IBG UFRC RAS

BIOMICS

ISSN 2221-6197 https://biomicsj.ru

Роль циклического димера гуанозинмонофосфата в процессах формирования биопленок почвенных бактерий рода *Pseudomonas*

Лавина А.М.*, Хакимова Л.Р., Чубукова О.В., Вершинина З.Р., Матниязов Р.Т.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Российская Федерация
*E-mail: owlwoman@mail.ru

Резюме

Способность бактерий к адаптации в условиях интенсивной межвидовой конкуренции и экологического стресса детерминирована реализацией механизмов клеточного ответа. В основе этих адаптивных реакций лежит сложная система внутриклеточной регуляции, при этом около 6% регуляторных белков содержат ферментативные домены, участвующие в метаболизме циклического димера гуанозинмонофосфата (ц-ди-ГМФ). В данной статье систематизированы современные представления о молекулярных механизмах биопленкообразования почвенных бактерий рода *Pseudomonas* при участии Wsp-системы, где ц-ди-ГМФ выступает ключевым регулятором данного процесса. Особое внимание уделено исследованию влияния абиотических факторов (SDS, этанол, хлорид натрия, глицерин, лизоцим и карбенициллин) на активацию Wsp-сигнального пути и регуляцию биопленкообразования. Установлено, что ц-ди-ГМФ контролирует переход бактерий из планктонного состояния в форму биоплёнки, а также стимулирует синтез экзополисахаридов и адгезинов. Показано, что различные абиотические факторы оказывают существенное влияние на активацию Wsp-системы и могут, как стимулировать, так и подавлять процесс биопленкообразования. Указаны новые аспекты регуляции бактериальных популяций через изменение концентрации ц-ди-ГМФ: продемонстрирована роль недавно обнаруженного генетического переключателя *hecR-hecE*, который экспрессируется бимодально, а также участвует в формировании функционально различных субпопуляций и поддержанием баланса между пролиферацией и колонизацией поверхностей *P. aeruginosa*. Результаты обзора демонстрируют значительный научный потенциал исследований механизмов биопленкообразования и открывают новые горизонты разработки эффективных биопрепаратов, направленных на повышение продуктивности сельскохозяйственных культур, оптимизацию их ростовых параметров и повышения устойчивости к абиотическим стрессовым факторам. Что особенно актуально в контексте современных вызовов, связанных с необходимостью повышения эффективности сельскохозяйственного производства и защиты растений от неблагоприятных условий окружающей среды.

Ключевые слова: биопленки, *Pseudomonas*, ц-ди-ГМФ, Wsp-система, *hecR, hecE*

Цитирование: Лавина А.М., Хакимова Л.Р., Чубукова О.В., Вершинина З.Р., Матниязов Р.Т. Роль циклического димера гуанозинмонофосфата в процессах формирования биопленок почвенных бактерий рода *Pseudomonas*. *Biomics*. 2025. 17(3). 217-222. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-17

The role of cyclic guanosine monophosphate dimer in the formation of biofilms of soil bacteria of the genus *Pseudomonas*

A.M. Lavina*, L.R. Khakimova, O.V. Chubukova, Z.R. Vershinina, R.T. Matniyazov

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center,
Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation
*E-mail: owlwoman@mail.ru

Resume

The ability of bacteria to adapt in conditions of intense interspecific competition and environmental stress is determined by the implementation of cellular response mechanisms. These adaptive reactions are based on a complex system of intracellular regulation, with about 6% of regulatory proteins containing enzymatic domains involved in the metabolism of the cyclic guanosine monophosphate dimer (c-di-HMP). This article systematizes modern ideas about the molecular mechanisms of biofilm formation of soil bacteria of the genus *Pseudomonas* with the participation of the Wsp system, where c-di-GMF acts as a key regulator of this process. Special attention is paid to the study of the influence of abiotic factors (SDS, ethanol, sodium chloride, glycerin, lysozyme, and carbenicillin) on the activation of the Wsp signaling pathway and the regulation of biofilm formation. It has been established that c-di-GMF controls the transition of bacteria from the planktonic state to the biofilm form, and also stimulates the synthesis of exopolysaccharides and adhesins. It has been shown that various abiotic factors have a significant effect on the activation of the Wsp system and can both stimulate and inhibit the biofilm formation process. New aspects of the regulation of bacterial populations through changes in the concentration of c-di-HMP are indicated: the role of the recently discovered genetic switch *hecR-hecE*, which is expressed bimodally, and is also involved in the formation of functionally different subpopulations and maintaining a balance between proliferation and colonization of *P. aeruginosa* surfaces, is demonstrated. The results of the review demonstrate the significant scientific potential of research into biofilm formation mechanisms and open up new horizons for the development of effective biological products aimed at increasing crop productivity, optimizing their growth parameters and increasing resistance to abiotic stress factors. This is especially important in the context of modern challenges related to the need to increase the efficiency of agricultural production and protect plants from adverse environmental conditions.

Keywords: biofilms, *Pseudomonas*, c-di-GMF, Wsp-system, *hecR, hecE*

Citation: Lavina A.M., Khakimova L.R., Chubukova O.V., Vershinina Z.R., Matniyazov R.T. The role of cyclic guanosine monophosphate dimer in the formation of biofilms of soil bacteria of the genus *Pseudomonas*. *Biomics*. 2025. 17(3). 217-222. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2025-16

В современной микробиологии особое внимание уделяется изучению биопленок, которые представляют собой высокоорганизованные консорциумы микроорганизмов, формирующие сложные трёхмерные матрицы. Биопленкообразование не только обеспечивает выживание микробных сообществ в различных экологических нишах, но и играет важную роль в жизнедеятельности микроорганизмов и их взаимодействии с окружающей средой.

На основе фундаментальных исследований сформировались и активно развиваются два приоритетных направления в области изучения биопленок, каждое из которых имеет свою специфику и прикладное значение. Клиническое направление фокусируется на изучении патогенных биопленок, формирующихся в организме человека или медицинских приборах, и имеет критическое значение для здравоохранения. И сельскохозяйственное, сосредоточенное на изучении роли биопленок, образованных почвенными бактериями, которые, благодаря интенсивным метаболическим процессам и сложным межвидовым взаимодействиям, становятся ключевым фактором в процессах биоремедиации, биоконтроля и стимуляции роста растений [Brokate et al., 2024; Ajijah et al., 2023]. Исследование молекулярных механизмов формирования и функционирования биоплёнок в

ризосфере имеет фундаментальное значение для разработки инновационных биотехнологических подходов в области защиты растений и повышения их продуктивности. Такое разделение исследовательских интересов не противоречит, а, более того, дополняет общую картину понимания феномена биопленок, открывая новые возможности для практического применения полученных знаний в различных областях науки и технологий.

Среди представителей микробиоты почв значительную роль играют бактерии рода *Pseudomonas*, обладающие рядом физиологических и метаболических характеристик: способность синтезировать фитогормоны и антибиотические вещества, эффективно защищать культуры от патогенов и стрессовых факторов, а также улучшать питание и рост растений. Благодаря этим свойствам формирование устойчивых биопленок псевдомонадами на корнях не только обеспечивает выживание самих микроорганизмов, но и оказывает положительное влияние на состояние растения-хозяина. Что, в свою очередь, позволяет рассматривать их в качестве основы при разработке экологически безопасных средств защиты и стимуляции важных сельскохозяйственных культур. При этом успешная колонизация корневой системы растений грамотрицательными микроорганизмами рода *Pseudomonas* и формирование ими устойчивых биопленочных конгломератов во многом определяется их способностью к тонкой внутриклеточной регуляции [Heredia-Ponce et al., 2021; Raio, Puopolo, 2021]. Ключевую роль в процессах формирования биопленок псевдомонад играет внутриклеточный вторичный мессенджер – циклический димер гуанозинмонофосфата (ц-ди-ГМФ), который способствует образованию биопленок во многих грамотрицательных бактериях, путем стимуляции синтеза экзополисахаридов и адгезинов. Адаптация к условиям окружающей среды и переход от планктонного состояния к биопленке регулируются изменением концентрации этого вторичного мессенджера. Так, например, высокий уровень ц-ди-ГМФ подавляет подвижность жгутиков и приводит к стимуляции экспрессии генов биопленкообразования. Регулирование концентрации ц-ди-ГМФ в клетке осуществляется дигуанилатциклазами и фосфодиэстеразами, которые ответственны за его синтез и деградацию. Ферменты класса дигуанилатциклаз, содержащие консервативный домен GG(D/E)EF (состоящий из аминокислот глицин / глицин / аспарагиновая кислота / глутаминовая кислота / фенилаланин), синтезируют циклический ди-ГМФ в ответ на разнообразные сигналы из внешней среды [Xu et al., 2022; O'Neal et al., 2022; Manner et al., 2023].

В системе регуляции биопленкообразования псевдомонад центральное место занимает фермент дигуанилатциклаза WspR. Благодаря своей фундаментальной роли в этом процессе, она стала объектом многочисленных научных исследований и является одной из наиболее детально изученных среди представителей класса дигуанилатциклаз [Nie et al., 2022]. Структура фермента представляет собой димер, в котором домены GGDEF расположены на границе раздела и способны связываться с двумя молекулами ГТФ, синтезируя из них ц-ди-ГМФ в присутствии ионов Mg^{2+}, выполняющих роль кофактора. Механизмы функционирования WspR были тщательно исследованы на примере *P. aeruginosa*. Так было установлено, что катализируемый данной дигуанилатциклазой синтез ц-ди-ГМФ не только регулирует процессы формирования биоплёнок, но и активно стимулирует продукцию ЭПС Pel и Psl, которые выполняют структурную и защитную роль при формировании матрикса биопленок [Irie et al., 2017; Liu et al., 2025].

Учитывая тот факт, что уровень ц-ди-ГМФ является ключевым моментом формирования и распространения биопленок, продолжением этих исследований стало детальное изучение путей передачи сигналов, связанных с Wsp-комплексом. Особая значимость этого направления обусловлена тем, что понимание механизмов регуляции уровня ц-ди-ГМФ может стать ключом к разработке новых подходов в борьбе с инфекциями, вызванными *P. aeruginosa*, что, в свою очередь, представляет собой серьёзную проблему современной медицины.

Сигнальная трансдукция в Wsp-системе реализуется посредством упорядоченного каскада биохимических реакций, в основе которого лежит принцип последовательной передачи молекулярных сигналов. Для наглядного представления этого сложного процесса показана упрощённая модель, отражающая ключевые этапы молекулярных преобразований (рис. 1). При детекции внешнего сигнала на поверхности клетки, запускаются процессы инициации ответа, и мембранный рецепторный белок WspA подвергается конформационным изменениям. Далее активируется WspC-метилтрансфераза, взаимодействующая с 5'-концом рецепторного белка WspA и осуществляющая его метилирование. Затем происходит передача сигнала через связывающие белки WspB и WspD к гистидинкиназе WspE. Она фосфорилирует дигуанилатциклазу WspR, которая содержит домен GGDEF и отвечает за синтез ц-ди-ГМФ. В то же время гистидинкиназа WspE фосфорилирует и метилэстеразу WspF, которая деметилирует WspA и, тем самым, обрывает сигнальный каскад.

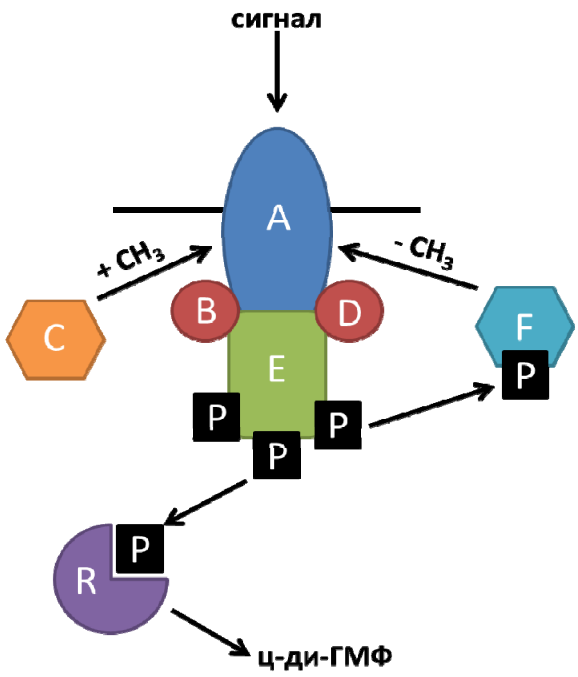

Рис. 1. Модель передачи сигнала через Wsp-систему. CH_3 - метильная группа; P - фосфорильная группа; A – мембранный белок-рецептор WspA; C - метилтрансфераза WspC; B, D - связывающие белки WspB и WspD; E - гистидинкиназа WspE; R - дигуанилатциклаза WspR.
Fig. 1. The model of signal transmission through the Wsp system. CH_3 - methyl group; P - phosphoryl group; A – membrane protein-WspA receptor; C - WspC methyltransferase; B, D - binding proteins WspB and WspD; E - histidine kinase WspE; R - diguanylate cyclase WspR.

Важно отметить, что делеция в гене *wspF* вызывает полную блокировку сигнальной системы, что, в свою очередь, запускает биохимические изменения в клетке. В результате данного нарушения наблюдается значительное повышение уровня ц-ди-ГМФ, активация фосфорилирования белка WspR и, как следствие, резкое усиление процессов формирования биоплёнок [Borlee et al., 2010; Rybtke et al., 2015; Hueso-Gil et al., 2020]. Так, соответственно, было выявлено, что WspF играет роль репрессора активности дигуанилатциклазы WspR.

Дальнейшие исследования молекулярных механизмов регуляции биопленкообразования показали, что у некоторых ферментов класса гликозилтрансфераз, включая PelD и WspR, существует ингибирующий сайт (I-сайт), который находится на расстоянии пяти аминокислот от активного каталитического сайта. [Valentini et al., 2016]. Характерным мотивом I-сайта является последовательность RxxD (x обозначает любую аминокислоту), которая участвует в аллостерической регуляции синтеза ц-ди-ГМФ [Duvel et al., 2016].

Исследование роли ц-ди-ГМФ в регуляции бактериальных процессов опирается на изучение более сотни белков, обеспечивающих хемотаксические реакции, осуществляемые при помощи жгутиков [Manzenyuk et al., 2018]. Тем не менее, несмотря на достигнутые успехи, специфические функции связывающих ц-ди-ГМФ белков остаются во многом невыясненными. Так, например, было обнаружено, что экспрессия гена cupA, который отвечает за синтез специфических пилей у бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, зависит от белков WspR, MorA и PA1120 [Romling et al., 2025]. Синтез CupD пилей регулируется ц-ди-ГМФ и зависит от белков PilZ и FimX, которые, в свою очередь, имеют ц-ди-ГМФ-связывающие домены [Sultan et al., 2021]. Также было показано, что фосфодиэстераза RocR участвует в синтезе CupB и CupC пилей. Экспрессия поверхностного белка CdrA, который связывает клетки *P. aeruginosa* с полисахаридом Psl, положительно контролируется ц-ди-ГМФ на транскрипционном уровне. А повышенные концентрации ц-ди-ГМФ приводят к увеличению продукции Psl и других компонентов матрицы биопленки [O'Neal et al., 2022]. Были идентифицированы и охарактеризованы каталитические домены дигуанилатциклаз (GGDEF) и фосфодиэстераз (EAL или HD-GYP) и выдвинуто предположение о том, что они могут модулировать свою ферментативную активность в ответ на внешние или внутренние сигналы [Valentini, Filloux, 2016]. Более того, было показано, что домены GGDEF и EAL могут присутствовать в одном и том же белке, причем, либо только один из двух доменов был каталитически активен, а другой приобретал регуляторную функцию, либо присутствовал третий регуляторный домен, вероятно, разъединяющий активность доменов GGDEF и EAL [Choua, Galperinb, 2015]. В дальнейшем появился ряд работ, в которых были описаны примеры белков с двойной активностью (и дигуанилатциклазы, и фосфодиэстеразы). Так, например, у бактерий *P. aeruginosa* домены GGDEF и EAL MucR активируются по-разному: в планктонных клетках MucR функционирует как дигуанилатциклаза и как положительный регулятор биосинтеза альгината, тогда как в биопленках он функционирует как фосфодиэстераза и является положительным регулятором перехода к планктонному образу жизни, который стимулирует оксид азота или глутамат [Feirer et al., 2015; Valentini, Filloux, 2016].

Ответные реакции бактерий на колебания уровня внутриклеточного ц-ди-ГМФ достаточно хорошо исследованы. Тем не менее, остаются малоизученными некоторые важные аспекты этого процесса. В частности, ещё предстоит выяснить, каким образом отдельные бактериальные клетки воспринимают и обрабатывают этот сигнал в условиях воздействия различных факторов окружающей среды или процессов развития. Особую актуальность приобретает вопрос о том, способен ли ц-ди-ГМФ оказывать влияние на гетерогенность популяций бактерий. Эти направления исследований находятся на начальной стадии изучения и могут раскрыть новые грани понимания регуляции биопленкообразования. Так, в журнале Nature Microbiology появилась статья, в которой авторы описывают обнаруженный ими генетический переключатель hecR-hecE, который экспрессируется бимодально и генерирует функционально различные бактериальные субпопуляции. Открытие представляет значительный интерес и может пролить свет на процессы формирования и функционирования бактериальных сообществ. Важно отметить, что благодаря этому механизму обеспечивается оптимальный баланс роста и распространения бактерий *P. aeruginosa* через модуляцию ц-ди-ГМФ [Manner et al., 2023]. Механизм действия переключателя основан на двойном эффекте. Переключатель HecE ингибирует фосфодиэстеразу BifA и стимулирует дигуанилатциклазу WspR. Эти процессы приводят к повышению ц-ди-ГМФ, что способствует эффективной поверхностной колонизации. Клетки с низким уровнем экспрессии $HecE^-$ рассеиваются. Фракция клеток $HecE^+$ подстраивается под действие различных стрессовых факторов и определяет баланс между образованием биопленок и распространением клеток в сообществах [Manner et al., 2023; Gomez, Waters, 2023].

Понимание принципов работы генетических регуляторов, которые контролируют образование биопленок, потенциально может обеспечить подходы к управлению биопленкообразованием, как положительно, так и отрицательно, в зависимости от цели применения: при лечении заболеваний, вызванных бактериями формирующими биопленки, в биоремедиации или в сельском хозяйстве для повышения урожайности растений, их ростовых параметров и устойчивости к абиотическим стрессам. Следовательно, исследования каскадной передачи сигнала через Wsp-комплекс и его эффектов на биопленкообразование находятся на начальном этапе, а знания о сигналах окружающей среды, инициирующих этот процесс, практически отсутствуют. В работе Chen и соавт. (2014) авторы показали, что обработка *P. aeruginosa* этанолом увеличивает агрегацию клеток и уровни ц-ди-ГМФ через Wsp-зависимый путь. Исследования ряда авторов продемонстрировали, что и осмотическая концентрация влияет на Wsp-систему. Для её активации требуется минимальный уровень NaCl, но в то же время высокая концентрация соли (более 300 мМ NaCl) может блокировать передачу сигнала через Wsp-зависимый путь [Matilla et al., 2021]. Тем не менее, в одном из экспериментов добавление 300 мМ NaCl к среде LB активировало систему Wsp, но результат был осложнён мутацией в гене *wspF*, которая частично блокировала систему [Xu et al., 2022; O'Neal et al., 2022]. Также обнаружена связь между внутренней мембраной и активностью Wsp-пути. В работе О'Нил Л. и соавт., (2022) доказано, что система Wsp стимулируется широким спектром соединений с разнообразной структурой, способных разрушать клеточную оболочку. Так, было обнаружено, что SDS, этанол, хлорид натрия, лизоцим, карбенициллин и глицерин активируют репортер ц-ди-ГМФ с коротким периодом полураспада Wsp-зависимым образом, а обработка бензиловым спиртом не повышала уровни ц-ди-ГМФ. Также авторы делают предположение о том, что изменения окружающей среды, которые дестабилизируют периплазматические белки и белки внутренней мембраны, а также вызывают структурные изменения в WspA, в свою очередь, активируют Wsp-систему. Тем не менее, на данный момент, вопрос того, как Wsp-комплекс может воспринимать столь разнообразные сигналы, представляет собой один из ключевых нерешенных вопросов.

Таким образом, изучение молекулярных механизмов формирования биопленок почвенных бактерий, а также роли Wsp-системы в этих процессах, открывает новые возможности для их применения в области биоремедиации и способствует разработке инновационных биотехнологий, повышающих продуктивность и устойчивость агроэкосистем. Эти работы дополняют клинические исследования, расширяя практическое применение знаний о биоплёнках в науке и технологиях.

Литература/References

1. Ajijah N, Fiodor A, Pandey AK et al. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) with biofilm-forming ability: a multifaceted agent for sustainable agriculture. *Diversity*. 2023. 15(1). 1-21. doi:10.3390/d15010112
2. Borlee BR, Goldman AD, Murakami K. *Pseudomonas aeruginosa* uses a cyclic-di-GMP-regulated adhesin to reinforce the biofilm extracellular matrix. *Mol Microbiol*. 2010. 75(4). 827-842. doi: 10.1111/j.1365-2958.2009.06991.x

3. Brokate O, Papenbrock J, Turcios AE. Biofilm-forming microorganisms in the rhizosphere to improve plant growth: Coping with abiotic stress and environmental pollution. *Appl. Soil Ecol*. 2024. 202. 1-17. doi:10.1016/j.apsoil.2024.105591
4. Choua SH, Galperinb MY. Diversity of c-di-GMP-binding proteins and mechanisms. *J Bacteriol*. 2016. 198(1). 32-46. doi: 10.1128/jb.00333-15.
5. Duvel J, Bense S, Möller S et al. Application of synthetic peptide arrays to uncover cyclic di-GMP binding motifs. *J Bacteriol*. 2016. 198(1). 138-146. doi: 10.1128/jb.00377-15
6. Eilers K, Kuok Hoong Yam J, Morton R. Phenotypic and integrated analysis of a comprehensive *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 library of mutants lacking cyclic-di-GMP-related genes. Front. Microbiol. 2022. 13. 1-21. doi:10.3389/fmicb.2022.949597
7. Feirer N., Xu J., Allen KD et al. A Pterin-dependent signaling pathway regulates a dual-function diguanylate cyclase-phosphodiesterase controlling surface attachment in *Agrobacterium tumefaciens*. *MBio*. 2015. (6)4. 1-12 doi: 10.1128/mBio.00156-15
8. Gomez JB, Waters CM Switching on cyclic di-GMP heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nat. Microbiol*. 2023. 8(8). 1380-1381. doi: 10.1038/s41564-023-01428-5
9. Heredia-Ponce Z, de Vicente A, Cazorla FM et al. Beyond the wall: exopolysaccharides in the biofilm lifestyle of pathogenic and beneficial plant-associated *Pseudomonas*. *Microorganisms*. 2021. 9(2). 1-17. doi:10.3390/microorganisms9020445
10. Hueso-Gil Á, Calles B, de Lorenzo V. The Wsp intermembrane complex mediates metabolic control of the swim-attach decision of *Pseudomonas putida*. *Environ. Microbiol*. 2020. 22(8). 3535-3547. doi: 10.1111/1462-2920.15126
11. Irie Y, Roberts AE, Kragh KN et al. The *Pseudomonas aeruginosa* PSL polysaccharide is a social but noncheatable trait in biofilms. *MBio*. 2017. 8(3). 1-13. doi:10.1128/mbio.00374-17
12. Liu Q, Wu Q, Liu J et al. New Insights into the Mediation of Biofilm Formation by Three Core Extracellular Polysaccharide Biosynthesis Pathways in *Pseudomonas aeruginosa. Int. J. Mol. Sci*. 2025. 26(8). 1-13. doi:10.3390/ijms26083780
13. Manner C, Dias TR, Saha D et al. A genetic switch controls *Pseudomonas aeruginosa* surface colonization. *Nat. Microbiol*. 2023. 8(8). 1520-1533. doi:10.1038/s41564-023-01403-0
14. Manzenyuk OY, Firstova VV, Mukhina TN et al. Molecular Regulation of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Ann. Russ*. *Acad. Med. Sci*. 2018. 73(4). 244-251. doi: 10.15690/vramn1010
15. Matilla MA, Martin-Mora D, Gavira JA et al. *Pseudomonas aeruginosa* as a model to study chemosensory pathway signaling. *MMBR*. 2021. 85(1). 1-32. doi: 10.1128/mmbr.00151-20
16. Nie H, Xiao Y, Song M, Wu N et al. Wsp system oppositely modulates antibacterial activity and biofilm formation via FleQ-FleN complex in *Pseudomonas putida*. *Environ. Microbiol*. 2022. 24(3). 1543-1559. doi: 10.1111/1462-2920.15905
17. O'Neal L, Baraquet C, Suo Z et al. The Wsp system of *Pseudomonas aeruginosa* links surface sensing and cell envelope stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022. 119(18). 1-10. doi:10.1073/pnas.2117633119
18. Raio A, Puopolo G. *Pseudomonas chlororaphis* metabolites as biocontrol promoters of plant health and improved crop yield. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 2021. 37(6). 1-9. doi:10.1007/s11274-021-03063-w
19. Romling U. Impact and applications of cyclic di-GMP second messenger signaling in biotechnology and medicine. *Sustain*. *Microbiol*. 2025. 2(3). 1-15. doi: 10.1093/sumbio/qvaf016
20. Rybtke M, Berthelsen J, Yang L et al. The LapG protein plays a role in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by controlling the presence of the CdrA adhesin on the cell surface. *Microbiologyopen*. 2015. 4(6). 917-930. doi: 10.1002/mbo3.301
21. Sultan M, Arya R, Kim KK Roles of two-component systems in *Pseudomonas aeruginosa* virulence. *Int. J. Mol. Sci*. 2021. 22(22). 1-22. doi: 10.3390/ijms222212152
22. Valentini M, Filloux A. Biofilms and cyclic di-GMP (c-di-GMP) signaling: lessons from *Pseudomonas aeruginosa* and other bacteria *J. Biol Chem*. 2016. 291(24). 12547-12555. doi: 10.1074/jbc.r115.711507
23. Xu K, Wang L, Xiong D et al. The Wsp chemosensory system modulates c-di-GMP-dependent biofilm formation by integrating DSF quorum sensing through the WspR-RpfG complex in *Lysobacter*. *NPJ Biofilms and Microbiomes*. 2022. 8(1). 1-13.