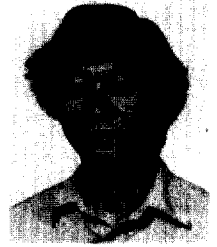


미생물 농약 (siderophore에 국한하여)



한림대학 유전공학과 부교수 위 세 찬

I. 서 론

이 글은 본지가 기획한 특집, '특수 미생물의 산업적 이용 가능성'의 소제목으로 '미생물 농약 (siderophore를 중심으로)'에 관한 것이다. 미생물과 식물의 상호작용은 비록 미생물과 동물(특히 인간)간의 상호작용에 비해 연구가 뒤져 있는 것은 사실이나 근년에 와서 매우 광범위하게 일어나고 있다. 이들 상호작용 중에서 인간의 경제적 이해가 걸려 있는 농작물에 관한 것은 우리의 관심을 끌기에 충분하다. 그러나 비록 대상을 농작물에만 제한한다 해도 미생물과의 관계는 지극히 광범위하기 때문에 이 글은 'siderophore를 중심으로'라기 보다 'siderophore에 국한하여'라고 하는 것이 이 글의 방향을 정하는데 도움이 될 것이다.

철분은 생체에서 매우 중요한 반응에 관여하는 필수 원소이다. 전자 전달계의 모든 cytochrome 이 그 활성부위에 철 원자를 포함하고 있음은 잘 아는 사실이다. 철 원자는 ribonucleotide reductase에도 포함되어 있어 DNA의 대사에도 관여한다. 공기 중의 질소를 고정하는데 필요한 nitrogenase의 활성부위에도 철 원소가 포함되어 있다. Siderophore는 철분이 부족한 상황에서 극히 미량으로나마 존재하는 원소를 세포 안으로 끌어 들이기 위하여 미생물이 생산해 낸 Fe(III)에 특이성 (specificity)을 갖는 친화력이 매우 강한 ($K_s \approx 10^{30}$ 또는 그 이상) 리간드이다.

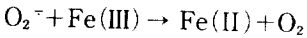
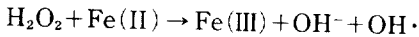
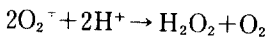
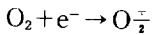
이 글은 siderophore의 식물과의 관계에 집중될 것이다. 독자들은 Neilands와 Leong의 review에서 (19) 많은 도움을 얻으리라 믿는다. 한편 siderophore의 또 다른 면모(관점)에 관심이 있는 독자를 위하여 몇가지 참고문헌을 제시하고자 한다. 미생물에 의해 생성되는 siderophore의 종류

및 화학성분에 관한 것 (16), 철분을 포함하는 항생물질 (20)에 관한 것들이 있고 철분에 의한 조절 기작의 최근의 분자 생물학적 연구도 (3) 있다. 그 외에 철분의 흡수과정에 필요한 유전적 배경에 (8, 18) 관한 것도 있다.

II. 철 원소와 그에 의한 조절기작

지구의 원시상태가 지금보다 훨씬 환원돼 있었음은 지구화학에서 밝히는 바이다. 그러나 대기 중에 산소를 뿜어내는 광합성 생체들이 생겨남에 따라 지각 중에 네번째로 많은 철 원소는 점차로 산화되어 갔다. 철 원소는 산소 존재하의 중성 수용액에서 $Fe(OH)_3$ 의 형태로 존재하며 이것은 또 일반 화학식 $FeOOH$ 로 표현되는 여러가지 Oxyhydroxide polymer를 형성한다.

$Fe(OH)_3$ 는 용해도가 매우 낮기 때문에 ($K_{sol} = 10^{-38} M$), 호기 호흡 또는 반 혐기성 (facultative anaerobic) 호흡을 하는 생체에 있어서 철 원소를 획득하는 특수한 기작 (mechanism)이 지구상의 산소의 출현과 함께 진화되었다고 믿어진다. 호기 호흡 또는 반 혐기성 호흡을 하는 미생물의 경우 몇종류의 예외를 제외하고는 거의 모두 세포내의 철분의 농도가 낮아지면 Fe(III)에 대한 친화력이 매우 강한 유기화합물 리간드, siderophore를 생성한다 (16). 한편 이들 siderophore를 인식하는 수용기 (receptor) 단백질을 세포 표면의 막에 두어 siderophore에 의해 착화합물이 된 철분을 세포내로 흡수하게 된다. 철분의 농도는 세포 내에서 매우 세밀하게 조절되어야 한다. 그것은 철분이 Harber-Weiss-Fenton cycle에 의해 세포에 치명적 손상을 주는 $OH\cdot$ 을 생성하는데 (12) 다음과 같이 촉매적 작용을 하기 때문이다.



실제로 성장배지에 철분을 충분히 공급하면 siderophore 및 수용기 단백질의 생산은 즉시 중지된다. 그러나 얼마전 *Salmonella typhimurium*에서 흥미있는 돌연변이체를 발견하였는데 (10) 돌연변이의 결과 철 원소에 의한 조절능력을 잃고 철 분 농도와 관계없이 항상 siderophore 및 수용기 단백질을 생산하는 것을 알게 되었다. 이에 관련된 유전자는 Fur (ferric uptake regulation)이라고 명명되었다. 그러나 불행히도 원래의 돌연변이 균주는 소실되었고 *E. coli*에서 유사한 표현형의 돌연변이체가 유도되었다 (13). 철분에 의한 세균의 분자 생물학적 조절기작은 Fur 유전자의 최종 산물인 Fur 단백질이 순수 분리되면서 (24) 최근 에야 밝혀지기 시작했다. 그 결과 Fur 단백질은 억제인자임이 확인되었다 (4). 억제인자 단백질은 Fe(II)가 보조억제인자(corepressor)로서 결합되어야만 비로서 활성을 나타내어 operator에 결합한다 (15). 그 결과 RNA polymerase와 DNA의 결합부위를 놓고 경쟁하게 된다 (24).

III. Siderophore와 Phytosiderophore

위에서 언급한 바와 같이 산소 조건하에서 철분은 그 공급이 매우 제한적이어서 동일한 생태계에 사는 많은 생체들 간에 필연적으로 철 원소에 대한 치열한 경쟁이 벌어진다. 즉, 각 종류의 세균 및 진균들은 그들 중에 독특한 siderophore를 생산함으로써 철 원소의 이용에 매우 배타적이다. 이들 siderophore를 계열별로 훑어보면 깜부기 곰팡이인 *Ustilago sphaerogena*가 생산하는 ferri-chrome, 담자낭 효모인 *Rhodotorula pilimanae*가 생산하는 rhodotorulic acid, 방사선 균류 (*Actinomycetes*)가 만드는 ferrioxamines, 토양에서 서식하는 *Pseudomonad*의 pseudobactin, 콩과 식물의 뿌리혹을 유발하는 *Rhizobium*에서 생산하는 rhizobactin 등이 있다. 이렇듯 미생물들은 각각이 특이한 siderophore를 생산하는 한편 이들 siderophore를 식별하는 70~85 Kdal에 해

당되는 특수한 (specific) 막 단백질을 생산함으로써 어렵게 용해시킨 Fe(III)를 세포내로 운반한다. 미생물들은 자신들이 합성한 siderophore에 특이한 수용기(receptor) 단백질 외에도 출처가 다른 siderophore를 인식하는 수용기 단백질을 여러개 가지고 있다. 예를 들면 대장균이나 살모넬라 (*Salmonella*)들은 자신이 합성한 enterobactin, aerobactin에 대한 수용기 외에도 ferrichrome, ferric citrate들을 인식하는 수용기 단백질을 가지고 있으며 아직 기능이 밝혀지지 않은 몇개의 막 단백질을 더 가지고 있다 (17). 이같은 현상은 모든 미생물에서 발견되는 공통된 현상이다. 이로써 철분에 대한 미생물간의 경쟁이 얼마나 치열한가를 짐작할 수 있다.

식물에 의한 철분의 흡수기작에 관하여 최근에 활발한 연구가 진행되고 있다. Romheld와 Marschner (23)에 의하면 식물의 철분 흡수기작은 두 종류로 구분된다. 첫째, 쌍자엽 식물과 일부 단자엽 식물에서 발견되는 기작 (Strategy I)이다. 즉, Fe(III) 착화합물들은 세포막에 결합된 환원 효소(reductase)와 수소이온의 방출 (efflux)에 의하여 뿌리권(rhizosphere)에서 환원되어 Fe(II) 이온(ferrous ion)이 세포막을 투과한다. 철분이 부족한 상태에서 환원 효소의 활성도나 수소이온의 방출이 증가됨을 측정할 수 있다. 또 하나의 기작은 벼과 식물(graminaceous monocots)에서 발견되는 것으로 (Strategy II) 철분이 부족한 상황에서 식물은 Fe(III)와 안정한 착화합물을 형성하는 iminocarboxylic acid 계열의 ligand를 생산하여 뿌리권으로 내보낸다. Nicotianamine, mugineic acid, avenic acid 등이 이에 속하며, 이들을 bacterial siderophore와 대비하여 phytosiderophore라 부른다. 이리하여 형성된 Fe(III) 착화합물들은 잘 알려져 있지 않은 과정을 거쳐 세포내로 흡수된다. Fe(III) 착화합물들의 흡수에 특수한 막 단백질이 관여할 것임은 미생물의 예로 보아 쉽게 짐작할 수 있다.

IV. Siderophore의 식물

Siderophore가 식물과 관련을 가지는 것은 대체로 다음 세가지에 해당된다. 첫째, siderophore

가 토양의 Fe(III)를 용해시켜 식물에 공급하는 일이다. 실제로 논에서 schizokinen이라는 siderophore를 검출하였다(1). 한편 silicate 분말을 인산 완충용액에 녹인 rhodotorulic acid에 처리하면 많은 양의 철분을 추출할 수 있다(2). 이는 siderophore가 토양에 존재하는 철 원소를 용해시키는 직접적 증거라 할 수 있다. 식물의 뿌리에서 자신이 방출한 phytosiderophore 외에 siderophore(bacterial siderophore)로부터 철분을 흡수하는지의 여부가 우리의 관심을 집중시킨다. 토마토나 개구리밥은 ferrichrome에서 철 원소를 섭취한다(21). 귀리의 경우 ferrichrome으로부터의 철 흡수 속도는 합성 리간드의 철 착화합물 Fe·EDDA에서보다 훨씬 빠르다(22). 한편 식물에서 Bienfait가 주장하는(5) 철분 흡수에 필요한 두개의 환원 과정 즉 표준 체제(standard or constitutive system)과 유도 체제(induced system) 중 전자에 해당하는 NADH: nitrate reductase는 *Streptomyces*에서 합성된 ferrioxamine B의 Fe(III) complex를 환원시킬 수 있다(7). 이러한 예들은 우리에게 시사하는 바가 크다.

둘째로, siderophore가 식물의 병을 유발할 가능성에 관한 것이다. 미생물이 철 원소를 획득하므로써 동물에 대한 병원성(pathogenicity)을 나타내고 있음은 잘 알려져 있는 사실이다(11). 식물의 경우에도 siderophore가 질병의 요인이 될 것으로 추측되나 아직은 확실한 관계를 밝힌 연구가 없다. 식물의 병원체가 되는 많은 종류의 진균류가 hydroxamate를 생성하나 좀더 많은 연구가 필요하다. 최근에 열대식물 *Saintpaulia*에 일어나는 병이 그것의 병원체인 *Erwinia*의 철 흡수와 관련이 있음을 알게 되었다(9).

세째로, siderophore가 한 식물의 경쟁관계에 있는 생체를 억제하는 현상이다. 식물의 뿌리권에 사는 *Pseudomonad*에는 식물의 성장을 촉진하는 균주(strain)와 해를 끼치는 균주가 있다. 이 두 종류간의 철분 수송을 매개로 한 길항 작용(iron transport-mediated antagonism)에 관한 연구(6)는 매우 흥미있는 것이다. 성장을 촉진하는 균주들의 siderophore는 식물의 병원체인 다른 균주 또는 다른 종(species)의 미생물에 의해 사용되지

않으므로써 식물 병원체는 철분의 흡수에 타격을 받게 되고 따라서 뿌리권의 다른 미생물과의 경쟁에서 밀려나게 된다(14). 이러한 현상이 뿌리권에서 일반적으로 일어날 것으로 짐작된다.

철분을 매개로 한 미생물과 식물간의 관계에 대한 지식은 현재로서 매우 제한되어 있다. 그러나 머지 않은 장래에 siderophore를 미생물 농약으로서 식물의 성장 촉진에, 병원균의 퇴치에 광범위하게 이용하게 될 것이다. 이를 위하여 미생물과 식물간의 상호작용, 식물 병원성(phytopathogenicity)에 관한 siderophore의 역할, 식물 뿌리의 철분 흡수 기작 등의 연구들이 더욱 진행되어야 할 것이다.

REFERENCES

1. Akers, H.A. 1983. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**: 1704-1706.
2. Akers, H.A., Magee, K.P. 1985. *Experientia* **41**: 522-523.
3. Bagg, A., Neilands, J.B. 1987a. *Microbiol. Rev.* **51**: 509-518.
4. Bagg, A., Neilands, J.B. 1987b. *Biochemistry* **26**: 5471-5477.
5. Bienfait, H.F. 1985. *J. Bioenerg. Biomembr.* **17**: 73-83.
6. Buyer, J.S., Leong, J. 1986. *J. Biol. Chem.* **261**: 791-794.
7. Castignetti, D., Smarrelli, J. 1984. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **125**: 52-58.
8. Crosa, J.H. 1984. *Ann. Rev. Microbiol.* **38**: 69-89.
9. Enard, C., Dioloz, A., Expert, D. 1988. *J. Bacteriol.* **170**: 2419-2426.
10. Ernst, J.F., Bennett, R.L., Rothfield, L.I. 1978. *J. Bacteriol.* **135**: 928-934.
11. Finkelstein, R.A., Sciortino, C.V., McIntosh, M.A. 1983. *Rev. Infect. Dis.* **5**: S759-S777.
12. Flitter, R.W., Rowley, D.A., Halliwell, B. 1983. *FEBS Lettr.* **158**: 310-312.
13. Hantke, K. 1981. *Mol. Gen. Genet.* **182**: 288-292.
14. Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M.N. 1980. *Nature* **286**: 885-886.

15. Lorenzo, V. de, Wee, S., Herrero, M., Neilands, J.B. 1987. *J. Bacteriol.* **169**: 2624-2630.
16. Neilands, J.B. 1981. *Ann. Rev. Biochem.* **50**: 715-731.
17. Neilands, J.B. 1982. *Ann. Rev. Microbiol.* **36**: 285-309.
18. Neilands, J.B., Bindereif, A., Montgomeri, J.Z. 1985. *Curr. Topics Microbiol. Immun.* **118**: 179-195.
19. Neiland, J.B., Leong, S.A. 1986. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **37**: 187-208.
20. Neilands, J.B., Valenta, J.R. 1985. In *Metal ions in biological systems*. H. Sigel(ed.) pp. 313-333.
21. Orlando, J.A., Neilands, J.B. 1982. In *Chemistry and Biology of Hydroxamic Acids*. H. Kehl(ed.) pp.123-129.
22. Reid, C.P.P., Crowley, D.E., Kim, H.J., Powell, P.E., Szaniszlo, P.J. 1984. *J. Plant Nutr.* **7**: 437-447.
23. Romheld, V., Marschner, H. 1986. *Plant Physiol.* **80**: 175-180.
24. Wee, S., Neilands, J.B., Bittner, M.L., Hemming, B.C., Seethram, R. 1988. *Biol. Metals* **1**: 62-68.

(12 page에서 계속)

시료에서 발견된 미생물의 다양성과 풍부성에는 계산되지 않았다. 더우기 침전물의 proe water 분석은 시굴진흙에는 농축된 화학물질이 없었으므로 미생물학적 activity와 풍부성은 시굴시의 오염에 의한 결과로는 볼 수 없다.

장내세균의 출현은 지하 225m의 중간깊이에서 나타났으나 지표근처나 더 깊은 지층에서는 볼 수 없었다. 이 결과는 이들 세균의 기원이 낮은 지하 지층일 수 있다는 것을 시사하고 있다. 지하수의 경우는 각각의 시료가 신선한 것인지 오래된 것인지를 결정하기 위해 검토되고 있는데, 이러한 정보들은 이들 침전물의 미생물이 지표로부터 비교적 짧은 시간에 옮겨진 것인지 아니면 장대한 기간 동안 그곳에 머물러 있는 것인지를 밝혀내는데 도움이 될 것이다.

이상의 원초적인 발견의 의미는 지하수 오염의 감소에 관련시켜 토의되고 있으며, SRL의 Corey

에 의하면 향후 50년간 대략 1,000억 US\$의 지하수의 개발계획에 쓰여질 것이라고 한다. 만일 이상과 같은 연구노력이 지하수오염의 단지 1%만이라도 감소한다면, US\$ 10억을 절약할 수 있을 것이라고 그는 평가한다. 이상과 같은 정보의 잠재적인 응용은 오염작용에 대한 생물학적 벽을 창조하고, 또한 병원세균에 의한 대수층의 오염으로부터 파생되는 보건문제를 해결하는데 있어서 최적의 방법의 하나인, 자생의 미생물 자극에 의한, 생물학적 개발계획으로 인정될 것이다. 심층지하에 보관하기 위하여 설치한 폐기물 창고의 생물학적 부식의 방지 및 생물공학에 응용할 수 있는 새로운 미생물 자원의 개발에 있어서 이러한 기초적 발견은 많은 새로운 문제점도 제기하고 있는데, 이것들은 Savannat River에서 올해에 보다더 심층에서의 연구가 이루어지면 쉽게 해결될 수도 있을 것이다.