

Qui régit la spécificité de transport des oligopeptides chez *Lactococcus lactis* ?

Pascale CHARBONNEL^a, Mauld LAMARQUE^b, Dominique AUBEL^b,
Jean-Christophe PIARD^a, Vincent JUILLARD^{a*}, Danièle ATLAN^b

^a Bactéries Lactiques et Protéines de Surface Utiles, URLGA, INRA,
78352 Jouy-en-Josas Cedex, France

^b Laboratoire de Microbiologie et Génétique, CNRS, UMR 5122, Université Lyon I,
10 avenue R. Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France

Abstract – Who determines the diversity of oligopeptide transport specificity in *Lactococcus lactis*? In this review our knowledge of oligopeptide transport by Opp in *Lactococcus lactis* is discussed. The specific oligopeptide transport system Opp is essential for growth of lactic acid bacteria in milk. This system belongs to the superfamily of ABC transporters containing a binding protein, generally described as the determinant of the specificity. The substrate specificity of this system, studied on one strain of lactococci, *L. lactis* MG1363, appears to be very different from that of other bacteria, especially *Salmonella typhimurium*. Relatively broad, this specificity is not fully representative of that of *L. lactis* species. In fact, each strain displays specific preferences for peptide transport. Despite binding protein OppA sequence varies to one strain to another, its variability cannot explain the observed diversity of substrate specificity. In *L. lactis*, OppA is essential for peptides transport but does not entirely determine the substrate specificity and its diversity among the species.

***Lactococcus lactis* / oligopeptide transport / specificity / diversity**

Résumé – La présente revue se propose de synthétiser l'état de nos connaissances concernant le transport des oligopeptides par le système Opp chez *Lactococcus lactis*. Ce système est indispensable à la croissance des bactéries lactiques dans le lait. Il appartient à la famille des transporteurs ABC constitués d'une protéine affine : la protéine OppA, généralement décrite comme le déterminant de la spécificité du transporteur. La spécificité de substrat de ce système, définie sur une souche de lactocoque, *L. lactis* MG1363, apparaît très différente de celle d'autres bactéries modèles comme *Salmonella typhimurium* par exemple. Relativement large, elle n'est toutefois pas totalement représentative de l'espèce *L. lactis*. En effet, il existe une spécificité de transport des peptides propre à chaque souche. Bien que la séquence de la lipoprotéine OppA diffère d'une souche à l'autre, sa variabilité ne permet pas d'expliquer la diversité de la spécificité de substrat constatée. Chez *L. lactis*, OppA est indispensable au transport, mais elle ne détermine pas à elle seule la spécificité du transport des peptides et sa diversité au sein de l'espèce.

***Lactococcus lactis* / transport oligopeptide / spécificité de substrat / diversité**

* Auteur correspondant : juillard@jouy.inra.fr

1. INTRODUCTION

Les lactocoques sont des microorganismes exigeants d'un point de vue nutritionnel et sont auxotrophes pour plusieurs acides essentiels qui sont en concentration limitante dans le lait. L'utilisation d'oligopeptides (initialement présents dans le lait ou dérivés de l'hydrolyse des caséines) est indispensable à une croissance optimale des souches dans le lait. Leur utilisation est conditionnée par leur transport à travers la membrane via le système de transport des oligopeptides Opp. En effet, un dérivé de *Lactococcus lactis* MG1363 partiellement délété pour le gène *oppA*, tout comme une souche de *Streptococcus thermophilus* n'exprimant pas le transporteur, ne se développent pas dans le lait [10, 15, 26]. Opp joue donc un rôle crucial dans la nutrition azotée des bactéries lactiques.

Le système Opp est présent chez la plupart des bactéries et, chez les bactéries à Gram positif, il intervient également dans le mécanisme général de la signalisation par les peptides (ou phéromones) de type quorum sensing. Opp est impliqué dans les processus de sporulation et compétence chez *Bacillus subtilis* [17, 24], de conjugaison chez *Enterococcus faecalis* [9, 18], de virulence chez plusieurs bactéries pathogènes (*Streptococcus pyogenes* [21] ; *Streptococcus gordonii* [19] ; *Staphylococcus aureus* [5] ; *Bacillus cereus* [23] ; *Bacillus thuringiensis* [11]), de survie à basses températures et à l'intérieur de macrophages chez *Listeria monocytogenes* [2].

Le système Opp a été caractérisé chez plusieurs bactéries comme *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* et *L. lactis*. C'est un transporteur ABC (ATP-Binding Cassette) constitué de cinq protéines. Une protéine affine lie les oligopeptides substrats : OppA (périplasmique chez les bactéries à Gram négatif, lipoprotéine attachée à la membrane chez les bactéries à Gram positif). Deux protéines transmembranaires OppB et OppC constituent la perméase du système. Enfin, deux protéines liant l'ATP, OppD et OppF, fournissent

l'énergie au système par hydrolyse de l'ATP. Les gènes codant pour les protéines du système Opp sont organisés en opéron et leur ordre est assez bien conservé, le gène *oppA* étant situé en amont des autres gènes du complexe. Chez *L. lactis*, l'ordre des gènes de l'opéron se différencie du cas général puisque le gène *oppA* est situé en aval de l'opéron *opp* [26].

La protéine OppA est par ailleurs généralement décrite comme le déterminant de la spécificité du système Opp. Entre *S. typhimurium* et *L. lactis*, les protéines OppA présentent un faible pourcentage d'identité (de l'ordre de 21 %) et leur spécificité de substrat est très différente. OppA de *S. typhimurium* est capable de fixer des di- et tripeptides quelle que soit leur séquence avec une affinité maximale pour les tripeptides [22, 25] tandis que OppA de *L. lactis* ne fixe aucun di- ni tripeptide [13, 14].

2. LE TRANSPORT DES OLIGOPEPTIDES CHEZ *L. LACTIS*

2.1. Spécificité du système Opp chez *L. lactis* MG1363

Le système de transport Opp de *L. lactis* a été caractérisé génétiquement la première fois par l'équipe de Poolman [26] chez la souche MG1363. L'inactivation du gène *oppA* [16, 26] a permis de mettre en évidence que Opp, chez MG1363, est le seul système impliqué dans le transport des oligopeptides supérieur à trois résidus, ceci malgré la présence dans le génome de cette souche d'autres opérons codant pour des transporteurs de peptides putatifs [3].

Le modèle de fonctionnement du système Opp, établi par Lanfermeijer et al. [16] décompose le transport de peptides en quatre étapes : I, fixation réversible du ligand à la protéine affine OppA (dans sa forme ouverte) ; II, changement de conformation de la protéine OppA permettant la capture du peptide (forme OppA fermée) ; III, rapprochement de la protéine OppA

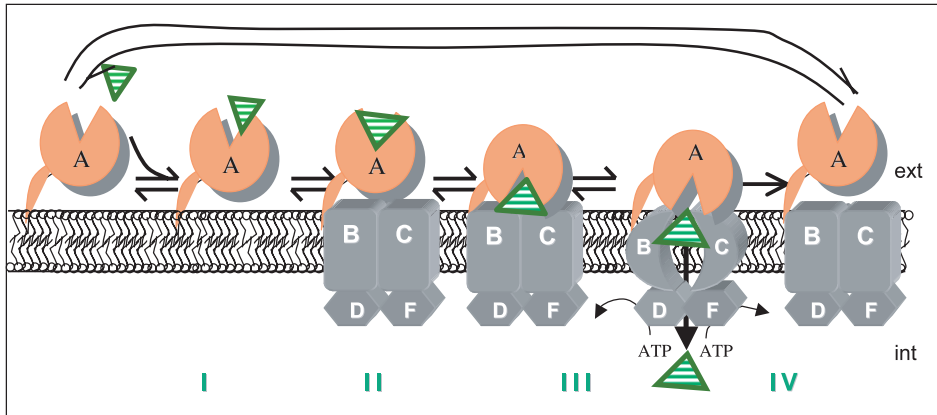


Figure 1. Mécanisme général du transport des oligopeptides par Opp (adapté de [16]). La protéine OppA est la protéine affine fixant le peptide. Les protéines OppB et OppC forment le canal transmembranaire. Les protéines OppD et OppF sont les ATPases du système. Les quatre étapes décomposant le transport d'un peptide (symbolisé par un triangle hachuré) sont indiquées par les chiffres I à IV.

Figure 1. Overall transport of oligopeptides by Opp (derived from [16]). The binding protein OppA binds the peptide. The OppB and OppC proteins form the membrane complex. The OppD and OppF proteins are responsible for the hydrolysis of ATP. The transport takes place in four steps (step I to IV) and the peptide is symbolised by a triangle.

liée au substrat vers le complexe perméase OppBC, changement de conformation du complexe perméase ; IV, translocation du substrat à travers la membrane (Fig. 1). Dans ce modèle, la protéine affine joue un double rôle : elle permet la présentation du substrat au reste du transporteur et en étant fortement liée au translocon lors de cette étape (étape III), elle permet la stabilisation du transporteur dans un état catalytique dit de transition [6]. Dans cette conformation, les deux sous-unités fixant l'ATP se rapprochent afin de compléter les sites de fixation de l'ATP. Le substrat est transféré de façon irréversible de la protéine affine vers le canal transmembranaire jusqu'à atteindre le cytoplasme même si les ATPases sont toujours engagées. Une fois l'hydrolyse de l'ATP accomplie et la libération du substrat dans le cytoplasme, le transporteur retourne dans son état initial et la protéine affine s'éloigne du complexe.

Des expériences de transport de peptides par Opp ont montré que *L. lactis*

MG1363 est capable de transporter *in vitro* des oligopeptides jusqu'à 18 résidus de longueur [7]. Les peptides basiques hydrophobes, de taille comprise entre 600 et 1100 g·mol⁻¹ sont préférentiellement utilisés [13].

Des cinq protéines du système Opp, OppA est décrite comme le récepteur initial de l'oligopeptide-substrat et donc le premier acteur de la spécificité de substrat du transporteur. L'affinité d'OppA pour ses substrats a été étudiée, chez *L. lactis* MG1363, via sa reconstitution dans des protéoliposomes [8]. Une banque combinatoire de peptides a ensuite été testée et a permis d'établir ou confirmer certaines règles d'affinité :

- Il existe une relation entre l'affinité pour le substrat et sa taille : plus le peptide est long, plus l'affinité OppA/peptide est importante avec une affinité maximale pour les nonapeptides [16]. La capacité de fixation peut s'étendre jusqu'à 35 résidus [8].

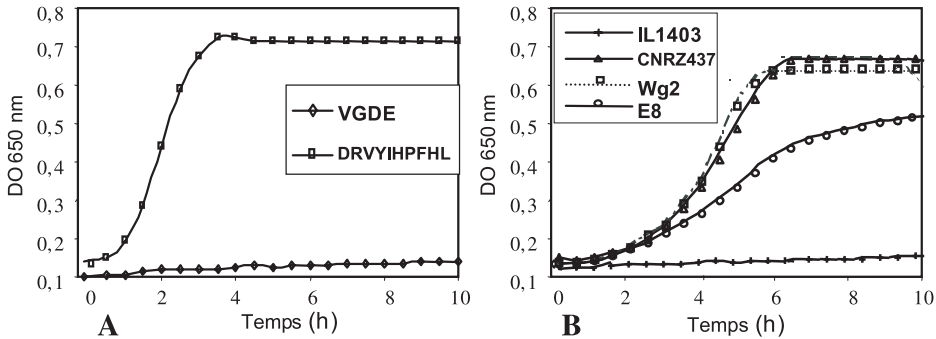


Figure 2. Aptitude des souches sauvages de *L. lactis* à se développer en présence de peptides sources d'acide aminé essentiel (adapté de [4]). Les peptides DRVYIHPFHL et VGDE sont respectivement sources d'histidine et de valine. A : Croissance de *L. lactis* MG1363 en présence des peptides DRVYIHPFHL et VGDE. B : Croissance des souches de *L. lactis* CNRZ437, Wg2, IL1403 et E8 pour le peptide DRVYIHPFHL.

Figure 2. Growth of wild type *L. lactis* strains in presence of peptides as source of essential amino acid (adapted from [4]). The peptides DRVYIHPFHL and VGDE were source of histidine and valine, respectively. A: Growth of *L. lactis* MG1363 in presence of peptides DRVYIHPFHL and VGDE. B: Growth of *L. lactis* strains CNRZ437, Wg2, IL1403 and E8 in presence of peptide DRVYIHPFHL.

– Les six premiers résidus du peptide pénètrent dans la protéine OppA, les autres interagissent de façon aspécifique sur la surface d'OppA en fonction de leur nature [8].

– La spécificité serait imposée principalement par le quatrième, cinquième et sixième résidus du peptide.

Le fait de surproduire OppA à la surface des cellules bactériennes [20] augmente la capacité d'OppA à lier un peptide donné mais n'augmente pas celle du transport sensu-stricto. L'étape limitante du transport d'un peptide n'est donc pas sa fixation sur OppA mais plus vraisemblablement son transfert vers le complexe transmembranaire OppBC (étapes III-IV du modèle Fig. 1).

2.2. Diversité de la spécificité de transport au sein du genre *Lactococcus*

Les règles d'affinité du transporteur pour son substrat, précédemment décrites, ont été définies sur la souche *L. lactis* MG1363. L'étude de la spécificité de substrat a été étendue à plusieurs souches de l'espèce *L. lactis* [4]. Six souches différen-

tes de *L. lactis* ssp. *cremoris* ou *lactis* ont été étudiées pour leur croissance en milieu chimiquement défini supplémenté en acides aminés dont un des acides aminés essentiels à la croissance (Met, Val, His, Ile ou Leu) est apporté sous forme d'un peptide, synthétique ou purifié du lait. Vingt-cinq peptides avec des propriétés biochimiques très différentes ont été testés. Sont présentées figure 2 les courbes de croissance de cinq souches obtenues pour deux des peptides testés. Aucune croissance n'est observée quand l'acide aminé omis n'est pas remplacé par un peptide. En ce qui concerne la souche MG1363, les résultats de croissance pour tous les peptides testés sont en accord avec les règles de spécificité précédemment établies [7, 13], à savoir : sont préférentiellement consommés par MG1363 les peptides basiques de masse moléculaire comprise entre 600 et 1100 g·mol⁻¹, ne sont pas transportés les peptides acides (peptide VGDE, Fig. 2A). Or cette spécificité d'utilisation, définie pour MG1363, n'est pas identique pour les cinq autres souches de *L. lactis* étudiées. Par exemple, le peptide DRVYIHPFHL,

peptide neutre de masse moléculaire de l'ordre de 1200 g·mol⁻¹, utilisé de façon optimale par MG1363 (Fig. 2A), ne permet qu'une plus faible croissance de la souche E8 et aucune croissance de la souche IL1403 (Fig. 2B). D'autre part *L. lactis* Wg2 se développe très faiblement en présence de l'heptapeptide ISQRYQK alors que cette souche présente un taux de croissance optimal en présence de l'heptapeptide basique TVYQHQQ ou YPFPGPI. Ceci indique donc que les préférences d'utilisation de MG1363 ne sont pas générales et ne peuvent être étendues à toutes les souches de *L. lactis*.

Il existe donc une variabilité de la spécificité d'utilisation des peptides au sein du genre *Lactococcus*. En particulier six peptides (VGDE, DRVYIHPFHL, RPKPQQFFGLM, ISQRYQK, VRYL et LPQY) sont consommés différemment par les six souches testées. Des expériences de transport sur quatre des souches de *L. lactis* pour trois peptides discriminants ont confirmé que les peptides qui permettaient la croissance des souches étaient effectivement transportés par ces dernières, et inversement [4]. La diversité d'utilisation des peptides observée entre les souches de *L. lactis* a donc pour origine une variabilité de transport de ces peptides.

2.3. Fixation et transport, deux notions différentes chez *L. lactis*

L'expérience précédente (Fig. 2 et [4]) indique que la plupart des peptides (18 sur 25 testés) peuvent être utilisés comme substrat de croissance optimal. OppA est donc capable, in situ, de fixer une large gamme de peptides avec des caractéristiques biochimiques très différentes, ce qui est en accord avec les résultats de fixation obtenus avec OppA purifiée et reconstituée dans des protéoliposomes [8].

Des études de compétition de transport d'un peptide reporteur (YGGFL) avec des peptides synthétiques ou dérivés de la caséine ont permis de mettre en évidence une inhibition de type compétitive par cer-

tains peptides chargés y compris les peptides anioniques [12]. Par exemple, le peptide VGDE exerce une inhibition de nature compétitive de l'ordre de 16 % [12]. Or ce peptide, acide et de masse moléculaire de 418,4 g·mol⁻¹ (c'est-à-dire hors de la gamme de préférences de MG1363), n'est pas consommé, ni transporté par MG1363 quelle que soit la concentration testée (Fig. 2A). Des études de fixation de VGDE par la protéine OppA de MG1363 in situ ont confirmé la capacité de la protéine affine OppA d'interagir avec le peptide VGDE bien que ce dernier ne soit pas transporté par le complexe Opp [4].

D'après le modèle de fonctionnement du système Opp (Fig. 1), la protéine OppA régit bien la première étape de transport : à savoir la fixation du peptide à internaliser dans la cellule. Son absence prévient tout transport [15, 26]. Dans ce cas OppA peut être considérée comme un déterminant du transport des peptides chez *L. lactis* MG1363. Mais un peptide fixé par OppA n'est pas forcément transporté dans la cellule (cas de VGDE). OppA peut donc être considérée comme un filtre à spécificité large (voire aspécifique) plutôt que comme un déterminant de spécificité.

3. LA PROTÉINE AFFINE OPPA CHEZ DIFFÉRENTES SOUCHES DE *L. LACTIS*

La comparaison des protéines OppA des souches de *L. lactis* MG1363, Wg2, IL1403 et CNRZ437 met en évidence une variabilité de séquence, exprimée sous forme de pourcentage d'identité des acides aminés dans le tableau I. La séquence OppA de MG1363 diffère de celle de Wg2, IL1403 et CNRZ437 par respectivement 9, 72 et 10 résidus.

3.1. Construction de systèmes Opp hybrides

Pour savoir si la variabilité de séquences des OppA peut être à l'origine de la variabilité de transport des peptides entre

Tableau I. Identité de séquences entre les protéines OppA de souches de *L. lactis*.**Table I.** Identity of Opp protein sequences between different strains of *L. lactis*.

Souches	Pourcentage d'identité de séquences OppA avec celle de MG1363
SSL135	100
Wg2	98,5
CNRZ437	98,3
IL1403	88,0
SK11	99,7

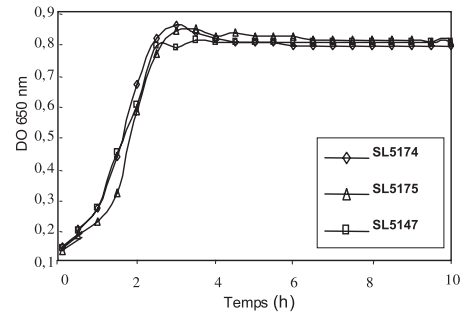
les souches, les gènes *oppA* des quatre souches (MG1363, IL1403, Wg2 et CNRZ437) ont été exprimés chez la souche MG1363 délétée pour le gène *oppA* (souche AMP15, [20]) [4].

Les souches recombinantes construites SL5147, SL5152, SL5174 et SL5175 (Tab. II) synthétisent les protéines OppA des souches MG1363, Wg2, IL1403 et CNRZ437 (dans un contexte OppBCDF de type MG1363) en quantité comparable aux souches sauvages [4].

Les expériences de consommation (et de transport des peptides) présentées pour un peptide dans la figure 3 ont confirmé dans un premier temps que les propriétés de transport des peptides de la souche SL5147 sont restaurées et trouvées identiques à celles de la référence sauvage MG1363. De façon surprenante, les souches recombinantes, SL5147, SL5152, SL5174 et SL5175, présentent les mêmes préférences de consommation et de transport de peptides que la souche MG1363. Par exemple les souches SL5152, SL5174 et SL5175 sont incapables de consommer le peptide VGDE tandis que les souches correspondantes Wg2, IL1403 et CNRZ437 l'utilisent comme substrat de croissance. De même le peptide DRVYIHPFHL qui était utilisé par MG1363 mais pas par IL1403 (Fig. 2A et B), est utilisé de façon optimale par toutes les souches construites y compris SL5174 (Fig. 3).

Tableau II. Souches recombinantes MG1363 Δ *oppA* exprimant des protéines affines de différentes souches de *L. lactis*.**Table II.** Recombinant strains MG1363 Δ *oppA* complemented with binding proteins from different *L. lactis* strains.

Souches construites	Origine de l'OppA exprimé
SL5147	MG1363
SL5152	Wg2
SL5174	IL1403
SL5175	CNRZ437

**Figure 3.** Aptitude de souches recombinantes à se développer en présence du peptide DRVYIHPFHL. Le phénotype des souches recombinantes est indiqué dans le tableau II.**Figure 3.** Growth of recombinant *L. lactis* strains in presence of peptide DRVYIHPFHL. The phenotype of recombinant strains is indicated in Table II.

La complémentation de la souche AMP15 avec les différentes protéines OppA isolées des souches de *L. lactis* restaure systématiquement et seulement la fonctionnalité et la spécificité de substrat de la souche *L. lactis* MG1363.

3.2. Conclusion originale

Les expériences de compétition de peptides [12] ont montré qu'un peptide peut être fixé par OppA, mais n'est pas nécessairement transporté par Opp. OppA ne dicte donc pas à elle seule la spécificité du

transporteur c'est-à-dire sa capacité à transporter ou non un peptide.

La construction de transporteurs Opp hybrides a permis de conclure que bien que la protéine OppA soit absolument indispensable au transport de peptides, elle ne détermine pas à elle seule la variabilité de la spécificité du transport. Une protéine OppA provenant d'une souche différente ne modifie pas la spécificité de transport de la souche hôte.

La question posée reste donc ouverte : Qui alors régit la spécificité de transport des oligopeptides chez *L. lactis* ?

4. D'AUTRES ACTEURS DE LA SPÉCIFICITÉ

La fixation d'un peptide par OppA n'est ni une étape limitante pour le processus de transport, ni une étape spécifique dans la détermination de la spécificité de transport.

Des études cinétiques de transport [16] ont d'ailleurs indiqué que la vitesse de transport est déterminée par la vitesse de transfert du peptide lié à OppA vers le reste de la machinerie. Dans le fonctionnement et la cinétique du système Opp, le complexe transmembranaire OppBC joue un rôle essentiel. OppA joue le rôle d'un premier filtre plus ou moins aspécifique, lequel permet ou non le transfert du peptide au complexe perméase OppBC, second filtre contrôlant l'internalisation finale du peptide.

Les protéines OppB de MG1363, IL1403, CNRZ437 et Wg2 sont 100 % identiques entre elles ; seule la protéine OppC de Wg2 présente deux acides aminés de différence avec les OppC des trois autres souches (Lamarque et al., résultats non publiés). Les souches MG1363 et IL1403 possèdent donc un complexe perméase identique à 100 % et des protéines affines variables à 12 %. Or l'échange des protéines affines entre ces deux souches (souches hybrides SL5147 et SL5174) dans un contexte OppBC type MG1363 (donc IL1403) a restauré la spécificité de trans-

port de la souche MG1363 et non pas celle de IL1403. Il apparaît alors peu vraisemblable que la variabilité de séquences entre les protéines OppC puisse expliquer la variabilité de transport observée entre ces mêmes souches. Des constructions génétiques de systèmes OppABC hybrides sont en cours pour confirmer cette hypothèse.

Par ailleurs, l'analyse du génome de la souche IL1403 *L. lactis* séquencée [1] indique la présence d'autres systèmes de transport de peptides de type ABC qui se révèlent être fonctionnels chez les souches autres que MG1363 (Lamarque et al., résultats non publiés). Chez *L. lactis*, il semble donc que le transport des oligopeptides soit le fait non pas d'un, mais de plusieurs transporteurs fonctionnels. De ce fait, la diversité observée au sein de l'espèce pourrait s'expliquer par des différences d'expression et/ou de spécificité de chacun de ces systèmes au cours de la croissance bactérienne. Ces autres transporteurs sont en cours d'identification afin de comprendre :

- comment est régie la spécificité de transport des oligopeptides pour l'ensemble du genre *Lactococcus*,
- et si ces différents systèmes de transport de peptides exercent des rôles différents au sein d'une même souche *L. lactis*.

RÉFÉRENCES

- [1] Bolotin A., Wincker P., Mauger S., Jaillon O., Malarne K., Weissenbach J., Ehrlich S.D., Sorokin A., The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403, Genome Res. 11 (2001) 731-753.
- [2] Borezee E., Pellegrini E., Beretti J.L., Berche P., SvpA, a novel surface virulence-associated protein required for intracellular survival of *Listeria monocytogenes*, Microbiology 68 (2001) 2913-2923.
- [3] Buist G., de Jong A., Kok J., Kuipers O., Leahy S., Fitzgerald G., van Sinderen D., Wegmann U., Shearman C., Gasson M., Genome comparison of *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* and ssp. *lactis*. Poster at Seventh symposium on lactic acid bacteria, Egmond aan Zee, the Netherlands, September, 1-5, 2002.

- [4] Charbonnel P., Lamarque M., Piard J.C., Gilbert C., Juillard V., Atlan D., Diversity of oligopeptide transport specificity in *Lactococcus lactis* species: A tool to unravel the role of OppA in uptake specificity, *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 14832–14840.
- [5] Coulter S.N., Schwan W.R., Ng E.Y., Langhorne M.H., Ritchie H.D., Westbrook-Wadman S., Hufnagle W.O., Folger K.R., Bayer A.S., Stover C.K., *Staphylococcus aureus* genetic loci impacting growth and survival in multiple infection environments, *Mol. Microbiol.* 30 (1998) 393–404.
- [6] Davidson A.L., Structural biology. Not just another ABC transporter, *Science* 296 (2002) 1038–1040.
- [7] Detmers F.J.M., Kunji E.R.S., Lanfermeijer F.C., Poolman B., Konings W.N., Kinetics and specificity of peptide uptake by the oligopeptide transport system of *Lactococcus lactis*, *Biochemistry* 37 (1998) 16671–16679.
- [8] Detmers F.J.M., Lanfermeijer F.C., Abele R., Jack R.W., Tampe R., Konings W.N., Poolman B., Combinatorial peptide libraries reveal the ligand-binding mechanism of the oligopeptide receptor OppA of *Lactococcus lactis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 (2000) 12487–12492.
- [9] Dunny G.M., Leonard B.A.B., Cell-cell communication in Gram-positive bacteria, *Annu. Rev. Microbiol.* 51 (1997) 527–564.
- [10] Garault P., Le Bars D., Besset C., Monnet V., Three oligopeptide-binding proteins are involved in the oligopeptide transport of *Streptococcus thermophilus*, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 32–39.
- [11] Gominet M., Slamti L., Gilois N., Rose M., Lereclus D., Oligopeptide permease is required for expression of the *Bacillus thuringiensis* plcR regulon and for virulence, *Mol. Microbiol.* 40 (2001) 963–975.
- [12] Helinck S., Charbonnel P., Foucaud-Scheunemann C., Piard J.C., Juillard V., Charged casein-derived oligopeptides competitively inhibit the transport of a reporter oligopeptide by *Lactococcus lactis*, *J. Appl. Microbiol.* 94 (2003) 900–907.
- [13] Juillard V., Guillot A., Le Bars D., Gripon J.C., Specificity of milk peptide utilization by *Lactococcus lactis*, *Appl. Environ. Microbiol.* 61 (1998) 1230–1236.
- [14] Kunji E.R.S., Smid E.J., Plapp R., Poolman B., Konings W.N., Di-tripeptides and oligopeptides are taken up via distinct transport mechanisms in *Lactococcus lactis*, *J. Bacteriol.* 175 (1993) 2052–2059.
- [15] Kunji E.R.S., Hagting A., de Vries C.J., Juillard V., Haandrikman A.J., Poolman B., Konings W.N., Transport of β -casein-derived peptides by the oligopeptide transport system is a crucial step in the proteolytic pathway of *Lactococcus lactis*, *J. Biol. Chem.* 270 (1995) 1569–1574.
- [16] Lanfermeijer F.C., Picon A., Konings W.N., Poolman B., Kinetics and consequences of binding of nona- and dodecapeptides to the oligopeptide binding protein (OppA) of *Lactococcus lactis*, *Biochemistry* 38 (1999) 14441–14450.
- [17] Lazazzera B.A., Kurtser I.G., McQuade R.S., Grossman A.D., An autoregulatory circuit affecting peptide signaling in *Bacillus subtilis*, *J. Bacteriol.* 181 (1999) 5193–5200.
- [18] Leonard B.A., Podbielski A., Hedberg P.J., Dunny G.M., *Enterococcus faecalis* pheromone binding protein, PrgZ, recruits a chromosomal oligopeptide permease system to import sex pheromone cCF10 for induction of conjugation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 (1996) 260–264.
- [19] McNab R., Jenkinson H.F., Altered adherence properties of *Streptococcus gordonii* hppA (oligopeptide permease) mutant result from transcriptional effects on *csfA* adhesin gene expression, *Microbiology* 144 (1998) 127–136.
- [20] Picon A., Kunji E.R., Lanfermeijer F.C., Konings W.N., Poolman B., Specificity mutants of the binding protein of the oligopeptide transport system of *Lactococcus lactis*, *J. Bacteriol.* 182 (2000) 1600–1608.
- [21] Podbielski A., Pohl B., Woischnick M., Korner C., Schmidt K.H., Rozdzinski E., Leonard B.A., Molecular characterization of group A streptococcal (GAS) oligopeptide permease (*opp*) and its effect on cysteine protease production, *Mol. Microbiol.* 93 (1996) 1087–1099.
- [22] Rostom A.A., Tame J.R.H., Ladbury J.E., Robinson C.V., Specificity and interactions of the protein OppA: partitioning solvent binding effects using mass spectrometry, *J. Mol. Biol.* 296 (2000) 269–279.
- [23] Slamti L., Lereclus D.A., Cell-cell signalling peptide activates the PlcR virulence regulon in bacteria of the *Bacillus cereus* group, *EMBO J.* 21 (2002) 4550–4559.
- [24] Stragier P., Losick R., Molecular genetics of sporulation in *Bacillus subtilis*, *Annu. Rev. Genet.* 30 (1996) 297–341.
- [25] Tame J.R.H., Dodson E.J., Murshudov G.N., Higgins C.F., Wilkinson A.J., The crystal structures of the oligopeptide binding protein OppA complexed with tri- and tetrapeptide ligands, *Structure* 3 (1995) 1395–1406.
- [26] Tynkynen S., Buist G., Kunji E., Kok J., Poolman B., Venema G., Haandrikman A.J., Genetic and biochemical characterization of the oligopeptide transport system of *Lactococcus lactis*, *J. Bacteriol.* 175 (1993) 7523–7532.