

대장균의 Global 조절 단백질인 Lrp (Leucine-responsive Regulatory Protein)의 생화학적 특성

이찬용* · 김소영 · 김류련
충남대학교 자연과학대학 생화학과

Leucine-responsive Regulatory Protein (Lrp)는 global 조절 단백질로서 아미노산의 합성 및 분해 작용과 pilin 생합성을 포함하는 다양한 대사기능을 조절하는데 관여한다. 또한 Lrp가 대장균의 성장 정지기의 유전자 발현에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 최근의 여러 실험 결과에서 밝혀지고 있다. 따라서 본 총설에서는 세균들이 영양 부족 등의 환경적인 스트레스 상황을 어떻게 인지하고 유전자 발현 조절에 그 정보를 반영해 나가는지를 제시해주는 좋은 모델 시스템으로서 Lrp의 생화학적 특성을 기술하였다.

Key words □ amino acid metabolism, global regulator, Lrp, stationary phase

머리 글

생명체가 외부환경의 변화를 인지하고 그에 신속하고 정확하게 대응하는 것은 생존을 위한 필수적인 조건이며, 대장균과 같은 단세포 미생물에서도 다양한 형태의 환경인지 및 신호전달 기전이 작동하고 있다. 이러한 신호전달 기전은 보통 유전체 수준에서 관련 유전자의 발현을 동시에 조절하는 전사 조절자를 매개로하여 작동한다(9, 22, 29).

이러한 그룹들의 유전자들은 그들의 생리적, 환경적 역할에 의해 발견되고 동정되었는데, Leucine-responsive Regulatory Protein (Lrp)는 대장균에서 처음 발견된 'global 조절자'로서 외부 환경을(직접적으로는 배양 배지 내의 leucine 농도) 인지하여 여러 유전자의 발현을 동시에 조절한다(10, 30). 이러한 global 조절자에 대한 연구는 해당 단백질의 생화학적 특성 규명으로부터, 비교 유전체 연구 및 활용연구 등에 이르기까지 광범위하게 수행되고 있다(22, 36, 41). Newman과 Oxender는 1970년대 중후반, leucine에 의하여 서로 관련 없는 수많은 오페론들이 영향을 받는 것을 관찰하고, leucine이 대장균에서 조절 신호로서 작용할 수 있다고 제안하였다(17, 33). 대장균의 배양 배지에 leucine을 첨가하게 되면 일부 오페론의 발현이 증가하기도 하고 감소하기도 한다. 이 중에서 최소한 몇 경우에 있어서는 *lrp*에 의하여 합성되는 Lrp로 알려진 단백질이 매개되어 이루어지는 것으로 나타났고, 대장균이 최소 배지에서 자랄 때 leucine에 의하여 일부 그룹들은 영향을 받게 된다(30).

*lrp*는 대장균 염색체의 약 20 min에 위치하게 되는데 사슬 아미노산의 수송에 영향을 주는 *livR* 영역에서 동정되었다(2). 많은

오페론들이 Lrp에 의하여 조절되고 leucine에 의하여 다양한 효과가 나타나기 때문에 이에 대한 이론적인 설명이 필요한데, 한 가지 명확한 기능성은 대장균에서 leucine이 높은 농도의 신호로써 내부의 환경으로 작용한다는 점이다. 이 기능성은 몇 가지 정보로 입증된다. 예를 들면 Lrp를 매개로 한 leucine의 활동이 펩타이드의 수송을 증가시키고, 몇몇 아미노산의(*serine*, *threonine*)의 분해를 유발시키며, 반면에 일부 아미노산의 합성을 감소시키는 것이다(25). Leucine이 이러한 기능을 위하여 선택됐으리라 추정되는데, 이는 leucine이 단백질 중에서 가장 많이 존재하는 아미노산이며 대장균에서 분해되지 않기 때문이다.

하지만 우리가 예측하고 있는 것과는 달리 leucine이 정반대의 효과를 나타내는 것이 있어, Lrp global 조절 체계에서 leucine의 역할에 대해서는 앞으로 많은 연구가 진행되어야 할 주제이다. Lrp에 관한 또 하나의 관점은 Lrp를 DNA 결합 단백질로서 크기가 작고, 많이 발견되는 염기성 단백질들인 HU, IHF, HNS와 같은 부류로 분류하는 것이다. 하지만 이들 단백질들과 Lrp와의 가장 큰 차이점은 Lrp의 낮은 빈도 및 Lrp가 작은 분자에 의하여 조절되는 반면에 HU, IHF, HNS는 그렇지 않다는 점이다(10).

본 총설에서는 global 조절 기전으로 작용되나 다른 global 조절 단백질에 비하여 덜 알려진 Lrp 및 Lrp-regulon에 대한 생화학적, 분자유전학적인 특성을 소개하고 이들을 고찰하고자 한다. Lrp는 1970년대 대장균에서 처음으로 연구되기 시작한 이후 전사 조절 단백질의 한 패밀리를 이룰 정도로 활발하게 연구되어졌다. 특히, 최근에는 유전체 해독 기술의 발달과 기능 유전체 연구방법의 발달에 힘입어 유전체 수준의 타겟 규명 연구(9, 36), 이종간의 비교 연구 등이 수행되었으며(19), 일부 단백질의 경우 그 구조가 결정되기도 하였다(24). 따라서 Lrp 및 Lrp-regulon 조절 체계는 생명체가 환경변화를 인지하여 유전체 발현 조절에

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 042-821-5482, Fax: 042-821-7548
E-mail: cylee@cnu.ac.kr

그 정보를 반영하는 기전을 이해하기에 좋은 모델 시스템 및 자료를 제공할 수 있을 것이다.

Lrp 및 Lrp-regulon의 생화학적, 분자유전학적 특성

Lrp는 pI 값 9.3을 갖는 염기성 단백질이며, 단량체 분자의 크기는 대략 18.8 kDa 이고 10 μM 정도 이상의 용액에서는 이량체로 존재한다(31). 대장균에서 Lrp에 의하여 조절되는 대부분의 표적 오페론은 아미노산의 합성(16, 25) 및 분해(31), 혹은 아미노산의 수송에 관여하는 유전자들이다(3). 한편 one carbon 대사 과정에 관여하는 반응을 촉매하는 효소들을 코딩하는 유전자들의 발현 역시 Lrp에 의하여 조절되는 것으로 알려졌다(10) (Table 1).

Lrp는 전사 조절 단백질로서 leucine/Lrp regulon으로 불리는 여러 그룹 유전자들의 발현을 조절하게 되는데, *lrp*의 돌연변이에 따라 아미노산의 합성(*ilvH*, *serA*), 아미노산의 분해(*sdaA*, *tdh*), 펩타이드의 수송(*oppABCDF*) 등에 관여하는 오페론들이 영

향을 받는 것으로 미루어 볼 때(25), Crp가 탄수화물 대사과정에 주요한 역할을 하는 것처럼 Lrp가 아미노산 대사과정에 주요한 역할을 할 것으로 추정되며, 또한 *lrp*에 의하여 발현이 조절되는 pilin의 생합성 유전자들도 동정되었다(13, 14) (Table 1).

Lrp는 Crp와 비슷한 크기와 pI 값을 갖는다. 또한 두 단백질은 경우에 따라 활성화 혹은 저해시키며, 이 두 단백질 모두 작은 분자에 의해 영향을 받는다(1, 27). Lrp는 중간 정도의 양이 존재하는 DNA 결합 단백질이나 major nucleoid-결합 단백질은 아닌 것으로 간주되고 있다(5, 39). Lrp는 몇 가지의 작용방식이 있는데, 이들은 유전자 발현을 활성화시키는데 있어 leucine이 그들의 효과에 상반되거나, 상승시키거나 혹은 무관하게 작용하는 경우들이다(4, 5, 30). 리보솜이 uncharged-tRNA들에 노출 되었을 때 형성되는 뉴클레오타이드인 guanosine tetrphosphate (ppGpp)가 Lrp 합성을 조절하게 되며(23, 41), 이것은 Lrp의 합성이 아미노산이 결핍된 최소배지에서 이루어지며 정지기에서 이동되는 것으로 설명된다(23, 36). Lrp는 대장균의 약 10%의 유전자 발현에 영향을 미치는 것으로 조사 되었으며(22), 최근의

Table 1. Functions and characteristics of the genes regulated by Lrp

Functions/Genes	Product
Amino acid biosynthesis	
<i>ilvIH</i>	Acetohydroxy acid synthase
<i>leuABCD</i>	Enzymes involved in leucine biosynthesis
<i>serA</i>	D-3-Phosphoglycerate dehydrogenase
<i>glnALG</i>	Glutamine synthetase (<i>glnA</i>) and genes that regulate <i>glnA</i> (<i>glnLG</i>)
<i>gltBDF</i>	Glutamine synthase (<i>gltBD</i>)
<i>glyA</i>	Serine hydroxymethyltransferase
Amino acid degradation	
<i>gcv</i>	Glycine cleavage pathway
<i>tdh, kbl</i>	Threonine dehydrogenase; 2-amino-3-ketobutyrate CoA ligase
<i>sdaA</i>	Serine deaminase
Transport	
<i>livJ</i>	Binding protein for isoleucine, valine, and leucine transport
<i>livKHMGF</i>	Binding protein for leucine transport (<i>livK</i>); membrane components for branched-chain amino acid transport (<i>livHMGF</i>)
<i>oppABCDF</i>	Binding protein and membrane components for oligopeptide transport
<i>ompC</i>	Outer membrane porin C
<i>ompF</i>	Outer membrane porin F
<i>micF</i>	Antisense RNA; translational inhibitor of <i>ompF</i>
Pilin synthesis	
<i>daa</i>	F1845 pili
<i>fae</i>	K88 pili
<i>fan</i>	K99 pili
<i>fim</i>	Type I pili
<i>pap</i>	P pili
<i>sfa</i>	S pili
Stationary phase genes	
<i>adhE, fbaB</i>	Alcohol dehydrogenase, fructose bisphosphate aldolase
<i>csiDE</i>	Genes induced by carbon starvation
<i>dps, gadABC, hdeAB, sodC, osmY, osmCYBE</i>	Genes induced by acid stress
<i>treAF and otsAB</i>	Osmotic stress
<i>rihA</i>	Transport and metabolism of osmoprotectant
<i>talA and tktB</i>	Pyridine nucleotide hydrolase
	Transaldolase and transketolase involved in pentose phosphate pathway

[Modified from references 6 and 36].

microarray 분석 연구 결과 및 총설을 통하여 Lrp의 경계적(境界的) 기능에 대한 역할이 기술되었다(9, 22, 36). 동종의 Lrp⁺와 Lrp⁻의 균주를 비교한 실험 결과 정지기에서 발견되는 200여개의 유전자 중 약 70% 정도가 Lrp의 영향을 받는 것으로 나타났으며, 그들은 영양분의 결핍, 고농도의 유기산 및 삼투압 스트레스에 관련된 유전자들이었다(36) (Table 2). 또한 Table 2 및 Fig. 1에서 보는 바와 같이 직·간접적으로 Lrp의 영향을 받는 기능적으로 정지기에서 발견되거나 정지기에서 관련되는 유전자들의 대부분이, 일반적 스트레스 조건하에서 유전자 발현에 관여하는 sigma factor인 RpoS에 의하여 조절되는 유전자들이었다(36).

Lrp의 기능적 영역에 대한 *lrp* 유전자의 돌연변이에 관한 유전학적 연구 결과, 아미노 말단 영역은 DNA의 결합에 필요하게 되고, 중앙 부분은 전사 활성화에 필요한 영역이며, leucine에 감응하는 카르복시 말단 영역 등의 3 부분으로 구별된다(32). Lrp의 X선 결정구조에 의하면 아미노 말단 영역에서 DNA 결합 모티프인 helix-turn-helix 구조가 존재하며 카르복시 말단 영역에서는 여러 RNA 및 DNA 결합 도메인에서 나타나는 αβ 혼합구조가 관찰되었으며, LrpA는 카르복시 말단 영역의 antiparallel β-병풍 구조를 통하여 동중이량체를 형성하는 것으로 밝혀졌다(24). Lrp가 단일 부위에 결합할 때와 Lrp 이량체가 각각의 부위에 결합되는 인접한 한 쌍에 결합되는 경우의 화학양론이 측정되었는데, Lrp 이량체는 매우 안정하여 예민한 subunit assay를 통하여서도 Lrp 단량체로서의 헤리를 검출할 수 없었다(7).

Leucine이 Lrp에 미치는 효과를 정리해 보면 leucine은 아미노산이 과잉으로 존재할 때 신호로서(23) 작용하게 된다는 것을 추

리할 수 있으며, 이에 따라 아미노산 분해과정이 유도되고 합성 과정이 저해된다. 대장균에 자연적 leucine 그 자체로 있을 가능성은 희박하며 다른 아미노산들과 복합체 상태로 leucine이 존재할 것이다(10). 따라서 대장균에서 leucine이 아미노산 과잉의 신호로 작용하는 기전으로 진화했을 것으로 생각되며, 이와 같은 이론에 대한 확실한 증거는 없지만 가능성은 아주 높은 것으로 추리된다(10). 즉 어느 오페론의 경우에는 Lrp가 유전자 발현을 활성화시키고, 또한 어떤 경우에 있어서는 저해시키게 된다. 가장 먼저 떠오르는 의문점은 ‘어떻게 작은 조절 단백질이 리간드(leucine)와 상호작용을 하며 수많은 오페론들의 조절에 관여할 수 있는가?’ 라는 점이다.

현재까지 알려진 Lrp/Lrp-regulon에 의하여 발현되는 오페론 중에서 동정된 대표적인 유전자들을 분류하면 다음과 같다. 첫째, Lrp가 어떤 유전자의 발현을 활성화시키거나 저해시키는데 leucine과 상반된 효과로 작용하는 경우이다. 예를 들면 Lrp가 *ilvIH*의 프로모터로 부터의 전사를 활성화시키는데 leucine이 이 효과를 상쇄시킨다(38). 반면에 Lrp가 아미노산 분해에 관여하는 *sdad* 프로모터로 부터의 발현을 저해시키게 되는데 leucine은 이 오페론의 발현을 유도시키게 되며, 이것은 아마도 leucine이 Lrp의 저해 작용을 상쇄하는데 기인한 것으로 사료된다(10). 두 번째의 경우는 Lrp가 활성화 혹은 저해시키는 효과를 나타내는데 있어서 leucine의 도움이 필요한 경우이다. 이러한 예로는 Lrp가 *livJ*와 *livKHMGF* 발현에 있어서 억제 효과를 보이는데 있어 leucine이 필요하며(17) Lrp가 *fimB*와 *fimE*에 의하여 활성화되는 Type I pili의 상변이(phase variations) 효과가 leucine에 의하여

Table 2. Stationary-phase genes regulated (directly or indirectly) by Lrp [Obtained from reference 36]

Gene	ORF	Fold	Gene	ORF	Fold	Gene	ORF	Fold
Prior association with Lrp (6 genes)								
<i>aidB</i>	b4187	3.3	<i>osmC</i>	b1482	5.9	<i>poxB</i>	b0871	8.0
<i>csiD</i>	b2659	2.3	<i>osmY</i>	b4376	8.9	<i>yjbJ</i>	b4045	1.7
Association with Lrp revealed by this study (47 genes)								
<i>adhE</i>	b1241	2.9	<i>aldB</i>	b3588	3.3	<i>amyA</i>	b1927	8.9
<i>appY</i>	b3515	2.1	<i>blc</i>	b4149	3.7	<i>bolA</i>	b0435	2.2
<i>cbpA</i>	b1000	3.6	<i>cfa</i>	b1661	3.1	<i>csiE</i>	b2535	4.9
<i>dacC</i>	b0839	2.4	<i>dps</i>	b0812	4.7	<i>fbaB</i>	b2097	8.4
<i>fic</i>	b3361	2.7	<i>frdA</i>	b4514	2.8	<i>gadA</i>	b3517	12.8
<i>gadB</i>	b1493	11.2	<i>gadC</i>	b1492	6.0	<i>ggt</i>	b3447	10.9
<i>grxB</i>	b1064	2.3	<i>hdeA</i>	b3510	5.7	<i>hdeB</i>	b3509	6.1
<i>hdeD</i>	b3511	3.4	<i>katE</i>	b1732	14.5	<i>kch</i>	b1250	2.1
<i>ldcC</i>	b0186	2.3	<i>mlrA</i>	b2127	5.0	<i>osmB</i>	b1283	3.2
<i>osmE</i>	b1739	4.4	<i>otsA</i>	b1896	10.4	<i>otsB</i>	b1897	7.2
<i>slp</i>	b3506	4.9	<i>sodC</i>	b1646	3.1	<i>tamI</i>	b1519	3.6
<i>treA</i>	b1197	6.7	<i>treF</i>	b3519	2.2	<i>wrbA</i>	b1004	15.7
<i>yahO</i>	b0329	4.9	<i>ycgB</i>	b1188	13.0	<i>yciF</i>	b1258	2.4
<i>yciG</i>	b1259	4.6	<i>ycdS</i>	b1440	2.3	<i>yeaG</i>	b1783	7.0
<i>ygaU</i>	b2665	6.4	<i>yhiV</i>	b3514	3.2	<i>yjgB</i>	b4269	3.0
<i>yncC</i>	b1450	2.7	<i>yohF</i>	b2137	3.1			

Genes indicated in bold are annotated in GenBank or reported in the literature as being regulated by RpoS, others are associated with stationary phase but not necessarily controlled by RpoS. Underlining indicates coregulation of the highlighted genes (Pearson's correlation coefficients of >0.5). Fold indicates the reduction of expression in the Lrp⁺ relative to the Lrp⁻ strain, measured in cells grown in the absence of leucine.

아의 상황에서는 아미노산 생합성(암모니아 흡수 포함)이 좀 더 적절할 것이다(10, 29). 만약 Lrp가 아미노산 분해과정으로써 암모니아의 흡수를 조절하게 된다면 leucine이 아미노산 과잉상태에서 indicator 역할을 하게 될 것이다.

Lrp는 LysR과 같은 큰 조절 단백질 혹은 Crp나 FNR과 같이 잘 알려진 조절 단백질과는 상관관계가 없을 뿐만 아니라, host-factor를 integration 시키는 DNA binding protein 혹은 histone-like 조절 단백질과도 상관관계를 보이지 않는다(10). Lrp는 다만 asparagine synthase를 암호하는 *asnA*의 조절 유전자인 *asnC*와 약 25%의 아미노산 서열 상동성을 갖는다(39). 항체를 이용한 Lrp의 적정 실험에 의하면 glucose 최소배지에서 자란 대장균 세포들은 세포 당 약 3,000 분자의 Lrp를 갖고 있는 것으로 추정된다(39). 과연 leucine이 Lrp와 전사 활성화와 결합에 방해 혹은 영향을 미칠 수 있을까? 이전의 보고에 의하면 Lrp가 *ilvIH* DNA에 결합되는 정도를 leucine이 감소시켜 주는 효과가 있음을 보였으나, 감소되는 정도는 사용된 Lrp의 따라 현저하게 의존되는 경향을 보였고, 매우 낮은 농도에서도 10~50 mM의 매우 높은 농도의 leucine이 필요하다(13). 한 가지 가능한 설명은 Lrp가 leucine이 존재할 때와 존재하지 않을 때 다른 consensus sequence를 인식한다는 것이다. 이는 leucine이 Lrp에 직접적으로 작용하나, Lrp와 작용하거나 혹은 표적 오페론과 작용하는 DNA와는 leucine이 작용하지 않을 것이라는 가정이 전제되어 있다. 또한 Lrp가 leucine-regulated 유전자들의 관점에서는 전형적인 조절자로서 작용하고 있으나, 세포내의 많은 수의 Lrp 분자, Lrp 분자가 DNA를 bend시킬 수 있는 능력(37), 그리고 다분자 프로 모터 구조를 형성할 수 있음을 보인 결과는(37) Lrp가 염색체 organizer로 작용할 수도 있음을 시사하고 있다(14).

맺는 글

Lrp는 leucine과 함께 대장균의 여러 오페론의 발현에 관여하게 된다. 이 체계에서 가장 흥미로운 것은 leucine과 Lrp가 상호작용을 하며 Lrp-regulon에 다른 조절 형태를 보인다는 점이다. 대장균의 다른 global 조절 단백질과 마찬가지로 Lrp는 특이한 조절자이기 때문에 몇몇 오페론의 발현에 국한하지 않고 많은 오페론의 발현 조절에 관여하게 된다(Table 1, 2).

Leucine/Lrp-regulon의 가장 큰 의문점 중의 하나는 대사 작용에서의 이것의 역할에 대한 일반적인 기술이 아직까지 이루어지지 않았다는 점이다. 세포 외부의 leucine이 왜 대장균의 대사과정을 조절하는 지에 대한 많은 다양한 이론이 제시됐지만 아직 합리적인 이론이 정립되지는 않은 상태이다. 어떻게 단일 조절 단백질이 작은 리간드와 상호 작용하여 수많은 오페론들의 발현을 조절시킬 수 있으며, 어떻게 leucine이 Lrp 효과를 방해시키며, Lrp의 효과에 필요하게 되고 또한 어떻게 아무런 영향을 줄 수 없는 지에 대한 주요한 의문점을 해명하기 위해서는 leucine과 Lrp와의 상호작용에 관한 심도있는 연구가 후속되어야 할 것이다.

장내세균(Enteric bacteria)에서 *lrp* 유전자의 진화적 상관관계를

비교하면 흥미로운데 대장균, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella aerogenes*, *Salmonella typhimurium*에서 얻어진 164개의 아미노산으로 이루어진 Lrp를 비교하면 대장균의 Lrp와 동일하거나 단지 1개 정도의 아미노산만이 서로 다르며, 또한 90% 이상의 DNA 염기 서열 상동성을 보였다(18). 이와 같이 높은 상동성을 보이는 것은 Lrp가 대사 작용을 구성하는데 있어서 매우 중요한 역할을 할 것임을 시사하고 있다. 또한 Lrp가 장내세균에서는 매우 높은 특이성을 가짐으로써 global 조절자 역할을 하고 있으나, 포유동물 등 다른 개체에서는 매우 제한적인 조절자로 작용할 것에 착안하여 이 단백질과 조그마한 분자와의 상호작용에 관한 연구는 궁극적으로 이들 장내세균의 성장을 조절하거나 저해할 수 있는 의약품 개발의 가능성을 탐색하는 시발점을 제시할 수도 있을 것으로 사료된다.

종합적인 관점에서 볼 때 *lrp*는 대장균에서 매우 중요한 조절 유전자로서 이 유전자에 의하여 유발되는 생리적 혹은 환경 적응에 관한 흥미로운 관심을 갖게 한다. 수십 개의 오페론이 Lrp에 의하여 조절될 것으로 생각되며 특징적인 것은 Lrp-regulon이 leucine에 의하여 다른 형태의 조절 양상을 보인다는 점이다.(10, 19, 30). 이와 같은 관점에 초점을 맞춘 Lrp와 leucine과의 상호작용에 대한 기전을 규명하기 위한 생화학적, 분자유전학적 체계적인 연구가 요구되며, 이는 global 조절 기전을 일반화시킬 수 있는 모델을 제시할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 충남대학교 자체연구비의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Ahdy, S. and S. Garges. 1990. Positive control. *J. Biol. Chem.* 265, 10797-10800.
- Anderson, J.J., S.C. Quay, and D.L. Oxender. 1976. Mapping of two loci affecting the regulation of branched-amino acid transport in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 126, 80-90.
- Austin, E.A., J.C. Andrews, and S.A. Short. 1989. *Mol. Genet. Bacteriophage, Abst* p. 153. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, USA
- Azam, T.A. and A. Ishihama. 1999. Twelve species of the nucleoid-associated protein from *Escherichia coli*. Sequence recognition specificity and DNA binding affinity. *J. Biol. Chem.* 274, 33105-33113.
- Azam, T.A., A. Iwata, A. Nishimura, S. Ueda, and A. Ishihama. 1999. Grow phase-dependent variations in protein composition of the *Escherichia coli* nucleoid. *J. Bacteriol.* 181, 6361-6370.
- Blaukwamp, T.A. and A.J. Ninfa. 2002. Nac mediated repression of the *serA* promoter of *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 45, 351-363.
- Bloomfield, I.C., P.J. Carlie, K.J. Eberhardt, M.S. McClain, and B.I. Eisenstein. 1993. Lrp stimulate phase variations of type I fimbriation in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 175, 27-36.
- Braaten, B.A., L.B. Blyn, B.S. Skinner, and D.A. Low. 1991. Evi-

- dence for methylation-blocking factor (mbf) locus involved in pap pilus expression and phase variation in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 173, 1789-1800.
9. Brinkman, A.B., T.J.G. Ettema, W.M. de Vos, J. Van der Oost. 2003. The Lrp family of transcriptional regulators. *Mol. Microbiol.* 48, 287-294.
 10. Calvo, J.M. and R.G. Matthews. 1994. The leucine-responsive regulatory protein (Lrp), a global regulator of metabolism in *Escherichia coli*. *Microbiol. Rev.* 58, 466-490.
 11. Chen, S., M.H. Rosner, and J.M. Calvo. 2001. Leucine-regulated self association of leucine-responsive regulatory protein (Lrp) from *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* 312, 625-635.
 12. Chen, S., Z. Hao, E. Bieniek, and J.M. Calvo. 2001. Modulation of Lrp activation in *Escherichia coli* by leucine. Effects on non-specific binding of Lrp to DNA. *J. Mol. Biol.* 314, 1067-1075.
 13. Cui, Y., M.A. Midkiff, Q. Wang, and J.M. Calvo. 1996. The leucine responsive regulatory protein (Lrp) from *Escherichia coli*. Stoichiometry and minimal requirements for binding to DNA. *J. Biol. Chem.* 271, 6611-6617.
 14. D'Ari, R.R., R.T. Lin, and E.B. Newman. 1993. The leucine responsive regulatory protein (Lrp): more than a regulator? *Trends Biochem. Sci.* 18, 260-263.
 15. Ernsting, B.R., M.R. Atkinson, A.J. Ninfa, and R.G. Matthews. 1992. Characterization of the regulon controlled by the leucine responsive regulatory protein in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 174, 1109-1118.
 16. Ettema, T.J.G., A.B. Brinkman, T.H. Tani, J.B. Rafferty, and J. Van der Oost. 2002. A novel ligand-binding domain involved in regulation of amino acid metabolism in prokaryotes. *J. Biol. Chem.* 277, 37464-37468.
 17. Fraser, J. and E.B. Newman. 1975. Derivation of glycine from threonine in *Escherichia coli* K-12 mutants. *J. Bacteriol.* 122, 810-817.
 18. Friedberg, D., J.V. Platko, B. Tyler, and J.M. Calvo. 1995. The amino acid sequence of Lrp is highly conserved in four enteric microorganisms. *J. Bacteriol.* 177, 1624-1626.
 19. Friedberg, D., M. Midkiff, and J.M. Calvo. 2001. Global versus local regulatory roles for Lrp-related proteins: *Haemophilus influenzae* as a case study. *J. Bacteriol.* 183, 4004-4011.
 20. Gross, T.J., A. Perez-Matos, and R.A. Bender. 2001. Roles of glutamate synthase, *gltBD*, and *GltF* in nitrogen metabolism of *Escherichia coli* and *Klebsiella aerogenes*. *J. Bacteriol.* 183, 6607-6619.
 21. Hengge-Aronis, R. 1999. Interplay of global regulators and cell physiology in the general stress response of *Escherichia coli*. *Curr. Opin. Microbiol.* 2, 148-152.
 22. Hung, S.P., P. Baldi, and G.W. Hatfield. 2002. Global gene expression profiling in *Escherichia coli* K12. The effect of leucine-responsive regulatory protein. *J. Biol. Chem.* 277, 40309-40323.
 23. Landgraf, J.R., J. Wu, and J.M. Calvo. 1996. Effects of nutrition and growth rate on LRP levels in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 178, 6930-6936.
 24. Leonard, P.M., S.H.J. Smits, A.B. Brinkman, W.M. de Vos, J. Van der Oost, D.W. Rice, and J.B. Rafferty. 2001. Crystal structure of the Lrp-like transcriptional regulator from the archaeon *Pyrococcus furiosus*. *EMBO J.* 20, 990-997.
 25. Lin, R.T., R. D'Ari, and E.B. Newman. 1990. The leucine regulon of *E. coli* K-12: a mutation in *rblA* alters expression of L-leucine-dependent metabolic operons. *J. Bacteriol.* 172, 4529-4535.
 26. Lin, R.T., B. Ernsting, I.N. Hirshfield, R.G. Matthews, F.C. Neidhardt, R.L. Clark, and E.B. Newman. 1992. The *lrp* gene product regulates expression of *lysU* in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 174, 2779-2784.
 27. Mallick, U. and P. Herrlich. 1979. Regulation of synthesis of major outer membrane protein: cyclic AMP represses *Escherichia coli* protein III synthesis protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 5520-5523.
 28. Marasco, R., M. Varcamonti, F. La Cara, E. Ricca, M. De Felice, and M. Sacco. 1994. *In vivo* footprinting analysis of Lrp binding to the *ilvIH* promoter region of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 176, 5197-5201.
 29. Newman, E.B., R. D'Ari, and R. Lin. 1992. The leucine-Lrp regulon in *Escherichia coli*: A global response in search of a raison d'etre. *Cell* 68, 617-619.
 30. Newman, E.B. and R. Lin. 1995. Leucine-responsive regulatory protein: A global regulatory gene expression in *Escherichia coli*. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 747-775.
 31. Platko, J.V., D.A. Willins, and J.M. Calvo. 1990. The *ilvIH* operon of *Escherichia coli* is positively regulated. *J. Bacteriol.* 172, 4563-4570.
 32. Platko, J.V. and J.M. Calvo. 1993. Mutations affecting the ability of *Escherichia coli* Lrp to bind DNA, activate transcription, or respond to leucine. *J. Bacteriol.* 175, 1110-1117.
 33. Quay, S.C. and D.L. Oxender. 1980. *In Regulation of Membrane Transport*. p. 413-436, Plenum Press, New York, USA
 34. Ricca, E., D.A. Aker, and J.M. Calvo. 1989. A protein that binds to the regulatory region of the *ilvIH* operon of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 171, 1658-1664.
 35. Reitz, L. 2003. Nitrogen assimilation and global regulation in *Escherichia coli*. *Annu. Rev. Microbiol.* 57, 155-176.
 36. Tani, T.H., A. Khodursky, R.M. Blumenthal, P.O. Brown, and R.G. Matthews. 2002. Adaption to famine: A family of stationary-phase genes revealed by microarray analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 13471-13476.
 37. Wang, Q. and J.M. Calvo. 1993. Lrp, a major regulatory protein in *Escherichia coli*, bends DNA and can organize the assembly of higher-order nucleoprotein structure. *EMBO J.* 12, 2495-2501.
 38. Wang, Q., M. Sacco, E. Ricca, C.T. Lago, M. De Felice, and J.M. Calvo. 1993. Organization of Lrp binding sites upstream of *ilvIH* in *Salmonella typhimurium*. *Mol. Microbiol.* 7, 883-891.
 39. Willins, D.A., C.W. Ryan, J.V. Platko, and J.M. Calvo. 1991. Characterization of Lrp, and *Escherichia coli* regulatory protein that mediates a global response to leucine. *J. Biol. Chem.* 266, 10768-10774.
 40. Zimmer, D.P., E. Soupene, H.L. Lee, V.F. Wendish, A.B. Khodursky, B.J. Peter, R.A. Bender, and S. Kustu. 2000. Nitrogen regulatory protein C-controlled genes of *Escherichia coli*: Scavenging as a defence against nitrogen limitation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 14674-14679.
 41. Zinser, E.R. and R. Kolter. 2000. Prolonged stationary-phase incubation selects for *lrp* mutations in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.* 182, 4361-4365.

(Received July 5, 2006/Accepted September 25, 2006)

ABSTRACT: Biochemical Characteristics of Lrp (Leucine-responsive Regulatory Protein) as a Global Regulator in *Escherichia coli*

Chan Yong Lee*, So-Young Kim, and Ryu-Ryun Kim (Department of Biochemistry, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea)

Leucine-responsive Regulatory Protein (Lrp) is a global regulator involved in modulating a variety of metabolic functions, including the catabolism and anabolism of amino acids as well as pili synthesis. In addition, there is growing evidences that Lrp may play an important role when cells make transition between rich and lean nutritional conditions. In this review, the biochemical characteristics of Lrp are described to provide a good example that shows how bacteria adapt to nutrient limitation and environmental stress.