

장염비브리오의 biofilm 형성에 영향을 미치는 인자

노아름·박권삼*

군산대학교 해양과학대학 식품생명공학과

Factors that Influence Biofilm Formation in *Vibrio parahaemolyticus*

A-Reum No and Kwon-Sam Park

Department of Food Science and Biotechnology,
Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

Biofilm is a structured community of microorganism encapsulated within a self-developed polymeric matrix and adherent to a living or a solid surface. In this study, we investigated the effects of various substrates on the formation of biofilm in *Vibrio parahaemolyticus*. We found that biofilm formation profoundly increased in a substrate, that consisted of calcium chloride, calcium nitrate, and calcium sulfate in 1% peptone water. On the other hand, a dramatic reduction in biofilm formation was observed in a substrate, that consisted of glucose and ferric chloride in LB broth. These results suggest that *V. parahaemolyticus* prefer to form a biofilm on the surface of a crustacean or a clam, where calcium ion is rich, and also where seawater temperature is relatively lower. In contrast, high levels of glucose in a crustacean or a clam body resulting from increased seawater temperature, can make *V. parahaemolyticus* detach from it and lead to free floating.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*, Biofilm formation, Glucose, Calcium ion

서 론

생물막(biofilm)은 미생물이 스스로 분비한 다량체 기질 속에 형성된 3차원적 구조물로서 고체 표면위에 막 형태로 형성된다. 따라서 생물막 속의 미생물은 부유생활에 비해 가혹한 외부환경, 항생제, 면역세포의 공격 등에 훨씬 강한 저항력을 갖게 된다. 과거에는 미생물에 의해 분비되는 끈적끈적한 다량체에 미생물들이 수동적으로 부착되어 생물막이 형성된다고 생각하였으나 최근 연구결과에 의하면 생물막 형성에는 미생물이 고체표면에 부착 (attachment), 생물막의 성숙 (maturation) 및 생물막에서 이탈 (detachment) 단계로 이루어져 있으며 (Costerton et al., 1995), 각 단계별로 필요한 인자들의 생성은 미생물들의 신호전달에 의해 정교하게 조절된다고 보고되고 있다 (Parsek and Greenberg, 2005). 결국 미생물에 의한 생물막 형성은 생존을 위한 전형적인 미생물들의 집단행동중의 하나라고 여기고 있다 (Kolter and Greenberg, 2006). 생물막 형성 이전에 관련된 인자들에 관한 연구보고는 다수 존재한다. cyclic diGMP는 *Gluconacetobacter zylimus*의 cellulose synthesis에서 allosteric activator로써 밝혀졌다 (Römling and Amikam, 2006). cyclic diGMP의 세포내 농도가 높으면 biofilm formation 및 aggregative behavior 등이 나타나고, 반대로 낮으면 motility 증가 및 virulence factor의 합성 등이 일어나기 때문에 생물막의 형성과 깊은 관계가 있을 것으로 예상되고 있다. 또한 세균의 세포밀도 인지 및 세포간 신호전달 기전인 quorum sensing이 생물막 형성에 관여한

다고 보고되고 있다 (Davies et al., 1998). QS을 통해 세균이 군집 내에서 일정밀도에 도달하면 상호간의 신호전달에 의해 능동적으로 생물막 형성을 위한 생리적 변화를 일으키고 그 결과로 생물막이 형성된다고 보고하고 있다. 최근 여러 종류의 세균 생물막 matrix에서 DNA가 발견되었는데 이는 DNA가 matrix를 이루는 성분이거나 생물막이 형성되는 과정에서 세포의 lysis가 일어난다는 뜻이다. 이 DNA들은 생물막 구조를 형성하는데 중요한 역할을 한다는 보고도 있다 (Spoering and Gilmore, 2006).

장염비브리오는 해양세균의 일종으로 이 세균에 오염된 어패류를 생식함으로써 급성위장염 증상을 나타내는 전형적인 식중독 세균으로 알려져 있다 (Honda et al., 1993). 대표적인 병원성 인자로는 thermostable direct hemolysin (TDH, 내열성 용혈독) 및 TDH-related hemolysin (TRH, 내열성 용혈독 관련 용혈독) 등이 알려져 있다 (Honda et al., 1993). 장염비브리오는 2002년 *V. cholerae*에 이어 *Vibrio*속에서는 2번째로 genome sequence가 완료됨에 따라 미지의 병원성 인자들이 밝혀졌는데 type III secretion system (TTSS)이 그 중의 하나이다 (Makino et al., 2003; Park et al., 2004). 그러나 장염비브리오의 병원성 기작에 관한 정확한 설명은 아직도 많이 부족한 실정이다. 장염비브리오는 자연계에서 biofilm을 형성하며 (Costerton et al., 1995), biofilm 형성은 자연계에서 생존하는데 유리하게 작용한다고 보고하고 있다 (Kimberly, 2004). Biofilm 생성에 관련 인자로는 flagella, exopolysaccharide, TFP, VpaH, MSHA 및 ChiRP 등이 보고되어 있다 (Yildiz and Visick, 2008; Watnick

*Corresponding author: parkks@kunsan.ac.kr

et al., 1999; Costerton et al., 1999; Enos-Berlage et al., 2005; Park et al., 2005; Shime-Hattori et al., 2006). 그러나 지금까지의 연구보고에는 장염비브리오가 환경에서 생존하는데 특히 수온이 낮아지는 동절기 동안에 biofilm 이 담당하는 역할에 관한 연구보고는 아직 없는 실정이다.

본 연구에서는 다양한 배지조건에서 장염비브리오를 배양했을 때 biofilm 생성능의 차이 및 biofilm 생성에 관련하는 activator와 repressor 물질을 검색하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배지

본 연구에 사용된 장염비브리오 TH3996균주는 TRH 유전자 보유 및 urease 양성을 나타내는 임상분리균주이다 (Park et al., 2000). Biofilm 생성능 실험에 사용한 배지는 brain heart infusion broth, LB broth, marine broth, nutrient broth 및 1% peptone수 5종을 사용하였으며 marine broth를 제외한 나머지 배지에는 최종농도 3%가 되도록 NaCl를 첨가하여 28°C에서 정치배양하면서 측정하였다. 일반적으로 증균에 사용한 배지는 식염을 3% 첨가한 LB broth를 사용하였다.

Biofilm 생성량 측정

Biofilm 생성량 측정은 이전의 방법을 약간 변형하여 실시하였다(Park et al., 2005). LB broth에 균을 접종하여 35°C에서 하룻밤 진탕배양한 후 멸균된 생리식염수로 2회 수세하고 현탁한 후 spectrophotometer (Beckman coulter, USA)를 사용하여 600 nm에서 OD를 1.0으로 조정하였다. 조정된 균체는 각 배지에 1/1,000 량을 첨가한 후 멸균된 culture tube (Borex, 12×75 mm)에 0.8 mL씩 분주한 후 28°C에서 정치배양하면서 6시간 간격으로 36시간까지 biofilm 생성량을 측정하였다. 균체는 증류수로 3회 수세하여 제거하고 여기에 0.2% crystal violet (Junsei Chemical Co., Japan) 1.0 mL를 가하여 실온에서 15분간 염색하였다. 증류수로 3회 수세하여 biofilm과 결합하지 않은 염색액은 완전히 제거한 후 dimethyl sulfoxide 1.0 mL를 가하고 vortex하여 용출한 후 염색액은 570 nm에서 측정하였다. 각 배양액은 3개의 시험관을 사용하였으며 3회 반복 실험하여 얻은 평균값으로 계산하였다.

Biofilm 형성 촉진 및 억제 인자의 검색

Biofilm 형성을 촉진 또는 억제하는 인자의 검색에는 1% peptone broth 및 LB broth를 기본배지로 사용하였다. 여기에 18종의 물질 (ammonium nitrate, calcium carbonate, calcium chloride, calcium lactate, calcium nitrate, calcium sulfate, ferric chloride, magnesium sulfate, potassium chloride, potassium phosphate, sodium bicarbonate, sodium phosphate, 계 12종), 당(D(+)-glucosamine hydrochloride, glucose, lactose, sucrose, 계 4종) 및 아미노산 (casamino acid, gelatin, 계 2종)을 10%가 되도록 증류수에 녹인 후 0.45 μm filter로 여과 멸균하였다. 최종농도 0.5%가 되도록 배지에 첨가하였으며 여기에 조정된

균을 가하고, 멸균된 culture tube (Borex, 12×75 mm)에 0.8 mL씩 분주한 후 28°C에서 정치배양하면서 배양 12, 24 및 36시간 후에 biofilm 생성량으로 확인하였다.

결과 및 고찰

배지에 따른 biofilm 형성능의 비교

장염비브리오를 대상으로 배지에 따른 biofilm 형성능에 관한 연구보고는 없는 실정이다. 일반적으로 다른 세균에서 사용하고 있는 배지인 heart infusion medium (Enos-Berlage et al., 2005), marine broth (Shime-Hattori et al., 2006) 와 LB broth (Park et al., 2004)를 대상으로 실험한 결과가 있을 뿐이다. 배지에 따른 장염비브리오의 biofilm 형성능을 알아보기 위하여 5종의 배지를 사용하여 배양시간에 따른 균 증식속도 및 biofilm 형성능에 관한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. Marine broth, nutrient broth 및 1% peptone broth에서 균 증식속도는 매우 느려 배양 36시간에도 대수 증식기 상태인데 비해, BHI broth 및 LB broth에서는 균 증식은 다른 배지에 비해 상대적으로 빨라 배양 24 및 30시간 이후에는 사멸기에 도달하였다.

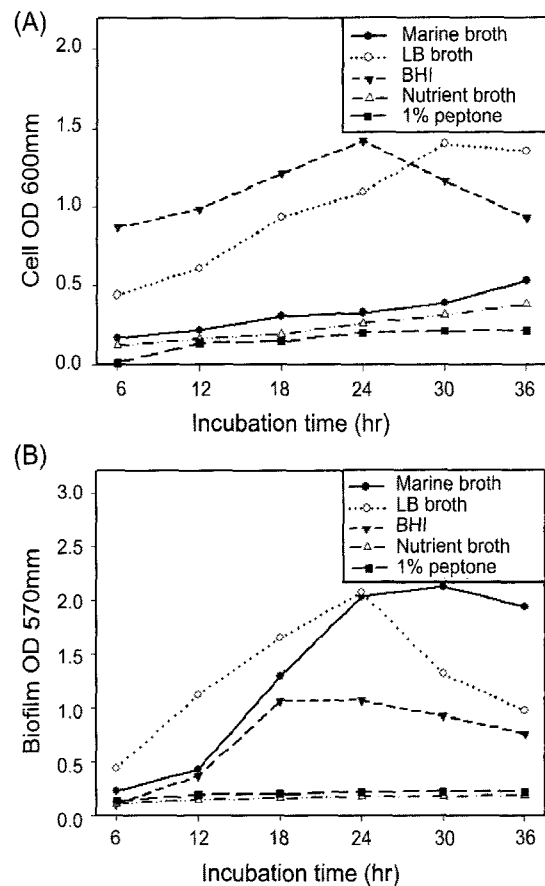


Fig. 1. Cell growth (A) and biofilm formation (B). Cells were cultured at 30°C for 36 hrs in the each medium. The cell growth and biofilm formation was measured as described in materials and methods section. Data are the averages of triple experiments.

Marine broth, nutrient broth 및 1% peptone broth에서 균 증식속도가 느린 이유는 상대적으로 빈약한 영양성분, 정치배양 및 최적증식온도보다 낮은 28°C에서 배양한 결과라고 사료된다. 배양시간에 따른 biofilm 형성은 균 증식속도가 느린 편인 marine broth에서 가장 빨라 배양 30시간 후에는 최고점에 도달한 후 감소추세를 보인데 비해 nutrient broth 및 1% peptone broth에서 biofilm 형성은 배양 36시간 후에도 미약하게 형성되었다. 이 결과는 이들 배지에는 biofilm 형성을 유도하는 물질이 포함되어 있지 않거나 biofilm 형성에 관여하는 유전자의 발현이 거의 일어나지 않아 궁극적으로 biofilm의 형성이 미약한 것으로 사료된다. 또한 BHI broth의 경우, 배양 18시간 후에 최고점에 도달한 후 점점 감소하는 양상을 보이며, LB broth의 경우는 배양 36시간에도 증가추세를 보였다. Enos-Berlage 등에 의하면 장염비브리오의 biofilm 형성은 대수 증식기에서 가장 높게 나타났다가 정지기 이후에는 점점 감소하는 경향을 보인다고 보고하고 있다 (Enos-Berlage et al., 2005). 따라서 배지는 다르지만 본 연구에 사용된 5종의 배지에서 장염비브리오의 biofilm 형성은 Enos-Berlage 등의 연구결과와 유사하였다. 이상의 결과를 종합해 보면 장염비브리오의 biofilm 형성능은 균 증식보다는 배지 중에 포함되어 있는 어떤 성분(인자)에 의해 크게 영향을 받는다고 사료된다.

Biofilm 형성을 촉진하는 인자의 검색

Fig. 1의 결과는 배지에 포함되어 있는 어떤 성분이 biofilm 형성에 관여할 가능성을 시사하였다. 따라서 biofilm 형성이 거의 이루어지지 않은 1% peptone broth에 다양한 물질을 최종 농도가 0.5%가 되도록 첨가하여 배양시간 경과에 따른 biofilm 형성능을 검토하였으며 결과는 Table 1에 나타내었다. 배지 이외에 다른 성분을 첨가하지 않은 대조구에 비해 biofilm 생성을 크게 증가시키는 물질에는 calcium chloride, calcium nitrate 및 calcium sulfate이었다. Calcium chloride를 첨가한 배지의 경우는 배양 24시간 후에 최대생성량을 나타내었으며, calcium nitrate와 calcium sulfate를 첨가한 배지에서는 배양 36시간 후에 최대치를 나타내었다. Calcium lactate 또한 biofilm 생성을 증가시키나 실험에 사용한 다른 calcium ion 보다는 낮은 편이었다. 그 이외의 물질이 첨가된 배지에서는 대조구에 비해 약간 상승 내지는 감소하는 경향을 나타내었는데 이는 이들 물질 첨가에 의해 균 증식이 대조구에 비해 약간 상승 내지는 억제된 결과이거나 biofilm 생성을 유도하지 못한 결과라고 사료된다. 이상의 결과는 calcium chloride, calcium nitrate 및 calcium sulfate 등의 calcium ion은 장염비브리오의 biofilm 생성을 유도하는 activator로서 작용하기 때문에 이들 물질이 풍부한 생물 또는 그 표면으로 균이 이동한 후 부착하여 biofilm을 형성할 가능성이 높다고 사료된다.

Biofilm 형성을 억제하는 인자의 검색

Biofilm 형성을 억제하는 물질 검색에는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 biofilm 형성능이 우수한 LB broth를 사용하였다. 물론 marine broth는 LB broth보다 biofilm 형성능은 우수하지만 이 배지에는 다양한 종류의 염류가 포함되어 있기 때문에

Table 1. Biofilm formation in the 1% peptone broth containing 0.5% substrate. Data are the averages of triple experiments

Substrate	12 hr	24 hr	36 hr
Control	0.011	0.209	0.198
Ammonium nitrate	0.228	0.174	0.171
Calcium carbonate	0.415	0.177	0.229
Calcium chloride	0.546	1.543	1.336
Calcium lactate	0.336	0.636	0.396
Calcium nitrate	0.227	0.362	0.991
Calcium sulfate	0.479	0.676	1.912
Ferric chloride	0.066	0.135	0.221
Magnesium sulfate	0.225	0.318	0.222
Potassium chloride	0.197	0.195	0.271
Potassium phosphate	0.125	0.115	0.076
Sodium bicarbonate	0.202	0.258	0.186
Sodium phosphate	0.052	0.064	0.061
D-(+)-glucosamine hydrochloride	0.271	0.137	0.210
Glucose	0.051	0.128	0.123
Lactose	0.168	0.274	0.168
Sucrose	0.189	0.186	0.234
Casamino acid	0.243	0.287	0.260
Gelatin	0.182	0.175	0.210

Table 2. Biofilm formation in the LB broth containing 0.5% substrate. Data are the averages of triple experiments

Substrate	12 hr	24 hr	36 hr
Control	1.044	1.915	0.807
Ammonium nitrate	0.154	1.118	0.991
Calcium carbonate	0.420	0.693	0.326
Calcium chloride	0.486	1.297	1.297
Calcium lactate	0.560	0.535	0.778
Calcium nitrate	0.537	2.583	1.117
Calcium sulfate	0.751	1.371	0.916
Ferric chloride	0.054	0.088	0.042
Magnesium sulfate	1.181	6.606	0.806
Potassium chloride	0.072	0.369	0.244
Potassium phosphate	0.149	0.223	0.142
Sodium bicarbonate	0.176	0.639	0.461
Sodium phosphate	0.028	0.239	0.164
D-(+)-glucosamine hydrochloride	0.274	1.452	0.801
Glucose	0.081	0.041	0.027
Lactose	0.171	0.232	0.233
Sucrose	0.241	0.344	0.408
Casamino acid	0.427	0.996	0.635
Gelatin	0.503	1.037	0.753

이들 염류의 영향으로 biofilm 억제인자의 검색에 방해를 받을 가능성 때문에 LB broth를 사용하였다. LB broth에 다양한 물질을 최종농도 0.5%가 되도록 첨가한 후 배양시간에 따른 biofilm 생성량을 검토하였으며 그 결과는 Table 2에 제시하였다. 염류 중에서는 ferric chloride, potassium chloride, potassium phosphate 및 sodium phosphate를 첨가한 배지에서는 대조구와 비교하여 biofilm 생성량이 상당히 저조하였는데 이는 이들 물질첨가에 의해 균 증식이 느려졌거나 repressor로써 작용한 결과라고 사료된다. 또한, 포도당을 0.5% 첨가한 배지에서는

biofilm 생성이 배양 36시간까지 거의 일어나지 않아 포도당이 biofilm 생성을 억제하는 repressor로서 작용한 결과라고 사료되며 lactose 및 sucrose가 첨가된 배지에서도 biofilm 생성량은 저조하여 이들 당도 포도당처럼 biofilm 생성을 억제하는 repressor로서 작용한다고 사료된다. 1% pepton broth에 0.5% magnesium sulfate를 첨가했을 때는 activator로써 작용하지 않았으나, LB broth에서는 배양 24시간 후에는 biofilm 생성량이 대조구에 비해 약 3배 이상의 생성량을 나타내어 biofilm 생성을 촉진하는 activator로서 작용하였다. 이 결과는 동일물질이라도 배지에 따라 activator 내지는 repressor로 작용할 가능성을 시사하는 결과라고 사료된다.

Repressor와 activator 물질이 공존하는 경우의 biofilm 생성 양상

배지에 biofilm 생성을 촉진 및 억제하는 물질이 공존하는 경우 biofilm의 생성양상을 검토하기 위하여 LB broth 및 1% peptone broth에 이들 물질을 첨가하여 biofilm 생성량을 측정 한 결과는 Table 3에 나타내었다. LB broth에는 activator 물질로 magnesium sulfate를 repressor로는 glucose를 각각 0.5%가 되도록 첨가하였으며, 1% peptone broth에는 calcium chloride와 glucose을 각각 첨가하였다. 배양 24시간 후 각 시험관에 생성된 biofilm 생성량은 대조구에 비해 현저하게 낮았다. 이 결과는 activator로 작용하는 물질이 존재하더라도 repressor로 작용하는 물질이 공존하는 환경에서 장염비브리오는 biofilm을 생성할 수 없거나 극히 적은양만 생성함을 시사하는 결과이며, 이 결과를 유전학적 측면에서 고찰해 본다면 repressor를 인식하는 signal (또는 분자)이 activator를 인식하는 signal (또는 분자)보다 upstream에 있기 때문에 양 물질이 공존하는 환경에서는 먼저 repressor signal의 작동으로 biofilm을 생성하는 조건이 off 상태로 유지되기 때문에 궁극적으로 activator의 signal이 작동할 수 없어 biofilm 생성은 되지 않거나 미약한 것으로 사료된다.

Table 3. Biofilm formation in the medium containing each 0.5% repressor and activator substrate. Data are the averages of triple experiments. A*, activator substrate; R*, repressor.

Medium	12 hr	24 hr	36 hr
LB broth (control)	0.991	1.874	0.907
Added A* and R* in LB broth	0.033	0.061	0.125
Added A in 1% peptone broth (control)	0.555	1.476	1.421
Added A and R in 1% peptone broth	0.023	0.051	0.129

일반적으로 장염비브리오는 수온이 17℃ 이상으로 상승하는 하절기에는 자유 유평의 형태로 빈번하게 해수에서 검출되나 수온이 10℃ 이하로 낮아지면 해수에서의 검출율은 급격히 떨어지며, 수온이 낮은 동절기에 장염비브리오는 해저의 저질에서 동물성 플랑크톤의 키틴질에 부착하여 월동한다고 알려져 있다 (Kaneko and Colwell, 1975). 그러다가 수온이 상승하

면 부착생물로부터 이탈하여 해수로 나온 다음 번식한다고 알려져 있으나 명확하게 설명되지 않은 부분이 많다.

본 연구의 결과로부터 다음과 같은 가능성을 제시하고자 한다. 해수의 온도가 저하하게 되면 장염비브리오는 생존을 위한 첫 번째 수단으로 biofilm을 생성하기 위하여 칼슘이온이 많은 패류 및 갑각류에 부착할 것이다. 이때 이동수단은 극편모를 이용하여 표층보다는 수온이 조금이라도 높은 저층에 있는 calcium 이온이 많은 생물로 이동할 것이다. 생물에 부착하면 생물에 있는 calcium 이온이 biofilm형성 activator signal로 작용하기 때문에 biofilm을 형성하여 월동기간을 보내게 된다. 수온 및 열악한 외부환경에서 생존하기 위하여 biofilm을 형성하여 지내다가 패류 및 갑각류의 산란기에 체내에 다량 축적된 glycogen이 분해되어 glucose의 양이 많아지게 되면 숙주로부터 이탈하여 해수에서 번식하게 된다. 패류 및 갑각류는 종류에 따라 산란기는 다소 차이가 있으나 일반적으로 수온이 상승하는 5월경이며 산란을 위해서는 다량의 에너지가 필요하기 때문에 산란 직전에 체내에는 glycogen 양이 최대치에 이르는 생물종이 많다. 비단가리비 (*Chlamys farreri*)의 경우, 폐각근 내 글리코겐 함량은 5월에 최고치가 된다는 보고가 있다 (Chung et al., 2005). 결국, 수온상승에 의해 생물막에서 장염비브리오가 자연적으로 해수로 이탈하는 것이 아니라 숙주생물 체내의 glucose량의 증가가 생물막에서 장염비브리오를 이탈하게 하는 signal로 작용하기 때문인 것으로 사료된다. 물론 해수중의 환경은 배지와는 전혀 다른 여러 환경인자들이 존재한다. 예를 들어, 수온, 염분 및 pH 등 여러 환경인자가 공존하기 때문에 생물막에서 장염비브리오가 이탈되는 정확한 기작에 대한 연구는 앞으로 풀어야 할 과제라고 사료된다.

사 사

본 연구는 2008년도 군산대학교 수산과학연구소의 학술연구구조비에 의하여 수행되었으며, 이에 감사를 드립니다.

참고 문헌

Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR and Lappinscott HM. 1995. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 49, 711-745.

Costerton JW, Stewart PS and Greenberg EP. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284, 1318-1322.

Chung EY, Koo JG, Park KY and Lee CH. 2005. Seasonal changes in biochemical components of the adductor muscle, digestive diverticula and the ovary in *Chlamys farreri* in relation to the ovarian developmental phases. *Kor J Malacol* 21, 71-80.

Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW and Greenberg EP. 1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 280, 295-298.

- Enos-Berlage JL, Guvener ZT, Keenan CE and McCarter LL. 2005. Genetic determinants of biofilm development of opaque and translucent *Vibrio parahaemolyticus*. *Mol Microbiol* 55, 1160-1182.
- Honda T and Iida T. 1993. The pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* and the role of the thermostable direct haemolysin and related haemolysin. *Rev Med Microbiol* 4, 106-113.
- Kaneko T and Colwell RR. 1975. Adsorption of *Vibrio parahaemolyticus* onto chitin and copepods. *Appl Microbiol* 29, 269-274.
- Kimberly KJ. 2004. What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol Lett* 236, 163-173.
- Kolter R and Greenberg EP. 2006. Microbial sciences: the superficial life of microbes. *Nature* 441, 300-302.
- Kumazawa NH, Fukuma N and Komoda Y. 1991. Attachment of *Vibrio parahaemolyticus* strains to estuarine algae. *J Vet Med Sci* 53, 201-205.
- Makino K, Oshima K, Kurokawa K, et al., 2003. Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae*. *Lancet* 361, 743-749.
- Park KS, Arita M, Iida T and Honda T. 2005. *vpaH*, a gene encoding a novel histone-like nucleoid structure-like protein that was possibly horizontally acquired, regulates the biogenesis of lateral flagella in *trh*-positive *Vibrio parahaemolyticus* TH3996. *Infect Immun* 73, 5754-5761.
- Park KS, Iida T, Yamaichi Y, Oyagi T, Yamamoto K and Honda T. 2000. Genetic characterization of DNA region containing the *trh* and *ure* genes of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect Immun* 68, 5742-5748.
- Park KS, Ono T, Rokuda M, Jang MH, Okada K, Iida T and Honda T. 2004. Functional characterization of two type III secretion systems of *Vibrio parahaemolyticus*. *Infect Immun* 72, 6659-6665.
- Parsek MR and Greenberg EP. 2005. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in Microbio* 13, 27-33.
- Shime-Hattori A, Iida T, Arita M, Park KS, Kodama T and Honda T. 2006. Two type IV pili of *Vibrio parahaemolyticus* play different roles in biofilm formation. *FEMS Microbiol Lett* 264, 89-97.
- Spoering AL and Gilmore MS. 2006. Quorum sensing and DNA release in bacterial biofilms. *Curr Opin Microbiol* 9, 133-137.
- Watnick PI, Fullner KJ and Kolter R. 1999. A role for the mannose-sensitive hemagglutinin in biofilm formation by *Vibrio cholerae* El Tor. *J Bacteriol* 181, 3606-3609.
- Yildiz FH and Visick KL. 2008. *Vibrio* biofilms: so much the same yet so different. *Trends in Microbiol* 17, 109-118.

2009년 8월 3일 접수

2009년 9월 7일 수정

2009년 10월 19일 수리