

# 병원성 *Vibrio* 종의

## Quorum-sensing 메커니즘

글 박대균, 이고은, 김건수 \_ 서강대학교 생명과학과

### 머리말

*Photobacterium fischeri*에서 높은 개체 밀도에 의하여 bioluminescence가 유도되는 현상 (Neelson *et al.*, 1970) 을 처음 관찰 하였을 당시만 해도 세균이 자신의 개체 밀도를 인지하고 그에 반응하는 것은 이 세균에서 나타나는 예외적인 독특한 현상으로 여겨져 많은 과학자들의 주목을 끌지 못하였다. 그러나 1990년대 초에 *Pseudomonas* (Gambello and Iglewski, 1991)와 *Agrobacterium* (Piper *et al.*, 1993) 에서도 높은 개체 밀도에 의하여 일련의 유전자 발현이 유도될 수 있으며, *Photobacterium*에서와 마찬가지로 이들 세균의 경우에 있어서도 세균이 생산하는 *N*-acyl-homoserine lactone (AHL) 계통의 확산성 신호 물질이 유전자 발현 조절에 관여한다는 것이 알려지면서 세균의 개체 밀도에 의한 유전자 조절은 여러 세균에서 나타나는 유전자 발현 조절 현상이라는 인식을 하게 되었고, 그 이후로 다른 많은 세균에서 연구가 진행되면서 오늘날 개체 밀도 인식에 의한 유전자 조절은 다양한 세균에서 나타나는 매우 보편적인 현상임을 알게 되었다 (for reviews for gram-negative bacteria, Eberl, 1999; Fuqua *et al.*, 1996; Whitehead *et al.*, 2001; for both gram-negative

and -positive bacteria, Dunny and Winans, 1999). 1990년대 초까지는 많은 연구자들이 이러한 현상을 'autoinduction' 이라는 용어로 표현하였는데, 이는 분자유전학적 생화학적 메커니즘이 정확히 알려지지 않은 초기 연구 단계에서 양성 조절자 (positive regulator)가 스스로의 발현을 유도한다는 점에서 쓰여진 다소 부정확하고 추상적인 용어였다. 그 후, Fuqua (1994) 등이 이러한 현상을 생물학적 의미가 담긴 'quorum-sensing' 이라는 용어로 표현하면서 오늘날은 이 용어가 일반적으로 널리 쓰이게 되었다.

Quorum-sensing 현상이 오늘날 많은 미생물학자들의 관심을 끌고 있는 이유를 크게 네 가지 관점에서 요약할 수 있을 것이다. 첫째, 이전에는 단세포 생명체인 세균의 생물학적 현상들을 각 개체의 독립적인 관점에서 바라보던 것을 quorum-sensing이라는 개념이 도입되면서 세균들 역시 군집의 관점에서 이해하고 연구하는 계기를 마련함으로써 세균의 생물학을 보다 정확히 이해하는데 도움이 되고 있다는 점, 둘째, 동·식물에 대한 분자생물학적 이해가 높아지면서 이들 생명체들의 세포 간의 신호 전달에 있어서 확산성 신호 물질이 매우 중요한 역할을 한다는 것이 알려져 있었는데, 세균에 있어서도 역시 개체간의 신호 전달에 있어서 확산성



신호 물질의 중요성이 부각되었다는 점, 셋째, 극히 일부의 예외를 제외하고 (예, 광합성 세균인 *Rhodobacter sphaeroides*) 대부분의 quorum-sensing 현상을 보이는 세균 종들은 생활사 중 일부 혹은 대부분의 기간 중 동·식물과 공생 혹은 기생하는 단계를 거치게 되고, 그들 중 많은 종들은 동·식물에 질병을 유발하며, biofilm 형성, 병원성 유전자의 조절 제어, 숙주 환경에서의 생존, 동물 숙주 면역 체계와의 상호작용 등 (Dunny and Winans, 1999; Parsek and Greenberg, 2000)이 quorum-sensing을 통하여 일어난다는 점, 넷째, 그러므로 병원성 세균의 발병 메커니즘을 이해하고 질병의 치료 혹은 방제를 위해서는 quorum-sensing에 관한 정확한 분자 유전학적, 생화학적 이해가 반드시 필요하게 되었다는 점이다.

본 총설에서는 *Vibrio* 속에 속하는 세균 종들 중 인간이나 동물에 질병을 유발하는 주요 종인 *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. haemolyticus*, 그리고 *V. anguillarum*에서 있어서 현재까지 알려진 quorum-sensing 조절 메커니즘을 비교하고, 이 메커니즘과 병리학적 관계를 정리하는 것을 그 목적으로 한다.

오늘날 알려져 있는 quorum-sensing 조절 메커니즘의 분자유전학적 기초의 많은 부분들은 주로 *Vibrio* 속에 속하는 세균들의 연구를 통하여 이루어졌다. *V. fischeri*에 대한 연구를 통해 오늘날 잘 알려져 있는 그람 음성균 quorum-sensing 메커니즘의 기본적인 paradigm, 즉, N-acyl homoserine lactone (AHL) 신호물질과 LuxR 계통의 positive regulator, 그리고 target 유전자로 이루어진 전형적인 조절 체계 (그림 1)가 밝혀지게 되었고, 이와 함께 그람 음성균 Quorum-sensing의 또 다른 전형인 two-component regulatory network에 의한 조절 체계는 *V. harveyi*의 연구를 통해 밝혀지게 되었다. 본 총론에서 다루고자 하는 병원성 *Vibrio* 종인 *V. cholerae*, *V. vulnificus*, *V. haemolyticus*, 그리고 *V. anguillarum*에서의 quorum-sensing 조절 메커니즘은 *V. fischeri*보다는 *V. harveyi*의 그것에 훨씬 가깝다. 그

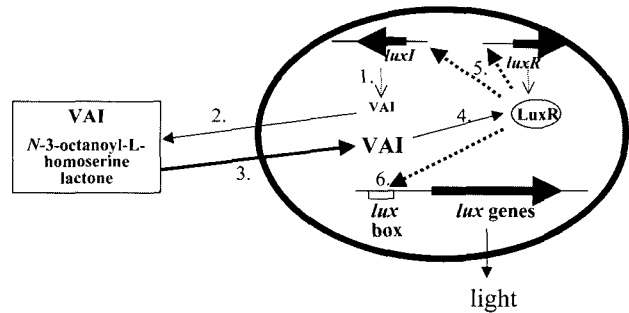


Figure 1. *Vibrio fischeri*의 quorum-sensing 메커니즘.

세포 저밀도 조건에서는 LuxI에 의하여 만들어진 autoinducer (VAI)는 세포 밖으로 확산되어 나간다 (1). 세포의 성장이 late exponential phase에 이르면 세포의 밀도가 높아짐에 따라 세포로부터 방출된 VAI 물질이 축적됨에 따라 세포 주변의 VAI 농도가 높아진다. 이에 따라 VAI는 확산에 의하여 세포 안으로 들어오고 (2), 세포 내 VAI의 농도가 높아짐에 따라 LysR-family인 LuxR과 물리적으로 결합하여 LuxR을 활성화시킨다 (3). 활성화된 LuxR은 자신을 코딩하는 *luxR* 유전자와 VAI 합성 유전자인 *luxI*의 발현을 증진하고 (4), 이에 따라 더 많은 VAI가 합성되고 더 많은 활성화된 LuxR이 세포 내에 축적된다. 활성화된 LuxR은 bioluminescence를 일으키는 *lux* operon의 상단부에 있는 *lux* box에 작용하여 *lux* 유전자의 발현을 유도함으로써 세포는 luminescence를 띄게 된다.

그러므로, 이들 세균들의 quorum-sensing에 관하여 논하기 앞서 우선 *V. harveyi*의 quorum-sensing 조절 메커니즘에 관한 내용을 우선 정리하는 것이, 이들 병원성 *Vibrio* 종에서의 quorum-sensing 메커니즘을 이해하는데 도움이 될 것이다.

## V. harveyi의 quorum-sensing 조절 체계

*V. harveyi*에서의 quorum-sensing 연구는 지난 십여년간 Princeton 대학의 Bonnie Bassler 교수에 의하여 주도적으로 전개되어 왔다. *V. fischeri*의 quorum-sensing과는 달리 *V. harveyi*의 quorum-sensing은 two-component regulatory circuit에 의한 신호 전달과 다양한 중간 신호전달 단백질에 의하여 이루어진다 (for recent review, Taga and Bassler, 2003). 현재까지 알려진 바로는 *V. harveyi*에는 적어도 세 가지 이상의 다른 종류의 신호 물질이 quorum-sensing의 신호 물질로

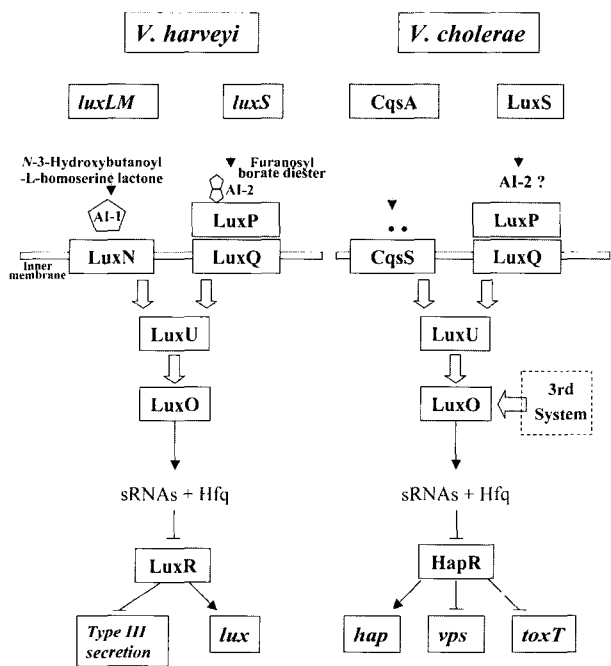
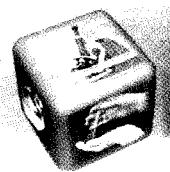


Figure 2. *V. harveyi*와 *V. cholerae*의 quorum-sensing 메커니즘. *V. harveyi*는 AI-1과 AI-2에 의한 두 가지 평행한 quorum-sensing 신호전달 체계를 가지고 있다. 최근의 연구에 따르면, 이들 두 가지 신호 전달 체계에 더 하여 *V. cholerae*에서 발견된 Cqs에 의한 신호 전달 체계가 있는 것으로 보인다 (그림에는 표시하지 않았음). *V. cholerae*는 AI-1에 의한 신호 전달 체계는 없는 것으로 보이며, 최근 LuxO에 직접적 신호를 전달하는 제 3의 신호 전달 체계 (3rd system)가 존재 한다는 증거가 제시 되었다. 최근, 이들 두 세균의 경우, LuxO의 신호는 sRNA와 Hfq에 전달되고, 이에 따라 *luxR*과 *hapR*의 mRNA의 안정성에 영향을 미침으로써, *LysR*을 조절한다는 가설이 제기 되었다.

작용한다 (그림 2). 그 중 하나의 신호 물질 (AI-1)은 *V. fischeri*에서와 같이 AHL물질 (N-3-Hydroxybutanoyl-L-homoserine lactone) 인데, 이 물질은 LuxL과 LuxM에 의하여 합성되고 (Bassler *et al.*, 1993; Bassler *et al.*, 1994) 세포막을 통하여 밖으로 확산되어 세포막 단백질인 LuxN에 의하여 인지된다. 또 다른 신호 물질 (AI-2)은 LuxS에 의하여 합성되는 물질로서 (Schauder *et al.*, 2001), furanosyl borate diester의 화학 구조를 이루고 있고 (Chen *et al.*, 2002), 역시 세포막 단백질인 LuxP와 LuxQ에 의하여 인지된다 (Mok *et al.*, 2003).

LuxN과 LuxQ는 모두 inner membrane 단백질로서 구조적으로 매우 유사하다 (Freeman *et al.*, 2000). 두 단백질 모두 두 개의 주요 domain으로 이루어져 있는데, N-말단은 세포의 inner membrane에 박혀 있고, C-말단은 세포질에 노출되어 있으며, two-component regulatory system에서 sensor 역할을 하는 단백질의 전형적인 구조를 가지고 있다. 즉, N-말단 domain은 sensor domain으로서 autophosphorylation 활성을 가지고 있어서 각각의 histidine 부위에 인산화를 시킬 수 있고, C-말단 domain은 response domain으로서 sensor domain의 histidine으로부터 인산기를 받아서 각각의 aspartic acid 부위를 인산화 시킨다 (Bassler *et al.*, 1994; Chen *et al.*, 2002). 세포 밀도가 낮은 경우에는 세포 주변의 AI-1과 AI-2의 농도가 낮은 수준을 유지함으로써, 이들 물질이 LuxPQ나 LuxN에 의해 인식되지 않는다. 이러한 조건에서는 N-말단 domain은 autophosphorylation 활성에 의하여 histidine을 인산화 하고, 그로부터 C-말단에 있는 aspartic acid에 인산을 전달하여 인산화 시킨다. 이들 두 개의 단백질은 공통적으로 세포질 단백질인 LuxU에 인산기를 전달하여 인산화 시키며 (Freeman and Bassler, 1999a), 다시 이 단백질은 LuxO라고 부르는 또 다른 세포질 단백질에 인산을 전달하여 인산화 시킨다 (Freeman and Bassler, 1999b). 다시 말해, 세포가 저밀도 일 경우, 확산성 신호 물질인 AI-1과 AI-2가 없거나 혹은 threshold 수준 이하의 농도로 존재하게 되므로, 두 가지 신호 전달 체계의 인산 전달 과정 (phosphorelay)을 통하여 궁극적으로 LuxO 단백질을 인산화 시키는 것으로 추정되고 있다. 그러나, 세포 밀도가 높아지고 따라서 세포 주위의 AI-1과 AI-2 농도가 높아지면 LuxN과 LuxP가 이들 신호 물질을 인지하게 되고, 이것이 신호가 되어 LuxO로부터 인산기가 역으로 LuxU를 거쳐서 LuxN과 LuxP로 전달되는 탈 인산화 과정 (dephosphorylation)을 거치게 된다. LuxO는 helix-turn-helix domain을 가지고 있는 세포질 단백질로서 다양한 유전자의 상단부에 결



합하여 발현을 조절한다. 결국 AI-1과 AI-2에 의한 신호는 궁극적으로 LuxO의 인산화 여부를 결정하게 되는데, 세포 저밀도의 환경에서 인산화된 LuxO는 sigma54 단백질과 함께 작용하여 (Lilley and Bassler, 2000), siderophore 생산, colony 형태 결정 등의 작용을 하는 유전자의 발현을 유도하며 또 한편으로는 LysR 계통의 양성 조절 단백질인 LuxR의 작용을 억제한다. (참고로, *V. harveyi*의 LuxR과 *V. fischeri*이 가지고 있는 양성 조절 단백질인 LuxR은 염기 서열이나 아미노산 서열에 있어서 서로 유사성이 없으며 작용 메커니즘 또한 다르다. 단지, target 유전자인 *lux* 유전자들의 발현을 직접적으로 조절한다는 기능적인 상동성 때문에 동일한 명칭으로 불리고 있다). 반면, 세포가 증식하여 고밀도를 이루면, 궁극적으로 탈 인산화된 LuxO는 LuxR의 작용을 더 이상 억제할 수 없게 되고, 따라서 양성 조절자인 LuxR은 target 유전자인 *lux* 유전자의 발현을 유도함으로써 bioluminescence를 유도 한다.

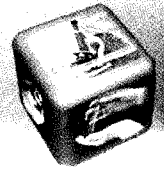
이렇듯, *V. harveyi*의 *lux* 유전자 조절은 유사한 세균 종인 *V. fischeri*의 *lux* 유전자 조절보다 훨씬 복잡한 양상을 보인다. 최근의 보고에 따르면, AI-1과 AI-2 이외에 또 하나의 신호 물질이 있는 것으로 추정된다 (Henke and Bassler, 2004). 이 신호 물질은 CAI (cholera autoinducer)라고 불리는데, 이 물질은 *V. cholerae*의 quorum-sensing 연구를 통하여 처음으로 알려진 물질로서 이에 대한 내용은 아래에서 다시 언급하기로 한다.

최근 발표된 연구에서 LuxO가 하위 유전자를 조절하는 기작은 LuxO가 LuxR에 직접적으로 작용하는 것이 아니라, 또 하나의 중간 과정을 거쳐서 일어날 것이라는 가설이 제기되었다 (Lenz *et al.*, 2004). 즉, 낮은 세포 밀도에서는 인산화되어 있는 LuxO는 sRNA (small regulatory RNA)의 chaperone인 Hfq 단백질을 활성화 시키고, 이에 따라 sRNA는 *luxR* mRNA를 불안정화 시키게 된다. 그러나, 높은 세포 밀도에서는 탈 인산화된 LuxO가 더 이상 Hfq를 활성화 시키지 못함으로써, *luxR* mRNA는 안정화되어 LuxR의 해독이 일

어 나게 된다. 일부 유전학적 분자 생물학적 실험 결과는 이 가설을 뒷받침하고 있으나, *luxR* mRNA의 안정성이 실제 LuxO와 Hfq에 의하여 결정되는지, 된다면 어떻게 이러한 과정이 일어나는지에 관한 직접적인 증거는 없으므로, 현재로서는 이 가설이 검증되었다고 볼 수는 없다.

## V. *cholerae*의 quorum-sensing

*V. cholerae*의 quorum-Sensing 조절 메커니즘은 비교적 최근에 알려지기 시작했으나, 기본적인 틀이 *V. harveyi*의 quorum-Sensing 메커니즘과 매우 유사하여 비교적 빠른 속도로 연구가 진행되고 있다 (Millet *et al.*, 2002). 기본적으로 *V. harveyi*의 AI-2와 같은 신호 물질이 확인되었으며 이는 LuxS에 의하여 합성된다. 또한, 유전체 상에 *V. harveyi*의 LuxPQ와 높은 유사성을 보이는 단백질이 존재하여 이들이 AI-2를 인식하고, LuxU와 LuxO가 존재하여, 이들이 인산화 전달 과정을 통하여 신호 전달의 역할을 한다. 이상의 체계는 *V. harveyi*와 거의 같은 양상을 나타낸다. 그러나 *V. cholerae*에서는 *V. harveyi*와 달리 AHL 신호 물질이 발견되지 않고 있고, *V. harveyi*에서 AHL 물질을 합성하는 데 관여하는 유전자인 LuxLM의 유사 유전자 또한 유전체 상에서 발견이 안 되는 것으로 미루어, 이 병원성 세균은 *V. harveyi*의 AI-1에 해당하는 신호 전달 체계는 존재하지 않는 것으로 추정된다. 대신, 새로운 신호 전달 체계가 확인 되었는데, 이 체계에 관여하는 신호 물질을 CAI-1이라 명명하였고, 이 물질을 합성하는 유전자인 *cqsA*도 확인이 되었으며, 또한 이 물질을 인식하는 막 단백질인 CqsS도 확인되었다. 그러나, 이 물질의 분자 구조는 아직 확인이 되고 있지 않으며, 현재까지의 연구 내용을 보면 AHL 계열의 물질은 아닐 것으로 추정된다. CAI-1에 의한 신호는 CqsS와 LuxU를 거쳐서 역시 LuxO로 전달되게 된다 (그림 2). 최근의 유전학적 생화학적 연구 결과는 이들 신호 물질에 의한 두 가



지 신호 전달 체계 이외에 또 하나의 신호 전달 체계가 있을 것이란 단서를 제시하고 있다 (Miller *et al.*, 2002). 이 제 3의 신호 전달 과정 (Bassler는 이를 'System 3' 라 칭함.)은 다른 두 가지 신호 물질에 의한 신호 전달과는 달리 LuxU를 경유하지 않고 직접 LuxO에 작용하는 것처럼 보이나, 아직 이 신호 전달 체계의 정체는 미지로 남아 있다. LuxO의 신호 전달 과정은 LuxR 유사체인 HapR에 전달되는데, 이 조절자는 두 가지 기능을 하고 있다. Quorum-Sensing 신호에 의하여 protease (*hap* 유전자 산물)의 발현을 향진시키는 양성 조절자의 역할을 하는 한 편으로 biofilm 형성에 관여하는 *vpsA*와 *vpsL* 유전자의 발현과, *tox* 유전자의 양성조절자인 *aphA* 유전자의 발현을 억제하는 음성 조절자로서의 역할을 한다 (Vance *et al.*, 2003). 다시 말해, 이 병원성 세균은 세포 고밀도의 환경에서 quorum-sensing에 의하여 biofilm의 형성을 억제시키면서 동시에, 병원성 인자인 protease의 발현을 증가시키고 *toxT*의 발현은 감소시킨다. 이렇게 quorum-Sensing에 의하여 궁극적으로 나타나는 표현형의 생물학적 의미는 더 많은 연구를 통하여 확인이 되어야 할 것이나, 고밀도 환경에서 그 전에 형성되었던 biofilm을 이완함으로써 각 세포들이 biofilm으로부터 벗어나서 숙주의 다른 부위로 전위되며 병원성 인자들을 발현시켜 본격적으로 질병을 유발하게 되는 것을 의미한다고 해석된다.

앞서 LuxO를 통한 신호는 궁극적으로 *V. harveyi*의 경우에는 LuxR의 작용을, 그리고 *V. cholerae*의 경우에는 HapR의 발현을 조절함으로써 각각의 target 유전자인 *lux*와 *hap*의 발현을 조절하고 그로 인해 표현형을 결정 한다고 설명하였는데, 최근, 이러한 LuxO의 조절은 LuxR이나 HapR에 직접적으로 작용하는 것이 아니라, *V. harveyi*에서와 같이 sRNA와 Hfq에 의한 *luxR* mRNA의 안정성 조절에 의하여 일어난다는 가설이 제기되었다 (Lenz *et al.*, 2004). 이에 관한 자세한 내용은 앞서 *V. harveyi*의 경우에서 설명하였다.

## V. *vulnificus*의 quorum-sensing

인간에게 패혈증을 유발하는 *V. vulnificus* (for review, Strom and Paranjpye, 2000)의 quorum-sensing 메커니즘에 관한 연구는 비교적 최근에 시작되었다. 초창기 연구에서 이 병원성 세균에는 *V. harveyi*의 *luxR*과 상동성을 보이는 *smcR* 유전자가 있으며 (McDougald *et al.*, 2001), 이 유전자는 metalloprotease를 코딩하는 병원성 유전자인 *vvp*의 전사를 개체 밀도의 의하여 양성 조절함을 보임으로써 (Shao and Hor, 2001), 이 세균 역시 quorum-sensing에 의한 조절 메커니즘이 존재함이 알려졌다. 그 후, *V. harveyi*의 *luxS*와 구조적으로나 기능적으로 상동성을 가진 유전자가 존재하고, 이 조절자가 *vvp*의 발현 향진과 hemolysin을 코딩하는 *vvh*의 발현을 억제하는 것이 알려졌다 (Kim *et al.*, 2003). 그러므로, *V. vulnificus*의 quorum-sensing 메커니즘은 *V. fischeri* 보다는 *V. harveyi*의 그것과 유사한 것으로 생각된다. 또한 *V. vulnificus*의 genome 염기 서열이 결정됨으로써 (Chen *et al.*, 2003), *V. harveyi*의 quorum-sensing 조절에 관여하는 유전자들과 유사한 *V. vulnificus* genome 상의 유전자들의 검색이 가능해 졌는데 앞서 언급하였듯이 *V. vulnificus*는 *luxR*의 상동유전자인 *smcR*과 AI-2 신호 물질 합성 유전자인 *luxS*를 유전체 상에 가지고 있다. 그 외에도, AI-2 신호 물질의 인식 단백질 코딩 유전자인 *luxP*와 *luxQ* 상동 유전자들과 신호 전달 단백질을 코딩하는 *luxO*와 *luxU*의 상동 유전자를 가지고 있다. *V. vulnificus*의 LuxO는 *V. harveyi*의 LuxO와 유사한 기능을 하는 것으로 보인다 (개인 교신, 한국외국어대학교 이규호 교수). 그러나, *V. harveyi*의 AI-1 신호 물질 합성 유전자인 *luxLM*과 인식 단백질 코딩 유전자인 *luxN*과 명확한 상동성을 가지는 유전자의 존재는 불확실하다. 이러한 염기 서열 정보를 통하여 *V. vulnificus*는 *V. harveyi*의 AI-2 신호 체계에 상응하는 quorum-sensing 조절 체계는 가지고 있으나 AI-1 신호 체계는 존재하지 않음을 암시하며, 그러한 의미에서 *V.*

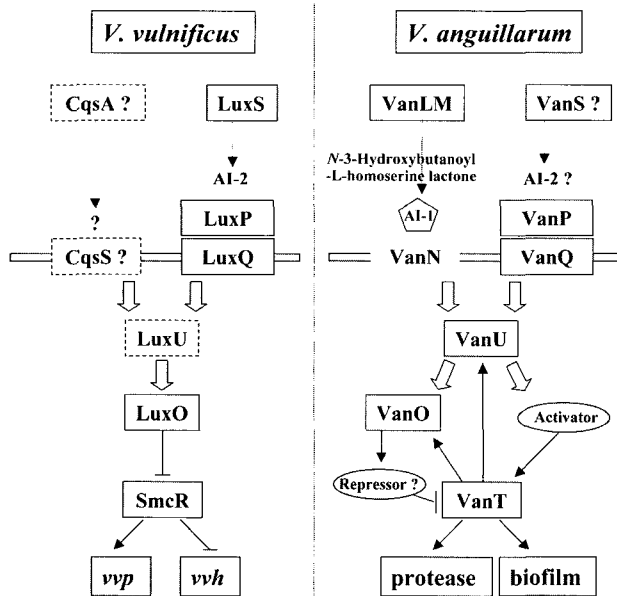
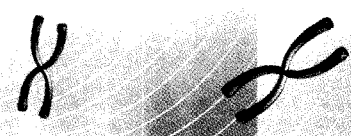


Figure 3. *V. vulnificus*와 *V. anguillarum*의 quorum-sensing 메커니즘. *V. vulnificus*에는 AI-1 조절 체계가 발견이 되지 않고 있으며, 현재까지 AI-2 조절 체계만 확인되었다. 또한, *V. cholerae*나 *V. harveyi*에서 발견된 Cqs 조절 체계가 있을 것으로 추정된다. *V. anguillarum*에는 *V. harveyi*의 AI-1 과 AI-2 조절 체계에 해당하는 조절 체계를 가지고 있는 것이 확인 되었다. 그러나, 세포 내에서 이루어지는 신호 전달 체계는 *V. harveyi*와는 다른 더욱 복잡한 양상을 띠다고 보고 되어있다.

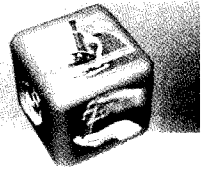
*vulnificus*의 quorum-sensing 조절 체계는 *V. cholerae*의 quorum-sensing 조절 체계와 매우 유사함을 유추할 수 있다 (그림 3). 또한 본 저자의 실험실에서는, 공동 연구를 수행하고 있는 한국외국어대학교의 이규호 교수 실험실에서의 연구 결과에 따르면, *V. vulnificus*는 적어도 *V. harveyi*에서와 같은 많은 양의 AHL 물질은 생산하지 않는 것으로 보인다. 이상의 결과 역시 *V. vulnificus*에는 *V. harveyi*에서와 같이 AHL에 의하여 매개되는 AI-1 신호 체계에 반응하는 신호 체계는 존재하지 않음을 암시하고 있다. Quorum-sensing 신호는 궁극적으로 SmcR에 전달되며, cAMP receptor protein과 함께 elastase를 코딩하는 *vvpE*의 RpoS promoter에 작용하여 발현을 유도한다 (Jeong *et al.*, 2003).

최근 본 저자의 연구실에서는 *V. vulnificus*가 *V. fischeri*

의 *lux* 유전자의 발현을 유도하는 물질을 분비함을 발견하였고, 이 물질의 구조 분석 결과, 뜻밖에도 이 물질이 cyclo(L-Proline-L-Phenylalanine) (cPF)임을 확인하였다. cPF는 앞서 *Pseudomonas* 속에서도 발견된 물질 (Holden *et al.*, 1999)로서 그 동안 생물학적인 역할이 규명되지 않았었다. 본 연구진은 cPF가 *V. vulnificus*에서 ToxR을 통하여 *ompU* 등 여러 유전자를 조절하는 regulon의 신호 물질임을 밝혔고, 이 물질이 AI-2 신호를 antagonizing함을 관찰하였다 (미발표 자료). cPF에 관한 보다 정확한 역할은 현재 연구 중이다.

### *V. anguillarum*의 quorum-sensing

*V. anguillarum*은 어류에 패혈증을 유발하여 수자원에 큰 손실을 입히는 병원성 세균이다. 이 세균의 quorum-sensing 조절 메커니즘 연구는 주로 스웨덴의 Umea 대학에 있는 Debra Milton 교수에 의하여 수행되어 왔다. 이 세균은 *V. harveyi*의 *luxR*과 구조와 기능면에서 상동성을 보이는 양성 조절자 유전자인 *vanT*를 가지고 있으며, 이 조절자는 protease와 biofilm 형성, 그리고 색소 생산을 양성 조절한다 (Croxatto *et al.*, 2002). 이 세균은 여러 측면에서 *V. harveyi*와 유사한 quorum-sensing 조절 체계를 가지고 있다. 예로써, AI-1 조절 체계를 이루는 LuxMN의 상동체인 VanMN을 가지고 있으며, 신호 물질로서 AHL [*N*-(3-hydroxybutanoyl)-L-homoserine lactone]을 사용한다. 또한, AI-2 조절 체계를 이루는 LuxPQ의 유사체인 VanPQ를 가지고 있다. 아직 *luxS*의 유사체는 보고 되지 않고 있으나, 현재까지 발견된 결과를 종합 하면, *V. harveyi*의 AI-2 체계에 해당하는 조절 체계가 있을 것으로 추측된다. 또한, LuxOU의 유사체인 VanOU도 발견되어 전체적인 신호 전달 체계가 구조적으로 *V. harveyi*와 유사할 것으로 생각된다. 그러나, 최근의 유전학적 연구 결과에 따르면, 비록 신호 전달 체계를 이루는 요소들은 *V. harveyi*와 구조적으로 유사하나 *V. harveyi*에서와는 사



못 상이한 조절 network이 이루어지고 있다. 즉, 그림 3에서 보듯이, *V. harveyi*에서와는 달리, VanU는 VanO에 신호를 전달함과 동시에 *V. harveyi*에서는 확인이 안된 activator 단백질에도 신호를 전달하여 VanT를 활성화하고, 또한 VanO는 아직 발견이 안된 음성 조절자에 신호를 전달하여 LuxR 상동 단백질인 VanT의 활성을 억제하는 것으로 보인다. 또한, VanT는 VanU와 VanO의 발현에 영향을 주는 것으로 보인다. 이러한 모델은 유전학적 연구 결과를 토대로 세워진 것으로서, 앞으로 더 많은 생화학적 분자 생물학적 연구를 통한 검증이 필요로 하고 있다.

### *Vibrio parahaemolyticus*의 quorum-sensing

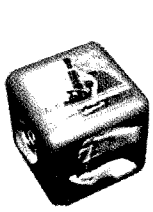
*Vibrio parahaemolyticus*는 사람에게 식중독을 일으키는 또 다른 병원성 *Vibrio*종이다. TDH (Thermostable Direct Hemolysin), TRH (TDH Related Hemolysin)라고 불리는 주요 virulence factors에 관해서는 많은 연구가 이루어져 있으나, 이 세균에서의 quorum-sensing 메커니즘에 대한 연구는 거의 전무하다. 다만 최근 연구에서 이 세균이 *V. harveyi*의 bioluminescence를 induction시킬 수 있는 AI-1, AI-2 물질을 생산한다는 사실과 (Bassler *et al.*, 1997)이 세균의 quorum-sensing system 이 type-III secretion system을 조절한다는 사실이 밝혀졌다 (Jennifer *et al.*, 2004). 그러므로, 이 병원성 종의 quorum-sensing 조절 체계도 *V. harveyi*와 유사할 것으로 추측된다. 최근 genome sequencing이 완결됨으로써 이 세균에서 quorum-sensing system에 대한 연구가 활발해 질 것으로 보인다.

### 병원성 *Vibrio* 종에 두 가지 이상의 신호 물질이 존재하는 생물학적 의미

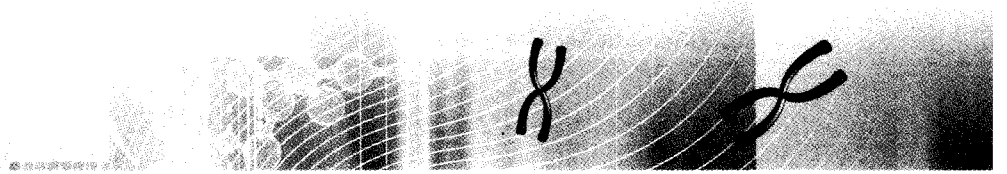
*V. harveyi*와 병원성 *Vibrio* 종의 quorum-sensing에 있어서, 구조적으로 매우 상이한 두 가지 이상의 확산

성 신호 물질이 관여하는 생물학적인 이유는 분명치 않다. 물론 다른 종의 세균의 경우에도 두 가지 이상의 신호 물질이 quorum-sensing에 관여하는 예는 보고되고 있으나, 대부분의 경우 그 신호 물질들의 화학 구조는 유사하다. 예로써, *Pseudomonas aeruginosa*의 경우 두 가지 다른 신호 물질이 작용하나, 두 물질 모두 AHL 계통의 물질 (3-oxo-C<sub>12</sub>-HSL과 C<sub>4</sub>-HSL) (Passador *et al.*, 1993; Pearson *et al.*, 1995) 이며, *Streptomyces* 종에서도 경우에도 다양한 종류의 신호 물질이 확인되었으나, 모두  $\gamma$ -butyrolactone 계통의 물질이다 (For review, Dunny and Winan, 1999). *Vibrio* 종에서의 다양한 신호 물질의 존재의 의미를 설명하는 가장 설득력 있는 가설은, *V. harveyi*의 경우 AI-1 물질은 inner-species recognizing (종 내의 인식) 신호 물질이며, AI-2 물질은 inter-species recognizing (종간의 인식) 신호 물질이라는 것이다. 이 가설의 근거는 AHL의 경우 다른 종의 세균에 따라 acyl chain의 길이나 포화도가 다르거나 다른 기능을 가지고 있어서 서로 구조가 다르며 따라서 종 특이적인 신호 전달을 하나, AI-2 물질에 의한 신호 전달은 별로 종 특이적이지 않다는 것이다. *V. harveyi* 이외의 종에서는 아직 AI-2의 화학 구조가 결정된 바 없지만, 특이성이 없는 것으로 미루어 서로 매우 유사한 (혹은 동일한) 구조의 물질들 일 것으로 추측된다. 세 번째 신호 물질 (CAI-1)의 생물학적 의미의 평가는, 이 신호 물질의 화학 구조, 그리고 관련 신호 전달 체계나 target 유전자에 관한 연구가 미비하여, 더 많은 연구가 이루어져야 가능할 것으로 보인다.

또한, 앞서 언급하였듯이 본 연구진은 *V. vulnificus*로부터 *V. fischeri*의 lux 유전자 발현을 유도하는 cyclo-dipeptide 물질을 확인하였고, *V. cholerae*와 *V. harveyi*도 동일한 구조의 물질을 생산함을 관찰하였는데, 이 물질은 앞서 *Pseudomonas* 속에서 발견되었다는 보고가 있었다 (Holden *et al.*, 1999). 현재까지의 연구 결과에 따르면, 이 물질은 quorum-sensing 신호 체계를 quenching 하는 것이 아닌가 추측하고 있다. 이러한 가설의 근거



총설



로는, 첫째, 이 물질이 생산되는 시점이 늦은 stationary phase로서, AI-1 혹은 AI-2 물질의 생산이 최대치를 보이고 난 후에 생산되며, 이 물질의 생산이 최대치를 보이는 시점 이후로는 두 가지 신호 물질의 생산이 감소를 하게 된다. 둘째, 이 물질은 *V. harveyi*와 *V. cholerae*에서 공통적으로 AI-1이나 AI-2의 신호 물질의 작용을 antagonizing함을 관찰하였다. 또한, 이 물질은 여러 유전자의 발현을 조절하는 regulon의 신호 물질로 보이는데, 조절 대상 유전자 중에는 quorum-sensing 신호 전달에 관여하는 요소를 코딩 하는 유전자들도 포함되어 있고, 이들 중 몇 유전자는 이 물질에 의하여 음성 조절됨이 관찰되었다. 이 물질에 관한 정확한 생물학적인 의미는 추후 연구를 통하여 규명 되어야 할 것이다.

결국 한 종의 세균이 두 가지 이상의 다른 물질을 통하여 서로 생물학적으로 혹은 생리학적으로 다른 신호를 주고 받을 것이라는 것을 추측할 수 있다. 이들 상이한 신호 물질 각각의 역할에 관해서는 앞으로 보다 광범위하고 심도 깊은 연구가 필요하다고 볼 수 있다.

## 병원성 *Vibrio* 종에 있어서의 quorum-sensing과 병원성과의 관계

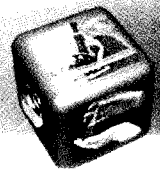
앞서 언급하였듯이, quorum-sensing은 숙주와의 상호 공생 혹은 기생 관계에 있어서 세균의 생장과 생존, 그리고 병원성 유발에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 추정하고 있고, 또한 많은 실험 자료들이 그러한 가설을 뒷받침하고 있다. 병원성 *Vibrio* 종에 있어서도 역시 quorum-sensing을 통하여 biofilm 형성이 영향을 받거나 protease, hemolysin 등의 병원성 인자의 발현이 조절을 받는 것으로 보아 quorum-sensing은 병원성 *Vibrio* 세균의 병원성에 관여하는 것으로 보인다. 그러나, quorum-sensing이 병원성 *Vibrio* 세균의 병원성에 절대적으로 중요한 역할을 한다고 단언하기에는 아직도 많은 연구가 필요하다고 보여진다. 예로써, quorum-sensing 조절에 관여하는 인자의 돌연변이에 의하여 병

원성을 완전히 상실하는 경우는 아직 알려진 바가 없다. *V. cholerae*의 경우, quorum-sensing은 biofilm 형성을 조절하며 (Hammer and Bassler, 2003), 이로 인하여 colonization에도 영향을 미치고 (Zhu and Mekalanos, 2003), 병원성에 중요한 영향을 미치는 *toxT*의 발현에 quorum-sensing이 영향을 미친다는 보고 (Zhu *et al.*, 2002)는 있으나, 정작, *V. cholerae*의 주된 병원성 인자인 cholera toxin을 코딩하는 *ctx* 유전자의 발현에 직접적인 영향을 미친다는 보고는 없다. *V. vulnificus*의 경우에는 병원성에 결정적인 영향을 주는 주요 병원성 인자가 아직 밝혀져 있지 않고, 여러 가지의 인자가 종합적으로 작용하여 병원성을 결정하는 것으로 추정하고 있다. 또한, quorum-sensing에 관여하는 신호나 신호 전달 인자에 관한 보다 정확한 연구가 기초 단계에 머물러 있다. 따라서, 현재로서는 quorum-sensing에 의한 병원성의 영향을 유전자 수준에서 구체적으로 조사하기 위한 실험적 기반이 약하다. Quorum-sensing이 병원성과 밀접한 관계가 있는 것임에는 틀림없으나, 구체적으로 어떠한 영향을 어떻게 미치는가를 밝히기 위해서는 앞으로 좀 더 많은 기반 연구가 필요하다.

## 결 어

본 총론에서는 병원성 *Vibrio* 종에서의 quorum-sensing 조절 체계를 종합하고 비교하였다. 지난 20 여년간 *Vibrio* 종의 세균은 quorum-sensing 조절의 기본적인 메커니즘을 규명을 위한 주요 연구대상 이었다. 현재 알려진 대부분의 quorum-sensing의 주요 메커니즘은 이들 세균 종을 연구 대상으로 이용하여 알게 되었다고 하여도 과언이 아니다. 특히, 본 총론에서 다룬 네 가지 종의 병원성 *Vibrio* 종들에서의 quorum-sensing 조절 메커니즘은 *V. harveyi*의 그것과 기본 틀은 유사하면서도 조금씩 다른 양태를 보이고 있어서 quorum-sensing에 관한 우리들의 이해를 점진적으로 넓혀나가는 매우 훌륭한 연구 대상이라고 할 수 있다. 이들 유사 종들간에 있





어서의 quorum-sensing 체계의 비교 분석은 이 조절 체계의 진화 관계를 규명할 수 있는 많은 자료를 제공한다. 더구나, 이들 세균들은 매우 높은 병원성을 가지고 있으므로, 병원성과 quorum-sensing의 관계를 규명하기 위한 좋은 연구 대상이며, 동시에 그 정보를 토대로 발병 요인을 분자 생물학적 차원에서 규명하고 발병 요인의 규명을 통한 질병 치료나 예방을 위한 중요한 정보를 대량으로 제공해줄 수 있는 좋은 연구 체계라고 여겨진다. 앞으로 이들 병원성 *Vibrio* 종에 관한 quorum-sensing 연구는 더욱 활발하게 전개될 것으로 예상하며, 그러한 연구를 통하여 세균들, 특히 병원성 세균들에 있어서 많은 병리생물학적, 분자 유전학적 정보를 얻을 수 있을 것으로 기대한다.

## 참고문헌

Bassler B.L., E. P. Greenberg, and Ann M. Stevens. 1997. Cross species induction of luminescence in the Quorum-sensing bacterium. *J. Bacteriol.* 179(12):4043-4045

Bassler B.L., Wright, M., Showalter, R.E., and Silverman, M.R. 1993. Intercellular signalling in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence. *Mol. Microbiol.* 9:773-86

Bassler, B.L., Wright, M., and Silverman, M.R. 1994. Multiple signaling systems controlling expression of luminescence in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes encoding a second sensory pathway. *Mol. Microbiol.* 13:273-286.

Cao, J.G., and Meighen, E.A. 1989. Purification and structural identification of an autoinducer for the luminescence system of *Vibrio harveyi*. *J. Biol. Chem.* 264:21670-21676.

Chen, C.Y., Wu, K.M., Chang, Y.C., Chang, C.H., Tsai, H.C., Liao, T.L., Liu, Y.M., Chen, H.J., Shen A.B.T., Li, J.C., Su, T.L., Shao, C.P., Lee, C.T., Hor, L.I., and Tsi, S.F. 2003. Comparative genome analysis of *Vibrio vulnificus*, a marine pathogen. *Genome. Res.* 13:2577-2587.

Chen, X., Schauder, S., Potier, N., Van Dorsselaer, A., Pelczar, I., Bassler, B.L., and Hughson, F. M., 2002 Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature* 415:545-549.

Croxatto, A. Pride, A., Hardman, A., Williams, P., Camara, M., and Milton, D.L. 2004. A distinctive dual-cannal quorum-sensing system operates in *Vibrio anguillarum*. *Mol. Microbiol.* 52: 1677-1689.

Croxatto, A. Chalker, V.j., Lauritz, J., Jass, J., Hardman, A., Williams, P., et al., 2002. VanT, a homologue of *Vibrio harveyi*

LuxR, regulates serine, metalloprotease, pigment and biofilm production in *Vibrio anguillarum*. *J. Bacteriol.* 184: 1617-1629.

Dunny, G.M. and Winans, S.C. 1999. Cell-cell signaling in bacteria. ASM press, Washington, D.C.

Freeman, J.A. and Bassler, B.L. 1999a. Sequence and function of LuxU: a two-component phosphorelay protein that regulates quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *J. Bacteriol.* 181: 899-906.

Freeman, J.A. and Bassler, B.L. 1999b. A genetic analysis of the function of LuxO, a two-component response regulator involved in quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *Mol. Microbiol.* 31: 665-677.

Freeman, J. A., Lilley, B. N., and Bassler, B. L., 2000 A genetic analysis of the functions of LuxN: a two-component hybrid sensor kinase that regulates quorum sensing in *V. harveyi*. *Mol. Microbiol.* 35:139-149.

Fuqua, W. C., Winans, S.C. and Greenberg, E. P., 1994. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional activators. *J. Bacteriol.* 176: 269-275.

Fuqua, W. C., Winans, S.C., and Greenberg, E. P., 1996 Census and consensus in bacterial ecosystems: the LuxR-LuxI family of quorum-sensing transcriptional regulators. *Annu. Rev. Microbiol.* 50:727-751.

Gambello, M.J. and Iglewski, B.H. 1991. Cloning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa lasR* gene: a transcriptional activator of elastase expression. *J. Bacteriol.* 173: 3000-3009.

Hammer B.K. and Bassler, B.L. 2003. Quorum sensing controls biofilm formation in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 50: 101-114.

Henke, J.M. and Bassler, B.L. 2004. Three parallel quorum sensing systems regulates gene expression in *Vibrio harveyi*. *J. Bacteriol.* 186: 6902-6914.

Holden, M. T. G., Chhabra S. R., de Nys R., Stead P., Bainton N. J., Hill P. J., Manefield M., Kumar N., Labatte M., England D., Rice S., Givskov M., Salmond G. P., Stewart G. S., Bycroft B. W., Kjelleberg S., and Williams, P. 1999 Quorum sensing cross talk: isolation and chemical characterization of cyclic dipeptides from *Pseudomonas aeruginosa* and other Gram-negative bacteria. *Mol. Microbiol.* 33:1254-1266.

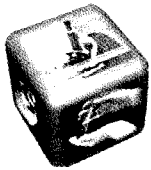
Jennifer, M. Henke and B.L. Bassler. 2004 Quorum-sensing regulates typeIII secretion in *Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Bacteriol.* 186(12): 3794-3805.

Jeong, H.S., Lee, M.H., Lee, K.H., Park, S.J., and Choi, S.H. 2003. SmcR and cyclic AMP receptor protein coactivates *Vibrio vulnificus vvpE* encoding elastase through the RpoS-dependent promoter in a synergistic manner. *J. Biol. Chem.* 278: 45072-45081.

Kim, S.-Y., S.E. Lee, Y.R. Kim, C.M. Kim, P.Y. Ryu, H.E. Choy, S.S. Chung, and Rhee J.H. 2003 Regulation of *Vibrio vulnificus* virulence by the LuxS quorum-sensing system. *Mol. Microbiol.* 48: 1647-1664.

Kothary, M.H., and Kreger, A.S. 1987. Purification and characterization of an elastolytic protease of *V. vulnificus*. *J. Gen. Microbiol.* 133:1783-1791.

Kovacikova, G., and K. Skorupski. 2002. Regulation of virulence gene expression in *Vibrio cholerae* by quorum sensing: HapR



## 총설



- functions at the *aphA* promoter. *Mol. Microbiol.* 46: 1135-1147.
- Lenz, D.H., K.C. Mok, B.N. Lilley, R.V Kulkarni, N.S. Wingreen, and B.L. Bassler 2004. The small RNA chaperon Hfq and multiple small RNAs control quorum sensing in *Vibrio harveyi* and *Vibrio cholerae* *Cell* 118: 69-82.
- Leo, Eberl. 1999. N-Acyl homoserinelactone-mediated gene regulation in Gram-negative bacteria. *System. Appl. Microbiol.* 22:493-506.
- Lilley, B.N. and Bassler, B.L. 2000. Regulation of quorum sensing in *Vibrio harveyi* by LuxO and Sigma-54. *Mol. Microbiol.* 36: 940-954.
- McDougald, D., Rice S. A., and Kjelleberg, S. 2001. SmcR-defendant regulation of adaptive phenotypes in *Vibrio vulnificus*. *J. Bacteriol.* 183:758-762.
- Miller, M. B., K. Skorupski, D. H. Lenz, R. K. Taylor, and Bassler, B. L. 2002 Parallel quorum sensing systems converge to regulate virulence in *Vibrio cholerae*. *Cell* 110:303-314.
- Miyoshi, N., Shimizu C., Miyoshi S., and Shinoda, S. 1987. Purification and characterization of *Vibrio vulnificus* protease. *Microbiol. Immunol.* 31:13-25.
- Mok, K.C., Wingreen, N.S., and Bassler, B.L. 2003 *Vibrio harveyi* quorum sensing: a coincidence detector for two autoinducers controls gene expression *EMBO J.* 22: 870-881
- Nealson, K.H., Platt, T., and Hastings, J.W. 1970. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J. Bacteriol.* 104: 313-322.
- Parsek, M.R. and Greenberg, E.P. 2000. Acyl-homoserine lactone quorum sensing in Gram-negative bacteria: A signaling mechanism involved in associations with higher organisms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 8789-8793.
- Passador, L., Tucker, K.D., Guertin, K.R., Journet, M.P., Kende, A.S., and Iglewski, B.H. 1996. Functional analysis of the *Pseudomonas aeruginosa* autoinducer PAI. *J. Bacteriol.* 178: 5995-6000.
- Pearson, J.P., Passador, L., Iglewski, B.H., and Greenberg, E.P. 1995. A second N-acylhomoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92: 1490-1494.
- Piper, K.R., Beck von Bodman, S., and Farrand, S.K. 1993. Conjugation factor of *Agrobacterium tumefaciens* regulates Ti plasmid transfer by autoinduction. *Nature* 22: 362: 448-450.
- Shao, C. P., and Hor L. I., 2001 Regulation of metalloprotease gene expression in *V. vulnificus* by a *V. harveyi* LuxR homologue. *J. Bacteriol.* 183:1369-1375.
- Schauder, S., Shokat, K., Surette, M.G., and Bassler, B.L. 2001. The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Mol. Microbiol.* 41: 463-476.
- Strom, M. S., and Paranjpye, R. N., 2000 Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbes Infect.* 2:177-188.
- Taga, M.E. and Bassler, B.L. Chemical communication among bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 25: 14549-14554.
- Vance, R.E., Zhu, Jun, and Mekalanos, J.J. 2003. A constitutively active variant of the quorum-sensing regulator LuxO affects protease production and biofilm formation in *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 71: 2571-2576.
- Whitehead, N.A., Anne, M.L., Barnard, H.S., Simpson, N.J.L., Salmond, G.P.C. 2001. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 365-404.
- Wright, A. C., J. G. Morris, Jr., D. R. Maneval, Jr., K. Richardson, and Baker, J. B., 1985 Cloning of the cytotoxin-hemolysin gene of *Vibrio vulnificus*. *Infect. Immun.* 50: 922-924.
- Zhu, J. and Mekalanos, J.J. 2003. Quorum sensing-dependent biofilms enhance colonization in *Vibrio cholerae*. *Develop. Cell* 5: 647-656.
- Zhu, J., M. B. Miller, R. E. Vance, M. Dziejman, B. L. Bassler, and L. W. Mekalanos 2002 Quorum-sensing regulators control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:3129-3134.

## 약력



### 김건수

- 1986. 서강대학교 생물학과 (이학사)
- 1991. University of Illinois, Dept. of Microbiology (이학석사)
- 1995. University of Illinois, Dept. of Microbiology (이학박사)
- 현재 서강대학교 생명과학과, 부교수