

# 미생물의 퀴럼센싱과 식품안전

## Bacterial quorum sensing and food safety

이 나 리  
Nari Lee

한국식품연구원 식품안전연구단

Food Safety Research Group, Korea Food Research Institute

### 1. 서론

약 사십 억년 전 최초의 생물체인 미생물이 등장한 이후, 진화과정을 통한 다양한 미생물종의 출현으로 인한 지구 환경의 변화가 초래되었다. 미생물들은 또한 자신이 변화시킨 환경에 적응하고 극복하기 위해 다양한 조절 기작을 갖춘 생명체로서의 진화를 거듭해 왔는데 인간은 이제야 그들의 일부 기작을 설명할 수 있는 과학적 지식을 갖추고 있다. 특히, 지구상의 생태계에서 미생물은 각각의 세포가 단독으로 존재하는 것으로 생각되어 왔으나 1970년대에 들어서서 미생물은 신호전달물질을 스스로 생산하며 균체 외로 분비함으로써 세포사이에 의사소통(intercellular communication)을 취하고 있다는 것이 밝혀졌다(25). 또한 이들이 다양한 환경 하에서 효과적으로 기능을 수행하기 위해서는 주변의 여건을 감지하고, 변화무쌍한 환경 조건에 적응할 수 있도록 상호간의 의사소통이 매우 정교한 방식으로 확립되어 있음이 확인되었으며 이런 현상을 연구하는 사회 미생물학(Sociomicrobiology)이라는 새로운 영역을 개척해 나가고 있다(20). 이와 같이 세포사이에 의사소통에 이용되는 신호전달물질은 균체농도에 의존적으로 환경 중

에 축적되며 어느 일정의 농도를 넘으면 여러 가지 유전자의 전사를 조절하는 것으로 알려져 있는데 세포간 의사소통에 이용되는 정보전달물질, 소위 자가유도체(autoinducer, AI)를 미생물의 언어라고 한다면 미생물에 의한 AI의 생산과 방출 및 유전자 발현에 대한 조절기구는 Quorum-Sensing(QS, 정족수 감지)이라는 용어로 설명할 수 있다.

최근 quorum-sensing 현상이 대두되고 있는 이유는 인간의 대화 체계 같은 신호전달 과정으로 미생물의 다양한 유전자들을 발현시킴에 있어 확산성 저분자량 신호전달물질인 AI가 매우 중요하기 때문이다. 또한 극히 일부를 제외한 대부분의 미생물 종들의 quorum-sensing은 동·식물에 질병을 유발하며, 생물막(biofilm)형성, 독소유전자 발현, 숙주환경에서의 생존, 동물 숙주 면역 체계와의 상호작용 등을 조절하므로 quorum sensing에 의해 직접 영향을 받는 유전자들, 식품 부패 및 안전과 관련된 정확한 생화학적, 분자유전학적 이해가 필요하게 되었기 때문이다(15, 25, 31).

\*Corresponding author: Nari Lee  
Korea Food Research Institute 1201-62, Anyangpangyo-ro, Bundang-gu, Seongnam-si,  
Gyeonggi-do, 463-746, Korea  
TEL: +82-31-780-9182  
FAX: +82-31-709-9876  
E-mail: nari@kfri.re.kr

## 2. Quorum sensing(QS)의 발견

Quorum sensing의 발견은 형광을 띠는 발광성 어류에서 비롯되었다. 사람들은 이 신기한 형광물질에 관심이 있었고, 이를 연구하던 중 이 현상이 발광성 어류에 공생하는 *Vibrio fischeri*라는 미생물에서 합성된 물질이란 사실을 알아냈다(31). 그런데 이 형광물질은 미생물의 개체수가 일정 이상 되었을 때만 발생하는 특성을 가지고 있었다. 연구초기에 과학자들은 이를 억제제(inhibitor)의 작용으로 생각하였다. 즉, 적은 개체수일 때는 배지에 발광물질에 대한 inhibitor가 존재하여 형광을 띠지 않지만, 개체수가 증가함에 따라 inhibitor의 양이 점차 감소하여 발광을 하게 된다고 여겼다. 그 결과 적은 개체수에도 inhibitor가 없는 배지에서 키운다면 발광을 할 것으로 생각했으나, 결과는 그렇지 않았다. 반면 의사소통 유도물질인 AI, 즉 acyl-homoserine lactone(AHL)이 축적됨에 따라 발광현상이 나타남으로 quorum sensing이 세포 밀도(면적당 개체수)와 관련이 있다는 것이 밝혀졌다. 또한 발견초기 QS은 *Vibrio*와 같은 공생하는 미생물에서 주로 발견되어 공생미생물의 특성이라고 여겨졌으나 최근 들어 QS이 *E. coli*, *Bacillus* sp 등의 대부분 미생물에서 발견됨에 따라 이것이 공생관계에 있는 미생물에서만 일어나는 것이 아닌, 모든 미생물의 “cell-to-cell communication(세포간 통신)”으로 확인되었다(1, 3, 19, 23). 일단 이 물질이 하나의 세포에서 합성되면 타 세포들도 이에 호응하여 동일한 AI 분자들을 합성하여 체외로 방출하게 되고 세포의 AI 농도가 높은 상태에 도달하면 단세포의 미생물 개체가 모여 마치

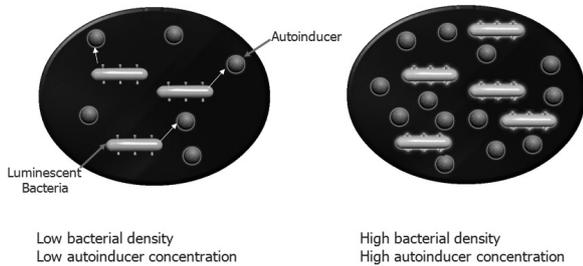


Fig. 1. The principle of quorum sensing is depicted(14).

다세포 미생물(multi-cellular organism)인 것처럼 집단적인 행동을 취할 수 있다. 즉 미생물은 자신이 만들어 낸 특수한 AI의 농도를 스스로 측정하고 개체밀도(population density)를 감지하는 것이다(Fig. 1).

## 3. Quorum sensing(QS) 신호전달물질

Autoinducer라고 불리는 신호전달물질은 QS에 사용되는 다단계의 조절기작 중 최상위에 위치해 스위치 역할을 하는 핵심 요소로서 미생물 자신에 의해 합성되며 세포막을 자유로이 통과할 수 있는 저분자 화학물질로 매우 적은 농도에서도 특정 유전자들의 조절이 가능한 다양한 형태의 물질이다. 현재까지 알려진 신호전달물질은 크게 4그룹으로 구분된다. ① 그람음성균의 신호전달물질로 이용되는 지방산 유도체인 *N*-acylhomoserine lactone(AI-1) 계열 ② 그람양성균은 oligopeptide를 주로 사용하여 그람양성과 그람음성균에 공통적으로 존재하여 ‘universal signal’로서 기능을 하는 furanosyl borate diester 계열(AI-2) 및 non-boronated diester 분자 ③ *E. coli*와 사람 등의 숙주의 epinephrine-signaling system 사이의 cross talk 물질로서 미지의 화합물(AI-3) ④ peptide 계열 및 short-chain amino acids로서 *Bacillus subtilis*와 같은 그람양성균의 신호전달물질이다(Fig. 2).

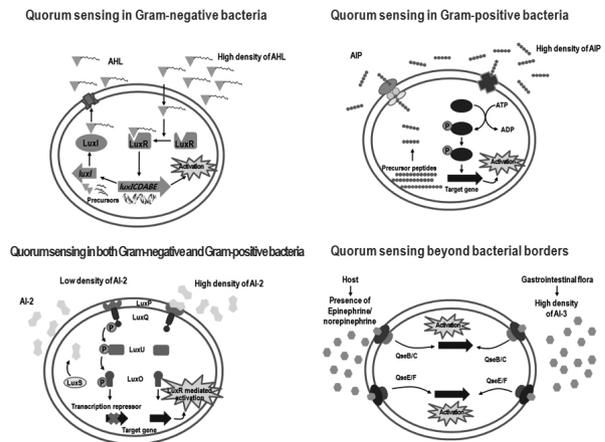


Fig. 2. Four simplified models of the described quorum sensing mechanisms(24).

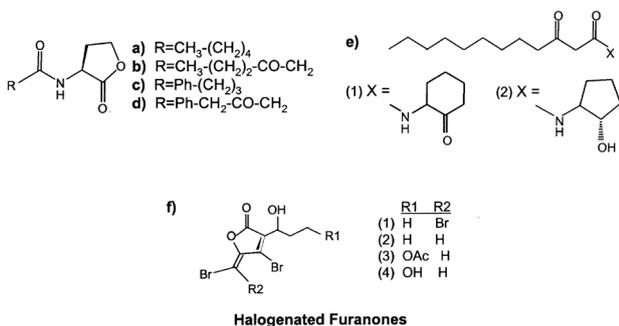


Fig. 3. Structures of AHLs (a and b) and antagonists (c, d, e and f)(3).

지금까지 알려진 그람음성균의 AI-1 분자는 acyl chain을 이루는 탄소원소의 수 뿐만 아니라 3번째 탄소에 산소나 산화수소의 결합여부에 따라 이들 물질을 인식할 수 있는 미생물의 종이 달라지므로 AHL의 다양한 구조는 미생물에 있어 선택적으로 인지하게 하는 종 특이성(species specificity)을 부여한다(Fig. 3). 실험실 밖의 미생물들은 다양한 다른 종들과 공존을 하게 되며 적대관계나 공생관계 미생물의 AHL을 접하게 될 수 있다. 그러나 다른 종류의 미생물들이 같은 AHL을 분비하더라도 이 물질들은 각각 다른 생물학적 특성의 발현을 조절하게 된다(23, 29). 아직까지는 그람양성균에서 AHL의 생산을 보고된 적이 없으며, *Escherichia coli*나 *Salmonella*도 AHL은 생산하지 못한다고 보고되었으나 최근의 연구에서 AHL에 반응은 한다는 보고가 있다(7).

그람양성균은 변형된 올리고펩타이드 (AIP)를 신호전달 분자로 이용하여 DNA 섭취, 가공, 접합 및 발병을 조절한다고 한다. 여기에는 *Enterococcus faecalis*와 *Staphylococci*가 각각 생산하는 peptide lactone과 peptide thiolactone이 포함되는데 이 두 종의 병원균들에서 나온 propeptide들은 성숙과정(maturation)을 거친 변형된 peptide가 신호전달물질로서 독소 유전자의 조절에 참여한다(Fig. 2). *Bacillus subtilis*에서 포자형성 과정은 변형된 3 종류의 peptapeptide에 의해 조절되고 길이가 짧은 펩타이드들은 젖산균으로부터 박테리옌 생산을 조절한다고 이해되고 있다(1, 31).

새로운 항균제를 개발을 위한 표적으로 그람음성

균의 AHL과 그람양성균의 변형된 peptide는 상대적으로 좁은 범위에만 한정되어 있으나 미생물 공통의 신호전달 언어로 생각되고 있는 AI-2는 같은 niche에 존재하는 타 종간의 신호전달을 가능하게 하는 물질로 추정되고 있다. 실제로 많은 그람음성균과 그람양성균에서 AI-2의 생산이 밝혀져서 세균 공통의 quorum sensing 언어의 존재 가능성에 대한 단서가 되었다(Fig. 2; 7). 그러나 모든 세균들이 AI-2를 생산하지는 않으며, 발광현상(*V. harveyi*), ABC type의 물질수송과정(*S. typhimurium*), 병원성인자인 VirB의 합성(*S. flexneri*), protease의 합성(*S. pyrogenes*), 숙주 내 적응(*N. meningitidis*), 철 이온의 획득(*Actinobacillus* sp.) 등의 과정에 필요한 유전자 발현이 AI-2에 의해 조절된다고 알려져 있다(30).

QseC 시스템에 의해 발현되는 AI-3는 병원성 대장균이 사람 등의 숙주세포에 부착하는데 관여하는 유전자 발현을 활성화시키는 기작에서 처음 발견되었으나 이 신호전달물질의 구조와 합성에 대한 정확한 보고는 없다(8). 다만 AI-2가 AI-3의 합성에 관여하는 것으로 추정하고 있으며, 독소 발현이 two-component system QseBC와 QseEF에 의해 조절되며, 미생물과 숙주간(interkingdom)의 신호전달에 관여하는 것으로 생각되고 있으며 실제로 사람의 epinephrine/nonepinephrine signaling system이 AI-3에 의해 조절되는 결과가 보고되었다(Fig. 2; 7, 24, 27).

## 4. Quorum sensing mechanism

### 4-1. 그람음성균의 QS

30종 이상의 그람음성균에 대한 QS에 대한 연구가 지난 10년간 진행되었는데 *V. harveyi*와 *M. xanthus*를 제외한 거의 대부분의 그람음성세균은 *V. fischeri*의 quorum sensing과 유사하게 N-acyl homoserine lactone(AHL)류를 신호전달물질로서 이용하여 *V. fischeri*의 LuxI와 LuxR에 의한 luciferase operon(*luxICDABE*)의 발현을 조절한다(Fig. 2). 즉, LuxI는 AHL 생산을 유도하고 미생물 개체군이 증식하여 HSL이 일정수준 이상에도

Table 1. Organism processing LuxI/LuxR homologues.

Organism	LuxI/LuxR homologue	Autoinducer identity	Function
<i>Vibrio fischeri</i>	LuxI/LuxR	<i>N</i> -(3-oxohexanoyl)-HSL	Bioluminescence
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	TraI/TraR	<i>N</i> -(3-oxohexanoyl)-HSL	Ti plasmid conjugal transfer
<i>Chromobacterium violaceum</i>	CviI/CviR	<i>N</i> -hexanoyl-HSL	Violacein pigment Exoproteases
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	LasI/LasR RhII/RhIR	<i>N</i> -(3-oxododecanoyl)-HSL <i>N</i> -butyryl-HSL	Virulence, biofilm rhamnolipid
<i>Aeromonas hydrophila</i>	AhyI/AhyR	<i>N</i> -butanoyl-HSL	Metalloprotease production
<i>Burkholderia cepacia</i>	CepI/CepR	<i>N</i> -octanoyl-HSL	Protease production
<i>Edwinia chrysanthemi</i>	ExpI/ExpR CarI/CarR	<i>N</i> -(3-oxohexanoyl)-HSL)	Exoenzyme, Antibiotic synthesis
<i>Yersinia enterocolitica</i>	YenI/YenR	<i>N</i> -hexanoyl-HSL <i>N</i> -(3-oxododecanoyl)-HSL	Bacterial motility
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	YpsI/YpsR YtbI/YtbR	<i>N</i> -(3-oxododecanoyl)-HSL <i>N</i> -octanoyl-HSL	Bacterial aggregation mobility
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	RhII/RhIR CinI/CinR	<i>N</i> -hexanoyl-HSL, <i>N</i> -(3-hydroxy-7- <i>cis</i> - tetradecadecenoyl)-HSL	rhizosphere gene, stationary phase QS regulatory
<i>Ralstonia solanacearum</i>	SolI/SolR	<i>N</i> -hexanoyl-HSL <i>N</i> -octanoyl-HSL	Protease production

달하면, LuxR 동족체들이 AHL과 결합하여 특별한 표적 유전자의 발현을 개시한다. 더불어 그람 음성 균 QS의 또 다른 전형인 two-component regulatory network에 의한 조절체계는 *V. harveyi*의 연구를 통해 밝혀지게 되었다(23). 최근 연구 결과들은 LuxI/LuxR 동족체 기구가 더 다양하다는 사실을 보여주는데 *Pseudomonas aeruginosa*의 경우 LasI/LasR과 RhII/RhIR의 2종류의 동족체 기구가 기능면에서도 서로 보완적인 역할을 하면서 발병력을 발현하는 것으로 보고되었다(Table 1). 식물병원균인 *Ralstonia solanacearum*은 quorum sensing 기구인 SolI/SolR의 발현을 통하여 식물 세포벽을 파괴하는 효소를 포함하여 발병인자의 생산을 조절하며, 식물의 opine 호르몬도 *A. tumefaciens*의 OccR 또는 AccR과 상호작용하여 LuxR 동족체인 TraR의 발현을 조절한다(29).

#### 4-2. 그람양성세균의 QS

그람양성균에 대한 QS도 다양한 경로를 통하여 세포 개체군밀도를 조절한다. 그러나 그람 음성균처럼 AHL을 신호전달물질로 이용하지 않고 LuxI/LuxR 기구도 이용하지 않는다. 그 대신 그람양성균은 신호전달물질인 올리고펩타이드를 Opp complex(Oligopeptide permease) (Opp 결합 cassette) 또는 ABC 운반체를 통하여 배출하고 이 펩타이드 정보 전달물질이 동족체인 두 성분으로 구성된 sensor kinase에 인식되어 인산화 연쇄반응에 의해 세포질 내 조절단백질을 활성화시킨다(Fig. 2).

*Bacillus subtilis*의 경우는 2종의 생산된 올리고펩타이드 신호전달물질에 의하여 DNA의 수용과 spore 형성이 유도되는데 이중 하나인 ComX가 ComP/ComA를 활성화시켜서 DNA 전이와 형질전환이 가능한 상태를 만들며, 다른 하나인 CSF(competence and sporu-

lation factor) 펩타이드는 ABC 운반체에 의하여 저농도의 CSF가 competence를 유도하고 고농도의 CSF가 competence화를 억제하여 spore 형성을 유도한다 (1). *Enterococcus faecalis*는 일부 펩타이드성 정보전달물질이 다양한 플라스미드의 정보와 특정 플라스미드의 획득을 지시하는 정보를 담고 있으면서 플라스미드 공여세균과 수용세균사이의 접합에 관여한다. *Staphylococci*의 경우에는 RNAIII라 불리는 번역이 되지 않은 RNA분자를 합성하여 proteinA, coagulase, enterotoxin, hemolysin과 같은 다양한 유전자표적을 활성화 또는 억제하면서 QS을 조절한다(6, 29).

#### 4-3. 혼합형 QS

그람양성균과 그람음성균 모두에서 발견되는 QS 기구 중 하나가 해양발광세균인 *V. harveyi*의 밀도능에 의한 Luciferase 오페론에 의한 2종의 정보전달물질 (autoinducer)이 있다. *V. harveyi*는 다른 그람음성균과 마찬가지로 AHL을 autoinducer로 이용하는데, 또 다른 두 번째 autoinducer의 구조는 아직 밝혀지지 않았으며 HSL계가 아닌 furanone으로 추정하고 있다(Fig. 3). 이 *V. harveyi*에 의하여 그람양성균도 autoinducer의 인식과 반응에 의한 QS이 조절된다. *V. harveyi*의 두 종의 신호전달물질을 각각 AI(autoinducer)-1, 2로 부르며, 이들을 각각 인식하는 동족체 sensor kinase 단백질을 LuxN과 LuxQ로 부르며, 또 다른 LuxP라 불리는 periplasmic 결합단백질은 AI-2를 인식하여 결합한 LuxQ와 상호작용하는 것으로 알려지고 있다. 이 두 시스템에서 감지된 정보는 phosphorylation과 dephosphorylation으로 전환되어 통합 신호단백질인 LuxU를 유도하고, 이어서 반응조절 단백질인 LuxO를 유도한다(Fig. 2). 여기서 흥미로운 사실은 *V. harveyi*는 *V. fischeri*의 QS과 달리 LuxI/LuxR 동족체 QS 기구가 없고 HSL autoinducer인 AI-1의 생산도 *luxL*과 *luxM* 유전자에 의한 것이며, AI-2의 합성은 *luxS* 유전자에 의한 것이라는 사실이다. 더하여 이들 유전자는 *luxI* 유전자와 상동성도 나타내지 않았다.

그람양성균과 그람음성균 모두 높은 상보성을 보

이는 *luxS* 동족체에는 *E. coli*, *Salmonella typhium*, *Salmonella partyphi*, *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter faecalis*, *Staphylococcus aureus* 외 수십종이 있다(3, 8, 15, 27, 28). 이들 종들은 *luxS* 유전자를 갖고 AI-2 활성을 나타내며, *V. harveyi*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *V. cholerae*, *H. pylori*의 경우는 AI-2를 생산하지 못하는 *luxS* 돌연변이주를 만들어 기작연구를 수행하고 있다. *E. coli*, *S. typhimurium*, *V. cholerae*에서는 발병력이 AI-1에 의하여 조절된다는 단편적인 상황 증거는 있지만, *V. harveyi*를 제외하면 어떤 기능이 조절되는가 하는 여부는 밝혀지지 않고 있다. *V. harveyi*는 *lux* 유전자 발현을 유도하여 AI-1, AI-2를 내부에서 생산하지만, 다른 세균들처럼 *luxS* 동족체들을 갖고 있고 이 유전자 발현을 통하여 AI-2도 생산한다(3). *luxS* 동족체들을 갖는 세균들은 그람양성균과 그람음성균 양쪽에서 모두 발견된다. 이 사실은 AI-2를 통한 신호전달이 자연환경에서 이종 간 상호정보 전달의 방법이라는 추측을 하게 한다. *V. harveyi*의 경우에는 이와 같은 시스템을 통하여 동종의 증식뿐만 아니라 여러 종들이 혼재된 개체군에서 총 세균들의 증식을 촉진한다고 한다. 또한 *V. harveyi*는 동종과 이종을 구분하는 능력을 갖고 있어서 단독배양과 혼합배양 시에 유전자 발현을 다르게 조절한다고 한다(3).

#### 5. Quorum sensing의 식품안전에서 응용

QS 현상은 그람음성세균은 물론 그람양성세균간에도 공통적으로 일어나는 일반적인 현상으로 생물 발광(bioluminescence), 식중독균의 독성(virulence), 식품의 부패(food spoilage), 등을 비롯하여 포자 형성(sporulation), 접합(conjugation) 및 운동성(motility)등과 같은 생리적 기능이 이 현상에 의해서 조절된다. 실제로 인간이나 동물은 심각한 질병의 원인이 되는 병원성 미생물을 보유할 수 있으나, 그 수가 충분히 많지 않으면 질병에 감염되지 않는다. 그러므로 미생물들이 이들 신호분자들을 가지고 어떠한 방식으로 의사소통을 하는지를 이해하게 되면 생물막(biofilm) 형성, 식품 부패, 식품 유래의 병원성 세균의 감염을

Table 2. Bacterial food spoilage influenced by quorum sensing regulated phenotypes.

Organism	Food product	Signal-dependent phenotype	Signaling molecules	References
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 395	Milk	Proteolytic milk spoilage	C4-HSL, 3OC8-HSL	19
<i>Pseudomonas fluorescences</i>	Milk	Proteolytic milk spoilage	L-HSL a-amino- $\gamma$ -butyrolactones	11
<i>Pseudomonas</i> spp.	Meat	Biofilm formation and proteolytic spoilage	AHLs	16
<i>Hafnia alvei</i> and <i>Serratia</i> spp	Vacuum packed meat	proteolytic spoilage	N-3-oxohexanoul HSL	6
<i>Aeromonas</i> spp. and <i>Photobacterium phosphoreum</i>	Cod fillets	Chitinolytic spoilage	3-hydroxy-C8-HSL	12
<i>Erwinia carotovora</i>	Vegetables	Cellulolytic and proteolytic spoilage	3-oxo-C6-HSL	17
<i>Serratia plymuthica</i> RVH1	Vegetables	Chitinase and protease activity	3-oxo-C6-HSL, C6-HSL	26
<i>Pectobacterium</i> sp. A2JM	Bean sprouts	Pectinolytic and proteolytic spoilage	3-oxo-C6-HSL	22

예방할 수 있을 것이다.

### 5-1. Biofilm 형성

미생물에 의해 만들어지는 biofilm은 거의 모든 종류의 고체표면과 살아있는 생물의 조직에서 형성될 수 있으며 인체건강에 많은 영향을 미치고 있다. biofilm은 표면에 강하게 부착되어 있어 제거가 어렵고, 생체 내에서는 접촉에 의한 만성 세균성 질병의 원인이 되며 수확된 채소 제품이나 식품가공 기구에서 자주 관찰되므로 식품 안전성에도 중요한 역할을 하고 있다(9, 13). 특히, 과일과 채소 같은 신선편의 식품을 감염시킨 식중독 또는 부패미생물은 큐틴층의 다양한 형태의 식품표면 때문에 제거되기 어려우며 또한 식품가공 기구(플라스틱, 유리, 금속, 나무 등)의 표면으로부터 지속적으로 미생물을 생산하여 방출하기 때문에 위해 미생물의 저장소와 같은 역할을 한다는 점에서 국민 건강에 큰 문제를 야기한다. 미생물이 biofilm을 형성하면 부유생활(planktonic life)을 할 때에 비해 항생제와 염소와 같은 소독제에 대한 강한 저항력을 가지기 때문에 인간의 건강이나 식품 안전성 측면에서 주목해야 할 현상이다. *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylo-*

*bater jejuni* 식중독균과 대표적인 식품부패 미생물인 *Pseudomonas*가 식품표면(과일, 채소, 고기표면, 유제품 등), 식품가공 기구(정수기, 도마, 칼 등)와 하수관, 수도관, 공기정화시설 같은 식품가공 환경에 바이오 필름을 형성하는 대표적인 미생물들이다(2, 5, 18, 21). 흥미롭게도 다양한 AI 분자에 의한 QS이 biofilm 형성과 밀접한 관련이 있다는 연구결과가 밝혀졌다. 대표적으로 *P. aeruginosa*(녹농균)은 활발하게 biofilm을 형성하는 미생물로서 AHL에 의해서 조절되는 biofilm 형성 기작이 밝혀졌으며, 낭포성 섬유종의 원인균인 *Burkholderia cepacia*에서도 QS에 의해 biofilm이 형성된다는 보고가 있다(15). 이들 미생물들이 AI-2 유사 활성 물질을 생산하는 것으로 확인되었고 토마토의 표면에서 발견된 AI-2 유사물질은 세균성 biofilm 형성을 촉진시킨다는 보고가 있다(25, 31).

### 5-2. 식품부패(Food spoilage)와 관련성

최근의 QS을 비롯한 다양한 상호작용들에 대한 관심은 미생물에 의한 식품부패 과정에도 AI-1과 AI-2와 같은 신호전달물질이 관련이 있을 것으로 추측되어 왔다. 생선, 가금류 또는 육제품 중에 다양한 종의 세균들이 특이한 AHL을 생산하고 생산된 각 AHL

들은 시판되는 훈제 연어나 또는 생선 필레, 칠면조 육, 진공포장 쇠고기, 발아시킨 콩 등을 비롯한 부패된 식품들 중에서 검출되어왔다(22). 특히 유제품은 *pseudomonad*와 같은 중저온성 미생물에 의해 쉽게 부패가 일어나는데 그람음성균의 경우는 *proteinase*, *lipase*, *lecithinase*와 *glycosidase*를 그람양성균은 *phospholipase*를 분비해서 식품부패를 일으킨다. 이때 AI는 육류와 육류가공식품, 우유와 유제품을 부패시키는 미생물의 유도기간을 단축시키고 대수증식기간을 증가시킨다(11). 기존에 보고된 많은 연구를 통하여 미생물 부패 과정에서 AHL의 가능성은 강조되었지만 실제로 이들 화합물들의 온도 안정성에 미치는 영향 그리고 식품의 가공이나 저장 조건이 식품중의 AHL 종류 및 함량, 생체 가용성 등에 대하여 어떠한 영향을 미치는지는 별로 알려져 있지 않다. 다만, Table 2에서 보는 대로 AHL에 의한 quorum sensing 조절작용으로 여러 가지 식품에서 부패가 일어나는 것을 확인할 수 있었으며, AI-2나 그람음성균의 신호전달물질인 AIP가 식품부패와 관련되었다는 정보는 없다(11, 13).

### 5-3. 식품에서 분리된 식중독균(Foodborne-pathogenes)의 신호물질

장내미생물인 *E. coli*와 *Salmonella*는 위장관 내에서 다양한 미생물학적 환경에 노출되기 때문에 공기 유래의 non AI-2 신호 체계가 *E. coli*에서 보고된 적이 있을 정도로 주변의 다양한 환경에 따라 다양한 종류의 QS 체계를 가지고 있다. SdiA quorum sensing system, indole signaling, AI-2 (LuxS) quorum sensing system, AI-3 (Qse) epinephrine/norepinephrine signaling system 등이 대표적이다. Sperandio 등(24)은 장 정착을 담당하는 장출혈성 *E. coli*O157:H7의 유전자들에 의한 활성화가 두 종류의 신호를 통하여 매개된다는 이론을 제시하였다(Fig. 2). AI-3는 통상의 장내 균총에 의해서 생성되는 반면 epinephrine/norepinephrine은 숙주인 인간에 의해서 만들어진다. 인간의 장내에 있는 병원성 세균의 다양한 감지 체계를 파악하고 있다 하더라

도 아직 이들 병원성 세균들이 식품 기질(food matrix)에 의해 만들어졌을 수도 있는 신호에 대해서 어떻게 반응하는지 밝혀져 있는 것이 별로 없다. Cloak(8) 등은 우유나 닭고기 육수 중에 함유된 AI-2 유사물질이 *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella Typhimurium*, *E. coli* O157:H7에 의해서 생산된다고 주장하였다(31). Brandl 등(4)도 닭에서 분리된 *Salmonella thompson*의 AI-2 물질이 같은 균에 감염된 멕시코산 향신료(Cilantro)의 잎사귀에서는 발견되지 않았다는 보고가 있다.

발효식품에 존재하는 유산균도 bacteriocin 합성과 관련된 QS에 대한 연구가 보고되고 있다. 유산균에서 발견되는 항균성 펩타이드를 합성하는데 필수적인 조절인자들을 암호화하는 여러 개의 유전자들이 발견되었는데 sensor kinase나 response regulator를 발현하는 유전자에 결함이 있으면 bacteriocin의 생산이 중단됨이 확인되었으며 이들 관련유전자들이 발현되기 위해서는 bacteriocin 또는 이와 유사한 펩타이드가 직접 유도제(inducing factor)로서 작용한다는 사실이 밝혀졌다. 유산균에서 일어나는 quorum sensing 현상으로 NisR/NisK 단백질에 의해 조절되는 nisin controlled expression (NICE) system이 가장 많이 연구되었다. Nisin이나 Nisin 유도체가 존재하지 않을 때는 유전자 발현을 일으키지 못하므로 유산균을 이용한 생물공학적인 방법으로 원하는 단백질을 다량으로 얻고자 할 경우 자주 사용되고 있다(31).

## 6. Anti-Quorum sensing 전략

병원성미생물과 식품안전성을 위협하는 미생물 제어 위한 항균물질의 개발 표적으로 anti-QS에 관한 연구가 부상하면서 QS을 저해하는 물질은 다양한 분야에서 응용이 가능한 신세대 항균제재로서 의약품, 수의약품, 농업, 식품안전에 사용될 수 있다. AHL에 의한 anti-quorum sensing에는 3가지 전략이 있다. ① AHL 신호전달물질의 분해, ② AHL 합성의 저해, ③ LuxR/AHL 상호작용의 길항이다.

Quorum sensing 기작은 신호물질인 AHL의 분해를

통해 효과적으로 차단될 수 있다. AHL은 비교적 pH에 불안정하여 배양액의 pH가 염기성으로 가면 링 구조의 파괴(lactonolysis)가 용이해진다. 링 구조가 파괴되면 AHL 신호분자는 LuxR 동족체를 활성화시킬 수 없다(Fig. 3). 또한 AHL을 분해하는 효소를 촉진하는 것도 전략이 될 수 있다. 최근 QS을 제어함으로써 미생물을 제어할 수 있는 효소 AiiA가 *Bacillus*와 *Agrobacterium tumefaciens*에서 발견되었으며 이 효소는 zinc-binding motif를 갖는 metallo-hydrolase superfamily에 포함된다(10). 생화학적인 연구 결과 이 AiiA는 AHL(acyl-homoserine lactone)의 homoserine lactone ring을 깨뜨려서 AHL의 생물학적인 활성을 없애버리므로 AHL-lactonase로 명명되었으며 식물병원균인 *E. carotovora* 또는 식품부패미생물인 *P. aeruginosa* 내에서 발현되면 QS 신호를 효과적으로 quenching시켜 독소인자의 발현을 억제한다고 알려진다

AHL 합성에 대한 유전적 분석을 통해 AHL 합성단백질이 아미노산생합성 과정의 S-adenosylmethionin(SAM)과 지방산 생합성 과정의 acyl carrier protein (acyl-ACP)의 결합을 촉매하여 AHL 신호전달물질을 합성하는 것으로 알려져 있다(23). 이때 SAM은 homoserine lactone 부분을 제공하고 acyl-ACP가 다양한 acyl chain의 주요 공급원으로 사용된다(28). AHL 합성경로는 미생물만 존재하기 때문에 AHL 생합성을 위한 최종효소인 LuxI 유사체들은 anti-QS을 위한 주요 표적이 될 수 있다. 최근에 식물 병원성 미생물인 *P. stewartii*로부터 AHL 합성단백질인 EsaI 단백질의 결정구조가 규명되었으며, 그 결과 LuxI 단백질은 진행생물 N-acetyltransferase와 구조적 유사성을 갖고 있으며, fatty acyl 사슬을 기질로 이용하고, 많은 필수적인 아미노산 잔기들의 효소의 활성부위에 위치함을 확인하였다. 이들의 구조적 데이터는 AHL 합성을 저해하는 inhibitor의 디자인이 가능할 것이며, AHL 합성을 위한 acyl side chain을 공급하는 지방산 대사의 차단은 anti-QS을 위한 또 다른 표적이 될 수 있다(12, 15, 24).

AHL 신호전달물질에 대한 반응은 LuxR의 전사조절단백질을 통하여 조절된다. 따라서 AHL과 구조적으로 유사하여 조절단백질의 결합부위에 대한 경쟁적

으로 결합할 수 있는 AHL 길항제(antagonist) 개발은 anti-QS 전략 중 하나이다. AHL 길항제는 AHL을 대신하여 미생물의 조절 LuxR 조절단백질과 결합하여 조절단백질의 안정성과 이량체 형성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. AHL에 의한 QS에서 다른 자연적으로 발생하는 길항제들이 확인되었는데 대표적인 예로 조류의 일종인 *Delisea pulchra*가 생산하는 halogenated furanone이다(Fig. 3). 조류의 furanone은 AHL을 통해 조절되는 유전자 발현을 저해하여 미생물의 군락 형성을 방해하는 quorum sensing 방지 효과의 대표적인 예로서 LuxR 형태의 조절단백질로부터 AHL을 대체하는 효과가 있다는 것이 최초로 보고되었다. 또한 Holden 등(15)은 *P. aeruginosa* 배양 상등액으로부터 AHL biosensor를 활성화 할 수 있는 두 종의 화합물 diketopiperazine과 cyclic dipeptide을 밝혀내었다. 이들을 동일한 결합부위에 대하여 다른 AHL과 경쟁하여 유전자의 발현을 활성화하거나 억제함으로써 미생물들의 신호전달 기작들 사이에 cross talk의 가능성뿐만 아니라 anti-QS을 위한 길항제의 개발 가능성을 보여준다(29).

## 7. 앞으로의 연구방향

최근까지도 미생물은 혼자서도 살아갈 수 있으며 주위 환경에 대한 미생물의 반응은 일차적인 것으로 화학적, 물리적 자극에 의해 유도된다고 생각해왔다. 고등생물들처럼 세균들도 신호물질을 방출하여 상호간 의사소통을 하는 QS의 발견은 우리가 그들의 의사소통 신호를 차단하거나 조절할 수 있으며 그렇게 하기 위해서는 다양한 식품과 그 성분들이 다양한 부패 미생물 및 병원성 세균들에게 어떠한 영향을 미칠 것인지 알고 있어야 한다는 것이다. 이미 신호전달 물질인 AI 분자의 합성과 방출, 수용체, 저해제에 대한 논문들이 발표되어있다고 하더라도 과학적 정보가 많이 부족한 상태이다. 실제 산업적으로 응용되기 위해서는 자연 식품이건 가공 식품이건 식품 자체에 AI 분자, AI 유사물질 또는 QS 저해분자가 함유되어 있는지 여부도 확인해야 하고 식품 및 식품 성분들이

어떻게 미생물의 신호전달에 영향을 미치는지도 규명되어야 한다.

대부분의 부패 미생물과 병원성 세균들의 최고의 목표는 자기번식이며 식중독과 같은 병원성을 일으키는 것은 자기번식과정 중에 발생하는 부수적인 현상이다. 그러므로 이들 미생물을 잘 설득하여 자기번식만 하고 나쁜 짓(병원성 유전자의 발현) 만을 못하게 유도하는 방법으로 QS 등의 신호전달체계를 교란하는 물질을 저해제로 사용하여 항생물질과 달리 내성을 획득하지 않도록 할 수 있을 것이다. 그러나 이러한 장점을 가지고 있음에도 불구하고, 미생물에 대한 직접적인 살균활성이 없어 많은 부분 숙주의 방어 기작에 의존할 수 밖에 없다는 단점이 있다. 그러나 이러한 단점은 기존 항생제와 조합하여 사용한다면 기존 항생제의 양을 저감 시킬 수 있거나 기존 항생제의 효과를 향상 시킬 수 있는 상승 효과 등으로 극복할 수도 있을 것이다. 최근 들어 QS에 관한 심층적 기초연구를 기반으로 한 다양한 산업적 응용 가능성이 부각되고 있다. 이에 따라 QS 연구는 더욱 활발하게 전개될 것으로 예상하며, 이런 연구를 통하여 세균들, 특히 식중독 미생물에 있어서 많은 생리학적, 분자생물학적 정보를 얻을 수 있을 것으로 기대한다.

### 참고문헌

1. Ansaldi, M., D. Marolt, T. Stebe, I. Mandic-Mulec and D. Dubnau 2002. Specific activation of the Bacillus quorum-sensing systems by isoprenylated pheromone in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 184:410-419
2. Bagge, D., M. Hjelm, C. Johansen, I. Huber and L. Gram. 2001. *Shewanella putrefaciens* adhesion and biofilm formation on food processing surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2319-2325
3. Bassler, B. L., Greenberg, E. P., and Stevens, A. M. 1997. Cross-species induction of luminescence in the quorum-sensing bacterium *Vivrio Harveyi*. *J. Bacteriol.* 179:4043-4045
4. Brandl, M. T., W. G., Miller, A. H. Bates and R. E. Mandrell. 2005. Production of AI-2 in *Salmonella enterica* serovar Thompson contributes to its fitness in chickens but not on cilantro leaf surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:2653-2662
5. Brocklehurst, T. F., C. M. Zaman-Wong and B. M. Lund. 1987. A note on the microbiology of retail packs of prepared salad vegetables. *J. Appl. Bacteriol.* 63:409-415
6. Bruhn, J. B., A. B. Christensen, L. R. Flodgaard, K. F. Nielsen, T. O. Larsen, M. Givskov and L. Gram. 2004. Presence of acylated homoserine lactones (AHLs) and AHL-producing bacteria in meat and potential role of AHL in spoilage of meat. *Appl Environ Microbiol.* 70:4293-4302.
7. Clarke, M. B., D. T. Hughes, C. Zhu, E. C. Boedeker and V. Sperandio. 2006. QseC sensor kinase: a bacterial adrenergic receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:10420-10425
8. Cloak, O. M., B. T. Solow, C. E. Briggs, C. Y. Chen and P. M. Fratamico. 2002. Quorum sensing and production of autoinducer-2 in *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella enterica* serovar typhimurium in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4666-4671
9. Costerton, J. W., Z. Lewandowski, D. E. Caldwell, D. R. Korber and H. M. Lappin-Scott. 1995. Microbial biofilms. *Annu Rev. Microbiol.* 49:711-745
10. Dong, Y. H., L. H. Wang, J. L. Xu, X. F. Zhang, L. H. Zhang. 2001. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an *N*-acyl homoserine lactonase. *Nature* 411:813-817
11. Dunstall, G., M. T. Rowe, G. B. Wisdom and D. Kilpatrick. 2005. Effect of quorum sensing agents on the growth kinetics of *Pseudomonas* spp. of raw milk origin. *J. Dairy Res.* 72:276-280
12. Flodgaard, L. R., P. Dalgaard, J. B. Andersen, K. F. Nielsen, M. Givskov and L. Gram. 2005. Nonbioluminescent strains of *Photobacterium phosphoreum* produce the cell-to-cell communication signal *N*-(3-hydroxyoctanoyl)homoserine lactone. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:2113-2120.
13. Frank, J. F. 2001. Microbial attachment to food and food contact surfaces. *Adv. Food Nutr. Res.* 43:319-369
14. Gominet, M., L. Slamti, N. Rose and D. Lereclus. 2001. Oligopeptide permease is required for expression of the *Bacillus thuringiensis* *plcR* regulon and for virulence. *Mol. Microbiol.* 40:963-975
15. Holden, M. T., S. Ram Chhabra, R. de Nys, P. Stead, N. J. Bainton, P. J. Hill, M. Manefield, N. Kumar, M. Labatte, D. England, S. Rice, M. Givskov, G. P. Salmond, G. S. Stewart, B. W. Bycroft, S. Kjelleberg and P. Williams. 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
16. Jay, J. M., J. P. Vilai and M. E. Hughes. 2003. Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5-7°C. *Int. J. Food Microbiol.* 81:105-111.
17. Jones, S., B. Yu, N. J. Bainton, M. Birdsall, B. W. Bycroft, S. R. Chhabra, A. J. Cox, P. Golby, P. J. Reeves, S. Stephens, M. K. Winson, G. Salmond, G. Stewart and P. Williams. 1993. The *lux* autoinducer regulates the production of exoenzyme virulence determinants in *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas*

- aeruginosa*. *EMBO J.* 12:2477–2482.
18. Kumar, C. G. and S. K. Anand. 1998. Significance of microbial biofilms in the food industry: a review. *Int. J. food Microbiol.* 42:9-27
  19. Liu, M., H. Wang and M. W. Griffiths. 2007. Regulation of alkaline metalloprotease promoter by N-acyl homoserine lactone quorum sensing in *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 103:2174–2184.
  20. Parsek, M. R. and E. P. Greenberg. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol.* 13, 27-33, 2005
  21. Piette, J. P. G. and E. S. Idziak. 1991. Role of flagella in adhesion of *Pseudomonas fluorescens* to tendonslices. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:1645-1639
  22. Rasch, M., T. B. Rasmussen, T. O. Larsen, M. Givskov and L. Gram. 2005. Effect of quorum sensing inhibitors on food spoilage. 42-43 In: Institute of Food Technologists Annual Meeting. Chicago: Institute of Food Technologists
  23. Schaefer, A. L., D. L. Val, B. L. Hanzelka, J. E. Cronan, Jr. and E. P. Greenberg. 1996. Generation of cell-to-cell signals in quorum sensing: acyl homoserine lactone synthase activity of a purified *Vibrio fischeri* LuxI protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:9505-9509
  24. Sperandio, V., A. G. Torres, B. Jarvis, J. P. Nataro and J. B. Kaper. 2003. Bacteria host communication: The language of hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:8951-8956
  25. Teresa, R. de K. and B. H. Iglewski. 2000. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect. Immun.* 68:4839-4849
  26. van Houdt, R., P. Moons, A. Aertsen, A. Jansen, K. Vanoirbeek, M. Daykin, P. Williams and C. W. Michiels. 2007. Characterization of a luxI/luxR-type quorum sensing system and N-acyl-homoserine lactone-dependent regulation of exo-enzyme and antibacterial component production in *Serratia plymouthica* RVH1. *Res. Microbiol.* 158:150–158.
  27. Waters, M. and V. Sperandio. 2006. Quorum sensing in *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Int. J. Med. Microbiol.* 296:125-131
  28. Watson, W. T., T. D. Minogue, D. L. Val, S. B. von Bodman and M. E. Churchill. 2002. Structural basis and specificity of acylhomoserine lactone signal production in bacterial quorum sensing. *Mol. Cell* 9:685-694
  29. Whitehead, N. A., A. M. Barnard, H. Slater, N. J. Simpson and G. P. Salmond. 2001. Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 25:365-404
  30. Xavier, K. B. and B. L. Bassler. 2003. LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. *Curr. Opin. Microbiol.* 6:191-217
  31. Yoon, Sung-Sik. Quorum-sensing mechanism in bacterial communities and their potential applications. 2006. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 26:402-409