

원핵세포에서 신호물질 및 조절인자로서의 3',5'-Cyclic Adenosine Monophosphate의 역할

천세진 · 석영재¹ · 이규호*

한국의외어대학교 자연과학대학 환경학과, ¹서울대학교 자연과학대학 생명과학부

3',5'-Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) as a Signal and a Regulatory Compound in Bacterial Cells. Chun, Se-Jin, Yeong-Jae Seok¹, and Kyu-Ho Lee*. *Department of Environmental Science, Hankuk University of Foreign Studies, ¹Laboratory of Macromolecular Interactions, School of Biological Science, Seoul National University* - 3',5'-cyclic adenosine monophosphate (cAMP) is an important molecule, which mediates diverse cellular processes. For example, it is involved in regulation of sugar uptake/catabolism, DNA replication, cell division, and motility in various bacterial species. In addition, cAMP is one of the critical regulators for syntheses of virulence factors in many pathogenic bacteria. It is believed that cAMP acts as a signal for environmental changes as well as a regulatory factor for gene expressions. Therefore, intracellular concentration of cAMP is finely modulated by according to its rates of synthesis (by adenylate cyclase), excretion, and degradation (by cAMP phosphodiesterase). In the present review, we discuss the bacterial physiological characteristics governed by cAMP and the molecular mechanisms for gene regulation by cAMP. Furthermore, the effect of cAMP on phosphotransferase system is addressed.

Key words: 3',5'-Cyclic adenosine monophosphate, cAMP receptor protein, catabolite repression, phosphotransferase system

3',5'-Cyclic adenosine monophosphate(cAMP; Fig. 1)는 진핵생물의 세포 뿐 아니라 원핵생물에서 환경의 변화에 따른 생물학적 대응에 관여하는 중요한 세포 내 구성요소로서, 특히 원핵생물의 경우 그들의 대사조절에 있어서 결정적인 역할을 하는 신호 또는 조절물질이다. 1965년 Makman과 Sutherland가 대장균(*Escherichia coli*)으로부터 cAMP를 동정하고 cAMP 관련 조절단백질인 cAMP receptor protein(CRP) 존재를 확인한 이후, cAMP가 CRP와 반응하여 cAMP-CRP complex를 형성하고 이 complex가 여러 가지 탄소원을 이용하여 에너지화하는 다양한 과정을 활성화 또는 억제시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 발견 이후, cAMP-CRP complex는 탄소원의 이화작용 이외에도 매우 다양한 세균의 생리현상을 조절하는데, 아마도 현재까지 알려진 전사조절자 중 가장 많은 유전자의 발현을 관장하는, global regulator로 인식되고 있다.

cAMP-CRP complex 의 형성

CRP에 의한 유전자의 전사 활성화를 위해서는 적어도 세 가지의 물질 - 대상 유전자의 promoter 지역, RNA poly-

merase(RNAP), CRP(또는 CAP [catabolite gene activator protein]) - 의 존재를 필요로 한다. *E. coli*에서 이렇게 조절되는 유전자의 종류는 150개 이상 존재하는 것으로 보고된다[4]. *E. coli*의 CRP 단백질은 총 209개의 amino acid residues로 구성되어 있는데, amino (N)-terminal domain(1-133 amino acid residues)에는 cAMP binding site가 존재하며, carboxyl (C)-terminal domain(139-209 amino acid residues)은 helix-turn-helix DNA binding motif를 포함하고 있다. 두 domains 사이, 즉 134-138 amino acid residues는 이러한 두 domain을 공유결합 시키는 견고한 경첩 역할을 한다[17].

세포 내에서 CRP는 homodimer로서 약 47 kDa의 크기로 존재하는데, 이러한 dimerization에는 각 CRP 단백질의 N-terminal domain 지역이 필요하다. N-terminal domain에 위치한 cAMP binding sites에 두 분자의 cAMP가 결합한 후 단백질의 allosteric 변화가 수반되어 anti-conformation 형태로 전환된 다음, helix-turn-helix motif가 해당 DNA 지역에 결합한다[6]. CRP dimer가 syn-conformation 형태로 존재하는 경우, 두 C-terminal domains이 접한 지역은 앞서 언급된 cAMP binding sites 보다 cAMP에 대해 낮은 친화력을 갖는 cAMP binding site로서 역할을 한다.

CRP의 C-terminal domain이 인식할 수 있는 DNA의 consensus 염기서열은 5'-AANTGTGAN₂TAN₂TCACANTT-3'의 22 base-pair(bp)로 상호 대칭구조(2-fold symmetry)를 가지며, CRP와 complex를 이루면 DNA가 약 80° 정도 휘

*Corresponding author

Tel: 031-330-4039, Fax: 031-330-4529

E-mail: khlee@hufs.ac.kr

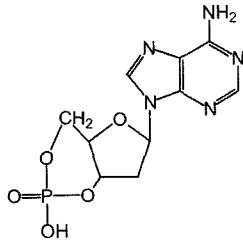


Fig. 1. Chemical structure of 3',5'-cyclic adenosine monophosphate (cAMP).

어지게 되어 전사작용의 효율에 변화가 수반된다[6]. 그러나 모든 cAMP-CRP complex가 위에서 언급된 consensus 염기 서열에만 결합하는 것은 아니며, 예외적인 염기서열이 다양한 그람음성세균들로부터 속속 발견되고 있다.

CRP 단백질은 세포 내 cAMP 농도에 따라 세 가지 형태로 관찰되는데, cAMP가 결합된 조건 하에서는 apo-CRP로서, cAMP가 μM 농도로 존재할 때에는 N-terminal domain에 cAMP가 결합된 CRP2:cAMP2 complex로서, 그리고 mM 농도로 존재할 때 cAMP에 대해 낮은 친화력을 갖는 C-terminal domain에도 cAMP가 결합된 CRP2:cAMP4 complex로서 존재한다[17, 33]. 이 중에서 CRP2:cAMP2 complex가 가장 활성도 높은 조절자로서 역할을 한다고 알려져 있다. cAMP에 대한 CRP 친화력은 용액의 ionic strength에 의존적이므로 위에서 언급된 농도의 범위 또한 조건에 따라 달라질 수 있다.

cAMP-CRP complex는 RNAP와도 반응하는 것으로 알려져 있는데, *E. coli*의 RNAP는 $\alpha 2\beta\beta'\sigma$ 라는 총 5개의 subunits으로 구성된 450 kDa의 분자량을 가지는 거대한 단백질이다. 이 중, 37 kDa의 α subunit은 작용하는 유전자의 promoter 보다 upstream 지역을 인식하여 결합할 수 있는 기능이 있다. 또한 자신의 dimerization, $\beta\beta'\sigma$ 부분과 상호작용, 그리고 다른 전사조절자와 작용하는데 있어서 중요 역할을 하는 N-terminal domain(αNTD ; 8-235 amino acid residues) 그리고 αNTD 보다는 약한 영향을 보이는 C-terminal domain(αCTD ; 249-329 amino acid residues)를 갖는다. 예를 들면, CRP의 C-terminal domain 부분(158-Thr가 중심인 activating region 1 [AR1])은 RNAP의 αCTD 와 반응하며, CRP의 N-terminal domain 부분(19-His, 101-Lys 등을 포함하는 AR2)은 RNAP의 αNTD 와 반응하여 RNAP의 효율적인 전사를 돕는다. 또한 CRP의 AR3 지역은 RNAP의 σ subunit과 상호작용하는 부분이라 알려져 있다.

cAMP-CRP Complex 의 조절기작 - Positive Regulation

Class I CRP-Dependent Promoter

CRP에 의해 조절되는 promoter는 그 조절방식에 따라 세

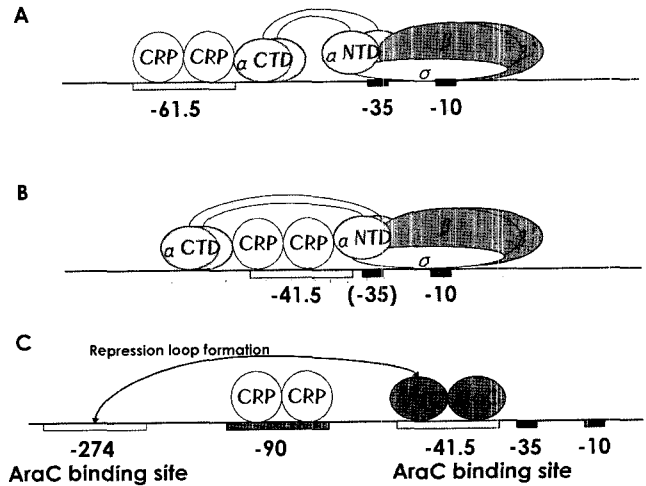


Fig. 2. Three classes of the promoters activated by cAMP-CRP complex. Each class of the promoter is distinguished by the location of CRP-binding site (modified from 55). (A) Class I CRP-dependent promoter; The *lac* P1 promoter. The -10 and -35 regions are sites for RNA polymerase (RNAP) composed of $\alpha 2\beta\beta'\sigma$. Among subunits, α subunits are shown with two domains, αNTD and αCTD . The center of CRP binding site is located at -61.5 relative to the transcription initiation site. The downstream subunit of CRP homodimer is shown to interact with the αCTD . (B) Class II CRP-dependent promoter; The *gal* P1 promoter. The center of CRP binding site is located at -41.5 relative to the transcription start site. The downstream subunit of CRP homodimer interacts with the αCTD , and the upstream subunit of CRP homodimer binds to both the αNTD and the σ subunit. (C) Class III CRP-dependent promoter; The *araBAD* promoter. The center of CRP binding site is located at the further upstream, about -90 relative to the transcription initiation site. The class III promoter requires a secondary regulator protein (AraC) for its maximal induction. Regulation at the class III promoters (usually) involves DNA loop formation (the detailed explanation in the text).

종류로 나뉘어진다[6, 17]. Class I promoter는 전사시작 (transcription initiation) 염기를 기준으로 -93, -83, -72, 또는 -62 upstream 지역 부분에 CRP binding site를 갖는다. 대표적인 예로는 *lacP*가 있는데, cAMP-CRP complex가 *lac* 유전자의 전사시작 지점으로부터 -61.5 지점에 결합되며 그 지역이 80° 이상 휘어지므로서 CRP의 AR1 부분이 -35 및 -10 지역에 결합되어 있는 RNAP의 αCTD 와 직접 상호작용할 수 있게 된다(Fig. 2A). Lactose가 존재시, cAMP-CRP complex가 *lacZYA*의 전사를 활성화시키고 *lacO*에 대한 LacI의 친화력을 높이게 된다. 반면 lactose가 없을 때, cAMP-CRP complex는 LacI에 의한 억제를 증가시키는 정반대의 역할을 한다.

Class II CRP-Dependent Promoter

Class II promoter는 전사활성에 있어서 다른 조절자의 참여없이 CRP만 필요로 하며 한 곳의 CRP binding site만을 요구한다는 점에서는 Class I promoter와 같으나, cAMP-

CRP complex가 promoter 상의 RNAP binding site와 겹쳐져 결합한다는 특징이 있다[20].

*galP1*이 Class II의 대표적인 예이다. *E. coli*에서 galactose의 이용은 *galK*, *galT*, *galE* 유전자산물에 의해서 조절되는데 이들은 galactose-1-phosphate를 생성시키는 kinase 효소에 의한 galactose phosphorylation, galactose-1-phosphate를 UDP로 전달하는 효소에 의한 galactose transfer, 그리고 그 결과 형성된 UDP-galactose를 UDP-glucose로 전환시키는 효소에 의한 epimerization이라는 일련의 반응에 의해 이루어진다. 이렇게 형성된 UDP-glucose는 Embden-Meyerhof pathway를 통하여 에너지원으로 이용된다. 또한 UDP-galactose는 미생물의 핵심구성성분인 lipopolysacchride의 필수적인 전구물질로서 이용되기도 한다.

Galactose operon의 발현은 GalR이라는 조절자에 의해 조절되고 cAMP-CRP complex에 대하여 각각 다르게 반응하는 두 개의 promoters에 의해 일어난다. 즉, *gal* promoter 1 (PG1)은 cAMP-CRP complex에 의해 발현이 증가되는 반면, *gal* promoter 2(PG2)는 cAMP-CRP complex의 영향을 받지 않는다[7]. Glucose가 존재하고 galactose가 존재하지 않을 때와 같이 cAMP 농도가 낮은 조건에서는 PG2에 의한 전사가 주요 역할을 하며, glucose를 소모하고 galactose가 존재할 때와 같이 cAMP 농도가 높은 조건에서는 cAMP-CRP complex의 조절을 받는 PG1이 주로 이용된다. PG1로부터 전사되는 경우, cAMP-CRP complex는 -41.5 지역에 결합하며, RNAP의 α CTD는 그 upstream 지역에 결합한다 (Fig. 2B). 따라서 이 경우 CRP dimer의 각 subunit는 다른 부분의 RNAP와 반응하게 된다. 즉, upstream 지역의 CRP는 AR1 부분을 통하여 RNAP의 α CTD와 직접 상호작용하고, downstream 지역의 CRP는 AR2 및 AR3 부분을 통하여 RNAP의 α NTD 및 σ factor와 반응하게 된다.

Class III CRP-Dependent Promoter

Class III promoter는 전사 활성화를 위하여 다수의 조절 단백질의 존재를 필요로 하는 것이다. 즉, 각기 다른 지점에서 multiple CRP의 상호작용에 의해 조절받거나, 또는 CRP 이외의 부가적인 조절단백질과 CRP의 상호작용에 의해서 조절받는다. 예로서 *ara* 유전자의 발현이 제시될 수 있는데, *ara* operon은 *araBAD* 및 *araC*라는 두 방향으로 전사되는 유전자군으로 구성되어 있다. 이 중 *araC* 유전자산물은 자신의 C-terminal domain에 helix-turn-helix motif를 갖고 있으며 homodimer 상태로서 본 operon 발현의 조절에 관여한다. *araA* 유전자 산물은 L-arabinose를 이용하는데 있어서 필수적인 중간산물인 L-ribulose로 전환시키며, *araB* 유전자 산물은 L-ribulose를 L-ribulose-5-phosphate로, 그리고 *araD* 유전자 산물은 L-ribulose-5-phosphate를 L-xylulose-5-phosphate로 전환시킨다.

ara operon은 *araC* 유전자의 전사를 개시하는 P_C

promoter와 *araBAD* 유전자의 전사를 개시하는 P_{BAD} promoter 두 가지를 갖고 있다. 두 promoters는 AraC에 의해 조절을 받는데, arabinose가 존재할 때에는 AraC가 *araBAD* 유전자의 전사를 개시시키며, arabinose가 없을 때에는 AraC의 형태가 변화하여 두 개의 promoter를 억제시킨다. P_{BAD} promoter를 기준으로, cAMP-CRP는 -90 지역에 결합하며 AraC dimer는 -274(*araO2* region), CRP upstream 지역(*araO1*), 또는 -40(*araI* region) 지역에 결합한다(Fig. 2C). P_{BAD} promoter의 전사유도체로 작용하는 arabinose가 없을 때에는 AraC 단백질이 *araO2*와 *araI*에 결합한 후 두 지역의 AraC 단백질간의 상호작용에 의하여 DNA loop (repression loop)가 형성되어 P_{BAD} 의 발현이 억제된다. 그러나 cAMP-CRP complex가 *araO2*와 *araI* 사이 지역에 위치한 -90 지역에 결합하게 되면, CRP에 의한 DNA bending으로 인하여 repression loop의 형성을 억제하게 되어 *araBAD*의 발현이 시작되는 복잡한 조절기작을 보인다.

cAMP-CRP Complex 의 조절기작 - Negative Regulation

cAMP-CRP complex는 또한 다양한 유전자의 발현을 억제한다고 알려져 있는데 그 방식은 다음과 같이 크게 3가지 유형으로 나누어 볼 수 있다.

첫째로는 *cya* 유전자에서와 같이 RNAP-binding site와 겹쳐지는 -20 ~ +10 부분에 cAMP-CRP complex가 결합하여 직접적으로 RNAP를 방해하는 방식이 있으며, 둘째로는 *crp* 유전자의 경우에서와 같이 CRP-cAMP complex의 결합이 antisense RNA 합성을 활성화시킴으로써 해당 유전자의 발현을 억제시키는 간접적인 방식이 있다. 마지막 유형으로는 CRP가 activator와 corepressor로서 동시에 기능하는 것인데, *deo* 유전자의 조절이 그 대표적인 예이다. cAMP-CRP complex는 *deoP2* promoter의 -26 ~ -53 사이와 -80 ~ -106 사이에 결합하여 *deoP2*의 활성을 증진시킨다. 그러나 *deoP2*의 발현 억제를 위해서도 cAMP-CRP의 존재를 필요로 하는데, 이는 repressor인 CytR이 활성을 보이기 위해서는 CytR 단백질이 *deoP2*의 두 부분에 결합된 cAMP-CRP complex와의 상호작용이 반드시 필요하기 때문이다.

cAMP-CRP Complex 에 의해 조절되는 표현형

cAMP-CRP는 병원성 세균의 toxin 및 toxin 관련인자의 생산[15, 52, 57] 및 minicell 생산을 조절하며, ammonium 동화작용에 포함된 효소의 활성에도 영향을 미친다[43]. cAMP는 DNA 복제관련 DnaA 단백질과 직접적으로 결합하여 *oriC*로부터 염색체 복제가 시작되는 것을 조절함으로써 DNA 복제와 세포분열의 시차 조절(coupling of DNA replication and cell division)에 관여한다[18, 21].

cAMP-deficient *Vibrio cholerae*(*cya* mutant)에 대한 Yokota and Kuwahara의 실험 결과, cAMP의 첨가가 세포벽 합성에 필요하며, 편모와 특이적인 체세포의 항원 형성에도 필요하며 그리고 glucose를 제외한 sucrose, trehalose, fructose, maltose, mannose 등의 발효를 위하여 필요하다는 것을 알 수 있었다[57].

*E. coli*에서는 혐기성 상태에서 성장할 때 호기성 상태 보다 많은 cAMP가 생성되는데, 이에 따라 50 여개의 특이적인 단백질이 유도된다. 이 중 일부는 혐기성 호흡과 관련되어 있으며, 일부는 nitrate나 fumarate 등을 대체 최종 전자 수용체로 사용하는데 필요한 것이며, 발효대사과정에서 특이적인 것 그리고 'glucose 효과'(아래의 'cAMP와 carbon catabolite repression' 항 참조)에 민감한 것 등을 포함하고 있다. 혐기성 상태에서의 효소 생성을 조절하는 기작은 최소한 세 가지의 조절방식, 즉 *oxyC*, *fnr*, 그리고 *narLX* 조절 체계를 통해서 이루어진다. 이 중에서 Fnr은 혐기성과 관련된 다양한 기능을 조절하는데, 이 단백질의 아미노산 염기서열에 근거하여 예상된 2, 3차구조가 CRP와 매우 유사한 것으로 밝혀졌으며, Fnr의 영향을 받는 효소가 cAMP-CRP complex에 대해서도 영향을 받는다. 예로서 L-asparaginase II 유전자의 promoter 지역에 위치한 FNR-binding 염기서열은 CRP-binding consensus 염기서열과 상동성을 보이며, 또한 이 유전자의 발현은 *fnr* 유전자 변이 뿐 아니라 *crp*와 *cya* 유전자 변이에 의해서도 큰 영향을 받음이 보고된 바 있다[23].

cAMP-CRP Complex 에 의해 조절되는 유전자

cAMP-CRP complex는 철이온(ferric) uptake regulator인 *fur*[11], flagellum 합성에 관여하는 *flaAB*와 *flaD*[3, 28], cytolytic hemolysin을 만드는 *vvhBA*[2, 9]의 발현을 활성화시킨다. Maltose operon의 전사조절자를 코딩하는 *malt* 유전자, mannose phosphotransfer system을 만드는 *manXYZ*, *ptsG*, *nag*, *bgl* 등 여러 유전자의 발현도 cAMP-CRP complex에 의해 유도된다고 알려져 있다[27, 39, 40, 41]. *secB* 유전자 산물은 일련의 전구단백질을 세포막을 통과시켜 수송하는 chaperone으로 알려져 있다. 배지에 glucose가 존재하면 SecB의 합성이 억제되는데, 이는 *secB* 발현에 cAMP-CRP complex가 필수적인 요소이기 때문이다[51].

위 항에서 기술된 바와 같이, cAMP-CRP complex에 의해 조절 받는 유전자들 중에는 cAMP-CRP 단독으로 조절받기 보다는 다른 종류의 조절자 또는 조절기작과 함께 작용하여 그 합성이 결정되는 경우가 많다고 알려져 있다. 예를 들면, 아미노산(histidine) 이용을 위한 *hut* operon 발현은 cAMP-CRP complex가 Ntr 2-component system과 함께 조절한다[36]. 아미노산 분해 및 합성 과정에 관여하는 *tnaA*와 *ilvB* 유전자의 발현은 cAMP-CRP complex에 의한 전사조

절 이외에도 translational control을 포함한 복합적인 조절을 받는다[13, 14, 16, 29].

Glutamine synthetase를 만드는 *gln* operon 및 아미노산 수송에 관여하는 *argT* 유전자의 promotor 부분에서는 cAMP-CRP complex 결합부위와 유사한 염기서열이 존재하는 것으로 밝혀졌으나 아직 그 기능은 알려져 있지 않다[45, 53]. 다양한 세균의 genome sequence project가 완료되면서 보다 많은 종류의 cAMP-CRP binding consensus 염기서열을 갖는 open-reading frame이 동정되고 있으며, DNA microarray 등을 이용한 유전체수준의 연구 결과는 비전형적인 cAMP-CRP binding 염기서열의 발견을 가속화시킬 전망이다.

cAMP의 합성과 분해 : cAMP-CRP complex에 의한 조절

Adenylate Cyclase(Cya)

세포 내 에너지원인 adenosine triphosphate(ATP)로부터 cAMP를 합성시키는 효소인 adenylate cyclase는 *cya* 유전자로부터 만들어지는데, 그 양 및 활성은 전사과정 및 단백질 합성 단계에서 각각 조절받는다. 이 중 *cya*의 전사는 cAMP-CRP complex에 의하여 억제된다[24, 32]. Roy 등[46]에 의하면 cAMP가 높은 농도로 존재할 때 *cya* promotor activity가 9배 정도 감소된다고 한다.

*cya*는 세 개의 promoters를 가지는데 가장 강력한 promoter인 *cyaP2*에는 CRP binding site가 존재하며, DNaseI footprinting 결과 *cya* promoter의 -20 ~ +11 부분에 cAMP-CRP complex가 결합하는 것이 관찰되었다[4]. Cya 단백질 합성은 일반적인 AUG codon가 아닌 UUG codon으로부터 시작되어[47], *in vivo*에서 translation은 효율적이지 않다고 보고되어 있다. *E. coli*의 경우, 약 4,000 여개의 유전자 중 약 30 여개의 유전자만이 Leu에 해당하는 UUG를 start codon을 사용된다고 알려져 있다[30]. *E. coli*의 *cya*의 UUG 시작 codon을 GUG 및 AUG로 변환시킨 다음 *cya* mRNA의 translation 효율을 측정된 *in vitro* 실험결과, UUG codon의 것과 비교 시 translation이 각각 2배 및 6배로 증가하였다[44].

cAMP Phosphodiesterase (Cpd)

*E. coli*에서는 3',5'-cAMP phosphodiesterase가 cAMP를 가수분해하는데, 이 효소를 코딩하는 *cpdA* 유전자가 1996년에 처음 보고되었다[19]. CpdA 단백질은 약 31 kDa이며, adenylate cyclase의 경우와 같이 UUG start codon을 가지며, FeCl₂는 CpdA 단백질의 효소활성을 증가시킨다.

cpdA 유전자의 발현에 대한 연구는 현재까지 전무한 실정이지만, 이 유전자 역시 cAMP-CRP에 의해 조절받을 것이라 예상된다(S.-M. Kim and K.-H. Lee, unpublished data).

cpdA 유전자를 multiple copy로 넣어준 세포의 cAMP 농도는 급격하게 감소하였으며, lactose, galactose, 및 maltose 이용이 저해받았다. 아울러 *cpdA* 유전자에 의한 세포 내 cAMP 농도의 변화는 세포분열과 염색체 복제의 시작에도 영향을 미친다. *E. coli* 이외의 세균으로는 *Haemophilus* sp.에서 *cpdA* 유전자가 동정되어 연구되었을 뿐, 원핵세포에서의 *CpdA* 코딩 유전자에 대해서는 아직 충분한 정보가 없다. 그러나 진핵세포의 경우에는 이 효소가 비교적 많이 연구되어, 현재까지 알려진 Cpd는 class I과 II로 구분된다[8]. Class I에 속하는 Cpd는 약 250-270개의 아미노산으로 구성된 conserved domain을 공유하는데, 이 domain에는 2개의 보존된 His를 포함한 12 amino acid residues(HD[L/I/V/M/F/Y]XHX[A/G]X2NX[L/I/V/M/F/Y])의 독특한 형식(signature pattern)을 보인다. Class II에 속하는 효소는 3개의 His를 함유하고 있는 매우 보존적인 염기서열 (HXHLDH[L/I/V/M]X[G/S][L/I/V/M/A][L/I/V/M]2XS[A/P])을 갖는다.

세포내 cAMP 농도

세포내 cAMP의 농도에 따라서 활성화된 cAMP-CRP complex의 농도와 생물학적 반응이 다르게 나타난다[19]. 예를 들면, *cya* 및 *crp* 유전자의 돌연변이균주들은 야생종에서는 이용 가능한 lactose, maltose, glycerol 등 많은 탄소원들을 이용하지 못하는데, 그 원인은 이러한 물질을 기질로서 사용할 수 있는 이화효소가 발현되지 않기 때문이다. 이는 *cya*, *crp* 돌연변이에서 발현되지 못하는 해당 유전자들은 세포 내 cAMP의 양에 따라 조절을 받으며, 이러한 현상은 catabolic repression이라는 표현형으로 설명되었다(아래의 'cAMP와 carbon catabolite repression' 항 참조).

세포 내 cAMP의 농도가 세포의 에너지 상태를 대변한다는 두 가지 모델이 다음과 같이 제시되었다. 첫 번째 모델은 cAMP가 세포 밖으로 방출되는데, 방출의 정도는 세포가 방출에 이용할 수 있는 에너지 양에 따라 조절된다는 것이다. 두 번째 모델에 의하면 cAMP 대사에 관여하는 두 가지 효소(*Cya* 및 *Cpd*)의 활성이 세포의 에너지 상태에 따라 조절된다는 것이다. 즉, 낮은 에너지 상태에서는 adenosine diphosphate(ADP)의 양이 증가하는데 ADP는 *Cpd*의 억제자로 작용하여 cAMP가 빨리 분해되지 못하도록 하며, 반면 cAMP를 합성하는 *Cya*의 활성에도 영향을 미친다는 것이다. 이 밖에도 inorganic orthophosphate(Pi)가 *Cya*를 활성화시키고, *Cpd*에 대해서는 반대로 억제 효과를 나타낸다고 보고되었다[1].

cAMP 와 Carbon Catabolite Repression

*E. coli*를 glucose와 lactose가 동시에 존재하는 배지에서 성장시켰을 때, 이 세균은 glucose가 존재할 때에는 lactose를 이용하지 않다가, glucose가 다 소비되어 성장이 멈춘 후

lactose를 이용가능하게 하는 효소를 코딩한 *lac* operon의 발현이 시작되면서 성장을 재개하는 diauxic growth 현상을 보인다. 이와 같이 성장배지에서 미생물을 성장시켰을 때 최적의 탄소원을 이용하고 다른 탄소원의 이용에 필요한 유전자(군)의 발현을 억제시키는 일반적인 현상을 carbon catabolite repression이라 한다. Dawes and Sutherland[10]에 의하면, *E. coli*는 gluconate > glucose > fructose > maltose > lactose > galactose > glycerol > succinate의 순으로 앞 순서의 탄소원은 뒤 순서의 탄소원의 이용을 억제시킨다고 한다.

이러한 carbon catabolite repression을 설명할 수 있는 시작으로 다음의 4가지를 들 수 있는데, 이를 소위 'glucose 효과'라 부른다[35, 50]. Inducer exclusion과 inducer expulsion은 glucose가 존재할 때 inducer (glucose 이외의 다른 탄소원)가 세포 내부로 들어가는 것을 막고(Fig. 3A), 세포 내부

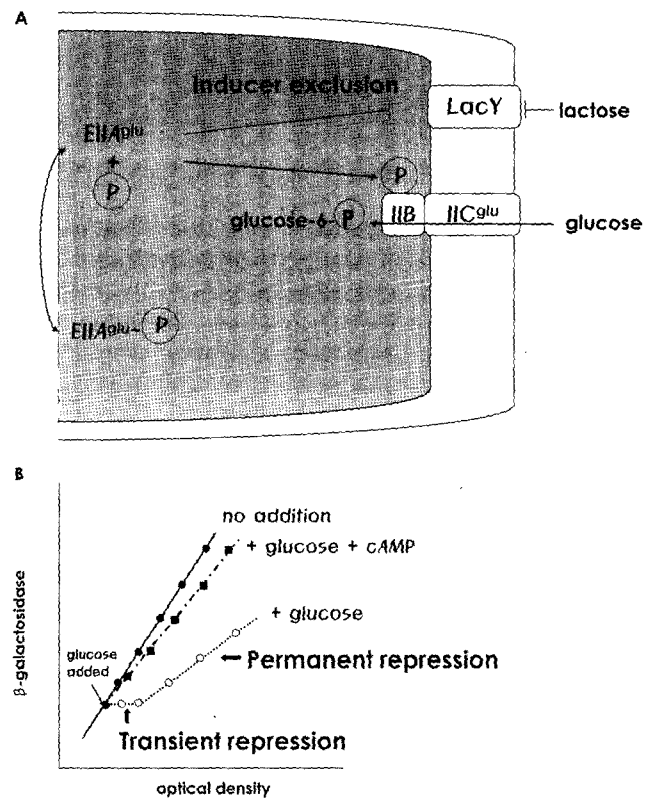


Fig. 3. Mechanisms to explain the phenomenon of the 'glucose effect'. (A) Inducer exclusion. When growing in the presence of glucose, glucose is preferentially transported into the cytoplasm via phosphorylation reaction by EIIBc, which has been phosphorylated by EIIBc-P. Thus, unphosphorylated EIIBc accumulates and it subsequently inhibits lactose transport by interacting with lactose permease (LacY) (modified from 31). (B) Permanent or transient repression. Addition of glucose to bacterial cells growing on alternative carbon sources such as lactose results in a dramatic cessation of β-galactosidase synthesis (transient repression), followed by a partial resumption of β-galactosidase synthesis (permanent repression). Addition of cAMP, however, overcomes repression by glucose (modified from Moat et al., 2002). Therefore, this phenomenon is not caused by a catabolite of glucose.

에 존재하는 이들의 배출을 촉진시키는 것이다. 또한 permanent repression과 transient repression은 미생물의 성장배지에 glucose를 첨가하면 발생하는 장기간 또는 단기간에 걸친 다른 탄소원 이용 효소의 발현 저해작용의 형태를 의미한다(Fig. 3B). 흥미롭게도 이러한 permanent repression과 transient repression 현상은 cAMP를 배지에 첨가한 경우 그 효과가 없어지므로, 이러한 조절에 있어서도 cAMP-CRP complex가 개입한다고 믿어진다[4, 25]. *E. coli* 뿐 아니라 많은 장내 서식 세균의 경우에도 *lac*, *gal*, *mal*, *ara*, *tna*, *dsd*, *gly*, 그리고 *hut* operon의 발현에는 각 operon의 특이적인 inducer(즉, 각각 lactose, galactose, maltose, arabinose, tryptophan, D-serine, glycerol, 그리고 histidine) 및 cAMP-CRP complex의 존재를 필요로 한다.

이 밖에도 *E. coli*에는 cAMP와는 상관없는 catabolite repressor/activator(Cra; 이전에는 fructose repressor인 FruR로 알려졌던 조절자) 단백질이 존재하여 당분해 과정을 억제시키므로서 catabolite repression 현상에 기여하는 것으로 알려져 있다[49]. 그렇지만 *Bacillus*를 포함한 그람양성세균에서는 아직 cAMP-CRP complex의 존재가 밝혀지지 않았으며 cAMP와는 상관없는 catabolite control protein(CcpA)이 이화작용 유전자(군)를 활성화시킴으로써 'glucose 효과'의 조절자로서 역할을 한다[5]. 진핵미생물에서 보이는 catabolite repression에는 cAMP가 중재하지 않는 것으로 알려져 있다[10].

모든 미생물이 'glucose 효과'를 보이는 것은 아니다. 예를 들면, *Pseudomonas* 등에서는 glucose보다 succinate를 더 선호하며 이러한 미생물의 경우 glucose을 분해시키는 Entner-Doudoroff pathway는 덜 효율적이며, 주로 succinate를 생산하는 방향족 화합물을 분해시키는 대사작용을 보인다. Lactic acid bacteria 및 *Streptococcus thermophilus*는 glucose보다 lactose를 선호한다고 알려져 있다[5].

Phosphotransferase System (PTS)

세균이 당을 섭취하기 위해서는 phosphoenolpyruvate (PEP)-dependent PTS를 이용하는데 PTS는 대부분의 당에 공통적으로 사용되는 enzyme I(EI)과 histidine phosphocarrier protein(HPr), 그리고 각 당류에 특이적인(sugar-specific) enzyme II(EII)로 구성되어 있다. EII는 여러 개의 subunits으로 구성되어 있는데, *E. coli*의 경우 수용성 효소인 EIIA^{glu}(이전에는 EIIB^{glu}라고 명명되었음)와 membrane-bound 효소인 EIICB^{glu} complex로 구성되어 있다. EI, HPr, 그리고 EIIA^{glu}는 각각 *ptsI*(1,727 bp), *ptsH*(257 bp), *crr*(509 bp) 유전자에, 그리고 EIICB^{glu}는 *ptsG*(1,433 bp) 유전자에 코딩되어 있다. *ptsHcrr* operon에는 cAMP-CRP에 조절받는 2개의 promoters가 위치한다[12].

세포 외부에 존재하는 당을 내부로 받아들이기 위하여

PEP가 pyruvate로 전환되면서 생성된 phosphate가 EI → HPr → EIIA → EIICB 순서로 인산화되며, 최종적으로 당에 인산을 전달함으로써, 인산화된 당 형태가 세포 내로 흡수된다[56]. 이러한 인산화과정은 EI, HPr, EIIA 단백질의 His가 인산화되고, EIICB의 B-domain은 수송되는 당의 종류에 따라서 Cys나 His가 인산화되며[34], C-domain은 당 결합 site를 포함하고 있다. *E. coli*가 수송하는 당과 PTS의 최종반응은 다음의 식과 같이 요약할 수 있다; PEP + carbohydrate(out) → pyruvic acid + carbohydrate-P(in).

PTS는 eubacteria에서는 흔히 볼 수 있는 시스템이지만 archaeobacteria와 진핵생물에서는 존재하지 않는다. Eubacteria의 PTS 구성원인 EI와 HPr의 아미노산 서열은 보존되어 있으며, PTS 수송체의 수와 구조는 종 별로 다른데 *E. coli* 유전체에는 38개의 서로 다른 PTS 단백질을 코딩하는 유전자가 있으며, 이 중 33개는 22개의 서로 다른 EII 구성요소를 만든다[42, 54].

일반적으로 EII는 1-4개의 단백질로 구성되어 있으며, 그 중 하나가 membrane-bound 단백질이다. Mannitol을 취하기 위한 EIIMtl은 A, B, C 세 개의 domain으로 구성되어 있으며 이 중에서 C-domain이 세포막에 부착되어 있다. Cellobiose PTS에서는 Enzyme II는 cytoplasm의 IIA와 IIB 단백질과 membrane의 IIC 단백질 3개로 구성되어 있다. Cytoplasmic domain인 EIIB와 membrane-bound domain인 EIIC라는 2개의 domain으로 구성된 EIICB^{glu} 단백질은 50.7 kDa 크기로 일반적으로 glucose 이외에도 methyl- α -D-glucoside, 5-thio-D-glucoside, L-sorbose를 인식하며, mannose와 2-deoxyglucose와도 약간의 친화력을 나타낸다.

Catabolite Repression - cAMP 와 PTS 의 관계

Catabolite repression에 있어서 cAMP-CRP complex의 역할을 설명할 수 있는 기작으로서 CRP 단백질과 당수송단백질(phosphotransferase system [PTS])의 상호작용으로 설명하는 가설이 있다(Fig. 4). 즉, CRP는 세포 내에서 두 가지 형태로 존재하는데, PTS 활성도가 높은 경우 CRP가 PTS 단백질과 결합하고 다음 이 complex가 Cya에 결합하여, 이 효소의 활성도를 저하시킨다는 가설이다. 따라서 이 조건에서는 cAMP가 거의 생성되어지지 않으며 glucose 효과 현상이 관찰된다. 이와 반대로 이용할 수 있는 기질이 더 이상 존재하지 않는 경우, CRP는 PTS 단백질 수송 단백질과 결합하지 않으므로, Cya의 효소 활성도가 유지될 수 있다. 따라서 cAMP가 생성되고 생성된 cAMP는 CRP와 complex를 이루고 대상 promoter에 RNAP의 결합을 증진시켜, 다른 대사물질(alternate metabolite)을 이용할 수 있게 한다[7]. 그러나 이 가설은 실험적으로 증명된 것은 아니다.

위에서 기술된 cAMP 양 조절의 기작에 대한 가설 이외에도, 다음과 같은 실험적 증거로서 catabolite repression에

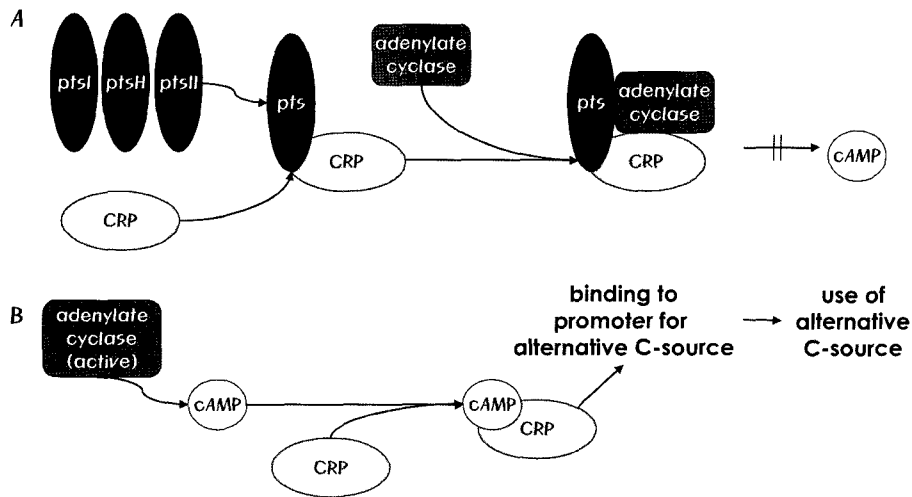


Fig. 4. A hypothetical model for catabolite regulation of carbohydrate metabolism. This hypothesis is to explain the observation of the basal level of cAMP in the presence of favorable sugars such as glucose (modified from 7). CRP interacts with a PTS protein, when PTS activity is high. This complex then interacts with Cya, which results in inactivation of adenylate cyclase (A). In contrary, Cya exists as an active form to accumulate cAMP, when PTS activity is low. Then cAMP-CRP complex binds to promoters to induce expression of the genes responsible for utilization of alternative carbon sources (B).

있어서의 cAMP-CRP complex의 역할을 설명할 수 있다. cAMP의 양은 PEP-PTS에 돌연변이가 생겼을 때에도 감소함이 보고되었다. 즉, *ptsI*, *ptsH*, *crr* 유전자 3개를 모두 변이시켰을 때 wildtype *E. coli*와 비교하여 약 3% 정도 cAMP만이 생성되며, *crr* 유전자만을 변이시켰을 때에도 6% 정도만 생성되었다. 이는 PTS의 EI과 EIIA가 Cya 활성 조절에 관여하는 것을 의미한다[44, 48]. 약 18 kDa의 cytoplasmic 단백질인 EIIA^{glu}는 carbohydrate repression resistance(Crr) 단백질이라고도 불리우는데, 이 단백질의 90 번째 아미노산인 His의 N-3 지점이 P-HPr에 의해 인산화되며 인산화 여부에 따라 cAMP를 합성하는 Cya의 활성을 조절한다. 즉, 인산화된 EIIA^{glu}는 cAMP synthesis을 촉진시킨다고 알려져 있다[38]. 그러므로 Cya 활성의 정도는 전사 단계 보다는 post-translation 수준에서 주된 조절을 받는 것이다. 최근 EIIA^{glu}가 인산화여부와 상관없이 Cya와 직접 상호작용을 하며 인산화된 EIIA^{glu}만이 Cya의 활성을 증가시키며, Cya의 활성 증가를 위해서는 아직까지 밝혀지지 않은 세포내의 다른 물질을 필요로 한다고 보고되었다[37].

Cya가 활성화되기 위해서는 EIIA^{glu}가 인산화된 상태 (EIIA^{glu}-P)로 전환되어야 하는데, glucose가 PTS를 통하여 전달될 때에는 인을 glucose 분자에 빠르게 내어주기 때문에 EIIA^{glu}-P의 세포 내 농도가 낮게 된다. 그러나 glucose가 세포 내로 전달되지 않으면 EIIA^{glu}-P의 세포 내 농도가 빠르게 증가하여 Cya는 보다 활성화되며 cAMP의 합성이 증가되고, 따라서 세포내 cAMP-CRP complex 농도가 증가한다(Fig. 5). 이 때 당 이용 관련 유전자들은 유도물질 (즉, glucose 이외의 다른 탄소 또는 에너지원)에 의해 발현되기 시작한다.

Lactose, maltose, melibiose, raffinose, glycerol 등 non-PTS sugars는 탈인산화된 EIIA^{glu}에 의해서 수송이 억제되며 glycerol kinase도 억제시키며, Zn²⁺가 존재하면 EIIA^{glu}와 glycerol kinase가 서로 결합하기도 한다.

PTS 단백질 중 maltose operon의 전사 activator를 만드는 *malT* 유전자와 mannose PTS 및 여러 가지 6탄당(hexoses) 수송체를 코딩하는 *manXYZ*의 발현의 경우, Mlc(making large colonies) 단백질이 repressor로서 작용하며, 또한 Mlc는 *ptsG*와 *ptsP0*의 glucose induction에 대한 repressor 역할도 수행한다. FruR(Cra)는 PEP synthetase를 코딩하는 *pps*의 activator 역할을 수행하며, *pfkA*와 *pykF*와 같은 당분해(glycolytic) 기능을 억제시키는 반면, *pps*와 *pbp*와 같은 당합성(gluconeogenic) 기능을 활성화시킨다. *ptsG*의 발현은 Fis 단백질에 의해 조절되며, anaerobic regulator ArcC는 *ptsG*와 *pts* promoters와 결합하여 EIICB^{glu}의 발현을 조절한다[22].

cAMP- 및 PTS- 관련 새로운 유전자 / 단백질

현재까지도 아직 완벽하게 설명되지 못하는 부분이 산재한 *E. coli*의 PTS에 대한 이해를 위하여, PTS 구성성분의 *in vivo* 단백질 상호관계에 대한 연구가 진행 중이다. 이러한 연구 결과 EIIA^{glu}와 결합하는 새로운 단백질이 최근 획득되었는데, 약 47 kDa의 *yafA* 유전자 산물로 동정되었다[26]. 이 단백질은 현재까지 알려져 있는 어떠한 단백질보다 탈인산화된 EIIA^{glu}에 대하여 강력한 친화력을 보이며, 탈인산화된 EIIA^{glu}와 매우 특이적으로 1:1 복합체를 형성한다. *yafA* 유전자를 돌연변이시키면 glucose를 포함한 여러 가지 당의 세

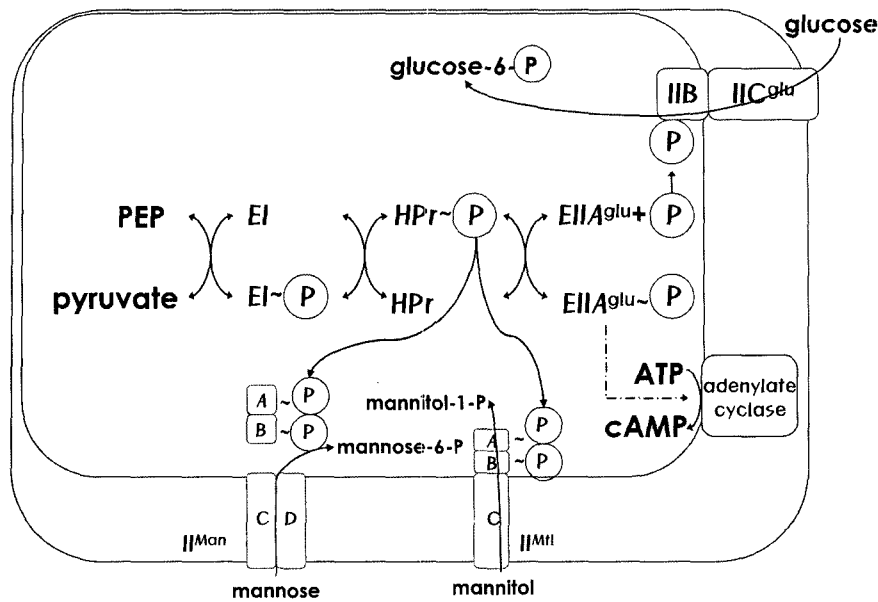


Fig. 5. Phosphotransferase system (PTS) to uptake sugars and regulate cAMP synthesis. Phosphate is serially transferred from phosphoenolpyruvate (PEP) to HPr via EI. Then the phosphoryl group of HPr is targeted to either EIIA^{glu}, EIIman, or EIIMtl. to transport glucose, mannose, or mannitol, respectively. The phosphorylated EIIA^{glu} delivers phosphoryl group to the IIBC^{glu}, which results in uptake of glucose-6-phosphate. In the absence of the PTS sugars, PTS proteins mainly exist as their phosphorylated forms. The phospho-EIIA^{glu} interacts with and activates adenylate cyclase to increase the intracellular level of cAMP which is necessary to turn on transcription of genes involved in uptake and utilization of non-PTS carbon sources [37].

포호흡이 증가하는 반면, YafA 발현을 증가시키면 당의 발효가 증가함을 관찰하여, fermentation/respiration switch 기능을 보이는 단백질이라 추정된다(그러므로 이 유전자는 *frsA*로 명명됨). 즉, EIIA^{glu}의 인산화/탈인산화 정도에 따라 FrsA와 상호작용하며 이용가능한 당 종류를 인식함으로써 호흡과 발효의 흐름을 조절한다고 보고되었다[26]. 그러나 아직까지 이 단백질과 cAMP 양과의 관계는 정리되지 않았다.

본 총설에서 살펴본 바와 같이 cAMP는 세균이 서식하고 있는 환경의 변화에 대응하는데 있어서 중요한 신호로서 그리고 이 신호를 필요 부분까지 전달하는 과정에 있어서 조절인자로서의 역할을 한다. 한가지의 구체적인 예를 들자면, EIIA^{glu}는 PTS가 adenylate cyclase와 반응하기 위한 sensor이며, 세포 내 cAMP 농도가 signal이 되며, cAMP-CRP complex가 regulator 역할을 수행하게 된다[35]. 이것은 매우 다양한 세균의 생리현상을 설명하는 하나의 예에 지나지 않으며, 보다 다양하고 복잡한 regulatory network이 존재할 것이며, 이곳에 cAMP 역할이 있을 것이라 추측된다. 따라서 세포 내 cAMP의 양을 결정하는 인자들에 대한 보다 심도있는 연구 및 이러한 인자들과 상호관계를 맺고 있는 새로운 인자들의 탐색이 필요할 것이다.

감사의 말

본 논문은 해양수산부의 마린바이오21사업 - 해양·극한 생물 분자유전체연구단 사업의 지원에 의해 수행되었다.

REFERENCES

1. Amin, N. and A. Peterkofsky. 1995. A dual mechanism for regulating cAMP levels in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **270**: 11803-11805.
2. Bang, Y. B., S. E. Lee, J. H. Rhee, and S. H. Choi. 1999. Evidence that expression of the *Vibrio vulnificus* hemolysin gene is dependent on cyclic AMP and cyclic AMP receptor protein. *J. Bacteriol.* **181**: 7639-7642.
3. Bartlett, D. H., B. B. Franz, and P. Matsumura. 1988. Flagellar transcriptional activators FlbB and Flal: gene sequences and 5'-consensus sequences of operons under *flaB* and *flal* control. *J. Bacteriol.* **170**: 1575-1581.
4. Botsford, J. L. and J. G. Harman. 1992. cyclic AMP in prokaryotes. *Microbiol. Rev.* **56**: 100-122.
5. Bruckner, R. and F. Titgemeyer. 2002. Carbon catabolite repression in bacteria: choice of the carbon source and autoregulatory limitation of sugar utilization. *FEMS Microbiol. Lett.* **209**: 141-148.
6. Busby, S., and R. H. Ebright. 1999. Transcription activation by catabolite activator protein (CAP). *J. Mol. Biol.* **293**: 199-213.
7. Caldwell, D. R. 1995. Genetics. pp. 248-250. In *Microbial physiology and metabolism*. Wm. C. Brown Publishers, U.S.A.
8. Charbonneau, H. 1990. Structure, regulation, and drug action. pp. 267-296. In Beavo, J., and M. D. Houslay. (ed.), *Cyclic nucleotide phosphodiesterases*. J. Wiley and Sons Ltd. Chichester.

9. Choi, H. K., N. Y. Park, D. Kim, H. J. Chung, S. Ryu, and S. H. Choi. 2002. Promoter analysis and regulatory characteristics of *vwhBA* encoding cytolytic hemolysin of *Vibrio vulnificus*. *J. Biol. Chem.* **277**: 47292-47299.
10. Dawes, I. W. and I. W. Sutherland. 1992. Regulation, pp. 215-218. In *Microbial physiology*. (2ed.), Blackwell Scientific publications, London.
11. de Lorenzo, V., M. Herrero, F. Giovannini, and J. B. Neilands. 1988. Fur (ferric uptake regulon) protein and CAP (catabolite activator protein) modulate transcription of fur gene in *Escherichia coli*. *Eur. J. Biochem.* **173**: 537-546.
12. Fox, D. K., K. A. Presper, S. Adhya, S. Roseman, and S. Garges. 1992. Evidence for two promoters upstream of the *pts* operon: Regulation by the cAMP receptor protein regulatory complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **89**: 7056-7059.
13. Friden, P., T. Newman, and M. Freundlich. 1982. Nucleotide sequence of the *ilvB* promoter regulatory region: a biosynthetic operon controlled by attenuation and cyclic AMP. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **79**: 6156-6160.
14. Gemmill, R. M., M. Tripp, S. B. Friedman, and J. M. Carvo. 1984. Promoter mutation causing catabolite repression of the *Salmonella typhimurium* leucine operon. *J. Bacteriol.* **158**: 948-953.
15. Gibert, I., V. Villegas, and J. Barbe. 1989. Expression of heat labile enterotoxin is under cyclic AMP control in *Escherichia coli*. *Curr. Microbiol.* **20**: 83-90.
16. Gollnick, P. and C. Yanofsky. 1990. tRNA^{Trp} translation of leader peptide codon 12 and other factors that regulate expression of the tryptophanase operon. *J. Bacteriol.* **159**: 832-836.
17. Harman, J. G. 2001. Allosteric regulation of the cAMP receptor protein. *Biochem. Biophys. Acta* **1547**: 1-17.
18. Hughes, P., A. Landouls, and M. Kohiyama. 1988. A novel role for cAMP in control of the activity of the *E. coli* chromosome replication initiator protein, DnaA. *Cell* **55**: 343-350.
19. Imamura, R., K. Yamanaka, T. Ogura, S. Hiraga, N. Fujita, A. Ishihama, and H. Niki. 1996. Identification of the *cpdA* gene encoding cyclic 3',5'-adenosine monophosphate phosphodiesterase in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **271**: 25423-25429.
20. Irwin, N. and M. Ptashne. 1987. Mutants of the catabolite activator protein of *Escherichia coli* that are specifically deficient in the gene-activation function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**: 8315-8319.
21. Jaffe, A. and R. D'an. 1986. SOS-independent coupling between DNA replication and cell division in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **165**: 66-67.
22. Jeong, J.-Y., Y.-J. Kim, N. Cho, D. Shin, T.-W. Nam, S. Ryu, S., and Y.-J. Seok. 2004. Expression of *ptsG* encoding the major glucose transporter is regulated by ArcA in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **279**: 38513-38518.
23. Jerlstrom, P. G., D. A. Bezjak, M. P. Jennings, and I. R. Beacham. 1987. Regulation of *Escherichia coli* L-asparaginaseII and L-aspartase by the *fmr* gene. *FEMS Microbiol. Lett.* **41**: 127-130.
24. Kawamukai, M., J. Kishimoto, R. Utsumi, M. Himeno, T. Komano, and H. Aiba. 1985. Negative regulation of adenylate cyclase gene (*cya*) expression by cyclic AMP-cyclic AMP receptor protein in *Escherichia coli*: Studies with *cya-lac* protein and operon fusion plasmids. *J. Bacteriol.* **164**: 872-877.
25. Kimata, K., H. Takahashi, T. Inada, P. Postma, and H. Aira. 1997. cAMP receptor protein-cAMP plays a crucial role in glucose-lactose diauxie by activating the major glucose transporter gene in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **94**: 12914-12919.
26. Koo, B.-M., M.-J. Yoon, C.-R. Lee, T.-W. Nam, Y.-J. Choe, H. Jaffe, A. Peterkofsky, and Y.-J. Seok. 2004. A novel fermentation/respiration switch protein regulated by enzyme IIAGlc in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **279**: 31613-31621.
27. Krin, E., O. Sismeiro, A. Danchin, and P. N. Bertin. 2002. The regulation of the enzyme IIAGlc expression controls adenylate cyclase activity in *Escherichia coli*. *Microbiology* **148**: 1553-1559.
28. Kutsukake, K., Y. Ohya, and T. Iino. 1990. Transcriptional analysis of the flagellar region of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.* **172**: 741-747.
29. Lopes, J. M., and R. P. Lawther. 1989. Physical identification of an internal promoter, *ilvAp*, in the distal portion of the *ilvGMEDA* operon. *Gene* **76**: 255-269.
30. Miller, J. H. 1992. A short course in bacterial genetics: A laboratory manual and handbook for *Escherichia coli* and related bacteria. Cold spring harbor laboratory. Cold spring harbor, NY.
31. Moat, A. G., J. W. Foster, and M. P. Spector. 2002. Regulation of prokaryotic gene expression. pp. 201-210. In *Microbial physiology* (4ed.). John Wiley & Sons, Inc., publication.
32. Mori, K. and H. Aiba. 1985. Evidence for negative control of *cya* transcription by cAMP and cAMP receptor protein in intact *Escherichia coli* cells. *J. Biol. Chem.* **260**: 14838-14843.
33. Mukhopadhyay, J., and R. Sur, and P. Parrack. 1999. Functional roles of the two cyclic AMP-dependent forms of cyclic AMP receptor protein from *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* **453**: 215-218.
34. Nam, T. W. 2004. Elucidation of glucose signaling mechanism through protein-protein interaction with Enzyme IICBglu in *Escherichia coli*. SNU Ph. D. thesis.
35. Neidhardt, F. C., J. L. Ingraham, and M. Schaechter. 1990. Physiology of the bacterial cell: A molecular approach. pp. 357-361. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
36. Nieukoop, A. J., S. A. Boylan, and R. A. Bender. 1984. Regulation of *hutVH* operon expression by the catabolite gene activator protein-cAMP complex in *Klebsiella aerogenes*. *J. Bacteriol.* **159**: 934-939.

37. Park, Y.-H., B.R. Lee, Y.-J. Seok, and A. Peterkofsky. 2006. *In vitro* reconstitution of catabolite repression in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **281**: 6448-6454.
38. Peterkofsky, A., A. Reizer, J. Reizer, N. Gollop, P. P. Zhu, and N. Amin. 1993. Bacterial adenylyl cyclases. *Progr. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.* **44**: 31-65.
39. Plumbridge, J. 1998(a). Control of the expression of the *manXYZ* operon in *Escherichia coli*: Mlc is a negative regulator of the mannose PTS. *Mol. Microbiol.* **27**: 369-80.
40. Plumbridge, J. 1998(b). Expression of *ptsG*, the gene for the major PTS transporter in *Escherichia coli*, is repressed by Mlc and induced by growth on glucose. *Mol. Microbiol.* **29**: 1053-1063.
41. Plumbridge, J. and A. Kolb. 1998. DNA bending and expression of the divergent *nagE-B* operons. *Nucleic Acids Res.* **26**: 1254-1260.
42. Postma, P. W., J. W. Lengeler, and G. R. Jacobson. 1996. Phosphoenolpyruvate:carbohydrate phosphotransferase system. pp. 1149-1174. *In Neidhardt, F. C. (2ed.). Escherichia coli and Salmonella: Cellular and molecular biology.* ASM press, Washington, D.C.
43. Prusiner, S., R. E. Miller, and R. C. Valentine. 1977. Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate control of the enzymes of glutamine metabolism in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **69**: 2922-2926.
44. Reddy, P. S., A. Peterkofsky, and K. McKenney. 1985. Translational efficiency of the *E. coli* adenylyl cyclase gene: mutating the UUG initiation codon to GUG or AUG results in increased gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**: 5656-5660.
45. Reitzer, L. J., and B. Magasanik. 1985. Expression of *glnA* in *Escherichia coli* is regulated at tandem promoters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85**: 4138-4142.
46. Roy, A., C. Haziza, and A. Danchin. 1983. Regulation of adenylyl cyclase synthesis in *Escherichia coli*: nucleotide sequence of the control region. *EMBO J.* **2**: 791-797.
47. Roy, A., P. Glaser, and A. Danchin. 1988. Aspects of the regulation of adenylyl cyclase synthesis by *Escherichia coli* K12. *J. Gen. Microbiol.* **134**: 359-363.
48. Saier, M. H., Jr. 1989. Protein phosphorylation and allosteric control of inducer exclusion and catabolite repression by the bacterial phosphoenol pyruvate sugar phosphotransferase system. *Microbiol. Rev.* **53**: 109-120.
49. Saier, M. H., Jr. 1996. Cyclic AMP-independent catabolite repression in bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* **138**: 97-103.
50. Saier, M. H., Jr., T. M. Ramseier, and J. Reizer. Regulation of carbon utilization. pp. 1326-1356. *In Neidhardt, F. C. (2ed.). Escherichia coli and Salmonella: Cellular and molecular biology.* ASM press, Washington, D.C.
51. Seoh, H. K. and P. C. Tai. 1999. Catabolite repression of *secB* expression is positively controlled by cyclic AMP (cAMP) receptor protein-cAMP complexes at the transcriptional level. *J. Bacteriol.* **181**: 1892-1899.
52. Skorupski, K. and R. K. Taylor. 1997. Cyclic AMP and its receptor protein negatively regulate the coordinate expression of cholera toxin and toxin-coregulated pilus in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **94**: 265-270.
53. Stern, M. J., C. F. Higgins, and G. F.-L. Ames. 1984. Isolation and characterization of *lac* fusions of two nitrogen-regulated promoters. *Mol. Gen. Genet.* **195**: 219-227.
54. Tchieu, J., V. Norris, J. Edwards, and M.H. Saier, Jr. 2001. The complete phosphotransferase system in *Escherichia coli*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **3**: 329-346.
55. Wagner, R. 2000. Transcription regulation in prokaryotes. pp. 199-226. Oxford University press.
56. White, D. 2000. The physiology and biochemistry of prokaryotes (2ed.). pp. 407-410. Oxford University Press NY.
57. Yokota, T. and S. Kuwahara. 1974. Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate- deficient mutants of *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* **120**: 106-113.

(Received Apr. 25, 2006/Accepted Oct. 12, 2006)