

## 세균의 적정 밀도 인식 기작에 관여하는 조절자균의 특징

전은경 · 안혜련 · 박경제 · 이규호\*

한국외국어대학교 자연과학대학 환경학과

세균은 다양한 환경역제요인이 존재하는 서식처에서 생존하면서 적당한 기회가 주어질 때 자신의 clone을 번식시키기 위하여, 주위 환경의 변화와 자기 주변의 동료들에 대한 정보를 인식할 수 있는 기작의 작동이 필수적으로 요구된다. 환경변화에 대한 인식기작으로 각 요인에 특이하게 반응하는 two-component system 등이 많이 알려져 있으며(45), 최근에는 자신의 개체군을 인식하는 기작의 존재 및 그 특성에 대한 관심이 고조되고 있다. 다세포 생물에서와 같이 세균에서도 비교적 높은 세포밀도에서만 유도 발현되는 특정한 유전자, operon, 또는 regulon 등이 많은 종류에서 발견되었는데, 이 기작에는 세포막을 자유로이 투과할 수 있는 작은 분자 물질인 autoinducer라는 *N*-acylhomoserine lactone과 이와 binding하여 필요한 유전자군의 발현을 증진시키는 receptor protein으로 구성되어 있는 regulatory system을 필수적으로 요구한다고 보고되어 왔다. 이러한 유전자 발현의 조절 기작을 "quorum-sensing gene regulation(세균의 적정 밀도(정족수) 인식에 따른 유전자의 발현조절)" 이라 한다(20, 41, 47). 이 중 가장 대표적인 예로서 해양 발광세균인 *Vibrio fischeri*의 LuxR-LuxI의 기능을 들 수 있는데, 본 총설에서는 *V. fischeri* 및 다양한 세균이 보이는 적정 밀도 인식에 의한 조절 기작에 대해 고찰하였다. 1970년부터 시작한 약 30년간의 이 분야 연구는 세균의 대화에 있어서 그들의 언어를 독해할 수 있는 지식의 진보를 초보수준까지 이끌어 주었으나 앞으로도 많은 방면에서 연구의 필요성 또한 제시하고 있다.

### *Vibrio*균의 발광반응에 있어서의 적정 밀도 인식 기작 : LuxR-LuxI의 존재

해양 수제에 부유하며 살거나 어류 또는 오징어류의 특별한 기관에 공생하는 세균인 *Vibrio fischeri*(40)의 특징적인 발광 현상인 autoinduction에 대한 광범위한 연구결과가 Hastings 등에 의해 1970년대 초부터 기록되어 왔다(11, 38). *V. fischeri*의 발광반응은 자신이 합성하여 세포 외부로 배출된 autoinducer(*N*-3-oxohexanoyl homoserine lactone, VAI-1; Fig. 1)가 주위환경에 축적되면서 농도차에 따라 다시 동종 세균의 내부에 확산되어 들어오게 되면서 시작한다. LuxI 단백질은 VAI-1을 합성하는 autoinducer synthase라는 효소이며, LuxR 단백질은 세포내부로 들어온 VAI-1와 binding한 후 발

광에 필요한 luciferase(*luxAB*)와 fatty acid reductase (*luxCDE*) 등을 coding하는 유전자 및 *luxI*의 전사를 증진시키는 조절자(transcriptional activator) 역할을 한다. 즉, *V. fischeri*의 적정 밀도 인식의 특징은 낮은 세포밀도에서는 발광에 필수적인 luciferase 등을 coding하는 *lux* operon은 매우 낮은 수준의 전사만이 진행되다가, 개체군의 성장에 의하여 세포의 밀도가 높아지면서 축적되어온 VAI-1가 LuxR과 결합하여 *lux* operon을 induction시켜 빛의 발산이 급격히 증가된다는 것이다(37).

이러한 방식에 의해 *V. fischeri*는 해양동물의 발광기관 내에서 공생할 때, 즉 자신의 세포밀도가  $10^{10} \sim 10^{11}$  cells/ml에 이를 때에는 최대 수준의 빛을 발하지만, 바닷물에서 free-living 상태로 1~100 cells/ml 미만의 낮은 세포밀도로 존재할 때에는(34, 35) 충분한 autoinducer가 세포 내에 축적될 수 없으므로 발광에 필요한 유전자들이 발현되지 않는 상태에 있게 된다. 따라서 생리적 또는 생태적 의의를 갖는 발광이라는 기능을 보이기 위하여 *V. fischeri*는 반드시 어느 정도 이상의 세포 밀도로 존재할 때만 발광현상이 나타날 수 있게끔 하는 조절 장치가 바로 적정 밀도 인식 기작인 것이다. 이렇듯 동종의 세균 서로 간의 cell-to-cell communication의 존재는 발광세균의 경우 외에도 다양한 세균의 발달과정과 분화유전자 발현에 그 필요성이 있는 것이다.

### 다양한 세균에서 발견되는 LuxR-LuxI type의 조절자

1992년 *Erwinia carotovora*의 항생제 합성의 조절에 있어서 acylated homoserine lactone(AHL)이 관여함이 밝혀지므로서, autoinducer에 의한 적정 밀도 인식 기작은 해양세균의 발광반응에서만 보이는 유일한 조절기작이 아니라는 사실이 제시되었으며(2), 그 이후 매우 다양한 Gram-negative 및 Gram-positive bacteria에서 *luxR* 또는 *luxI*와 유사한 기능 및 기작을 보이는 유전자들이 발견되었다. 그 예로서 병원성 세균인 *Pseudomonas aeruginosa*가 elastase를 포함한 여러 virul-

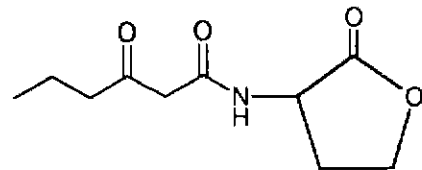


Fig. 1. Structure of *Vibrio fischeri*'s autoinducer molecule, *N*-(3-oxohexanoyl)-homoserine lactone (VAI-1).

\*To whom correspondence should be addressed  
Tel : 0335-330-4039, Fax : 0335-333-1696  
E-mail : khlee@san.hufs.ac.kr

Table 1. *N*-acyl homoserine lactone based regulatory systems

Bacterial species	Signal molecules (Autoinducer)	Regulatory proteins (AI synthase/receptor protein)	Target function(s) (Target gene[s])
<i>Aeromonas hydrophila</i>	unidentified	AhyI/AhyR	unknown
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>N</i> -3-(oxooctanoyl)-L-homoserine lactone	TraI/TraR-TraM	Ti plasmid conjugal transfer ( <i>tra</i> genes, <i>traR</i> )
<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>N</i> -hexanoyl-L-homoserine lactone	CviI/CviR	antibiotics synthesis exoenzymes synthesis cyanide violacein
<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	EagI/EagR	unknown
<i>Escherichia coli</i>	unidentified	unidentified/SdiA	cell division ( <i>ftsQAZ</i> )
<i>Erwinia carotovora</i> SCRI193	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	ExpI/ExpR	exoenzyme synthesis ( <i>pel</i> , <i>pec</i> , <i>pep</i> )
<i>Erwinia carotovora</i> SCC3193	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	CarI/CarR	carbapenem antibiotic synthesis ( <i>cap</i> )
<i>Erwinia carotovora</i> 71	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	HsII/unidentified	exoenzyme synthesis ( <i>pel</i> , <i>pec</i> , <i>pep</i> )
<i>Erwinia stewartii</i>	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	EsaI/EsaR	-exopolysaccharide synthesis -virulence factors ( <i>wts</i> genes)
<i>Nitrosomonas europaea</i>	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	unidentified/unidentified	emergence from lag phase
<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	unidentified	PhzI/PhzR	phenazine antibiotic synthesis ( <i>phz</i> )
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>N</i> -3-(oxododecanoyl)-L-homoserine lactone	LasI/LasR	virulence factors ( <i>lasB</i> , <i>lasA</i> , <i>aprA</i> , <i>toxA</i> )
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	<i>N</i> -(butyryl)-L-homoserine lactone	RhII/RhIR (VsmI/VSMR)	rhamnolipid synthesis ( <i>rhlAB</i> )
	<i>N</i> -(3R-hydroxy-7- <i>cis</i> -tetradecanoyl)-L-homoserine lactone	unidentified/RhIR	nodulation stationary phase regulation ( <i>rhlABC</i> )
<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>N</i> -butanoyl-L-homoserine lactone	SwrI/unidentified	swarming motility
	<i>N</i> -hexanoyl-L-homoserine lactone	SwrI/unidentified	swarming motility
<i>Streptomyces</i> spp.	$\gamma$ -butyrolactone	unidentified/unidentified	antibiotic synthesis differentiation
<i>Vibrio fischeri</i>	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	LuxI/LuxR	luminescence ( <i>luxICDABEG</i> , <i>luxR</i> )
	<i>N</i> -(octanoyl)-L-homoserine lactone	AinS/AinR	luminescence ( <i>luxICDABEG</i> )
<i>Vibrio harveyi</i>	<i>N</i> - $\beta$ -(hydroxybutyryl)-homoserine lactone	LuxM/LuxN-LuxO-LuxR	luminescence ( <i>luxCDABEG</i> ) polyhydroxybutyrate metabolism
	unidentified	unidentified/LuxPQ-LuxO-LuxR	luminescence ( <i>luxCDABEG</i> )
<i>Vibrio vulnificus</i>	unidentified	unidentified/unidentified	resuscitation from NCBV state
<i>Yersenia enterocolitica</i>	<i>N</i> -3-(oxohexanoyl)-homoserine lactone	YenI/YenR	unknown

ence factor를 조절하는 경우, *Serratia liquefaciens*가 과도한 flagella의 부착으로 인한 운동성의 증가에 따른 swarmer-cell로 분화하는 경우, *Escherichia coli*가 stationary phase에서 세포분화를 조절하는 경우, 그리고 *Agrobacterium tumefaciens*가 자신의 Ti-plasmid를 숙주인 식물체에 접합 전달하는 것을 조절하는 경우 등이 알려져 있다(Table 1). *luxR*과 *luxI*를 포함한 이들이 coding하고 있는 각 단백질의 아미노산 서열 및 구성은, 일부 지역의 conserved region이 있는 것 외에는, 전체적으로 서로가 homologous하지 않음을 보이는데, 예를 들면, 각 LuxR-homologue와 LuxI-homologue는 그들의 identity가 각각 18-25% 그리고 28-35% 정도로 낮은 유사성을 보였다. 그러나 모든 경우, 정족수를 인식하게 해주는 신호 물질로는 다소 다른 구조 그리고 다른 길이의 acyl기를 갖는 homoserine lactone인 것으로 나타났다.

이 외에도 다른 종류의 LuxR-LuxI family를 찾기 위한 연구가 현재에도 계속 진행 중인데, 이를 위하여 *luxI*가 없는

*lux* regulon을 갖는 *E. coli* cell이 *lux* gene의 inducer를 만들어 내는 다른 세균으로부터 유래한 DNA clone을 찾는데 사용되고 있다(2, 48). 이러한 결과는 high cell density에 의해서만 target gene이 발현하는 조절기작은 Gram-negative 뿐 아니라 Gram-positive 세균에서도 보이는 매우 보편적인 세균의 주변 인식 기작임을 암시한다(31).

### Autoinducer의 생합성

적정 밀도 인식에 있어서 신호전달 역할을 수행하는 물질인 autoinducer는 다양한 acyl-side chain으로 연결된 homoserine lactone으로 구성되어 있는데, 각 세균의 생물학적 특성에 따라 acyl chain의 길이와 homoserine lactone ring의 구조가 다르다(22; Table 1) *V. fischeri*의 late growth phase culture의 배지에 존재하는 어떤 성분이 cell density가 낮은 *V. fischeri*의 *lux* operon의 발현을 증가시키는 현상을 관찰한

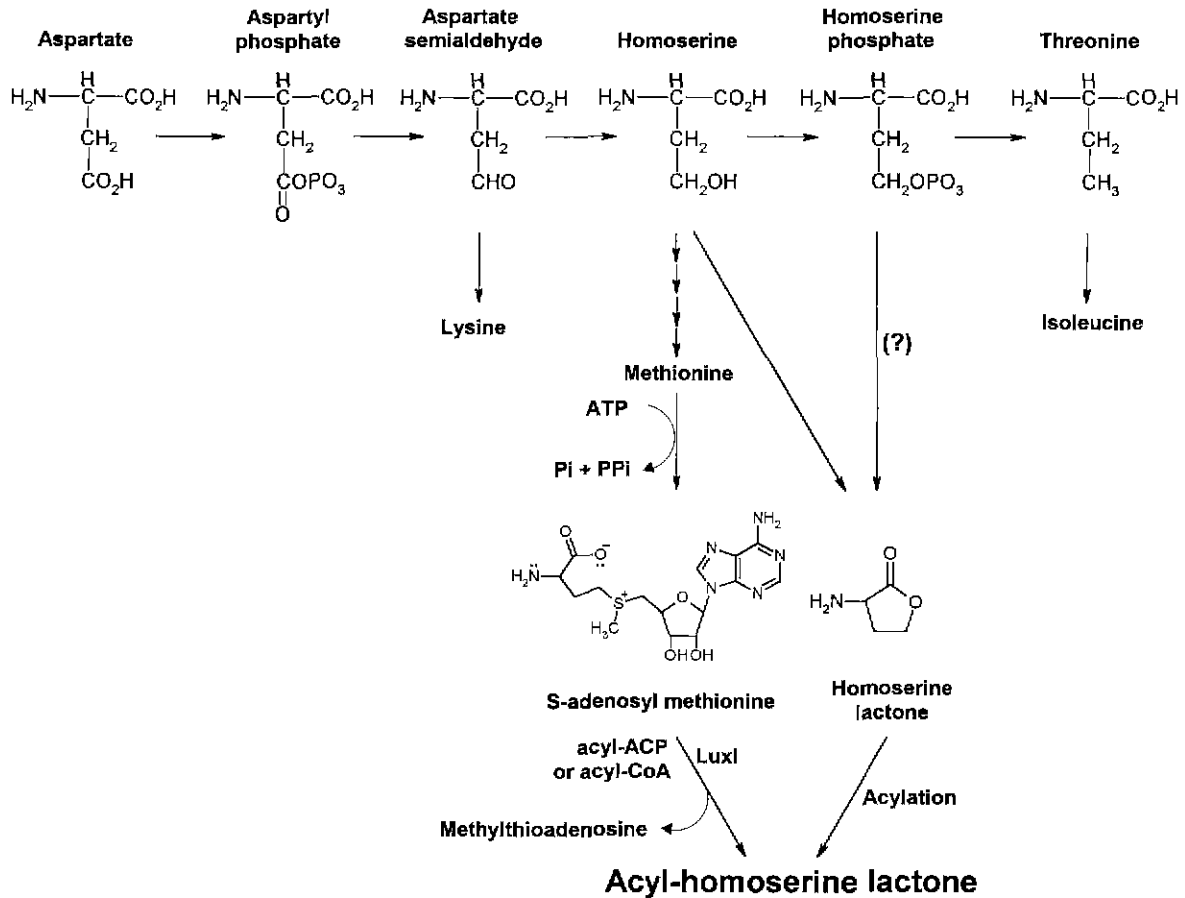


Fig. 2. Two possible pathways for the synthesis of acylated homoserine lactone in bacterial cells.

Eberhard *et al.*(12)이 처음으로 *V. fischeri*의 성장배지에 축적된 au-toinducer(VAI-1)를 정제하여 그 구조가 N-(3-oxohexanoyl) homoserine lactone(Fig. 1)임을 밝혔고 그 후 Kaplan과 Greenberg(30)는 radiotracer를 이용하여 이 물질이 세포막을 자유롭게 통과하는 것을 알아냈다.

이러한 autoinducer의 homoserine lactone 부분은 S-adenosyl methionine(SAM)으로부터 그리고 acyl chain 부분은 acyl-acyl carrier protein(ACP) 또는 acyl-CoA로부터 유래된다는 사실을 *V. fischeri*의 LuxI 단백질에 기질로서 SAM과 3-oxohexanoyl-CoA를 주어 *in vitro* 상태에서 VAI-1을 합성하므로써 확인하였다(13). 이와는 다르게 Huisman과 Kolter(27)는 LuxI가 세포 내의 free homoserine lactone pool에서 공급되는 기질을 acylation시켜 autoinducer인 homoserine lactone을 만든다고 제안했으나, 최근에 아미노산 auxotrophic *E. coli*(즉, aspartate로부터 threonine 또는 methionine으로의 생합성 과정에 돌연변이가 발생한 대장균)를 이용해 SAM이 VAI-1의 직접적인 전구체라고 입증했다(25; Fig. 2).

### LuxR-type의 단백질의 조절기작

#### LuxR 단백질의 구조적인 특징

252개의 아미노산 residue로 구성된 *V. fischeri*의 LuxR 단

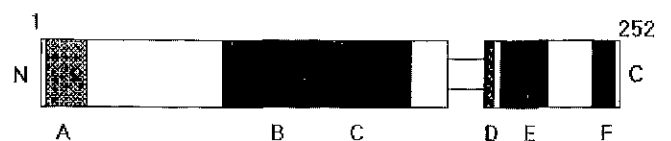


Fig. 3. Modular structure of *Vibrio fischeri*'s LuxR protein (After Swift *et al.* [47]). Localized regions are divided into six: A (2-20th amino acid residues), the region for the negative autoregulation of LuxR; B (79-127th amino acid residues), the binding region for the acylated homoserine lactone; C (116-161st amino acid residues), the multimerization site of two LuxR proteins; D (193-197th amino acid residues), the putative transcriptional activation element; E (200-220th amino acid residues), the helix-turn-helix DNA-binding motif; and F (240-250th amino acid residues), the region for LuxR-dependent transcription of *lux* operon

백질은 N-terminal의 receptor module과 C-terminal의 transcriptional activator module이라는 두 지역의 기능적인 부분으로 나뉜다(Fig. 3). Receptor module은 세가지의 다른 기능을 보이는데, 2~20번째 아미노산 residue의 부분은 LuxR의 negative autoregulation, 79~127번째 아미노산 residue의 부분은 autoinducer와의 binding, 그리고 116~161번째 아미노산 residue의 부분은 LuxR-dimer 형성을 위한 multimerization에 필요한 부분이다. Transcriptional activation module도 다

시 세 지역으로 나뉘는데, 193~197 번째 아미노산 residue의 부분은 transcriptional activation에 관여하며, 200~220번째 아미노산 residue의 부분은 DNA binding domain, 즉, helix-turn-helix motif로서 target DNA인 *lux* promoter에 binding 하는 것으로 추정되며, 240~250번째 아미노산 residue의 부분은 *lux* operon(*luxICDABE*)의 전사에 필수적인 부분이다(5, 6, 46).

LuxR-type protein의 일반적 기작은 autoinducer(acylated homoserine lactone; AHL)가 없을 때에는 N-terminal domain이 C-terminal domain과 target DNA binding site와의 상호작용을 방해하며 이러한 방해는 autoinducer의 ligand 작용으로 제거된다는 것이다(7). 이 사실은 LuxR 단백질의 각 부분들을 deletion한 후, 각 기능의 유무를 비교함으로써 확인 가능하였다.

### LuxR과 autoinducer(VAI-1)의 binding

AHL이 LuxR에 직접 binding하여 작용할 가능성은 AHL-binding site가 LuxR의 N-terminal domain에 존재하며 LuxR에 의한 *lux* operon의 발현에는 signal로써 반드시 AHL과의 interaction이 필요하다는 증거들이 보고됨으로서 더욱 커졌다(19, 42, 44). 직접적으로 LuxR이 발현되는 *E. coli*에서 autoinducer가 LuxR에 binding되는 것이 관찰되었으며(1, 24), 또한 AHL-binding site(79~127번째 아미노산 residue)와 DNA binding domain(200~220번째 아미노산 residue) 부분은 알려진 모든 LuxR family에서 다른 부분보다 homology(50%의 identity)가 높게 보존되어 있다.

### LuxR homologue와 각 autoinducer 간의 특이성

*E. coli* cell에서 발현된 *V. fischeri*의 LuxR 단백질은 VAI-1 외의 다양한 N-acyl homoserine lactone을 인지할 수 있다는 것, 즉 특이성이 감소하는 것이 발견되었는데, 이로부터 *V. fischeri*의 두 번째 autoinducer, VAI-2가 발견되었다. VAI-2를 합성하는 *ainS* 유전자는 *luxI*와는 유사성이 없지만(21), *V. harveyi*의 HAI-1 synthase와 유사함을 보였으며 *ainS* gene을 mutation시킨 *V. fischeri*는 낮은 cell density에서도 *lux* gene을 발현시켰다. 따라서 VAI-2는 VAI-1의 competitive inhibitor로 작용하여 *lux* 유전자의 발현을 저해한다고 여겨진다(33). 저해 작용을 하는 VAI-2가 *E. coli*에는 없기 때문에 N-acyl homoserine lactone을 보다 예민하게 감지하고, 특이성이 떨어지는 것으로 생각된다.

각 특정세균들의 주된 niche가 서로 다른 경우, 각 세균이 만드는 AHL이 똑같은 구조인 경우도 있는데(Table 1). 예를 들면, *V. fischeri*의 VAI-1은 장내세균인 *Enterobacter*, 식물병원성세균인 *Erwinia*, 질소순환에 관여하는 토양세균인 *Nitrosomonas*, 동물병원성세균인 *Yersinia*에서도 사용되는 AHL이다. 그러나 LuxR type 단백질은 동종의(cognate) autoinducer와 타종의(noncognate) 것을 지역적 뿐 아니라 화학적으로도 구분해야만 자신의 정족수를 인지할 것이다. 즉, 같은 장소(온대지역의 바닷물)에 서식하는 *V. fischeri*와 *V. harveyi*는 상대의 autoinducer로는 서로 비슷한 구조임에도 불구하고 서로의 *lux* 유전자를 발현할 수 없다. 그러나 LuxR-

dependent *lux* gene을 발현시킬 수 있는 여러 종류의 세균으로부터 추출한 다양한 autoinducer를 연구한 결과 acyl chain group이 변형된 것은 activity의 증감은 있었지만 *lux* 유전자를 발현시킬 수 있었던 반면(14), homoserine lactone의 ring을 변형시킨 것은 *lux*를 전혀 발현시키지 못하였다. 또한 LuxR family-dependent promoter가 다른 세균으로부터 유래한 autoinducer에 의해서도 약하게나마 발현됨이 보고되었다(22).

### LuxR 단백질의 유전자발현의 조절 기작

LuxR-dependent promoter 상의 LuxR binding site(*lux* box)가 한 쌍의 대칭된 형태(dyad symmetry)로 존재하는 것으로 보아 LuxR이 두개의 대칭된 형태(dimer)로 조절하려는 유전자의 promoter에 binding함을 추론할 수 있었으며(8, 20, 22), mutagenesis를 통한 연구로부터 LuxR의 116과 161번째 사이의 아미노산 부분에 multimerization region이 존재함을 알아냈다(6). AHL이 없을 때는 dimerization이 일어나지 않는 데 이는 아마도 어떠한 repressor가 LuxR의 multi-merization region에 붙어 dimerization을 방해하다가 AHL이 존재하면서 repressor가 떨어져나가므로서 유전자의 발현을 돕게 되는 것으로 추정된다.

일단 dimer화 된 LuxR 단백질은 *lux* operon의 전사 시작점 upstream의 44번째(즉,  $\sigma^{70}$ -promoter의 -35 region 부분)에 20개의 nucleotide로 구성된 inverted repeat 염기서열에 binding하는 것으로 추정된다. 이곳을 *lux* operator(8) 또는 최근에는 *lux* box(19, 22)라 부르는데 *lux* box는 LuxR에 의해서 transcription이 활성화되는 지역이라 여겨진다. 적정 밀도 인식 기작을 갖춘 *Agrobacterium*에서 적어도 세가지의 TraR (LuxR homologue)-regulated promoter의 upstream에서도 18-bp의 *tra* box가 존재하며(20). 이와 유사한 염기서열이 *Pseudomonas*의 LasR(LuxR homologue)-regulated promoter에서도 존재함이 밝혀졌다. *lux*와 *las* box는 매우 유사하며, 기능적으로 상호호환성이 있어서 LuxR이 *lasB* promoter를 발현시킬 수 있으며, LasR도 *luxI*를 발현시킬 수도 있다(22). 알려져 있는 *lux* box의 consensus 염기서열은 RNSTGYAXGATNX-TRCASRT(여기서 N은 A, C, G, 또는 T; R은 purine; Y는 pyrimidine; S는 C 또는 G; X는 N 또는 gap)이다(41). 그러나 다른 TraR-, LasR-dependent promoter에서는 위와 같이 인지될 만한 site가 항상 존재하지는 않는다.

### *luxR*-, *luxI*-type 유전자의 구조

*luxR*과 *luxI*와 유사한 유전자들은 대체적으로 유전적으로 연결되어 있다(37). 예를 들어 *luxR*과 *luxI*는 중앙의 cis-acting control region으로부터 divergent하게 전사되는데 이런 구조는 *luxR*과 *luxI*의 상호조절을 쉽게 해주는 장점이 있다(15). 반면 몇몇 *luxR-luxI* homolog 쌍에서는 convergent하게 전사되며, 그들이 조절하는 유전자들과 연결되어 있지도 않다. 이러한 것들의 예로서 *expR*과 *expl*, *phzR*과 *phzI*, *yenR*과 *yenI*, *esaR*과 *esaI*이 알려져 있다(3, 39, 49, 50). 또한 어떤 경우에는 각 쌍의 유전자의 3' end가 중복된 경우도 있고, 유전자쌍이 하나의 operon으로서 발현되는 것은 아니지만 같은 방향으로

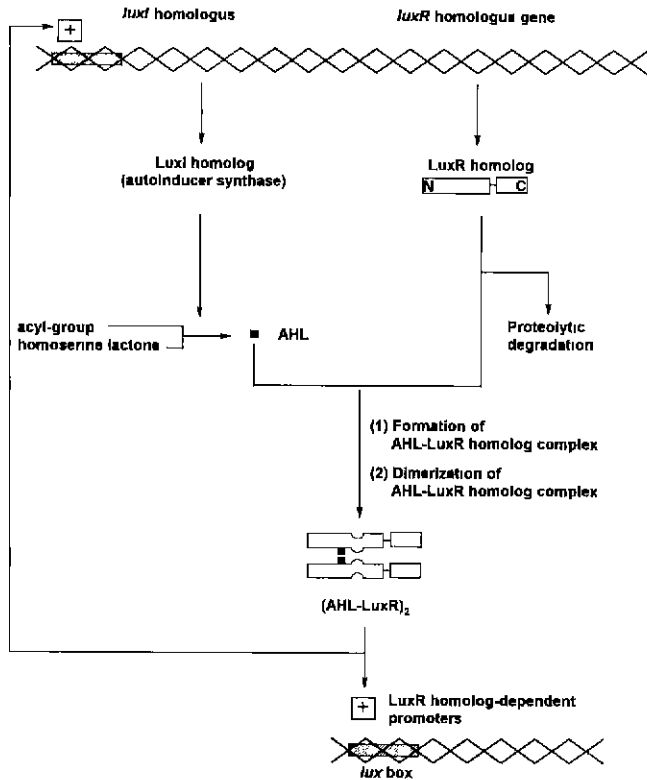


Fig. 4. Schematic model for the regulation of multiple genes via quorum-sensing components, luxI- and luxR-homologues.

전사되는 경우도 있는데 *P. aeruginosa*의 *lasR*과 *lasI*, 그리고 *rhlR*과 *rhlI*가 그 예이다. *A. tumefaciens*의 *traR*과 *traI*는 octopine-type Ti plasmid 상에서는 각각 60 kb나 떨어져 있고, nopaline-type Ti plasmid 상에서는 30 kb 이상 떨어져 있음이 밝혀졌으나, 두 경우 TraR의 antagonist인 TraM은 TraR에 바로 인접해 있다.

적정 밀도 인식 기작의 다양성

Autoinduction이라는 기작은 반드시 세포 외 autoinducer의 높은 농도의 존재를 필요로 하므로, autoinducer의 세포 내 농도가 receptor binding을 위한  $K_d$  값에 근접한 경우에만 autoinducer-receptor 복합체의 작용이 가능하다. 즉, 외부로부터 내부로 다시 유입된 autoinducer가 receptor protein과 binding한 다음 cis-acting promoter에 binding하여 특정 유전자를 발현시키며 이와 동시에 autoinducer-LuxR homologue complex는 autoinducer synthase의 발현도 증진시키므로 지수적 양의 관계의 autoregulatory circuit을 제공하게 되는 것이다 (Fig. 4). 알려진 다양한 적정 밀도 인식에 의한 조절의 특징 중 공통적인 것으로, LuxR homologue는 큰 범위의 조절체계 (re-regulatory heirarchy) 하의 한 부분을 차지하여 부차적인 수준에서 전사작용을 조절하는 regulatory cascade를 이루고 있다는 것이다. 예를 들면, *luxR*의 발현은 cAMP-catabolite activator protein을 통해 조절되고(9), 유사하게 *A. tumefaciens*의 *traR*의 발현은 crown gall tumor에서 나온 opine의

존재 하에서만 조절되며, *R. leguminosarum*의 *rhlR*은 NodD에 의해 영향을 받는다(18). 다시 말해서 자신의 동료의 수에 대한 조사는 단지 특별한 환경 상태에서에서만 일어날 수 있는 것이다(Table 1).

Vibrio fischeri

공생세균인 *V. fischeri*에게 있어서 물고기나 오징어의 발광 기관이라는 작은 공간은 autoinducer가 쉽게 축적될 수 있으므로 induction하기에 최적의 환경이라 할 수 있다(40). 동물과 식물의 병원균들 또한 숙주 내의 주어진 공간에서 microcolony를 형성하므로서 용이하게 고밀도에 도달할 수 있다. 그러나 복잡한 환경 속의 quorum sensing bacteria는 때때로 부주의하게 또는 의도적으로 타종의 세균에게 신호를 보내거나, 다른 종류를 구분하는 능력이 결여된 세균과 공존할 수 있다(2, 48). 따라서 여러 종류의 acylated homoserine lactone 들이 혼재하는 환경 하에서 quorum sensing system은 각 세균이 자신들 간의 대화 뿐 아니라 다양한 종을 조사 감시할 수 있는 기능을 제공해 주는 듯하다.

Agrobacterium tumefaciens

고세포밀도만을 인식하는 기작의 안전장치를 위하여 *Agrobacterium*의 경우에는 추가적인 구성요소를 이러한 정족수 인식 기작에 포함시킨 듯하다. Octopine Ti plasmid와 nopaline Ti plasmid의 경우 모두 *traM*이 발견되는데(16, 28), 이 유전자가 없는 *A. tumefaciens*는 저 세포밀도에서도 *tra* 유전자를 발현시켜 hyperconjugation 표현형을 보이게 하였다. 즉, TraM은 Ti plasmid conjugal transfer가 적절한 적정 밀도 이상에서만 가능하게 하는데, 유전적인 분석에 따르면 TraM은 TraR의 antagonist로써 AHL-regulated quorum sensor에 없어서는 안 될 요소로 진화되었다(20, 28). 그러나, TraM와 유사한 단백질은 아직 다른 세균에서는 동정되지 않았고, TraM type의 길항작용이 일반적인 현상인지 *A. tumefaciens*에서만 나타나는 것인지는 아직 명확하지 않다.

Vibrio vulnificus

폐혈증(septicemia) 및 위장염(gastroenteritis)을 유발시키는 *Vibrio vulnificus*의 경우, 저온에서 형태적인 변화를 수반하지 않는 비분화성 적응과정을 통하여 non-culturable but viable (NCBV; 배양이 불가능한 상태) 상태로 전환되어 있다가 이들의 환경이 변화할 때(e.g., 수온이 올라갈 때 그리고 적당한 숙주 내에 도착했을 때) 번식을 위한 inoculum 역할을 할 수 있음이 시사되었다(4, 43). 다시 말해서, 이들은 다시 배양 가능한 상태로 생리적인 소생(resuscitation)을 할 수 있는데, NCBV cell의 소생과정에 필수적인 조건으로 자신 또는 다른 종의 culturable bacterial cell의 존재를 필요로 함이 밝혀졌다(K. J. Park and K.-H. Lee, unpublished data). 따라서 이 세균이 NCBV 상태에서부터 탈출하여 소생될 때 그들이 접할 수 있는 다른 세균이 보내는 정보를 탐지하고 이에 적절한 신호 전달체계를 갖추고 있으리라 여겨진다.

즉, 낮은 온도로 유도된 NCBV *V. vulnificus* cell을 적당한 온도로 옮겼을 때, 몇몇 종의 배양가능한 상태의 세균. 이 중

에서도 특히 해양세균인 *V. fischeri* 또는 숙주의 장내세균인 *E. coli*가 공존하면, 이들로부터 유래된 세포의 물질이 NCBV *V. vulnificus*의 생리상태의 변화를 유발시킬 수 있는 조절기능을 보이는 것이다. 흥미롭게도 *V. vulnificus*의 random mutant pool의 screening 작업으로부터 이 균의 spent medium에 *V. fischeri*의 발광을 induction시키는 homoserine lactone 기능을 하는 물질이 함유되어 있는 것이 발견되었다(E. K. Jeon and K.-H. Lee, unpublished data). 아울러 진핵생물과 상호관계를 갖는 세균의 경우, 이들은 autoinducer를 이용 자신과 숙주간에 신호를 위한 물질로 사용할 가능성도 보인다.

#### Gram-positive bacteria

몇가지 Gram-positive system에서는 LuxR-LuxI family와는 아무런 연관이 없고, acyl homoserine lactone 대신 다른 신호전달 물질을 내보내지만 quorum-sensing systems으로 생각되어지는 것들이 존재한다. *Streptomyces* spp.는 그들의 발달 단계의 진입과 항생제 등의 2차산물의 생성을 위하여 autoinducer와 유사한 화합물을 만들고(26), *Bacillus subtilis*는 포자 형성에 필요한 적어도 두 가지 이상의 peptide를 분비한다고 알려져 있다(23, 36). 또한 단일의 octapeptide가 높은 세포밀도 하에서 *Staphylococcus aureus*의 병원성 요소를 활성화한다고 보고되었으며(29), oligopeptide pheromon도 *Enterobacter faecalis* 사이에서 plasmid의 conjugal transfer를 조절하며(10), fruiting body의 형성을 위하여 Myxobacteria의 경우에도 autoinducer와 같은 물질을 필요로 한다고 보고되어 있다.

#### LuxR-LuxI type과는 다른 적정 밀도 인식 기작

어떤 세균에 있어서는 자신의 population density를 측정할 수 있는 기작이 위에서 설명된 방식과는 다른 경우가 있는데, 그 대표적인 예로 해양발광미생물인 *V. harveyi*를 들 수 있다. *V. harveyi*는  $\beta$ -hydroxybutyryl homoserine lactone(HAI-1)를 autoinducer로 이용하는데, 이 화합물은 다른 autoinducer와 유사하지만 이의 receptor는 LuxR과 전혀 유사성을 보이지 않는다. HAI-1의 합성은 *luxM*이라는 유전자산물에 의해 이루어지는데(21), 이 *luxM*은 *V. fischeri*의 VAI-2를 생산하는 *ainS*와 같이 *luxI*의 homologue가 아니다. 요약하자면, *V. harveyi*에서 나타나는 quorum sensing은 앞에서 언급한 다른 system과는 기계적으로 같지 않다. 그러나 두 종의 *Vibrio*가 acyl homo-serine lactone signal를 사용하여 세포밀도에 따라 *lux* operon을 조절하는 것은 놀라운 수렴진화(convergent evolution)의 예일 것이다. 더욱 놀라운 것은 *V. fischeri*에 존재하는 VAI-1과 *luxI* 이외의 VAI-2와 *ainS*(21, 32)와 같이, 한가지 세균이 두 가지 시스템을 동시에 작동할 수도 있다는 것이다.

#### LuxR-LuxI의 다른 기능

간혹 LuxR-LuxI family는 적정 밀도 인식과는 관계없는 시스템에 신호를 보내기도 한다. 예를 들면, *Pseudomonas syringae*의 경우 AvrD에 의해 합성되는 syringolide라는 butanolide 물질은 세포밀도와는 상관없이 숙주인 식물의

disease resistance response의 시작에만 관여한다고 알려져 있으며, acyl group이 없는 homoserine lactone이 *E. coli*에서 intra-cellular starvation signal로 여겨져서 stationary phase에서 소위 'gearbox' promoter의 전사에 필요한 starvation specific sigma factor(rpoS)를 coding하는 유전자를 유도하기도 한다(27).

#### 결론 및 전망

Quorum-sensing regulatory system에 관한 여러 연구들이 최근 급속도로 진행되어 왔다. 많은 종류의 세균에서 이런 조절기작이 밝혀져 왔으며, 앞으로 보다 다양한 quorum sensor들이 밝혀질 것이다. 또한 가까운 미래에 autoinducer를 이용한 특정세균의 검출 및 그 숫자의 산출, 숙주 세포의 신호 반응의 trigger 개발 등의 생물공학적인 응용이 가능할 것이며, 특히 이 기작을 갖는 세균이 공생/병원성 관계를 맺는 경우 세균과 숙주 간의 생리적 상호작용을 이용하여 병원성 요소의 발현을 막는 의학적 또는 농학적인 방법의 개발 가능성이 현재 관심의 대상이기도 하다. 이를 위하여 앞으로 어떻게 autoinducer가 LuxR-type의 단백질을 변형시키고, 이 복합체가 RNA polymerase와 어떤 상호작용이 있는지가 연구되어야 하며, 앞에서 예시했던 것처럼 LuxR-type의 regulator는 다른 단백질이나 molecular chaperonin, 특정한 antagonist, 그리고 다른 transcriptional regulator와 어떻게 상호작용을 하는지에 대한 기초 연구도 더욱 진행되어야 할 것이다.

#### 감사의 말

본 논문은 한국과학재단 특정기초연구과제(KOSEF 96-0402-0201-3)의 지원에 의해 수행되었다.

#### 참고문헌

1. Adar, Y. Y. and S. Ulitzur. 1993. GroESL proteins facilitate binding of externally added inducer by LuxR protein-containing *Escherichia coli* cells. *J. Biolumin. Chemolumin.* **8**, 261-266.
2. Bainton, N.J., B.W. Bycroft, S.R. Chhabra, P. Stead, L. Geldhill, P.J. Hill, C.E. Rees, M.K. Winson, G.P. Salmond, and G.S. Stewart. 1992. A general role for the *lux* autoinducer in bacterial cell signalling: control of antibiotic biosynthesis in *Erwinia*. *Gene* **116**, 87-91.
3. Beck von Bodman, S. and S.K. Farrand. 1995. Capsular polysaccharide biosynthesis and pathogenicity in *Erwinia stewartii* require induction by an *N*-acylhomoserine lactone autoinducer. *J. Bacteriol.* **177**, 5000-5008.
4. Choi, J.-Y., K.-S. Shin, K.-J. Park, and K.-H. Lee. 1988. Characterization of the resuscitation of non-culturable but viable *Vibrio vulnificus* cells into culturable state. 38th Gen. Meet. Microbiol. Soc. Kor., Seoul Women's Univ.
5. Choi, S.H. and E.P. Greenberg. 1991. The C-terminal region of the *Vibrio fischeri* LuxR protein contains an inducer-independent lux gene activating domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 11115-11119.
6. Choi, S.H. and E.P. Greenberg. 1992. Genetic dissection of DNA binding and luminescence gene activation by the *Vibrio fischeri*

- LuxR protein. *J. Bacteriol.* **174**, 4064-4069.
7. **Da Re, S., S. Bertagnoli, J. Fourment, J.-M. Reytrat, and D. Kahn.** 1994. Intramolecular signal transduction within the FixJ transcriptional activator: in vitro evidence for the inhibitory effect of the phosphorylatable regulatory domain. *Nucl. Acids Res.* **9**, 1555-1561.
  8. **Devine, J.H., G.S. Shadel, and T.O. Baldwin.** 1989. Identification of the operator of the *lux* regulon from the *Vibrio fischeri* strain ATCC7744. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **86**, 5688-5692.
  9. **Dunlap, P.V. and E.P. Greenberg.** 1988. Analysis of the mechanism of *Vibrio fischeri* luminescence gene regulation by cyclic AMP and cyclic AMP receptor proteins in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **170**, 4040-4046.
  10. **Dunny, G.M., B.A. Leonard, and P.J. Hedberg.** 1995. Pheromone-inducible conjugation in *Enterococcus faecalis*: interbacterial and host-parasite chemical communication. *J. Bacteriol.* **177**, 871-876.
  11. **Eberhard, A.** 1972. Inhibition and activation of bacterial luciferase synthesis. *J. Bacteriol.* **109**, 1101-1105.
  12. **Eberhard, A., A.L. Burlingame, C. Eberhard, G.L. Kenyon, K.H. Neelson, and N.J. Oppenheimer.** 1981. Structure identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri*. *Biochemistry.* **20**, 2444-2449.
  13. **Eberhard, A., T. Longin, C.A. Widrig, and S.J. Stranick.** 1991. Synthesis of *lux* gene autoinducer in *Vibrio fischeri* is positively autoregulated. *Arch. Microbiol.* **155**, 294-297.
  14. **Eberhard, A., C.A. Widrig, P. McBath, and J.B. Schineller.** 1986. Analogs of the autoinducer of bioluminescence in *Vibrio fischeri*. *Arch. Microbiol.* **146**, 35-40.
  15. **Engbrecht, J. and M. Silverman.** 1987. Nucleotide sequence of the regulatory locus controlling expression of bacterial genes for bioluminescence. *Nucl. Acids Res.* **15**, 10455-10467.
  16. **Fuqua, C., M. Burbea, and S.C. Winans.** 1995. Activity of the *Agrobacterium* Ti plasmid conjugal transfer regulator TraR is inhibited by the product of the *traM* gene. *J. Bacteriol.* **177**, 1367-1373.
  17. **Fuqua, C. and S.C. Winans.** 1996. Conserved *cis*-acting promoter elements are required for density-dependent transcription of *Agrobacterium tumefaciens* conjugal transfer genes. *J. Bacteriol.* **178**, 435-440.
  18. **Fuqua, W.C. and S.C. Winans.** 1994. A LuxR-LuxI type regulatory system activates *Agrobacterium* Ti plasmid conjugal transfer in the presence of a plant tumor metabolite. *J. Bacteriol.* **176**, 2796-2806.
  19. **Fuqua, W.C., S.C. Winans, and E.P. Greenberg.** 1994. Quorum sensing in bacteria: the LuxR/LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J. Bacteriol.* **176**, 269-275.
  20. **Fuqua, W.C., S.C. Winans, and E.P. Greenberg.** 1996. Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. *Annu. Rev. Microbiol.* **50**, 727-751.
  21. **Gilson, L., A. Kuo, and P.V. Dunlap.** 1995. AinS and a new family of autoinducer synthesis proteins. *J. Bacteriol.* **177**, 6946-6951.
  22. **Gray, K.M., J.P. Passador, B.H. Iglewski, and E.P. Greenberg.** 1994. Interchangeability and specificity of components from the quorum-sensing regulatory systems of *Vibrio fischeri* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **176**, 3076-3080.
  23. **Grossman, A.D. and R. Losick.** 1988. Extracellular control of spore formation in *Bacillus subtilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85**, 4369-4373.
  24. **Hanzelka, B.L. and E.P. Greenberg.** 1995. Evidence that the N-terminal region of the *Vibrio fischeri* LuxR protein constitutes an autoinducer-binding domain. *J. Bacteriol.* **177**, 815-817.
  25. **Hanzelka, B.L. and E.P. Greenberg.** 1996. Quorum sensing in *Vibrio fischeri*: evidence that S-adenosylmethionine is the amino acid substrate for autoinducer synthesis. *J. Bacteriol.* **178**: 5291-5294.
  26. **Horinouchi, S. and T. Beppu.** 1994. A-factor as a microbial hormone that controls cellular differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*. *Mol. Microbiol.* **12**, 859-864.
  27. **Huisman, G.W. and R. Kolter.** 1994. Sensing starvation: a homo-serine lactone-dependent signaling pathway in *Escherichia coli*. *Science* **265**, 537-539.
  28. **Hwang, I., D.M. Cook, and S.K. Farrand.** 1995. A new regulatory element modulates homoserine lactone-mediated autoinduction of Ti plasmid conjugal transfer. *J. Bacteriol.* **177**, 449-458.
  29. **Ji, G., R.C. Beavis, and R.P. Novick.** 1995. Cell density control of staphylococcal virulence mediated by an octapeptide pheromone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**, 12055-12059.
  30. **Kaplan, H.B. and E.P. Greenberg.** 1985. Diffusion of autoinducer is involved in regulation of the *Vibrio fischeri* luminescence system. *J. Bacteriol.* **163**, 1210-1214.
  31. **Kleerebezem, M., L.E.N. Quadri, O.P. Kuipers, and W.M. de Vos.** 1997. Quorum sensing by peptide pheromone and two-component signal-transduction systems in Gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol.* **24**, 895-904.
  32. **Kuo, A., N.V. Blough, and P.V. Dunlap.** 1994. Multiple *N*-acyl homoserine lactone autoinducers of luminescence genes in the marine symbiotic bacterium *Vibrio fischeri*. *J. Bacteriol.* **176**, 7558-7565.
  33. **Kuo, A., S.M. Callahan, P.V. Dunlap.** 1996. Modulation of luminescence operon expression by *N*-octanoyl-L-homoserine lactone in *ainS* mutants of *Vibrio fischeri*. *J. Bacteriol.* **178**, 971-976.
  34. **Lee, K.-H. and S.H. Choi.** 1995. Symbioses and ecology of luminous *Vibrio fischeri*: Approaches using molecular biological techniques. *Microorganism Industry* **21**, 43-49.
  35. **Lee, K.-H. and E.G. Ruby.** 1995. Symbiotic role of the viable but nonculturable state of *Vibrio fischeri* in Hawaiian coastal seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 278-283.
  36. **Magnuson, R., J. Solomon, and A.D. Grossman.** 1994. Biochemical and genetic characterization of a competence pheromone from *B. subtilis*. *Cell* **77**, 207-216.
  37. **Meighen, E.A.** 1994. Genetics of bacterial luminescence. *Annu. Rev. Genet.* **28**, 117-139.
  38. **Neelson, K.H., T. Platt, and J.W. Hastings.** 1970. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J. Bacteriol.* **104**, 313-322.
  39. **Pierson, L.S., V.D. Keppenne, and D.W. Wood.** 1994. Phenazine antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa* 30-84 is regulated by PhzR in response to cell density. *J. Bacteriol.* **176**, 3966-3974.
  40. **Ruby, E.G. and K.-H. Lee.** 1998. The *Vibrio fischeri*-*Euprymna scolopes* light organ association: current ecological paradigms. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 805-812.
  41. **Salmond, G.P.C., B.W. Bycroft, G.S.A.B. Stewart, and P. Williams.** 1995. The bacterial 'enigma': cracking the code of cell-cell communication. *Mol. Microbiol.* **14**, 615-624.

42. **Shadel, G.S., R. Young, and T.O. Baldwin.** 1990. Use of regulated cell lysis in a lethal genetic selection in *Escherichia coli*: identification of the autoinducer-binding region of the LuxR protein from *Vibrio fischeri* ATCC 7744. *J. Bacteriol.* **172**, 3980-3987.
43. **Shin, K.-S., J. Choi, and K.-H. Lee.** 1997. Resuscitation of *Vibrio vulnificus* from starvation-induced 'non-culturable but viable' (NCBV) state and the presence of its regulatory genes. 52nd Ann. Meet. Kor. As. Biol. Sci., Chunbuk Nat'l. Univ.
44. **Stock, J., D. Kolibachuk, and E. P. Greenberg.** 1990. Critical regions of the *Vibrio fischeri* LuxR protein defined by mutational analysis. *J. Bacteriol.* **172**, 3974-3979.
45. **Stock, J.B., A.J. Ninfa, and A.M. Stock.** 1989. Protein phosphorylation and regulation of adaptive responses in bacteria. *Microbiol. Rev.* **53**, 450-490
46. **Suzuki, M.** 1993. Common features in DNA recognition helices of eukaryotic transcription factors. *EMBO J.* **8**, 3221-2226.
47. **Swift, S., J.P. Throup, P. Williams, G.P.C. Salmond, and G.S.A.B. Stewart.** 1996. Quorum sensing: a population-density component in the determination of bacterial phenotype. *Trend Biochem. Sci.* **21**, 214-219.
48. **Swift, S., M.K. Winson, P.F. Chan, N.J. Bainton, M. Birdsall, P.J. Reeves, C.E.D. Rees, S.R. Chhabra, P.J. Hill, J.P. Throup, B.W. Bycroft, G.P.C. Salmond, P. Williams, and G.S.A.B. Stewart.** 1993. A novel strategy for the isolation of luxI homologues, evidence for the widespread distribution of a LuxR : LuxI superfamily in enteric bacteria. *Mol. Microbiol.* **10**, 511-520.
49. **Throup, J.P., M. Camara, G.S. Briggs, M.K. Winson, S.R. Chhabra, B.W. Bycroft, P. Williams, and G.S. Stewart.** 1995. Characterisation of the *yenI/yeiR* locus from *Yersinia enterocolitica* mediating the synthesis of two *N*-acylhomoserine lactone signal molecules. *Mol. Microbiol.* **17**, 345-356.
50. **Wood, D.W. and L.S.I. Pierson.** 1996. The *phzI* gene of *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 is responsible for the production of a diffusible signal required for phenazine antibiotic production. *Gene* **168**, 49-53.

(Received May 3 1999/Accepted June 8, 1999)