

천연물로부터 Quorum Sensing 저해제의 탐색

김태우 · 차지영 · 이준승 · 민복기¹ · 백형석*

부산대학교 생명과학부, ¹울지외과대학교 임상병리학과

Received January 14, 2008 / Accepted February 11, 2008

Detection of a Quorum-Sensing Inhibitor from the Natural Products. Kim, Tae Woo, Ji Young Cha, Jun Seung Lee, Bokkee Min¹ and Hyung Suk Baik*. *Division of Biological Science, Pusan National University, Busan 609-735, Korea, ¹Dept. of Biomedical Laboratory Science, Eulji University, 143-5, Yongdoo-dong, Joong-gu, Daejeon, 301-832, Korea* - The quorum sensing (QS) regulatory network has been the subject of extensive studies during recent years and has also attracted a lot of attention because it both positively and negatively regulates various putative virulence factors, although initially considered to be a specialized system of *Vibrio fischeri* and related species. In this study, to identify the novel materials which inhibit QS system of microorganisms, extracts of eighteen natural products were tested by bioassay using *N*-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone and *N*-(3-oxooctanoyl)-L-homoserine lactone synthesized in this experiment and an *Agrobacterium tumefaciens* NT1 biosensor strain containing a *tral::lacZ* fusion. The result indicated that the extracts of cabbage, leek, and onion exhibited the QS inhibition activity. Thus, materials contained in the extracts were isolated via recycling preparative HPLC and were purified via a JAIGEL-LS255 column. The common fraction corresponding to a peak of the 83 min point of them quenched the quorum sensing of *A. tumefaciens* NT1 biosensor strain in ABMM containing X-gal and was designated quorum sensing inhibitor-83 min (QSI-83). The QSI-83 exhibited the heat stability and did not inhibit the growth of *A. tumefaciens* NT1. Furthermore, thin layer chromatography (TLC) results suggested that these novel materials may be antagonists of *N*-acyl homoserine lactone or may inhibit the QS autoinducer synthesis by *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*.

Key words : Quorum sensing (QS), *N*-acyl homoserine lactone (AHL), *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, thin layer chromatography (TLC), recycling preparative HPLC

서 론

Quorum sensing (정족수 인식, QS)은 다양한 세균들이 집단적인 행동을 하기 위해 가지고 있는 유전자 조절 시스템이다[8]. QS 시스템을 가지고 있는 세균들은 주위에 있는 개체의 밀도를 감지하고 있다가 어떤 일정 농도에 이르면 특정한 유전자(특히 병원성과 관련된 유전자)의 발현을 조절한다[12]. Autoinducer (AI)는 이러한 조절을 가능하도록 하는 신호물질이며, 그람 음성 세균에서는 acyl 사슬을 가진 lactone (*N*-acyl-L-homoserine lactone; AHL)이 가장 잘 알려져 있는 물질이다[1,6].

QS 시스템은 1970년대에 *Vibrio fischeri*에 의한 생물발광 (bioluminescence) 현상을 연구하는 과정에서 처음 밝혀졌으며, 이 후 많은 연구들을 통해 QS이 질병 발생 과정에서도 아주 중요한 역할을 한다는 것이 확인되고 있다. *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas* sp., *E. coli* 등의 biofilm (생물막) 형성도 QS을 통해 조절되고 있음이 확인되었고[13], *P. aeruginosa*가 숙주에 감염할 때 숙주 공격에 필요한 물질인 elastase,

toxin A, pyoverdine 등의 생산을 QS 시스템을 통해 조절함이 확인되었으며[15], 그 밖에 다양한 세균들이 QS 시스템을 통해 그들의 병원성, 포자 형성, 영양적 서식지로의 이동성 같은 많은 생물학적 기능들을 조절함이 보고되었다[10]. 특히, QS에 의해 조절되는 병원성 관련 기능들 중 biofilm 형성은 병원성 세균이 고체 표면에 부착되어 있는 다당 기질에 둘러싸인 형태로 일정 수 이상의 세균 개체에 의해 이루어지며 그들의 생장을 위협하는 환경적 기전에 대한 방어막으로 작용하여 대식 세포체, 보체를 포함하는 숙주 방어기작에 대항하고 항생제 등의 약제 투과성을 낮춤으로써 내성을 획득하게 하는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다[2,19].

따라서 AHL과 같은 AI는 병원성 제어의 새로운 표적 인자로서 주목을 받고 있으며, 많은 연구자들은 QS 시스템을 대상으로 하는 새로운 항균 표적에 관한 연구를 진행하여 연구에 필요한 다양한 기술들을 개발하였다. QS 기작을 확인하는 방법으로 QS 시스템을 가지고 있는 세균의 특성에 맞게 그 표현형을 조사하거나 균 배양시 특정 유전자의 과발현을 확인하는 방법, AI를 인지하여 특정 효소를 발현하여 눈으로 AI의 존재 유무를 확인할 수 있도록 해주는 bioassay 방법 등이 개발되었다[18]. 또한 이러한 기술들을 이용하여 세균의 QS 시스템을 교란 또는 억제시키기 위해 QS 신호 전

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2271, Fax : +82-51-514-1778

E-mail : hsubaik@pusan.ac.kr

달 물질인 AI의 생산 자체를 저해하거나 생산된 AI를 acylase, lactonase 활성을 가지는 효소를 이용해 분해하는 방법, 유사한 구조를 가지는 길항 물질을 이용해 신호를 교란시키는 방법 등이 제안되었다[17]. AHL을 분해하는 효소는 *Bacillus* 속 세균의 *aiiA* 유전자에 의해 발현됨이 확인되었으며, 이 *aiiA* 유전자를 식물에 도입시켰을 때 QS을 통한 병원성 조절체를 가지는 세균에 의한 연근병 등의 질병에 대해 내성을 갖도록 할 수 있었으며 실제 적용하고 있다. 추가적인 실험을 통해 AHL을 생산하지 못하는 병원성 세균에서 일반적으로 병원성만이 극도로 저하되는 현상이 관찰되었다[5].

해조류인 *Delisea pulchra* 종의 추출물에서 분리한 furanone 유사체가 구조적으로 AHL과 유사한 길항물질임이 확인되었으며, *Serratia liquefaciens*, *V. fischeri*, *V. harvey*의 QS 시스템을 저해함이 입증되었다[7]. 그러나 furanone 유사체는 구조적인 불안정성과 독성을 가지고 있다는 단점 때문에 이를 대체 할 수 있는 새로운 물질의 탐색이 요구된다[16]. 따라서 본 연구는 세균의 QS 시스템을 제어하기 위한 새로운 QS 저해 물질의 탐색을 목표로 하였다. 이를 위해 세균 감염성 질환에 유효하다고 보고되고 있거나 건강식품의 원료로 이용되는 18가지의 천연물을 대상으로 QS 저해 활성을 확인하였다.

재료 및 방법

사용 균주

P. syringae pv. *tabaci* (ATCC 11528) 균주는 King's B 배지 (Peptone 2%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.15%, K_2HPO_4 0.15%, Glycerol 1%)를 사용하여 30°C에서 배양하였고[9], QS을 확인하기 위해 사용된 지시 균주인 *Agrobacterium tumefaciens* NT1은 ABMM 배지(Mannitol 0.2%, Solution A 5% (v/v), Solution B 5% (v/v))를 사용하여 30°C에서 배양하였다[14]. ABMM 배지 제조시 사용한 Solution A (K_2HPO_4 6%, NaH_2PO_4 2%)와 solution B (NH_4Cl 2%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.6%, KCl 0.3%, $CaCl_2$ 0.02%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.005%)는 각각 고압멸균(110°C, 20 min) 후에 첨가하였다.

천연물로부터 시료 추출

18가지 천연물(양파, 고추장, 된장, 마늘, 오징어, 미역, 양배추, 무, 당근, 바나나, 파래, 파, 깻잎, 상추, 마른 새우, 고추, 브로콜리, 오미자)은 3차 증류수로 세 번 세척하여 준비하였다. 각각의 천연물 50 g에 150 ml의 3차 증류수를 추가하여 가정용 믹서(mixer)로 10분 동안 분쇄한 다음 48시간 동안 정지시켰다. 상등액을 Whatman No. 1 여과지로 여과한 다음 원심분리(18,000 ×g, 10 min) 하였고, 그 상등액을 다시 0.20 μm pore 크기의 막 여과지로 여과하였다. 여과액을 동결건조하여 분말화 시킨 후 3차 증류수를 추가하여 5 ml로

녹여낸 다음 bioassay 시료로 사용하였다. 이 중 QS 저해 기능이 알려진 마늘은 실험 대조군으로 사용하였다[3].

N-acyl-homoserine lactones의 화학적 합성

N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine lactone의 합성

Dichloromethane 용액[2 mM carboxylic acid, 2.1 mM 4-(dimethylamino) pyridine, 2.2 mM *N*, *N*-dicyclohexylcarbodiimide, 2 mM meldrum's acid]을 제조한 후, 여과 과정을 거쳐서 침전된 *N*, *N*-dicyclohexylurea를 제거하였다. 나머지 용액은 회전 농축기를 사용하여 건조시킨 다음 ethylacetate 용액에 녹이고, 20 ml의 2 M hydrochloric acid로 세척하였다. 그 후, 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 용액을 건조시킨 다음 농축하여 아실화된 meldrum's acid를 얻었고, 30 ml의 acetonitrile을 추가한 용액에 1 mM L-homoserine lactone hydrochloride와 1.2 mM triethylamine을 섞은 다음 실온에서 2시간 동안 교반하고 3시간 동안 가열하였다. 용매가 증발되고 남은 침전물은 ethyl acetate에 녹여 포화 sodium hydrogen carbonate 용액과 1 M potassium hydrogen sulfate 용액, 그리고 포화 sodium chloride 용액에서 순서대로 세척하였다. 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 용액을 건조시켜 crude product를 얻었다[11].

N-(3-oxooctanoyl)-L-homoserine의 합성

0°C에서 20 ml의 dry dichloromethane에 1 mM L-homoserine lactone hydrochloride와 2.4 mM triethylamine을 섞고, 각각 30분 동안 5분씩 교반한 다음 1 mM alkanoyl chloride를 넣고 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 용매는 증발시키고 잔여물은 ethyl acetate에 녹여 각각의 20 ml의 포화 sodium hydrogen carbonate 용액과 1 M potassium hydrogen sulfate 용액으로 두 번씩 세척하고, 마지막으로 10 ml의 brine으로 한 번 세척하였다. 무수 $MgSO_4$ 를 사용하여 건조시킨 다음 ethyl acetate를 제거하고 crude product를 얻었다[11].

Quorum sensing bioassay

A. tumefaciens NT1은 *traG::lacZ* gene을 가지고 있어서 배지 내에 universal AHLs 존재 시 QS을 통해 *lacZ* gene을 발현할 수 있다[4]. 따라서 천연물 추출물들을 *A. tumefaciens* NT1과 합성된 AHLs 그리고 X-gal을 포함하는 ABMM 배지 200 μl에 추가하여 24시간 동안 30°C에서 배양한 후 QS 정도를 발색 수준으로 확인하였다.

Prep-HPLC

QS 저해 효과를 보이는 추출물들에서 QS 저해체 후보물질을 분리하기 위해 recycling preparative HPLC LC-918R (JAI, Japan)과 JAIGEL-LS255 column (JAI, Japan)을 통과시켜 분리된 peaks를 얻었고, 각 peaks에 해당하는 물질들을 RI-50 detector (JAI, Japan)를 사용하여 각각 분획 수집하였

다. 분획 수집물들은 동결건조하여 분말화하였다. 3차 증류수를 추가하여 최종 1 ml로 녹여 bioassay 실험에 사용하였다.

열 안정성 시험

QS 저해제의 열 안정성 확인을 위해 시료들을 고압멸균(121°C, 15분)하여 농도 별로 bioassay에 적용하였다.

세균 성장에 미치는 영향 확인

QS 저해제가 세균 성장에 미치는 영향을 확인하기 위해 *A. tumefaciens* NT1 및 *P. syringae* pv. *tabaci* 균주를 각각 QS 저해능이 나타나는 농도의 QSI-83과 함께 진탕배양(200 rpm) 하였다. 시간대별로 얻은 배양액은 평판계수법을 사용하여 생균수를 측정하였다.

Thin layer chromatography (TLC)

P. syringae pv. *tabaci* 균주를 대수 증식기까지 진탕배양 후 원심분리(22,000× g, 5 min)하여 상등액을 얻었다. 상등액과 동량 부피의 ethylacetate를 섞은 후 원심분리(22,000× g, 5 min)하여 상등액만 취하여 centrifugal vacuum vaporizer (EYELA CVE-200D, Japan)를 사용해 건조하였다. 이렇게 정제한 pellet을 acetonitrile에 녹여 TLC 시료로 사용하였다. 시료는 C₁₈ reverse phase TLC plate (Merck, Germany)에 1 µl를 점적하여 건조시킨 후 전개하였다. 전개 용매는 메탄올과 물을 60:40 (v/v)으로 혼합하여 사용하였다. 미리 준비한 1.5% agar plate에 전개된 TLC plate를 올려놓고 1.0% agar를 포함하는 ABMM 5 ml를 고압멸균(110°C, 20 min)하여 50°C로 식힌 후 *A. tumefaciens* NT1 배양액 1 ml와 gentamycin (45 µg/ml)과 X-gal (50 µg/ml)을 넣은 후 TLC plate 위에 분주하였다. 분주된 plate는 상온에서 5분간 두어 굳힌 후 30°C에서 24시간 배양하였다[14].

결 과

천연물 추출물들의 quorum sensing 저해 활성 확인

총 18 가지의 천연물 추출물들에서 QS 저해 활성을 확인하기 위해 QS 지시균주인 *A. tumefaciens* NT1과 합성된 QS autoinducer가 혼합된 ABMM 배지(50 µg/ml X-gal 포함)에 각 추출물들을 추가하고 30°C에서 24시간 동안 배양하였다. 그 결과(Fig. 1), 기존에 QS 저해 활성이 알려진 마늘은 X-gal 분해에 의한 색 변화를 나타내지 않았고 또한 양배추, 파, 양파의 추출물에서도 색 변화를 나타내지 않았다. 따라서 이들 천연물 추출물들이 QS 저해 활성을 가진다고 판단된다.

Prep-HPLC 분획과 quorum sensing 저해 활성을 가지는 분획물의 획득

Prep-HPLC를 사용하여 QS 저해 활성이 확인된 양배추, 파, 양파의 추출물들을 분획하였다. Prep-HPLC 결과(Fig. 2)는 세 가지 추출물들이 각기 다른 성분들의 혼합물임을 나타내고 있으며, 83분 지점에서 가장 큰 peak로 나타나는 성분을 동일하게 가지고 있었다. 수집된 분획물들 중 어떤 것이 QS 저해 활성을 가지는지 확인하기 위해 각 peak 별 분획물들을 QS bioassay 실험에 적용하였다. 그 결과(Fig. 3), 각 추출물들의 83분 지점의 peak에 해당하는 분획 수집물들이 동일하게 *P. syringae* pv. *tabaci*의 QS을 저해하였음을 확인하였다. 따라서 83분 지점의 peak에 해당하는 분획 수집물들을 quorum sensing inhibitor-83 min (QSI-83)으로 이름 붙였으며, 이를 새로운 QS 저해제로 제안한다.

QSI-83의 열 안정성 및 세균 성장에 미치는 영향 확인

QSI-83의 열안정성을 확인하기 위해 그 시료를 고압멸균하여 bioassay에 적용하였다. 그 결과(Fig. 4) 50 µl 이상이 추

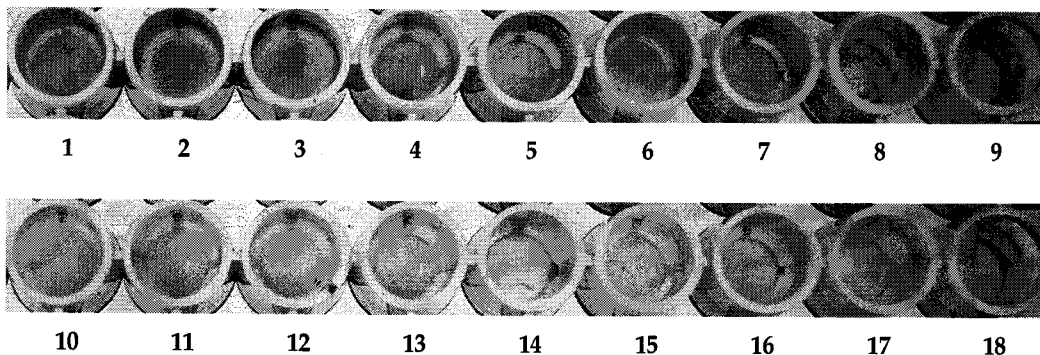
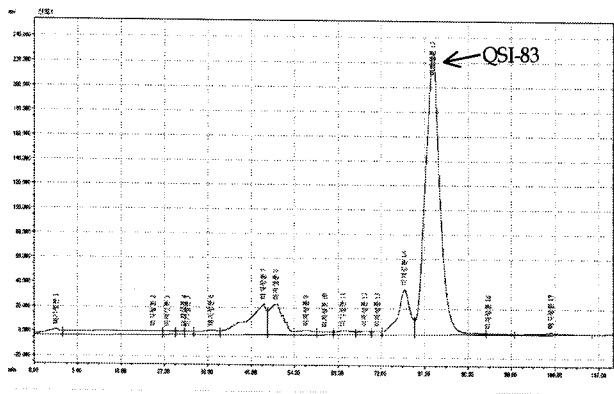
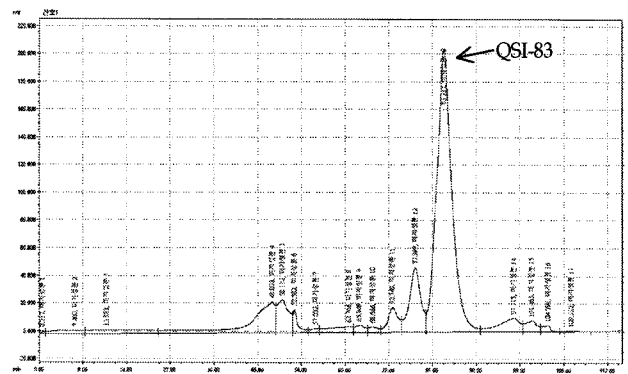


Fig. 1. Identification of the inhibition activity of the extracts from the natural products. *A. tumefaciens* NT1 was inoculated into a bioassay medium containing X-gal. AHLs synthesized chemically and natural product's extracts were added into the medium. The cultures were incubated at 30°C for 24 hr. The circles indicates none of color-changes in the medium. Lanes: 1, soy-bean paste; 2, broccoli; 3, dried shrimp; 4, garlic; 5, squid; 6, brown seed; 7, red pepper; 8, banana; 9, carrot; 10, fruit of *Imowiczia chinensis*; 11, sesame leaf; 12, sea lettuce; 13, radish; 14, cabbage; 15, onion; 16, red pepper paste; 17, lettuce; 18, leek.

A. Cabbage extract



B. Onion extract



C. Leek extract

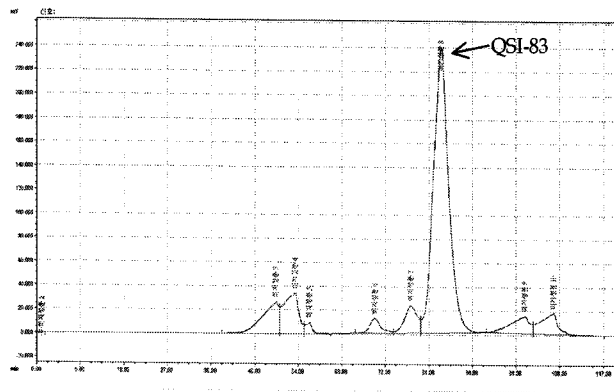


Fig. 2. Prep-HPLC results of the extracts from natural products. A, cabbage extract; B, onion extract; C, leek extract. Prep-HPLC was operated at a flow rate of 1 ml/sec for 120 min retention time.

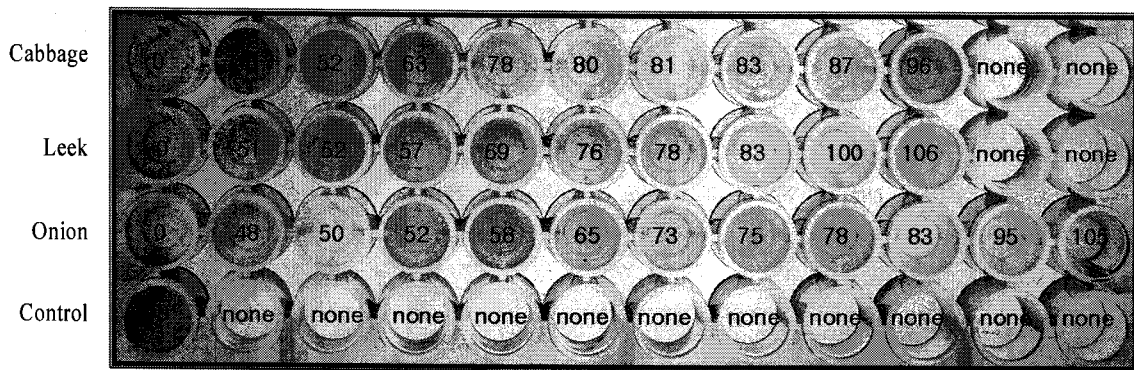


Fig. 3. Bioassay using the prep-HPLC fractions of each extraction. A 150 μ l volume of each representative fraction (based on retention time indicated by number below each well) was loaded on the 96-well plate containing a 150 μ l volume of the bioassay medium containing *A. tumefaciens* NT1 biosensor strain and X-gal.

가되었을 때 QS 저해 활성이 유지됨을 확인할 수 있었으므로 이는 QSI-83이 비교적 열에 안정함을 알 수 있었다. 한편, bioassay 실험의 결과가 QSI-83이 가지는 지시균주의 생장 저해효과 때문인지를 확인하기 위하여 bioassay 실험 후에 배양액 내의 *A. tumefaciens* NT1의 생균수를 측정하였다. 그 결과, QSI-83이 지시균주의 생장을 저해하지 않았다(data not shown).

QSI-83의 quorum sensing 저해능 확인

식물 병원균인 *P. syringae* pv. *tabaci*는 QS autoinducers로 N-3-oxohexanoyl-L-homoserine lactone과 N-hexanoyl-L-homoserine lactone에 의해 매개되는 QS 시스템을 가지고 있다[6]. QS이 다양한 병원성 세균 종들에서 병원성과 관련된 특성들의 조절과 관련해 중요한 기능을 담당하므로 *P. syringae* pv. *tabaci*의 QS autoinducers 생산의 저해는 결국 병원성 제어로 연결될 수 있다. 따라서 QSI-83이 식물병원균의

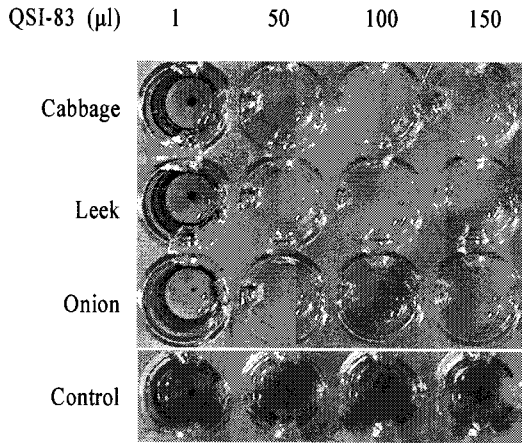


Fig. 4. Identification of the heat stability of QSI-83 isolated via prep-HPLC. Bioassay culture was mixed with 1, 50, 100, 150 μ l of the 83 min fractions isolated from cabbage, leek, and onion, respectively. Distilled water was used as a negative control. Other details are the same as in the legend of Fig. 3.

QS autoinducer 합성에 어떠한 영향을 끼치는지 알아보려고 하였다. *P. syringae* pv. *tabaci*를 QSI-83이 첨가된 배양액에 접종하고 30°C에서 24시간동안 배양한 후, AHLs를 추출하여 TLC를 수행하였다. Fig. 5와 같이 양배추, 파, 양파로부터 얻어진 각각의 QSI-83이 첨가된 배지에서 성장된 *P. syringae* pv. *tabaci*는 QS autoinducers를 거의 합성하지 못함을 알 수 있었다. 이는 QSI-83이 QS autoinducers의 합성을 저해하는 활성을 가짐을 확인해 주고 있다. 이러한 TLC 상 QS auto-

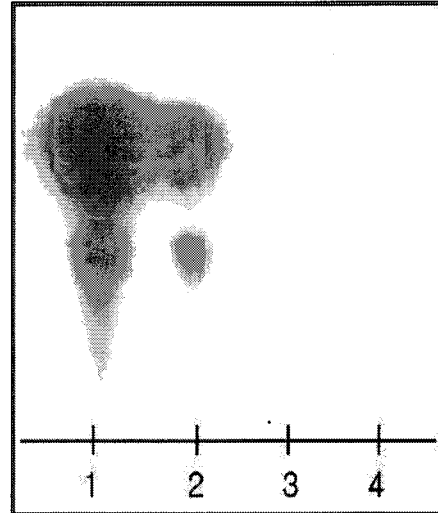


Fig. 5. Inhibition of AHL synthesis of *P. syringae* pv. *tabaci* by QSI-83. TLC was performed as described in materials and methods. Distilled water (lane 1) as a control and QSI-83 samples of cabbage (lane 2), leek (lane 3), and onion (lane 4) were added into King's B media, respectively, and the media were inoculated by *P. syringae* pv. *tabaci*.

inducers의 부재가 QSI-83에 의한 합성된 AHLs의 분해에 의한 결과인지 확인하기 위해 추출된 AHLs과 QSI-83을 동량으로 섞어서 30°C에서 24시간 동안 반응시킨 다음 TLC를 거쳐 bioassay를 수행하였다(Fig. 6A). 또한 새로운 QS 저해제들이 *P. syringae* pv. *tabaci*의 성장에 영향을 미치는지를 확인하기 위하여 배양액에 첨가한 후 배양하는 동안 성장 곡선을

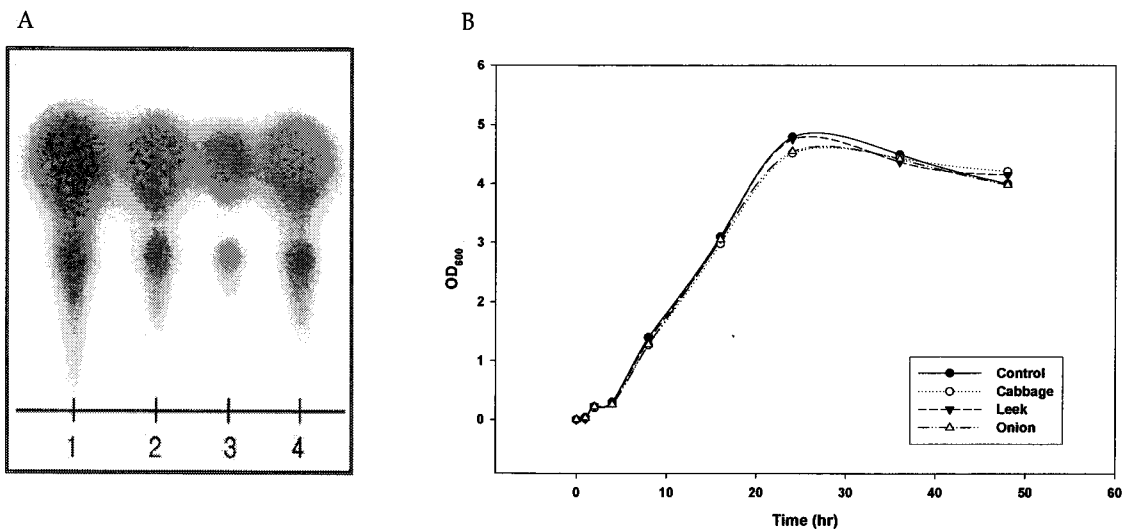


Fig. 6. A, Identification of the AHL degradation by QSI-83 isolated from cabbage (lane 2), leek (lane 3), and onion (lane 4). Each QSI-83 was autoclaved at 121°C for 15 min. Distilled water (lane 1) was used as a control. Other details are the same as in the legend of Fig. 5. AHL was not degraded by QSI-83. B, The growth curve of *P. syringae* pv. *tabaci*. The QSI-83 was added into a King's B medium inoculated with *P. syringae* pv. *tabaci*. The medium was incubated at 30°C for 48 hr and bacterial cell density was estimated at OD₆₀₀ using UV-VIS spectrophotometer.

작성하였다(Fig. 6B). 그 결과 QSI-83은 AHLs를 분해하지 않았으며, 세포 성장에 어떠한 효과도 미치지 않았다.

고 찰

최근 quorum sensing (QS) 시스템이 병원성 세균의 병원성 인자 발현을 조절함이 확인되면서[14,18], 연구자들의 관심이 집중되고 있으며 많은 연구가 진행되고 있으나 아직까지 그 결과가 미흡한 상태이다. 특히 QS 저해제로써 각광 받았던 furanoid 계열 화합물의 독성과 구조적 불안정성은 새로운 QS 저해제 발굴이 필요함을 말해준다.

이번 연구에서 세균의 QS 기능을 제어하는 활성을 가지는 새로운 QS 저해제를 천연물로부터 얻었다. 세균성 질병에 대한 내성을 가진다고 알려져 있거나, 건강식품의 원료로 많이 이용되는 총 18가지 천연물을 대상으로 한 실험을 통해 양배추, 파, 양파가 QS 저해 활성을 나타내는 성분을 함유하고 있음을 확인하였다. 그 성분을 prep-HPLC와 column 정제를 통해 분리하였고 QSI-83으로 지정하였다. 이 QSI-83은 JAI prep-HPLC library 상에는 존재하지 않는 신물질로써 열 안정성이 높은 물질임을 확인할 수 있었다. 그리고 QSI-83은 지시균주와 식물 병원균인 *P. syringae* pv. *tabaci*의 성장에 영향을 끼치지 않았다. 한편 QSI-83을 AHLs과 동량으로 혼합하고 상온에서 24시간 동안 반응시킨 후 TLC를 통해 확인한 결과 AHLs를 분해하는 활성을 가지는 acylase, lactonase의 계열이 아님을 확인할 수 있었다. 이들 결과들을 종합하면 QSI-83이 *P. syringae* pv. *tabaci*의 AHLs의 길항제(antagonist)의 일종이거나 그것의 합성을 저해하는 저해제일 가능성이 높다. 이러한 천연물을 이용한 약제 개발은 무분별한 항생제 사용을 막을 수 있으며, QS 저해제를 이용하여 세균의 bio-film 형성에 의한 물때, 치석 등 여러 가지 문제를 해결하는데 도움이 될 것으로 생각된다. 따라서 LC-MS, NMR 등을 통한 정확한 구조 분석이 필요하며 이들 성분의 화학적 합성물이 동일한 효과를 가지는지를 확인하는 연구가 필요하다.

요 약

인간이 서로 간의 의사소통을 위해 언어를 사용하듯이, 세균의 경우도 외부 환경 변화를 신속히 감지하여 서로 효과적으로 대응하기 위해서 주변 세포들과 소통할 수 있는 세균만의 독특한 화학적 언어를 사용하는 것으로 알려져 있다. 특히, 일정 세포 농도에 도달했을 때 자체적으로 생산된 화학적 신호를 통해 개체 수를 인지하고 그에 따라 특정 유전자의 발현을 동시에 조절하는 quorum sensing (QS) 기작은 다양한 세균 종들에서 광범위하게 존재한다. 본 연구는 다양한 천연물 추출물들을 대상으로 QS 저해 활성을 확인하였는데 QS 지시균주인 *Agrobacterium tumefaciens* NT1과 화학적으로

합성한 QS autoinducers를 사용한 bioassay를 수행하였다. 그 결과 양배추, 파, 양파의 추출물들에서 QS 저해 활성을 확인하였고, recycling preparative HPLC (prep-HPLC)를 통한 정제 과정을 통해, 83분 지점의 peak에 해당하는 성분들이 공통으로 QS 저해 활성을 가지고 있음을 확인하였다. 따라서 그 QS 저해 성분을 QSI-83으로 지정하고 thin layer chromatography (TLC)를 통해 *P. syringae* pv. *tabaci*의 autoinducers 합성을 저해하는 활성을 가지고 있음을 확인하였다. 또한 열에 대한 안정성과 세균 성장에서의 영향을 조사하였는데, 그 결과 QSI-83은 열에 안정하며 세균의 성장에는 영향을 끼치지 않는 물질임을 확인하였다. 따라서 우리는 천연물로부터 분리된 새로운 성분이 QS 저해제로써 이용될 수 있음을 제안한다.

감사의 글

본 연구에 참여한 연구자들은 [2단계 BK21 사업]과 [산학협동재단의 2007년도 연구비지원 사업]의 지원을 받았으며, 이에 감사드립니다.

References

- Bassler, B. L. 1999. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr. Opin. Microbiol.* 2, 582-587.
- Beck, von B. S., R. Majerczak and L. Coplin. 1998. Capsular polysaccharide biosynthesis and pathogenicity in *Erwinia stewartii* require induction by the N-acyl homoserine lactone autoinducer. *J. Bacteriol.* 177, 5000-5008.
- Bjarnsholt, T., P. O. Jensen, T. B. Rasmussen, L. Christophersen, H. Calum, M. Hentzer, H. P. Hougen, J. Rygaard, C. Moser, L. Eberl, N. Hoiby and M. Givskov. 2005. Garlic blocks quorum sensing and promotes rapid clearing of pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Microbiology* 151, 3873-3880.
- Catharine, E. W. and S. C. Winans. 2005. Identification of amino acid residues of the *Agrobacterium tumefaciens* quorum-sensing regulator TraR that is critical for positive control of transcription. *Molecular Microbiology* 55, 1473-1486.
- Dong, Y. H., J. L. Xu, X. Z. Li and L. H. Zhang. 2000. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 3526-3531.
- Fuqua, C. and E. P. Greenberg. 2002. Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3, 685-695.
- Gram, L., R. de Nys, R. Maximilien, M. Givskov, P. Steinberg and S. Kjelleberg. 1996. Inhibitory effects of secondary metabolites from the red alga *Delisea pulchra* on swarming motility of *Proteus mirabilis*. *Appl. Environ.*

- Microbiol.* **62**, 4284-4287.
8. Kendall, M. G. 1997. Intracellular communication and group behavior in bacteria. *Trends Microbiol.* **5**, 184-188.
 9. King, E. O., M. K. Ward and D. E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of pyrocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* **44**, 301-313.
 10. Marvin, W., M. L. Kimberly and E. P. Greenberg. 1999. Identification of genes controlled by quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 13904-13909.
 11. McLean, R. J., L. S. Pierson and C. Fuqua. 2004. A simple screening protocol for the identification of quorum signal antagonists. *J. Microbiol Methods* **58**, 351-360.
 12. Michiko, E. T. and L. B. Bonnie. 2003. Chemical communication among bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 14549-14554.
 13. Mizuho, M., Y. Takagi, H. Yonezawa, N. Hanada, J. Terajima, H. Watanabe and H. Senpuku. 2006. Assessment of genes associated with *Streptococcus mutans* biofilm morphology. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 6277-6287.
 14. Paul, D. S., P. Gao Ping, S. L. Daly, C. Cha, J. E. Cronan, Jr. and K. L. Rinehart. 1997. Detecting and characterizing *N*-acyl homoserine lactone signal molecules by thin-layer chromatography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 6036-6041.
 15. Pesci, E. C., J. B. Milbank, J. P. Pearson, S. McKnight, A. S. Kende, E. P. Greenberg and B. H. Iglewski. 1999. Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 11229-11234.
 16. Moons, P., R. Van Houdt, A. Aertsen, K. Vanoirbeek, Y. Engelborghs and C. W. Michiels. 2006. Role of quorum sensing and antimicrobial component production by *Serratia plymuthica* in formation of biofilms, including mixed biofilms with *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 7294-7300.
 17. Smith, R. S. and B. H. Iglewski. 2003. *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing as a potential antimicrobial target. *J. Clin. Invest.* **112**, 1460-1465.
 18. Shaw, P. D., G. Ping, S. L. Daly, C. Cha, J. E. Cronan, Jr., K. L. Rinehart and S. K. Farrand. 1997. Detecting and characterizing *N*-acyl-homoserine lactone signal molecules by thin-layer chromatography. *The National Academy of Sciences* **94**, 6036-6041.
 19. Pamp, S. J. and T. Tolker-Nielsen. 2007. Multiple Roles of Biosurfactants in structural biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **189**, 2531-2539.
 20. Taguchi, F., Y. Ogawa, K. Takeuchi, T. Suzuki, K. Toyoda, T. Shiraishi and Y. Ichinose. 2006. A homologue of the 3-oxoacyl-(acyl carrier protein) synthase III gene located in the glycosylation island of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* regulates virulence factors via *N*-acyl homoserine lactone and fatty acid synthesis. *J. Bacteriol.* **188**, 8376-8384.