

세균의 적정밀도 인식을 통한 신호전달 및 신호전달 차단 연구

박순양¹ · 이정기*

한국생명공학연구원 미생물유전체연구실, ¹인바이오넷 부설연구소

Bacterial Quorum Sensing and Anti-Quorum Sensing. Park, Sun-Yang¹ and Jung-Kee Lee*. Lab. of Microbial Genomics, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-806, Korea, ¹R&D Center, INBIONET Corporation, Daejeon 305-390, Korea – Many bacteria monitor their population density and control the expression of specialized gene sets in response to bacterial cell density based on a mechanism referred to as quorum sensing. In all cases, quorum sensing involves the production and detection of extracellular signaling molecules, autoinducers, as which Gram-negative and Gram-positive bacteria use most prevalently acylated homoserine lactones and processed oligo-peptides, respectively. Through quorum-sensing communication circuits, bacteria regulate a diverse array of physiological functions, including virulence, symbiosis, competence, conjugation, antibiotic production, motility, sporulation, and biofilm formation. Many pathogens have evolved quorum-sensing mechanisms to mount population-density-dependent attacks to overwhelm the defense responses of plants, animals, and humans. Since these AHL-mediated signaling mechanisms are widespread and highly conserved in many pathogenic bacteria, the disruption of quorum-sensing system might be an attractive target for novel anti-infective therapy. To control AHL-mediated pathogenicity, several promising strategies to disrupt bacterial quorum sensing have been reported, and several chemicals and enzymes have been also investigated for years. These studies indicate that anti-quorum sensing strategies could be developed as possible alternatives of antibiotics.

Key words: Quorum sensing, autoinducer, pathogen, antibiotics, signaling

세균은 일정 세포농도에 도달했을 때 자신이 생산하는 화학적 언어를 이용한 세포간의 신호전달을 통해 특정 유전자의 발현을 조절한다. 이와 같이 유전자의 발현이 세포 밀도에 의존하는 적정밀도 인식(quorum sensing; QS) 기작은 그람 음성 및 양성세균들에 널리 존재한다[18, 47]. Quorum sensing의 주된 신호물질로 그람 음성세균은 *N*-acyl-homoserine lactone(AHL) 계열의 화합물을 생산하는데, AHL 이외에도 quinolone계 항생제와 유사한 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone, cyclic dipeptides와 휘발성 3-hydroxy palmitic acid-methyl ether의 신호물질이 그람 음성세균인 *Pseudomonas aeruginosa*[23, 41]와 *Ralstonia solanacearum* [14]에서 각각 보고되어 있다(Fig. 1). 그람 양성세균은 신호물질로 올리고펩타이드를 주로 사용하며, 또 다른 종류의 신호물질로 두 종류의 세균에 공통적으로 존재하여 'universal signal'로서 알려진 autoinducer-2(AI-2)가 있다(Fig. 1). 이들 QS 중 AHL을 이용한 QS 기작이 가장 널리 알려져 있으며, 많은 그람 음성세균에서 보고되어 있다. AHL 합성단백질(AHL synthase)에 의해 합성된 신호물질은 세균의 성장 중에 세포막을 통한 자유로운 확산을 통하여 세포 밖의

환경에 축적 된다. 세균의 밀도가 높아져 세포 외부의 축적된 신호물질이 일정 농도에 도달하면 세포 내로 들어와 조절 단백질(transcriptional regulator)과 결합하여 특정 유전자의 발현을 촉진 혹은 억제한다. 세균들은 이러한 QS를 통하여 발병력(virulence)[9] 뿐만 아니라 생체발광(bioluminescence) [20, 39], 생물막(biofilm) 형성[8], DNA 수용능(competence) [32], 항생제 생산[2] 및 접합에 의한 Ti plasmid의 전달[17] 등과 같은 다양한 생리 현상을 조절한다.

동식물 병원성 세균에 있어 QS과 같은 신호전달 기작은 세균 자신이 숙주의 방어체계를 피하면서 효과적으로 숙주를 공격하여 감염에 성공하기 위한 전략으로 사용된다. 만일 병원성 세균의 개체수가 숙주를 공격하여 병을 일으키기에 충분치 못한 밀도에서 세균들이 발병력 요소(virulence factor)들을 생산한다면, 불필요한 에너지의 낭비를 초래할 뿐만 아니라 숙주의 면역기작을 유발하여 오히려 숙주에게 압도당하게 될 것이다. 따라서 세균들은 효과적인 숙주 감염을 위해서 일정농도의 개체수에 도달해서 병원성을 나타내기에 충분한 세균밀도가 되었을 경우에만 감염에 필요한 다양한 발병력 요소 유전자의 발현을 촉진하여 모든 세포가 동시에 숙주를 공격하도록 유도하는 QS 전략을 발전시켜 왔다 [7]. 대표적인 예로서 섬유성낭포증(cystic fibrosis) 환자의 호흡기 감염에 대한 원인균인 *P. aeruginosa* 및 *Burkholderia cepacia*와 포유류에 대한 기회적 병원균인 *Serratia*

*Corresponding author

Tel: +82-42-860-4379 Fax: +82-42-879-8595

E-mail: jklee@kribb.re.kr

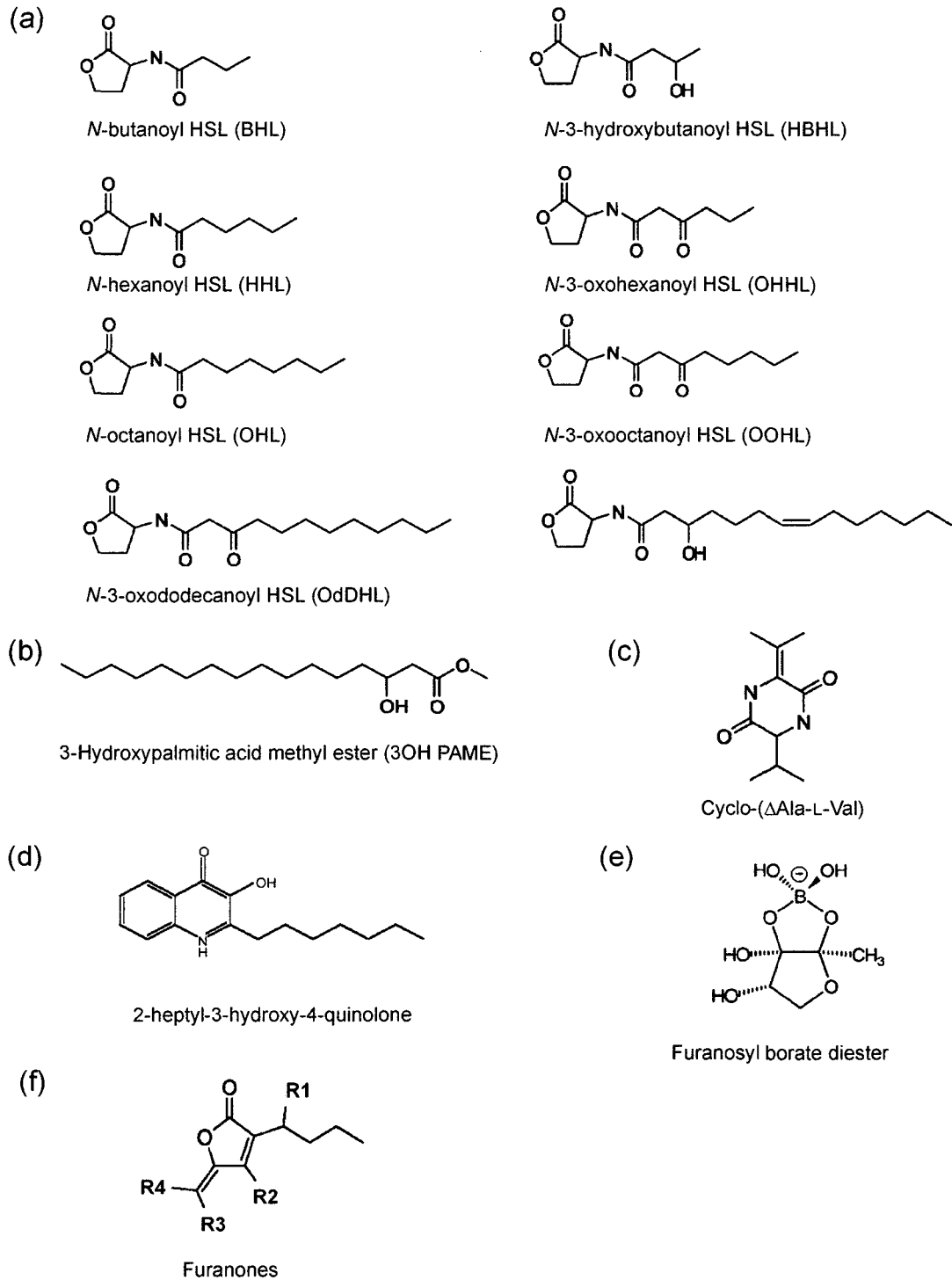


Fig. 1. The quorum-sensing signal molecules and the halogenated furanone antagonists. (a): common bacterial acyl homoserine lactones (AHLs); (b): signal molecule of *R. solanacearum*; (c): diketopiperazine produced by *P. aeruginosa*; (d): 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone; (e): AI-2 of *V. harveyi*; (f): halogenated furanones produced by *Delisea pulchra* (R1 may be H, OAc or OH; R2, Br or H; R3, Br or H and R4, Br or I).

liquefacience, 어병균인 *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, 식물 병원균인 *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium tumefaciens* 등이 QS를 통해 여러 종류의 발병력 요소의 생

산을 조절하여 다양한 숙주에서 세균병을 일으키는 것으로 알려져 있다[9].

Quorum sensing은 병원성 세균에서 발병력과 밀접하게 관

련되어 있기 때문에 QS 신호전달의 차단(anti-quorum sensing; Anti-QS)을 통한 QS의 교란은 새로운 항생제 개발의 실마리가 될 수 있을 것이다. QS는 신호 발생, 신호 인식, 신호 전달과 같은 주된 구성요소로 이루어져 있으며, 이들 구성요소들은 항생제 개발을 위한 새로운 표적으로 떠오르고 있다. 또한 비교적 많은 병원성 세균에서 QS가 보고되어 있기 때문에 항생제 개발을 위한 Anti-QS 전략은 그 적용 범위가 넓다. 따라서 최근 일부 제약회사를 비롯한 많은 연구자들이 QS를 대상으로 하는 새로운 항균표적 연구와 다양한 Anti-QS 연구를 통해 병발 신호전달체계를 차단하고자 하는 새로운 항감염제(anti-infective agent) 개발 연구를 수행 중이다[57]. 본 총설에서는 특히 AHL 관련 QS 연구와 AHL 신호물질 분해효소와 관련한 Anti-QS에 관한 연구에 관해 중점적으로 기술하고자 한다.

세균의 적정밀도 인식 : Quorum sensing

신호물질

현재까지 가장 많은 연구가 이루어진 Autoinducer-1(AI-1)은 *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Serratia*, *Erwinia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Chromobacterium*, *Rhizobium* 속 등 약 70종류 이상의 그람음성세균에서 분비되는 것으로 알려져 있으며[52], 비교적 균주 특이적이다. AI-1은 LuxI 군(LuxI family)의 AHL 합성단백질에 의해 생성되는 AHL 계열의 화합물이며, 공통적 구조인 homoserine lactone에 다양한 길이, 산화도 및 포화도를 가진 acyl chain으로 이루어져 있다(Fig. 1a). AHL 이외의 새로운 QS 신호물질로서 *Pseudomonas* quinolone signal(PQS)인 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone이 *P. aeruginosa*에서 확인되었으나(Fig. 1d), PQS 합성 단백질과 기질은 아직까지 밝혀져 있지 않다[41]. 또한 cyclo(Δ Ala-L-Val)과 cyclo(Δ Pro-L-Tyr)와 같은 cyclic dipeptides(diketopiperazines)가 *P. aeruginosa*를 비롯한 다른 많은 그람음성세균에서 보고되었다(Fig. 1c). 이러한 물질들의 기원과 생리적 기능은 밝혀져 있지 않으나, 그들은 동일한 조절단백질 결합부위에 다른 AHL과 경쟁함으로써 유전자의 발현을 활성화하거나 억제하는 기능을 할 수 있다[23]. 그람양성세균의 경우 QS을 위한 신호물질은 펩타이드로서 이원소 신호전달 시스템(two-component signal transduction system)과 유사한 방법으로 외부 환경변화의 신호를 전달한다. 세포 외로 분비된 펩타이드는 특정한 센서단백질(sensor protein)에 대한 신호로 작용하여 인산화 과정을 통하여 반응조절인자(response regulator)를 활성화 시키고, 활성화된 반응조절인자는 특정 유전자의 프로모터에 결합하여 유전자의 발현을 조절한다[27].

광범위한 신호물질(universal signal)로 알려진 autoinducer-2(AI-2)는 해양미생물인 *V. harveyi*와 이와 유사한 *V.*

*parahaemolyticus*에서 처음으로 밝혀졌으며, 이들 균주들은 또한 AI-1도 생산한다[3]. 신호물질 AI-2는 유전자 *luxS*에 의해 생산되며, 최근에서야 furanosyl borate diester 구조로 밝혀졌다[5](Fig. 1e). *luxS* 유전자는 *E. coli* 뿐만 아니라 *Salmonella typhimurium*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Neisseria meningitidis*, *Yersinia pestis*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus anthracis* 등 다양한 세균에 존재하며, *V. harveyi*에서의 발광현상뿐만 아니라 병원성, 운동성, 생물막 형성 등에 필요한 유전자의 발현에 영향을 준다[37]. AI-2는 그람양성과 음성세균에서 모두 존재하기 때문에 세균의 global한 신호물질로서 서로 다른 세균들간 신호전달에 관여 할 것으로 추정하고 있으나, AI-2의 기능에 대해서는 아직 많은 논란이 있으며 확실히 밝혀져 있지 않다[5]. 따라서 다양한 세균에서 AI-2의 역할을 규명하기 위한 연구가 지속되고 있고[52], AI-2를 표적으로 하는 새로운 개념의 항생제 개발도 시도되고 있다(www.quorex.com).

AHL 합성 및 조절단백질

QS 기작을 통한 유전자 발현조절 현상은 해양미생물인 *V. fischeri*와 *V. harveyi*의 생체발광 현상으로부터 처음 밝혀졌다. AHL 합성단백질인 LuxI에 의해 합성된 N-3-oxohexanoyl-L-homoserine lactone(OHHL)이 축적되어 일정한 농도에 이르면 확산으로 다시 세포내로 들어와서 조절단백질인 LuxR과 결합한 후 *lux operon*의 promoter에 존재하는 20-bp의 *lux box*에 결합한다. 이러한 결합으로 *lux* 유전자(*luxCDABEG*)의 전사가 활성화되어, *V. fischeri*는 물고기의 발광기관에서 빛을 생성한다[20, 39].

LuxI homologue 단백질들은 대개 200여개의 아미노산으로 이루어져 있으며, 유사한 신호물질을 합성함에도 불구하고 단백질간의 유사성이 약 20-30%로 상당히 낮은 특징을 가지고 있다[56]. 그러나 아미노산 서열 비교 결과 열개의 아미노산 부위가 잘 보존되어 있으며, 돌연변이 유발 실험을 통하여 그 중 7개의 아미노산이 기능에 필수적인 것으로 보고하였다[18]. 최근 *Pantoea stewartii*의 AHL 합성단백질인 EsaI 단백질 결정구조가 최초로 밝혀졌다. EsaI 단백질 구조로부터 binding pocket의 길이가 acyl chain 길이의 특이성을 결정하고, threonine의 OH기가 3-oxo의 신호도를 결정하는 것으로 예측하고 있으나 아직까지 acyl chain 길이의 결정과 활성부위에 관여하는 아미노산들이 확실히 밝혀져 있지 않다[55]. 한편, 이러한 LuxI 군 이외에 최근 다른 종류의 AHL 합성단백질이 보고되었다. AHL 합성단백질의 두번째 군인 LuxM은 *Vibrio* spp.에서 확인되었으며, *V. harveyi*로부터 LuxM은 3-hydroxy-butanoyl-L-homoserine

lactone을, *V. fischeri*로부터 AinS은 *N*-octanoyl-L-homoserine lactone을 각각 합성한다(Fig. 1)[3, 19]. LuxM은 LuxI 부류의 AHL 합성단백질과 아미노산 서열에서 유사성이 낮음에도 불구하고 동일한 기질을 사용하여 AHL을 생합성하는 것으로 추측되었다[19]. 또한 LuxI 및 LuxM 군과 유사성은 없지만 AHL 계열의 신호물질을 생성하는 새로운 군의 AHL 합성단백질인 HdtS가 *P. fluorescens*로부터 최근에 밝혀졌다[28].

신호물질과 LuxR과의 결합의 특이성은 자신이 생성한 신호물질과 다른 세균이 생성하는 신호물질을 구분하는데 있어 결정적이다. 세포내에 존재하는 AHL 수용체인 LuxR은 N-말단에 AHL 결합부위가 있고, C-말단에 helix-turn-helix DNA-binding motif가 위치하고 있다[6, 49]. LuxR에 AHL이 결합하게 되면 LuxR의 구조적 변화를 통한 이량체(dimer) 형성을 유발하여 DNA에 용이하게 결합하도록 하며[56], 현재까지 약 70종 이상의 LuxIR이 알려져 있다[52].

많은 경우 한 세균에서는 한가지의 신호전달체계로 유전자의 발현 조절이 이루어지지만 두가지 이상 다중-QS(multi-QS) 기작을 동시에 가진 세균들도 존재한다. *P. aeruginosa* 경우 신호물질로서 *N*-3-oxododecanoyl-L-homoserine lactone(OdDHL)과 *N*-butanoyl-L-homoserine lactone(BHL)을 생산하는 2종류의 QS 체계를 가지고 있으며, OdDHL로 이루어지는 QS를 통해 BHL에 의한 QS를 조절한다[56]. 다중-QS 기작은 *V. harvey*에서도 존재하는데, *P. aeruginosa*와 달리 두 종류의 기작이 병렬적으로 작용하여 대상 유전자의 전사를 조절하며, 그 QS 기작은 일반적인 그람음성세균과 다르다. *V. harvey*는 서로 다른 두 종류의 AI 합성 단백질 LuxM과 LuxS에 의해 AI-1 신호물질인 3-hydroxy BHL과 AI-2 신호물질인 furanosyl borate diester을 합성한다[5, 50]. 다른 그람음성세균들은 AHL 신호물질이 LuxR 형태의 단백질에 의해 인식되는 반면 *V. harvey*의 경우 이원소 조절 시스템(two-component regulatory system)의 센서인산화효소(sensor kinase)가 두 종류의 신호물질을 인식한다. AI-1과 AI-2에 의한 신호전달은 센서인산화효소인 LuxN과 LuxQ로부터 각각 시작되며, AI-2는 periplasmic binding protein인 LuxP와 먼저 결합한 후 LuxQ에 신호를 전달한다[3]. LuxN과 LuxP로부터의 서로 다른 두 종류 신호가 LuxU에 모여져서 반응조절인자(response regulator)인 LuxO의 인산화를 통하여 생체발광에 관계하는 유전자들을 포함한 대상 유전자들의 전사를 조절한다[15, 16].

Quorum sensing과 세균병

QS는 인간을 비롯한 다양한 숙주에 대한 세균병의 조절에 관여한다. 특히 섬유성낭포증 환자에서 호흡기 감염의 원인 세균인 *P. aeruginosa* 경우 가장 많은 연구가 이루어져 있으며, 병원성과 관계되는 많은 유전자들(elastase, proteases, rhamnolipids, lectin, hydrogen cyanide, catalase, exotoxin

A, biofilm, siderophore)의 발현이 AHL을 이용한 QS를 통해 조절된다[58]. LuxIR homologue에 속하는 두 종류의 LasIR과 RhlIR은 OdDHL과 BHL의 신호물질을 각각 합성하여 *P. aeruginosa*의 감염과정 중 다양한 상태에 따라 병원성 인자들의 순차적인 유전자 발현을 유도한다. 또한 대표적인 식물병원균인 *Erwinia*와 *Pseudomonas* 역시 기회적 감염균으로서 세균의 밀도가 숙주와 세균 사이의 반응에 급격히 영향을 미친다. *E. carotovora*는 CarI/ExpI로부터 OHHL를 생성하여 pectinase, polygalacturonase 및 cellulase 등 여러 종류의 세포외 효소의 발현을 유도하여 감자를 비롯한 많은 농작물들의 무름병(soft rot)을 일으키는 요인으로 알려져 있다[25]. 특정 *E. carotovora* 종의 경우에는 두 종류의 LuxR homologue(ExpR과 CarR)을 통해 exoenzyme의 생산뿐만 아니라 carbapenem과 같은 항생제의 생산도 조절한다[1, 36]. 어류 세균병의 경우에는, 주요한 병원성 요인으로 toxin, α -hemolysin과 metalloprotease, serine protease, lipase 등과 같은 다양한 효소들이 알려져 있으며, 이들의 발현은 모두 세포의 성장 상태와 밀도에 의해 조절되므로 QS의 기작으로 추정할 수 있다. 실제로 국내 양식장에서 분리한 *Edwardsiella* 속, *Vibrio* 속을 포함한 다양한 어병세균들로부터 AHL 신호물질을 확인하였고, LuxIR homologue를 cloning 한 바 있다[26]. 그러나 이러한 신호물질이 어병과 직접적으로 관련이 있는지에 대해서는 좀더 연구가 진행되어야 할 것이다. 또 다른 어류 병원성 세균인 *A. hydrophila*는 BHL과 AhyIR을 통해, *V. anguillarum*는 *N*-3-oxododecanoyl-L-homoserine lactone(ODHL)과 VanIR을 통해 serine protease의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다[38, 51]. 이밖에도 냉동 및 냉장 식품이나 기타 식품 중의 세균들은 병원성을 나타내지 않고 존재하다가 외부의 어떤 환경 변화에 의해 신호물질을 생산하여 축적하게 되면 발병력 인자를 생산하는 병원성 미생물로 변할 수 있는 가능성이 상존하고 있다. 실제로 이러한 시료중의 신호물질을 조사함으로써 시료중에 존재하는 세균을 검출하고 또한 세균의 양을 정량할 수 있는 가능성도 보고되었다[42].

Quorum sensing에 의한 생물막 형성 조절

병원성 세균의 발병에 관여하는 많은 발병력 요소 가운데 하나인 생물막(biofilm)의 형성도 QS에 의해 조절되는데, 모든 세균 감염의 65%가 이러한 생물막과 관련되어 있다. 생물막의 형성을 위해 먼저 소수의 세균이 적당한 표면에 정착하여 군락을 이룬 후 충분한 세균 수에 이르게 되면 QS의 신호물질에 의해 특정한 유전자가 발현되어 점액성을 띤 고분자 다당류의 구조화된 생물막을 형성하게 된다. 이러한 생물막은 작은 통로로 잘 조직화되어 있어, 이를 통해 세균의 성장을 위한 영양분과 산소가 공급되지만, 병원균에 의한 생물막 형성은 약물의 투과뿐만 아니라 면역계의 접근을 저해하여 세균병의 치료를 어렵게 한다. 따라서 어떤 항생

제가 특정 병원균에 대해 효과적임에도 불구하고, 생물막을 효과적으로 투과하지 못하기 때문에 항생제 내성의 문제를 일으키는 주요한 원인 중의 하나로 생각되고 있다. *P. aeruginosa* 경우 역시 섬유성낭포증 환자의 폐에서 생물막을 형성하고 있기 때문에 생물막 형성 억제제가 새로운 치료제 개발을 위한 좋은 표적이 될 수 있음을 시사하고 있다[59].

Quorum sensing 신호전달 차단 : Anti-quorum sensing

Anti-quorum sensing를 이용한 신개념 항생제 개발

기초적인 연구에 머물러 오던 QS에 관한 연구가 최근 새로운 개념의 항생제를 개발하기 위한 표적으로 부상하면서, Anti-quorum sensing(Anti-QS)을 위한 전략 및 관련 표적들의 발굴 등 세균병 억제를 위한 새로운 접근방법이 시도되고 있다. QS의 신호전달을 교란하기 위한 Anti-QS 전략은 Table 1에 정리한 바와 같이 QS의 신호물질 발생, 신호 인식과 신호전달에 관여하는 주된 구성 요소들이 표적이 될 수 있다. Anti-QS 전략을 통한 새로운 항생제 발굴 연구는 다음과 같은 장점이 있다. 첫째, 기존의 항생제 작용점과는 전적으로 다른 새로운 개념의 작용점이기 때문에 새로운 항생제의 발굴 가능성이 높다. 둘째, 지금까지 보고된 바에 따르면 AHL과 관련된 QS은 진핵세포에는 존재하지 않고 세균에만 독특하게 존재하는 기작이므로 안정성을 기대할 수 있다. 마지막으로, 대부분의 항생제가 병원성 세균의 생존에 필수적인 요소를 표적으로 하고 있으며, 이에 대응하는 세균들은 생존을 위한 돌연변이를 일으키기 때문에 궁극적으로 항생제 내성 돌연변이주의 출현을 피할 수 없다. 그러나 QS 신호전달 차단제는 병원성 세균의 생존에는 크게 영향을 미치지 않고 신호전달 체계가 대상 표적이기 때문에 항생제 내성 균주 출현의 가능성을 상당히 감소시킬 수 있다.

신호전달 교란을 위한 AHL 길항제

AHL 신호물질은 LuxR 형태의 조절단백질과 결합하여 유전자의 발현을 조절한다. 따라서 AHL과 구조적으로 유사하여 조절단백질의 결합부위에 대해 경쟁적으로 결합할 수 있

는 AHL 길항제(antagonist) 개발은 Anti-QS 전략의 하나가 될 수 있다. AHL 길항제는 AHL을 대신하여 세균의 LuxR 형태의 조절단백질과 결합하여 조절단백질의 안정성과 이량체 형성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다[34, 45]. 대표적인 예로 조류의 일종인 *Delisea pulchra*가 생산하는 대사산물인 halogenated furanone(Fig. 1f) AHL을 통해 조절되는 유전자 발현을 저해하여 주위의 병원성 세균에 의한 침입으로부터 자체를 보호할 뿐만 아니라, *E. carotovora*와 *V. harvey*에서 AHL에 의한 병원성 유발을 억제하였다[33, 35]. AHL은 LuxR 형태의 조절단백질과 안정한 결합체를 이루어 조절단백질이 쉽게 분해되지 않도록 보호하는 반면 halogenated furanone은 오히려 조절단백질의 분해를 촉진하는 것으로 알려져 있다[34]. 이러한 연구를 바탕으로 최근에는 furanone 유도체를 합성하였고, 이중 furanone C-30이라 명명된 화합물은 *P. aeruginosa*에서 발병력 인자의 생성을 감소시켰으며, 생물막 형성에도 영향을 미쳐 SDS와 tobramycin에 대한 감수성을 높였다. 또한 microarray 기술을 사용하여 furanone C-30의 표적 유전자들을 분석한 결과 전체 5570개의 유전자들 중 1.7%인 93개 유전자들의 전사가 furanone C-30에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다[21].

Holden 등은 *P. aeruginosa* 배양 상등액으로부터 AHL biosensor를 활성화할 수 있는 두 종의 화합물을 밝혀내었다. 분석결과 이들 화합물은 AHL이 아니라 diketopiperazine(DKP)인 cyclo(Δ Ala-L-Val)과 cyclo(Δ Pro-L-Tyr) 물질들로서(Fig. 1c), 동일한 조절단백질 결합부위에 대하여 다른 AHL과 경쟁하여 유전자의 발현을 활성화하거나 억제하였다. 이러한 화합물들의 기능은 아직 확실히 밝혀져 있지 않으나 세균들의 신호전달 기작들 사이에 cross talk의 가능성 뿐만 아니라 Anti-QS를 위한 길항제의 개발 가능성을 보여 준다[56].

이와 같이 AHL 길항제의 개발은 세균의 감염을 제어하기 위한 새로운 치료제로서의 가능성을 제시하고 있다. 일부의 조류가 AHL 길항제인 furanone을 생산한다는 사실로부터 다른 종류의 고등식물이나 동물이 병원성 세균에 대한 방어 기작으로서 세균의 신호전달을 방해하는 물질을 생산할 수 있으리라 추정할 수 있으며, 이것은 앞으로 새로운 항

Table 1. Potential targets and strategies for anti-quorum sensing.

Level of disruption	Target	Strategy
AHL signal generation	AHL synthase	Direct inhibitors of AHL synthases
	Synthesis of fatty acyl-acyl carrier protein (acyl-ACP)	Inhibitors of fatty acyl-ACP charging
AHL signal reception	Signal molecule	Signal turnover by AHL-degrading enzymes
	Signal molecule	Signal sequestration by antibodies of AHL
	Signal molecule	Signal competition by AHL antagonists
	Receptor (regulator)	Inhibitors of regulator proteins

생체 탐색에 중요한 전략이 될 수 있다.

AHL 합성 단계의 저해

AHL 합성에 대한 유전적 분석을 통해 AHL 합성단백질이 아미노산 생합성 과정의 S-adenosylmethionine(SAM)과 지방산 생합성 과정의 acyl-acyl carrier protein(acyl-ACP)의 결합을 촉매 하여 AHL 신호물질을 합성하는 것으로 알려져 있다. 이때 SAM은 homoserine lactone 부분을 제공하고 acyl-ACP가 다양한 acyl chain의 주요 공급원으로 사용된다 [48]. AHL 합성경로는 세균에만 존재하기 때문에 AHL 생합성을 위한 최종효소인 LuxI homologue 들은 Anti-QS을 위한 주요 표적이 될 수 있다. 최근에 식물 병원성 세균인 *P. stewartii*로부터 AHL 합성단백질인 EsaI 단백질의 결정구조가 보고되었다. EsaI은 진핵세포의 N-acetyltransferase와 구조적으로 유사하며 많은 필수적인 아미노산 잔기들이 활성 부위에 존재하고 있음을 알았지만, 아직까지 acyl chain 길이의 결정과 활성부위에 관여하는 아미노산들이 확실히 밝혀져 있지 않다[55]. 그러나 앞으로 이러한 구조 규명연구를 통해 AHL 합성을 저해하는 저해제(inhibitor)의 디자인이 가능할 것이다. AHL 합성을 위한 acyl side chain을 공급하는 지방산 대사의 차단은 Anti-QS을 위한 또 다른 표적이 될 수 있다. Hoang과 Schweizer는 FabI(enoyl-ACP reductase)이 *in vitro*에서 AHL 합성을 위한 기질 공급에 주된 역할을 하는 것으로 보고하였다. *P. aeruginosa*의 *fabI* 변이주는 야생주보다 50% 정도 적은 양의 BHL과 OdDHL을 생산하였고, 실제로 enoyl-ACP reductase의 저해제인 triclosan은 AHL 합성을 감소 시켰다[22]. 따라서 FabI을 저해하기 위해 디자인된 저해제들은 QS의 신호물질 합성 단계를 차단

함으로서 세균의 발병력을 약화시킬 수 있을 것이다.

AHL 신호물질의 효소적 분해를 통한 불활성화

QS 기작은 신호물질인 AHL의 분해를 통해 효과적으로 교란 될 수 있다. AHL은 pH 8.0 이상의 약알칼리조건 하에서 쉽게 가수 분해되지만, 약산성 조건(pH 5.0-6.0) 하에서는 비교적 안정한 것으로 알려져 있다[29]. 최근 AHL을 불활성화시키는 효소 발굴을 위해 일차적으로 AHL 분해 균주들을 토양으로부터 분리한 경우가 있고, 이들 중 일부 균주들로부터 AHL 분해효소 유전자를 분리 확인하였다. AHL은 Fig. 2에서와 같이 AHL의 lactone ring의 ester 결합을 분해하는 AHL lactonase(AHLase)와 AHL의 lactone ring과 acyl side chain 사이의 amide 결합을 분해하는 AHL acylase에 의해 신호물질로서의 기능이 없어진 물질로 분해 될 수 있다.

Dong 등은 *Bacillus* 속으로부터 AHL를 분해하는 AHLase를 암호화하는 유전자 *aiiA*(autoinducer inactivation)를 최초로 확인하였다. Database 분석결과 AiiA는 기존에 알려진 단백질들과 거의 유사성이 없었으나, metallohydrolase 군에 속하는 zinc-binding motif가 존재하였다[12]. 이후 Lee 등은 *Bacillus thuringiensis*를 포함한 *B. cereus*군의 *Bacillus* 속으로부터 86-98% 정도의 유사성을 가지고 있는 AiiA homologue들을 보고하였다[10, 30]. 흥미롭게도 신호물질 AHL을 통해 Ti plasmid의 전달을 조절하는 *A. tumefaciens*로부터 두 종류의 AHLases인 AttM과 AiiB가 확인 되었다 [4, 60]. AttM은 균의 성장시기에 따라 AHL 신호물질의 turnover를 조절하며, Ti plasmid에 존재하는 *aiiB*는 다른 세균으로 *aiiB* 유전자를 전파하는 기능을 할 것으로 추정하고

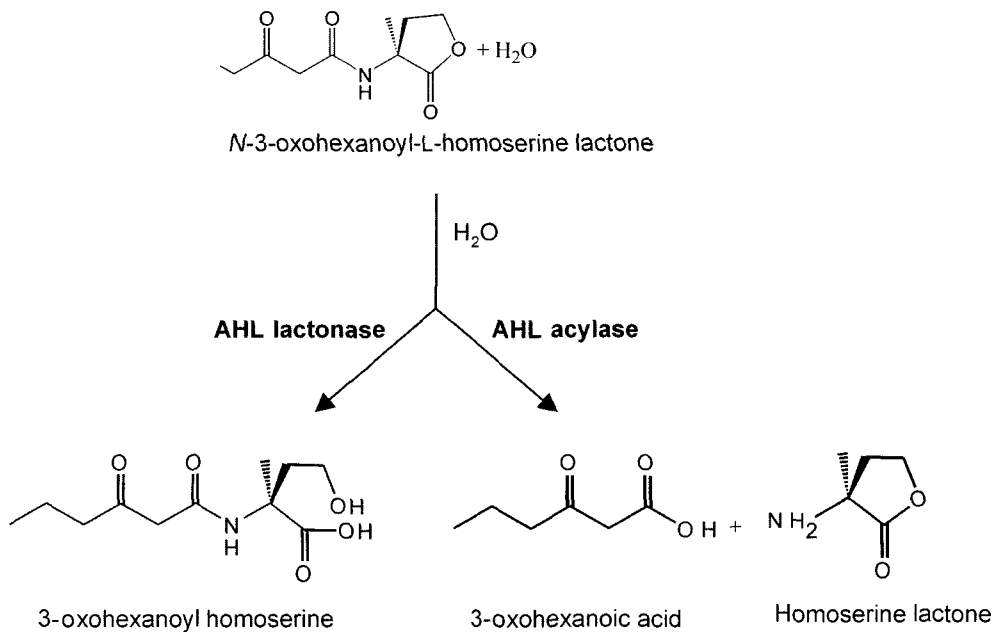


Fig. 2. Mechanism of AHL degradation by AHL lactonase and AHL acylase.

있다. 이러한 AHLase를 생성하는 세균들과는 달리 Park 등은 AHL을 유일한 탄소원과 질소원으로 이용할 수 있는 *Arthrobacter* sp.로부터 새로운 AHLase를 암호화하는 *ahlD* (acylhomoserine lactone degradation) 유전자를 분리하여 보고하였다[40]. AHLase 단백질인 AiiA, AiiB, AttM, AhID는 서로간의 아미노산 서열에서 약 25% 미만의 낮은 상동성을 나타냈으나, 모든 AHLase들에서 HXDH≈H≈D motif가 잘 보존되어 있었다. 이 motif를 토대로 하여 genome database에서 유사한 단백질을 탐색한 결과 *Klebsiella pneumoniae*와 *Bacillus stearothermophilus* 등을 포함한 다양한 균주들로부터 AhID와 유사한 단백질이 기능이 알려져 있지 않은 상태로 존재하고 있음을 확인할 수 있었고, 실제로 *K. pneumoniae*로부터 AhID 유사체인 AhIK를 분리하여 활성을 측정된 결과 다양한 종류의 AHL을 분해하였다[40]. 따라서 지금까지 보고된 250-283개의 아미노산으로 구성되어 있는 AHLase 단백질들은 zinc-binding motif(HXHXDH)를 가지고 있는 metallohydrolase family에 속하면서 AHLase 활성을 위해 필수적인 부위로 HXDH≈H≈D motif를 가지고 있고, 다양한 세균에 널리 분포되어 있을 것으로 생각한다[10, 12, 40].

Anti-QS 전략의 하나로서 AHLase의 이용 가능성은 다양한 병원성 세균들을 대상으로 행한 실험에서 입증되었다. *E. carotovora*와 *P. aeruginosa* 균주에 *aiiA* 유전자를 발현시킨 경우, 두 병원성 균주들의 발병력 요소인 pectolytic 효소 활성과 elastase, cyanide 및 pyocyanin 등의 활성이 각각 감소되었다[12, 44]. *Arthrobacter*를 이용한 *E. carotovora*와의 coculture 실험 역시 *E. carotovora* 균주의 OHHL을 효과적으로 분해하여 pectate lyase 활성을 감소시켜 quorum quencher로서 *Arthrobacter*의 활용 가능성을 보여주었다[40]. 또한 *aiiA*를 도입한 유전자전환 식물(transgenic plant)들은 *E. carotovora*의 감염에 대해 강한 저항성을 보였기 때문에 AHL 분해를 이용한 Anti-QS 전략은 병발 억제에 있어 상당히 효과적이었다[11]. 특히 살충성 toxin을 생산하여 상업적 생물농약 균주로서 세계적으로 널리 사용되고 있는 *B. thuringiensis*의 경우, 16종의 서로 다른 serotype의 다양한 *B. thuringiensis* 균주들에 *aiiA* homologue 유전자가 광범위하게 분포하고 있으며, 이들로부터 분리한 AiiA 재조합단백질 또한 *E. carotovora*의 병발을 감소시켰다[30]. 결과적으로 다양한 *B. thuringiensis* 균주들로부터 병원성 세균을 제어할 수 있는 유전자 및 효소 활성의 발견은 현재 사용되고 있는 살충(insecticide) 기능에 더하여 세균병 제어 기능까지 부여할 수 있는 새로운 생물농약균주로의 개발가능성을 가지고 있다.

AHL을 분해할 수 있는 또 다른 종류의 분해효소인 AHL acylase는 신호물질을 유일한 탄소원으로 이용하는 *Variovorax paradoxus*로부터 확인되었다[29]. 지금까지 *V. paradoxus* 이외에도 β -Proteobacteria에 속하는 그람음성세

균인 *Ralstonia* 및 *Comamonas*, *P. aeruginosa* PAO1와 high G+C 그람양성세균인 *Arthrobacter* 및 *Rhodococcus*들이 신호물질을 유일한 탄소원으로 이용할 수 있는 것으로 보고되었다[24, 31, 40, 53]. 한편, *Ralstonia* 분리군으로부터 acylase를 코딩하는 *aiiD* 유전자가 최근 분리되었는데, 이 분해효소는 AHLase 보다 훨씬 분자량이 큰 794개의 아미노산으로 구성되어 있으며, N-terminal(Ntn) hydrolase superfamily에 속하는 cephalosporin acylase 및 penicillin acylase와 약 22-24%의 상동성을 나타내었다[31]. 이후 *P. aeruginosa* PAO1으로부터 짧은 acyl chain의 AHL에는 분해능이 없으나 긴 acyl chain의 AHL에 대해 분해능이 있는 *aiiD* 유사체인 *pvdQ*가 보고되었다[24]. *P. aeruginosa*에서 *aiiD* 유전자를 발현시킨 경우 역시 병발인자 및 생물막 형성을 억제 하여 *C. elegans*에서의 병원성을 감소시켰기 때문에[31] AHLase와 마찬가지로 AHL acylase 또한 Anti-QS의 잠재적 기능을 가진 효소라고 할 수 있다.

결언 및 전망

세균은 각개의 세포로서만 필수적인 기능을 한다는 것이 일반적인 생각이었으나, 1990년대 이후 세균들의 세포간 통신(communication)에 관한 흥미롭고도 중요한 연구 결과들이 속속 보고되고 있다. 따라서 생태계에서의 미생물 세계를 본질적으로 이해하고자 하는 연구자들의 관점도 단일세포를 대상으로 하는 단세포적 연구에서 다세포적으로 움직이는 미생물 개체군(population)을 대상으로 하는 연구로 바뀌고 있다. 세균간의 신호전달이 세포의 밀도에 의해 조절되는 quorum sensing은 대표적인 세균들의 통신 수단으로 다양한 세균에서 집단으로 발생할 수 있는 다양한 현상을 유도한다. 또한 병원성 세균에서뿐만 아니라 가축의 장내, 식물 잎의 표면, 다양한 오염도양 등 특정 생태계에서도 여러 종류의 세균에 의한 다양한 신호물질이 검출되고 있기 때문에, microecosystem에서 미생물간의 상호작용이 생태계의 유지에 큰 역할을 할 것으로 추정하고 있다[13].

초기의 QS 연구는 주로 신호물질의 종류와 QS 관련 AHL 합성 및 조절 단백질의 유전자들에 관한 연구였으나[43], 최근에는 DNA microarray 및 proteomics 기법 등의 genome-scale 연구를 통하여 *P. aeruginosa*의 경우 전체 유전체에서 무려 6% 정도의 유전자(약 200개)가 QS에 의해 down-regulation 되는 것으로 보고하였다[46, 54]. 이와 같이 QS는 세포내 global regulon으로서 많은 유전자들의 발현을 조절한다. 따라서 앞으로는 이들 유전자들간의 조절 네트워크에 관한 연구들이 추진될 것이다. 또한 현재 알려져 있는 신호물질 이외에도 자연계에 존재하는 미지의 다양한 신호물질을 탐지할 수 있는 적절한 바이오센서가 개발될 것이고, 새로운 신호물질들이 밝혀짐에 따라 생태계에서의 다양한 세균간의 상호작용 및 그에 따른 생리적 변화에 대해 좀더 실제

적으로 파악할 수 있게 될 것이다.

최근들어 QS에 관한 다양한 산업적 응용 가능성이 부각됨으로써 향후 연구방향도 유전체 규모의 심층 기초 연구와 함께 응용연구도 활발히 추진될 수 있을 것이다. 예를 들면 QS을 이용하여 세균으로부터 유용한 물질의 생산을 촉진하고자 하는 생물공학적 접근은 생물소재의 산업적 생산에 이용될 수 있을 것이다. 특히 QS가 주로 새로운 개념의 항생제를 개발하기 위한 새로운 표적으로 부상하면서, 관련 표적들이 지속적으로 발굴되고 있어 세균병 억제에 위한 새로운 접근방법이 조만간 현실화 될 수 있을 것으로 기대하고 있다. Anti-QS 전략을 통한 새로운 항생제 개발은 기존의 항생제 작용점과는 전적으로 다른 새로운 개념의 표적이라는 점에서 앞서 기술한 바와 같이 많은 장점을 가지고 있음에도 불구하고, 세균에 대한 직접적인 살균활성이 없어 많은 부분 숙주의 방어기작에 의존할 수 밖에 없다는 단점이 있다. 그러나 이러한 단점은 기존 항생제와 병합하여 사용하면 생물막 형성 등을 억제함으로써 기존 항생제의 투여량을 감소시킬 수 있거나, 기존 항생제의 효과를 향상시킬 수 있는 상승 효과 등으로 극복할 수도 있을 것이다.

자연계의 세균들은 환경 또는 기주로부터 더 나은 생태적 지위를 확보하기 위한 전략으로 QS를 진화시켰지만, 반대로 또 다른 세균들과 고등 생물들은 이러한 QS를 극복하기 위해 Anti-QS 전략을 진화시켜 왔다고 생각할 수 있다. 결론적으로 QS 및 Anti-QS 분야는 학문적으로 생태학적 중요성뿐만 아니라 병발억제를 포함한 산업적 응용 가능성으로 인하여 연구가 활발히 진행되고 있는 신생 연구 분야이며, 특히 '실제 생태계'에서 세균의 QS와 Anti-QS가 얼마나 중요한 역할을 하고 있는지 등이 앞으로 풀려야 할 핵심 의문으로 남아 있다.

감사의 글

본 연구는 KRIBB 기간고유사업의 연구비 지원과 바이오 디스커버리 사업(M1-0311-00-0107)의 지원에 의해 수행되었습니다.

REFERENCES

- Andersson, R. A., A. R. Eriksson, R. Heikinheimo, A. Mae, M. Pirhonen, V. Koiv, H. Hyytiainen, A. Tuikkala, and E. T. Palva. 2000. Quorum sensing in the plant pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*: the role of *expR*(Ecc). *Mol. Plant Microbe Interact.* **13**: 384-393.
- Bainton, N. J., P. Stead, S. R. Chhabra, B. W. Bycroft, G. P. Salmond, G. S. Stewart, and P. Williams. 1992. *N*-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone regulates carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora*. *Biochem. J.* **288**: 997-1004.
- Bassler, B. L., M. Wright, R. E. Showalter, and M. R. Silverman. 1993. Intercellular signalling in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence. *Mol. Microbiol.* **9**: 773-786.
- Carrier, A., S. Uroz, B. Smadja, R. Fray, X. Latour, Y. Desaux, and D. Faure. 2003. The Ti plasmid of *Agrobacterium tumefaciens* harbors an *attM*-paralogous gene, *aiiB*, also encoding *N*-Acyl homoserine lactonase activity. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 4989-4993.
- Chen, X., S. Schauder, N. Potier, A. Van Dorsselaer, I. Pelzer, B. L. Bassler, and F. M. Hughson. 2002. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature* **415**: 545-549.
- 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.
- Dangl, J. L., and J. D. Jones. 2001. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature* **411**: 826-833.
- Davies, D. G., M. R. Parsek, J. P. Pearson, B. H. Iglewski, J. W. Costerton, and E. P. Greenberg. 1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* **280**: 295-298.
- de Kievit, T. R., and B. H. Iglewski. 2000. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect. Immun.* **68**: 4839-4849.
- Dong, Y. H., A. R. Gusti, Q. Zhang, J. L. Xu, and L. H. Zhang. 2002. Identification of quorum-quenching *N*-acyl homoserine lactonases from *Bacillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 1754-1759.
- Dong, Y. H., L. H. Wang, J. L. Xu, H. B. Zhang, X. F. Zhang, and L. H. Zhang. 2001. Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an *N*-acyl homoserine lactonase. *Nature* **411**: 813-817.
- Dong, Y. H., J. L. Xu, X. Z. Li, and L. H. Zhang. 2000. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**: 3526-3531.
- Erickson, D. L., V. L. Nsereko, D. P. Morgavi, L. B. Selinger, L. M. Rode, and K. A. Beauchemin. 2002. Evidence of quorum sensing in the rumen ecosystem: detection of *N*-acyl homoserine lactone autoinducers in ruminal contents. *Can. J. Microbiol.* **48**: 374-378.
- Flavier, A. B., L. M. Ganova-Raeva, M. A. Schell, and T. P. Denny. 1997. Hierarchical autoinduction in *Ralstonia solanacearum*: control of acyl-homoserine lactone production by a novel autoregulatory system responsive to 3-hydroxypalmitic acid methyl ester. *J. Bacteriol.* **179**: 7089-7097.
- Freeman, J. A., and B. L. Bassler. 1999. 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., and B. L. Bassler. 1999. Sequence and function of LuxU: a two-component phosphorelay protein that regulates quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *J. Bacteriol.* **181**:

- 899-906.
17. 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.
 18. 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.
 19. Hanzelka, B. L., M. R. Parsek, D. L. Val, P. V. Dunlap, J. E. Cronan, Jr., and E. P. Greenberg. 1999. Acylhomoserine lactone synthase activity of the *Vibrio fischeri* AinS protein. *J. Bacteriol.* **181**: 5766-5770.
 20. Hastings, J. W., and K. H. Nealson. 1977. Bacterial bioluminescence. *Annu. Rev. Microbiol.* **31**: 549-595.
 21. Hentzer, M., H. Wu, J. B. Andersen, K. Riedel, T. B. Rasmussen, N. Bagge, N. Kumar, M. A. Schembri, Z. Song, P. Kristoffersen, M. Manefield, J. W. Costerton, S. Molin, L. Eberl, P. Steinberg, S. Kjelleberg, N. Hoiby, and M. Givskov. 2003. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J.* **22**: 3803-3815.
 22. Hoang, T. T., and H. P. Schweizer. 1999. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* enoyl-acyl carrier protein reductase (FabI): a target for the antimicrobial triclosan and its role in acylated homoserine lactone synthesis. *J. Bacteriol.* **181**: 5489-5497.
 23. 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.
 24. Huang, J. J., J. I. Han, L. H. Zhang, and J. R. Leadbetter. 2003. Utilization of acyl-homoserine lactone quorum signals for growth by a soil Pseudomonad and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 5941-5949.
 25. Jones, S., B. Yu, N. J. Bainton, M. Birdsall, B. W. Bycroft, S. R. Chhabra, A. J. Cox, P. Golby, P. J. Reeves, and S. Stephens. 1993. The *lux* autoinducer regulates the production of exoenzyme virulence determinants in *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas aeruginosa*. *EMBO J.* **12**: 2477-2482.
 26. Kang, H. O., S. Y. Park, J. K. Lee, J. M. Kim, and D. Y. Yum. 2002. Identification of the acylated homoserinelactone and quorum sensing genes in *Edwardsiella* sp. p. 219. *Proceedings of the Korean Society for Microbiology and Biotechnology*.
 27. Kleerebezem, M., L. E. Quadri, O. P. Kuipers, and W. M. de Vos. 1997. Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol.* **24**: 895-904.
 28. Laue, B. E., Y. Jiang, S. R. Chhabra, S. Jacob, G. S. Stewart, A. Hardman, J. A. Downie, F. O'Gara, and P. Williams. 2000. The biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 produces the *Rhizobium* small bacteriocin, *N*-(3-hydroxy-7-cis-tetradecenoyl) homoserine lactone, via HdtS, a putative novel *N*-acylhomoserine lactone synthase. *Microbiology* **146**: 2469-2480.
 29. Leadbetter, J. R., and E. P. Greenberg. 2000. Metabolism of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by *Variovorax paradoxus*. *J. Bacteriol.* **182**: 6921-6926.
 30. Lee, S. J., S. Y. Park, J. J. Lee, D. Y. Yum, B. T. Koo, and J. K. Lee. 2002. Genes encoding the *N*-acyl homoserine lactone-degrading enzyme are widespread in many subspecies of *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 3919-3924.
 31. Lin, Y. H., J. L. Xu, J. Hu, L. H. Wang, S. L. Ong, J. R. Leadbetter, and L. H. Zhang. 2003. Acyl-homoserine lactone acylase from *Ralstonia* strain XJ12B represents a novel and potent class of quorum-quenching enzymes. *Mol. Microbiol.* **47**: 849-860.
 32. Magnuson, R., J. Solomon, and A. D. Grossman. 1994. Biochemical and genetic characterization of a competence pheromone from *B. subtilis*. *Cell* **77**: 207-216.
 33. Manefield, M., L. Harris, S. A. Rice, R. de Nys, and S. Kjelleberg. 2000. Inhibition of luminescence and virulence in the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) pathogen *Vibrio harveyi* by intercellular signal antagonists. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 2079-2084.
 34. Manefield, M., T. B. Rasmussen, M. Hentzer, J. B. Andersen, P. Steinberg, S. Kjelleberg, and M. Givskov. 2002. Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. *Microbiology* **148**: 1119-1127.
 35. Manefield, M., M. Welch, M. Givskov, G. P. Salmond, and S. Kjelleberg. 2001. Halogenated furanones from the red alga, *Delisea pulchra*, inhibit carbapenem antibiotic synthesis and exoenzyme virulence factor production in the phytopathogen *Erwinia carotovora*. *FEMS Microbiol. Lett.* **205**: 131-138.
 36. McGowan, S., M. Sebahia, S. Jones, B. Yu, N. Bainton, P. F. Chan, B. Bycroft, G. S. Stewart, P. Williams, and G. P. Salmond. 1995. Carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora* is regulated by CarR, a homologue of the LuxR transcriptional activator. *Microbiology* **141**: 541-550.
 37. Miller, M. B., and B. L. Bassler. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**: 165-199.
 38. Milton, D. L., A. Hardman, M. Camara, S. R. Chhabra, B. W. Bycroft, G. S. Stewart, and P. Williams. 1997. Quorum sensing in *Vibrio anguillarum*: characterization of the *vanI/vanR* locus and identification of the autoinducer *N*-(3-oxodecanoyl)-L-homoserine lactone. *J. Bacteriol.* **179**: 3004-3012.
 39. Nealson, K. H., and J. W. Hastings. 1979. Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiol. Rev.* **43**: 496-518.
 40. Park, S. Y., S. J. Lee, T. K. Oh, J. W. Oh, B. T. Koo, D. Y. Yum, and J. K. Lee. 2003. AhlD, an *N*-acylhomoserine lactonase in *Arthrobacter* sp., and predicted homologues in other bacteria. *Microbiology* **149**: 1541-1550.

41. Pesci, E. C., J. B. Milbank, J. P. Pearson, S. McKnight, A. S. Kende, E. P. Greenberg, and B. H. Iglewski. 1999. Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 11229-11234.
42. Ravn, L. R., A. B. Christensen, M. Givskov, and L. Gram. 2001. Identification and quantification of acylated homoserine lactones in cold smoked salmon produced by two strains of *Enterobacteriaceae*. p. 09.005. *Proceedings of the 9th International Symposium on Microbial Ecology*.
43. Redfield, R. 2002. Is quorum sensing a side effect of diffusion sensing? *Trends Microbiol.* **10**: 365.
44. Reimann, C., N. Ginet, L. Michel, C. Keel, P. Michaux, V. Krishnapillai, M. Zala, K. Heurlier, K. Triandafillu, H. Harms, G. Defago, and D. Haas. 2002. Genetically programmed autoinducer destruction reduces virulence gene expression and swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Microbiology* **148**: 923-932.
45. Reverchon, S., B. Chantegrel, C. Deshayes, A. Doutheau, and N. Cotte-Pattat. 2002. New synthetic analogues of *N*-acyl homoserine lactones as agonists or antagonists of transcriptional regulators involved in bacterial quorum sensing. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **12**: 1153-1157.
46. Riedel, K., C. Arevalo-Ferro, G. Reil, A. Gorg, F. Lottspeich, and L. Eberl. 2003. Analysis of the quorum-sensing regulon of the opportunistic pathogen *Burkholderia cepacia* H111 by proteomics. *Electrophoresis* **24**: 740-750.
47. Salmond, G. P., B. W. Bycroft, G. S. Stewart, and P. Williams. 1995. The bacterial 'enigma': cracking the code of cell-cell communication. *Mol. Microbiol.* **16**: 615-624.
48. 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.
49. Slock, J., D. VanRiet, D. Kolibachuk, and E. P. Greenberg. 1990. Critical regions of the *Vibrio fischeri* luxR protein defined by mutational analysis. *J. Bacteriol.* **172**: 3974-3979.
50. Surette, M. G., M. B. Miller, and B. L. Bassler. 1999. Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 1639-1644.
51. Swift, S., A. V. Karlyshev, L. Fish, E. L. Durant, M. K. Winslow, S. R. Chhabra, P. Williams, S. Macintyre, and G. S. Stewart. 1997. Quorum sensing in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida*: identification of the LuxRI homologs AhyRI and AsaRI and their cognate *N*-acylhomoserine lactone signal molecules. *J. Bacteriol.* **179**: 5271-5281.
52. Taga, M. E., and B. L. Bassler. 2003. Chemical communication among bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.
53. Uroz, S., C. D'Angelo-Picard, A. Carlier, M. Elasri, C. Sicot, A. Petit, P. Oger, D. Faure, and Y. Dessaux. 2003. Novel bacteria degrading *N*-acylhomoserine lactones and their use as quenchers of quorum-sensing-regulated functions of plant-pathogenic bacteria. *Microbiology* **149**: 1981-1989.
54. Wagner, V. E., D. Bushnell, L. Passador, A. I. Brooks, and B. H. Iglewski. 2003. Microarray analysis of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing regulons: effects of growth phase and environment. *J. Bacteriol.* **185**: 2080-2095.
55. Watson, W. T., T. D. Minogue, D. L. Val, S. B. von Bodman, and M. E. Churchill. 2002. Structural basis and specificity of acyl-homoserine lactone signal production in bacterial quorum sensing. *Mol. Cell* **9**: 685-694.
56. 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.
57. Whitehead, N. A., M. Welch, and G. P. Salmond. 2001. Silencing the majority. *Nat. Biotechnol.* **19**: 735-736.
58. Winzer, K., and P. Williams. 2001. Quorum sensing and the regulation of virulence gene expression in pathogenic bacteria. *Int. J. Med. Microbiol.* **291**: 131-143.
59. Yoon, S. S., R. F. Hennigan, G. M. Hilliard, U. A. Ochsner, K. Parvatyiar, M. C. Kamani, H. L. Allen, T. R. DeKievit, P. R. Gardner, U. Schwab, J. J. Rowe, B. H. Iglewski, T. R. McDermott, R. P. Mason, D. J. Wozniak, R. E. Hancock, M. R. Parsek, T. L. Noah, R. C. Boucher, and D. J. Hassett. 2002. *Pseudomonas aeruginosa* anaerobic respiration in biofilms: relationships to cystic fibrosis pathogenesis. *Dev. Cell* **3**: 593-603.
60. Zhang, H. B., L. H. Wang, and L. H. Zhang. 2002. Genetic control of quorum-sensing signal turnover in *Agrobacterium tumefaciens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**: 4638-4643.

(Received Nov. 6, 2003/Accepted Mar. 5, 2004)