

Minority report; *Pseudomonas aeruginosa*의 정족수 인식(쿼럼 센싱) 신호물질로써의 Diketopiperazines과 Pyocyanin

이준희

부산대학교 약학대학 약학과

*Pseudomonas aeruginosa*는 기회 감염성 병원균으로, Cystic fibrosis, 미생물 감염성 각막염, 화상 부위 2차 감염 등의 다양한 질병을 초래한다. 정족수 인식(쿼럼 센싱)이라고도 알려져 있는 세포간 신호전달 기전이 이러한 감염에서 중요한 역할을 하기 때문에 *P. aeruginosa*의 정족수 인식 시스템들이 집중적으로 연구되어 왔다. *P. aeruginosa*의 정족수 인식 시스템들을 소개하는 많은 문헌들이 주로 두 개의 주요 acyl-homoserine lactone (AHL) 계열 정족수 신호물질들인 N-3-oxododecanoyl homoserine lactone (3OC12)과 N-butanoyl homoserine lactone (C4)에 초점을 맞추어 설명하고 있지만, 실제로는 몇 가지 새로운 신호물질들이 발견되어져 왔고, 그들이 *P. aeruginosa*의 병독성과 신호전달에 중요한 역할을 할 수 있음이 제안되어져 왔다. 그 중 하나가 PQS (Pseudomonas quinolone signal; 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone)인데, 이 물질은 현재 *P. aeruginosa*의 잘 규명된 주요 신호물질로 인식되고 있다. 이에 더하여, 최근의 연구들은 또 다른 가능성 있는 *P. aeruginosa* 신호물질들을 제안해 왔는데, diketopiperazines (DKPs)과 pyocyanin이 그들이다. DKPs는 환형 dipeptide로써 이를 구성하는 아미노산의 종류에 따라 다양한 구조를 가진다. *P. aeruginosa*의 배양액에서 검출된 몇몇 DKPs들이 기존에는 AHL에만 특이적으로 반응한다고 알려졌던 *Vibrio fischeri* LuxR biosensor를 활성화시킬 수 있다는 것이 발견되어 새로운 신호물질로 제안되었다. Pyocyanin (1-hydroxy-5-methyl-phenazine)은 *P. aeruginosa*가 생산하는 여러 phenazine 화합물들 중의 하나로써, 특징적인 청록색을 띠는 산화-환원 활성물질이다. 이 물질도 정제 성장기 동안 일부 정족수 인식의 조절을 받는 유전자들의 발현을 증가시키는 최종 신호 인자로 최근 제안되었으며, 그 신호는 또 다른 전사 조절 인자인 SoxR에 의해 매개된다고 제안되었다. 본 논문에서는 *P. aeruginosa*에서 새롭게 발견, 제안되고 있는 이들 신호 전달 물질들에 대해 자세히 다루어 보기로 한다.

Key words □ anthranilate, bacterial cell to cell signaling, diketopiperazine, phenazine, *Pseudomonas aeruginosa*, pyocyanin, quorum sensing

생명활동에서 개체간, 혹은 세포간 신호 전달은 매우 중요한 과제이며, 이를 위해 고등생물체들은 호르몬이나 페로몬과 같은 신호체계를 발전시켜 왔다. 지난 이십 여 년간 미생물학 분야에서도 이러한 개체간 신호전달체계의 존재가 밝혀졌으며, 최근에는 주변 환경변화에 대처하여 개체간 신호전달을 통해 전체 미생물 군집이 고도로 통일된 집단적, 사회적 행동을 보여주는 현상을 연구하는 사회 미생물학(Sociomicrobiology)이라는 새로운 영역을 개척해 나가고 있다(29).

처음 세포밀도를 인지하는 기전으로 알려졌던 정족수 인식(쿼럼 센싱)은 최근에는 미생물의 세포간 신호전달 현상 전체를 통칭하는 용어로 사용되고 있다. 정족수 인식은 신호물질과, 신호물질 합성효소, 그리고 신호물질 수용체에 의해 일어난다. 이중 신호전달의 핵심을 이루는 정족수 신호물질의 경우 미생물에 따라 그 구조와 종류가 매우 다양하다. 이들 중, 그람 양성균의 올리고 펩타이드 계열 신호물질, 그람 음성균의 acyl homoserine lactone (AHL) 계열 신호물질, 그리고 비브리오 균과 장내세균에

서 보이는 furanone 계열의 AI-2 등이 지금까지 집중적으로 연구되어 왔다(43).

대부분의 세균들은 복수의 정족수 신호물질을 생산한다. 같은 계열의 신호물질을 내는 경우에도 그 구조가 조금씩 다른 유사체를 함께 내는 경우가 많은데, 그람 음성균의 경우 lactone이라는 공통구조를 가지면서 acyl기의 길이와 구조에서 조금씩 차이를 가지는 여러 AHL을 생산한다. 경우에 따라서는 분자구조가 전혀 다른 신호물질들을 함께 생산하기도 한다. 예를 들어 *Vibrio harveyi*는 AHL 계열의 AI-1과 furanone 계열의 AI-2를 모두 생산하며(12), 병원성 대장균과 살모넬라균에서는 AI-2와 함께, 이것과는 다른 분자 구조를 가질 것으로 생각되는(아마도 에피네프린 혹은 노르에피네프린과 유사한 구조로 추정되는) AI-3을 함께 생산한다(17, 35).

정족수 인식에 대해 많은 연구가 이루어진 *Pseudomonas aeruginosa*의 경우 N-(3-oxo-dodecanoyl)-L-homoserine lactone (3OC12-HSL)과 N-butyryl-L-homoserine lactone (C4-HSL)을 주 신호물질로 생산한다는 것이 잘 알려져 있고, 보통 *P. aeruginosa*의 정족수 인식이라고 하면 이들 두 신호물질을 중심으로 토의되고 있다(36). 그러나 사실은 배양조건이나 추출방식

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-51-510-2821, Fax: 82-51-513-6754
E-mail: joonhee@pusan.ac.kr

에 따라 소량의 N-hexanoyl-homoserine lactone (C6-HSL)과 3-oxo-hexanoyl homoserine lactone (3OC6-HSL)을 비롯한 조금 다른 형태의 AHL들도 생산, 혹은 검출될 뿐만 아니라(15), AHL과는 전혀 다른 구조의 새로운 신호물질도 생산된다는 사실이 꾸준히 제안되었고, 그들도 생리적으로 매우 중요한 역할을 한다는 것이 보고되고 있다. 대표적인 경우가 PQS (*Pseudomonas* quinolone signal; 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone)인데, 지금은 *P. aeruginosa*의 주 신호물질로 널리 받아들여지고 있다(6, 14). PQS 외에도 그 연구 정도가 아직은 많이 부족하지만 *P. aeruginosa*의 새로운 신호물질로 phenazine pyocyanin, diketopiperazines (DKPs) 등이 제안되어 왔다. 특히 DKP는 *Vibrio vulnificus*를 비롯한 *Vibrio* spp.에서도 특정유전자의 발현을 조절하는 신호물질로 보고된 바 있으며, 많은 다른 세균들도 DKPs를 생산한다는 것이 알려져 있어, 매우 보편적인 신호물질로 작용할 가능성이 높다(1, 27)

본 총설에서는 아직 주류 신호물질로 여겨지지는 않고 있지만 새롭게 *P. aeruginosa*의 신호물질로 제안되었던 이들 DKPs, phenazine pyocyanin 등에 대해 알아보기로 하겠다.

본 론

Diketopiperazines (DKPs)

Diketopiperazine (DKP)은 현재 알려진 가장 작은 cyclic peptide 구조 화합물로서, 두개의 아미노산이 이중 펩타이드 결합으로 연결되어 환형 락탐 구조를 형성한 유기물 전체를 뜻하기 때문에 한가지 정해진 구조가 아니라 결합을 이루는 아미노산의 종류에 따라 매우 다양한 구조를 가질 수 있다(Fig. 1). DKPs는 포유류를 포함하여 많은 생명체, 특히 해양 무척추 동물에서 분리되는 세균을 비롯하여 많은 미생물에서 이차 대사 산물로 생성되기 때문에 자연계 천연물속에 광범위하게 존재한다(2, 20, 23). 이들은 항암, 항바이러스, 항진균, 항세균 등 다양한 활성을 가지며, plasminogen activator inhibitor-1의 활성 저해 및 심장 혈관계와 혈액 응고 기능의 변화 등 중요한 활성과 관련되어 있어, 일찍부터 관심을 받아온 물질이다(20, 23). 또한 DKPs는 의약학적으로 관심을 가질만한 화학적 특징들을 가지는데, proteolysis에 대한 저항성, 약리작용을 가지는 펩타이드 기능기(peptidic pharmacophoric 집단)에 대한 구조적 모방, 수소결합을 위한 donor 혹은 acceptor 기능, 구조적 경직성, 입체 화학적으로 다양한 치환기 등이 그것이다(23). 이는 DKPs가 약리학

(pharmacodynamic)적으로나 약물동력학(pharmacokinetic)적으로 신약 개발을 위해 선호될 수 있는 특수 구조(privileged structure)를 가짐을 의미한다(23). 이와 함께, 쉽게 합성이 될 수 있다는 점 때문에 천연물 화학과 유기 화학 양 분야에서 신물질 탐색을 위한 좋은 타겟이었다.

생물학적으로 DKPs는 단백질 분해 과정에서 생긴 단순 부산물로 생각되기도 하지만, 특정 기능을 가진 이차 대사산물로 형성된다고 보기도 한다(23). DKPs들의 생합성에 대해서는 그리 많이 밝혀져 있지 않으나, 미생물에서는 일반적으로 리보솜과는 무관한 경로로 합성된다고 생각되었고, 특정 세균에서는 DKP 합성과 관련된 유전자 cluster가 보고되기도 하여(20), 이들이 특정 기능을 위해 능동적으로 합성된다고 여겨진다.

DKPs가 정족수 인식에 관여한다는 보고는 Holden 등에 의해 *Pseudomonas*에서 처음 보고되었다(15). *P. aeruginosa* 추출물에서 AHL이 아닌 화합물이 *Vibrio fischeri*의 LuxR을 이용한 biosensor 시스템을 활성화 시킬 수 있고, 그것이 DKPs의 일종인 cyclo(Δ Ala-L-Val), cyclo(L-Pro-L-Tyr)로 밝혀진 것이다(Fig. 1). 이 결과로부터 DKPs는 그것을 위한 독립적인 수용체가 발견되지 않았음에도, LuxR과 같은 AHL의 신호경로를 이용하여 수용되거나, 이와 cross talk을 할 수 있는 신호 물질로 제안되었다(14, 15). Cyclo(Δ Ala-L-Val)은 *P. aeruginosa* 이외에도 *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*에서, cyclo(L-Pro-L-Tyr)는 *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*에서 각각 검출되었다(15). 한편, 다른 *Pseudomonas* 종인 *Pseudomonas fluorescens*와 *Pseudomonas alcaligenes*의 배양액에서는 약간 다른 구조의 cyclo(L-Phe-L-Pro)가 발견되었는데, 이것도 역시 같은 biosensor를 활성화 시킬 수 있었다. 이들 세 DKP들은 0.3 mM 정도의 농도에서 *V. fischeri* LuxR을 활성화 시키기 시작하여 5 mM 정도에서 최고로 활성화 시켰는데, 이는 LuxR의 원래 신호 물질인 3OC6-HSL과 비교했을 때 약 100,000배 정도 높은 농도를 요구하는 것이다(3OC6-HSL의 induction threshold는 약 1 nM)(15).

이러듯 신호물질로 생각하기에는 지나치게 높은 농도를 요구한다는 점과, DKPs 추출은 *Pseudomonas*에서 한 반면, 활성은 *V. fischeri* LuxR로 했다는 점 때문에 DKPs에 대한 적절한 수용체가 AHL receptor가 아닐 수 있다는 점도 조심스럽게 제기되었다(30). Holden 등은 *P. aeruginosa* 배양액에서 추출된 cyclo(Δ Ala-L-Val)이 *P. aeruginosa*의 주요 신호물질인 3OC12-HSL의 수용체인 LasR을 활성화 시킬 수 있음을 함께 보고하여, 이들이 생리적으로 중요할 수 있음을 제안하였으나, 여전히 cyclo(Δ Ala-L-Val)이 LasR을 활성화 시키기 위해서 필요한 농도(1 mM 이상)는 원 신호물질인 3OC12-HSL에 비해(수 nM 수준) 극히 높았다(15).

한편, DKPs가 여러 미생물에서 생성되기 때문에 이들 이외에 다른 세균에서 검출되는 DKPs도 같은 활성을 보이는지 조사해 보았을 때, cycle(L-Ala-L-Pro), cycle(L-Leu-L-Pro), cycle(L-Met-L-Pro), cycle(L-Pro-L-Val) 중에서 오직 cycle(L-Met-L-Pro)만이 *V. fischeri* LuxR biosensor를 활성화 시킬 수 있었다(15). 이는

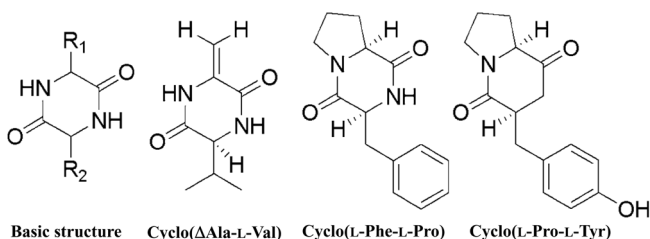


Fig. 1. The molecular structures of Diketopiperazines.

AHL 수용체 활성화가 DKPs 구조 중 공통 부분, 즉 cyclic peptide 부분 외에도 주변 기능기(Fig. 1 기본 구조의 R1 혹은 R2)의 구조에 영향을 받음을 의미하는 것이다. 흥미롭게도 cycle(L-Met-L-Pro)는 *P. aeruginosa*의 배양액에서는 발견되지 않았으면서도 비록 매우 높은 농도(1 mM 이상)이긴 하지만 *P. aeruginosa*의 LasR을 활성화 시킬 수 있었다(15). 이 결과는 DKPs를 통해 이중간의 cross talk이 가능하다는 것을 시사한다.

한편 비록 역시 높은 농도에서 이긴 하지만 AHL 수용체가 AHL에 의해 활성화 되는 것을 DKPs가 경쟁적으로 저해할 수 있다는 것이 관찰되었다. *V. fischeri* LuxR biosensor assay에서 위에서 언급된 DKPs들이 3OC6-HSL과 경쟁하여 LuxR 활성화를 저해하는 능력을 보였으며, 1.56 nM 3OC6-HSL에 의한 LuxR 활성화를 50% 저해하기 위해 필요로 하는 농도는 대략 0.4~3 mM 수준이었는데, 이는 200,000~2,000,000배 정도 molar excess를 필요로 한다는 것을 의미한다(15). 흥미로운 점은 cycle(L-Ala-L-Pro), cycle(L-Leu-L-Pro), cycle(L-Pro-L-Val) 등은 *V. fischeri* LuxR을 활성화 시키지는 못한 반면 경쟁적 저해는 시킬 수 있었다는 점이다(15). 이 결과는 앞서 AHL 수용체 활성화가 DKPs의 주변 기능기의 구조에 영향을 받는다는 점과 함께, AHL과의 경쟁에는 DKPs의 공통 구조인 cyclic dipeptide moiety가 중요함을 암시한다고 볼 수 있다. 경쟁적 저해는 DKPs가 AHL 결합 부위에 직접 경쟁적으로 결합하기 때문에 일어난다고 추측되는데, 모든 DKPs가 공통적으로 cyclic dipeptide moiety를 가지고 있으므로 일단 AHL 결합부위에 결합할 수 있을 것이고, 이러한 DKPs의 결합에 의해 유도되는 LuxR의 삼차구조 변화가 전사 활성화를 위해 적절한 형태인지 여부는 주변 기능기의 구조에 의해 결정된다고 생각할 수 있다. 현재까지의 결과로는 LuxR의 활성화를 위한 리간드로써 DKPs는 AHL보다 훨씬 좋지 못한 것으로 판단된다. 따라서 결합은 하더라도 LuxR을 활성 구조로 변화시키지 못하는 DKPs는 AHL의 작용을 경쟁적으로 저해하기만 하고, 활성 구조로 변화시킬 수 있는 DKPs도 AHL만큼 적절한 삼차구조를 유도하지는 못하기 때문에 결과적으로 AHL과 함께 있을 때는 AHL의 기능을 저해하는 것으로 생각할 수 있다. 실제로 cycle(L-Met-L-Pro)의 경우, 조사된 DKPs 중에서 가장 강력한 LuxR activator이면서 가장 약한 경쟁적 저해효과를 보였는데, AHL 없이 cycle(L-Met-L-Pro)만 처리하면 LuxR이 활성화 되지만, 이는 AHL만 처리했을 때 보다 훨씬 낮은 정도의 활성이고, AHL과 함께 cycle(L-Met-L-Pro)를 처리한다면 AHL만 처리했을 때 보다 낮은 활성을 보인다. 마찬가지로 LuxR activator인 다른 DKPs도 AHL과 함께 처리하면 경쟁적 저해 효과를 보인다.

수용체를 활성화 시키기 위해 극도로 높은 농도를 요구한다는 점은 DKPs에 의한 신호전달이 생리적으로 중요한 역할을 할 것이라고 보기 어렵게 만드는 요인이었다. 이 때문에 실제로 정족수 인식 관련 중요한 생리적 현상이 DKPs에 의해 영향 받는지 조사되었다. 여러 가지 현상 중에서 야생형 *Serratia liquefaciens*의 swarming 현상이 0.015 mM cyclo(L-Pro-L-Tyr)에 의해 의미 있게 저해되었으며, 특히 AHL 합성이 결핍된 *S. liquefaciens* 돌연변이

주를 150 nM AHL (C4-HSL)로 complementation 하여 swarming을 회복시켜 주었을 때도 0.015 mM cyclo(L-Pro-L-Tyr)가 이 회복을 저해할 수 있었다(15). 이러한 농도는 AHL보다 100배 정도 높은 농도에서 의미 있는 저해 효과를 본 것으로, *V. fischeri* LuxR reporter를 이용한 assay에 비해 크게 낮은 농도였다.

DKPs과 정족수 인식의 연관성은 다른 세균에서도 발견되었다. 식물의 성장을 촉진하는 세균인 *Pseudomonas putida* WCS358에서도 cyclo(L-Pro-L-Tyr), cyclo(L-Pro-L-Leu), cyclo(L-Phe-L-Pro), cyclo(L-Val-L-Leu) 등 여러 DKPs가 검출되고, LuxR-type 수용체들을 활성화 시킬 수 있다는 것이 보고되었다(3). 또한 *Vibrio vulnificus*를 비롯한 다수의 *Vibrio* spp.에서 cyclo(L-Phe-L-Pro) (cFP)가 생성되며, 이는 LuxR biosensor를 활성화 시킬 뿐만 아니라 자신들의 유전자인 *ompU*의 발현을 유도한다는 것이 최근 보고되었다(27). 특히 *Vibrio cholera*에서는 콜레라 독소 유전자인 *ctx*의 발현도 유도하는 것으로 밝혀졌다(27). 이러한 발현조절은 ToxR 전사 조절 단백질에 의해 매개되는 것으로 밝혀졌는데, ToxR이 cyclo(L-Phe-L-Pro)의 직접적 수용체인지는 아직 명확하지 않다. 앞서도 언급한 것처럼 cyclo(L-Phe-L-Pro)는 *P. fluorescens*와 *P. alcaligenes* 등에 의해서도 생성되기 때문에 DKP를 통해 이들 이중간 신호전달이 일어날 가능성도 매우 높다.

사실 DKPs가 *Pseudomonas*의 의미 있는 신호물질로 작용할 수 있다는 것은 여러 면에서 중요성을 가질 수 있다. 첫째, DKPs는 단백질의 분해산물이나 효모, 혹은 진균 발효로부터 검출될 수 있기 때문에 치즈나 맥주 같은 음식물과 음료수에서도 발견된다(15). 이는 세포밀도가 증가하여 신호물질이 축적되기 이전에 미리 신호물질이 존재하거나, 경우에 따라서는 특별히 높은 농도로 농축될 수 있는 환경이 조성될 수 있음을 의미한다. *Pseudomonas*는 ubiquitous하게 존재하는 세균이므로 이런 환경에 쉽게 접근할 수 있고, 증식이나 병독성에 영향을 받을 수 있다. 둘째 *Pseudomonas*는 다숙주 병원균(multi-host pathogen)이다. 따라서 포유류나 식물, 진균류나 다른 세균에도 감염할 수 있다. 그런데 포유류를 포함하여 이들 숙주들이 DKPs를 생산할 수 있으므로 감염과정에서 숙주-*Pseudomonas* 사이에 DKPs를 매개로 하는 신호 전달이 관여할 수 있다. 식물 병원성 진균인 *Alternaria alternata*가 생산하는 cyclo(L-Pro-L-Tyr)와 cyclo(L-Phe-L-Pro)를 비롯한 DKPs들이 phytotoxicity를 가진다는 것과(39), 또 다른 식물 병원성 진균인 *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*의 biocontrol에 *P. fluorescens*가 관련된다는 것이 보고되었다(34). 이 과정에서 이들이 생성하는 DKPs가 어떤 역할을 할 수 있는지 보다 깊은 연구가 필요하다고 생각된다.

마지막으로 중요한 의미를 가지는 것은 세균과 숙주간의 공생 관계에서 DKPs의 신호물질로써의 역할이다. 특정 숙주 속에 공생하는 세균의 경우 숙주와 세균 사이에, 혹은 공생 세균들 사이에 신호물질에 의한 상호작용이 일어날 수 있다. AHL에 의한 정족수 인식 현상도 오징어(*Euprymna scolopes*)의 발광 기관에 높은 농도로 공생하는 *V. fischeri*에 대한 연구로부터 발견되었다(42). 다양한 천연물의 근원으로 생각되는 바다 해면동물(sponge) 또한 많은 세균이 공생하고 있는 생명체이다. 해면동물의

mesohyl matrix에 공생하는 세균이 전체 해면동물 biomass의 60%를 차지할 정도로 해면동물은 미생물들의 발효조와 같은 역할을 하며, 따라서 세균 공생에 대한 좋은 연구 모델이 될 수 있다(13, 24). 흥미롭게도 특정 해면동물들(*Cymbastela concentrica*, *Siphonochalina* sp., and *Tedania digitata*)에 공생하는 세균에서 AHL이 생성되며, 이것이 해면동물과 높은 밀도의 세균 집단이 서로 상호작용하는데 역할을 한다는 주장이 있었다(40). 비슷하게 다른 해면동물(*Mycales laxissima* and *Ircinia strobilina*)에서도 α - 혹은 γ -proteobacteria가 공생하며, 이들로부터 AHL이 생성된다는 보고가 있었다(24). AHL이외의 신호물질도 해면동물 공생 세균에서 검출된 바 있다. 특히 DKPs의 경우, 항생제 활성을 가지는 여섯 가지 다른 구조의 DKPs와 두개의 phenazine alkaloids가 남극해 해면동물(*Isodictya setiflora*)에서 분리된 *P. aeruginosa* 종에서 검출되었다(2, 16). 이 중에는 cyclo(L-Pro-L-Tyr)와 cyclo(L-Phe-L-Pro)도 포함되어 있었다. 또한 한국 근해(경상남도 거제도)에서 채집된 해면동물(*Stelletta* sp.)에서 분리된 *Pseudomonadales*에 속하는 세균인 *Psychrobacter* sp.에서도 항생활성을 가지는 다수의 DKPs들이 분리되었다(Jee H. Jung, personal communication). 이전에도 바다 해면동물에서 antifouling 활성을 가지는 DKPs가 검출된 바가 있는데(1, 11, 38), antifouling 활성은 정족수 인식 같은 세포간 신호전달을 저해 함으로써 생기는 것으로 추측된다는 점에서, 이들 DKPs가 공생 세균간, 혹은 공생 세균과 숙주간의 신호전달이나 신호교란에 관련되어 있을 가능성이 높다. 특히 해면동물의 경우 AHL보다 DKPs가 발견되는 경우가 많기 때문에 공생 세균과 숙주간의 상호 작용에서 DKPs의 역할을 연구하는 좋은 재료가 될 수 있을 것이다.

Phenazine pyocyanin

Pyocyanin은 chloroform-soluble한 1-hydroxy-5-methyl-phenazine으로, *P. aeruginosa*가 정체 성장기에 도달하였을 때 분비하는 여러 phenazine 화합물 중 가장 많은 부분을 차지하는 청록색의 pigment이다(Fig. 2). 이물질 때문에 *P. aeruginosa*의 배양액이나 감염에 의해 생성되는 고름이 녹색을 띠므로 *P. aeruginosa*를 녹농균으로 부른다. 산화-환원 cycling 활성을 가지는 pyocyanin은 다양한 미생물에 대해 항생제 활성을 가질 뿐만 아니라, 포유류 세포의 호흡, 사람의 섬모 운동, epidermal 세포의 성장과 입과구의 증식 등을 저해하기 때문에 통상 병독성 인자라고 생각되어진다(10). 특히 *P. aeruginosa*에 감염된 cystic fibrosis 환자의 폐 분비물에서 pyocyanin이 섬모 운동을 저해할 수 있는 농도로 존

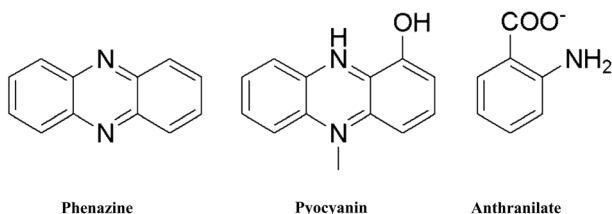


Fig. 2. The molecular structures of phenazine, pyocyanin, and anthranilate.

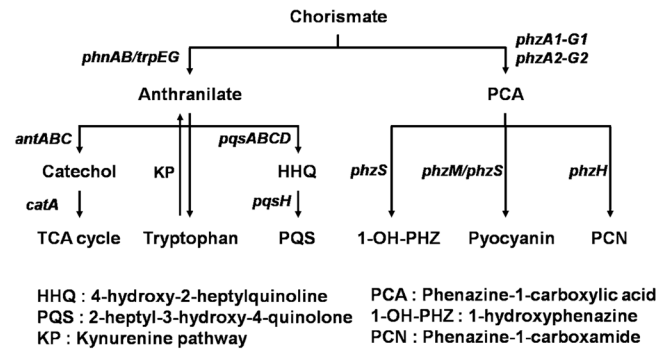


Fig. 3. Metabolic pathways around phenazines, pyocyanin, anthranilate, and PQS in *P. aeruginosa*.

재한다는 것이 밝혀졌는데(44), 이는 실제 감염과정에서 중요한 역할을 할 수 있음을 의미하는 것이다. Pyocyanin이외에도 *P. aeruginosa*는 여러 형태의 phenazine 화합물들을 생산하는데, Fig. 3은 그들의 합성경로를 보여준다(5, 25).

2006년, Caltech의 Dianne Newman 그룹은 Phenazine pyocyanin이 *P. aeruginosa*의 정족수 인식 네트워크의 최종 신호전달 인자라는 사실을 제안하였다(5). 여기서 “최종”이라 함은 LasR-I에 의해서 시작된 AHL 신호가 후기 지수 성장기에 PQS 시스템을 활성화 시킴에 의해 성장에 따른 정족수 유전자 발현의 변화가 완성된다고 보던 것을, PQS 이후에도 정체 성장기에 생성되는 pyocyanin이 다시 신호물질로 작용하여 일부 정족수 유전자 군의 발현을 추가로 유도할 수 있기 때문에 성장 단계에 따른 정족수 유전자 발현의 마지막 변화는 pyocyanin에 의해 완성된다는 의미이다. 이들의 제안은 기존에 PQS에 의해 발현이 유도된다고 생각되던 유전자중 일부가 PQS 없이도 pyocyanin에 의해 발현이 유도될 수 있다는 관찰에서 시작되었다.

mexGHI-opmD (efflux pump를 coding)와 PA2274 (putative flavin-dependent monooxygenase를 coding) 유전자는 최근까지 PQS에 의해 발현이 유도되는 PQS 조절군으로 생각되어왔다(4). 그런데 같은 PQS 조절군인 phenazine 합성 오페론(*phz1* operon)은 정체 성장기 시작 전에 이미 발현이 되는 반면, *mexGHI-opmD*와 PA2274는 정체 성장기에 들어와서야 발현이 된다는 사실로부터, Dietrich 등은 이 두 그룹 유전자의 발현 시점 사이에 어떤 새로운 사건이 일어날 수 있다고 생각하였다. *phz1* operon 발현 산물인 pyocyanin을 비롯한 phenazine 화합물들이 두 시점 사이에 분비되기 때문에 이들이 유전자 발현에 어떤 영향을 미치는지 알아보고자, 외부에서 이들을 첨가한 후 microarray를 통해 transcriptome의 변화를 조사하였다. 그 결과 *mexGHI-opmD*와 PA2274를 포함한 많은 유전자들의 발현이 pyocyanin 처리에 의해 증가 혹은 감소함을 확인하였다(5). 또한 *mexGHI-opmD*와 PA2274의 발현은 PQS 생합성이 결손된 균주에서도 외부에서 pyocyanin을 첨가해 줄 경우 유도될 수 있었다. 이런 결과로부터 *mexGHI-opmD*와 PA2274를 포함하여 과거에 PQS 조절군이라고 생각했던 유전자 중 일부는 실제로는 PQS가 아닌 phenazine pyocyanin에 의해 조절되는 것이며, PQS는 phenazine pyocyanin

의 생합성을 위한 *phz1* operon의 발현 유도를 통해 간접적으로 이들의 발현을 조절하는 것임을 알 수 있었기 때문에, Dietrich 등은 phenazine pyocyanin을 *P. aeruginosa* 정족수 인식 네트워크에서 생성되는 최종 신호물질이라고 제안하고, pyocyanin에 의해 조절되는 유전자 군을 PYO 조절군이라 하였다(5). 예상대로 PYO 조절군의 유전자들은 phenazine pyocyanin의 생합성 오페론이 모두 결손된 균주(*Dphz1/2*)에서는 발현이 유도되지 않았다(5).

그럼 pyocyanin의 수용체 혹은 센서는 무엇일까? 이에 대한 유력한 단서는 다음과 같은 사실들이었다. 1) pyocyanin이 산화-환원 회전성 화합물이다. 2) *Escherchia coli*에서 산화-환원 회전성 화합물은 superoxide를 발생시키고, 이는 SoxR 단백질을 활성화시켜 *soxR*과 divergent 위치에 존재하는 *soxS*의 발현을 증가시키게 된다(31). 그런데 *P. aeruginosa*에서 SoxR homolog는 PA2273이며, 이와 divergent 위치에 있는 유전자가 바로 PYO 조절군에 속하는 PA2274이다. 3) PA2274는 *E. coli* SoxS homolog를 coding하고 있지 않지만 프로모터 상위의 SoxR 결합부위 염기 서열(*soxbox*)은 *E. coli*의 그것과 유사하며, 실제로 *P. aeruginosa* SoxR (PA2273)이 결합할 수 있다(18). 또한 *E. coli*에서처럼 paraquat 처리시 PA2273을 통해 PA2274의 발현이 유도된다(18, 26). 4) PA2274이외에 *mexG*, PA3718도 프로모터에 *soxbox* 유사 염기서열을 가지며 역시 paraquat에 의해 발현이 증가한다(26). 그리고 이들 세 유전자 모두 PYO 조절군에 속한다(5). 이러한 사실로부터 Dietrich 등은 PA2273 결손 균주에서 이들의 pyocyanin에 대한 발현 유도 여부를 조사해 보았는데 예상대로 *mexG*와 PA2274의 발현 유도 현상이 사라졌다(5). 이 결과로부터 Dietrich 등은 pyocyanin이 SoxR (PA2273) 조절 단백질을 통해서 PYO 조절군의 발현을 조절한다고 제안하였다. 그러나 이 제안은 어디까지나 PYO 조절군 유전자들 중 *mexG*, PA2274, PA3718 같이 프로모터에 *soxbox*가 있는 유전자에만 해당되는 것이며, 나머지 *soxbox*가 없는 유전자들은 PA2273 결손에도 pyocyanin에 의한 발현 유도가 영향을 받지 않았다(5). 따라서 이들 *soxbox*를 가지 않는 PYO 조절군 유전자의 발현 조절에는 아직 밝혀지지 않은 또 다른 전사 조절 단백질이 관여할 것으로 생각되며, 이는 앞으로의 연구가 매우 기대되는 부분이다.

매우 흥미로운 사실은 pyocyanin에 의한 SoxR 활성화가 혐기적 상황에서도 여전히 일어난다는 점이다(5). 이는 superoxide를 매개로 하지 않는다는 것을 암시하는 것으로, SoxR의 활성화가 superoxide에 의해 유발되는 산화적 스트레스에 대한 대응 기전이라는 기존 *E. coli* SoxR 패러다임(31)을 *P. aeruginosa*의 SoxR은 따르지 않는다는 것을 의미한다. 비슷하게 다른 연구에서도 *Pseudomonas*의 SoxR이 산화적 스트레스와 관련되지 않는다는 보고가 있었다(18, 26, 28). 그러나 초기 *E. coli* SoxR의 활성화 기전 연구에서도 혐기적 조건에서 diamide, 1,10-phenanthroline (iron-chelating agent), NO 등이 SoxR을 활성화시킬 수 있다는 사실이 제기 되었었고(9, 22, 33), 이 때문에 superoxide이외에도 NADPH/NADP⁺ 혹은 reduced/oxidized “doxins” ratio 같은 다른 redox parameter가 신호가 되어 SoxR을 활성화시킨다는 제안이

있었다(9, 21, 22). 그런 점에서 pyocyanin이 정체 성장기에 pyruvate의 분비를 촉진함에 의해 세포 내 탄소 대사의 흐름을 감소시키고, 그 결과 세포내 NADH 양을 감소시켜 세포내 산화 환원 상태에 영향을 준다는 최근의 연구는 매우 흥미롭다(32). 또한 최근 *E. coli*에서 보고된 세균 사멸성 항생물질의 세균 사멸 유도 기전에 대한 연구는 그 분자 구조에 관계없이 세균 사멸성 항생물질들이 세균내 NADH의 결핍을 유도하여 산화적 스트레스(hydroxyl radical 생성)를 유발한다는 것을 보여주었는데(19), 이런 일련의 새로운 발견들과 함께 pyocyanin 신호전달에서 시작된 연구가 산화적 스트레스 혹은 산화-환원 균형과 관련한 새로운 패러다임을 제시해 줄 수 있을지 주목된다.

한편, *Pseudomonas*가 분비하는 pyocyanin을 비롯한 phenazine 화합물들은 다른 미생물에게는 성장을 억제하는 항생물질 활성을, 감염과정에서는 숙주에 독성을 나타내는 병독성 인자 활성을 보인다. 따라서 *P. aeruginosa* 단일 배양에서의 신호전달 효과에 더하여, 복합균집에서 다른 종의 성장에 영향을 주는 이중종의 신호전달이나, 감염과정에서 숙주-병원균 상호작용의 측면에서 pyocyanin이 어떻게 작용할지 매우 흥미로우며, 보다 심층적인 연구가 기대된다.

Anthranilate

Anthranilate는 PQS 합성을 위한 전구물질이다(Fig. 2). 그러나 PQS 이외에도 Fig. 3에서 보이듯 tryptophan 합성의 전구물질로도 쓰일 수 있고, 혹은 catechol을 거쳐 TCA 회로를 통해 분해되기도 한다(25). 따라서 여러 대사경로로 갈라질 수 있는 branch point에 있는 대사 물질이며, 그 요구도가 높다. Anthranilate는 anthranilate synthase에 의해 합성되는데, *P. aeruginosa*에는 다섯 개 이상의 anthranilate synthase homolog들이 존재하는 것으로 알려져 있으며(8), kynurenine 경로를 통해 tryptophan의 분해를 통해 생성되기도 한다(7).

최근에 *P. aeruginosa*와 *Pseudomonas resinovorans*에서 anthranilate가 세포외부로 분비되고, 이들이 AntR 조절 단백질에 의해 수용되어 *antABC* 오페론의 발현을 유도할 수 있다는 사실이 보고되었다(25, 41). *antABC* 오페론의 발현 증가는 anthranilate를 TCA 회로를 통해 분해하여 에너지 생산에 이용하는 쪽으로의 대사 경로를 유도한다(Fig. 3). 따라서 *antABC* 오페론의 발현 유도는 PQS 합성을 저해함으로써 정족수 인식 신호전달을 변화시키게 된다. Anthranilate는 확산 가능한 분자이므로 PQS 합성이 감소하는 후기 정체 성장기에는 배양액 속으로 분비되어 축적된다(Joon-Hee Lee, unpublished data). 이들은 세포내에서 AntR에 결합하고, AntR-anthranilate 복합체는 *antA* promoter에 결합하여 *antABC* 전사를 유도한다(25). 또한 초기 지수 성장기에 외부에서 anthranilate를 첨가함에 의해 *antABC*의 발현 시점을 앞당길 수 있다(Joon-Hee Lee, unpublished data). 이는 anthranilate가 신호 물질이 가지는 일반적인 특성을 가지고 있음을 의미하는 것이다.

Anthranilate에 의해 정족수 인식이 영향을 받을 뿐만 아니라, anthranilate 합성도 정족수 신호의 영향을 깊이 받는다. *P. aeruginosa*의 정족수 인식 transcriptome 분석은 *antABC*와 *catA*

는 RhlR-I 시스템에 의해, PQS 합성 오페론인 *pqsABCDE*는 LasR-I 시스템에 의해 발현이 유도됨을 보여주었다(37). 그런데 두 정족수 시스템은 *antABC/catA*와 *pqsABCDE*를 서로 다른 시점에서 발현시키며(*pqsABCDE*는 지수 성장기에, *antABC/catA*는 정체 성장기에), 서로 반대편의 작용을 억제한다(RhlR과 LasR이 각각 *pqsABCDE*와 *antABC/catA*의 발현을 억제) (Joon-Hee Lee, unpublished data). 결과적으로 LasR-I 시스템의 활성이 주도적이며 RhlR-I 시스템이 활성화 되기 전인 지수 성장기에서는 PQS 합성으로의 대사경로가 극대화 되며, RhlR-I 시스템이 활성화되는 후기 지수 정장기부터는 PQS 합성이 줄어들면서, anthranilate가 축적되고 이는 AntR과 결합하여 anthranilate 분해 기능을 촉진 시키게 된다. 이러한 복잡한 과정은 LasR과 RhlR의 직접 조절이라기 보다는 PqsR과 AntR이 중간에서 매개하는 조절이다(25).

한편 anthranilate의 합성과 PQS로의 전환 혹은 분해과정은 주변의 철 농도에 의해 크게 영향을 받는다는 것이 보고되었다. *P. aeruginosa*는 철이 부족한 상태에서는 small regulatory RNA인 PrrF1,2의 발현을 증가시킨다. PrrF1,2는 철 함유 단백질의 발현을 억제하여 철 농도를 유지하는 역할을 하는데, 이들이 *antABC*의 발현도 억제한다. 따라서 철이 부족한 상황에서는 anthranilate가 TCA 회로쪽으로 분해되기 보다는 PQS 합성으로 가게 되어 PQS의 생성이 증가한다(25). 철의 농도는 정족수 인식과 이를 통한 생물막 형성과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있기 때문에 철과 anthranilate와 정족수 인식 네트워크 사이의 관련성에 대한 보다 자세한 연구가 기대된다.

결 론

사실, 미생물들은 복잡한 환경조건의 변화에 따라 극도로 다양한 생리적, 형태적, 유전적 변이를 보인다. 또한 이러한 변이는 환경 변화에 적절히 대처할 수 있도록 군집차원에서 고도로 분화된, 혹은 통일된 집단행동으로 나타나는 경우가 많다. 이를 위해서는 다양한 신호전달이 가능해야 하고, 신호물질의 구조적 다양성과 신호전달의 시간적 공간적 적절성이 반드시 확보되어야 한다. 이와 함께 대부분의 미생물들이 아직 그 기능이 밝혀지지 않은 수 많은 종류의 이차 대사산물을 생산, 분비한다는 점은, 아직도 밝혀지지 않은 많은 신호물질들이 존재할 것이라는 추정을 가능하게 한다. 이런 관점에서 꾸준히 새로운 신호물질의 존재가 탐색되어 왔고, 계속 신호물질의 개념은 확대되어 왔다. 새롭게 발견되고 있는 신호물질들이 미생물 신호전달에 대해 어떤 새로운 패러다임을 제시해 줄 지 앞으로의 연구가 기대된다.

감사의 말

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

- Adamczeski, M., A.R. Reed, and P. Crews. 1995. New and known diketopiperazines from the Caribbean sponge, *Calyx cf. podatypa*. *J. Nat. Prod.* 58, 201-208.
- Brelles-Marino, G. and E.J. Bedmar. 2001. Detection, purification and characterisation of quorum-sensing signal molecules in plant-associated bacteria. *J. Biotechnol.* 91, 197-209.
- Degrassi, G., C. Aguilar, M. Bosco, S. Zahariev, S. Pongor, and V. Venturi. 2002. Plant growth-promoting *Pseudomonas putida* WCS358 produces and secretes four cyclic dipeptides: cross-talk with quorum sensing bacterial sensors. *Curr. Microbiol.* 45, 250-254.
- Deziel, E., S. Gopalan, A.P. Tampakaki, F. Lepine, K.E. Padfield, M. Saucier, G. Xiao, and L.G. Rahme. 2005. The contribution of MvfR to *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and quorum sensing circuitry regulation: multiple quorum sensing-regulated genes are modulated without affecting lasRI, rhIRI or the production of N-acyl-L-homoserine lactones. *Mol. Microbiol.* 55, 998-1014.
- Dietrich, L.E., A. Price-Whelan, A. Petersen, M. Whiteley, and D.K. Newman. 2006. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.* 61, 1308-1321.
- Diggle, S.P., P. Cornelis, P. Williams, and M. Camara. 2006. 4-quinolone signalling in *Pseudomonas aeruginosa*: old molecules, new perspectives. *Int. J. Med. Microbiol.* 296, 83-91.
- Farrow, J.M., 3rd and E.C. Pesci. 2007. Two distinct pathways supply anthranilate as a precursor of the *Pseudomonas* quinolone signal. *J. Bacteriol.* 189, 3425-3433.
- Gallagher, L.A., S.L. McKnight, M.S. Kuznetsova, E.C. Pesci, and C. Manoil. 2002. Functions required for extracellular quinolone signaling by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 184, 6472-6480.
- Gaudu, P., S. Dubrac, and D. Touati. 2000. Activation of SoxR by overproduction of desulfoferrodoxin: multiple ways to induce the soxRS regulon. *J. Bacteriol.* 182, 1761-1763.
- Hassett, D.J., L. Charniga, K. Bean, D.E. Ohman, and M.S. Cohen. 1992. Response of *Pseudomonas aeruginosa* to pyocyanin: mechanisms of resistance, antioxidant defenses, and demonstration of a manganese-cofactored superoxide dismutase. *Infect. Immun.* 60, 328-336.
- Hedner, E., M. Sjogren, S. Hodzic, R. Andersson, U. Goransson, P.R. Jonsson, and L. Bohlin. 2008. Antifouling activity of a dibrominated cyclopeptide from the marine sponge *Geodia barretti*. *J. Nat. Prod.* 71, 330-333.
- Henke, J.M. and B.L. Bassler. 2004. Bacterial social engagements. *Trends Cell. Biol.* 14, 648-656.
- Hentschel, U., K.M. Usher, and M.W. Taylor. 2006. Marine sponges as microbial fermenters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 55, 167-177.
- Holden, I., I. Swift, and I. Williams. 2000. New signal molecules on the quorum-sensing block. *Trends Microbiol.* 8, 101-104; discussion 103-4.
- 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. Jayatilake, G.S., M.P. Thornton, A.C. Leonard, J.E. Grimwade, and B.J. Baker. 1996. Metabolites from an Antarctic sponge-associated bacterium, *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Nat. Prod.* 59, 293-296.
 17. Kendall, M.M. and V. Sperandio. 2007. Quorum sensing by enteric pathogens. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 23, 10-15.
 18. Kobayashi, K. and S. Tagawa. 2004. Activation of SoxR-dependent transcription in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biochem.* 136, 607-615.
 19. Kohanski, M.A., D.J. Dwyer, B. Hayete, C.A. Lawrence, and J.J. Collins. 2007. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell* 130, 797-810.
 20. Lautru, S., M. Gondry, R. Genet, and J.L. Pernodet. 2002. The albonoursin gene Cluster of *S. noursei* biosynthesis of diketopiperazine metabolites independent of nonribosomal peptide synthetases. *Chem. Biol.* 9, 1355-1364.
 21. Liochev, S.I. and I. Fridovich. 1992. Fumarase C, the stable fumarase of *Escherichia coli*, is controlled by the soxRS regulon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 5892-5896.
 22. Liochev, S.I., A. Hausladen, W.F. Beyer, Jr., and I. Fridovich. 1994. NADPH: ferredoxin oxidoreductase acts as a paraquat diaphorase and is a member of the soxRS regulon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 1328-1331.
 23. Martins, M.B. and I. Carvalho. 2007. Diketopiperazines: biological activity and synthesis. *Tetrahedron* 63, 9923-9932.
 24. Mohamed, N.M., E.M. Cicirelli, J. Kan, F. Chen, C. Fuqua, and R.T. Hill. 2008. Diversity and quorum-sensing signal production of Proteobacteria associated with marine sponges. *Environ. Microbiol.* 10, 75-86.
 25. Oglesby, A.G., J.M. Farrow, 3rd, J.H. Lee, A.P. Tomaras, E.P. Greenberg, E.C. Pesci, and M.L. Vasil. 2008. The influence of iron on *Pseudomonas aeruginosa* physiology: a regulatory link between iron and quorum sensing. *J. Biol. Chem.* Article in Press.
 26. Palma, M., J. Zurita, J.A. Ferreras, S. Worgall, D.H. Larone, L. Shi, F. Campagne, and L.E. Quadri. 2005. *Pseudomonas aeruginosa* SoxR does not conform to the archetypal paradigm for SoxR-dependent regulation of the bacterial oxidative stress adaptive response. *Infect. Immun.* 73, 2958-2966.
 27. Park, D.K., K.E. Lee, C.H. Baek, I.H. Kim, J.H. Kwon, W.K. Lee, K.H. Lee, B.S. Kim, S.H. Choi, and K.S. Kim. 2006. Cyclo(Phe-Pro) modulates the expression of ompU in *Vibrio* spp. *J. Bacteriol.* 188, 2214-2221.
 28. Park, W., S. Pena-Llopis, Y. Lee, and B. Dimple. 2006. Regulation of superoxide stress in *Pseudomonas putida* KT2440 is different from the SoxR paradigm in *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 341, 51-56.
 29. Parsek, M.R. and E.P. Greenberg. 2005. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol.* 13, 27-33.
 30. Pesci, E.C. 2000. New signal molecules on the quorum-sensing block: response. *Trends Microbiol.* 8, 103-104.
 31. Pomposiello, P.J. and B. Dimple. 2001. Redox-operated genetic switches: the SoxR and OxyR transcription factors. *Trends Biotechnol.* 19, 109-114.
 32. Price-Whelan, A., L.E. Dietrich, and D.K. Newman. 2007. Pyocyanin alters redox homeostasis and carbon flux through central metabolic pathways in *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *J. Bacteriol.* 189, 6372-6381.
 33. Privalle, C.T., S.E. Kong, and I. Fridovich. 1993. Induction of manganese-containing superoxide dismutase in anaerobic *Escherichia coli* by diamide and 1,10-phenanthroline: sites of transcriptional regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 2310-2314.
 34. Rahme, L.G., E.J. Stevens, S.F. Wolfort, J. Shao, R.G. Tompkins, and F.M. Ausubel. 1995. Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals. *Science* 268, 1899-1902.
 35. Reading, N.C. and V. Sperandio. 2006. Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 254, 1-11.
 36. Schuster, M. and E.P. Greenberg. 2006. A network of networks: quorum-sensing gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. J. Med. Microbiol.* 296, 73-81.
 37. Schuster, M., C.P. Lostroh, T. Ogi, and E.P. Greenberg. 2003. Identification, timing, and signal specificity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-controlled genes: a transcriptome analysis. *J. Bacteriol.* 185, 2066-2079.
 38. Sjogren, M., U. Goransson, A.L. Johnson, M. Dahlstrom, R. Andersson, J. Bergman, P.R. Jonsson, and L. Bohlin. 2004. Anti-fouling activity of brominated cyclopeptides from the marine sponge *Geodia barretti*. *J. Nat. Prod.* 67, 368-372.
 39. Stierle, A.C., J.H. Cardellina, and G.A. Strobel. 1988. Maculosin, a host-specific phytotoxin for spotted knapweed from *Alternaria alternata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 8008-8011.
 40. Taylor, M.W., P.J. Schupp, H.J. Baillie, T.S. Charlton, R. De Nys, S. Kjelleberg, and P.D. Steinberg. 2004. Evidence for acyl homoserine lactone signal production in bacteria associated with marine sponges. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 4387-4389.
 41. Urata, M., M. Miyakoshi, S. Kai, K. Maeda, H. Habe, T. Omori, H. Yamane, and H. Nojiri. 2004. Transcriptional regulation of the ant operon, encoding two-component anthranilate 1,2-dioxygenase, on the carbazole-degradative plasmid pCAR1 of *Pseudomonas resinovorans* strain CA10. *J. Bacteriol.* 186, 6815-6823.
 42. Welch, M., H. Mikkelsen, J.E. Swatton, D. Smith, G.L. Thomas, F.G. Glansdorp, and D.R. Spring. 2005. Cell-cell communication in Gram-negative bacteria. *Mol. Biosyst.* 1, 196-202.
 43. Williams, P. 2007. Quorum sensing, communication and cross-kingdom signalling in the bacterial world. *Microbiology* 153, 3923-3938.
 44. Wilson, R., T. Pitt, G. Taylor, D. Watson, J. MacDermot, D. Sykes, D. Roberts, and P. Cole. 1987. Pyocyanin and 1-hydroxyphenazine produced by *Pseudomonas aeruginosa* inhibit the beating of human respiratory cilia *in vitro*. *J. Clin. Invest* 79, 221-229.

(Received May 14, 2008/Accepted June 23, 2008)

ABSTRACT : Minority report; Diketopiperazines and Pyocyanin as Quorum Sensing Signals in *Pseudomonas aeruginosa*

Joon-Hee Lee (Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Pusan National University, Busan 609-735, Republic of Korea)

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic human pathogen, causing a wide variety of infections including cystic fibrosis, microbial keratitis, and burn wound infections. The cell-to-cell signaling mechanism known as quorum sensing (QS) plays a key role in these infections and the QS systems of *P. aeruginosa* have been most intensively studied. While many literatures that introduce the QS systems of *P. aeruginosa* have mostly focused on two major acyl-homoserine lactone (acyl-HSL) QS signals, N-3-oxododecanoyl homoserine lactone (3OC12) and N-butanoyl homoserine lactone (C4), several new signal molecules have been discovered and suggested for their significant roles in signaling and virulence of *P. aeruginosa*. One of them is PQS (Pseudomonas quinolone signal; 2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone), which is now considered as a well-characterized major signal molecule of *P. aeruginosa*. In addition, recent researches have also suggested some more putative signal molecules of *P. aeruginosa*, which are diketopiperazines (DKPs) and pyocyanin. DKPs are cyclic dipeptides and structurally diverse depending on what amino acids are involved in composition. Some DKPs from the culture supernatant of *P. aeruginosa* are suggested as new diffusible signal molecules, based on their ability to activate *Vibrio fischeri* LuxR biosensors that are previously considered specific for acyl-HSLs. Pyocyanin (1-hydroxy-5-methyl-phenazine), one of phenazine derivatives produced by *P. aeruginosa* is a characteristic blue-green pigment and redox-active compound. This has been recently suggested as a terminal signaling factor to upregulate some QS-controlled genes during stationary phase under the mediation of a transcription factor, SoxR. Here, details about these newly emerging signaling molecules of *P. aeruginosa* are discussed.