stabilizują wolne rodniki, mają zdolność do wiązania niesparowanych elektronów w RFT, z czym wiąże się ich działanie ochronne dla komórek bakteryjnych, a to pociąga za sobą zwiększoną wirulencję szczepów produkujących te pigmenty [38].

Paciorkowce należące do grupy B (klasa *Bacilli*, rodzina *Streptococcaceae*) syntetyzują czerwono-pomarańczowy pigment, granadyne, pochodną ornityny (Rys. 1F) [49]. Ta grupa bakterii wywołuje groźne infekcje u noworodków, a wirulencja szczepów związana jest między innymi z produkcją barwnika, czemu towarzyszy synteza innego czynnika wirulencji, beta hemolizyny/cytolizyny [53]. Eksperymentalnie udowodniono zwiększone przeżycie barwnych paciorkowców w makroorganizmach wskutek ich zdolności do usuwania RFT [31].

Przedstawione przykłady przekonują, że wirulencja bakterii związana jest w znacznym stopniu z ich zdolnością do syntezy barwników, które zazwyczaj pełnią funkcję polegającą na ochronie patogenów przed destrukcyjnym działaniem RFT, a u *P. aeruginosa* indukują wzmożoną produkcję RFT, co z kolei działa szkodliwie na komórki żerne makroorganizmu. W związku z powyższym, podjęcie prób zbadania zastosowania związków hamujących szlaki syntezy barwników w terapii chorób wywoływanych przez barwne patogeny wydaje się działaniem celowym. Jak dotąd sukcesy na tym polu nie są liczne, choć takie podejście *a priori* ma przewagę nad innymi rodzajami terapii np. stosowaniem antybiotyków, ponieważ pozwala na eliminację specyficznego gatunku. Najwięcej publikacji dotyczy potencjalnych możliwości leczenia chorób wywoływanych przez *Cryptococcus neoformans* przez zahamowanie produkcji melaniny przez ten grzyb [40], a więc opis uzyskanych wyników przekracza ramy tego opracowania. Wydaje się, że podobny rodzaj terapii może niedługo znaleźć zastosowanie w leczeniu paradontozy wywołanej przez *P. gingivalis* po zastosowaniu silnego, monochromatycznego światła, które jest pochłaniane przez czarny pigment, porfiryne [1]. Duże nadzieje wiąże się również z leczeniem chorób powodowanych przez *S. aureus*. Jak wspomniano, złocisty barwnik produkowany przez tę bakterię jest karotenoidem. Szlak jego syntezy ma początkowe etapy, katalizowane przez białko CrtA,

wspólne z etapami biosyntezy cholesterolu u ludzi katalizowanymi przez syntetazę skwalenową [7]. W związku z tym, inhibitory syntetazy skwalenowej np. fosfonosulfonian, hamują również wytwarzanie barwnika przez *S. aureus*, czyniąc komórki bakteryjne bardziej podatnymi na usuwanie przez RFT. Udowodniono eksperymentalnie 98% skuteczność tego związku w eliminacji patogenu eksperymentalnie wprowadzonego do myszy [33].

3. Funkcje pigmentów nie związane z chorobotwórczością

3.1. Fotosynteza

Niewątpliwie najważniejszą funkcją barwników jest ich kluczowa rola jaką pełnią w procesie fotosyntezy. Organizmy prokariotyczne, podobnie jak rośliny wyższe, mają zdolność do przeprowadzania fotosyntezy, która jest procesem dostarczającym organizmowi energii chemicznej powstałej w wyniku przetworzenia energii świetlnej oraz budulca w postaci produktów asymilacji dwutlenku węgla. Warunkiem zajścia tego procesu jest obecność w ich komórkach specyficznych barwników lub ich kompleksów odnajdywanych w różnych strukturach, które dzielą się na: chromatofory (u bakterii purpurowych i siarkowych), tylakoidy (u sinic) oraz chlorosomy – błoniaste struktury uformowane w rurki (u bakterii zielonych). We wszystkich układach fotosyntetycznych zawarte są substancje fotochemicznie czynne, można tu wyróżnić: chlorofile *a*, *b*, *d*, karotenoidy, fikobiliny oraz bakteriochlorofile *a*, *b*, *c*, *d*, *e* i *g*. W skład cząsteczki chlorofilu wchodzi cztery pierścienie pirolowe połączone mostkami (=CH-) tworzące porfiryne, z której po dołączeniu łańcuchów bocznych, powstaje porfiryne [14]. Chlorofile zawierają 2 grupy karboksylowe, z których jedna jest zawsze zestyfikowana długołańcuchowym niepolarnym alkoholem (najczęściej fitolem). Chlorofil *a* przy drugim pierścieniu pirolowym posiada grupę -CH₃, a chlorofil *b* -CHO. Centralną pozycję w układzie porfirynowym, zajmuje atom Mg związany z atomami azotu. Absorbencja energii świetlnej prowadzi do wyrzucenia z cząsteczki chlorofilu elektronów o dużej energii, które przechodząc przez łańcuch transportu elektronów dostarczają energii do wytworzenia siły protonomotorycznej i/lub bezpośredniej redukcji NADP. U cyanobakterii (sinic) fotosynteza przebiega inaczej niż u bakterii anoksygenowych (tj. nie wytwarzających tlenu), takich jak bakterie purpurowe i zielone i jest przykładem oksygenicznego typu fotosyntezy bardzo zbliżonego do fotosyntezy roślin [14, 17]. W bakteriochlorofilach zamiast alkoholu – fitolu może występować farnesol lub geranylogeraniol. Wzory strukturalne

chlorofilu *a* oraz bakteriochlorofilu *a* zostały przedstawione na rys. 1G i H. Barwnikami pełniącymi rolę pomocniczą w procesie fotosyntezy są karoteny i ksantofile [56]. Pochłaniają one promieniowanie niebiesko-fioletowe i przekazują energię chlorofilowi *a*, ponadto chronią chlorofil przed fotooksydacją możliwą w warunkach nadmiernego oświetlenia. Podstawową jednostką strukturalną karotenów jest izopren [56, 19]. Wzór przykładowego karotenoidu został uprzednio omówiony na przykładzie stafyloksantyny *S. aureus*.

Bakterie fotosyntezujące można podzielić na cztery grupy: (1) *Cyanobacteria* (sinice), (2) bakterie zielone (*Chlorobiaceae*, *Chloroflexaceae*), (3) bakterie purpurowe siarkowe (*Chromatiaceae*) oraz (4) purpurowe bakterie bezsiarkowe (*Rhodospirillaceae*). Cyanobakterie to grupa bakterii silnie zróżnicowana morfologicznie, większość z nich zawiera chlorofil *a* z maksimum absorpcji P700 i P680, natomiast zamiast chlorofilu *b* występują u nich fikobiliny, do których zalicza się fikocjaninę (PC), oraz rzadziej spotykaną fikoerytrynę (PE). Te barwniki odnajdywane są w strukturach fikobilisomów, absorbują światło barwy żółtej oraz zielono-żółtej [17, 48]. Wszystkie cyjanobakterie wiążą CO₂ w cyklu Calvina, nie mają pełnego cyklu Krebsa, część z nich wiąże N₂. Natomiast sinice zaliczane do rzędu *Prochlorales*, (np.: *Prochlorothrix*, *Prochloroflexus*, *Prochlorococcus* i *Prochloron*, który jest bezwzględnym symbiontem żachw) zawierają chlorofil *a* i *b*. Fotosyntezujące bakterie zielone (*Chlorobiaceae* i *Chloroflexaceae*), przeprowadzają ten proces przy udziale bakteriochlorofilu, zachodzi u nich fosforylacja cykliczna [17]. Źródłem elektronów dla bakteriochlorofilu jest wodór lub związki siarki. *Chlorobiaceae* posiadają niewielkie ilości bakteriochlorofilu *a* z maksimum absorpcji P840, natomiast nitkowate *Chloroflexaceae* bakteriochlorofilu *a* z maksimum absorpcji P865. Poza tym występują u nich bakteriochlorofile *c*, *d* oraz *e*, które pochłaniają światło 800, 850 i 870 nm [17, 19, 23, 48]. Z kolei *Heliobacteriaceae*, brązowo-zielone anoksygenowe fototrofy, (dotychczas opisano czterech przedstawicieli tej grupy bakterii: *Heliobacterium*, *Heliophilum*, *Heliorestis* i *Heliobacillus*), nie posiadają typowych barwników asymilacyjnych, mają natomiast zlokalizowany w błonie komórkowej bakteriochlorofil *g* o maksimum absorpcji P798, którego budowa jest bardzo zbliżona do chlorofilu *a*. Większość tych bakterii korzysta z nietypowych dawców elektronów, którymi są związki organiczne (alkohole, octan, pirogronian) [17, 20, 48].

Bakterie purpurowe zawierają bakteriochlorofile *a* i *b*, jednak ich barwa jest przesłonięta przez czerwone i brązowe karotenoidy. Wyróżnia się tu dwie rodziny: bakterie purpurowe siarkowe – *Chromatiaceae*, które są wyłącznie beztlenowe, zawierają globule siarki silnie załamujące światło i bakteriochlorofile *a* i *b* z ma-

ksimami absorpcji P870 i P890, odpowiednio, oraz bakterie purpurowe bezsiarkowe – *Rhodospirillaceae*, które w warunkach tlenowych przechodzą na heterotrofizm. Maksimum absorpcji ich bakteriochlorofilu *a* wynosi P870 a bakteriochlorofilu *b* – P960. U bakterii należących do *Chromatiaceae* (np. *Chromatium*, *Thiospirillum*, *Thiophlycoccus*) donorami elektronów są: siarkowodór, siarka i wodór oraz czasami związki organiczne (kwasy), natomiast *Rhodospirillaceae* (*Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter*, *Rhodocycilus* i *Rhodopila*) jako donory elektronów do procesu fotosyntezy wykorzystują różne związki organiczne, a niektóre mogą też wykorzystywać siarkowodór, siarkę i wodór [19, 23, 57].

Barwniki pełnią szczególną rolę u pewnych przedstawicieli *Archea*, które są zdolne do wykorzystywania energii słonecznej, chociaż nie potrafią przeprowadzać fotosyntezy. Na przykład tlenowy *Halobacterium salinarum* na świetle, w warunkach beztlenowych lub przy małej zawartości tlenu, wytwarza błonę purpurową, która jest częścią błony cytoplazmatycznej. Głównym barwnikiem purpurowym jest tu bakteriorodopsyna, zawierająca światłoczuły związek karotenowy, retinal. Po absorpcji energii świetlnej cząsteczka bakteriorodopsyny przechodzi bardzo szybko w stan wzbudzenia i po pochłonięciu fotonu przenosi przez błonę jony wodorowe. W rezultacie tworzony jest w błonie silny gradient elektrochemiczny, który bakterie wykorzystują do syntezy ATP. Błona ulega ponownej regeneracji przy udziale protonów znajdujących się w cytoplazmie, opisany proces jest więc pewną formą fosforylacji. *Halobacterium* jest zatem zdolny do korzystania z energii świetlnej w celu uzyskania energii w postaci ATP, nie jest jednak autotrofem. Halobakterie, żyjąc w środowisku silnie naświetlonym, zawierają duże ilości karotenoidów nadających im barwę różową i chroniących wewnątrz komórki przed uszkodzeniem fotochemicznym [15, 20, 54].

3.2. Pozyskiwanie żelaza

Legionella pneumophila (klasa *Gammaproteobacteria*, rodzina *Legionellaceae*) jest Gram-ujemną bakterią zasiedlającą środowiska wodne i zdolną do wywoływania ostrej formy zapalenia płuc u człowieka. *L. pneumophila* pozyskuje żelazo, głównie dzięki wytwarzaniu syderoforów (legiobaktyn). Niedawno opisano komplementarny system pozyskiwania tego pierwiastka przy udziale pigmentu – piomelaniny związanej z aktywnością reduktazy żelazowej [6]. Można przypuszczać, że melaniny produkowane przez inne bakterie należące do rodzajów: *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* i *Vibrio* również uczestniczą w pozyskiwaniu żelaza. U Gram-ujemnej bakterii *Shewanella algae* (także

u grzyba *C. neoformans*) opisano mechanizm redukcji tlenku żelaza przy udziale melaniny jako przekaźnika elektronów. Również *P. aeruginosa* jest zdolny do pozakomórkowej redukcji żelaza przy udziale piocyjaniny [6].

3.3. Ochrona przed szkodliwym działaniem czynników środowiskowych i związków antybakteryjnych

Postuluje się, że zdolność mikroorganizmów do wytwarzania pigmentów pierwotnie wyewoluowała jako mechanizm nadający komórkom oporność na działanie reaktywnych form tlenu, co prowadzi nie tylko do zwiększenia przeżywalności bakterii w zainfekowanym gospodarzu, lecz również w środowisku zewnętrznym. Z biegiem czasu pigmenty zostały zaadaptowane do pełnienia funkcji chroniących mikroorganizmy przed uszkodzeniami wywołanymi przez inne czynniki fizykochemiczne [34]. Istnieją liczne doniesienia wykazujące, że melaniny są odpowiedzialne za ochronę komórek mikroorganizmów przed uszkodzeniami wywołanymi takimi czynnikami środowiska jak promieniowanie UV i jonizujące, ekstremalne temperatury, czynniki utleniające, metale ciężkie, związki antybiotyczne [8, 26, 39, 43]. Melaniny nie tylko mogą chronić DNA i inne związki przed uszkodzeniami po działaniu promieniowania UV, ale również ochraniają enzymy przed proteazami, a komórki przed enzymami hydrolitycznymi. Zapobiegają także degradacji biofilmu i mogą pełnić rolę w przepływie protonów i substancji odżywczych w biofilmie [58, 60].

Literatura opisująca ochronną rolę melaniny u mikroorganizmów żyjących w takich środowiskach jak gleba i woda w większości dotyczy grzybów, nieliczne prace odnoszą się do bakterii. Barwnik ten syntetyzowany przez *Vibrio cholerae* chroni bytujące w wodzie komórki przed stresem osmotycznym i podwyższoną temperaturą. Warunki te spotykane są w miesiącach letnich, gdy wraz ze wzrostem temperatury wzrasta zasolenie wody. Zdolność melaniny do ochrony bakterii przed stresem osmotycznym opiera się na jej zdolności do absorpcji kationów Na^+ i K^+ , zapobiegając odwodnieniu komórki [8]. Melanina niweluje również skutki stresu oksydacyjnego, co jest szczególnie istotne w porze letniej, kiedy w wyniku wzrostu intensywności promieniowania UV wzrasta stężenie wolnych rodników w wodach powierzchniowych, osiągając poziom $1\text{--}12 \times 10^{-18}$ M. Barwny mutant *V. cholerae*, oprócz zwiększonej infekcyjności, charakteryzuje się podwyższoną odpornością na promieniowanie UV ($100, 200, 300 \mu\text{J}/\text{m}^2$), czego przyczyną jest preferencyjne absorbowanie energii tego promieniowania przez melaninę [58]. Wykazano również, że melanina *Bacillus thuringiensis* chroni tę bakterię przed szkodliwym działaniem promieni UV z jednoczesnym

zwiększeniem jego toksyczności wobec owadów [45]. W tym przypadku zwiększoną odporność na UV należy wiązać z obecnością melaniny w osłonach endospor, a zwiększoną toksyczność ze zwiększoną stabilnością insektycydu wynikającą z adsorpcji lub wbudowania melaniny do kryształów toksycznego białka powstającego podczas sporulacji. Te dane mają duże znaczenie aplikacyjne ze względu na to, że skuteczność *B. thuringiensis* jako bio-insektycydu zależy głównie od przeżycia bakterii i stabilności jej toksyny w warunkach polowych, gdzie głównym czynnikiem destabilizującym jest nasłonecznienie [45].

Melaniny są także zdolne do wiązania metali ciężkich. Grupy karboksylowe, fenolowe, hydroksylowe i aminowe występujące licznie w melaninach stanowią potencjalne miejsca wiązania lub adsorpcji dla jonów metali. Te właściwości melaniny sugerują mniejszą skuteczność zawierających metale środków przeciwgrzybiczych i antybakteryjnych w eliminacji mikroorganizmów wytwarzających ten pigment [39]. W badaniach *in vitro* wykazano: wiązanie się melaniny do różnych pod względem budowy chemicznej związków, jej interakcje z wieloma lekami, zdolność do adsorpcji porównywalną do węgla aktywowanego. Mechanizm nabywania oporności na leki przez grzyby produkujące melaninę polega na wydajnym wiązaniu ich przez warstwę pigmentu w ścianie i zapobieganiu w osiągnięciu celu wewnątrz komórki. Natomiast ochronny wpływ melaniny bakteryjnej może być ograniczony jej nieznaną lokalizacją w komórce [39].

U bakterii izolowanych z powietrza i u niektórych wolno żyjących, oportunistycznych mykobakterii, w tym *Mycobacterium kansasii* i *M. marinum* [50] oraz u *Deinococcus radiodurans* (klasa *Deinococci*, rodzina *Deinococcaceae*) rolę ochronną przed stresem oksydacyjnym pełnią karotenoidy. Tu należy wspomnieć, że duża oporność *D. radiodurans* na stres oksydacyjny jest jedną z licznych oporności tej bakterii na szkodliwe warunki środowiska w tym: promieniowanie jonizujące, podwyższoną temperaturę, zakwaszenie, obecność trucizn i brak związków odżywczych [55].

4. Możliwość zastosowania bakteryjnych pigmentów w medycynie i przemyśle

Największe nadzieje na zastosowanie bakteryjnych pigmentów w medycynie wiąże się z prodigiozyną, czerwonym barwnikiem syntetyzowanym przez *S. marcescens* (grupa *Gammaproteobacteria*, rodzina *Enterobacteriaceae*). Pigment ten należy do grupy amin i składa się z pierścieni pirolowych (Rys. 1J). Liczne badania prowadzone w wielu laboratoriach wykazały, że barwnik ten ma bardzo silne działanie cytotoksyczne na komórki kilku linii tkankowych. Wykazano również,

że pigment ten należy do inhibitorów cyklu komórkowego, degraduje DNA, zmienia wewnątrzkomórkowe pH, jak również indukuje apoptozę [47]. Stwierdzono również jego aktywności immunosupresyjną wobec limfocytów T, co ma związek z blokowaniem proliferacji limfocytów zależnej od interleukiny 2 [18]. Z kolei eksperymenty prowadzone na zwierzętach udowodniły, że prodigiozyna blokuje rozwój nowotworów, odrzut przeszczepów, np. serca i skóry, oraz hamuje początkowe etapy cukrzycy i artretyzmu [18]. Drugim pigmentem działającym anty-nowotworowo jest wiołaceina, która niszczy komórki nowotworowe jelita grubego i tęczówki oraz hamuje proliferację limfocytów i działanie cytokin, powoduje apoptozę komórek linii HL60, za co odpowiedzialna jest aktywacja receptora 1 dla czynnika martwicy nowotworów, TNF (tumor necrosis factor) odpowiedzialnego za transdukcję sygnału. [13, 27]. Barwnik ten ma także działanie antybiotyczne i jest szczególnie efektywny w eliminacji pierwotniaka *Leishmania amazoniensis*, czynnika etiologicznego różnego rodzaju leishmanioz: trzewnych, skórnych i skórno-słuzówkowych [30]. Istnieją również doniesienia o antybiotycznym działaniu piocyjaniny. Barwnik ten wykazuje działanie bakteriobójcze, szczególnie silnie eliminuje tlenowe bakterie Gram-dodatnie. Bakterie Gram-ujemne, a zwłaszcza beztlenowce są eliminowane znacznie słabiej [4]. Z kolei dość wiele pozycji literaturowych dotyczy możliwości zastosowania melaniny w kosmetologii, a zwłaszcza w medycynie. Syntetyczna melanina hamuje działanie prozapalnych cytokin, TNF, interleukiny (IL)-1 β , IL-6 i IL-10 [38]. Żadna z tych prac nie opisuje jednak działania barwników syntetyzowanych przez bakterie.

Na zakończenie wykazu zastosowań pigmentów w medycynie i przemyśle należy wspomnieć o rosnącym zainteresowaniu astaksantyną, pomarańczowym barwnikiem syntetyzowanym przez rośliny i mikroorganizmy, w tym przez gatunki z rodzaju *Paracoccus*, włączając szczep *P. marcusii* OS22 (klasa *Alphaproteobacteria*, rodzina *Rhodobacteriaceae*), który został wyizolowany z nieczynnej kopalni złota w Złotym Stoku [10]. Za syntezę astaksantyny odpowiedzialne są geny *crt* odnajdywane w wielu gatunkach *Paracoccus*, choć sugerowana jest możliwość zaangażowania również innych genów w produkcję tego barwnika [36]. Astaksantyna jest stosowana jako składnik leków i preparatów wzmacniających. Dzięki zdolności do nadawania intensywnego, pomarańczowego zabarwienia produktom pochodzenia zwierzęcego wykorzystywana jest w przemyśle spożywczym jako barwnik żywności, z kolei dzięki aktywności przeciw utleniającej – jako jej konserwant [21, 22]. Obecnie prowadzone są intensywne badania mające na celu skonstruowanie genetycznie modyfikowanych mikroorganizmów zdolnych do wydajnej i kontrolowanej produkcji tego pigmentu.

5. Podsumowanie

Liczne gatunki bakterii, w tym patogeny, zdolne są do produkcji barwników. Pigmenty bakteryjne pełnią różnorodną funkcję, zawsze korzystną dla ich producentów. Znana jest rola barwników jako czynników wirulencji patogennych bakterii. W przypadku piocyjaniny *P. aeruginosa* i stafyloksantyny *S. aureus*, mechanizm wirulencji związanej z produkcją barwników jest dobrze poznany na poziomie molekularnym. Badania innych pigmentów nie są tak zaawansowane. Podstawową rolę barwników w zwiększeniu patogenności ich producentów pełni zdolność pigmentów do ochrony komórek przed działaniem układu odpornościowego gospodarza, co jest związane ze zmniejszeniem stężenia reaktywnych form tlenu w komórkach żernych. Z kolei bakteryjne chlorofile i bakteriochlorofile pełnią kluczową rolę w procesie fotosyntezy. Barwniki mają także znaczenie w pozyskiwaniu żelaza, np. piomelanina u *L. monocytogenes* lub w ochronie przed szkodliwym działaniem promieniowania, np. melanina u *V. cholerae*. Ostatnio prowadzone są intensywne badania mające na celu opracowanie terapii antybakteryjnych opartych na zahamowaniu produkcji i/lub aktywności pigmentów. Z drugiej strony bada się możliwość wykorzystania pigmentów w przemyśle, głównie spożywczym i kosmetycznym, oraz w medycynie, np. w terapiach antynowotworowych, co dotyczy wiołaceiny *C. violaceum* i prodigiozyny *S. marcescens*.

Piśmiennictwo

- Allaker R.P., Douglas C.W.: Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **33**, 8–13 (2009)
- Allen L.: Pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* induces neutrophil apoptosis and impairs neutrophil-mediated host defenses *in vivo*. *J. Immunol.* **174**, 3643–3649 (2005)
- Balibar C.J., Walsh C.T.: *In vitro* biosynthesis of violacein from L-tryptophan by the enzymes VioA-E from *Chromobacterium violaceum*. *Biochemistry*, **45**, 15444–15457 (2006)
- Baron S., Rowe J.J.: Antibiotic action of pyocyanin. *Antimicrobial Agents Chemother.* **20**, 814–830 (1981)
- Bojarski J.: Chemia organiczna. 4 wydanie, Wyd. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, 1999
- Chatfield C.H., Cianciotto N.P.: The secreted pyomelanin pigment of *Legionella pneumophila* confers ferric reductase activity. *Infect Immun.* **75**, 4062–4070 (2007)
- Clauditz A., Resh A., Wieland K.-P., Peschel A., Götz F.: Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *Staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. *Infect. Immun.* **74**, 4950–4953 (2006)
- Coyne V.E., Al-Harhi L.: Induction of melanin biosynthesis in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 2861–2865 (1992)
- Das A., Yoon S.H., Lee S.H., Kim J.Y., Oh D.K., Kim S.W.: An update on microbial carotenoid production: application

- of recent metabolic engineering tools. *Appl. Microbiol. Biotech.* **77**, 505–512 (2007)
10. Drewniak L., Styczek A., Majder-Lopatka M., Sklodowska A.: Bacteria, hypertolerant to arsenic in the rocks of an ancient gold mine, and their potential role in dissemination of arsenic pollution. *Environ. Pollut.* **156**, 1069–1074 (2008)
 11. Duran N., Menck C.F.: *Chromobacterium violaceum*: a review of pharmacological and industrial properties. *Crit. Rev. Microbiol.* **27**, 201–222 (2001)
 12. El-Agamey A., Lowe G.M., McGarvey D.J., Mortensen A., Phillip P.M., Triscott T.G., Young A.J.: Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch. Biochem. Biophys.* **430**, 37–48 (2004)
 13. Ferreira C.V., Bos C.L., Versteeg H.H., Justo G.Z., Durán N., Peppelenbosch M.P.: Molecular mechanism of violacein-mediated human leukemia cell death. *Blood*, **104**, 1459–1464 (2004)
 14. Gomez Maqueo Ch.A., Bryant D.A.: Chlorophyll biosynthesis in bacteria: The origins of structural and functional diversity. *Annual Rev. Microbiol.* **61**, 113–129 (2007)
 15. Gonzalez O., Gronan S., Pfeiffer F., Mendoza E., Zimmer R., Oesterhett D.: Systems analysis of bioenergetics and growth of the extreme halophile *Halobacterium salinarum*. *PLoS Comput. Biol.* **5**(4): e1000332 (2009)
 16. Götz F., Bannerman T., Schleifer K.-H.: The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus* (w) The Prokaryotes, tom 4, 3. wydanie., red. M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackebrandt, Springer Science + Media LLC, New York, NY, USA, 2006, s. 704
 17. Greenblatt C.L., Davis A., Clement B.G., Kitts C.L., Cox T., Cano R.J.: Diversity of microorganisms isolated from amber. *Microbiol. Ecol.* **38**, 58–68 (1999)
 18. Han S.B., Park S.H., Jeon Y.K., Kim Y.K., Kim H.M., Yang K.H.: Prodigiosin blocks T cell activation by inhibiting interleukin-2/Ralpha expression and delays progression of autoimmune diabetes and collagen-induced arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **299**, 415–425 (2001)
 19. Hauska G., Schoedl T., Remigy H., Tsiotis G.: 2001 The reaction center of green sulfur bacteria. *Bioch. Biophys. Acta*, **1–3**, 260–77 (2001)
 20. Heinrickel M., Golbeck J.H.: Helio bacterial photosynthesis. *Photosynthesis Res.* **1**, 35–53 (2007)
 21. Higuera-Ciajara I., Félix-Valenzuela L., Goyoodea F.M., 2006. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **46**, 185–196 (2007)
 22. Hussein G., Sankawa U., Goto H., Matsumoto K., Watanabe H.: Astaxanthin, a carotenoid with potential human health and nutrition. *J. Nat. Prod.* **69**, 443–449 (2006)
 23. Ishikita H., Saenger W., Biesiadka J., Loll B., Knapp E.W.: How photosynthetic reaction centers control oxidation power in chlorophyll pairs P680, P700, and P870. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **26**, 9855–60 (2006)
 24. Jankiewicz U.: Charakterystyka i znaczenie piowerdyn bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. *Post. Mikrobiol.* **48**, 243–254 (2009)
 25. Kanthakumar K., Taylor G., Tsang K.W., Cudell D.R., Rutman A., Smith S., Jeffery P.K., Cole P.J., Wilson R.: Mechanism of action of *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin on human ciliary beat *in vitro*. *Infect. Immun.* **61**, 2848–2853 (1993)
 26. Keith K.E., Killip L., He P., Moran G.R., Valvano M.A.: *Burkholderia cenocepacia* C5424 produces a pigment with antioxidant properties using a homogentisate intermediate. *J. Bacteriol.* **189**, 9057–9065 (2007)
 27. Kodach L.L., Bos C.L., Durán N., Peppelenbosch M.P., Ferreira C.V., Hardwick J.C.: Violacein synergistically increases 5-fluorouracil cytotoxicity, induces apoptosis and inhibits Akt-mediated signal transduction in human colorectal cancer cells. *Carcinogenesis*, **27**, 508–516 (2006)
 28. Konzen M., De Marco D., Cordova C.A., Vieira T.O., Antônio R.V., Creczynski-Pasa T.B.: Antioxidant properties of violacein: possible relation on its biological function. *Bioorg. Med. Chem.* **14**, 8307–8313 (2006)
 29. Lau G.W., Ran H., Kong F., Hassett D.J., Mavrodi D.: *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin is critical for lung infection in mice. *Infect. Immun.* **72**, 4275–4278 (2004)
 30. Leon L.L., Miranda C.C., De Souza A.O., Durán N.: Anti-leishmanial activity of the violacein extracted from *Chromobacterium violaceum*. *J. Antimicrob. Chemother.* **48**, 449–450 (2001)
 31. Liu G.Y., Doran K.S., Lawrence T., Turkson N., Pulti M., Tissot L., Nizet V.: Sword and shield: linked group B streptococcal beta hemolysin/cytolysin and carotenoid pigment function to subvert host phagocyte defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 14491–14496 (2004)
 32. Liu G.Y., Essex A., Buchanan J.T., Datta V., Hoffman H.M., Bastian J.F., Fierer J., Nizet V.: *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity. *J. Exp. Med.* **202**, 209–215 (2005)
 33. Liu C.-I., Liu G.Y., Song Y., Yin F., Hensler M.E., Jeng W.-Y., Nizet W., Wang A. H., Oldfield E.: A cholesterol biosynthesis inhibitor blocks *Staphylococcus aureus* virulence. *Science*, **319**, 1391–1394 (2008)
 34. Liu G. Y., Nizet V.: Color me bad: microbial pigments as virulence factors. *Trends Microbiol.* **17**, 406–413 (2009)
 35. Łuszczewski A., Matyska-Piekarska E., Trefler J., Wawer I., Łacki J., Śliwińska-Stańczyk P.: Reaktywne formy tlenu – znaczenie w fizjologii i stanach patologii organizmu. *Reumatologia*, **45**, 284–289 (2007)
 36. Mizawa N., Satomi Y., Kondo K., Yokoyama A., Kaijwara S., Saito T., Ohtani T., Miki W.: Structure and functional analysis of marine bacterial carotenoid biosynthesis gene cluster and astaxanthin biosynthesis pathway proposed at the gene level. *J. Bacteriol.* **177**, 6575–6584 (1995)
 37. Mohagheghpour N., Waleh N., Garner S.J., Dousman L., Grill L.K., Tusé D.: Synthetic melanin suppresses production of proinflammatory cytokines. *Cell Immunol.* **199**, 25–36 (2000)
 38. Nosanchuk J.D., Casadevall A.: The contribution of melanin to microbial pathogenesis. *Cell Microbiol.* **5**, 203–223 (2003)
 39. Nosanchuk J.D., Casadevall A.: Impact of melanin on microbial virulence and clinical resistance to antimicrobial compounds. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 3519–3528 (2006)
 40. Nosanchuk J.D., Ovalle R., Casadevall A.: Glyphosate inhibits melatonin of *Cryptococcus neoformans* and prolongs survival of mice after systemic infection. *J. Infect. Dis.* **183**, 1093–1099 (2001)
 41. O'Malley Y.Q., Reszka K.J., Rasmussen G.T., Abdalla M.Y., Denning G.M., Britgan B.E.: The *Pseudomonas* secretory product pyocyanin inhibits catalase activity in human lung epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **285**, L1077–1086 (2003)
 42. O'Malley Y.Q., Reszka K.J., Spitz D.R., Denning G.M., Britgan B.E.: *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin directly oxidizes glutathione and decreases its level in airway epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **287**, L94–103 (2004)

43. Paolo Jr.W.F., Dadachova E., Mandal P., Casadevall A., Szaniszlo P.J., Nosanchuk J.D.: Effect of disrupting the polyketide gene WdPKSI in *Wangiella [Exophiala] dermatitidis* on melanin production and resistance to killing by antifungal compounds, enzymatic degradation, and extremes temperature. *BMC Microbiology*. <http://www.biomedcentral.com/1471-2180-6-55> (2006)
44. Parsek M.R., Singh P.K.: Bacterial biofilms. An emerging link to disease pathogenesis. *Annu. Rev. Microbiol.* **57**, 677–701 (2003)
45. Patel K., Wyman J., Patel K., Burden B.: A mutant of *Bacillus thuringiensis* producing a dark-brown pigment with increased UV resistance and insecticidal activity. *J. Invertebr. Pathol.* **67**, 120–124 (1996)
46. Pelz A., Wieland K.P., Putzbach K., Hentschel P., Albert K., Götz F.: Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.* **280**, 32493–32498 (2005)
47. Perez-Tomas R., Montaner B., Llagostera E., Soto-Cerrato V.: The prodigiosins, proapoptotic drugs with anticancer properties. *Biochem. Pharmacol.* **66**, 1447–1452 (2003)
48. Pierson B.K., Thornber J.P.: Isolation and spectral characterization of photochemical reaction centers from the thermo-philic green bacterium *Chloroflexus aurantiacus* strain J-10-f1. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **80**, 80–84 (1983)
49. Rosa-Fraile M., Rodrigez-Granger J., Haidour-Benamin A., Cueva J.M., Sampedro A.: Granadaene: proposed structure of the group B *Streptococcus* polyenic pigment. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 6367–6370 (2006)
50. Silcox V.A., David H.L.: Differential identification of *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium marinum*. *Appl. Microbiol.* **21**, 327–334 (1971)
51. Smalley J.W., Silver J., Briss A.J., Withnall R.: The haem pigment of the oral anaerobes *Prevotella nigrescens* and *Prevotella intermedia* is composed of iron(III) protoporphyrin IX in the monomeric form. *Microbiology*, **149**, 1711–1718 (2003)
52. Smalley J.W., Silver J., Marsh P.J., Briss A.J.: The periodontopathogen *Porphyromonas gingivalis* binds iron protoporphyrin IX in the mu-oxo dimeric form: an oxidative buffer and possible pathogenic mechanism. *Biochem. J.* **331** (Pt 3), 681–685 (1998)
53. Spellerberg B., Martini B., Brand C., Lütticken R.: The *cyl* genes of *Streptococcus agalactiae* are involved in the production of pigment. *FEMS Microbiol. Lett.* **188**, 125–128 (2000)
54. Stoeckenius W.: The rhodopsin-like pigments of halobacteria: light-energy and signal transduction in an archaeobacterium. *Trends Biochem. Sci.* **10**: 483–486 (1985)
55. Tian B., Sun Z., Shen S., Wang H., Jiao J., Wang L., Hu Y., Hua Y.: Effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* on protein oxidation. *Let. Appl. Microbiol.* **49**, 689–694 (2009)
56. Tracewell C.A., Vrettos J.S., Bautista J.A., Frank H.A. and Brudvig G.W.: Carotenoid photooxidation in photosystem II. *Archives Biochem. Biophys.* **1**, 61–69 (2001)
57. Ueda T., Ideguchi T., Kaino N., Kakuno T., Yamashita J., Horio T.: Molecular organization of photochemical reaction complex in chromatophore membrane from *Rhodospirillum rubrum* as detected by immunochemical and proteolytic analyses. *J. Biochem.* **4**, 755–65 (1987)
58. Valeru S.P. Rompikuntal P.K., Ishokawa T., Vaitkevicius K., Sjolting A., Dolganov N., Zhu J., Schoolnik G., Wai S.N.: Role of melanin pigment in expression of *Vibrio cholerae* virulence factors. *Infect. Immun.*, **77**, 935–942 (2009)
59. Wakamatsu K., Ito S.: Advanced chemical methods in melanin pigment determination. *Pigment Cell Res.* **15**, 174–183 (2002)
60. Weiner R.M.: Biopolymers from marine prokaryotes. *Trends Biotechnol.* **15**, 390–394 (1997)
61. Yahir T.L., Parsek M.R.: *Pseudomonas aeruginosa* (w) The Prokaryotes, tom 6, 3. wydanie, red. M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H., E. Stackebrandt, Springer Science + Media LLC, New York, NY, USA, 2006, s. 704