

Phosphoenolpyruvate-Dependent Sugars Phosphotransferase System of Bacteria

윤 기 홍

한국과학기술연구원 유전공학연구소

1. 서 론

세균은 그들을 둘러싼 환경이 자주 변화하므로 이러한 변화를 감지하고 세포내의 대사를 조절하여 효율적으로 환경에 적응하여야 한다. 세균의 세포막에 연계되어 존재하는 외부 물질의 전달계는 특별한 분자를 인식하고 그것을 세포 외부로부터 내부로 전달하도록 설계되어 있으며 이러한 전달계는 물질전달에 사용되는 에너지원의 상태에 따라 구분된다. phosphoenolpyruvate (PEP)에 의존적인 phosphotransferase system (PTS)은 PEP를 인산기 공여체로 사용하여 여러 종류의 탄수화물 (PTS당)을 인산화 시킴과 동시에 세포내로 전달시키는 반응을 촉매하는 물질 전달계의 일종으로 세균에만 존재한다. PTS에 의해 전달되는 당은 인산화된 형태로 세포내로 들어오므로 인산화된 당이 세포내 당의 대사에 있어서 첫번째 중간체이라는 점에서 PTS는 당의 전달뿐 아니라 당의 대사과정에도 밀접하게 연결되어 있다. PTS의 정체는 1960년대 Roseman등 (1)에 의해 대장균의 세포 추출물에서 glucose와 mannose를 인산화시키는 것으로써 발견되었으며 또한 PTS당을 이용하지 못하는 *Staphylococcus aureus* 돌연변이체가 발견되었는데 이것은 PTS의 구성단백질 중의 하나인 Enzyme I (EI)이 그기능을 하지 못하는 것으로 밝혀져 그람양성균에서도 PTS가 존재한다는 것이 알려졌다(2). 세균의 탄소원인 여러종류 탄수화물의 전달과 대사의 조절에 관여하고 세균의 생리 작용에도 중요한 영향을 미치는 PTS는 기초학문적인 측면과 산업적, 의학적인 측면에서 중요성이 있으므로 대장균, *Salmonella typhimurium*, 구강 병원성 미생물, 유산균 등에서 많은 연구가 진행되었다. 최근 각 유전자들이 크로

닝되고 단백질과 유전자의 특성이 밝혀지면서 PTS를 코드하는 유전자의 발현 조절기작과 PTS 단백질 구조에 대한 정보가 축적되었다. 본고에서는 현재까지 밝혀진 PTS 단백질들의 기능과 성질 및 그 유전자들의 조절작용에 대해 알아보고 PTS가 물질의 대사에 미치는 조절작용은 따로 언급하고자 한다.

2. PTS의 기능과 성질

세균의 종류에 따라 탄소원으로 이용할 수 있는 당의 종류가 다르며 그 전달제도 다르다. 한가지 예를 들면 lactose는 대장균에서 active transport system에 의해서 세포내로 전달되지만 유산균에서는 일반적으로 group translocation system의 일종인 PTS에 의해 전달된다. PTS는 하나의 단백질이 아니고 3개 혹은 4개의 효소 단백질로 그 반응계를 이루고 있는데 PTS의 구성 효소는 기질인 당에 대한 특이성 여부에 따라 general protein과 당 특이성 단백질로 구별된다. general protein으로는 EI과 histidine을 함유한 단백질인 HPr이 있으며 이들은 세포질에 존재하고 당에 대해 기질 특이성이 없으므로 모든 PTS당의 전달에 필요하며 당 특이성 단백질로는 enzyme II (EII)와 enzyme III (EIII)가 있는데 EIII는 PTS 종류에 따라 존재하지 않는 경우도 있으며 이들은 세포막에 연계되어 존재하며 종류에 따라 기질 특이성이 다르다. PTS에 의해 당이 세포내로 전달되는 일반적인 과정은 그림 1에서 보인 것과 같이 PEP의 인산기가 EI과 HPr을 거쳐 EIII 혹은 EII로 전달되어 최종적으로 당이 세포막을 통과할 때 인산화된 EII 단백질의 인산기가 당으로 전달되면서 인산화된 당이 세포내로 들어

오는 것이다. 이때 PEP의 인산기는 각 효소 단백질의 histidine 잔기를 통해 전달이 이루어지며 살아있는 세균에서 PTS당이 세포막을 통과하기 위해서는 PTS 구성 효소 단백질이 모두 필요하다.

2.1 General Proteins

2.1.1 Enzyme I of PTS

EI은 PEP로부터 인산기를 HPr로 전달하는 과정을 촉매하며 이런 과정은 PTS에 의한 당 전달 반응의 첫번째 단계로 EI은 PTS 활성이 있는 모든 세균에 존재한다. EI과 PEP간에 인산기 전달 반응은 가역적이며 HPr이 없을 때 EI은 단백질의 His 잔기의 N-3위치가 인산화된 phospho-EI으로 존재한다. *S. aureus*, *Streptococcus faecalis*, *S. lactis*, *S. salivarius*, *E. coli*와 *S. typhimurium*으로 부터 EI이 정제되었으며 homodimer로 존재한다. 예외적으로 *Microplasma capricolum*의 EI단백질은 3개의 서로 다른 subunits로 구성된 tetramer이다(3). *E. coli*, *S. typhimurium*에서 분리된 EI은 PEP에 의해 auto-phosphorylation반응을 일으키며 Mg^{2+} , Mn^{2+} 와 같은 2가 이온이 요구된다(4). 대장균 EI의 활성부위 histidine잔기 주위의 아미노산 잔기 배열 (5)이 *S. faecalis*, *S. lactis*의 것과 유사하나 *S. aureus*의 것과는 다르다. 또한 이들 EI을 구성하는 두 개의 subunits는 모두 PEP로부터 인산기를 전달받는다. 한편 대장균의 EI을 인산화시키는 protein kinase EI-K가 분리 정제되었는데 이 효소에 의한 EI의 인산화는 PEP로부터 인산기를 받아들이는 동일한 활성부위 histidine잔기에서 일어나며 이 반응은 NADH에 의해 저해를 받으며 NAD^+ 와 $NADP^+$ 에 의해 효소활성이 회복된다(6). EI을 코드하는 *ptsI* 유전자가 *E. coli*, *B. subtilis*, *S. salivarius* 그리고 *S. aureus*로부터 크로닝되어 그 염기배열이 결정되었는데 이들 유전자로부터 예상되는 단백질의 분자량은 약 60,000~70,000이며 *S. carnosus*의 *ptsI* 유전자는 EI기능이 상실된 대장균 돌연변이체의 PTS기능을 회복시킨다(7).

2.1.2 HPr of PTS

HPr은 phosphohistidyl-EI으로부터 인산기를 histidine잔기의 N-1위치로 전달 받아 이것을 당 특이성 단백질의 종류에 따라 EIIII에 전달하거나 또는 EII에 직접 전달한다. HPr은 PTS를 갖는 모든 세균에 존재하는데 아직까지 다른 PTS구성 단백질의

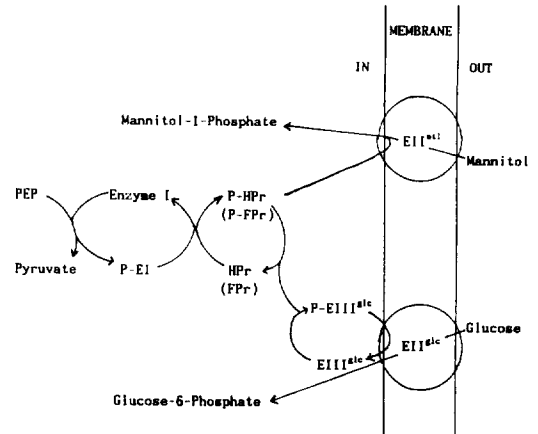


Fig. 1. The Bacterial Phosphoenolpyruvate: Sugar Phosphotransferase System. Of the many different sugar-specific enzymes of PTS, mannitol-PTS and glucose-PTS are described. EI^{III} is specific for mannitol, and EI^{III} together with EI^{III} is specific for glucose. P-EI, P-HPr, P-EIII and P-EII are the phosphorylated forms of the enzyme, respectively.

존재가 밝혀지지 않은 *Lactobacillus brevis*와 *L. buchneri*에서도 HPr이 있는 것으로 밝혀져 HPr이 PTS에 의한 당의 전달뿐만 아니라 다른 PTS구성 단백질과는 독립적으로 다른 물질전달단계의 조절작용에 관여하고 있다고 생각된다(8). 분자량이 약 6,700~15,000으로 PTS구성단백질 중에서 크기가 가장 작은 HPr은 정제된 단백질과 그것을 코드하는 *ptsH* 유전자를 이용하여 그 아미노산 잔기 배열이 결정되었는데 *E. coli*와 *S. typhimurium*의 HPr은 서로간에 완전히 동일했다. 그리고 그람양성균인 *B. subtilis*, *S. aureus*와 *S. faecalis*의 HPr 단백질은 tyrosine과 cysteine 잔기를 함유하고 있으나 *E. coli*의 것에는 이들 아미노산 잔기가 없다(9-12). HPr의 아미노산 조성은 세균마다 차이는 있지만 PTS구성 단백질 중 균주간에 가장 상동성이 많은 단백질이며 특히 활성부위 histidine잔기와 그 주위 아미노산 배열이 유사하여 활성부위 histidine잔기는 항상 15번째 아미노산에 해당하며 17번째 잔기도 arginine으로 모두 동일하다는 것도 특이할 만하다. 대장균 HPr은 EIIII나 EII로 인산기를 전달하는 작용외에도 자체적으로 phospho-HPr과 HPr사이에서 인산기 교환 반응을 일으키나 대장균과 *S. aureus*의 HPr간에는 이러한 인산기 교환 반응이 일어나지 않는다

Table 1. Kinds of EII and EIII proteins of PTS and Their Molecular Weights

Proteins Specific for	Organisms	Molecular Weight*(Dal)	
		Enzyme II	Enzyme III
Glucose	<i>E. coli</i>	50,645	18,099
	<i>S. typhimurium</i>	45,000	18,556
	<i>B. subtilis</i>	75,521	None
	<i>B. lactofermentum</i>	71,543	None
N-acetyl glucosamine	<i>E. coli</i>	68,356	None
	<i>E. coli</i>	67,893	None
Mannitol	<i>E. coli</i>	67,893	None
Glucitol	<i>E. coli</i>	54,018	13,306
Sucrose	<i>E. coli</i>	47,500	None
	<i>B. subtilis</i>	48,945	None
Lactose	<i>S. aureus</i>	62,688	11,372

*Molecular weights of proteins were calculated from the DNA sequence with the exception of EII^{glc} from *S. typhimurium*.

(13). 특히 *B. subtilis*의 HPr은 대장균에서와는 달리 두가지 경로로 인산화되는데 그 하나는 위에서 설명한 것과 같이 PEP와 EI에 의해 histidine 잔기에서 인산화가 일어나는 것으로 균간에 차이가 없으나 다른 하나는 protein kinase가 ATP를 사용하여 *B. subtilis* HPr 단백질의 serine 잔기를 인산화 시키는 것으로 이러한 반응은 오직 그람양성균에서만 발견되었으며 이렇게 serine 잔기에서 인산화된 HPr은 인산기를 PTS당으로 전달할 수 없다(14). HPr 외에도 여러가지 EII, EIII에 인산기를 전달할 수 있는 단백질이 대장균과 *S. typhimurium*에서 발견되었으며 그 분자량은 약 9,000이고 pseudo-HPr 혹은 FPr로 불린다. HPr과 pseudo-HPr은 동일한 반응을 촉매하므로 PTS반응에서 서로 그 효소활성을 대신할 수 있다.

2.2 당 특이성 단백질

기질인 당에 대해 특이성을 갖는 EII와 EIII는 기질 특이성에 따라 그 종류가 구별되며 동일한 당에 특이성을 갖는 단백질이라 할지라도 세균의 종류에 따라 단백질의 구조가 매우 다양하다. 표 2에서 나타낸 바와같이 당특이성 단백질은 EII와 EIII가 따로 분리되어 있는 것과 EIII가 따로 분리되어 있지 않고 그 기능을 포함하고 있는 EII 단백질만으로 되어 있는 것이 있다. EIII 단백질이 분리되어 있지 않는

EII는 phospho-HPr로부터 직접 인산기를 전달 받으며 EIII단백질이 따로 존재하는 경우에는 EIII를 거쳐서 인산기를 전달 받는다. 일반적으로 각 당 특이성 단백질간에 EIII 효소활성을 갖는 단백질의 아미노산 잔기 배열은 EII 부분의 것보다 유사하며 EII 단백질은 인산화 반응에 관여하는 활성부위 아미노산 잔기 주위를 제외하고는 서로간에 상동성이 적으나 EII 단백질은 integral membrane protein으로써 서로 유사한 hydrophobicity 보이며 효소 활성을 위해 지질이 절대적으로 요구된다(15).

2.2.1 Glucose 특이성 단백질

glucose 특이성 PTS (glucose-PTS)는 mannose-PTS와 fructose-PTS와 더불어 세균에 가장 널리 분포되어 있는데 Enterobacterisiae에 속하는 97개 균으로부터 glucose-PTS와 mannose-PTS 역가를 조사한 결과 72종은 두가지 효소 활성을 모두 가지고 있고 9종은 glucose-PTS활성만을, 13종은 mannose-PTS활성만을 지니고 있었다(16). *E. coli*와 *S. typhimurium*의 glucose 특이성 단백질은 표 2에서 나타났듯이 EII^{glc}와 EIII^{glc} 각각의 단백질로 분리되어 있는데 두 균에서 정제된 EII^{glc}는 dimer이고 기질 특이성이 유사하나 그들의 물리적 성질은 다르다. EIII^{glc} 단백질은 두균간에 차이가 거의 없어 아미노산 잔기 배열중 오직 3개의 잔기가 다른데 그것도

2개는 Ile-Val (23, 85번째 잔기)의 차이이고 다른 하나는 Thr-Pro (118번째 잔기)의 차이이다(17). 대장균의 세포추출물에 존재하는 두가지 형태의 EIII^{glc}가 발견되었는데(18) 그들간에는 전기영동상에서 이동성의 차이가 있다. 이것은 전기영동시 빨리 이동하는 EIII^{glc}_{fast}와 느리게 이동하는 EIII^{glc}_{slow}인데 EIII^{glc}_{slow}는 변화되지 않은 EIII^{glc}이고 EIII^{glc}_{fast}는 EIII^{glc}에서 N-말단의 heptapeptide가 분해되어 상실된 형태로 이것은 phospho-HPr에 의해 인산화는 되지만 EII^{glc}로 인산기를 전달하지 못한다. 이로 보아 EIII^{glc}의 N-말단 부위의 아미노산 잔기가 EII^{glc} 단백질과 상호작용하는데 중요하다고 생각되는데 실제 EIII^{glc}_{slow}의 N-말단 부위의 아미노산 잔기를 site-directed mutagenesis시켜 다른 잔기로 변화시켰을 때 EIII^{glc} 활성이 영향을 받는다(19). 한편 EII^{glc} 단백질을 코딩하는 대장균의 *ptsG* 유전자를 돌연변이 시킴으로써 glucose를 인산화 시키지 않고 세포내로 전달시키는 EII^{glc} 단백질 돌연변이체가 얻어졌는데 이것은 EI과 HPr이 없는데도 불구하고 glucose를 세포내로 전달할 수 있으며 이와 별개로 glucose와 methyl- α -glucoside를 인산화 시키는 반응을 촉매할 수 있는데 이것으로 보아 당 전달과 인산화 반응은 EII^{glc}기능 중에서 서로 분리되어 작용할 수 있는 것으로 판단된다(20). *B. subtilis* EII^{glc}를 코딩하는 *ptsG* 유전자가 크로닝되어 그 염기배열이 결정되었는데(21) 이로부터 예상되는 단백질의 분자량은 대장균의 EII^{glc}와 EIII^{glc}의 분자량을 합한 것과 유사하며 C-말단 부위의 아미노산 잔기 배열에 EIII^{glc} 단백질의 활성부위와 유사한 지역이 있다. 최근 *Brevibacterium lactofermentum*으로부터 크로닝된 *ptsG* 유전자에 의해 코딩되는 EII^{glc}도 이와 유사한 성질을 지니고 있다. 실제 *B. subtilis*에는 EIII^{glc} 단백질이 따로 존재하지 않으며 EII^{glc} 단백질에 EIII^{glc} 효소 활성에 해당하는 부위가 있어 sucrose에 대해 특이성이 있는 EII^{scr}와 함께 sucrose 전달에도 관여한다.

2.2.2 Mannose 특이성 단백질

대장균의 mannose 특이성 단백질은 EIB^{man}, EII^{Pman} 그리고 EIII^{man}인 3개의 서로 다른 효소 단백질로 구성된 man-PTS로써 glucose와 mannose를 동일한 효율로 인산화하여 세포내로 전달한다(22). 그러나 이들은 다른 당에 특이적인 PTS 단백질과 유사성이 없는데 EIII^{man} 단백질의 많은 부분이

세포질쪽으로 드러나 있으며 hydrophobic한 지역이 크지 못한 반면 EII^{Pman}은 hydrophobic한 단백질이다. EIB^{man} 단백질의 hydrophobicity는 N-말단 지역에서는 낮으나 C-말단 지역쪽에서는 높아진다. 순수하게 정제된 EIII^{man}은 두개의 서로 다른 domains를 갖는 dimer이고 두 domains은 모두 HPr로부터 인산기를 받아 인산화되나 EII^{Pman}과 EIB^{man}은 인산화되지 않는다. 그러나 mannose 발효와 2-deoxyglucose의 전달과 인산화를 위해 상기의 3 단백질이 모두 필요하다. EII^{man}를 이루는 EIB/EII^{Pman}의 구성비율은 EII복합체의 효율을 결정하는 중요한 요소로 EII^{Pman}이 없고 EIB^{man}만을 생성하는 세포는 파괴되기 쉽다(23). 그리고 두 단백질의 C-말단 지역의 작은 부분만 제거하여도 당 발효나 세포막에서 당 인산화 활성 역가가 대부분 상실된다. 또한 EIB^{man}과 EII^{Pman}은 lambda phage나 coliphage N4가 세포막을 투과하는데 관여하는데 EII^{man}복합체 단백질이 상실된 세포에서 EIB^{man}과 EII^{Pman}은 파지에민성을 복원시키는데(24) EII^{Pman}만 존재해도 파지가 세포막을 통과한다는 보고가 있다. EIII^{man}은 이들 파지의 세포막 통과에는 관여하지 않는다. *S. typhimurium* EII^{man}은 자연적인 세포막 vesicle에서 phospho-HPr이 어디에 존재하더라도 인산기를 전달받을 수 있으며 당을 전달할 수 있는 것으로 보아 EII^{man}복합체는 세포막에 대칭적으로 존재하는 것으로 여겨진다. 한편 *S. typhimurium*에서 이탄당인 trehalose가 EII^{man}에 의해 인산화되지 않고 세포내로 전달된다는 사실이 발견되었다(25). 그람양성균인 *S. pyrogenes*에서도 기질 특이성이 enteric bacteria의 mannose-PTS와 유사한 EII^{man} 단백질이 발견되었는데 이것은 glucose, 2-deoxyglucose, mannose 그리고 glucosamine 순서로 기질 친화성을 갖는다. 5배 정도 과량의 2-deoxyglucose나 glucose가 존재하면 glucosamine의 전달이 거의 저해당하는 것으로 보아 이러한 기질들은 한 종류의 EII 단백질에 의해 전달되고 있다는 사실을 알 수 있다.

2.2.3 Fructose 특이성 단백질

대장균의 fructose-PTS는 다른 당의 PTS와 구별되는 독특한 면을 지니고 있는데 이것은 FPr의 존재이다. EIII^{fru}은 phospho-HPr로부터 인산기를 전달받지만 HPr기능이 없는 대장균 돌연변이체에서

FPr은 fructose 전달에 관여하며 FPr이 많이 존재하면 *ptsH* 돌연변이체가 다른 PTS당도 이용하여 자랄 수 있다. 대장균에서 이러한 FPr은 앞의 HPr 부분에서 언급한 바와 같이 pseudo-HPr로 여겨지지만 Sutrina 등 (26)이 *S. typhimurium* 으로부터 pseudo-HPr과 pseudo-HPr/EIII^{fm} 복합체를 각각 분리하였으며 그후 pseudo-HPr과 EII^{fm}을 한개의 단백질로 코드하는 유전자가 크로닝되었다(27). 또한 *Thiocapsa*, *Thiocystis*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Fusobacterium* 그리고 *Rhodobacter* 등에 속하는 다수의 그람음성균 으로부터 fructose-PTS가 발견되었는데 광합성세균인 *Rhodobacter sphaeroides*의 fructose-PTS는 두개의 구성 단백질로 이루어져 있는데 한개는 EII^{fm}이고 다른 하나는 EI과 HPr에 해당하는 단백질 SF이다. vesicle과 세포막을 이용하여 이균의 fructose-PTS를 연구한 결과 fructose 인산화는 당이 vesicle의 내부표면으로 전달될 때 일어나며 인산화된 SF 단백질이 필요하다(28). carrier에 fructose가 결합하는 것은 EII^{fm} 으로부터 fructose로 인산기를 전달하는 속도보다 느리다. EII^{fm}과 SF 단백질은 그 효소 활성을 위해 필수적인 thiol기를 갖고 있으며 fructose를 이용하기 위해서는 이러한 두개의 단백질이 모두 필요하다. 그람양성균인 *S. mutans* (29)와 *B. flavum* (30)에서도 fructose-PTS 효소 활성의 존재가 알려졌는데 *S. mutans*는 기질인 fructose에 의해 유도되어지는 fructose 전달체와 constitutive하게 생성되는 전달체가 있으며 이들은 fructose를 fructose-1-phosphate와 fructose-6-phosphate 형태로써 각각 세포내로 전달하는데 실제 대장균의 fructose-PTS에 의해 전달되는 fructose는 fructose-1-phosphate가 되고 fructose-6-phosphate는 constitutive mannose-PTS에 의해 생성된다. *S. mutans*의 유도적인 fructose-PTS의 EIII^{fm}의 항체에 대해 대장균이나 다른 그람양성균의 세포추출액에서 교차반응을 하는 단백질이 없다.

2.2.4 Hexitol 특이성 단백질

대장균은 mannitol과 glucitol 각각에 특이성을 갖는 mannitol-PTS와 glucitol-PTS를 지니고 있는 반면 그람양성균인 *S. aureus*와 *S. carnosus*는 이들 당에 동시에 작용하는 한개의 PTS를 지니고 있다. 대장균의 EII^{ml}은 순수하게 정제되었으며 세포막에

비대칭적으로 존재하고 있다. EII^{ml} 단백질을 코드하는 *mllA* 유전자의 염기배열(31)에서 유추된 EII^{ml} 단백질은 636개의 아미노산으로 구성되어 있는데 N-말단쪽으로 336개의 아미노산 잔기들은 세포막을 7회 가로지르는 잔기 배열을 하고 있어 EII^{ml}은 전형적인 integral membrane protein이고 C-말단쪽에 있는 301개 아미노산 잔기 배열은 전형적인 수용성 단백질의 특성을 보이며 세포막의 세포질쪽에 존재하고 있는 것으로 예상되며 EIII단백질 기능을 하는 아미노산 배열 부위를 가지고 있다. EII^{ml}은 당 전달, 인산화와 transphosphorylation 반응을 촉매한다. 이러한 3가지 기능은 *in vitro* 돌연변이를 통해 서로 분리되어 유지될 수 있다(32). C-말단쪽 지역에 해당하는 유전정보가 결손되어진 50% 구조 유전자가 안정한 단백질을 생성하는데 이렇게 C-말단 부위를 결손시키면 EII^{ml} 단백질에 의한 당의 전달과 인산화 작용은 많은 영향을 받지만 117 아미노산 잔기들을 제거하여도 transphosphorylation 기능은 완전 불활성화되지 않고 240개 아미노산 잔기를 제거된 peptide도 mannitol에 대해 높은 친화성 결합능을 유지하고 있다. 이러한 결과로 보아 EII^{ml} 단백질의 N-말단쪽으로 2/3에 해당하는 지역은 mannitol의 결합과 transphosphorylation에 관여하고 C-말단쪽으로 1/3에 해당하는 지역은 당 인산화와 전달에 중요한 역할을 하는 것으로 판단된다. 대장균의 glucitol 특이성인 단백질은 EII^{gl}과 EIII^{gl}로 존재하며 phospho-HPr의 인산기는 EIII^{gl}을 거쳐 EII^{gl}로 전달된다. *S. aureus*와 *S. carnosus*의 EIII^{ml,gl} 단백질의 아미노산 조성과 잔기 배열이 두균간에 유사하고(33) 대장균의 EIII^{gl} 단백질의 활성부위 유사한 배열을 갖고 있는데 phospho-EIII^{ml,gl}은 인산화되지 않은 형태와는 달리 dimer와 trimer를 형성하는 것으로 나타났으며 이것은 인산화된 것이나 인산화되지 않은 것이나 모두 trimer를 형성하는 것으로 알려진 *S. aureus*와 *L. casei*의 EIII^{lac}과 함께 trimer를 형성한다는 면에서 다른 EIII 단백질과 다른 특이한 점이다. 따라서 EIII^{ml,gl} 단백질은 그람양성균의 EIII 단백질 아미노산 잔기 배열과 유사하며 그람양성균의 EIII 단백질과 물리적 성격이 유사하다고 하겠다.

2.2.5 Lactose 특이성 단백질

다수의 그람양성균은 대장균과는 달리 lactose를

PTS를 통해 세포내로 전달한다. *S. aureus*, *L. casei* 그리고 *S. lactis*의 lactose-PTS가 많이 연구되었는데 *S. aureus* EII^{lac}은 *S. lactis*의 것과 단백질의 아미노산 배열상 상동성이 높은 반면 *L. casei*의 것과는 그렇지 못하다. 또한 이들의 EII^{lac}은 다른 EII 단백질과 유사성이 없으며 인산화 반응에 관여하는 아미노산 잔기도 다르다. *S. aureus* EII^{lac}은 활성이 있는 형태로 부분 정제되었으며 변성된 상태로는 순수하게 정제되었는데 이 단백질은 cardiolipin과 단단히 결합하고 있다(34). EIII^{lac} 단백질도 *S. aureus*와 *S. lactis*간에 상동성이 매우 높는데 순수하게 정제된 *S. aureus* EIII^{lac}은 3개의 동일한 subunit로 구성된 trimer이고 phospho-HPr로부터 각 monomer당 한개씩의 인산기를 His 잔기 (82번째)의 N-3위치에서 받아들여 이것을 모두 EII^{lac}으로 전달한다 (35). *S. lactis* EIII^{lac}에도 이러한 His잔기가 존재하나 *L. casei*의 단백질에서는 Thr으로 대체되어 있다. HPr은 phospho-EIII^{lac}보다 인산화되지 않은 EIII^{lac}과 강하게 작용하는데 EIII^{lac}과 phospho-EIII^{lac} 단백질의 구조간의 차이는 단백질이 인산화됨에 따라 alpha-helix구조를 갖는 지역이 42%에서 25%로 감소하고 hydrophobicity는 증가한다. 또한 EIII^{lac} 단백질로 만든 항체가 phospho-EIII^{lac} 단백질을 침전시키지 못한다. *S. mutans* EIII^{lac} 단백질의 N-말단 지역은 대장균의 EIII^{lac} 단백질과 같이 EII 단백질과 상호작용하는데 중요하여 EIII^{lac} 단백질의 N-말단쪽 38개 아미노산 잔기를 갖는 peptide가 EIII^{lac} 단백질과 경쟁함으로써 EII^{lac}의 기능을 저해하며 18번째 아미노산 잔기 Gly을 Gln으로 치환시킨 EIII^{lac} 단백질이 phospho-HPr로부터 인산기는 받을 수 있으나 당을 인산화시키지 못하는 것으로 나타났다(36). 한편 구강 Streptococci와 lactic Streptococci는 lactose를 PTS나 non-PTS로 전달하는데 이때 lactose는 어떠한 전달계에 의해 들어왔느냐에 따라 대사과정은 다른데 PTS에 의해 전달된 당은 lactose-6-phosphate로써 β -phosphogalactosidase에 의해 가수분해되고 non-PTS에 의해 들어온 당은 lactose로 β -galactosidase에 의해 분해된다. lactic Streptococci 40 균주로부터 이들 효소활성을 조사한 결과 β -galactosidase활성 역가가 전혀 발견되지 않은 7균주를 제외하고는 모두 2가지 효소의 활성을 지니고 있으나 β -phosphogalactosidase 효소 활성이

훨씬 높았다(37). 또한 *S. lactis*와 *S. cremoris*에서 염색체 DNA가 아닌 plasmid가 lactose-PTS 단백질을 코딩하는 유전자를 함유하고 있다는 사실이 발견되었다.

2.2.6 Sucrose 특이성 단백질

sucrose 전달에 관련된 유전자는 Krebsielleae 균에서는 염색체상에 존재하고 있으나 enteric bacteria에 속하는 세균에서는 보편적으로 플라스미드에 존재한다. *E. coli*와 *B. subtilis* EII^{suc}은 sucrose를 전달하기 위해 EIII^{suc} 기능이 필요하고 EII^{suc}은 다른 당에 특이성을 갖는 EII 단백질에 비해 세균의 간에 가장 상동성이 높은 단백질로 *E. coli*, *B. subtilis* 그리고 *S. mutans*의 EII^{suc} 단백질의 아미노산 잔기 배열을 비교하면 약 40%가 동일하다 (38). EII^{suc} 단백질을 코딩하는 *B. subtilis*의 *sacP* 유전자를 함유한 재조합 플라스미드로 형질전환된 대장균은 0.1% glucose를 함유한 최소배지와 동일한 속도로 0.2% sucrose를 함유한 동일 배지에서 성장하는 것으로 보아 그람양성균과 음성균의 PTS 단백질 기능은 *in vitro*에서 보다 *in vivo*에서 서로 효율적으로 보완하는 것으로 보인다(39). *S. mutans*에 속하는 모든 균은 한개 혹은 두개의 sucrose-PTS를 지니고 있으며 대장균과 *B. subtilis*와는 달리 EIII^{suc} 단백질을 가지고 있으며 이것은 sucrose-PTS 활성을 위해 필요하다.

3. PTS 효소 단백질 유전자의 발현 조절

PTS는 여러종류의 당을 전달할 뿐아니라 당을 인산화시킴으로써 세포내에서 당의 대사에 직접 관여하게 되므로 PTS 효소활성은 효율적으로 조절되어야 하므로 이들 단백질을 코딩하는 유전자의 발현은 중요하다.

3.1 그람음성균에서 *pts* operons의 발현 조절

대장균의 *pts* operon은 *ptsH*, *ptsI* 그리고 *crr* 유전자로 구성되어 있으며 이들은 PTS단백질 HPr, EI, EIII^{lac}를 각각 코딩하고 있다. 이 오페론은 CAP-cAMP 복합체에 의해서나 탄소원으로 glucose를 함유한 배지에서 대장균을 배양하였을 때 그 발현이 촉진되는데 발현 조절기작은 다르다(40). CAP-cAMP 복합체에 의한 *pts* operon의 발현 조절은 가장 잘 알려진 유전자의 전사활성화 기작과 동일

하며 glucose를 탄소원으로 이용할 때의 *pts* operon의 발현 조절은 EII^{glc} 단백질의 인산화 상태에 따라 결정되는데 외부에 glucose가 내부로 전달되게 될 때 EII^{glc}가 탈인산화되고 이것은 직간접적으로 *pts* operon 발현을 촉진시킨다. 실제 탄소원으로 lactate와 glucose를 사용하여 enteric bacteria를 각각 배양하여 생성된 EI, HPr, 그리고 EIII^{glc} 단백질 양을 비교하였을 때 lactate에서 키웠을 때보다 glucose에서 키웠을 때 이들 단백질의 양이 3배 높게 생성된다. 또한 *ptsH*, *ptsI* 유전자를 *in vivo*에서 *lacZ* 유전자와 접합시켜 그 발현을 조사한 결과 탄소원으로 glucose를 사용하거나 methyl- α -glucopyranoside를 첨가하였을때가 glucose-6-phosphate를 탄소원으로 사용하였을때 보다 *ptsH*와 *ptsI* 유전자의 전사가 3배 많이 촉진되었는데 이러한 촉진 작용에는 세포 외부에 존재하는 glucose와 활성을 갖은 EII^{glc} 단백질이 요구된다. 그 염기 배열이 결정된 대장균의 *pts* operon의 구조를 보면 구성 유전자가 염색체상에서 *ptsH-ptsI-crr* 순서로 나열되어 있다. *ptsH* 구조 유전자 앞 부분과 *ptsI* 구조유전자 내부에서 유전자 발현 조절지역이 많이 발견되었는데 이들중 *pts* operon의 전사과정에 관여하는 두 종류의 promoters가 *ptsH* 구조유전자 앞 부분에 존재하는데 이들은 서로 약 100 bp 정도 떨어져 있으며 CAP과 결합할 수 있는 염기배열을 이루고 있어 CAP-cAMP 복합체와 작용하여 *pts* operon의 전사를 촉진시킨다(41). 한편 *ptsI* 구조유전자의 내부에 존재하고 있는 *crr* 유전자의 promoter가 밝혀졌는데 이것은 위의 두 promoters와는 달리 CAP-cAMP 복합체에 의해 조절되지 않는다. *pts* operon에서 전사된 3종류의 전사체가 대장균에서 발견되었는데 첫째 종류는 *ptsH*, *ptsI*, 그리고 *crr* 유전자 전체에 해당하는 길이가 긴 polycistronic mRNA이고 두번째 것은 *ptsH*와 *ptsI* 유전자의 일부에 해당하는 전사체이고 세번째 것은 *crr* 유전자에 해당하는 전사체로 이것은 *crr* 유전자 특이적인 probe에 의해 탐지되는 mRNA중 80%를 차지하는 것으로 보아 *crr* 유전자의 발현은 *ptsI* 구조유전자 내부에 있는 promoter로부터 대부분 이루어지는 것으로 보인다 (42). Gershanovitch(43) 등은 HPr의 양성 돌연변이체를 얻었는데 이러한 단백질 돌연변이체를 코드하는 유전자를 포함하고 있는 재조합 플라스미드로 정상적

인 염색체를 지닌 대장균을 형질 전환 시켰을 때 형질전환된 대장균은 HPr⁺ 표현형질을 보이는데 이것은 HPr 돌연변이체 단백질이 EI과 같은 PTS 단백질과 높은 친화성을 가져 정상적인 PTS 기능을 저해하는 것으로 생각된다. 당 특이성 단백질을 코드하는 유전자의 operon의 구조는 그 단백질들 자체 구조만큼이나 다양하며 일반적으로 이들 오페론은 PTS 단백질뿐 아니라 인산화된 당을 대사하는 과정에서 첫번째 단계를 촉매하는 이화효소 유전자를 코드하는 유전자도 함유하고 있는데 유도체 기질이 없으면 충분히 발현되지 않는다. 그러나 대장균의 glucose-PTS와 mannose-PTS를 코드하는 유전자 *ptsG*와 *manXYZ* operon은 기질에 의해서도 그 발현이 유도되지만 기질이 존재하지 않아도 항상 어느정도 발현 수준을 유지하고 있으며 이화효소 유전자도 함유하고 있지 않다. 또한 EIII^{glc}/EII^{glc} 복합체의 두단백질을 코드하는 유전자 오페론이 염색체 상에서 서로 멀리 떨어져 있으며 탄소원으로 glucose에서 배양시 EIII^{glc}가 3배 유도됨에 반해 EII^{glc} 단백질은 10~15배로 생성된다. 한편 대장균 *ptsG* 유전자를 함유한 사본 수가 많은 재조합 플라스미드로 형질전환된 대장균에서 EII^{glc} 단백질은 glucose가 존재하지 않아도 10~15배 constitutive 하게 생성된다. 그러나 glucose를 함유한 배지에서 배양하면 *ptsG* 유전자의 발현정도가 억제되는데 이것은 세포내에서 glucose-6-phosphate나 대사물질의 농도가 급격히 높아져 이것들이 유전자의 발현을 저해하기 때문으로 판단된다(44). 대장균의 mannose-PTS를 코드하는 유전자 operon의 염기배열이 결정되었으며 염색체상에서 *manX-manY-manZ* 순서로 그 유전자가 나열되어 있다. 여기서 *manX* 유전자는 EIII^{man}을, *manY*는 EIIP^{man}을, 그리고 *manZ*는 EIIB^{man} 단백질을 각각 코드하고 유전자의 발현에 관련된 조절지역으로는 CAP-cAMP복합체와 ribosome의 결합 부위와 *manZ* 유전자 끝쪽에 있는 rho-independent 종결신호가 있다. 이 오페론의 각 유전자는 따로 분리되어 subcloning 되었을 때도 발현되는데 이것으로 보아 각 유전자는 발현에 필요한 promoter를 갖고 있는 것으로 보이며 *manZ* 유전자의 promoter 활성은 다른 것에 비해 약하다. fructose-PTS 단백질을 코드하는 대장균의 *fru* operon은 염색체 지도에서 47분 위치에 존재하고 있고

fruA, *fruB*, *fruF* 그리고 *fruK* 유전자로 구성되어 있는데 이들 유전자는 EII^{fru}, EIII^{fru}, FPr과 fructose-1-phosphate kinase를 각각 코드한다. 또한 *fru* operon의 전사를 억제하는 repressor protein을 코드하는 *fruR* 유전자는 대장균과 *S. typhimurium*의 염색체 지도에 2분 위치에 존재하고 있는데 이 유전자를 돌연변이 시키거나 결손시키면 lactate, pyruvate, acetate 등을 탄소원으로 이용하여 자랄때도 fructose-PTS 단백질이 constitutive하게 발현된다(45). 이러한 현상은 *fruR* 유전자에 의해 생성되는 단백질이 *fru* operon의 전사를 전적으로 조절하기 때문이다. 이러한 *fruR* 대장균 돌연변이체에서 fructose-PTS 외에 해당작용에 관련된 효소들의 역할이 증가하고 Krebs cycle과 gluconeogenesis에 관련된 효소의 역할은 감소된다. 최근에 광합성 세균인 *R. capsulatus*에서 *fru* operon의 구성 유전자가 *fruK-fruA-fruB* 순서로 염색체상에 나열되어 있으며 *fruK*는 대장균의 것과 유사하나 *fruB*는 특이하게 EI를 코드하고 있는 것으로 밝혀졌다. enteric bacteria의 glucitol-PTS와 mannitol-PTS를 코드하는 유전자 오페론은 그 구조와 조절기작이 비슷하다. *mtl* operon의 구조는 *mtlOPAD* 순서로 그 유전자가 구성되어 있으며 구조유전자인 *mtlA*는 EII^{mtl} 단백질을 코드하고 *mtlD* 유전자는 mannitol-1-phosphate dehydrogenase를 코드하는데 이들 두 유전자 사이에 intercistronic region이 있다. 대장균에서 *mtlA* 유전자를 함유한 재조합 플라스미드는 50~100배 정도로 EII^{mtl} 단백질을 과량 생성시킨다. *gut* operon은 *gutOPABDMR* 순서로 유전자가 나열되어 있으며 구조유전자는 *gutA*, *gutB* 그리고 *gutD*로써 이들은 EII^{gut}, EIII^{gut}와 glucitol-6-phosphate dehydrogenase를 각각 코드한다. *gut* operon은 CAP-cAMP 복합체에 의해 그 전사가 조절되고 더불어 두개의 조절유전자를 지니고 있다. *gutM*은 activator 단백질을 코드하고 *gutR*은 repressor 단백질을 코드한다(46). arbutin과 salicin 같은 β-glucoside를 전달하는 PTS 단백질 EII^{arbut}은 대장균의 PTS중 매우 독특한데 이를 코드하는 유전자가 cryptic operon이라는 사실이다. *bgl* operon은 promoter쪽에 있는 조절지역 *bglR*에 IS element가 들어가든지 돌연변이가 되었을 때 발현이 활성화 된다(47). N-acetylglucosamine-PTS 단백질을 코드하는 *nag* operon은 3개의

구조유전자를 지니고 있는데 염색체 상에서 그 순서는 *nagE-nagB-nagA*이며 이들 유전자는 EII^{nag}, glucosamine-6-phosphate deaminase와 N-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase를 각각 코드하며 *nagB*와 *nagE* 유전자는 각기 서로 반대 방향으로 전사된다. CAP 결합위치 promoter 배열이 이들 유전자의 전사 조절지역으로 작용하며 또한 *nagE* 말단에 전사 종결 신호가 있다. *nagA*는 따로 전사된다.

3.2 그람양성균의 *pts* operon의 발현 조절

그람양성균에서 밝혀진 *pts* 유전자의 operon은 대장균에 비해 매우 적다. *B. subtilis*의 glucose-PTS를 생성하는 *ptsG* operon은 그 구조와 구성유전자의 염기배열이 결정되었는데 이것은 대장균의 것과 달리 *ptsG*, *ptsH*와 *ptsI* 유전자로 구성되어 있다. *B. subtilis* *ptsG* 유전자는 대장균의 *ptsG*와 *crr*에 의해 생성되는 EII^{glc}와 EIII^{glc} 단백질의 기능을 동시에 한 단백질에 갖는 EII^{glc}를 코드한다. *ptsG*와 *ptsH* 구조 유전자 사이에 *ptsH*와 *ptsI* 유전자 발현에 관여하는 promoter가 존재한다. *S. mutans*의 glucose-PTS 단백질은 탄소원으로 lactose를 사용하였을 때 유도되지 않으나 glucose가 배지에 존재하면 유도된다. 실제 lactose는 세포내에서 가수분해되어 glucose로 변환되기 때문에 세포외부면과 내부에 존재하는 glucose의 환경적인 차이는 전자의 glucose만이 오직 세포 외부면의 glucose 수용체 단백질과 상호작용 한다는 것이다. *B. subtilis* sucrose-PTS 단백질을 코드하는 *sacPA* operon은 sucrose에 의해 유전자의 발현이 유도되며 *sacA*는 endocellular sucrase를 *sacP*는 EII^{suc} 단백질을 각각 코드한다(48). *sacPA* operon의 발현을 조절하는 *sacT* 유전자가 operon 앞쪽에 존재하는데 *sacT* 유전자가 돌연변이되면 *sacPA* operon은 constitutive하게 발현된다. *sacP* 유전자 앞쪽의 염기배열이 전사종결 위치와 유사한 회문구조를 이루고 있는 것으로 보아 SacT 단백질이 transcriptional antiterminator로 작용하여 RNA polymerase가 *sacPA* operon의 promoter와 구조 유전자 사이에 존재하는 전사종결 지점을 지나게 하는 것으로 보인다(49). *S. aureus*에서 lactose-PTS를 코드하는 *lac* operon 염기배열이 밝혀졌는데 이것은 3개의 유전자로 구성되어 있고 그 순서는 *lacF-lacE-lacG*이며 이들 유전자는 EIII^{lac}, EII^{lac}과 β-

phosphogalactosidase를 각각 코드한다. 이 오페론은 repressor 단백질에 의해 그 발현이 조절되는데 대장균에서 발현이 되는 것으로 밝혀졌다.

4. 결 론

PTS는 세균이 배지내 여러 종류의 당을 탄소원으로 이용하여 성장하는데 있어서 주요 전달계로 작용하고 있으며 동일한 PTS당이라 할지라도 한 종류의 PTS에 의해 전달되는 것이 아니고 비록 그 기질 특이성은 다르나 통상 몇 종류의 PTS가 이를 세포내로 전달할 수 있다. 그러면서도 세균과 당의 종류에 따라 매우 다양한 PTS종류가 존재하고 있다는 사실은 흥미롭다. 실제 현재까지 밝혀진 PTS를 볼 때 그 기능은 유사하지만 단백질과 유전자의 구조가 다양하고 유동적인데 이는 PTS가 동일한 모체 단백질로부터 진화해 온 것 때문으로 추측될 수 있다. 한편 세균이 배지에 존재하는 당 중에서 PTS당을 선호적으로 이용하는데 본고에서는 그 내용을 다루지 않았지만 이는 PTS 단백질이 인산화된 상태에 따라 non-PTS당의 이용 효소들의 합성을 조절하기 때문으로 PTS당을 전달하는 작용외에 PTS는 환경의 변화에 즉각적으로 대응하는 대사적인 조절과 adenylate cyclase활성을 통제하여 이루어지는 유전적인 조절을 통하여 세포내의 물질대사 조절 작용에 관여하므로 PTS는 세균의 생리와 대사작용을 이해하는데 매우 중요하다.

참고문헌

1. Kundig, W., S. Ghosh and S. Roseman. 1964. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **52**: 1067-1074.
2. Murphey, W.H., and E.D. Rosenblum. 1964. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **116**: 544-548.
3. Meadow, N.D., D.K. Fox and S. Roseman. 1990. Annu. Rev. Biochem. **59**: 497-542.
4. Weigel, N., M.A. Kukuruzinska, T. Nakazawa, E.B. Waygood and S. Roseman. 1982. J. Biol. Chem. **257**: 14477-14491.
5. Saffen, D.W., K.A. Presper, T.L. Doering and S. Roseman. 1987. J. Biol. Chem. **262**: 16241-16253.
6. Dannelly, H.K., and S. Roseman. 1992. Proc.

- Natl. Acad. Sci. USA. **89**: 11274-11276.
7. Kohlbrecher, D., R. Eisermann and W. Hengstenberg. 1992. J. Bacteriol. **174**: 2208-2214.
8. Reizer, J., A. Peterkofsky and A.H. Romano. 1988. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **85**: 2041-2045.
9. Reizer, J., M.H. Jr. Saier, J. Deutscher, F.C. Grenier, J. Thompson and W. Hengstenberg. 1988. CRC Crit. Rev. Microbiol. **15**: 297-338.
10. Hengstenberg, W., and J. Deutscher. 1987. Sugar Transport and Metabolism in Gram Positive Bacteria. New York: Wiley and Sons.
11. Mimura, C.S., L.B. Eisenberg and G.R. Jacobson. 1984. Infect. Immun. **44**: 708-715.
12. Jaffor-Ullah, A.H., and V.P. Cirillo. 1976. J. Bacteriol. **127**: 1298-1306.
13. van Dijk, A.A., R. Eisermann, W. Hengstenberg and G.T. Robillard. 1991. Biochem. **30**: 2876-2882.
14. Waygood, E.B. 1980. Can J. Biochem. **58**: 1144-1146.
15. Vogler, A.P., and J.W. Lengeler. 1988. Mol. Gen. Genet. **213**: 175-178.
16. Bouvet, O.M.M., and P.A.D. Grimont. 1987. Ann. Inst. Pasteur/Microbiol. **138**: 3-13.
17. Nelson, S.O., A.R.J. Schuitema, R. Benne, L.H. T. van der Ploeg and J.S. Plijter. 1984. EMBO J. **3**: 1587-1593.
18. Meadow, N.D., and S. Roseman. 1982. J. Biol. Chem. **257**: 14526-14537.
19. Jablonski, E.G., L. Brand and S. Roseman. 1983. J. Biol. Chem. **258**: 9690-9699.
20. Ruijter, G.J.G., G. van Meurs, M.A. Verwey, P.W. Postma and K. van Dam. 1992. J. Bacteriol. **174**: 2843-2850.
21. Zagorec, M., and P.W. Postma. 1992. Mol. Gen. Genet. **234**: 325-328.
22. Stock, J.B., E.B. Waygood, N.D. Meadow, P.W. Postma and S. Roseman. 1982. J. Biol. Chem. **257**: 14543-14552.
23. Williams, N., D.K. Fox, C. Shea and S. Roseman. 1986. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **83**: 8934-8938.
24. Erni, B., B. Zanolari and H.P. Kocher. 1987. J. Biol. Chem. **262**: 5238-5247.
25. Postma, P.W., H.G. Keizer and P. Koolwijk.

1986. *J. Bacteriol.* **168**: 755-763.
26. Sutrina, S.L., A.M. Chin, F. Esch and M.H.Jr. Saier. 1988. *J. Biol. Chem.* **263**: 5061-5069.
27. Geerse, R.H., F. Izzo and P.W. Postma. 1989. *Mol. Gen. Genet.* **216**: 517-525.
28. Wu, L.-F., A. Reizer, J. Reizer, B. Cai, J.M. Tomich and M.H.Jr. Saier. 1991. *J. Bacteriol.* **173**: 3117-3127.
29. Gauthier, L., D. Mayrand and C. Vadeboncoeur. 1984. *J. Bacteriol.* **160**: 755-763.
30. Sugimoto, S., and I. Shio. 1989. *Agric. Biol. Chem.* **53**: 1261-1268.
31. Davis, T., M. Yamada, M. Elgort and M.H.Jr. Saier. 1988. *Mol. Microbiol.* **2**: 405-412.
32. Manayan, R., G. Tenn, H.B. Yee, A. Desai, M. Yamada and M.H. Jr. Saier. 1988. *J. Bacteriol.* **170**: 1290-1296.
33. Reiche, B., R. Frank, J. Deutscher, N. Meyer and W. Hengstenberg. 1988. *Biochem.* **27**: 6512-6516.
34. Schafer, A., O. Schrecker and W. Hengstenberg. 1981. *Eur. J. Biochem.* **113**: 289-294.
35. Simon, R.D., J.B. Hays, T. Nakazawa and S. Roseman. 1973. *J. Biol. Chem.* **248**: 957-965.
36. Sobek, H.M., K. Stuber, K. Beyreuther, W. Hengstenberg and J. Deutscher. 1984. *Biochem.* **23**: 4460-4464.
37. Romano, A.H., J.D. Trifone and M. Brustolon. 1979. *J. Bacteriol.* **139**: 93-97.
38. Sato, Y., F. Poy, G.R. Jacobson and H.K. Kuramitsu. 1989. *J. Bacteriol.* **171**: 263-271.
39. Fouet, A., M. Arnaud, A. Klier and G. Rapoport. 1987. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **84**: 8773-8777.
40. De Reuse, H., and A. Danchin. 1991. *J. Bacteriol.* **173**: 727-733.
41. De Reuse, H., A. Kolb and A. Danchin. 1992. *J. Mol. Biol.* **226**: 623-635.
42. De Reuse, H., and A. Danchin. 1988. *J. Bacteriol.* **170**: 3827-3837.
43. Umyarov, A.M., O.Y. Rusina and V.N. Gershanovitch. 1986. *FEMS Microbiol. Lett.* **34**: 135-138.
44. Erni, B., and B. Zanolari. 1986. *J. Biol. Chem.* **261**: 16398-16403.
45. Geerse, R.H., C.R. Ruig, A.R.J. Schuiltema and P.W. Postma. 1986. *Mol. Gen. Genet.* **203**: 435-444.
46. Yamada, M., and M.H.Jr. Saier. 1987. *J. Biol. Chem.* **262**: 5455-5463.
47. Reynolds, A.E., S. Mahadevan, S.F.J. Le-Grice and A. Wright. 1984. *J. Mol. Biol.* **191**: 85-95.
48. Fouet, A., A. Klier and G. Rapoport. 1986. *Gene.* **45**: 221-225.
49. Breidt, F., W. Hengstenberg, U. Finkeldei and G.C. Stewart. 1987. *J. Biol. Chem.* **262**: 16444-16449.