

질소-인산전달계 최종 인산 수용체 EIIA^{Ntr} 조절의 다면성

박찬서 · 이은진* 

고려대학교 생명과학부

Multi-faceted regulatory roles of EIIA^{Ntr}, the final phosphate receptor of nitrogen-related phosphotransferase system

Chan-Sau Park and Eun-Jin Lee* 

Department of Life Sciences, Korea University, Seoul 02841, Republic of Korea

(Received August 18, 2022; Revised September 19, 2022; Accepted September 21, 2022)

The nitrogen-related phosphotransferase system (PTS^{Ntr}) is a secondary phosphorelay cascade system present in many Gram-negative bacteria. The primary sugar phosphotransferase (sugar-PTS) system has various physiological functions in bacteria based on carbon nutrients and their metabolites. Similarly, regulatory mechanisms of the PTS^{Ntr} also vary depending on the species. Recently, several studies have reported on the global regulation mechanism of EIIA^{Ntr} (encoded by *ptsN*), the final phosphate receptor of PTS^{Ntr}, involved in nitrogen/carbon metabolism, K⁺ concentration regulation, and virulence regulation. Depending on the diversity of strains with the corresponding systems, different phenotypes have been observed from regulation by EIIA^{Ntr}. Furthermore, since some of its regulatory mechanisms are yet to be discovered, the purpose of this review is to organize various phenotypes through the regulation of EIIA^{Ntr} based on environmental conditions across species, with updating recent findings on its mechanism.

Keywords: EIIA^{Ntr}, nitrogen-related phosphotransferase system (PTS^{Ntr}), pleiotropic effect, *ptsN*

세균은 당-인산전달계(sugar phosphotransferase system, PTS)를 통해 당을 세포 내부로 수송한다(Deutscher *et al.*, 2006). 당-인산전달계는 enzymeI (EI), histidine phosphocarrier protein (HPr) 그리고 enzymeII (EII)로 구성되며(Deutscher *et al.*, 2006),

EII는 당의 인산화에 관여하는 EIIA와 EIIB, 그리고 당 수송에 관여하는 EIIC로 나누어진다. 당-인산전달계는 phosphoenolpyruvate (PEP) → HPr → EIIA → EIIB의 방향으로 인산기를 전달하며 최종적으로 EIIC에 의해 외부의 당은 내부로 수송된다(Postma *et al.*, 1993). 이러한 인산전달계의 흐름으로 인해 외부에 당이 존재할 시에 해당 단백질들은 탈인산화된 상태로 존재하며, 외부에 당이 존재하지 않을 시에는 인산화된 상태로 세포 내에 잔존한다. *Escherichia coli*를 포함한 여러 Proteobacteria는 당-인산전달계(sugar-PTS) 외에 질소-인산전달계(PTS^{Ntr})로 표기된 두 번째 인산전달계를 보유한다. 질소-인산전달계는 EI^{Ntr}, NPr, EIIA^{Ntr}으로 구성되며, PEP → EI^{Ntr} → NPr → EIIA^{Ntr}의 방향으로 진행되는 일련의 인산화 cascade system을 통해 세포 내 생리활성을 조절한다(Fig. 1). 해당 인산전달계를 구성하는 *ptsN*과 *ptsO* 유전자는 σ^{54} 를 암호화하는 *rpoN* 유전자와 동일한 오페론 내에서 발견되어 세균의 질소 동화 과정에 관여하는 질소-인산전달계로 명명되었다(Powell *et al.*, 1995). 하지만 현재까지 질소-인산전달계의 최종 인산수용체에 해당하는 EIIA^{Ntr}의 생리 조절 작용에 따른 다양한 표현형이 보고되고 있으며 해당 명칭은 다소 좁은 범주의 기능만을 내포한다. 본 총설은 *ptsN* 돌연변이체에서 확인되는 다양한 표현형에 대한 최근의 발견들을 정리하여 EIIA^{Ntr}의 인산화 상태 지표와 세포 내 양적 조절을 통해 이루어지는 질소/산소 기반 유기물 대사, K⁺ 항상성 조절 및 병원성 유전자 발현 등의 다양한 세포 내 생리 활성 조절에 대해 이해한다.

*For correspondence. E-mail: eunjlee@korea.ac.kr;
Tel.: +82-2-3290-3411; Fax: +82-2-3290-4144

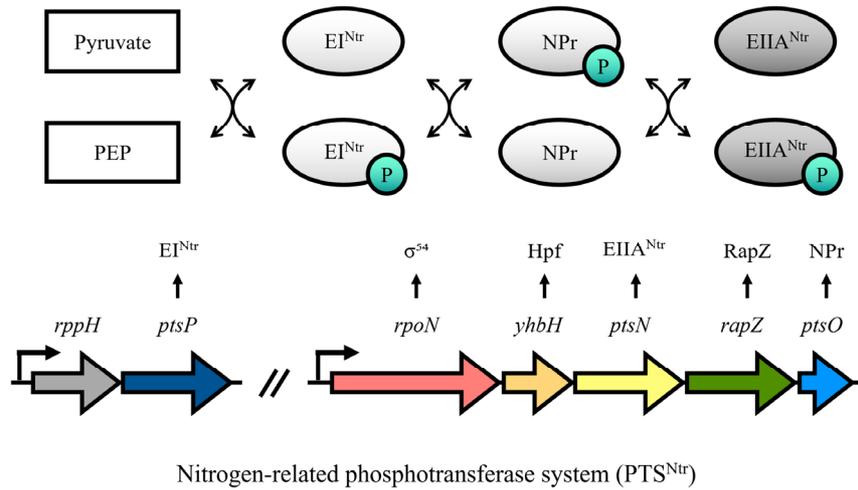


Fig. 1. The nitrogen-PTS of *E. coli* (modified from Jahn *et al.*, 2013). The nitrogen-phosphate transport system consists of EI^{Ntr} (*ptsP*), NPr (*ptsO*), and EIIA^{Ntr} (*ptsN*). The *ptsN* and *ptsO* genes are found in the same operon with the *rpoN* gene encoding σ⁵⁴. PTS^{Ntr} regulates various physiological activities of cells through a series of phosphorylation cascade systems in the direction of PEP → EI^{Ntr} → NPr → EIIA^{Ntr}.

본 론

EIIA^{Ntr}에 의한 유기 질소화합물의 생합성 조절

앞서 언급한 바와 같이 질소-인산전달계의 구성 유전자인 *ptsN* 과 *ptsO* 유전자는 σ⁵⁴를 암호화하는 *rpoN* 오페론 내에 보존되었기 때문에 질소 대사 조절에 관여할 것으로 예상되었다. 해당 개념은 *Klebsiella pneumoniae*의 *ptsN* 삽입 돌연변이체가 질소 고정량의 증가 현상이 관찰되었고(Merrick and Coppard, 1989), 이는 추후 질소 고정 유전자 *nifL*, *nifH*와 글루타민 합성 유전자 *glnA*의 전사 증가에 기인한 결과로 밝혀졌다(Merrick *et al.*, 1995). *ptsO* 돌연변이체에서는 해당 유전자의 전사 감소가 관찰되었는데, 이는 탈인산화 형태의 EIIA^{Ntr}이 *nif*와 *glnA*의 전사를 억제한다는 것을 의미하며, 결과적으로 *Escherichia coli*에서 PTS^{Ntr}은 질소 동화과정에 간접적으로 영향을 미칠 수 있음을 시사하였다.

ptsN 돌연변이체는 다양한 유기 질소 공급원에서 자랄 수 있지만, TCA 회로 중간산물을 탄소 공급원으로 첨가할 시 세포의 성장이 저해되었다(Powell *et al.*, 1995) (Table 1). 추가적인 탄소 공급원이 존재할 시 EIIA^{Ntr}에 의한 질소 동화 작용이 촉진되었으며, 이를 근거로 한 EIIA^{Ntr}의 질소-탄소 연계적인 대사 조절 모델을 예상되었으나 해당 조절 과정의 메커니즘은 밝혀지지 않았다. 추후 *ptsN* 돌연변이체에서 branched-point 아미노산(아세트히드록시 합성효소, AHAS)의 생합성 첫 단계를 담당하는 효소의 활성화와 해당 유전자(*ihvB* 및 *ihvN*)의 발현이 급격히 감소되는 현상이 보고되어 EIIA^{Ntr}에 의한 질소 조절작용이 다시 주목받았으나(Lee *et al.*, 2005), 이는 *ptsN* 돌연변이체의 K⁺ 흡수 증가의 결과로 나타난 현상이며(Lee *et al.*, 2007), 질소-인산전달계를 매개로 하는 간접적인 방식의 질소 유기물 대사 조절에 해당한다. 최근 *E. coli* 균주에서 EIIA^{Ntr}를 통한 세포 내 아미노당 조절 작용에 대한 보고에

Table 1. Summary of nitrogen metabolic processes controlled by PTS^{Ntr}

Organism	Phenotype	Regulator	Mechanism
<i>Escherichia coli</i>	<i>ptsN</i> is required for growth on nitrogenous organic	?	Unknown
<i>Salmonella enterica</i>	<i>ptsN</i> is required for amino-sugar production in the presence of nitrogen sources	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} represses GlnS activation, which is critical for amino-sugar production
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Nitrogen fixation is reinforced in <i>ptsN</i> mutants and inhibited in <i>ptsO</i> mutants	EIIA ^{Ntr}	Dephosphorylated EIIA ^{Ntr} represses <i>nifL</i> and <i>nifH</i> transcription
	Overexpression of <i>ptsN</i> downregulates growth on NH ⁴⁺	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} represses <i>glnA</i> transcription
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>ptsN</i> mutants are unable to utilize nitrogenous organic	?	Unknown
<i>Azotobacter vinelandii</i>	Nitrogenase activity is repressed in <i>ptsP</i> mutants	?	Unknown
<i>Rhizobium etli</i>	Transcription of <i>nifH</i> and melanin production are repressed in <i>ptsN</i> and <i>ptsA</i> mutants	?	Unknown

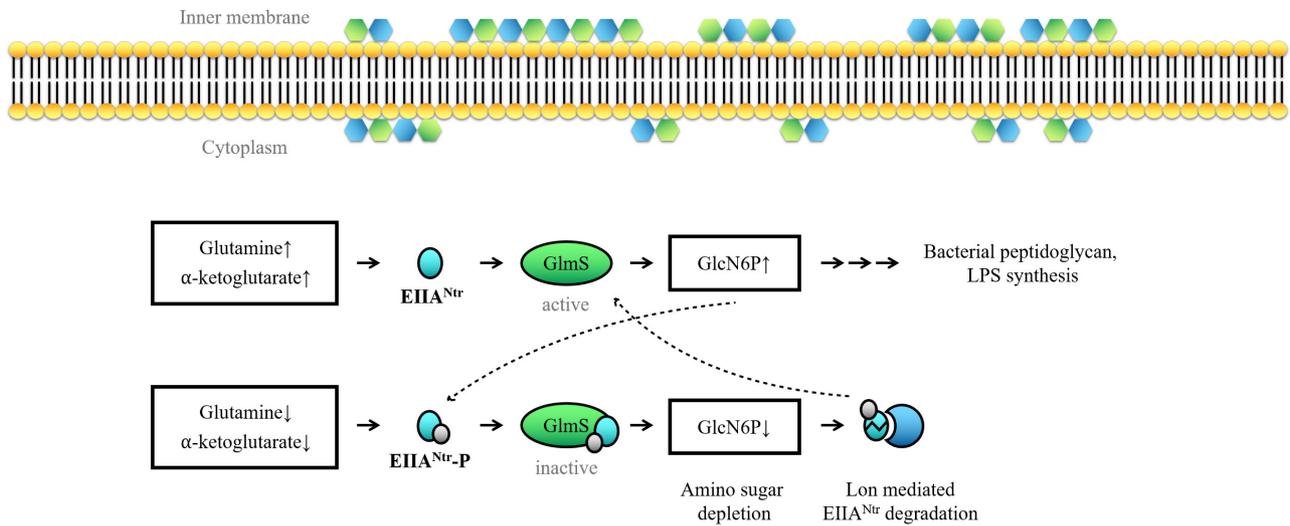


Fig. 2. Regulation of cellular amino sugar homeostasis mediated by EIIA^{Ntr}. In high cellular concentrations of glutamine and α -ketoglutarate, which are nitrogenous organic molecules, EIIA^{Ntr} exists in a dephosphorylated state. Dephosphorylated EIIA^{Ntr} cannot bind to GlmS and GlmS is free activated, increasing the concentration of amino sugar GlcN6P. When the nitrogenous organic is depleted, EIIA^{Ntr} is phosphorylated, inactivating the GlmS after directly binding to it, and the concentration of GlcN6P decreases. This soon activates the Lon protease activity, causing the degradation of EIIA^{Ntr}, and as a result, GlmS becomes active again.

따르면(Yoo *et al.*, 2016), 인산화된 EIIA^{Ntr}은 아미노당 생성 효소인 GlmS와 직접적으로 상호작용하여 해당 효소의 활성을 억제한다고 보고되었다(Fig. 2). 세포의 아미노당 고갈 시 EIIA^{Ntr}은 Lon protease에 의해 분해되며, EIIA^{Ntr}에 의한 GlmS 활성의 조절과 RapZ에 의한 GlmS 번역의 조절을 통해 세포는 질소공급원과 아미노당 농도에 대응하여 세포 내 아미노당 항상성을 조절한다(Göpel *et al.*, 2013). 이는 나아가 아미노당을 통해 세균의 세포벽 성분인 펩티도글리칸과 lipopolysaccharide (LPS)의 합성 조절을 매개할 수 있다는 점을 시사한다.

EIIA^{Ntr}에 의한 탄소 저장 및 방향족 화합물의 분해 조절

Azotobacter vinelandii 및 *Pseudomonas putida*에서 질소-인산전달계는 polyhydroxyalcanoate (PHA)의 축적을 조절한다는 것이 보고되었다(Velazquez *et al.*, 2007). PHA는 일반적으로 과량의 탄소유기물 존재 혹은 질소 제한 조건에서 축적

되는 탄소 저장 화합물이다(Hoffmann and Rehm, 2004). EI^{Ntr}과 NPr의 감소는 두 세균 모두에서 PHA 축적량이 감소했으나, EIIA^{Ntr}의 손실은 PHA 축적량을 증가시켰다(Segura and Espin, 1998). 또한 인산화가 불가능한 EIIA^{Ntr} 돌연변이체에서는 PHA의 축적이 관찰되지 않았다(Noguez *et al.*, 2008). 이때, *A. vinelandii*에서 탈인산화 형태의 EIIA^{Ntr}이 PHA 생합성을 매개하는 *phbBAC* 오페론 발현의 전사활성자 *phbR*의 전사를 억제하는 조절인자로 작용하였다. *Azotobacter vinelandii*와 *Ralstonia eutropha* 균주의 경우 질소 결핍 조건에서 세포 내 polyhydroxybutyrate (PHB)의 축적이 유발되었는데(Kaddor and Steinbüchel, 2011; Peña *et al.*, 2014), 이는 EIIA^{Ntr}와 SpoT 간의 상호작용을 통한 ppGpp 생성 조절로 인해 발생한 일종의 스트레스 반응의 결과로 보고되었다(Karstens *et al.*, 2014) (Table 2).

EIIA^{Ntr}에 의한 탄소 저장 조절에 더불어, *P. putida* mt-2의

Table 2. Summary of carbon metabolic processes controlled by PTS^{Ntr}

Organism	Phenotype	Regulator	Mechanism
<i>Azotobacter vinelandii</i>	Accumulation of PHAs is enhanced in <i>ptsN</i> mutants	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} represses <i>phbR</i> and <i>phbBAC</i>
	Accumulation of PHBs is enhanced in <i>nitrogen organic depletion state</i>	EIIA ^{Ntr}	Unknown
	Accumulation of PHAs is enhanced in <i>ptsN</i> mutants	?	Unknown
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>ptsN</i> mutation relieves catabolism of toluene/xylene from CCR	EIIA ^{Ntr}	Phosphorylated EIIA ^{Ntr} modulates the activity of the <i>Pu</i> promoter
<i>Ralstonia eutropha</i>	Accumulation of PHBs is enhanced in <i>nitrogen organic depletion state</i>	EIIA ^{Ntr}	Phosphorylated EIIA ^{Ntr} activates ppGpp synthase

Box 1. *Pu* promoter

톨루엔, *m*-자일렌, *p*-자일렌, 3-에틸톨루엔 및 1,2,4-트리메틸벤젠 및 이들의 알코올, 알데히드 및 카르복실산 유도체를 탄소 공급원으로 이용하는 데 필요한 모든 종류의 효소를 암호화하는 *P. putida* mt-2의 117-kb TOL 플라스미드의 구성 프로모터이다(Franklin *et al.*, 1981). 방향족 화합물을 TCA 회로의 중간생성물로 전환하는 데 필요한 유전자는 *Pu* 프로모터로 조절되는 유전자 집합체 *xylUVWCMABN*으로 구성된 상부 오페론, 그리고 *Pm* 프로모터로 조절되는 메타 오페론에 위치한다. 상부 오페론에 의해 암호화된 단백질은 톨루엔과 *p*-자일렌을 상용하는 카르복실산으로 전환시키는 역할을 하며, 이후 메타 오페론에 의해 암호화된 효소의 활성화에 의해 추가로 분해된다(Ramos *et al.*, 1997). 해당 프로모터는 아미노산과 같은 영양소의 제한조건에서 다량 생성되는 ppGpp에 의해 활성화된다(Carmona *et al.*, 2000).

Box 2. Carbon catabolite repression (CCR)

선호하는 탄소 공급원이 이용 가능할 때 2차 탄소 공급원의 이용과 해당 효소의 활성을 억제하는 조절 메커니즘으로 여러 세균 종을 포함한 미생물의 대사 조절 시스템이다(Görke and Stülke, 2008). 일반적으로 2차 탄소 공급원의 이화작용에 관여하는 효소의 합성을 억제하는 메커니즘으로 진행되는데, *E. coli*의 경우 이화 작용 억제는 인산전달계를 통해 조절되며 이때, EIIA가 해당 메커니즘에서 중심적인 역할을 한다. 장내 세균에서 EIIA 효소 중 하나는 포도당의 운반에만 특이적이다. 세포 내 포도당 농도가 높을 때, EIIA는 대부분 비인산화된 형태로 존재한다. 이는 아데닐산 고리화효소(adenylate cyclase, AC) 활성화 감소와 젓당 투과효소(Lactose permease)의 억제로 이어지며, 결과적으로 cAMP 농도는 낮아지며, 젓당은 세포 내부로 운반될 수 없다. 포도당 수치가 낮을 때, 인산화된 형태의 EIIA는 축적되어 결과적으로 AC를 활성화시키고, 이는 높은 수준의 cAMP를 생성하며, cAMP는 catabolite activator protein (CAP)에 결합하고, 락오페론의 프로모터 서열과 결합하여 젓당 대사에 필요한 효소의 합성을 매개한다. 대사 작용의 억제는 세균의 범용적인 조절 시스템의 일부이며, 젓당 대사 유전자의 전사 조절 이외로 다양한 유전자에 영향을 미친다(Deutscher, 2008).

질소-인산전달계는 톨루엔(toluene) 및 자일렌(xylene) 대사 조절에도 관여하는데, 이러한 방향족 화합물의 분해는 TOL plasmid pWW0 내의 두 오페론의 발현에 의해 조절된다고 보고되었다. 이들 오페론 중 하나는 σ^{54} 의존성 *Pu* 프로모터(Box 1)의 조절을 받는데, 해당 프로모터는 포도당 존재 여부에 따른 CCR (Carbon Catabolite Repression) (Box 2) 과정을 통해 조절되며, 그에 따라 톨루엔 혹은 자일렌과 같은 방향족 화합물을 분해한다. 인산화된 EIIA^{Ntr}은 해당 조절과정의 중간자로 작용하여 σ^{54} 의존성 *Pu* 프로모터의 발현을 저해하였는데 (Cases *et al.*, 1999; Aranda-Olmedo *et al.*, 2006), 이를 통해 EIIA^{Ntr}의 히스티딘 잔기의 치환 돌연변이 균주에서 CCR의 억제 작용을 확인할 수 있었으나 EIIA^{Ntr}에 의한 *Pu* 프로모터 조절의 분자적 메커니즘은 정확히 밝혀지지 않았다.

EIIA^{Ntr}에 의한 세포 내 K⁺ 농도 조절

질소-인산전달계는 *E. coli*에서 칼륨 흡수를 직접적으로

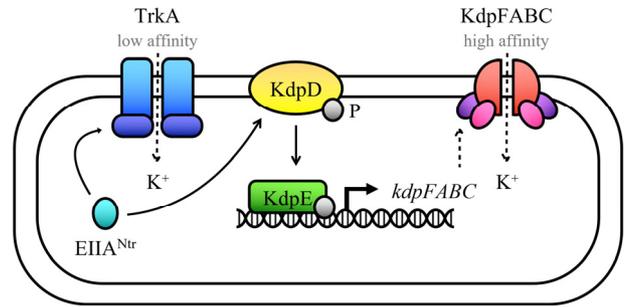


Fig. 3. Regulation of potassium homeostasis by EIIA^{Ntr} in *E. coli*. Dephosphorylated EIIA^{Ntr} in the state directly binds to TrkA to regulate its activity. At low potassium concentrations, potassium is absorbed into the cell by the KdpFABC potassium transporter. Upon activation by EIIA^{Ntr}, KdpD transfers a phosphate group to KdpE and phosphorylated KdpE binds to an upstream promoter of *kdpFABC* to promote the expression of the genes. The nitrogen-related phosphotransferase system is directly involved in the regulation of K⁺ homeostasis in *E. coli*.

조절하는 역할을 하는 것으로 알려졌다. 세포의 주변 환경의 K⁺ 농도가 높을 때, K⁺ 흡수는 일반적으로 한 쌍의 K⁺ 전위 (translocation) 수송단백질(TrkH 혹은 TrkG)과 막단백질 TrkA에 의해 이루어진다. 질소-인산전달계는 탈인산화 형태의 EIIA^{Ntr}을 TrkA에 직접 결합하여 Trk의 활성을 방해하는 것이 보고되었다(Lee *et al.*, 2007) (Fig. 3). 이 근거로 *ptsN* 돌연변이체에서는 K⁺ 흡수율이 증가하지만 *ptsO* 돌연변이체 혹은 인산화가 불가능한 형태의 EIIA^{Ntr}을 발현하는 돌연변이체에서는 K⁺ 흡수율이 감소하였다. *ptsN* 돌연변이체에서 나타나는 아세토히드록시 합성효소(AHAS)의 발현 감소 현상은 EIIA^{Ntr}에 의한 TrkA 조절 기능의 부재로 인한 세포 내 칼륨 농도의 증가에 기인하였다(Lee *et al.*, 2005). Trk 수송단백질은 K⁺에 대한 친화력이 낮기 때문에 저농도의 K⁺ 상황에서는 작동이 어려운데, 이러한 조건에서 K⁺의 흡수는 고친화성 P형 ATPase KdpFABC에 의해 이루어진다(Haupt *et al.*, 2005). 저농도의 K⁺ 조건 하에서 히스티딘 인산화효소 KdpD는 자가 인산화 및 인산기 전달 과정을 거쳐 KdpE로 인산기를 전달한다(Jung *et al.*, 1997). 인산화된 KdpE는 *kdpFABC* 프로모터의 상류 부위에 결합하여 전사 개시를 유도하며, 탈인산화 형태의 EIIA^{Ntr}은 히스티딘 인산화효소 KdpD에 직접적으로 결합함으로써 동일 과정을 매개하여 *kdpFABC* 프로모터의 활성을 증가시킨다는 것이 밝혀졌다(Lüttmann *et al.*, 2009). 또한, 인산화된 EIIA^{Ntr}은 저농도의 K⁺ 상황에서는 K⁺ 흡수를 향상시키고 (Lüttmann *et al.*, 2009) 고농도의 K⁺ 상황에서는 K⁺ 흡수를 억제하였다(Lee *et al.*, 2007). 결과적으로 *E. coli*에서 질소-인산전달계는 K⁺ 항상성 조절에 직접적으로 관여함을 제시하였다(Fig. 3). 앞서 언급한 바와 같이 EIIA^{Ntr}의 인산화 지표는

Table 3. Summary of potassium regulation processes controlled by PTS^{Ntr}

Organism	Phenotype	Regulator	Mechanism
<i>Escherichia coli</i>	Leucine is toxic for cell growth in <i>ptsN</i> mutants.	EIIA ^{Ntr}	Elevated K ⁺ concentration inhibits AHAS I activity and synthesis. Therefore, leucine inhibits remaining AHAS III
	EIIA ^{Ntr} inhibits K ⁺ influx at high K ⁺ concentrations	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} binds low affinity K ⁺ transporter TrkA
	EIIA ^{Ntr} stimulates K ⁺ influx at low K ⁺ concentrations	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} binds to and stimulates KdpD kinase, which mediates high affinity K ⁺ transporter KdpFABC synthesis
	dephospho-EIIA ^{Ntr} inhibits K ⁺ limitation whereas external K ⁺ signal stimulates it	EIIA ^{Ntr}	Dephosphorylated EIIA ^{Ntr} inhibits YcgO K ⁺ efflux activity

sugar-PTS의 활성화에 의해 추가적으로 영향을 받기 때문에 포도당 혹은 다른 인산전달계의 기질의 대사 시, EIIA^{Ntr}는 *kdpFABC* 오페론의 발현을 더욱 자극하는 것으로 나타났다(Lüttmann *et al.*, 2009). 따라서 세포의 K⁺ 농도 조절과 탄수화물의 대사 조절 사이에는 질소-인산전달계를 매개로 한 연관성이 존재함을 알 수 있다.

*Escherichia coli*의 *ptsN* 돌연변이 균주는 외부 고칼륨 농도 조건에서 생장이 저해되는 칼륨 민감성을 보인다. CvrA로도 알려진 내막 단백질 YcgO는 낮은 삼투압 조건에서 세포 내 K⁺의 농도조절을 통해 세포의 부피를 조절하는데(Verkhovskaya *et al.*, 2001), 근래의 보고에 따르면 YcgO는 *ptsN* 돌연변이 균주에서 K⁺ 유출 시스템으로 기능할 수 있다(Sharma *et al.*, 2016). 이때, YcgO의 활성화는 EIIA^{Ntr}의 인산화 지표에 따라 조절되는데, 탈인산화 상태의 EIIA^{Ntr}는 YcgO의 활성을 억제하며, EIIA^{Ntr}의 인산화를 유발하는 자극은 YcgO를 통해 K⁺ 유출을 활성화하며, 나아가 세포의 성장 저해할 수 있다(Sharma *et al.*, 2016) (Table 3).

병원성 세균 유래 EIIA^{Ntr}에 의한 독성 조절

질소-인산전달계는 세균의 물질대사를 조절할 뿐 아니라 병원성 세균에서 숙주 세포와의 상호작용을 통한 병원성 조절의 역할을 한다. 이는 다양한 종에 걸쳐 병원체의 생물막 형성 및 숙주세포 침입, 독성물질의 분비, 또한 숙주세포 내 병원성 발현 조절 기능에 걸쳐 다면적으로 작동한다.

*Pseudomonas aeruginosa*는 생물막을 형성하여 환경에서 생존 가능성을 높이는 그람음성 간균 형태의 병원체이다. 질소-인산전달계를 통한 인산기 전이 과정이 없는 상황에서는 이들의 생물막 형성이 저해되는데, 이러한 현상은 탈인산화 형태의 EIIA^{Ntr}에 의해 매개된다(Cabeen *et al.*, 2016). 질소-인산전달계를 통한 인산화 cascade 과정이 보장되는 환경에서 EIIA^{Ntr}은 인산화된 상태를 유지하며, 이는 곧 세포 내 c-di-GMP 수준의 상승과 함께 견고한 생물막의 형성을 가능하게 한다. 다만 탈인산화 형태의 EIIA^{Ntr}에 의해 매개되는 생

Box 3. *Salmonella* pathogenicity island (SPI)

*Salmonella*의 병원성 발현의 중심 요소가 되는 유전자 집합체이며 현재까지 총 17개의 SPI가 보고되고 있다(Riquelme *et al.*, 2016). SPI-1는 bacteria-mediated endocytosis (BME)와 장 상피세포 침입에 필요한 III형 분비 시스템(T3SS)을 암호화한다. T3SS는 세균 세포질에서 숙주 세포로 독성을 가진 단백질을 전이를 통해 숙주 세포의 기능을 저하시킨다. T3SS는 또한 세포 접촉 의존적인 방식으로 단백질을 전위(translocation)시키는 능력 때문에 ‘분자 바늘’로도 알려져 있다(Cornelis, 2006). T3SS는 몇몇 그람 음성 세균(e.g. *Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella*, *E. coli*, *Pseudomonas*)에서도 발견된다. SPI-2는 대식세포 내의 생존과 전신 감염의 확립에 필수적인 T3SS를 암호화한다. SifA, SifB, SseJ, SopD2, PipB, 및 PipB2를 포함한 SPI-2 전위(translocation) 단백질은 파고솜의 표면에 존재하며, endosomal tubulation 혹은 파고솜 변화과정에 작용한다(Uchiya *et al.*, 1999). SPI-4의 유전자는 SliC, SliD 및 SliF는 SIIe를 분비하는 I형 분비 시스템의 구성 요소를 암호화한다. SPI-4 암호화 단백질의 분자적 기능은 알려져 있지 않았으나 SPI-4는 점막대장염 모델에서 위장염 유발 과정에 기여하고 상피 세포와의 접촉에도 필요하다고 보고되었으며(Kiss *et al.*, 2007), SPI-2와 같이 대식세포 내 생존의 영향을 미친다고 보고되었다(De Keersmaecker *et al.*, 2005).

물막 형성 억제 메커니즘은 밝혀지지 않았다.

*Salmonella enterica*의 전체 유전체 RNA 염기서열 분석 결과, *ptsN* 돌연변이 균주에서는 비타민 B₁₂ 합성, 1,2-propanediol (1,2-PDL) 및 propionate 대사에 관련된 유전자의 발현이 감소하였다(Yoo *et al.*, 2017). 1,2-PDL과 propionate는 대사과정을 거쳐 propionyl-CoA로 전환되며, 이는 *Salmonella* 병원성 섬-1 (SPI-1) (Box 3)의 전사 조절자인 HilD의 안정성을 감소시키는데, propionyl-CoA는 HilD의 작용을 억제하여 SPI-1의 발현을 감소시키며, 결과적으로 *Salmonella*의 숙주 세포 내 침입을 저해할 수 있다(Hung *et al.*, 2013). EIIA^{Ntr}는 1,2-PDL과 propionyl-CoA의 대사에 관여하며, 환경적 조건에 반응하여 *Salmonella*의 숙주 세포 내 침입 여부를 조절하여 1,2-PDL과 propionate이 풍부한 장내 환경에 서식하는 *Salmonella* 균주로 하여금 경쟁하는 장내 미생물군 내에서 경쟁적 우위를 점하는 방식으로 작용할 수 있다고 제안되었다(Yoo *et al.*, 2017).

*Salmonella enterica*의 SsrA/SsrB는 숙주 세포 내에서 살모넬라균의 생존과 복제를 매개하는 주요 조절자이다. SsrB가

활성화되면 살모넬라 병원성 유전자 섬 2(SPI-2) 내에서 여러 유전자의 전사를 촉진한다(Walthers *et al.*, 2007). SsrB 조절 유전자의 발현량은 *ptsN* 돌연변이 균주에서 비정상적으로 증가했지만, EIIA^{Ntr}을 과발현하는 균주에서는 감소했다. EIIA^{Ntr}는 SsrB와 직접적으로 상호작용하여 SsrB 단백질과 표적 프로모터의 결합을 저해하였다(Choi *et al.*, 2010). 또한 EIIA^{Ntr}은 *Salmonella*의 PhoP와 표적 프로모터의 결합을 직접적으로 저해하여 PhoP 활성화 유전자의 발현을 조절하였다(Fig. 4). *Salmonella*는 대식세포 내에서 파고솜 안에서 증식하며 숙주 방어 메커니즘을 피해 생존하는데(Foster and Hall, 1990), *Salmonella*의 PhoP/PhoQ 병원성 조절 시스템은 대식세포 내 파고솜의 산성 환경에서 활성화된다(Prost *et al.*, 2007). PhoP는 산성 pH 환경에서 EIIA^{Ntr}의 Lon 매개 분해과정을 촉진하며, 이를 통해 *Salmonella*가 EIIA^{Ntr}에 의한 억제 효과를 극복하기 위해 충분한 수준의 PhoP가 존재할 때까지 PhoP의 활성을 저해함으로써 필요시 충분한 병원성을 확립한다(Choi *et al.*, 2019).

EIIA^{Ntr} 이외의 다른 질소-인산전달계 구성 요소를 통한 독성 발현에 대한 여러 보고가 존재한다(Table 4). EI^{Ntr}은 단핵 세포내 기생 균주인 *Legionella pneumophila*에서 잠재적 독성 인자로 확인되었다(Edelstein *et al.*, 1999). *ptsP*의 돌연변이 균주는 기니피그의 폐에서 *L. pneumophila*의 증식 능력을 감소시켰으며(Higa and Edelstein, 2001), *Pseudomonas aeruginosa*의 *ptsP* 돌연변이 균주 또한 *Caenorhabditis elegans* slow-

killing assay를 포함한 여러 숙주세포 내에서 병원성의 감소가 확인되었다(Tan *et al.*, 1999a, 1999b). 대부분의 *P. aeruginosa* 균주는 세포 내에서 산화적 스트레스를 유발하는 독성화합물인 파이오시아닌을 생성하는데(Mahajan-Miklos *et al.*, 1999), EI^{Ntr}은 *P. aeruginosa*의 피오시아닌 생성 조절에 관여한다(Xu *et al.*, 2005). 또한 *E. coli*의 NPR은 lipopolysaccharide (LPS)의 합성 과정에 관여하는 LpxD의 활성을 조절하는데(Kim *et al.*, 2011), LPS는 그람 음성 세균 세포벽의 요소로 염증반응을 유발하는 병원성 물질로 작용할 수 있다. 추가로 *E. coli*의 탈인산화 형태의 NPR은 설탕, 에탄올, 그리고 SDS와 같은 세포막 스트레스 유발 물질에 의한 반응과 관련이 있다는 보고가 있다(Lee *et al.*, 2015). *Pseudomonas aeruginosa*의 EI^{Ntr}은 숙주의 방어 메커니즘에 대한 저항성에 관여하는데, *P. aeruginosa*의 *ptsP* 기능 상실은 균주의 세포막을 약화시키고 세균의 세포막에 침투하는 방어단백질인 pulmonary collectin SP-A에 더욱 민감해진다(Zhang *et al.*, 2005).

세포 내/외 환경에 따른 반응 조절: 주화성, 인산염 농도 조절 및 ppGpp 생합성 조절

ppGpp는 여러 유전자의 발현을 조절하여 외부 스트레스에 대해 반응을 매개하는 뉴클레오타이드이다. *Escherichia coli*에서 ppGpp의 합성은 RelA와 SpoT의 활성에 의해 조절되는데(Boutte and Crosson, 2013), RelA는 아미노산의 결핍 상황에서 ppGpp를 합성하며, SpoT는 이를 가수분해한다. 그러나

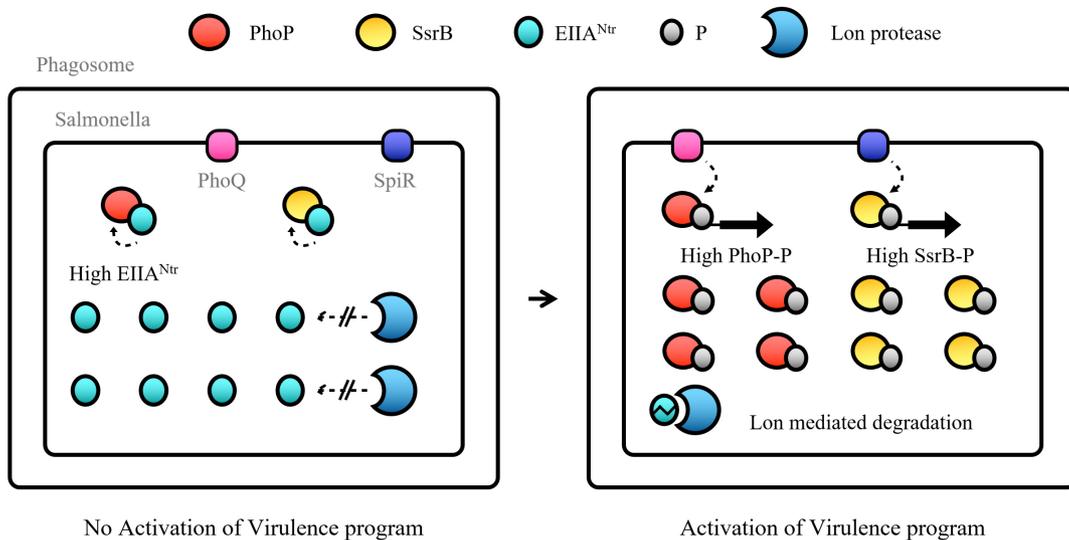


Fig. 4. Regulation of *Salmonella* virulence program expression by EIIA^{Ntr}. The expression of the virulence gene of *Salmonella* is inactivated due to the inhibitory effect of EIIA^{Ntr} in the early phagosome. After acidification of the phagosome, PhoP and SsrB activation proceed through phosphorylation by PhoQ and SpiR. Subsequently, when the concentration of the intracellular PhoP-P reaches a certain level, the EIIA^{Ntr} is degraded by the Lon protease, and the additional activity of PhoP and SsrB increases. Consequently, this mediates the expression of the virulence program.

Table 4. Summary of virulence regulation processes controlled by PTS^{Ntr}

Organism	Phenotype	Regulator	Mechanism
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Reduction of virulence and resistance to host defense system in <i>ptsP</i> mutants	?	EI ^{Ntr} represses expression of QscR, which in turn controls pyocyanin production
	EIIA ^{Ntr} is required for biofilm inhibition in the absence of upstream phosphotransfer	EIIA ^{Ntr}	Unknown
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>ptsP</i> is required for virulence gene expression in host cells	?	Unknown
<i>Salmonella enterica</i>	EIIA ^{Ntr} negatively controls SPI-1 and SPI-4 expression and thereby regulates cellular invasion	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} controls propionate catabolism and thereby destabilizes HilD, which regulates SPI-1 in a post-translational manner
	EIIA ^{Ntr} negatively controls SPI-2 expression and thereby regulates pathogenicity	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} prevents the SsrB protein from binding to its target promoter
	EIIA ^{Ntr} is required for delay of virulence circuit	EIIA ^{Ntr}	EIIA ^{Ntr} negatively controls expression of PhoP-regulated genes
<i>Escherichia coli</i>	Increased LPS in a <i>ptsO</i> mutant affects biofilm formation	NPr	Dephosphorylated NPr interacts specifically with LpxD
	Hypersensitive phenotype of the <i>ptsP</i> mutant to cellular membrane stress	NPr	Unknown

탄소 또는 인산 결핍 조건에서 SpoT는 ppGpp 생성 효소의 활성 갖는다(Boutte and Crosson, 2013). *Escherichia coli*와 유사하게, *R. eutropha*는 각각 SpoT와 RelA에 대응하는 SpoT1과 SpoT2를 가지며(Brigham *et al.*, 2012), 질소 결핍 상황에서 SpoT2에 의한 ppGpp 합성이 유도된다. *Ralstonia eutropha*의 EIIA^{Ntr}은 SpoT와 상호작용하여 ppGpp의 합성을 조절하는데, 인산화 상태의 EIIA^{Ntr}는 SpoT의 가수분해 효소 활성을 억제하여 ppGpp 생성효소의 활성을 갖도록 유도한다(Karstens *et al.*, 2014). 최종적으로 생성된 ppGpp는 세포 내에서 DNA 복제, RNA 전사 및 번역 과정에 전반적으로 영향을 미치며, 나아가 세포 주기의 진행 여부를 결정할 수 있다(Ronneau *et al.*, 2016).

또한, *E. coli* 균주에서 탈인산화 형태의 EIIA^{Ntr}는 세포 내 인산염의 농도 조절 단백질을 암호화하는 Pho regulon의 발현을 조절할 수 있다(Lüttmann *et al.*, 2012). 탈인산화된 EIIA^{Ntr}는 *phoBR*의 발현을 증가시키며, 해당 유전자가 암호화하는 PhoR/B는 최종적으로 Pho regulon의 프로모터에 결합하여 무기인산염 흡수를 매개하는 Pst transporter의 발현을 유도한다(Lamarche *et al.*, 2008). 이러한 과정은 탈인산화된 EIIA^{Ntr}와 PhoR 간의 직접적인 상호작용을 통해 이루어지는데(Lüttmann *et al.*, 2012), EIIA^{Ntr}는 PhoR간의 결합을 통해 PhoB를 인산화시키며, 최종적으로 인산화된 PhoB는 Pho regulon의 발현을 증가시키는 조절자로 작용한다.

언급한 바와 같이 EIIA^{Ntr}은 특정 유기물 혹은 인산염 결핍 상황에서 물질의 생성 혹은 흡수를 매개하는 과정에 관여할 뿐 아

니라 세포 자체의 이동성 조절, 즉 세포의 주화성(chemotaxis)을 조절에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Lux *et al.*, 1995). 해당 시스템에서 EI 및 EIIA^{Glu}가 CheA 및 CheW를 포함한 화학감각(chemosensory) 복합체의 핵심 성분과 상호 작용하며(Neumann *et al.*, 2012), 해당 모델 시스템에서는 포도당의 존재 하에 탈인산화된 EI와 EIIA^{Glu}가 축적되어 CheA와의 상호 작용하여 CheA의 자가인산화를 억제한다. 결과적으로 이는 외부 환경의 포도당 풍부 조건에서 세포의 이동성을 감소시켜 해당 탄소 공급원으로부터 멀어지는 것을 억제하는 작용을 한다. 최근 *E. coli* 균주의 EIIA^{Ntr}와 주화성 신호 전달과 세포 운동성에 관련된 단백질의 상호작용이 보고되었으며, 해당 연구에서 *ptsN* 돌연변이 균주의 세포 이동성은 야생형 대비 현저히 감소하였다(Gravina *et al.*, 2021). 해당 과정의 메커니즘은 아직 밝혀지지 않았으나 이러한 표현형의 발현은 환경적 조건에 대응하여 EIIA^{Ntr}은 세포 내부의 대사과정을 조절하는데 그치지 않고, 세포 스스로 적절한 환경으로의 이동을 매개할 수 있음을 시사한다.

결론 및 전망

그람 음성 세균의 질소-인산전달계(PTS^{Ntr})는 세포 내 PEP로부터 시작하는 단백질-단백질 상호작용을 통한 일련의 인산기 전달 시스템이다. 이는 최초 질소 고정 유전자를 발현하는 오페론 내에 위치하여 세포 내 질소 대사 과정에 관여할 것

으로 예상되었으나, 지금까지의 보고에 따르면 PTS^{Ntr}은 질소 대사 이외로 다양한 세포 내 생리작용을 조절하는 것으로 밝혀졌다. 특히나 해당 인산전달계의 최종 인산기 수용체에 해당하는 EIIA^{Ntr}는 세포 내 N/C 유기물의 대사 조절, K⁺/Pi 항상성 유지, 병원성세균에서의 병원성 발현, 주화성 조절 및 스트레스 반응을 조절하며, 이러한 다양한 조절 기작은 세균이 외부 환경의 가용 영양분을 감지하여 물질대사를 조절하며, 생장에 이롭지 않은 환경 조건에서의 적응하는 정교한 방식을 보여준다.

PTS^{Ntr}은 질소의 대사뿐 아니라 탄소 유기물의 대사를 조절하는 기능을 하는데, 특히나 몇몇 종류의 bioplastic과 고리형 탄소 유기물의 생성을 조절할 수 있다. 또한 PTS^{Ntr}는 당-인산전달계(sugar-PTS)와 단백질-단백질 상호작용을 통해 연계되어 인산기를 주고받음으로써 sugar-PTS를 통한 세포 내 탄소의 대사 과정과 간접적으로 연결되어 있음을 유추할 수 있다. 특히나 EIIA^{Ntr}에 의한 *P. putida*의 피루브산 카복실레이스, 피루브산 탈수소효소의 활성 조절(Pflüger-Grau *et al.*, 2011; Chavarria *et al.*, 2012)과 *Rhizobium leguminosarum*에서의 TCA 활성 조절에 대한 보고가 이를 뒷받침한다(Sanchez-Canizares *et al.*, 2020). EIIA^{Ntr}의 활성을 통한 세포 내 질소 유기물, 탄소 유기물의 대사는 해당과정, 당신생합성(gluconeogenesis), 그리고 아미노산의 합성과 분해 과정의 중간 대사물을 형성할 수 있으며 각각의 생화학적 경로는 공통 대사물을 통해 연결된다. 따라서 외부 환경에 따른 해당과정, 당신생합성, 그리고 아미노산 대사 회로의 진행 여부 결정에 대한 EIIA^{Ntr}의 직접적인 기능 확인을 위해 EIIA^{Ntr}을 통한 단백질-단백질 상호작용의 분자적 메커니즘에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

EIIA^{Ntr}의 조절을 매개로 한 표현형의 대다수는 EIIA^{Ntr}의 인산화 혹은 탈인산화 지표에 따른 단백질-단백질 상호작용에서 비롯되는데, 일반적인 실험적 상황에서 EIIA^{Ntr}의 인산화 지표를 나누는 과정은 EIIA^{Ntr}에 대한 인산기 공여자 단백질의 기능 상실 돌연변이 유발 여부를 통해 나누어진다. 인산화 및 탈인산화 기전은 가장 보편적인 단백질의 활성화 기작 중 하나로 일련의 신호전달 시스템의 진행 여부를 결정지을 수 있다. 인산화를 통한 단백질의 활성화/비활성화 기전 이외로 세포는 특정 단백질의 양적 조절을 통해 활성을 조절할 수 있는데, 이 경우 단백질 분해효소에 의해서 일어난다. EIIA^{Ntr}의 분해를 매개하는 가수분해 단백질에 대한 보고가 존재하며(Lüttmann *et al.*, 2009; Choi *et al.*, 2010; Karstens *et al.*, 2014; Yoo *et al.*, 2016), 특정 균주의 경우 *ptsN* 이외의 다른 질소-인산전달계 내 구성 유전자의 부재로 고전적인 방식의 질소-인산전달계를 통한 EIIA^{Ntr}의 인산화 기작이 결핍되어 있다(Alm

et al., 2005). 다시 말해, EIIA^{Ntr} 조절에 의한 생리활성 조절 기작은 인산화 지표가 뿐 아니라 세포 내 EIIA^{Ntr}의 양적 조절을 매개로 조절될 수 있다.

질소-인산전달계는 다양한 그람 음성 세균에 유전적으로 보존되었으며, 해당 시스템의 최종 인산기 수용체인 EIIA^{Ntr}의 조절을 매개로 생성되는 다양한 유기물은 추가적인 공정 과정을 거쳐 우리들에게 이로운 합성 재료로 활용될 수 있다. 대표적인 바이오플라스틱에 해당하는 PHA 또는 PHB는 의학 및 생물학의 분야에서 사용되는 고분자 화합물의 재료로 활용될 수 있으며, 앞서 언급된 병원체에서 EIIA^{Ntr}의 조절을 통한 병원성 조절 기작은 해당 병원체의 생활사에 대한 학문적인 시사점과 함께 새로운 약물 합성에 대한 주춧돌이 될 수 있을 것이기에 EIIA^{Ntr}의 조절에 관여하는 추가적인 표적 단백질과 그 메커니즘에 대한 후속 연구가 진행되어야 할 것이다.

적 요

질소-인산전달계(PTS^{Ntr})은 다양한 그람 음성 세균에 존재하는 이차적 인산화 매개 세포 신호 조절 시스템이다. 당-인산전달계(Sugar-PTS)가 탄소 영양분과 그 대사물을 기반으로 세포 내에서 다양한 생리 기능을 하는 것처럼 PTS^{Ntr} 또한 균주의 성장 환경에 따라 다양한 생리 조절 메커니즘을 갖는다. 최근에는 질소/탄소 대사, K⁺ 농도 조절, 병원성 조절을 포함해서 다양한 PTS^{Ntr}의 최종 인산수용체인 EIIA^{Ntr}의 세포 전체적인 조절 메커니즘에 대한 연구가 진행되어왔다. 해당 시스템을 보유한 균주의 다양성에 따라, EIIA^{Ntr}에 의한 조절 작용을 매개로 한 다양한 표현형이 보고되었으며, 몇몇 조절 기작의 분자적 메커니즘은 아직 밝혀지지 않았다. 본 총설은 특정 환경 조건에 반응하여 다양한 종에서 나타나는 EIIA^{Ntr}의 조절에 의한 표현형과, 해당 조절 메커니즘에 대한 최근의 발견을 정리한다.

Acknowledgments

This work was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science, ICT and Future Planning (NRF-2022R1A2B5B02002256, NRF-2022R1A4A1025913, and NRF-2020M3A9H5104235 to E.-J.L.) and a grant from Korea University.

Conflict of Interest

Eun-Jin Lee is an Associate Editor of KJM. She was not involved in the review process of this article. Also, authors have no conflict of interest to report.

References

- Alm EJ, Huang KH, Price MN, Koche RP, Keller K, Dubchak IL, and Arkin AP.** 2005. The MicrobesOnline Web site for comparative genomics. *Genome Res.* **15**, 1015–1022.
- Aranda-Olmedo I, Marín P, Ramos JL, and Marqués S.** 2006. Role of the *ptsN* gene product in catabolite repression of the *Pseudomonas putida* TOL toluene degradation pathway in chemostat cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 7418–7421.
- Boutte CC and Crosson S.** 2013. Bacterial lifestyle shapes stringent response activation. *Trends Microbiol.* **21**, 174–180.
- Brigham CJ, Speth DR, Rha C, and Sinskey AJ.** 2012. Whole-genome microarray and gene deletion studies reveal regulation of the polyhydroxyalkanoate production cycle by the stringent response in *Ralstonia eutropha* H16. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 8033–8044.
- Cabeen MT, Leiman SA, and Losick R.** 2016. Colony-morphology screening uncovers a role for the *Pseudomonas aeruginosa* nitrogen-related phosphotransferase system in biofilm formation. *Mol. Microbiol.* **99**, 557–570.
- Carmona M, Rodríguez MJ, Martínez-Costa O, and de Lorenzo V.** 2000. *In vivo* and *in vitro* effects of (p) pppp on the σ^{54} promoter *Pu* of the TOL plasmid of *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* **182**, 4711–4718.
- Cases I, Perez-Martin J, and de Lorenzo V.** 1999. The IIA^{Ntr} (PtsN) protein of *Pseudomonas putida* mediates the C source inhibition of the σ^{54} -dependent *Pu* promoter of the TOL plasmid. *J. Biol. Chem.* **274**, 15562–15568.
- Chavarría M, Kleijn RJ, Sauer U, Pflüger-Grau K, and de Lorenzo V.** 2012. Regulatory tasks of the phosphoenolpyruvate-phosphotransferase system of *Pseudomonas putida* in central carbon metabolism. *mBio* **3**, e00028-12.
- Choi J, Kim H, Chang Y, Yoo W, Kim D, and Ryu S.** 2019. Programmed delay of a virulence circuit promotes *Salmonella* pathogenicity. *mBio* **10**, e00291-19.
- Choi J, Shin D, Yoon H, Kim J, Lee C-R, Kim M, Seok Y-J, and Ryu S.** 2010. *Salmonella* pathogenicity island 2 expression negatively controlled by EIIA^{Ntr}SsrB interaction is required for *Salmonella* virulence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 20506–20511.
- Cornelis GR.** 2006. The type III secretion injectisome. *Nat. Rev. Microbiol.* **4**, 811–825.
- De Keersmaecker SCJ, Marchal K, Verhoeven TLA, Engelen K, Vanderleyden J, and Detweiler CS.** 2005. Microarray analysis and motif detection reveal new targets of the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium hila regulatory protein, including *hila* itself. *J. Bacteriol.* **187**, 4381–4391.
- Deutscher J.** 2008. The mechanisms of carbon catabolite repression in bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* **11**, 87–93.
- Deutscher J, Francke C, and Postma PW.** 2006. How phosphotransferase system-related protein phosphorylation regulates carbohydrate metabolism in bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **70**, 939–1031.
- Edelstein PH, Edelstein MA, Higa F, and Falkow S.** 1999. Discovery of virulence genes of *Legionella pneumophila* by using signature tagged mutagenesis in a guinea pig pneumonia model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 8190–8195.
- Foster JW and Hall HK.** 1990. Adaptive acidification tolerance response of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.* **172**, 771–778.
- Franklin F, Bagdasarian M, Bagdasarian M, and Timmis K.** 1981. Molecular and functional analysis of the TOL plasmid pWWO from *Pseudomonas putida* and cloning of genes for the entire regulated aromatic ring meta cleavage pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **78**, 7458–7462.
- Göpel Y, Papenfort K, Reichenbach B, Vogel J, and Görke B.** 2013. Targeted decay of a regulatory small RNA by an adaptor protein for RNase E and counteraction by an anti-adaptor RNA. *Genes Dev.* **27**, 552–564.
- Görke B and Stülke J.** 2008. Carbon catabolite repression in bacteria: many ways to make the most out of nutrients. *Nat. Rev. Microbiol.* **6**, 613–624.
- Gravina F, Degaut FL, Gerhardt ECM, Pedrosa FO, Souza EM, Antonio de Souza G, and Huergo LF.** 2021. The protein-protein interaction network of the *Escherichia coli* EIIA^{Ntr} regulatory protein reveals a role in cell motility and metabolic control. *Res. Microbiol.* **172**, 103882.
- Haupt M, Bramkamp M, Coles M, Kessler H, and Altendorf K.** 2005. Prokaryotic Kdp-ATPase: recent insights into the structure and function of KdpB. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 120–131.
- Higa F and Edelstein PH.** 2001. Potential virulence role of the *Legionella pneumophila ptsP* ortholog. *Infect. Immun.* **69**, 4782–4789.
- Hoffmann N and Rehm BH.** 2004. Regulation of polyhydroxyalkanoate biosynthesis in *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* **237**, 1–7.
- Hung CC, Garner CD, Schlauch JM, Dwyer ZW, Lawhon SD, Frye JG, McClelland M, Ahmer BMM, and Altier C.** 2013. The intestinal fatty acid propionate inhibits *Salmonella* invasion through the post-translational control of HilD. *Mol. Microbiol.* **87**, 1045–1060.
- Jahn S, van Rijsewijk BRH, Sauer U, and Bettenbrock K.** 2013. A role for EIIA^{Ntr} in controlling fluxes in the central metabolism of *E. coli* K12. *Biochim. Biophys. Acta* **1833**, 2879–2889.
- Jung K, Tjaden B, and Altendorf K.** 1997. Purification, reconstitution, and characterization of KdpD, the turgor sensor of *Escherichia*

- coli*. *J. Biol. Chem.* **272**, 10847–10852.
- Kaddor C and Steinbüchel A.** 2011. Effects of homologous phosphoenolpyruvate-carbohydrate phosphotransferase system proteins on carbohydrate uptake and poly (3-hydroxybutyrate) accumulation in *Ralstonia eutropha* H16. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**, 3582–3590.
- Karstens K, Zschiedrich CP, Bowien B, Stülke J, and Görke B.** 2014. Phosphotransferase protein EIIA^{Ntr} interacts with SpoT, a key enzyme of the stringent response, in *Ralstonia eutropha* H16. *Microbiology* **160**, 711–722.
- Kim HJ, Lee CR, Kim M, Peterkofsky A, and Seok YJ.** 2011. Dephosphorylated NPr of the nitrogen PTS regulates lipid A biosynthesis by direct interaction with LpxD. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **409**, 556–561.
- Kiss T, Morgan E, and Nagy G.** 2007. Contribution of SPI-4 genes to the virulence of *Salmonella enterica*. *FEMS Microbiol. Lett.* **275**, 153–159.
- Lamarche MG, Kim SH, Crépin S, Mourez M, Bertrand N, Bishop RE, Dubreuil JD, and Harel J.** 2008. Modulation of hexa-acyl pyrophosphate lipid A population under *Escherichia coli* phosphate (Pho) regulon activation. *J. Bacteriol.* **190**, 5256–5264.
- Lee CR, Cho SH, Yoon MJ, Peterkofsky A, and Seok YJ.** 2007. *Escherichia coli* enzyme IIA^{Ntr} regulates the K⁺ transporter TrkA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 4124–4129.
- Lee CR, Koo BM, Cho SH, Kim YJ, Yoon MJ, Peterkofsky A, and Seok YJ.** 2005. Requirement of the dephospho-form of enzyme IIA^{Ntr} for derepression of *Escherichia coli* K-12 *ilvBN* expression. *Mol. Microbiol.* **58**, 334–344.
- Lee J, Park YH, Kim YR, Seok YJ, and Lee CR.** 2015. Dephosphorylated NPr is involved in an envelope stress response of *Escherichia coli*. *Microbiology* **161**, 1113–1123.
- Lüttmann D, Göpel Y, and Görke B.** 2012. The phosphotransferase protein EIIA^{Ntr} modulates the phosphate starvation response through interaction with histidine kinase PhoR in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **86**, 96–110.
- Lüttmann D, Heermann R, Zimmer B, Hillmann A, Rampp IS, Jung K, and Görke B.** 2009. Stimulation of the potassium sensor KdpD kinase activity by interaction with the phosphotransferase protein IIA^{Ntr} in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* **72**, 978–994.
- Lux R, Jahreis K, Bettenbrock K, Parkinson JS, and Lengeler JW.** 1995. Coupling the phosphotransferase system and the methyl-accepting chemotaxis protein-dependent chemotaxis signaling pathways of *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 11583–11587.
- Mahajan-Miklos S, Tan MW, Rahme LG, and Ausubel FM.** 1999. Molecular mechanisms of bacterial virulence elucidated using a *Pseudomonas aeruginosa*-*Caenorhabditis elegans* pathogenesis model. *Cell* **96**, 47–56.
- Merrick MJ and Coppard JR.** 1989. Mutations in genes downstream of the *rpoN* gene (σ^{54}) of *Klebsiella pneumoniae* affect expression from σ^{54} -dependent promoters. *Mol. Microbiol.* **3**, 1765–1775.
- Merrick MJ, Taylor M, Saier MH, Jr, and Reizer J.** 1995. The role of genes downstream of the σ^N structural gene *rpoN* in *Klebsiella pneumoniae*, pp. 189–194. In Tikhonovich IA, Provorov NA, Romanov VI, and Newton WE. (eds.), Nitrogen Fixation: Fundamentals and Applications. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, vol. 27. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Neumann S, Grosse K, and Sourjik V.** 2012. Chemotactic signaling via carbohydrate phosphotransferase systems in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 12159–12164.
- Noguez R, Segura D, Moreno S, Hernandez A, Juarez K, and Espín G.** 2008. Enzyme I^{NPr}, NPr and IIA^{Ntr} are involved in regulation of the poly- β -hydroxybutyrate biosynthetic genes in *Azotobacter vinelandii*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **15**, 244–254.
- Peña C, López S, García A, Espín G, Romo-Urbe A, and Segura D.** 2014. Biosynthesis of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) with a high molecular mass by a mutant strain of *Azotobacter vinelandii* (OPN). *Ann. Microbiol.* **64**, 39–47.
- Pflüger-Grau K, Chavarría M, and de Lorenzo V.** 2011. The interplay of the EIIA^{Ntr} component of the nitrogen-related phosphotransferase system (PTS^{Ntr}) of *Pseudomonas putida* with pyruvate dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta* **1810**, 995–1005.
- Postma PW, Lengeler JW, and Jacobson G.** 1993. Phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase systems of bacteria. *Microbiol. Rev.* **57**, 543–594.
- Powell BS, Court DL, Inada T, Nakamura Y, Michotey V, Cui X, Reizer A, Saier MH, Jr, and Reizer J.** 1995. Novel proteins of the phosphotransferase system encoded within the *rpoN* operon of *Escherichia coli*. Enzyme IIA^{Ntr} affects growth on organic nitrogen and the conditional lethality of an *erats* mutant. *J. Biol. Chem.* **270**, 4822–4839.
- Prost LR, Daley ME, Le Sage V, Bader MW, Le Moual H, Klevit RE, and Miller SI.** 2007. Activation of the bacterial sensor kinase PhoQ by acidic PH. *Mol. Cell* **26**, 165–174.
- Ramos JL, Marqués S, and Timmis KN.** 1997. Transcriptional control of the *Pseudomonas* TOL plasmid catabolic operons is achieved through an interplay of host factors and plasmid-encoded regulators. *Ann. Rev. Microbiol.* **51**, 341–373.
- Riquelme S, Varas M, Valenzuela C, Velozo P, Chahin N, Aguilera P, Sabag A, Labra B, Álvarez SA, Chávez FP, et al.** 2016. Relevant genes linked to virulence are required for *Salmonella* Typhimurium to survive intracellularly in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Front. Microbiol.* **7**, 1305.
- Ronneau S, Petit K, De Bolle X, and Hallez R.** 2016. Phosphotransferase-dependent accumulation of (p)ppGpp in response to glutamine deprivation in *Caulobacter crescentus*. *Nat. Commun.* **7**, 11423.
- Sanchez-Canizares C, Prell J, Pini F, Rutten P, Kraxner K, Wynands B, Karunakaran R, and Poole PS.** 2020. Global control of bacterial nitrogen and carbon metabolism by a PTS^(Ntr)-regulated switch. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **117**, 10234–10245.
- Segura D and Espín G.** 1998. Mutational inactivation of a gene homologous to *Escherichia coli* ptsP affects poly- β -hydroxybutyrate accumulation and nitrogen fixation in *Azotobacter vinelandii*. *J.*

Bacteriol. **180**, 4790–4798.

- Sharma R, Shimada T, Mishra VK, Upreti S, and Sardesai AA.** 2016. Growth inhibition by external potassium of *Escherichia coli* lacking PtsN (EIIA^{Ntr}) is caused by potassium limitation mediated by YcgO. *J. Bacteriol.* **198**, 1868–1882.
- Tan MW, Mahajan-Miklos S, and Ausubel FM.** 1999a. Killing of *Caenorhabditis elegans* by *Pseudomonas aeruginosa* used to model mammalian bacterial pathogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 715–720.
- Tan MW, Rahme LG, Sternberg JA, Tompkins RG, and Ausubel FM.** 1999b. *Pseudomonas aeruginosa* killing of *Caenorhabditis elegans* used to identify *P. aeruginosa* virulence factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 2408–2413.
- Uchiya K, Barbieri MA, Funato K, Shah AH, Stahl PD, and Groisman EA.** 1999. A *Salmonella* virulence protein that inhibits cellular trafficking. *EMBO J.* **18**, 3924–3933.
- Velázquez F, Pflüger K, Cases I, De Eugenio LI, and de Lorenzo V.** 2007. The phosphotransferase system formed by PtsP, PtsO, and PtsN proteins controls production of polyhydroxyalkanoates in *Pseudomonas putida*. *J. Bacteriol.* **189**, 4529–4533.
- Verkhovskaya ML, Barquera B, and Wikström M.** 2001. Deletion of one of two *Escherichia coli* genes encoding putative Na⁺/H⁺ exchangers (ycgO) perturbs cytoplasmic alkali cation balance at low osmolarity. *Microbiology* **147**, 3005–3013.
- Walthers D, Carroll RK, Navarre WW, Libby SJ, Fang FC, and Kenney LJ.** 2007. The response regulator SsrB activates expression of diverse *Salmonella* pathogenicity island 2 promoters and counters silencing by the nucleoid-associated protein H-NS. *Mol. Microbiol.* **65**, 477–493.
- Xu H, Lin W, Xia H, Xu S, Li Y, Yao H, Bai F, Zhang X, Bai Y, Saris P, et al.** 2005. Influence of *ptsP* gene on pyocyanin production in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* **253**, 103–109.
- Yoo W, Kim D, Yoon H, and Ryu S.** 2017. Enzyme IIA^{Ntr} regulates *Salmonella* invasion via 1,2-propanediol and propionate catabolism. *Sci. Rep.* **7**, 44827.
- Yoo W, Yoon H, Seok YJ, Lee CR, Lee HH, and Ryu S.** 2016. Fine-tuning of amino sugar homeostasis by EIIA^{Ntr} in *Salmonella* Typhimurium. *Sci. Rep.* **6**, 33055.
- Zhang S, Chen Y, Potvin E, Sanschagrin F, Levesque RC, McCormack FX, and Lau GW.** 2005. Comparative signature-tagged mutagenesis identifies *Pseudomonas* factors conferring resistance to the pulmonary collectin SP-A. *PLoS Pathog.* **1**, e31.