

박테리아의 Quorum Sensing 및 생물막 형성 억제를 위한 Quorum Quenching 연구 동향

이정기*

배재대학교 바이오·의생명공학과

Received : May 11, 2012 / Revised : June 8, 2012 / Accepted : June 11, 2012

Bacterial Quorum Sensing and Quorum Quenching for the Inhibition of Biofilm Formation. Lee, Jung-Kee*. Department of Biomedical Science & Biotechnology, Paichai University, Seo-Gu, Daejeon 302-735, Korea – Quorum sensing (QS) is a cell-to-cell communication system, which is used by many bacteria to regulate diverse gene expression in response to changes in population density. Bacteria recognize the differences in cell density by sensing the concentration of signal molecules such as *N*-acyl-homoserine lactones (AHL) and autoinducer-2 (AI-2). In particular, QS plays a key role in biofilm formation, which is a specific bacterial group behavior. Biofilms are dense aggregates of packed microbial communities that grow on surfaces, and are embedded in a self-produced matrix of extracellular polymeric substances (EPS). QS regulates biofilm dispersal as well as the production of EPS. In some bacteria, biofilm formations are regulated by c-di-GMP-mediated signaling as well as QS, thus the two signaling systems are mutually connected. Biofilms are one of the major virulence factors in pathogenic bacteria. In addition, they cause numerous problems in industrial fields, such as the biofouling of pipes, tanks and membrane bioreactors (MBR). Therefore, the interference of QS, referred to as quorum quenching (QQ) has received a great deal of attention. To inhibit biofilm formation, several strategies to disrupt bacterial QS have been reported, and many enzymes which can degrade or modify the signal molecule AHL have been studied. QQ enzymes, such as AHL-lactonase, AHL-acylase, and oxidoreductases may offer great potential for the effective control of biofilm formation and membrane biofouling in the future. This review describes the process of bacterial QS, biofilm formation, and the close relationship between them. Finally, QQ enzymes and their applications for the reduction of biofouling are also discussed.

Keywords: Quorum sensing, quorum quenching, autoinducer, biofilm, biofouling, AHL-lactonase

서 론

미생물 연구 역사에서 비교적 최근에 소개된 개념인 quorum sensing (QS)과 관련하여 새로운 결과들이 속속 밝혀지고 있으나, 아직 풀어야 할 의문이 많이 있는 흥미로운 연구 분야이다[5, 21, 61, 76]. 또한 이러한 세균 간 signaling 시스템의 산업적 응용에 대한 잠재력으로 인해 미생물 연구자들에게는 매력적인 연구분야이기도 하다[10]. 단세포 생물인 세균의 생활사에 대한 이전의 통념과는 달리 세균들도 특정한 화학물질(신호분자)을 매개로 하여 서로 소통(communiation)하며, 이러한 소통을 통해 특정 환경에서 생존에 좀 더 적합하도록 다양한 집단적 대사 활성을 조절하는 것으로 알려져 있다[67, 76]. Quorum sensing이라 불리는 세균의 독특한 신호전달 체계는 각각의 개별 세포가 생

육 중에 분비하는 *N*-acyl-homoserine lactone (AHL)을 비롯한 특정한 신호분자의 농도에 의해 세균의 집단적 행동 양식이 결정되는 일련의 세포밀도-의존성 유전자 발현 (cell-density dependent gene expression) 조절 메커니즘이다[21, 61]. 즉 QS는 생육이 진행됨에 따라 세포 밀도가 높아져 어떤 특정한 세포 밀도에 도달하게 되는 상황인 소위 “정족수(quorum)”에 이르게 되면, 저밀도 상황에서의 세포에서는 관찰되지 않는 특정한 형질이 집단적으로 유도 발현된다. QS에 의해 다양한 형질이 조절되며, 특히 주변에서 흔히 볼 수 있는 세균에 의한 생물막(biofilm)의 형성도 QS에 의해 조절되는 대표적인 현상이다(Fig. 1). 생물막은 병원성 세균에 의한 감염에 있어 중요한 요소로 작용하기 때문에 집중적 관심을 받고 있으며, 의학적인 중요성 이외에도 다양한 산업 분야에서 많은 문제를 발생 시키므로 경제적 측면에서도 상당히 중요한 연구 분야이다[10, 32]. 본 총설에서는 주로 AHL이 관여된 그람 음성세균에서의 QS를 비롯하여 그밖에 다양한 QS system 및 이와 관련된 생물막 형성 조절에 대

*Corresponding author

Tel: +82-42-520-5940, Fax: +82-42-520-5385

E-mail: leejk@pcu.ac.kr

한 최근의 연구 현황 등을 정리하였다. 또한 anti-QS 전략으로서 특히 quorum quenching (QQ) 효소를 이용한 생물막 억제 연구 동향에 대해 중점적으로 소개하고자 한다.

세균에서의 QS

QS 과정에서 일부 세균은 autoinducer (AI)라고 하는 신호분자 화합물을 합성하여 세포 외로 분비하는데, 생육에 따라 축적되는 AI의 농도는 세균의 밀도와 비례하게 된다. 이때 축적된 AI가 결정적인 농도에 이르게 되면 다시 세포 내로 확산되어 수용체 단백질과 결합한 후 다양한 타깃 유전자들의 발현을 유도하여 궁극적으로 세균의 집단적 행태를 변화시킨다. QS을 위한 신호분자로서 다양한 새로운 화합물들이 보고되어 있으나, 주로 AHL, furanosyl borate diester (AI-2) 및 oligopeptide (auto-inducing peptides, AIP) 등이 연구되었다. 그람 음성세균에서는 AI-1으로 알려진 AHL이 작용하고, 그람 양성세균에서는 주로 oligopeptide (AIP)가 작용하는 것으로 알려져 있다[67]. 또한 많은 그람 음성 및 양성 세균에 공통적으로 존재하며 서로 다른 세균 속-간의 소통을 위한 공통적 신호로 알려진 furanosyl borate diester 계통의 신호분자인 AI-2가 있다[5, 9]. 약 100여종 이상의 그람 음성 세균에서 분비되는 것으로 알려져 있는 AHL은 homoserine lactone의 공통적 구조에 다양한 길이의 acyl chain으로 이루어져 있다[63, 76]. LuxI 계열의 AHL합성단백질(AHL synthase)에 의해 합성된 AHL이 일정 농도에 이르면 LuxR 계열의 전사조절단백질인 AHL 수용체와 결합하게 된다. 이러한 결합으로 인해 AHL 수용체에 구조적 변화가 유도되어 타깃 유전자의 조절 부위와 결합하게 되고, 결과적으로 병독성(virulence), 생물막 형성, 생물발광

(bioluminescence), 운동성, 항생제 생산, swarming, 세포 외 가수분해 효소의 합성 등에 필요한 다양한 유전자의 발현이 조절된다(Fig. 1)[3, 15, 32, 42, 46]. AI-1과 달리 AI-2는 동일한 속은 물론 서로 다른 속-간의 소통과 관련된 QS 신호분자이다. AI-2는 *S*-adenosylmethionine에서 3단계의 효소 반응을 거쳐 생성된 4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione(DPD)으로부터 자발적 반응으로 만들어지는 cyclic furanone 계열의 신호물질로서, 가장 많이 알려진 AI-2는 *Vibrio harveyi*의 furanosyl borate diester이다. AI-2 합성의 전구체로서 borate가 없는 DPD는 LuxS (*S*-ribosylhomocysteinase)에 의해 *S*-ribosylhomocysteine이 homocysteine으로 대사되는 과정에 만들어지며, 350건 이상의 세균 genome database에서 *luxS* homologue 유전자들이 존재하였다[16, 24, 42, 63, 64]. AI-2를 매개로 한 신호전달도 *Vibrio* 속과 *E. coli* 등 많은 세균에서 생물막 형성을 비롯하여 생물발광 및 병독성 조절 등에 관여하는 것으로 알려져 있다. *P. aeruginosa*와 해양 미생물인 *V. harveyi*는 다중-QS 체계를 동시에 가지고 있다. *P. aeruginosa*의 경우 *lasI*와 *rhlI* 유전자에 의해 합성되는 *N*-3-oxododecanoyl-*L*-homoserine lactone (3-oxo-C12-HSL)과 *N*-butanoyl-*L*-homoserine lactone (C4-HSL)을 기반으로 하는 2 종류의 QS 체계를 가지고 있으며[32, 76], *V. harveyi*는 *N*-3-hydroxybutanoyl-*L*-homoserine lactone (*N*-3-OH-C4-HSL)과 AI-2 이외에 Cholerae autoinducer 1 (CAI-1)을 생성한다[16, 24]. *V. cholerae*가 분비하는 것으로 알려진 신호분자 CAI-1은 (S)-3-hydroxytridecan-4-one으로서 속-특이적인 AI이다[16, 24, 45]. *P. aeruginosa*와 *Vibrio* 속에서는 이러한 다중의 QS 신호전달 과정이 서로 연결되어, 최종적으로 생물막 형성, 병독성, 혹은 발광 현상 등과 관련된 타깃 유전자들의 발현을 조절한다[45].

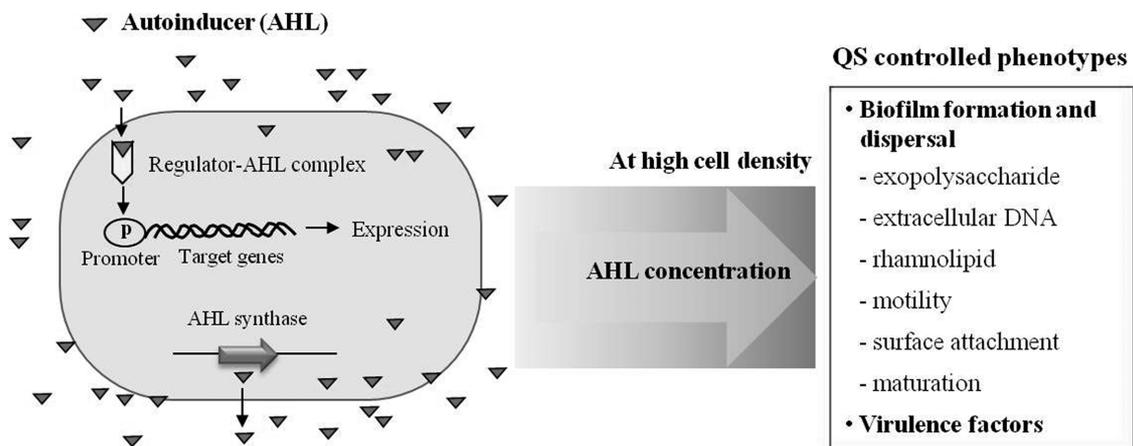


Fig. 1. Schematic representation of AHL-based quorum sensing, and the phenotypes controlled by it. Many Gram-negative bacteria produce *N*-acyl-homoserine lactones (AHLs) as signaling molecules, whose synthesis is directed by AHL synthases. Bacteria recognize the changes in population density by sensing the concentration of accumulated AHL as cells proliferate. At high cell density, AHLs reach a threshold concentration leading to its binding to specific regulators. These regulator-AHL complexes in turn control the expression of diverse target genes, especially, for biofilm formation and dispersal.

QS에 의한 생물막 형성 조절

생물막이란 미생물이 표면에 부착하여 세포 외로 분비한 고분자 기질(extracellular polymeric matrix, EPM)로서, 스스로 만든 이러한 EPM 내부 공간에서 집단을 이루어 생육하기 때문에 한정된 공간에 매우 높은 밀도로 존재한다[23, 44]. 생물막은 많은 미생물 종들이 community를 구성하며 살아가고 있는 일종의 미생물 도시에 비유되며, 따라서 QS 시스템이 작동하기에 적절한 환경이 조성되어 있다[20, 74]. 대부분의 세균 생활사로서 생물막의 형성은 일련의 특징적인 주기를 가지고 있다. 부유 상태의 세균(planktonic cell)이 표면에 부착하고, 부착된 세포(attached cell)들에 의해 monolayer 형성과 미세 미생물 군락(microcolony) 형성 과정을 거친 후 탑 혹은 버섯 모양의 전형적인 3차원 구조를 갖춘 성숙한 생물막을 형성하게 된다. 이후 최종적으로 생물막의 해체 및 분산을 통해 다시 부유 상태의 세균으로 되돌아가는 발달 단계를 거치게 된다[23]. 부유 상태와 부착상태의 세포는 생리적으로 큰 차이가 있으며, 두 상태의 균주를 대상으로 DNA microarray 실험 결과 운동성 관련 유전자 등을 포함하여 전체 유전자의 약 10% 정도가 서로 다르게 발현되는 것으로 보고되어 있다[44]. 거의 모든 세균에 의해 생성되는 생물막의 주성분인 세포 외 다당류(exopolysaccharide, EPS)의 구조와 조성은 미생물 중에 따라 다양하며[16, 20]. 이외에도 단백질과 세포 외 DNA(extracellular DNA, e-DNA) 등도 생물막의 주요한 구성 성분이다. 예로서 *P. aeruginosa*의 생물막에서는 e-DNA가 생물막의 안정화에 기여하는 주요한 기질 구성 성분 중 하나로 알려져 있으며, 이러한 e-DNA를 분해할 수 있는 DNase I으로 처리한 경우 생물막 형성이 억제되었다[2, 16, 75, 81]. QS 시스템은 미생물의 부착과 생물막의 형성 과정에서 특정한 단계에 필요한 유전자의 발현을 조절하는 중요한 기능을 하는 것으로 보고되어 있다(Fig. 1)[16, 34]. 일부 세균에서는 QS가 EPS의 생산, 운동성 조절, 표면 부착 등 생물막 형성 과정 뿐만 아니라[34], 생물막 해체 과정도 조절하는 것으로 알려져 있다[23]. 예로서 *P. aeruginosa*의 경우 QS이 생물막의 형성과 해체 등에 중요한 역할을 하는 rhamnolipids와 e-DNA의 생산 및 배출에도 관여하는 것으로 알려져 있으며(Fig. 1)[1, 2, 7, 16, 40], 또한 일부 세균은 점성적 특징을 가진 EPM을 분해하는 효소를 분비함으로써 균주의 이탈을 촉진시킨다고 보고하였다[23]. *P. aeruginosa* 외에 *Pseudomonas putida*, 기회 감염균인 *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, 어병 세균인 *Aeromonas hydrophila*, 식물병원균인 *Pantoea stewartii* 등에서도 생물막 형성이 AHL을 매개로 한 QS의 조절 하에 있다. AHL 이외에도 대장균을 비롯한 많은 세균에서 AI-2가 관여된 QS가 생물막 형성에 필수적이라는 실험 결과를 보고하였다[4, 10, 56, 80]. 한편 생물막 형성의 조절에 있어 QS의존적 시스템과 함께 세균에서 세포 내 중요한

second messenger로 알려진 bis(3', 5')-cyclic diguanylic acid (c-di-GMP)에 의한 signaling의 역할에 관한 연구가 진행되고 있다[58]. c-di-GMP는 *Gluconacetobacter xylinus*에서 cellulose synthase의 activator로서 처음 발견된 이래[59], 최근의 연구를 통해 병독성과 생물막의 형성 등을 포함하는 다양한 과정에 대한 조절자로서의 역할이 규명되고 있다[28, 64]. 특히 *V. cholerae*에서는 두 조절 시스템인 QS와 c-di-GMP signaling이 서로 연결되어 생물막 형성이나 병독성의 발현을 조절하고 있다[13, 16, 52].

Quorum quenching을 통한 생물막 제어 연구

Anti-quorum sensing을 통한 생물막 제어

전술한 바와 같이 병원성 세균에 의한 감염 시 생물막은 가장 중요한 병독성 요소 중 하나이다. 모든 세균 감염의 65%가 이러한 생물막과 관련되어 있으며, 인체에서 미생물 감염의 80% 이상이 생물막에 의해 유발된다고 한다[14]. 또한 병원성 세균이 생물막을 형성함으로써 면역 시스템의 작용을 저해할 뿐 아니라, 항생제 등의 투과력을 떨어뜨려 생물막 내부에 있는 세균은 부유 상태 보다 1,000배 정도의 항생제 내성을 나타내는 것으로 알려져 있다[22, 29, 66]. 그러나 항생물막(antibiofilm) 활성을 나타내는 화합물들은 극소수이며[29], 아직 의학적 응용에 쓰여진 것은 없다. 이와 같이 QS이 생물막 형성과 병독성 발현에 중심적 역할을 하기 때문에 새로운 항감염제 개발을 위한 좋은 표적이 될 수 있고, 따라서 이를 억제하기 위한 다양한 Anti-quorum sensing (Anti-QS) 전략에 대한 연구가 이루어지고 있다[45, 53, 64]. 세균 감염증의 치료에 있어 Anti-QS 전략의 장점은 QS 차단제가 단지 병원균의 병독성을 감소시키는 것이지 세포의 생존에 영향을 주는 것이 아니기 때문에 약제 내성균의 출현을 최소화 할 수 있다는 점이다. Quorum sensing 시스템 상에 신호분자에 의한 신호전달을 교란 혹은 차단하고자 하는 일련의 Anti-QS 타겟이 알려져 있다[77]. 가장 많이 연구되어 있는 분야는 AHL 신호분자가 수용체에 결합하는 단계를 저해할 수 있는 AHL 유사체 개발이다[77]. AHL분자의 lactone ring이나 acyl side chain내의 탄소 원자를 치환 함으로서 신호물질 유사체(analogue)를 합성할 수 있으며, 이러한 신호분자 유사체는 원래의 신호분자 대신 QS 수용체의 결합 부위에 경쟁적으로 결합하여 신호를 교란하는 방법이다[55, 65]. 예로서 곰팡이, 해양 적조류인 *Delisea pulchra*, 마늘과 같은 많은 진핵 생물들이 QS을 교란할 수 있는 AHL 유사체를 만들어낸다[35]. 특히 *Delisea pulchra*에 의해 생산된 halogenated furanones은 AHL 대신에 수용체인 LuxR에 결합할 수 있으며, 이러한 결합은 LuxR단백질의 분해를 가속화 시켜 QS이 차단되는 것으로 보고하였다[39, 55]. Halogenated furanones의 일부 합성유도체 역시 QS를 효과적으로 차단하여 생물막 형성을 억제할 수 있었다

[25]. 또 다른 전략으로서 특히 신호분자인 AHL을 효소적으로 분해하여 신호분자를 무력화 시킴으로써 생물막 형성을 저해 하는 방법이 있다. 이러한 Anti-QS 과정을 quorum quenching (QQ)이라 하며 이러한 AHL 분해효소를 quorum quenching 효소라 한다[19, 73].

Quorum quenching 효소

자연계에서 일부 세균들은 다른 속의 세균이 내는 QS 신호를 차단하기 위해 신호분자 분해효소를 합성하는 것으로 추정되고 있는데, 특히 AHL의 분해 및 변형과 관련되어 있는 세가지 종류의 대표적 QQ 효소로서 AHL-lactonase, AHL-acylase 및 oxidoreductase가 있다[73]. Lactone ring의 ester 결합을 분해하는 AHL-lactonase를 암호화하는 유전자 (*aiiA*)는 토양 분리균인 *Bacillus* sp.에서 최초로 분리되었다[18]. 이 후 *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Agrobacterium*속 등의 많은 그람 양성세균에서 metallo- β -lactamase superfamily에 속하는 AHL-lactonase (*AiiA*, autoinducer inactivation)가 발견되었으며[33], 이러한 *aiiA* 유전자를 *P. aeruginosa*에서 발견시킨 경우 병독성 요소 생산과 생물막 형성이 억제되었다[54]. 본 연구팀에서는 생물농약 균주인 다양한 *Bacillus thuringiensis* 균주에 광범위하게 AHL-lactonase 유전자가 존재하고 있다는 사실을 보고하였으며[37], 이 단백질의 3차구조와 zinc ion이 관여하는 효소 반응 메커니즘을 보고한 바 있다[33]. 이 밖에도 AHL을 유일한 탄소원으로 생육할 수 있는 enrichment 배양 방법을 통하여 AHL을 분해할 수 있는 *Arthrobacter* sp., *Rhodococcus* sp. 및 *Norcardioides* sp. 균주 및 새로운 AHL-lactonase 및 AHL-acylase 유전자를 분리하였으며, 이들을 이용하여 식물의 무름병을 억제할 수 있음을 보여주었다[49, 51]. 최근 많은 연구 그룹에서 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, *Microbacterium testaceum*, *Rhodococcus erythropolis* W2, *Rhizobium* sp., *Ochrobactrum* sp. 유래의 다양한 AHL-lactonase(*AiiM*, *QsdA*, *DlhR*, *AidH*)를 발굴하여 보고하였으며[11, 41, 71], 특히 다양한 quorum quenching 효소 발굴을 위한 새로운 시도로서 토양 시료를 이용해 직접 구축한 metagenomic library로 부터 신규한 AHL-lactonase(*BpiB01*, *BpiB04*, *BpiB07*)를 발굴한 바 있다[62]. 또 다른 AHL 분해효소인 AHL-acylase는 AHL의 lactone ring과 acyl side chain 사이의 amide 결합을 분해하는 N-terminal nucleophile hydrolase (Ntn hydrolase) superfamily에 속하는 효소이다. *P. aeruginosa* PAO1의 경우 3종류의 서로 다른 AHL-acylase 유전자(*pvdQ*, *quiP*, *hacB*)가 동시에 존재하는 것으로 확인되었으며, *Ralstonia solanacearum*과 *Streptomyces* sp.에서는 새로운 AHL-acylase 유전자로서 *aiiD*와 *ahlM*이 분리 되었다[6, 27, 38, 43, 50, 72]. 이외에도 *Comamonas* spp., *Sulfolobus*, *R. erythropolis*, *P. syringe*, *Shewanella* spp. 등 다양한 세균에서도 보고되었다[47, 70, 72]. 최근 들

어 *P. aeruginosa* 유래의 AHL-acylase (*PvdQ*)에 관한 단백질 3차 구조를 규명하였으며[6], AHL-acylase 유전자 (*aiiD*)를 *P. aeruginosa*에서 발견시킨 경우 역시 병독성 및 생물막 형성을 억제 하여 *Caenorhabditis elegans*에서의 병원성을 감소시켰다[38]. 마지막으로 AHL의 3-oxo group이나 acyl side chain 자체에서 keto 그룹을 타깃팅하는 oxidoreductase는 *R. erythropolis*와 *Bacillus megaterium*에서 보고되었다[12, 69]. 추가적으로 이러한 미생물 유래의 효소 이외에 포유류의 paraoxonase 역시 *P. aeruginosa*의 3-oxo-C12 HSL의 lactone ring을 분해한다[8]. 동물들 역시 병원성 세균에 대한 대응 메커니즘으로 QS 신호분자를 분해할 수 있는 효소를 생성하는 것으로 추정되고 있다[68]. 생물막 형성 등을 조절하는 QS를 차단하기 위해 QQ 효소의 생물공학적인 이용 가능성이 제시됨에 따라, 좀 더 새롭고 강력한 QQ 효소의 발굴에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 예로서 해양 미생물 유래의 다양한 quorum quenching 박테리아의 분리에 대한 연구[57]를 비롯하여 기존에 발표된 세균들의 public genome database 분석을 통해 다양한 AHL-lactonase 및 AHL-acylase의 분석에 관한 보고가 있다[30]. 최근에는 AI-1을 대상으로 하는 이러한 QQ 효소 이외에도 AI-2에 의한 신호를 무력화 시키기 위하여 대장균의 QS kinase인 LsrK (*LuxS*-regulated) 단백질을 이용하여 세포 외에서 AI-2를 인산화 시켰다[60, 79]. 형성된 phosphor-AI-2 (phosphor-DPD)는 세포 내로 수송되지 못하는 것은 물론 불안정하여 PG(phosphoglycolic acid)로 분해되어 불활성화된다[60]. 대장균, *S. typhimurium*, *V. harvey*를 이용한 실험에서 이러한 LsrK 효소를 이용한 QQ 접근법이 속한 QS system을 억제할 수 있음을 보여 주었다[60].

Quorum quenching을 통한 biofouling 억제 연구

Biofouling(생물부착)이란 물과 오랜 기간 접촉되어 있는 환경에서 초기에 고체 표면에 미생물에 의해 생물막이 형성된 후 여기에 다른 생물체 등이 부착하여 생육하는 현상이다[18]. 예로서 선박 바닥의 경우 일차적으로 미생물에 의해 생물막이 형성된 후 여기에 미역과 같은 조류나 따개비 등의 바다 생물이 달라 붙어 선체의 저항력이 늘어나고 따라서 좀 더 많은 연료가 소모되는 등의 문제를 발생시킨다. 이러한 biofouling은 물에 장기간 노출되어 있는 파이프나 탱크, 생물막 반응기(membrane bioreactor, MBR) 등과 같은 인위적 시스템에서도 발생하고, 장치를 부식 시키거나 오염시켜 효율성을 떨어뜨린다[36, 80, 83]. 특히 하폐수 처리나 음용수 생산 등에 막 시스템의 사용이 점차 확산되고 있으나, 막에 발생하는 biofouling 현상은 공정 상의 문제점으로 남아 있다[17]. 따라서 막을 이용한 수처리 공정에서 문제가 되고 있는 biofouling을 완화시키고자 하는 다양한 전략들이 제시되고 있다. 이러한 막에 생성되는 biofouling을 완화시키기 위한 생물학적 접근법으로 EPS, 단백질, DNA, 세포벽 분해

효소의 사용 등이 소개되고 있지만 아직 실질적 성과는 미미하다[80, 83]. 이미 전술한 바와 같이 생물막 형성에 있어 QS가 핵심적인 역할을 하기 때문에 수생 세균 간 신호전달 체계인 QS를 차단할 수 있다면 분리막 표면에 형성되는 생물막의 형성을 억제할 수 있고, 따라서 QS차단 전략은 막의 biofouling을 제어할 수 있는 새로운 시도로서 제시되고 있다[80]. 이러한 anti-biofouling 전략 중에서 전술한 바와 같이 AHL 수용체에 작용하는 furanone이나 vanillin (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) 등과 같은 천연물이나 furanone 유도체 등 합성 QS 저해제를 개발하기 위한 연구가 가장 활발히 이루어지고 있다[31]. 또한 AHL 분해효소도 biofouling을 억제하기 위해 사용될 수 있다. 하폐수 처리를 위한 MBR의 분리막 공정에서 운전 중에 생물막 형성으로 인한 biofouling 때문에 투수도 감소 등의 문제가 발생한다. 이를 해결하기 위해 하폐수 처리를 위한 MBR공정에서 quorum quenching 효소인 porcine kidney acylase I을 이용하여 처리하였을 경우 대조구에 비해 막 오염이 감소하고, 막 사이의 압력이 감소하였다[82]. 이 후 하폐수에서의 QQ 효소에 의한 biofouling 억제 효과를 높이기 위해 실제 하폐수에서 자생하는 QQ 세균인 *Rhodococcus* sp. 균주를 분리하였으며, 이러한 분리 균주 자체를 이용하여 MBR에 적용한 결과 역시 막 오염이 감소하고 막 투과성이 개선되었다[48]. 실험실 스케일에서의 이러한 개선된 막 투과성은 아마도 AHL의 분해를 통해 막에 생기는 biofouling이 감소하였기 때문일 것으로 생각하며, 이러한 결과는 아직 해결해야 할 많은 문제가 있음에도 불구하고 QQ 효소나 미생물을 이용하여 biofouling을 감소시킬 수 있는 새로운 가능성을 제시하고 있다. 그러나 생물막 형성 자체가 상당히 복잡하고 여러 조절 메커니즘이 복합적으로 작용하기 때문에 이러한 QQ 효소 뿐만 아니라 AI-2를 불활성화시킬 수 있는 Lsr kinase (LsrK) 효소를 비롯하여 경우에 따라 c-di-GMP-결합단백질(biofilm dispersal via c-di-GMP, BdcA)이나 c-di-GMP 분해효소인 c-di-GMP phosphodiesterase (PDE), 또한 dispersin B 등과 같이 생물막 구성 성분인 EPS, e-DNA, 단백질을 분해시킬 수 있는 가수분해 효소 등을 일부 복합적으로 이용할 수 있다면 biofouling을 보다 효과적으로 억제시킬 수 있을 것이다[35, 60, 78, 80].

결론 및 전망

본 총설에서는 QS과 biofilm 형성과의 관계 및 생물막을 억제하기 위한 새로운 접근법으로서 QQ 효소를 이용한 QS 저해 등에 대한 연구 동향에 대해 정리하였다. 세균들 간 통신을 통해 집단적 활성을 변화시킬 수 있는 QS에 대한 개념이 발표된 이후 세균의 다세포적 움직임에 대한 연구가 진행되어 QS의 기능에 대한 새로운 사실들이 속속 규명되고 있다. 그간의 연구로 인해 QS system에 의한 세포 내 조절

메커니즘은 비교적 자세히 규명되어 있으나, 아직도 특정 생태계에서 다양한 세균들에 의한 QS 시스템의 실제적 역할에 대해서는 풀어야 할 의문이 많이 있어 앞으로 이에 대한 구체적 규명 연구가 이루어 질 수 있을 것이다. 지금까지는 주로 AI-1 (AHL), AI-2, AI-3 및 일부 polypeptide 신호분자를 중심으로 연구가 이루어졌으나, QS 연구가 병원성 세균 뿐만 아니라 다양한 환경에 존재하는 여러 종류의 세균을 대상으로 확대되고 있기 때문에, 이런 특정한 미생물 생태계에 존재하는 다양한 새로운 신호물질들을 규명하고 이들의 기능 규명에 대한 연구도 필요할 것이다. 한편 QS와 생물막 형성의 관련성이 활발히 보고 되고 있으나, 많은 세균에서의 생물막 형성 메커니즘 및 조절의 다양성 때문에 생물막 형성과 관련된 QS의 구체적 역할은 아직 규명되어야 할 과제로 남아있다. 향후 생물막 형성 및 억제와 관련하여 다양한 분자적 메커니즘이 규명된다면, 생물공학적 응용을 위해서 QS 시스템의 조작을 통해 이로운 생물막의 경우 형성을 촉진시키거나, 문제가 되는 생물막은 형성을 억제시키는 것과 같이 원하는 방향으로 유도할 수 있을 것이다[26, 78]. 특히 의학, 환경 및 산업적 응용 분야에서는 QS와 생물막 형성의 밀접한 관계로 인하여 Anti-QS 방법을 통하여 생물막 형성을 억제하고자 하는 새로운 연구 전략들이 보고되고 있다[10, 63]. 현재까지는 이러한 Anti-QS 응용 연구가 주로 항감염제 개발을 위한 연구에 집중되어 왔으나, 향후 환경 및 산업적 응용 분야로 확산되어 더욱 다양한 응용 연구가 이루어질 것이다. 물론 다양한 세균들이 서식하고 있는 생태계에서는 특정 Anti-QS 전략이 생물막과 관련된 모든 문제를 해결해 줄 수 있는 것은 아니라 하더라도, 생물막 형성을 완화시킬 수 있는 부분적 해결 방법이 될 수 있을 것이다. 예를 들면 비록 일부 세균에서 QS-비의존적인 생물막 형성 메커니즘이 존재할 수 있지만, 다양한 Anti-QS 전략은 막을 이용한 수처리 공정에서 문제가 되고 있는 membrane biofouling을 완화시키고자 하는 anti-fouling 전략 수립을 위한 새로운 타겟이 될 것이다. 그러나 전술한 바와 같이 생물막 형성과 관련하여 다양한 세균 및 신호물질에 의한 QS가 존재하며, 또한 여기에 다양한 조절 메커니즘이 복합적으로 관여하고 있기 때문에 실질적인 anti-biofilm 혹은 anti-fouling을 위해서는 향후 효과적인 QQ 공정 개발 및 더욱 복합적인 QQ 접근 방법에 대한 연구가 필요할 것이다.

요 약

본 총설은 *N*-acyl-homoserine lactone (AHL)에 기반한 quorum sensing(QS)을 비롯한 다양한 QS 시스템 및 생물막 형성과의 관련성에 대한 연구 동향을 정리하였다. 또한 anti-QS으로서 quorum quenching 전략을 이용한 생물막 억제 연구 동향에 대해 중점적으로 서술하였다. 세균의 독특한 신호전달 체계인 QS는 AHL과 같은 특정한 신호분자의 농도

에 의해 세균의 집단적 행동 양식이 결정되는 세포밀도-의존성 유전자 발현 조절 메커니즘이다. QS 시스템은 미생물의 부착 및 생물막 형성에 있어 중요한 역할을 한다. AI-1이나 AI-2에 의한 QS는 생물막 형성 과정에 필요한 세포외 다당류, 단백질, 세포 외 DNA 등 주요한 구성 성분 등의 생산뿐만 아니라, 세균의 운동성 조절, 부착, 생물막 해체 과정 까지도 조절하는 기능을 한다. 일부 세균의 경우 QS시스템 이외에도 second messenger로 알려진 c-di-GMP에 의한 signaling이 QS와 서로 연결되어 생물막 형성이나 병독성과 같은 타깃들을 함께 조절한다. 생물막은 병원성 세균에 의한 감염 시 여러 가지 병독성 가운데 가장 중요한 요소 중 하나이기 때문에, 생물막 형성을 조절하는 QS를 차단하기 위한 다양한 anti-quorum sensing 전략이 연구되고 있다. Anti-QS 접근 방식은 의학적 이용뿐만 아니라 물에 노출되어 있는 MBR을 비롯한 많은 산업적 장치 등에서 생물막 형성으로 인한 손상 및 오염을 방지하기 위해 쓰일 수 있다. Anti-QS 전략 중 신호분자인 AHL을 무력화 시키는 quorum quenching 효소(AHL-lactonase, AHL-acylase, oxidoreductas)를 이용하여 생물막 형성을 억제할 수 있으며, 막을 이용한 수처리 공정에서 막에 발생하는 biofouling을 완화시킬 수 있는 새로운 anti-fouling 처리 기술로서 이러한 QQ 효소의 적용 가능성을 보여 주고 있다.

Acknowledgement

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (2011-0027404).

REFERENCES

1. Aguilar, C., A. Carlier, K. Riedel, and L. Eberl. 2010. Cell-cell communication in biofilms of Gram-Negative bacteria. p. 23-40. In R. Kramer, and K. Jung (eds.), *Bacterial Signaling*, WILEY-VCH.
2. Allesen-Holm, M., K. B. Barken, L. Yang, M. Klausen, J. S. Webb, S. Kjelleberg, S. Molin, M. Givskov, and T. Tolker-Nielsen. 2006. A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* and biofilms. *Mol. Microbiol.* **59**: 1114-1128.
3. 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.
4. Barrios, A. F. G., R. J. Zuo, Y. Hashimoto, L. Yang, W. E. Bentley, T. K. Wood. 2006. Autoinducer 2 controls biofilm formation in *Escherichia coli* through a novel motility quorum-sensing regulator (MqsR, B3022). *J. Bacteriol.* **188**: 305-3116.
5. 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.
6. Bokhove, M., P. N. Jimenez, W. J. Quax, and B. W. Dijkstra. 2010. The quorum-quenching N-acyl homoserine lactone acylase PvdQ is an Ntn-hydrolase with an unusual substrate-binding pocket. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**: 686-691.
7. Boles, B. R., M. Thoendel, and P. K. Singh. 2005. Rhamnolipids mediated detachment of *Pseudomonas aeruginosa* from biofilms. *Mol. Microbiol.* **57**: 1210-1223.
8. Camps, J., I. Pujol, F. Ballester, J. Joven, and J. M. Simó. 2011. Paraoxonases as potential antibiofilm agents: Their relationship with quorum-sensing signals in Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**: 1325-1331.
9. Chen, X., S. Schauder, N. Potier, A. Van Dorsselaer, I. Pelczar, B. L. Bassler, and F. M. Hughson. 2002. Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron. *Nature* **415**: 545-549.
10. Choudhary, S., and C. Schmidt-Dannert. 2010. Applications of quorum sensing in biotechnology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **86**: 1267-1279.
11. Chow, J. Y., L. Wu, and W. S. Yew. 2009. Directed evolution of a quorum-quenching lactonase from *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* K-10 in the amidohydrolase superfamily. *Biochemistry* **48**: 4344-4353.
12. Chowdhary, P. K., N. Keshavan, H. Q. Nguyen, J. A. Peterson, J. E. González, and D. C. Haines. 2007. *Bacillus megaterium* CYP102A1 oxidation of acyl homoserine lactones and acyl homoserines. *Biochemistry* **46**: 14429-14437.
13. Cotter, P. A. and S. Stibitz. 2007. c-di-GMP-mediated regulation of virulence and biofilm formation. *Curr. Opin. Microbiol.* **10**: 17-23.
14. Davies, D. 2003. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2**: 114-122.
15. 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.
16. Dickschat, J. S. 2010. Quorum sensing and bacterial biofilms. *Nat. Prod. Rep.* **27**: 343-369.
17. Dobretsov, S., M. Teplitski, and V. Paul. 2009. Mini-review: quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling. *Biofouling* **25**: 413-427.
18. 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.
19. 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.
20. Flemming, H. C., T. R. Neu, and D. J. Wozniak. 2007. The

- EPS Matrix: The "House of Biofilm Cells". *J. Bacteriol.* **189**: 7945-7947.
21. 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.
 22. Fux, C. A., P. Stoodley, L. Hall-Stoodley, and J. W. Costerton. 2003. Bacterial biofilms: a diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **1**: 667-683.
 23. Hall-Stoodley, L., J. W. Costerton, and P. Stoodley. 2004. Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**: 95-108.
 24. Hammer, B., and B. L. Bassler. 2008. Signal integration in the *Vibrio Harveyi* and *Vibrio cholerae* quorum-sensing circuits. p. 323-332. In S. C. Winans and B. L. Bassler (eds.), *Chemical Communication Among Bacteria*, ASM Press, USA.
 25. Hentzer, M., K. Riedel, T. B. Rasmussen, A. Heydorn, J. B. Anderson, M. R. Parsek, S. A. Rice, L. Eberl, S. Molin, N. Hoiby, S. Kjelleberg, and M. Givskov. 2002. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology* **148**: 87-101.
 26. Hong, S. H., M. Hegde, J. Kim, X. Wang, A. Jayaraman, and T. K. Wood. 2012. Synthetic quorum-sensing circuit to control consortial biofilm formation and dispersal in a microfluidic device. *Nat. Commun.* **3**: 613. doi: 10.1038/ncomms1616.
 27. Huang J. J., A. Petersen, M. Whiteley, and J. R. Leadbetter. 2006. Identification of QuiP, the product of gene PA1032, as the second acyl-homoserine lactone acylase of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**: 1190-1197.
 28. Jenal, U. 2004. Cyclic di-guanosine-monophosphate comes of age: a novel secondary messenger involved in modulating cell surface structures in bacteria? *Curr. Opin. Microbiol.* **7**: 185-191.
 29. Jiang, P., L. Jingbao, F. Han, G. Duan, X. Lu, Y. Gu, and W. Yu. 2011. Antibiofilm activity of exopolysaccharide from marine bacterium *Vibrio* sp. QY101. *PLoS ONE* **6**: e18514.
 30. Kalia, V. C., S. C. Raju, and H. J. Purohit. 2011. Genomic analysis reveals versatile organisms for quorum quenching enzymes: Acyl-homoserine lactone-acylase and -lactonase. *Open Microbiol. J.* **5**: 1-13.
 31. Kappachery, S., D. Paul, J. Yoon, and J. H. Kweon. 2010. Vanillin, a potential agent to prevent biofouling of reverse osmosis membrane. *Biofouling* **26**: 667-672.
 32. de Kievit, T. R., and B. H. Iglewski. 2000. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect. Immun.* **68**: 4839-4849.
 33. Kim, M. H., W. C. Choi, H. O. Kang, J. S. Lee, B. S. Kang, K. J. Kim, Z. S. Derewenda, T. K. Oh, C. H. Lee, and J. K. Lee. 2005. The molecular structure and catalytic mechanism of a quorum-quenching *N*-acyl-L-homoserine lactone hydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**: 17606-17611.
 34. Kjelleberg, S. and S. Molin. 2002. Is there a role for quorum sensing signals in bacterial biofilms? *Curr. Opin. Microbiol.* **5**: 254-258.
 35. Landini P., D. Antoniani, J. G. Burgess, and R. Nijland. 2010. Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **86**: 813-823.
 36. Lazar, V. 2011. Quorum sensing in biofilms – How to destroy the bacterial citadels or their cohesion/power? *Anaerobe* **17**: 280-285.
 37. 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.
 38. 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.
 39. 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.
 40. Medina G., K. Juárez, and G. Soberón-Chávez. 2003. The *Pseudomonas aeruginosa* *rhlAB* operon is not expressed during the logarithmic phase of growth even in the presence of its activator RhIR and the autoinducer *N*-butyryl-homoserine lactone. *J. Bacteriol.* **185**: 377-380.
 41. Mei, G. Y., X. X. Yan, A. Turak, Z. Q. Luo, and L. Q. Zhang. 2010. AidH, an alpha/beta-hydrolase fold family member from an *Ochrobactrum* sp. strain, is a novel *N*-acylhomoserine lactonase. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**: 4933-4942.
 42. Miller, M. B., and B. L. Bassler. 2001. Quorum sensing in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**: 165-199.
 43. Momb, J., D. W. Yoon, and W. Fast. 2010. Enzymic disruption of *N*-aroyl-L-homoserine lactone-based quorum sensing. *ChemBioChem* **11**: 1535-1537.
 44. Nadell, C. D., J. B. Xavier, and K. R. Foster. 2009. The sociobiology of biofilms. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**: 206-224.
 45. Natrah, F. M., T. Defoirdt, P. Sorgeloos, and P. Bossier. 2011. Disruption of bacterial cell-to-cell communication by marine organisms and its relevance to aquaculture. *Mar. Biotechnol.* **13**: 109-126.
 46. Nealson, K. H., and J. W. Hastings. 1979. Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiol. Rev.* **43**: 496-518.
 47. Ng, F. S., D. M. Wright, and S. Y. Seah. 2011. Characterization of a phosphotriesterase-like lactonase from *Sulfolobus solfataricus* and its immobilization for disruption of quorum sensing. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**: 1181-1186.
 48. Oh, H. S., K. M. Yeon, C. S. Yang, S. R. Kim, C. H. Lee, S. Y. Park, J. Y. Han, and J. K. Lee. 2012. Control of membrane biofouling in MBR for wastewater treatment by quorum quenching bacteria encapsulated in microporous membrane. *Environ. Sci. Technol.* **46**: 4877-4884.

49. 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.
50. Park, S. Y., H. O. Kang, H. S. Jang, J. K. Lee, B. T. Koo, and D. Y. Yum. 2005. Identification of extracellular *N*-acylhomoserine lactone acylase from *Streptomyces* sp. and its application to quorum quenching. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 2632-2641.
51. Park, S. Y., B. J. Hwang, M. H. Shin, J. A. Kim, H. K. Kim and J. K. Lee. 2006. *N*-Acylhomoserine lactonase (AHLase) producing *Rhodococcus* sp. with different AHL-degrading activities. *FEMS Microbiol. Lett.* **261**: 102-108.
52. Pesavento, C. and R. Hengge. 2010. c-di-GMP signaling. p. 377-394. In R. Kramer and K. Jung (eds.), *Bacterial Signaling*, WILEY-VCH.
53. Rasmussen, T. B. and M. Givskov. 2006. Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects. *Microbiology* **152**: 895-904.
54. Reimmann, 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.
55. 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.
56. Rickard A. H., R. J. Palmer Jr., D. S. Blehert, S. R. Campagna, M. F. Semmelhack, P. G. Eglund, B. L. Bassler, and P. E. Kolenbrander. 2006. Autoinducer 2: a concentration-dependent signal for mutualistic bacterial biofilm growth. *Mol. Microbiol.* **60**: 1446-1456.
57. Romero, M., A. B. Martin-Cuadrado, A. Roca-Rivada, A. M. Cabello, and A. Otero. 2011. Quorum quenching in cultivable bacteria from dense marine coastal microbial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* **75**: 205-217.
58. Römling, U., M. Gomelsky, and M. Y. Galperin. 2005. C-di-GMP: the dawning of a novel bacterial signaling system. *Mol. Microbiol.* **57**: 629-639.
59. Ross, P., H. Weinhouse, Y. Aloni, D. Michaeli, P. Weinberger-Ohana, R. Mayer, S. Braun, E. de Vroom, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, and M. Benziman. 1987. Regulation of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum* by cyclic diguanylic acid. *Nature* **325**: 279-281.
60. Roy, V., R. Fernandes, C. Y. Tsao, and W. E. Bentley. 2010. Cross species quorum quenching using a native AI-2 processing enzyme. *ACS Chem. Biol.* **5**: 223-232.
61. 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.
62. Schipper, C., C. Hornung, P. Bijtenhoorn, M. Quitschau, S. Grond, and W. R. Streit. 2009. Metagenome-derived clones encoding two novel lactonase family proteins involved in biofilm inhibition in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**: 224-233.
63. Shrout J. D., and R. Nerenberg. 2012. Monitoring bacterial twitter: does quorum sensing determine the behavior of water and wastewater treatment biofilms? *Environ. Sci. Technol.* **46**: 1995-2005.
64. Sintim, H. O., J. A. Smith, J. Wang, S. Nakayama, and L. Yan. 2010. Paradigm shift in discovering next-generation anti-infective agents: targeting quorum sensing, c-di-GMP signaling and biofilm formation in bacteria with small molecules. *Future Med. Chem.* **2**: 1005-1035.
65. Smith, K. M., Y. G. Bu, and H. Suga. 2003. Induction and inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing by synthetic autoinducer analogs. *Chem. Biol.* **10**: 81-89.
66. Stewart, P. S. and J. W. Costerton. 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* **358**: 135-138.
67. Taga, M. E., and B. L. Bassler. 2003. Chemical communication among bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**: 14549-14554.
68. Teplitski, M., U. Mathesius, and K. P. Rumbaugh. 2011. Perception and degradation of *N*-acyl homoserine lactone quorum sensing signals by mammalian and plant cells. *Chem. Rev.* **111**: 100-116.
69. Uroz, S., S. R. Chhabra, M. Cámara, P. Williams, P. Oger, and Y. Dessaux. 2005. *N*-acylhomoserine lactone quorum-sensing molecules are modified and degraded by *Rhodococcus erythropolis* W2 by both amidolytic and novel oxidoreductase activities. *Microbiology* **151**: 3313-22.
70. Uroz, S., P. Oger, S. R. Chhabra, M. Cámara, P. Williams, and Y. Dessaux. 2007. *N*-acyl homoserine lactones are degraded via an amidolytic activity in *Comamonas* sp. Strain D1. *Arch. Microbiol.* **187**: 249-256.
71. Uroz, S., P. Oger, E. Chapelle, M. Adeline, D. Faure, and Y. Dessaux. 2008. A *Rhodococcus qsdA*-encoded enzyme defines a novel class of large-spectrum quorum-quenching lactonases. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**: 1357-1366.
72. Wahjudi, M., E. Papaioannou, O. Hendrawati, A. H. van Assen, R. van Merkerk, R. H. Cool, G. J. Poelarends, and W. J. Quax. 2011. PA0305 of *Pseudomonas aeruginosa* is a quorum quenching acylhomoserine lactone acylase belonging to the Ntn hydrolase superfamily. *Microbiology* **157**: 2042-2055.
73. Wang, L. H., Y. H. Dong, and L. H. Zhang. 2008. Quorum Quenching: Impact and Mechanisms. p. 379-392. In S. C. Winans and B. L. Bassler (eds.), *Chemical Communication Among Bacteria*, ASM Press, USA.
74. Watnick, P. and R. Kolter. 2000. Biofilm, city of microbes. *J. Bacteriol.* **182**: 2675-2679.
75. Whitchurch, C.B., T. Tolker-Nielsen, P. C. Ragas, and J. S. Mattick. 2002. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science* **295**: 1487.
76. 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.
77. Whitehead, N. A., M. Welch, and G. P. Salmond. 2001.

- Silencing the majority. *Nat. Biotechnol.* **19**: 735-736.
78. Wood, T. K., S. H. Hong, and Q. Ma. 2011. Engineering biofilm formation and dispersal. *Trends Biotechnol.* **29**: 87-94.
79. Xavier, K. B. and B. L. Bassler. 2005. Interference with AI-2-mediated bacterial cell-cell communication. *Nature* **437**: 750-753.
80. Xiong, Y., and Y. Liu. 2010. Biological control of microbial attachment: a promising alternative for mitigating membrane biofouling. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **86**: 825-837.
81. Yang, L., K. B. Barken, M. E. Skindersoe, A. B. Christensen, M. Givskov, and T. Tolker-Nielsen. 2007. Effect of iron on DNA release and biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology* **153**: 1318-1328.
82. Yeon, K. M., W. S. Cheong, H. S. Oh, W. N. Lee, B. K. Whang, C. H. Lee, H. Beyenal and Z. Lewandowski. 2009. Quorum Sensing: A New biofouling Control Paradigm in a Membrane Bioreactor for Advanced Wastewater Treatment. *Environ. Sci. Technol.* **43**: 380-385.
83. Zuo, R. 2007. Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **76**: 1245-1253.