

세균의 인산 항상성: 인산 수송 단백질들의 역할

박윤미 · 방일수*

조선대학교 치의학전문대학원 미생물학 및 면역학 교실

Bacterial Phosphate Homeostasis: Role of Phosphate Transporters

Yoon Mee Park and Iel Soo Bang*

Department of Microbiology and Immunology, Chosun University School of Dentistry, Gwangju 501-759, Republic of Korea

(Received June 11, 2012 / Accepted June 27, 2012)

Phosphorous is an essential element for the synthesis of various biomolecules including phospholipids, carbohydrates and nucleic acids. Bacterial cells can uptake it as forms of phosphate and phosphate-containing nutrients from extracellular environments, and reserve extra phosphate to polyphosphate inside the cell. Among five phosphate transport systems, Pst plays central roles in phosphate transport, and its expression is coordinated by the regulation of PhoB-PhoR two component signal transduction system in response to extracellular levels of phosphate. Genomic studies on the response regulator PhoB reveal many genes independent of phosphate metabolism. Based on recent findings on phenotypes of bacteria lacking proper function of each phosphate transport system, this review discusses roles of phosphate transporters in maintaining optimum intracellular phosphate levels, and presents diverse phenotypes of phosphate transporters related with other environmental signals as well as phosphate, then finally points out functional redundancy among phosphate transport systems or their regulators, which emphasize importance of phosphate homeostasis in governing metabolism, adaptation, and virulence of bacteria.

Keywords: PhoB, phosphate homeostasis, phosphate transporter, phosphorous, Pst system

인(Phosphorus)은 세포를 이루는 원소 중 세 번째로 많은 농도로 존재하는 원소로서 세포 생존에 필수 영양분 중 하나이다. 지구 상에서 흔히 발견되며, 주로 무기인산(inorganic orthophosphate; Pi; 이하 Pi로 표기) 형태로 세포 내에 흡수된다. Pi는 세포에 필요한 에너지를 제공하고 세포막의 인지질, 핵산, 단백질 및 당의 생합성에 필수적이며, 인산기(phosphoryl group)의 전달을 통해 세포 신호 전달 과정에서도 중요한 역할을 한다. Pi는 세균의 생존 및 성장에도 필수적이다. 정상적인 세균의 성장환경에서 생합성에 필요한 Pi의 공급은 외부환경의 유용한 Pi의 농도뿐 아니라 pH 및 금속이온 등 Pi 용해도에 영향을 미치는 요소들에 의해 영향을 받고, 좋지 않은 성장환경에서는 생존을 위해 Pi뿐 아니라 Pi를 포함하는 영양소를 세포 내로 흡수해야만 한다. 따라서, 외부환경으로부터 세포 내로 이들 물질을 수송하는 능력은 세균의 성장 및 생존에 필수적이다.

세균의 Pi 수송은 세포막에 존재하는 수송 단백질들의 Pi 유입 및 방출 기능에 의존하는 것으로 알려져 있다. Pi-특이적이며 세포 외부 Pi 농도를 인지하고 발현이 조절되는 high-affinity 수송 시스템인 Pst 시스템, Pi 농도에 관계없이 발현되고 금속이온

과 혼합형태로 Pi를 수송하는 Pit 시스템, 유기인산(organic phosphate) 형태의 Pi를 수송하는 GlpT (Glycerol-3-phosphate)와 UhpT (Glucose-6-phosphate) antiporter 수송 시스템 등이 대표적이다. 이들 중 *Escherichia coli* 및 *Bacillus subtilis*를 모델로 한 Pst 시스템의 발현 조절과 Pi 신호 전달 체계, 세균 병원성 발현에서 Pst 시스템의 역할 등은 최근 발표된 다른 총설에서 다루고 있다(Lamarche *et al.*, 2008b; Hsieh and Wanner, 2010; Park, 2010; Crepin *et al.*, 2011).

본 총설에서는 약 십여 년 전 세균 Pi 수송 시스템들의 특성과 기능에 대해 논의한 총설이 발표된 이후(Wanner, 1996; van Veen, 1997), 최근까지 새로이 축적된 관련 연구 결과들을 본래 개념들과 함께 간략히 정리하고자 하였으며, 또한 각종 세균 별로 수송 시스템 돌연변이 연구를 통해 밝혀진 세균의 표현형 변화에 대한 연구내용들을 분류하여 세균의 성장 및 적응과정에 Pi의 항상성이 미치는 영향을 종합적으로 고찰하고자 하였다.

본 론

인산의 세포벽 투과

세포 밖의 인은 무기인산(Pi) 음이온, 포스폰산(phosphonate) 및 유기인산(organophosphate) 형태로 세포 내로 유입된다. 그

*For correspondence. E-mail: isbang@chosun.ac.kr; Tel.: +82-62-230-6872; Fax: +82-62-232-6896

람염성균의 경우는 외막을 가지고 있어 외막에 존재하는 OmpC, OmpF, PhoE 등과 같은 외막 porin 단백질을 통해 periplasm으로 유입된다. *E. coli*의 PhoE나 *Pseudomonas aeruginosa*의 OprP 등은 Pi 음이온에 더 선택적으로 작용하는 대표적 porin들이다(Bauer *et al.*, 1985; Pongprayoon *et al.*, 2009). Pi와 ester 결합을 갖는 대부분의 유기인산들은 비특이적 monoesterase인 PhoA나 PhoA와 유사한 기능을 하는 phosphatase들에 의해 Pi가 떨어져 periplasm 내로 분리된다. 포스폰산들은 포스폰산 수송 단백질들과 C-P lyase에 의해 Pi를 배출한다(Metcalf and Wanner, 1991). 세포막 주위에 모여든 Pi는 ATP-결합 카세트(ABC) 수송 시스템의 일부인 용질결합 단백질에 의해 포획되는데, 이 단백질들은 periplasm 내 Pi의 분산을 막고 농도를 효과적으로 높여주는 기능을 하여 세포막에 위치하는 수송자들에 Pi를 용이하게 전달하는 기능을 하는 것으로 여겨지고 있다(Wanner, 1996). Pst 시스템의 PstS가 대표적인 단백질이다(Surin *et al.*, 1985). 외막이 없는 그람양성균의 경우는 용질결합 단백질들이 세포질 막에 위치하는 것으로 알려졌다(van Veen, 1997). Periplasm 내 Pi는 금속 양이온과 결합을 하기도 하는데 이 복합체는 주로 Pit 시스템을 통해 세포질 내로 전달된다.

Pi의 세포질 막 수송 시스템의 기능과 조절과정

세균의 세포질 막은 친수성 물질에 대한 투과 장벽으로 작용한다. 따라서, 이러한 물질들은 특수한 수송 단백질을 통해서만 이동 되는데, 현재까지 알려진 바로는 크게 두 종류로 구분된다. 첫 번째 그룹은 화학적 반응을 통한 에너지를 사용하여 용질을 수직적으로 투과하는 종류의 수송 시스템으로, ATPase나 ABC 수송 시스템들이 대표적이다. 다른 한 그룹은 수소이온이나 나트륨 이온 등 세포막 주위의 이온 농도 구배에 의해 생긴 동력을 이용하여 수송하는 시스템으로, carrier 단백질들이 uniport,

symport, antiport 과정을 수행한다(van Veen, 1997). 현재까지 세균에서 알려진 세포질 막 Pi 수송자들 또한 이들 두 그룹에 속하는 것으로 알려지고 있으며, 크게 다섯 가지의 수송 시스템이 존재한다(Fig. 1).

정상적인 세균 대사과정 동안 세균의 Pi 수송은 Pst 시스템과 Pit 시스템을 통해 세포질내로 수송되고, GlpT 혹은 UhpT antiporter 단백질들이 glycerol-3-phosphate 혹은 glucose-6-phosphate를 세포질 내로 수송하면서 Pi를 세포질 밖으로 유출시킨다. 최근 알려진 YjbB 단백질 또한 Pi의 수송 기능을 갖는 것으로 알려졌다(Motomura *et al.*, 2011).

Pst 시스템

ABC 수송 시스템인 Pst 시스템의 존재는 *E. coli*의 유전학적 연구를 통해 구체적으로 알려지기 시작했으며(Surin *et al.*, 1985), 이 후 여러 다른 세균에서도 보고되고 있다(Lamarche *et al.*, 2008b). Pst 시스템은 Pi에 높은 친화력을 가진 수송 시스템으로, *pstS*, *pstC*, *pstA*, *pstB*, *phoU*의 유전자로 이루어진 *pst* 오페론에 의해 합성되는 단백질들로 구성된다(Aguena *et al.*, 2002) (Fig. 1). PstS는 periplasm 내 Pi와 결합하는 용질결합 단백질로서 Pst 수송 시스템에 Pi를 운반하는 기능을 한다(Surin *et al.*, 1984; Scanlan *et al.*, 1993). 막횡단 단백질들인 PstC와 PstA는 두 단백질 사이로 PstS가 운반한 Pi를 세포질 내로 이동시키는 역할을 한다(Webb *et al.*, 1992). PstB는 ATP-결합 부위를 가지고 있어 이 단백질을 통해 Pi 수송을 위한 에너지가 전달되는 것으로 보이며, 친수성 단백질로서 PstA 및 PstC의 세포질 쪽 각 부위와 상호작용하는 이합체인 것으로 생각된다(Chan and Torriani, 1996). *pst* 오페론의 마지막 유전자에 의해 발현되는 PhoU는 Pi 수송에는 직접적으로 관여하지 않지만(Muda *et al.*, 1992; Steed and Wanner, 1993), 나머지 *pst* 오페론 유전자 발현의 조절과정

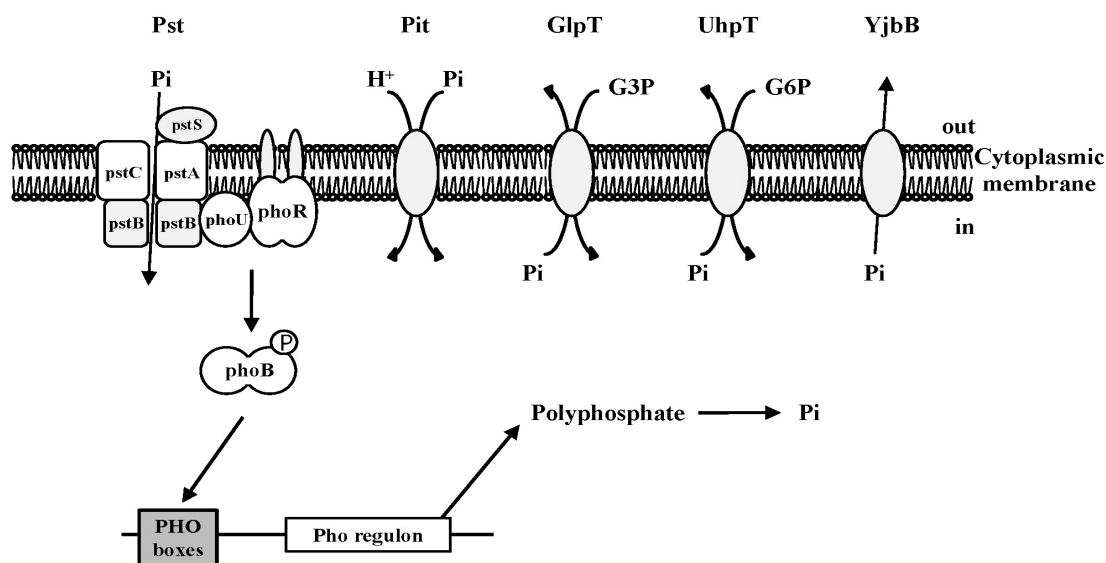


Fig. 1. Working model for bacterial maintenance of phosphate homeostasis. Figure was modified from (Wanner, 1996) and (van Veen, 1997) with recent findings described in the text. G3P, glycerol-3-phosphate; G6P, glucose-6-phosphate.

에 음성적 조절자 역할을 한다(Hsieh and Wanner, 2010).

pst 오페론의 발현은 세포 외부 Pi의 농도가 풍부할 때 억제되고 있다가 세포 외부 Pi의 농도가 감소할 때(μM 농도) 유도되며 이 신호 전달 과정은 아직 완전하게 밝혀지지 않고 있지만, PstS와 PstC-PstA-PstB 수송 복합체, PhoU, two-component 신호 전달 시스템인 PhoB-PhoR 등이 참여한다(Hsieh and Wanner, 2010) (Fig. 1). 세포 외부 Pi의 농도가 풍부할 때는 Pi와 결합한 PstS가 periplasm에 축적되면서 세포막의 PstCAB 복합체와 결합한다. 이 결합 신호는 아직 알려지지 않은 방식으로 PhoU에 의해 PhoR에 전달되어 PhoR의 phosphatase 활성을 촉진 함으로써 response 조절자인 PhoB를 탈인산화한다. PhoB가 불활성화되면 PhoB의 결합부위 유전자 서열(Pho box)을 가지고 있는 PhoB regulon 유전자들의 전사 유도가 일어나지 않는다(Carmany *et al.*, 2003). 반대로, 세포 외부 Pi의 농도가 낮을 때는 PhoU가 PhoR의 ATPase 도메인과 반응함으로써 PhoR이 ATP에 의해 자가인산화(autophosphorylation) 되어 PhoB의 인산화를 촉진하고, *pst* 오페론을 포함하는 PhoB regulon 유전자들의 전사를 촉진하는 것으로 여겨지고 있다(Oganesyan *et al.*, 2005). 세포 내부 Pi의 농도 변화를 인식하고 신호를 전달하는 과정은 현재까지 세균에서는 보고 된바 없으나, 진균 *Saccharomyces cerevisiae*에서는 세포 내부의 Pi 신호 또한 인식하는 것으로 알려졌다(Auesukaree *et al.*, 2004).

Pi 신호를 전달 받아 활성을 띤 PhoB는 Pi 대사와 관련된 유전자들의 발현을 조절하는데, *pst* 오페론의 전사를 유도하여 Pst 시스템의 발현을 증가시키고, periplasm내 phosphatase PhoA, 외막 porin 단백질 PhoE, periplasm내 sn-glycerol-3-phosphate 결합에 필요한 단백질들, phosphite와 포스폰산의 수송 및 대사에 관련되는 단백질들의 발현을 증가시켜, 전체적인 Pi의 세포 내 유입을 촉진한다(van Veen, 1997).

Pi 수송 시스템을 통해 세포 내부로 들어온 Pi는 세포대사에 활용되고 일부는 세포 내부에 저장될 수 있는데 대부분의 세균들이 Pi의 선형 중합체인 무기(inorganic) polyphosphate (Poly-Pi; 이하 Poly-Pi라 표기)를 합성하여 저장하고 있다가 필요시 Pi를 분리시켜 세포대사에 참여할 수 있게 한다(Rao *et al.*, 2009)(Fig. 1). Poly-Pi는 *ppk*가 생산하는 polyphosphate kinase에 의해 중합되고, *ppx*가 생산하는 exopolyphosphatase에 의해 Pi가 한 분자씩 단계적으로 분리된다. *ppk*와 *ppx*는 오페론으로 존재하며, 이 오페론은 대부분 PhoB regulon에 속한다(Yuan *et al.*, 2006). 따라서, PhoB는 세균의 Pi 신호 전달 기능뿐 아니라 세포 내 Pi 대사를 전체적으로 관장하는 조절자라 할 수 있다.

Pit 시스템

Pit 시스템은 *E. coli* 연구를 통해 처음으로 알려졌으며, periplasm내 용질결합 단백질이 필요하지 않은 low affinity Pi 수송 시스템으로, 수소이온 농도 구배에 따른 동력을 이용한다(Wanner, 1996). Pst 시스템과 함께 세균의 주요 Pi 특이적 수송 시스템이다. *Acinetobacter johnsonii*와 *E. coli*의 연구를 통해 Pit 시스템이 Ca^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} 등의 금속 양이온과 함께 금속-Pi 복합체로 Pi를 수송한다는 사실이 알려졌다(van

Veen *et al.*, 1994; Beard *et al.*, 2000). Pit 시스템은 많은 세균에서 *pitA* 유전자 하나에 의해 생산되는 막횡단 단백질이며, 유전자 전사는 *pst* 오페론과 달리 Pi 농도 변화에 의해 변화하지 않는 것으로 알려졌다(Wanner, 1996). 최근 *E. coli*를 상대로 한 연구에서는 *pitA-lacZ* 리포터의 활성이 높은 농도의 Zn^{2+} 와 낮은 Pi 농도에서 증가하는 것을 확인했으나, 아직 정확한 기작은 알려지지 않고 있다(Jackson *et al.*, 2008).

GlpT 시스템

GlpT 시스템은 UhpT 시스템과 함께 음이온 교환을 매개하는 Pi 수송 시스템으로 Pi는 sn-glycerol-3-P (GlpT)이나 glucose-6-P (UhpT) 등의 유기인산 형태로 세포 내부로 유입되면서 동시에 Pi 이온을 방출하는 유기인산:인산 antiporter 그룹에 속한다(van Veen, 1997). *E. coli*의 경우 구조 분석을 통해 막횡단 단백질 GlpT가 하나의 기질 결합 부위를 가지고 있으며, 기질접근을 교체하는 방식으로 수송한다는 사실이 알려졌다(Huang *et al.*, 2003). 많은 세균들이 GlpT를 갖고 있는데, *E. coli*의 경우 *glpT* 유전자는 *glp* 오페론에 포함되어 있으며, glycerol-3-P이 제공되는 조건에서 glycerol-3-P이 전사 억제자 GlpR의 DNA 결합력을 감소시켜 오페론의 발현이 증가하는 것으로 알려졌다(Lemieux *et al.*, 2004).

UhpT 시스템

UhpT의 구조 연구는 아직 알려진바 없어 정확한 수송 기작은 알 수 없으나, 생화학적 연구를 통해 GlpT 시스템과 유사한 유기인산:인산 antiporter 기능을 하는 것으로 판단되고 있다(Wanner, 1996; van Veen, 1997). UhpT의 발현은 세가지 조절 유전자 *uhpABC*에 의해 조절된다. UhpB는 histidine kinase 기능을 하는 막단백질로서 glucose-6-P가 제공될 때 또 다른 막단백질 UhpC와 함께 UhpA 조절자를 인산화시켜 활성화하며, 인산화된 UhpA는 *uhpT* 유전자의 전사를 촉진한다. 하지만, *uhpT*의 전사는 catabolite repression의 조절을 받으며, periplasm내에 glucose-6-P의 농도가 높고 pi가 결핍된 상황에서는 PhoB-의존성 alkaline phosphatase가 glucose-6-P를 분해함으로써 정상보다 훨씬 많은 양의 glucose-6-P가 *uhpT* 전사 유도에 필요하다(Merkel *et al.*, 1992; Hoffer *et al.*, 2001). 이러한 결과들은 과도한 탄소원의 공급으로 인해 발생할 수 있는 해당 대사에 의한 세포 훼손을 방지하기 위한 것으로 생각된다.

YjbB 시스템

최근 *E. coli*를 상대로 한 연구에서 알려진 것으로, Pst 시스템의 PhoU가 결손된 돌연변이주들에서 Poly-Pi가 세포 내에 과량으로 축적되는데, 이 때 YjbB가 과발현 되면 Pi를 세포 밖으로 방출시키면서 세포 내 Poly-Pi의 양을 감소시킨다(Motomura *et al.*, 2011). YjbB는 PhoU 단백질 유사 domain과 Na^+ /Pi cotransporter domain을 포함하기 때문에, 세포의 Pi 인식 반응에서 PhoU와 유사한 기능을 가지는 동시에 Pi 수송능력이 있어 세포 내부의 Pi 균형을 이루는데 일정한 역할을 할 것으로 예상되지만, 더 많은 연구가 필요하다.

Table 1. Roles of Pst phosphate transporter in bacteria

Phenotype changed by mutation	Functional overlap		Bacteria	Reference
	PhoB	Poly-Pi		
Phosphate uptake			<i>Escherichia coli</i> (EPEC) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Wanner (1996), Lau <i>et al.</i> (2000), Ferreira and Spira (2008)
RpoS accumulation in exponential phase			<i>Escherichia coli</i>	Ruiz and Silhavy (2003), Schurdell <i>et al.</i> (2007)
Phosphate-free lipids fill in for phospholipids			<i>Sinorhizobium meliloti</i>	Geiger <i>et al.</i> (1999)
Membrane permeability			<i>Escherichia coli</i> (ExPEC)	Lamarche and Harel (2010)
Glucose-phosphate stress	O		<i>Escherichia coli</i>	Richards and Vanderpool (2012)
Regulation of type III secretion	O		<i>Edwardsiella ictaluri</i>	Rogge and Thune (2011)
Colonization in host	O	O	<i>Vibrio cholera</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i> (ExPEC)	Burall <i>et al.</i> (2004), Buckles <i>et al.</i> (2006), Jacobsen <i>et al.</i> (2008), Pratt <i>et al.</i> (2010)
Persistence	O	O	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Escherichia coli</i>	Li and Zhang (2007), Rifat <i>et al.</i> (2009)
plaque formation in macrophage	O	O	<i>Shigella flexneri</i>	Runyen-Janecky <i>et al.</i> (2005)
Adhesion	O	O	<i>Streptococcus mutans</i> <i>Citrobacter rodentium</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Vibrio cholera</i>	Ogawa <i>et al.</i> (2000), Ferreira and Spira (2008), Cheng <i>et al.</i> (2009), Luz <i>et al.</i> (2012)
Antibiotic synthesis	O	O	<i>Serratia</i> <i>Streptomyces lividans</i> <i>Streptomyces coelicolor</i>	Slater <i>et al.</i> (2003), Rodriguez-Garcia <i>et al.</i> (2007), Gristwood <i>et al.</i> (2009), Nezbedova <i>et al.</i> (2011)
Antibiotic resistance (penicillin, fluoroquinolone, ciprofloxacin, carbenicillin)	O	O	<i>Streptococcus pneumonia</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococci</i>	Fisher <i>et al.</i> (1996), Chakraborti <i>et al.</i> (1999), Bhatt <i>et al.</i> (2000), Soualhiine <i>et al.</i> (2005), Fraley <i>et al.</i> (2007)
Resistance to oxidative stress	O	O	<i>Lactococcus lactis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Sinorhizobium meliloti</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>Pseudomonas chlororaphis</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i>	Yuan <i>et al.</i> (2005), Kim <i>et al.</i> (2007), Cesselin <i>et al.</i> (2009), Tunpiboonsak <i>et al.</i> (2010), Wu <i>et al.</i> (2010), Crepin <i>et al.</i> (2011)
Biofilm formation	O	O	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aureofaciens</i> <i>Vibrio cholera</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Monds <i>et al.</i> (2001), Shi <i>et al.</i> (2004), Jahid <i>et al.</i> (2006), Fraley <i>et al.</i> (2007), Chavez <i>et al.</i> (2009), O'May <i>et al.</i> (2009), Pratt <i>et al.</i> (2009), Sultan <i>et al.</i> (2010), Tunpiboonsak <i>et al.</i> (2010), Mudrak and Tamayo (2012)
Resistance to acid stress	O	O	<i>Lactococcus lactis</i> <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Salmonella enterica</i>	Price-Carter <i>et al.</i> (2005), Budin-Verneuil <i>et al.</i> (2007), Gangaiah <i>et al.</i> (2009), Sureka <i>et al.</i> (2009)
Accumulation of polyphosphate	O	O	<i>Escherichia coli</i> <i>Synechocystis</i>	Rao and Kornberg (1999), Morohoshi <i>et al.</i> (2002)
Sporulation	O	O	<i>Streptomyces lividans</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Birkey <i>et al.</i> (1994), Hulett <i>et al.</i> (1994), Shi <i>et al.</i> (2004), Diaz <i>et al.</i> (2005)
Motility & Swimming	O	O	<i>Bacillus cereus</i> <i>Vibrio cholera</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ogawa <i>et al.</i> (2000), Shi <i>et al.</i> (2004), Jahid <i>et al.</i> (2006), Fraley <i>et al.</i> (2007), Chavez <i>et al.</i> (2009), Pratt <i>et al.</i> (2009), Tunpiboonsak <i>et al.</i> (2010)

세포 내 외부 환경변화에 따른 Pi 수송 시스템 전사조절반응

Pi의 농도가 풍부한 조건과 결핍된 조건에서 약 400개의 유전자 발현이 변화하는 것으로 알려졌다(VanBogelen *et al.*,

1996). 따라서, 세포 외부 환경변화에 대한 스트레스나 숙주동물의 항 세균성 환경에 대한 세균의 적응반응에서 Pi 항상성이 상당히 중요할 것임을 예상할 수 있다. 실제로, Pi 대사과정과 Pi

Table 2. Roles of Pit, GlpT, UhpT, and YjbB phosphate transporters in bacteria

Phosphate transporter	Phenotype changed by mutation	Bacteria	Reference
Pit	Expression of the PstSCAB and Phn DCE	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Gebhard <i>et al.</i> (2009)
	Metal ion homeostasis	<i>Arthrobacter</i> <i>Rhodobacter capsulatus</i> <i>Escherichia coli</i>	van Veen <i>et al.</i> (1994), Beard <i>et al.</i> (2000), Borsetti <i>et al.</i> (2003), Moberly <i>et al.</i> (2010)
	Glucose-phosphate stress	<i>Escherichia coli</i>	Richards and Vanderpool (2012)
GlpT	Antibiotic resistance (fosfomycin)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Castaneda-Garcia <i>et al.</i> (2009), De Groote <i>et al.</i> (2011)
	Swarming & Aggregation	<i>Myxococcus xanthus</i>	Moraleda-Munoz (2001)
UhpT	Antibiotic resistance (fosfomycin)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Castaneda-Garcia <i>et al.</i> (2009)
YjbB	Pi export	<i>Escherichia coli</i>	Motomura <i>et al.</i> (2011)

수송 시스템은 세포 내 외부 환경 변화와 관계되어 있다. Pst 시스템의 경우 Pi 농도 변화 외에도 다른 환경 신호가 발현을 변화 시키는데, 식품첨가제로 사용하는 sodium benzoate는 *E. coli* O157:H7에서, 산성 pH는 *Campylobacter jejuni*나 *Clostridium acetobutylicum*의 *pst* 오페론 전사를 증가시킨다(Fischer *et al.*, 2006; Reid *et al.*, 2008; Critzer *et al.*, 2010). 또한, cAMP-의존성 전사 조절 단백질들이 *pst* 전사를 조절하는데, *Corynebacterium glutamicum*의 GlxR, 해양세균 *Synechococcus*의 PtrA, *E. coli*의 CRP 등이 알려졌다(Kim *et al.*, 1995; Ostrowski *et al.*, 2010; Panhorst *et al.*, 2011). *Streptomyces lividans*의 *pst* 전사는 PhoB의 기능과 상관없이 포도당 외의 탄소원에 의해 증가된다(Esteban *et al.*, 2008). *E. coli*의 포괄적 전사 조절자 CreC는 Pi 결핍조건에서 PhoB와 상호작용하는 것으로 알려졌다(Baek *et al.*, 2007).

세균의 적응반응에서 Pi 수송 시스템의 기능 검증

세균의 적응반응에서 Pi의 중요성을 검증하기 위해 많은 연구들이 진행되어 왔으며, 대부분 Pi 수송시스템을 암호화하는 유전자 돌연변이주들을 상대로 표현형을 연구하였다. 현재까지 많은 세균을 상대로 연구되어 발표된 주요 표현형을 종합하여, Table 1에는 Pst 시스템, Table 2에는 나머지 네 수송 시스템에 관한 사항을 요약하였다. Pi 수송 시스템이 결여되면, Pi의 결핍에서 오는 직접적인 표현형인 불완전한 phospholipid의 합성으로 인한 막의 구조 변형 및 막 투과도의 변화 등이 관찰된다(Geiger *et al.*, 1999; Lamarche *et al.*, 2008a). 또한 Pi 수송은 많은 세포 대사과정에도 관련된 것으로 보인다. 포도당 대사에 의해 세포 내에 축적되는 glucose-6-P나 alpha-methyl glucoside-6-P에 의한 포도당-인산 스트레스(glucose-phosphate stress)가 생기는데, *pitA* 돌연변이주에서는 간접적으로 PhoB가 활성화되어 PhoB 의존성 alkaline phosphatase가 발현되어 이들을 분해함으로써, 스트레스를 완화한다(Richards and Vanderpool, 2012). *E. coli*의 *pst* 오페론 중 *pstA* mRNA 3' 말단 부위 서열은 *rpoS* mRNA의 5' leader 서열과 상호작용하여 RpoS 발현을 증가시킨다(Ruiz and Silhavy, 2003; Schurdell *et al.*, 2007). RpoS는 세균의 성장 정지기에서 발현되는 대체 시그마 인자로서 많은 중

류의 스트레스로부터 세균을 보호한다(Battesti *et al.*, 2011).

Pi 수송 시스템의 표현형 연구는 Pst 시스템에 대한 연구가 대부분을 이루고 있는데, 앞에서 언급한 변화 외에도 세균의 운동성과 이동 능력, 내생포자 발생, 항생제 합성 등의 세균의 환경 적응반응과 숙주세포 부착 기능, 생균막 형성, 산성 pH 및 활성 산소에 대한 내성, 항생제에 대한 내성, 대식세포 내 성장, 숙주 동물 내에서 군집 및 지속 감염 능력 등의 병원성 요소 발현과 많이 관련되어 있다(Table 1).

GlpT, UhpT의 표현형은 항생제 내성과 관계가 있는데, 이는 Pst 시스템에서도 관찰된다. 따라서, 세균의 항생제 내성은 Pi 수송 능력과 직접적으로 연관된 것으로 보인다. Pit 시스템은 금속-Pi 복합체를 수송하기 때문에 금속이온 항상성과 관련된 표현형을 보이며, Pst 시스템과 마찬가지로 포도당-인산 스트레스와도 관련되어 있다(Table 2). Pst 이외의 Pi 수송 시스템들의 표현형 연구는 아직 초기단계인 것으로 보인다.

Pi 수송시스템과 PhoB, Poly-Pi의 연관성

Pst 시스템을 이루는 유전자들의 돌연변이주는 세포막에 불완전한 Pst 시스템을 만들어 Pi 수송에 지장이 생기게 된다. 동시에 PhoR의 활성 조절능력이 훼손되고 PhoB를 계속해서 활성화시키게 되면서 Pi의 농도와 관계없이 Pho regulon이 계속 활성화된다(Crepin *et al.*, 2011). PhoB는 *pst* 오페론 이외에 많은 유전자의 전사를 조절하는 것으로 알려있는데, *E. coli*의 경우 약 50개의 유전자 발현이 *phoB* 돌연변이에 의해 조절되며(Baek and Lee, 2006), PhoB 결합부위 DNA 서열을 이용한 *in silico* 분석은 약 100여 개의 유전자를 예측하였다(Yuan *et al.*, 2006). 따라서, 위에서 언급한 세균의 적응 반응과 관련된 Pst 시스템 돌연변이에 의한 표현형은 같은 종의 세균이나 다른 세균에서 발견한 PhoB의 활성 변화에 의한 표현형과 중복된다. 또 하나 주목할 점은 Poly-Pi와의 연관성인데, Pst 시스템과 PhoB의 중복된 표현형의 대부분은 여러 세균에서 Poly-Pi 합성과 관련된 표현형과 중복된다. PhoB regulon의 지속적인 발현을 일으키는 *phoU* 돌연변이주 세포 내에서 Poly-Pi가 대량으로 축적되고, Poly-Pi 합성 유전자 *ppK*의 전사가 여러 세균에서 PhoB에 의해 유도될 수 있다는 사실들은, 이러한 Pst 시스템의 표현형 상당부

분이 PhoB가 조절하는 세포 내 Poly-Pi의 농도와 연관될 것이라는 추정이 가능케 한다(Kato *et al.*, 1993; Wanner, 1996; Ault-Riche *et al.*, 1998; Morohoshi *et al.*, 2002; Yuan *et al.*, 2006).

결론

세균의 Pi 수송 시스템들은 세포 내부 Pi 항상성 유지를 위해 수 많은 조절 체계를 활용하고 있다. 세균 세포 내부의 Pi 농도는 세포 외부 Pi의 농도가 풍부하거나 결핍되어도 상당히 안정적으로 유지되고 있는데(Wanner, 1996), 이것은 Pi 수송 시스템들의 정교한 발현 조절에 의한 것으로 판단된다. Pi에 높은 친화력을 갖는 Pst 시스템이 Pi 수송에 가장 큰 역할을 하며, 이 시스템 구성 단백질들의 발현을 주도적으로 조절하는 PhoB의 역할은 세균의 Pi 항상성 유지를 하는 동시에 Pi 신호를 이용하여 많은 세포 대사에 관여하는 것으로 보인다. 또한, PhoB 외에도 여러 환경 변화가 Pst 시스템의 발현을 조절하는데, 이러한 현상들은 세포 내 Pi 농도 조절이 세균의 정상적인 대사에 중요한 역할을 한다는 사실을 보여준다.

세균의 세포 대사 및 적응반응에서 Pi의 역할을 연구하기 위해 많은 연구들이 *pst* 돌연변이주들을 활용하였으나, 많은 부분이 PhoB의 연속적인 활성화로 인한 과도한 PhoB regulon 발현에 의해 야기되는 현상들로 판단되며, 그 중에서도 대부분 Poly-Pi 합성과 연관된 표현형이 많았다. Poly-Pi 합성 유전자가 PhoB에 의해 조절되며 Poly-Pi의 농도는 비정상적인 성장환경에서 급격히 변화한다는 사실들을 생각해 볼 때(Kuroda *et al.*, 1997; Rao *et al.*, 1998; Yuan *et al.*, 2006), Poly-Pi 합성과 분해 과정으로 인해 생기는 Pi의 급격한 농도 변화가 세균 대사에 중요하다는 사실을 보여주며, 동시에 정상적인 세균 대사에 관여하는 Pi의 구체적 역할을 연구하는 데에는 한계로 작용한 부분이 있는 것으로 판단된다. 현재까지의 연구는 Pi 농도 변화에 따른 거시적인 표현형 연구가 대부분이었다. 따라서, 아직 알려지지 않고 있는 세포 내부 Pi 신호 전달 체계 및 금속 양이온 등 세포 내부에서 Pi 이온과 상호작용할 수 있는 물질들의 기능 변화 등을 포함하는 보다 미시적인 연구가 필요할 것으로 예상된다.

적요

인은 인지질, 탄수화물 및 핵산 등의 생분자 합성에 필요한 원소이다. 세균은 외부환경으로부터 인산이나 인산을 포함하는 영양소를 흡수하여 인을 얻고, 세포대사에 사용되고 남은 인산은 polyphosphate 형태로 저장한다. 현재까지 알려진 다섯 개의 인산 수송 시스템 중, 인산에 특이적으로 높은 친화력을 갖는 Pst 시스템이 가장 중요한 역할을 하며, 그 발현은 세포외부 인산 농도에 반응하는 PhoB-PhoR two component 신호전달 시스템에 의해 조절된다. 반응 조절 단백질 PhoB는 인산 대사뿐 아니라 이와 관계없는 유전자들의 전사를 조절하는 것으로 알려졌으며, 따라서 PhoB의 활성이 조절되지 않으면 많은 종류의 다른 표현형이 나타난다. 본 총설은 각 인산 수송 시스템의 기능이 결여된 세균의 표현형에 대한 최근 연구 결과를 토대로 다음과 같은 내

용을 기술하였다. 첫째, 세포 내부 인산의 적정 농도 유지를 위한 인산 수송 시스템들의 역할, 둘째, 인산뿐 아니라 여타 환경 신호와 관련된 수송 시스템의 다양한 표현형, 그리고 마지막으로, 수송 시스템들 간 혹은 그 조절자들 간의 표현형 중복을 분류하여 제시하였다. 이러한 내용은 결국 세균의 대사, 적응반응 및 병원성 발현에 미치는 인산 항상성의 중요성을 강조한다.

감사의 말

본 연구는 2011학년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

참고문헌

- Agüena, M., Yagil, E., and Spira, B. 2002. Transcriptional analysis of the *pst* operon of *Escherichia coli*. *Mol. Genet. Genomics* **268**, 518–524.
- Auesukaree, C., Homma, T., Tochio, H., Shirakawa, M., Kaneko, Y., and Harashima, S. 2004. Intracellular phosphate serves as a signal for the regulation of the PHO pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* **279**, 17289–17294.
- Ault-Riche, D., Fraley, C.D., Tzeng, C.M., and Kornberg, A. 1998. Novel assay reveals multiple pathways regulating stress-induced accumulations of inorganic polyphosphate in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **180**, 1841–1847.
- Baek, J.H., Kang, Y.J., and Lee, S.Y. 2007. Transcript and protein level analyses of the interactions among PhoB, PhoR, PhoU and CreC in response to phosphate starvation in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* **277**, 254–259.
- Baek, J.H. and Lee, S.Y. 2006. Novel gene members in the Pho regulon of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* **264**, 104–109.
- Battesti, A., Majdalani, N., and Gottesman, S. 2011. The RpoS-mediated general stress response in *Escherichia coli*. *Annu. Rev. Microbiol.* **65**, 189–213.
- Bauer, K., Benz, R., Brass, J., and Boos, W. 1985. *Salmonella typhimurium* contains an anion-selective outer membrane porin induced by phosphate starvation. *J. Bacteriol.* **161**, 813–816.
- Beard, S.J., Hashim, R., Wu, G., Binet, M.R., Hughes, M.N., and Poole, R.K. 2000. Evidence for the transport of zinc(II) ions via the pit inorganic phosphate transport system in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* **184**, 231–235.
- Bhatt, K., Banerjee, S.K., and Chakraborti, P.K. 2000. Evidence that phosphate specific transporter is amplified in a fluoroquinolone resistant *Mycobacterium smegmatis*. *Eur. J. Biochem.* **267**, 4028–4032.
- Birkey, S.M., Sun, G., Piggot, P.J., and Hulett, F.M. 1994. A pho regulon promoter induced under sporulation conditions. *Gene* **147**, 95–100.
- Borsetti, F., Toninello, A., and Zannoni, D. 2003. Tellurite uptake by cells of the facultative phototroph *Rhodobacter capsulatus* is a Delta pH-dependent process. *FEBS Lett.* **554**, 315–318.
- Buckles, E.L., Wang, X., Lockatell, C.V., Johnson, D.E., and Donnenberg, M.S. 2006. PhoU enhances the ability of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strain CFT073 to colonize the murine urinary tract. *Microbiology* **152**, 153–160.
- Budin-Vermeuil, A., Pichereau, V., Auffray, Y., Ehrlich, D., and Maguin, E. 2007. Proteome phenotyping of acid stress-resistant mutants of *Lactococcus lactis* MG1363. *Proteomics* **7**, 2038–2046.

- Burall, L.S., Harro, J.M., Li, X., Lockatell, C.V., Himpf, S.D., Hebel, J.R., Johnson, D.E., and Mobley, H.L. 2004. *Proteus mirabilis* genes that contribute to pathogenesis of urinary tract infection: identification of 25 signature-tagged mutants attenuated at least 100-fold. *Infect. Immun.* **72**, 2922–2938.
- Carmany, D.O., Hollingsworth, K., and McCleary, W.R. 2003. Genetic and biochemical studies of phosphatase activity of PhoR. *J. Bacteriol.* **185**, 1112–1115.
- Castaneda-Garcia, A., Rodriguez-Rojas, A., Guelfo, J.R., and Blazquez, J. 2009. The glycerol-3-phosphate permease GlpT is the only fosfomycin transporter in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **191**, 6968–6974.
- Cesselin, B., Ali, D., Gratadoux, J.J., Gaudu, P., Duwat, P., Gruss, A., and El Karoui, M. 2009. Inactivation of the *Lactococcus lactis* high-affinity phosphate transporter confers oxygen and thiol resistance and alters metal homeostasis. *Microbiology* **155**, 2274–2281.
- Chakraborti, P.K., Bhatt, K., Banerjee, S.K., and Misra, P. 1999. Role of an ABC importer in mycobacterial drug resistance. *Biosci. Rep.* **19**, 293–300.
- Chan, F.Y. and Torriani, A. 1996. PstB protein of the phosphate-specific transport system of *Escherichia coli* is an ATPase. *J. Bacteriol.* **178**, 3974–3977.
- Chavez, F.P., Mauriaca, C., and Jerez, C.A. 2009. Constitutive and regulated expression vectors to construct polyphosphate deficient bacteria. *BMC Res. Notes* **2**, 50.
- Cheng, C., Tennant, S.M., Azzopardi, K.I., Bennett-Wood, V., Hartland, E.L., Robins-Browne, R.M., and Tauschek, M. 2009. Contribution of the *pst-phoU* operon to cell adherence by atypical enteropathogenic *Escherichia coli* and virulence of *Citrobacter rodentium*. *Infect. Immun.* **77**, 1936–1944.
- Crepin, S., Chekabab, S.M., Le Bihan, G., Bertrand, N., Dozois, C.M., and Harel, J. 2011. The Pho regulon and the pathogenesis of *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.* **153**, 82–88.
- Critzer, F.J., D'Souza, D.H., Saxton, A.M., and Golden, D.A. 2010. Increased transcription of the phosphate-specific transport system of *Escherichia coli* O157:H7 after exposure to sodium benzoate. *J. Food Prot.* **73**, 819–824.
- De Groote, V.N., Fauvart, M., Kint, C.I., Verstraeten, N., Jans, A., Cornelis, P., and Michiels, J. 2011. *Pseudomonas aeruginosa* fosfomycin resistance mechanisms affect non-inherited fluoroquinolone tolerance. *J. Med. Microbiol.* **60**, 329–336.
- Diaz, M., Esteban, A., Fernandez-Abalos, J.M., and Santamaria, R.I. 2005. The high-affinity phosphate-binding protein PstS is accumulated under high fructose concentrations and mutation of the corresponding gene affects differentiation in *Streptomyces lividans*. *Microbiology* **151**, 2583–2592.
- Esteban, A., Diaz, M., Yepes, A., and Santamaria, R.I. 2008. Expression of the *pstS* gene of *Streptomyces lividans* is regulated by the carbon source and is partially independent of the PhoP regulator. *BMC Microbiol.* **8**, 201.
- Ferreira, G.M. and Spira, B. 2008. The *pst* operon of enteropathogenic *Escherichia coli* enhances bacterial adherence to epithelial cells. *Microbiology* **154**, 2025–2036.
- Fischer, R.J., Oehmcke, S., Meyer, U., Mix, M., Schwarz, K., Fiedler, T., and Bahl, H. 2006. Transcription of the *pst* operon of *Clostridium acetobutylicum* is dependent on phosphate concentration and pH. *J. Bacteriol.* **188**, 5469–5478.
- Fisher, S.L., Kim, S.K., Wanner, B.L., and Walsh, C.T. 1996. Kinetic comparison of the specificity of the vancomycin resistance VanS for two response regulators, VanR and PhoB. *Biochemistry* **35**, 4732–4740.
- Friley, C.D., Rashid, M.H., Lee, S.S., Gottschalk, R., Harrison, J., Wood, P.J., Brown, M.R., and Kornberg, A. 2007. A polyphosphate kinase 1 (*ppk1*) mutant of *Pseudomonas aeruginosa* exhibits multiple ultrastructural and functional defects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 3526–3531.
- Gangaiah, D., Kassem, H., Liu, Z., and Rajashekara, G. 2009. Importance of polyphosphate kinase 1 for *Campylobacter jejuni* viable-but-nonculturable cell formation, natural transformation, and antimicrobial resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 7838–7849.
- Gebhard, S., Ekanayaka, N., and Cook, G.M. 2009. The low-affinity phosphate transporter PitA is dispensable for *in vitro* growth of *Mycobacterium smegmatis*. *BMC Microbiol.* **9**, 254.
- Geiger, O., Rohrs, V., Weissenmayer, B., Finan, T.M., and Thomas-Oates, J.E. 1999. The regulator gene *phoB* mediates phosphate stress-controlled synthesis of the membrane lipid diacylglycerol-N,N,N-trimethylhomoserine in *Rhizobium (Sinorhizobium) meliloti*. *Mol. Microbiol.* **32**, 63–73.
- Gristwood, T., Fineran, P.C., Everson, L., Williamson, N.R., and Salmond, G.P. 2009. The PhoBR two-component system regulates antibiotic biosynthesis in *Serratia* in response to phosphate. *BMC Microbiol.* **9**, 112.
- Hoffer, S.M., van Uden, N., and Tommassen, J. 2001. Expression of the *pho* regulon interferes with induction of the *uhpT* gene in *Escherichia coli* K-12. *Arch. Microbiol.* **176**, 370–376.
- Hsieh, Y.J. and Wanner, B.L. 2010. Global regulation by the seven-component Pi signaling system. *Curr. Opin. Microbiol.* **13**, 198–203.
- Huang, Y., Lemieux, M.J., Song, J., Auer, M., and Wang, D.N. 2003. Structure and mechanism of the glycerol-3-phosphate transporter from *Escherichia coli*. *Science* **301**, 616–620.
- Hulet, F.M., Lee, J., Shi, L., Sun, G., Chesnut, R., Sharkova, E., Duggan, M.F., and Kapp, N. 1994. Sequential action of two-component genetic switches regulates the PHO regulon in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* **176**, 1348–1358.
- Jackson, R.J., Binet, M.R., Lee, L.J., Ma, R., Graham, A.I., McLeod, C.W., and Poole, R.K. 2008. Expression of the PitA phosphate/metal transporter of *Escherichia coli* is responsive to zinc and inorganic phosphate levels. *FEMS Microbiol. Lett.* **289**, 219–224.
- Jacobsen, S.M., Lane, M.C., Harro, J.M., Shirliff, M.E., and Mobley, H.L. 2008. The high-affinity phosphate transporter Pst is a virulence factor for *Proteus mirabilis* during complicated urinary tract infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **52**, 180–193.
- Jahid, I.K., Silva, A.J., and Benitez, J.A. 2006. Polyphosphate stores enhance the ability of *Vibrio cholerae* to overcome environmental stresses in a low-phosphate environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 7043–7049.
- Kato, J., Yamamoto, T., Yamada, K., and Ohtake, H. 1993. Cloning, sequence and characterization of the polyphosphate kinase-encoding gene (*ppk*) of *Klebsiella aerogenes*. *Gene* **137**, 237–242.
- Kim, H.J., Yang, K.Y., Cho, B.H., Kim, K.Y., Lee, M.C., Kim, Y.H., Anderson, A.J., and Kim, Y.C. 2007. Transcript accumulation from the *rpoS* gene encoding a stationary-phase sigma factor in *Pseudomonas chlororaphis* strain O6 is regulated by the polyphosphate kinase gene. *Curr. Microbiol.* **54**, 219–223.
- Kim, S.K., Makino, K., Amemura, M., Nakata, A., and Shinagawa, H. 1995. Mutational analysis of the role of the first helix of region 4.2

- of the sigma 70 subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase in transcriptional activation by activator protein PhoB. *Mol. Gen. Genet.* **248**, 1–8.
- Kuroda, A., Murphy, H., Cashel, M., and Kornberg, A. 1997. Guanosine tetra- and pentaphosphate promote accumulation of inorganic polyphosphate in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **272**, 21240–21243.
- Lamarche, M.G. and Harel, J. 2010. Membrane homeostasis requires intact *pst* in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Curr. Microbiol.* **60**, 356–359.
- Lamarche, M.G., Kim, S.H., Crepin, S., Mourez, M., Bertrand, N., Bishop, R.E., Dubreuil, J.D., and Harel, J. 2008a. Modulation of hexa-acyl pyrophosphate lipid A population under *Escherichia coli* phosphate (Pho) regulon activation. *J. Bacteriol.* **190**, 5256–5264.
- Lamarche, M.G., Wanner, B.L., Crepin, S., and Harel, J. 2008b. The phosphate regulon and bacterial virulence: a regulatory network connecting phosphate homeostasis and pathogenesis. *FEMS Microbiol. Rev.* **32**, 461–473.
- Lau, W.T., Howson, R.W., Malkus, P., Schekman, R., and O'Shea, E.K. 2000. Pho86p, an endoplasmic reticulum (ER) resident protein in *Saccharomyces cerevisiae*, is required for ER exit of the high-affinity phosphate transporter Pho84p. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**, 1107–1112.
- Lemieux, M.J., Huang, Y., and Wang, D.N. 2004. Glycerol-3-phosphate transporter of *Escherichia coli*: structure, function and regulation. *Res. Microbiol.* **155**, 623–629.
- Li, Y. and Zhang, Y. 2007. PhoU is a persistence switch involved in persister formation and tolerance to multiple antibiotics and stresses in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**, 2092–2099.
- Luz, D.E., Nepomuceno, R.S., Spira, B., and Ferreira, R.C. 2012. The Pst system of *Streptococcus mutans* is important for phosphate transport and adhesion to abiotic surfaces. *Mol. Oral Microbiol.* **27**, 172–181.
- Merkel, T.J., Nelson, D.M., Brauer, C.L., and Kadner, R.J. 1992. Promoter elements required for positive control of transcription of the *Escherichia coli* *uhpT* gene. *J. Bacteriol.* **174**, 2763–2770.
- Metcalf, W.W. and Wanner, B.L. 1991. Involvement of the *Escherichia coli* *phn* (*psiD*) gene cluster in assimilation of phosphorus in the form of phosphonates, phosphite, Pi esters, and Pi. *J. Bacteriol.* **173**, 587–600.
- Moberly, J.G., Staven, A., Sani, R.K., and Peyton, B.M. 2010. Influence of pH and inorganic phosphate on toxicity of zinc to *Arthrobacter* sp. isolated from heavy-metal-contaminated sediments. *Environ. Sci. Technol.* **44**, 7302–7308.
- Monds, R.D., Silby, M.W., and Mahanty, H.K. 2001. Expression of the Pho regulon negatively regulates biofilm formation by *Pseudomonas aureofaciens* PA147-2. *Mol. Microbiol.* **42**, 415–426.
- Moraleda-Munoz, A., Carrero-Lerida, J., Extremera, A.L., Arias, J.M., and Munoz-Dorado, J. 2001. Glycerol 3-phosphate inhibits swarming and aggregation of *Myxococcus xanthus*. *J. Bacteriol.* **183**, 6135–6139.
- Morohoshi, T., Maruo, T., Shirai, Y., Kato, J., Ikeda, T., Takiguchi, N., Ohtake, H., and Kuroda, A. 2002. Accumulation of inorganic polyphosphate in *phoU* mutants of *Escherichia coli* and *Synechocystis* sp. strain PCC6803. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 4107–4110.
- Motomura, K., Hirota, R., Ohnaka, N., Okada, M., Ikeda, T., Morohoshi, T., Ohtake, H., and Kuroda, A. 2011. Overproduction of YjbB reduces the level of polyphosphate in *Escherichia coli*: a hypothetical role of YjbB in phosphate export and polyphosphate accumulation. *FEMS Microbiol. Lett.* **320**, 25–32.
- Muda, M., Rao, N.N., and Torriani, A. 1992. Role of PhoU in phosphate transport and alkaline phosphatase regulation. *J. Bacteriol.* **174**, 8057–8064.
- Mudrak, B. and Tamayo, R. 2012. The *Vibrio cholerae* Pst2 phosphate transport system is upregulated in biofilms and contributes to biofilm-induced hyperinfectivity. *Infect. Immun.* **80**, 1794–1802.
- Nezbedova, S., Bezouskova, S., Kofronova, O., Benada, O., Rehulka, P., Rehulkova, H., Goldova, J., Janacek, J., and Weiser, J. 2011. The use of glass beads cultivation system to study the global effect of the *ppk* gene inactivation in *Streptomyces lividans*. *Folia Microbiol. (Praha)* **56**, 519–525.
- O'May, G.A., Jacobsen, S.M., Longwell, M., Stoodley, P., Mobley, H.L., and Shirdiff, M.E. 2009. The high-affinity phosphate transporter Pst in *Proteus mirabilis* HI4320 and its importance in biofilm formation. *Microbiology* **155**, 1523–1535.
- Oganesyan, V., Oganesyan, N., Adams, P.D., Jancarik, J., Yokota, H.A., Kim, R., and Kim, S.H. 2005. Crystal structure of the "PhoU-like" phosphate uptake regulator from *Aquifex aeolicus*. *J. Bacteriol.* **187**, 4238–4244.
- Ogawa, N., Tzeng, C.M., Fraley, C.D., and Kornberg, A. 2000. Inorganic polyphosphate in *Vibrio cholerae*: genetic, biochemical, and physiologic features. *J. Bacteriol.* **182**, 6687–6693.
- Ostrowski, M., Mazard, S., Tetu, S.G., Phillippy, K., Johnson, A., Palenik, B., Paulsen, I.T., and Scanlan, D.J. 2010. PtrA is required for coordinate regulation of gene expression during phosphate stress in a marine *Synechococcus*. *ISME J.* **4**, 908–921.
- Panhorst, M., Sorger-Herrmann, U., and Wendisch, V.F. 2011. The *pstSCAB* operon for phosphate uptake is regulated by the global regulator GlxR in *Corynebacterium glutamicum*. *J. Biotechnol.* **154**, 149–155.
- Park, J.Y. 2010. Phosphate deficiency stress response mediated by Pho regulon in *Bacillus subtilis*. *Kor. J. Microbiol.* **46**, 113–121.
- Pongprayoon, P., Beckstein, O., Wee, C.L., and Sansom, M.S. 2009. Simulations of anion transport through OprP reveal the molecular basis for high affinity and selectivity for phosphate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 21614–21618.
- Pratt, J.T., Ismail, A.M., and Camilli, A. 2010. PhoB regulates both environmental and virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* **77**, 1595–1605.
- Pratt, J.T., McDonough, E., and Camilli, A. 2009. PhoB regulates motility, biofilms, and cyclic di-GMP in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* **191**, 6632–6642.
- Price-Carter, M., Fazzio, T.G., Vallbona, E.L., and Roth, J.R. 2005. Polyphosphate kinase protects *Salmonella enterica* from weak organic acid stress. *J. Bacteriol.* **187**, 3088–3099.
- Rao, N.N., Gomez-Garcia, M.R., and Kornberg, A. 2009. Inorganic polyphosphate: essential for growth and survival. *Annu. Rev. Biochem.* **78**, 605–647.
- Rao, N.N. and Kornberg, A. 1999. Inorganic polyphosphate regulates responses of *Escherichia coli* to nutritional stringencies, environmental stresses and survival in the stationary phase. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* **23**, 183–195.
- Rao, N.N., Liu, S., and Kornberg, A. 1998. Inorganic polyphosphate in *Escherichia coli*: the phosphate regulon and the stringent response. *J. Bacteriol.* **180**, 2186–2193.
- Reid, A.N., Pandey, R., Palyada, K., Whitworth, L., Doukhanine, E., and Stintzi, A. 2008. Identification of *Campylobacter jejuni* genes contributing to acid adaptation by transcriptional profiling and

- genome-wide mutagenesis. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**, 1598–1612.
- Richards, G.R. and Vanderpool, C.K.** 2012. Induction of the Pho regulon suppresses the growth defect of an *Escherichia coli* *sgrS* mutant, connecting phosphate metabolism to the glucose-phosphate stress response. *J. Bacteriol.* **194**, 2520–2530.
- Rifat, D., Bishai, W.R., and Karakousis, P.C.** 2009. Phosphate depletion: a novel trigger for *Mycobacterium tuberculosis* persistence. *J. Infect. Dis.* **200**, 1126–1135.
- Rodriguez-Garcia, A., Barreiro, C., Santos-Beneit, F., Sola-Landa, A., and Martin, J.F.** 2007. Genome-wide transcriptomic and proteomic analysis of the primary response to phosphate limitation in *Streptomyces coelicolor* M145 and in a *DeltaphoP* mutant. *Proteomics* **7**, 2410–2429.
- Rogge, M.L. and Thune, R.L.** 2011. Regulation of the *Edwardsiella ictaluri* type III secretion system by pH and phosphate concentration through EsrA, EsrB, and EsrC. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 4293–4302.
- Ruiz, N. and Silhavy, T.J.** 2003. Constitutive activation of the *Escherichia coli* Pho regulon upregulates *rpoS* translation in an Hfq-dependent fashion. *J. Bacteriol.* **185**, 5984–5992.
- Runyen-Janecky, L.J., Boyle, A.M., Kizzee, A., Liefer, L., and Payne, S.M.** 2005. Role of the Pst system in plaque formation by the intracellular pathogen *Shigella flexneri*. *Infect. Immun.* **73**, 1404–1410.
- Scanlan, D.J., Mann, N.H., and Carr, N.G.** 1993. The response of the picoplanktonic marine cyanobacterium *Synechococcus* species WH7803 to phosphate starvation involves a protein homologous to the periplasmic phosphate-binding protein of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **10**, 181–191.
- Schurdell, M.S., Woodbury, G.M., and McCleary, W.R.** 2007. Genetic evidence suggests that the intergenic region between *pstA* and *pstB* plays a role in the regulation of *rpoS* translation during phosphate limitation. *J. Bacteriol.* **189**, 1150–1153.
- Shi, X., Rao, N.N., and Kornberg, A.** 2004. Inorganic polyphosphate in *Bacillus cereus*: motility, biofilm formation, and sporulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 17061–17065.
- Slater, H., Crow, M., Everson, L., and Salmond, G.P.** 2003. Phosphate availability regulates biosynthesis of two antibiotics, prodigiosin and carbapenem, in *Serratia* via both quorum-sensing-dependent and -independent pathways. *Mol. Microbiol.* **47**, 303–320.
- Soualhine, H., Brochu, V., Menard, F., Papadopolou, B., Weiss, K., Bergeron, M.G., Legare, D., Drummelsmith, J., and Ouellette, M.** 2005. A proteomic analysis of penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* reveals a novel role for PstS, a subunit of the phosphate ABC transporter. *Mol. Microbiol.* **58**, 1430–1440.
- Steed, P.M. and Wanner, B.L.** 1993. Use of the rep technique for allele replacement to construct mutants with deletions of the *pstSCAB-phoU* operon: evidence of a new role for the PhoU protein in the phosphate regulon. *J. Bacteriol.* **175**, 6797–6809.
- Sultan, S.Z., Silva, A.J., and Benitez, J.A.** 2010. The PhoB regulatory system modulates biofilm formation and stress response in El Tor biotype *Vibrio cholerae*. *FEMS Microbiol. Lett.* **302**, 22–31.
- Sureka, K., Sanyal, S., Basu, J., and Kundu, M.** 2009. Polyphosphate kinase 2: a modulator of nucleoside diphosphate kinase activity in mycobacteria. *Mol. Microbiol.* **74**, 1187–1197.
- Surin, B.P., Jans, D.A., Fimmel, A.L., Shaw, D.C., Cox, G.B., and Rosenberg, H.** 1984. Structural gene for the phosphate-repressible phosphate-binding protein of *Escherichia coli* has its own promoter: complete nucleotide sequence of the *phoS* gene. *J. Bacteriol.* **157**, 772–778.
- Surin, B.P., Rosenberg, H., and Cox, G.B.** 1985. Phosphate-specific transport system of *Escherichia coli*: nucleotide sequence and gene-polypeptide relationships. *J. Bacteriol.* **161**, 189–198.
- Tunpiboonsak, S., Mongkolro, R., Kitdomsub, K., Thanwatanaying, P., Kiattipirodom, W., Tungboontina, Y., and Tungpradabkul, S.** 2010. Role of a *Burkholderia pseudomallei* polyphosphate kinase in an oxidative stress response, motilities, and biofilm formation. *J. Microbiol.* **48**, 63–70.
- van Veen, H.W.** 1997. Phosphate transport in prokaryotes: molecules, mediators and mechanisms. *Antonie Van Leeuwenhoek* **72**, 299–315.
- van Veen, H.W., Abee, T., Kortstee, G.J., Konings, W.N., and Zehnder, A.J.** 1994. Translocation of metal phosphate via the phosphate inorganic transport system of *Escherichia coli*. *Biochemistry* **33**, 1766–1770.
- VanBogelen, R.A., Olson, E.R., Wanner, B.L., and Neidhardt, F.C.** 1996. Global analysis of proteins synthesized during phosphorus restriction in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **178**, 4344–4366.
- Wanner, B.L.** 1996. Phosphorus assimilation and control of the phosphate regulon, pp. 1357–1381. In Neidhardt, F.C., Curtiss, R., III, Ingraham, J.L., Lin, E.C.C., Low, K.B., Jr, Magasanik, (eds.), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and Molecular Biology. American Society for Microbiology Press, Washington, DC, USA.
- Webb, D.C., Rosenberg, H., and Cox, G.B.** 1992. Mutational analysis of the *Escherichia coli* phosphate-specific transport system, a member of the traffic ATPase (or ABC) family of membrane transporters. A role for proline residues in transmembrane helices. *J. Biol. Chem.* **267**, 24661–24668.
- Wu, H.J., Seib, K.L., Srikhanta, Y.N., Edwards, J., Kidd, S.P., Maguire, T.L., Hamilton, A., Pan, K.T., Hsiao, H.H., Yao, C.W., and et al.** 2010. Manganese regulation of virulence factors and oxidative stress resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Proteomics* **73**, 899–916.
- Yuan, Z.C., Zaheer, R., and Finan, T.M.** 2005. Phosphate limitation induces catalase expression in *Sinorhizobium meliloti*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Agrobacterium tumefaciens*. *Mol. Microbiol.* **58**, 877–894.
- Yuan, Z.C., Zaheer, R., Morton, R., and Finan, T.M.** 2006. Genome prediction of PhoB regulated promoters in *Sinorhizobium meliloti* and twelve proteobacteria. *Nucleic Acids Res.* **34**, 2686–2697.