

*Bacillus subtilis*와 *Listeria monocytogenes*의 일반 스트레스반응의 비교

신지현

경북대학교 의과대학 미생물학교실

일부 그람양성세균들은 고온, 저온, 염, 에탄올, 산소와 영양분 고갈과 같은 다양한 스트레스 상태에 노출되면, 일반 스트레스반응(general stress response)에 의해서 일련의 스트레스 단백질군을 발현시켜 외부 스트레스를 극복하고 세균의 생존력을 증가시킨다. 비병원성균인 *Bacillus subtilis*의 일반 스트레스반응에 관해서는 많은 연구가 이루어져 있으므로 다른 균의 연구모델로 이용이 가능하다. 본 총설에서는 *B. subtilis*와 병원성균인 *Listeria monocytogenes*의 일반 스트레스반응의 유사성과 차이점을 *B. subtilis*를 모델로 하여 비교하였다. 두 균의 일반 스트레스반응은 대체 전사 인자인 σ^B (alternative transcription factor sigma B)에 의해서 조절되고 신호전달 네트워크 또한 매우 유사하며, σ^B 의존성 유전자들에 의해 150여 개의 스트레스 단백질들이 발현된다. 그러나 *L. monocytogenes*는 *B. subtilis*의 에너지 스트레스 신호 경로를 가지고 있지 않은 점과, 일반 스트레스반응에 의해 병독 유전자들(virulence genes)이 조절되는 것이 가장 큰 차이점이다. 그러므로 *L. monocytogenes*의 생리 및 병원성 규명을 위해서는 일반 스트레스반응에 관한 이해가 매우 중요하다.

Key words □ *Bacillus subtilis*, general stress response, *Listeria monocytogenes*, σ^B (sigma B), signal transduction network

자연에 존재하는 세균들은 다양한 환경요인과 급격하게 변화하는 환경에 노출되어 있으므로 생존을 위하여 다양한 전략들을 가지고 있다. 이중 일반 스트레스반응(general stress response)은 *Bacillus subtilis*와 일부 그람양성 병원성 세균들(*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis* 등)이 가지고 있는 대표적인 생존전략으로, 세균의 성장이 억제되는 물리적 또는 에너지 스트레스 조건에서 일련의 단백질군을 발현시켜 다양한 스트레스에 대처한다(25, 43, 44, 53).

일반 스트레스반응에서는 대체 전사인자(alternative transcription factor)인 σ^B (sigma B)가 핵심적인 조절 단백질로, 일련의 스트레스 단백질들의 발현을 조절한다. σ^B 는 1979년 Losick과 Haldenwang에 의해서 세균의 대체 시그마 인자로 처음 보고되었다(22). 또한 *ctc* 유전자는 최초로 규명된 σ^B 의존성 유전자로, 프로모터(promoter) 지역의 염기서열이 RNA holoenzyme의 σ^B 에 의하여 특이적으로 인지된다(22, 23). σ^B 는 번역 후(post-translation)에 세포내 신호 전달 네트워크(signal transduction network)를 통하여 활성화되며, 이 네트워크에 관여되는 단백질-단백질 상호작용은 serine과 threonine의 인산화에 의해 조절된다(21, 43). 이 과정을 “partner swiching” 기전이라고 하며(1), two-component system에 의한 신호의 수용 및 전달과는 다른 방법으로 세균의 유전자 발현을 조절한다. 대표적인 그람양성세균인 *B. subtilis*는 비병원성 세균으로 일반 스트레스반응의 신호 전달 네트워크를 연구하기 위한 모델로 많이 연구되어 왔다.

병원성 세균에서 일반 스트레스반응은 스트레스에 대한 방어뿐만 아니라 병독 유전자(virulence genes)의 발현에 있어서도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 식품매개 병원성 세균인 *L. monocytogenes*는 물, 토양 등의 자연환경에 광범위하게 분포하며, 감염원이 되는 식품으로는 연치즈(soft cheese), 훈제육류 및 해산물 등이 있다(8, 37). 이 세균은 일반적으로 다른 세균들의 성장이 억제되는 저온(-0.4°C)(55), 고염(3 M NaCl)(13), 저산도(pH 2.5)(15, 58) 및 탄소원 고갈 상태(18)에서도 성장이 가능하다. 이러한 생리학적 특성에는 σ^B 에 의한 일반 스트레스반응이 관여하는 것으로 알려져 있다. *L. monocytogenes*의 σ^B 는 일차적 기능인 스트레스 유전자들의 발현을 통한 방어기능 이외에도 중요 병독 유전자들의 발현에도 관여한다(40, 58). 그러므로 *L. monocytogenes*의 질병 유발과정을 이해하는데 있어서 σ^B 의 활성화에 관여하는 신호전달 네트워크의 규명 및 σ^B 의존성 스트레스 단백질들의 기능을 연구하는 것은 매우 중요하다.

본 총설에서는 일반 스트레스반응 연구에서 모델 시스템으로 이용되고 있는 비병원성 세균인 *B. subtilis*와 병원성 세균인 *L. monocytogenes*를 대상으로 σ^B 활성화에 관여하는 신호전달 네트워크 및 σ^B 의존성 스트레스 유전자 또는 단백질의 기능에 관하여 기술하고, 지금까지 알려져 있는 결과들을 토대로 두 세균의 일반 스트레스반응을 비교하고자 한다.

본 론

일반 스트레스반응에 관여하는 대체 시그마 인자

그람양성세균인 *B. subtilis*와 *L. monocytogenes*의 일반 스트레

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-53-420-4840, Fax: 82-53-427-5664
E-mail: sjih@hotmail.com

Table 1. General stress responsive alternative sigma factors

	<i>B. subtilis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. coli</i>
Gram staining	+	+	-
Sigma factor	σ^B	σ^B	σ^S
Proposed σ^B -promoter consensus sequence	RGGWTTTRA-N ₁₄ -GGGTAT (21)	GTTT-N _{13/17} -GGGWAT (32)	

N, any base; W, A or T; D, A, T, or G; R, A or G

스반응은 σ^B 에 의하여 조절 된다(25, 43, 44). 반면에 그람음성세균인 *Escherichia coli*에서는 σ^S (RpoS)가 일반 스트레스반응에 관여하는 대체 시그마 인자로, 정지기(stationary phase) 또는 환경 스트레스 상태에서 세포를 보호하고 생존을 유지하기 위하여 다양한 유전자들을 발현시킨다(Table 1)(26, 36). 최근에는 많은 그람음성 병원성 세균(*Pseudomonas aeruginosa*, *Borrelia burgdorferi*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*)에서 σ^S 에 의한 일반 스트레스반응과 병인기전의 상관성이 보고되고 있다(31).

σ^B 활성을 위한 신호전달 네트워크에 관여하는 유전자들

*B. subtilis*에서 σ^B 오페론은 *rsbR*, *rsbS*, *rsbT*, *rsbU*, *rsbV*, *rsbW*, *sigB*, *rsbX* 유전자들로 구성되어 있고(59), *L. monocytogenes*도 위의 8개 유전자들을 σ^B 오페론에 모두 가지고 있다(Fig. 1). *B. subtilis*에서는 이 오페론의 상부지역에 존재하는 σ^A (housekeeping 시그마 인자) 의존성 프로모터에 의하여 위의 8개의 유전자들이 기본 수준으로 발현되며, 오페론 내부에 존재하는 σ^B 의존성 프로모터는 *rsbV*, *rsbW*, *sigB*, 그리고 *rsbX* 유전자들의 발현을 증가시킨다(27). σ^B 신호전달 네트워크에서 *rsbR*, *rsbS*, *rsbT*, *rsbU* 유전자들은 환경 스트레스(열, 산, 염, 에탄올, blue light) 신호에 관여하는 단백질을 발현시키며(28), 에너지 스트레스(탄소, 인, 산소 고갈) 신호에서는 *rsbQP* 오페론을 구성하는 유전자들에 의해 발현되는 단백질들이 관여한다(51). *rsbV*와 *rsbW*는 환경 및 에너지 스트레스 신호에서 σ^B 활성화에 공통적으로 관여되는 단백질들을 발현시킨다(16).

σ^B 신호 전달 네트워크 모델

B. subtilis σ^B 는 두개의 독립적 신호인 에너지 스트레스와 환경 스트레스에 의해 활성화된다. 이들 스트레스 신호는 세포내 신호 전달 네트워크를 통하여 σ^B 에 전달되고, 활성화된 σ^B 는

core RNA polymerase에 결합 후 σ^B 의존성 프로모터 지역을 인지하며, 그 결과 150여 개의 스트레스 유전자들의 전사가 개시된다(Fig. 2A)(1, 5, 7). 신호 전달 네트워크에는 공통 조절 단백질인 RsbV (길항 단백질)와 RsbW (anti- σ 인자)가 관여하며, 중요한 조절 단백질은 RsbW이다(16). 스트레스가 없는 세포에서 RsbW serine kinase는 RsbV 단백질을 인산화시켜 σ^B 와 결합하고, 그 결과 σ^B 는 불활성화 상태가 된다. 반면에 스트레스 상태의 세포는 인산화 된 RsbV (RsbV-P) 단백질로 부터 두개의 독립 인산화효소(serine phosphatase, PP2C)인 RsbP (에너지 스트레스)(51)와 RsbU (환경 스트레스)(52, 62)에 의해 인산이 제거되어 RsbW와 RsbV의 결합으로 σ^B 가 활성화된다. RsbW는 RsbV의 인산화 상태에 따라 결합 단백질을 σ^B (RsbW- σ^B) 또는 RsbV (RsbW-RsbV)로 바꾸게 되는데, 이를 “partner switching” 기전이라고 한다(1). 최근에는 에너지 스트레스와 환경 스트레스 신호에 의해 σ^B 가 활성화 되는 경로 이외에도 저온 스트레스(cold stress) 경로가 새롭게 제시되었다(9). 이 경로는 에너지와 환경 스트레스 경로와는 다르게 RsbP, RsbU, RsbV 단백질들과 관계없이 저온 스트레스 상태에서 σ^B 와 RsbW의 직접적인 상호작용에 의하여 σ^B 를 활성화시키는 것으로 추정되고 있으나, 저온 스트레스 상태에서 σ^B 가 활성화되는 정확한 경로는 아직 규명되어 있지 않다.

B. subtilis σ^B 신호 전달 네트워크에 관여하는 대부분의 조절 단백질들은 *L. monocytogenes* σ^B 신호전달 네트워크에 대부분 존재한다. 두 세균의 신호전달 네트워크에서 가장 큰 차이점은 *L. monocytogenes*는 한 종류의 인산화효소 RsbU가 존재한다는 것이다. 즉 *B. subtilis* 시스템과는 다르게 *L. monocytogenes*는 환경 및 에너지 스트레스 신호가 모두 RsbU 인산화효소를 통하여 σ^B 에 전달된다(12, 47). 저온 스트레스 상태에서도 *L. monocytogenes*는 *B. subtilis*와는 다르게 σ^B 활성화에 RsbU 인산

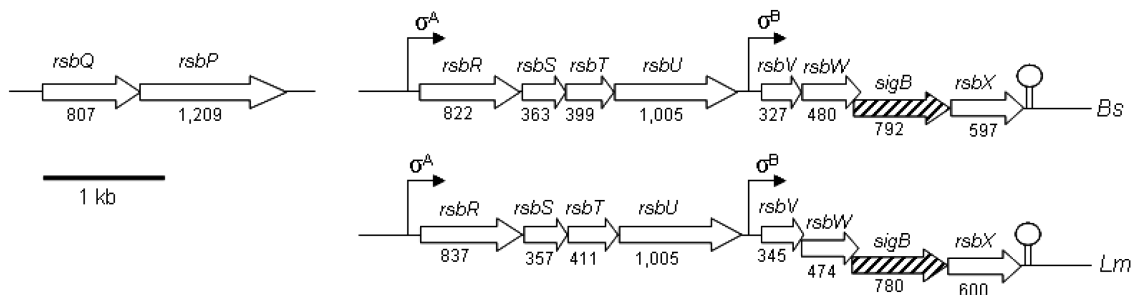


Fig. 1. Comparison of σ^B operons between *B. subtilis* (*Bs*) and *L. monocytogenes* (*Lm*). The eight-genes *sigB* operon contain a σ^A dependent promoter and a internal σ^B dependent promoter in both bacteria (20, 59). The *rsbQP* operon is required for energy signaling pathway in *B. subtilis* (51). The putative transcriptional terminators are indicated as stem loop structure. The size (bp) of each genes is indicated beneath the arrows.

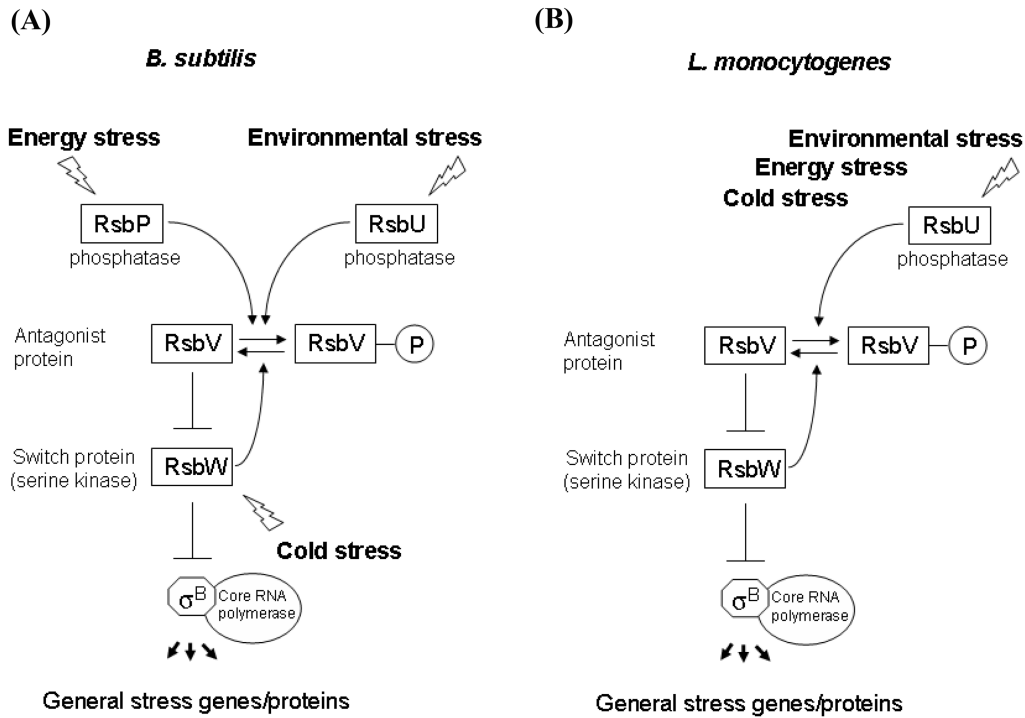


Fig. 2. Model of the σ^B signaling network in *B. subtilis* and *L. monocytogenes*. (A) Two independent signaling pathways (energy stress and environmental stress) converge on RsbV, but the novel signaling pathway for cold stress operates independently of RsbV (9). In unstressed cells, the RsbW anti- σ factor sequesters σ^B in an inactive complex, preventing its association with the RNA polymerase core enzyme (16). In addition to this anti- σ activity, RsbW possesses a serine kinase activity which specifically phosphorylates its RsbV antagonist, rendering it unable to bind RsbW. In stressed cells, the phosphate is removed from RsbV-P by either the RsbP energy phosphatase or the RsbU environmental phosphatase, allowing RsbV to complex RsbW, which then releases σ^B to direct the transcription of the general stress genes (51, 52, 62). (B) The proposed *L. monocytogenes* model is similar to that of *B. subtilis* but the energy stress pathway is missing. The single RsbU phosphatase of *L. monocytogenes* is important for the transmission of environmental and energy stress signals.

화효소가 필요하다. 예를 들면 7°C에서 *sigB*와 *rsbU* 유전자가 손실된 *L. monocytogenes*를 배양하면, 이들 돌연변이 균주들은 야생균주와는 다르게 σ^B 가 활성화 되지 않는다(47). 그러나 최근에는 저온 스트레스에 대한 방어기전으로 σ^B 의존적 기전과 σ^B 비의존적 경로가 제시되고 있으므로(11), 저온 스트레스에서 σ^B 의 정확한 역할에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. 이들 두 세균의 신호 전달 네트워크 모델은 Fig. 2와 같다.

σ^B 에 의한 스트레스 유전자의 발현 및 기능

σ^B 가 세균의 생화학적 특성에 어떻게 기여하는지를 이해하기 위해서는 σ^B 활성화에 의해 조절되는 단백질들을 규명하는 것이 중요하다. 이와 같은 연구를 위한 접근 방법으로 프로모터 부위의 염기서열 분석, 전사체학(transcriptomics), 또는 단백질체학(proteomics) 등이 이용되고 있다. 현재까지 *B. subtilis*에서는 150여 개의 σ^B 의존성 유전자들이 알려져 있다(45). 성장이 거의 정지되어 있는 스트레스 조건에서 150여 개의 스트레스관련 유전자들의 발현은 *B. subtilis*에서 총 단백질 합성능력의 약 1/3에 해당 된다(6). 최근에는 많은 연구자들에 의해 *L. monocytogenes*의 σ^B 의존성 유전자들이 밝혀지고 있다. Microarray 분석법과 Hidden Markov Model (HMM)에 의해 150여 개의 *L.*

monocytogenes 유전자들이 σ^B 에 의해 전사되는 것으로 추정되고 있다(32, 41, 46). HMM에 의하여 제시된 σ^B 의존성 프로모터들의 *in vivo* 기능은 분자생물학 및 유전학적 방법을 통하여 평가되어야 할 것이다. 두 세균들에 있어 스트레스 유전자들의 주요 기능은 1) 스트레스에 대한 직접적인 방어기능, 2) σ^B 활성화에 관여하는 유전자들의 조절, 3) 전달체(transporter), 4) 대사(metabolism), 그리고 5) *L. monocytogenes*에서 병독유전자들의 발현 등이 있다. *B. subtilis*와 *L. monocytogenes*에서 대표적으로 알려진 σ^B 의존성 유전자와 그 기능은 Table 2에 제시하였다.

1) 스트레스에 대한 방어기능을 하는 *B. subtilis*의 σ^B 의 의존성 유전자

ClpC ATPase (chaperone)와 ClpP protease는 열이나 산화 스트레스로부터 손상된 단백질을 복구하는 기능을 가지고 있다(34, 35). 비교적 손상이 적은 단백질은 ClpC ATPase에 의해서, 손상이 심한 단백질은 ClpP protease에 의해서 제거된다. ClpP protease는 stop codon이 없는 손상된 mRNA에 의해 정체되어 있는 리보솜(stalled ribosome)의 재활용에 관여한다(34). 즉 불완전하게 합성된 단백질들은 SsrA-SmpB 시스템에 의해 인지되고, trans-translation 방법에 의하여 불완전하게 합성된 단백질의 C-

Table 2. Representative σ^B -dependent genes and known or suggested function in *B. subtilis* and *L. monocytogenes*

Category	<i>B. subtilis</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
	Gene name	Function	Gene name	Function
Stress protection	<i>clpC, clpP</i>	Heat stress resistance (35) ^a	<i>opuC, ltrC</i>	Cold stress resistance (19, 32)
	<i>opuE</i>	Osmotic stress resistance (54)	<i>opuCA</i>	Osmotic stress resistance (19)
	<i>katB, katX</i>	Oxidative stress resistance (17)	<i>lmo1433</i>	Oxidative stress resistance (32)
	<i>bmrU, bmrR</i>	Antibiotic resistance (25)	<i>gadB</i>	Acid stress resistance (32)
Regulation of σ^B -activity	<i>rsbV</i>	Anti-anti- σ^B factor (27)	<i>rsbV</i>	Anti-anti- σ^B factor (20)
	<i>rsbW</i>	Anti- σ^B factor (27)	<i>rsbW</i>	Anti- σ^B factor (20)
	<i>sigB</i>	σ factor for general stress response (27)	<i>sigB</i>	σ factor for general stress response (20)
	<i>rsbX</i>	Indirect negative regulation of σ^B (serine phosphatase) (27)	<i>rsbX</i>	Indirect negative regulation of σ^B (serine phosphatase) (20)
Transporters (influx and efflux)	<i>ydfC</i>	Permease (45)	<i>lmo0169</i>	Similar to a glucose uptake protein (46)
	<i>yesP</i>	Permease component of sugar transporter (45)	<i>lmo0654</i>	Similar to ABC transporter (46)
	<i>yfkE</i>	Sodium/calcium antiporter (45)	<i>lmo0782</i>	Similar to mannose specific PTS component IIC (46)
	<i>yusP</i>	Drug efflux (45)	<i>lmo1425 (opuCD)</i>	Similar to betaine/carnitine /choline ABC transporter (46)
	<i>yvqJ</i>	Drug efflux (45)	<i>lmo1428 (opuCA)</i>	Similar to betaine/carnitine /choline ABC transporter (46)
Metabolism	<i>ycdF</i>	Dehydrogenase (45)	<i>lmo0210 (ldh)</i>	Similar to L-lactate dehydrogenase (46)
	<i>ycdG</i>	Glucosidase (45)	<i>lmo0231</i>	Similar to arginine kinase (46)
	<i>ycsD</i>	Hydroxymyristoyl dehydratase (45)	<i>lmo0539</i>	Similar to tagatose 1,6-diphosphate aldolase (46)
	<i>ydaD</i>	Dehydrogenase (42)	<i>lmo0913</i>	Similar to succinate semialdehyde dehydrogenase (46)
	<i>ydaP</i>	Pyruvate oxidase (42)	<i>lmo1883</i>	Similar to chitinases (46)
Virulence Non pathogenic bacteria			<i>prfA</i>	Positive regulatory factor A (39)
			<i>inlA/inlB</i>	Internalin (33)
			<i>bsh</i>	Bile salt hydrolase (50)

^aReferences are indicated in parentheses.

말단 펩타이드에 단백질해 태그(proteolysis tag)가 부가된 후 ClpP protease에 의해 제거된다(29, 30, 34, 38). 이러한 과정은 스트레스 상태에서 손상된 단백질들에 의해 정제되어 있는 리보솜을 연속적으로 재활용 시킴으로서 *B. subtilis*가 생존하는데 중요한 역할을 담당한다. OpuE는 삼투성 스트레스(osmotic stress)에 대한 방어기능을 한다. 삼투성 스트레스 환경에서 *B. subtilis*는 osmoprotectant 기능을 하는 proline을 OpuE transporter를 통하여 외부로부터 섭취한다(54). 실제로 *B. subtilis*의 *opuE* 유전자는 σ^B 의존성 및 비의존성(σ^A) 프로모터에 의해 조절된다. 삼투성 스트레스 상태에서 σ^B 의존성 프로모터 활성이 일시적으로 증가되는 반면, σ^A 에 의한 *opuE* 유전자의 전사수준은 삼투성 농도에 비례하여 높은 활성을 유지한다(48). *B. subtilis*는 적어도 두개의 신호전달 경로에 의하여 환경 내 삼투압 변화에 대응하는 것으로 생각된다. KatB와 KatX catalase는 산화적 손상으로부

터 세포를 보호하는 것으로 알려져 있다(17). 특히 KatX는 발아아포(germinating spore)의 과산화수소(hydrogen peroxide) 저항성에 매우 중요한 역할을 하고 있다(2). BmrU와 BmrR은 다약제 내성 시스템(multidrug-resistant system)을 구성하는 단백질로, 리팜핀(rifampin) 내성과의 관련성이 보고되었다(25, 60). 정지기에 있는 야생형 *B. subtilis*가 *sigB* 돌연변이 균주에 비해 높은 리팜핀 내성을 나타내었고, 또한 세포에 리팜핀 항균제가 처리되었을 때 σ^B 조절군이 유도되었다(42).

2) 스트레스에 대한 방어기능과 병독유전자 발현에 관여하는 *L. monocytogenes*의 σ^B 의존성 유전자

*L. monocytogenes*가 약 12~18%의 NaCl 농도에서 성장할 수 있는 능력에는 OpuC transporter를 통한 osmoprotectant carnitine 섭취가 관여한다(19, 56). OpuC transporter는 *opuCA*, *opuCB*,

opuCC 및 *opuCD* 4개의 유전자가 오페론을 형성하며, OpuC 돌연변이 균주는 carnitine을 섭취 할 수 있는 능력이 결여되어 있다(19). GadB, glutamate decarboxylase (GAD) 시스템은 낮은 pH 환경에서 *L. monocytogenes*의 생존에 기여한다(32). 산성 환경에 노출된 세포는 GAD system을 통하여 glutamate를 γ -aminobutyrate로 전환시키면서 세포내 양이온 (H^+) 농도를 감소시킨다(14). GadB 이외에 Pfk (6-phosphofructokinase), GalE (UDP-glucose-4-epimerase), ClpP (ATP-dependent Clp protease), Lmo1580 (unknown protein)도 산성 스트레스 상태에서 발현되는 σ^B 의존성 단백질 후보로 2D-프로테오믹 분석에 의해 제시되었으나(57), 각 유전자의 프로모터에 대한 *in vivo* σ^B 의 활성화 및 세포내 기능은 아직까지 알려져 있지 않다. Carnitine은 삼투성 스트레스로부터 세포를 보호하는 기능 이외에도 *L. monocytogenes*가 0°C 부근의 저온에서 성장할 수 있는 능력에도 관여한다(3). Carnitine은 σ^B 의존성 유전자인 *opuC*에 의해 발현되는 OpuC transporter에 의해 운반된다(19). Low-temperature-requirement C protein (LtrC)는 *L. monocytogenes*가 4°C에서 성장시 요구되는 필수 단백질로(61), microarray 분석에 의하여 σ^B 의존성 유전자로 제시되었다(32). σ^B 의존성 유전자인 *lmo1433*은 glutathione reductase로, 산화 스트레스 손상과 관련성이 있다(32).

L. monocytogenes σ^B 는 위에서 설명한 스트레스 단백질의 발현을 통해 세포를 보호하는 일차적 기능 이외에도 병독유전자의 발현에도 중요한 역할을 한다. *prfA* 유전자는 2개의 프로모터 (*prfAP1*과 *prfAP2*)에 의해 전사되고, 이 중 *prfAP2*는 σ^B 의존성 프로모터임이 확인되었다(39). *prfA* 유전자에 의해 발현되는 PrfA 단백질은 다수의 병독유전자 발현에 관여하는 주 조절자이다(10). Bile salt hydrolase (Bsh)은 담즙 저항성에 관련되는 단백질로, *L. monocytogenes*가 숙주의 담낭, 십이지장 또는 소장에서 생존하거나 집락을 형성할 수 있도록 한다(4, 24, 49, 50). InlA (internalin A)와 InlB (internalin B)는 숙주의 장상피세포에 *L. monocytogenes*가 침입하는데 매우 중요한 역할을 한다(33).

결 론

세균들이 다양한 스트레스 환경에서 생존하기 위한 전략들 중 일반 스트레스반응은 매우 효율적이고 강력한 생존 전략 중의 하나이다. σ^B 에 의한 일반 스트레스반응은 그람양성 비병원 세균인 *B. subtilis*를 모델 시스템으로 많은 연구가 진행되어 왔으나, *B. subtilis* 이외의 일부 그람양성 병원성 세균에 있어서도 일반 스트레스반응은 다양한 스트레스 환경에서의 생존 및 병원기전에서 중요한 역할을 하고 있다. σ^B 는 신호전달과정 네트워크를 통하여 활성화된다. 신호전달 네트워크에 관여하는 핵심 단백질인 RsbW은 길항 단백질인 RsbV의 인산화 상태에 따라 결합단백질을 σ^B (RsbW- σ^B ; system off) 또는 RsbV (RsbW-RsbV; system on)와 바꾸는 “partner switching” 기전에 의하여 활성화된다. 지금까지 제시된 *B. subtilis*와 *L. monocytogenes*의 σ^B 신호전달 네트워크 모델은 전체적으로는 매우 유사하지만, 뚜렷한 차이점으로는 *L. monocytogenes*는 *B. subtilis*에서 에너지 스트레스

신호 전달에 관여하는 RsbP 인산화효소를 가지고 있지 않으므로 에너지 스트레스 신호와 환경 스트레스 신호 모두 σ^B 를 활성화시키기 위해서는 RsbU 인산화효소가 필요하다. 또한 다른 차이점으로 저온 스트레스에서 *L. monocytogenes*는 σ^B 활성화에 있어 *B. subtilis*와는 다르게 RsbU 인산화효소가 필요하다는 것이다. 그러나 최근에 σ^B 비의존적 저온 스트레스 경로가 제시됨으로써 해서, 저온 스트레스에서 σ^B 의 역할에 대해서는 추후 연구가 필요하다.

다양한 스트레스에 노출된 *B. subtilis*와 *L. monocytogenes*에서 150여 개의 σ^B 의존성 스트레스 유전자들이 발현되는 것이 단백질 또는 전사체 분석을 통하여 규명되었다. σ^B 에 의해 발현된 단백질의 주요 기능은 크게 스트레스에 대한 직접적 방어, σ^B 의 활성 조절, 전달체, 대사, 그리고 *L. monocytogenes*에서 병독유전자들의 발현으로 구분된다. 지금까지 보고된 σ^B 의존성 단백질들 중 다수는 세포내 생물학적 기능이 잘 알려져 있지 않다. 그러므로 이를 단백질들의 기능을 규명하는 것은 스트레스 상태에서 세균들의 적응 및 생존전략을 이해하는데 있어 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 기대한다.

감사의 말

본 연구는 보건복지가족부 보건의료연구개발 사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(A084798).

참고문헌

- Alper, S., L. Duncan, and R. Losick. 1994. An adenosine nucleotide switch controlling the activity of a cell type-specific transcription factor in *B. subtilis*. *Cell* 77, 195-205.
- Bagyan, I., L. Casillas-Martinez, and P. Setlow. 1998. The *katX* gene, which codes for the catalase in spores of *Bacillus subtilis*, is a forespore-specific gene controlled by σ^F , and KatX is essential for hydrogen peroxide resistance of the germinating spore. *J. Bacteriol.* 180, 2057-2062.
- Bayles, D.O. and B.J. Wilkinson. 2000. Osmoprotectants and cryoprotectants for *Listeria monocytogenes*. *Lett. Appl. Microbiol.* 30, 23-27.
- Begley, M., R.D. Sleator, C.G.M. Gahan, and C. Hill. 2005. Contribution of three bile-associated loci, *bsh*, *pva*, and *bitB*, to gastrointestinal persistence and bile tolerance of *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.* 73, 894-904.
- Benson, A.K. and W.G. Haldenwang. 1992. Characterization of a regulatory network that control σ^B expression in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 174, 749-757.
- Bernhardt, J., U. Völker, A. Völker, H. Antelmann, R. Schmid, H. Mach, and M. Hecker. 1997. Specific and general stress proteins in *Bacillus subtilis*-a two-dimensional protein electrophoresis study. *Microbiology* 143, 999-1017.
- Boylan, S.A., A.R. Redfield, M.S. Brody, and C.W. Price. 1993. Stress-induced activation of the σ^B transcription factor of *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 175, 7931-7937.
- Braden, C.R. 2003. Listeriosis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 22, 745-746.
- Brigulla, M., T. Hoffmann, A. Krisp, A. Völker, E. Bremer, and U. Völker. 2003. Chill induction of the SigB-dependent general stress response in *Bacillus subtilis* and its contribution to low-tempera-

- ture adaptation. *J. Bacteriol.* 185, 4305-4314.
10. Chakraborty, T., M. Leimeister-Wchter, E. Domann, M. Hartl, W. Goebel, T. Nichterlein, and S. Notermans. 1992. Coordinate regulation of virulence genes in *Listeria monocytogenes* requires the product of the *prfA* gene. *J. Bacteriol.* 174, 568-574.
 11. Chan, Y.C., K.J. Boor, and M. Wiedmann. 2007. σ^B -dependent and σ^B -independent mechanisms contribute to transcription of *Listeria monocytogenes* cold stress genes during cold shock and cold growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 6019-6029.
 12. Chaturongakul, S. and K.J. Boor. 2004. RsbT and RsbV contribute to σ^B -dependent survival under environmental, energy, and intracellular stress conditions in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 5349-5356.
 13. Cole, M.B., M.V. Jones, and C. Holyoak. 1990. The effect of pH, salt concentration and temperature on the survival and growth of *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Bacteriol.* 69, 63-72.
 14. Cotter, P.D., C.G.M. Gahan, and C. Hill. 2001. A glutamate decarboxylase system protects *Listeria monocytogenes* in gastric fluid. *Mol. Microbiol.* 40, 2465-2475.
 15. Davis, M.J., P.J. Coote, and C.P. O' Byrne. 1996. Acid tolerance in *Listeria monocytogenes*: the adaptive acid tolerance response (ATR) and growth phase-dependent acid resistance. *Microbiology* 142, 2975-2982.
 16. Dufour, A. and W.G. Haldenwang. 1994. Interactions between a *Bacillus subtilis* anti-sigma factor (RsbW) and its antagonist (RsbV). *J. Bacteriol.* 176, 1813-1820.
 17. Engelmann, S., C. Lindner, and M. Hecker. 1995. Cloning, nucleotide sequence, and regulation of *katE* encoding a σ^B -dependent catalase in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 177, 5598-5605.
 18. Ferreira, A., C.P. O' Byrne, and K.J. Boor. 2001. Role of σ^B in heat, ethanol, acid, and oxidative stress resistance and during carbon starvation in *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4454-4457.
 19. Fraser, K.R., D. Sue, M. Wiedmann, K. Boor, and C.P. O' Byrne. 2003. Role of σ^B in regulating the compatible solute uptake systems of *Listeria monocytogenes*: osmotic induction of *opuC* is σ^B dependent. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 2015-2022.
 20. Glaser, P., L. Frangeul, C. Buchrieser, C. Rusniok, A. Amend, F. Baquero, P. Berche, H. Bloecker, P. Brandt, T. Chakraborty, A. Charbit, F. Chetouani, E. Couv, A. de Daruvar, P. Dehoux, E. Domann, G. Domnguez-Bernal, E. Duchaud, L. Durant, O. Dussurget, K.D. Entian, H. Fsihi, F. Garca-del Portillo, P. Garrido, L. Gautier, W. Goebel, N. Gmez-Lpez, T. Hain, J. Hauf, D. Jackson, L.M. Jones, U. Kaerst, J. Kreft, M. Kuhn, F. Kunst, G. Kurapkat, E. Madueno, A. Maitournam, J.M. Vicente, E. Ng, H. Nedjari, G. Nordsiek, S. Novella, B. de Pablos, J.C. Prez-Diaz, R. Purcell, B. Rimmel, M. Rose, T. Schlueter, N. Simoes, A. Tierrez, J.A. Vzquez-Boland, H. Voss, J. Wehland, and P. Cossart. 2001. Comparative genomics of *Listeria* species. *Science* 294, 849-852.
 21. Haldenwang, W.G. 1995. The sigma factors of *Bacillus subtilis*. *Microbiol. Rev.* 59, 1-30.
 22. Haldenwang, W.G. and R. Losick. 1979. A modified RNA polymerase transcribes a cloned gene under sporulation control in *Bacillus subtilis*. *Nature* 282, 256-260.
 23. Haldenwang, W.G. and R. Losick. 1980. Novel RNA polymerase σ factor from *Bacillus subtilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 7000-7004.
 24. Hardy, J., J.J. Margolis, and C.H. Contag. 2006. Induced biliary excretion of *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.* 74, 1819-1827.
 25. Hecker, M. and U. Völker. 2001. General stress response of *Bacillus subtilis* and other bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 44, 35-91.
 26. Henнге-Aronis, R. 2000. The general stress response in *Escherichia coli*, pp. 161-178. In G. Storz and R. Henнге-Aronis (eds.), *Bacterial Stress Responses*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
 27. Kalman, S., M.L. Duncan, S.M. Thomas, and C.W. Price. 1990. Similar organization of the *sigB* and *spoIIA* operons encoding alternate sigma factors of *Bacillus subtilis* RNA polymerase. *J. Bacteriol.* 172, 5575-5585.
 28. Kang, C.M., M.S. Brody, S. Akbar, X. Yang, and C.W. Price. 1996. Homologous pairs of regulatory proteins control activity of *Bacillus subtilis* transcription factor σ^B in response to environmental stress. *J. Bacteriol.* 178, 3846-3853.
 29. Karzai, A.W., E.D. Roche, and R.T. Sauer. 2000. The SsrA-SmpB system for protein tagging, directed degradation and ribosome rescue. *Nat. Struct. Biol.* 7, 449-455.
 30. Karzai, A.W. and R.T. Sauer. 2001. Protein factors associated with the SsrA-SmpB tagging and ribosome rescue complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 3040-3044.
 31. Kazmierczak, M.J., W. Wiedmann, and K.J. Boor. 2005. Alternative sigma factor and their roles in bacterial virulence. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 69, 527-543.
 32. Kazmierczak, M.J., S.C. Mithoe, K.J. Boor, and M. Wiedmann. 2003. *Listeria monocytogenes* σ^B regulates stress response and virulence functions. *J. Bacteriol.* 185, 5722-5734.
 33. Kim, H., H. Marquis, and K.J. Boor. 2005. σ^B contributes to *Listeria monocytogenes* invasion by controlling expression of *inlA* and *inlB*. *Microbiology* 151, 3215-3222.
 34. Kim, Y.I., R.E. Burton, B.M. Burton, R.T. Sauer, and T.A. Baker. 2000. Dynamics of substrate denaturation and translocation by the ClpXP degradation machine. *Mol. Cell.* 5, 639-648.
 35. Krger, E., E. Witt, S. Ohlmeier, R. Hanschke, and M. Hecker. 2000. The *clp* proteases of *Bacillus subtilis* are directly involved in degradation of misfolded proteins. *J. Bacteriol.* 182, 3259-3265.
 36. Lange, R. and R. Henнге-Aronis. 1991. Identification of a central regulator of stationary-phase gene expression in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 5, 49-59.
 37. McLaughlin, J., R.T. Mitchell, W.J. Smerdon, and K. Jewell. 2004. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *Int. J. Food Microbiol.* 92, 15-33.
 38. Muto, A., A. Fujihara, K.I. Ito, J. Matsuno, C. Ushida, and H. Himeno. 2000. Requirement of transfer-messenger RNA for the growth of *Bacillus subtilis* under stresses. *Genes Cells* 5, 627-635.
 39. Nadon, C., B.M. Bowen, M. Wiedmann, and K.J. Boor. 2002. σ^B contributes to PrfA-mediated virulence in *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.* 70, 3948-3952.
 40. Nair, S., E. Milohanic, and P. Berche. 2000. ClpC ATPase is required for cell adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes*. *Infect. Immun.* 68, 7061-7068.
 41. O'Byrne, C.P. and K.A.G. Karatzas. 2008. The role of sigma B (σ^B) in the stress adaptations of *Listeria monocytogenes*: overlaps between stress adaptation and virulence. *Adv. Appl. Microbiol.* 65, 115-140.
 42. Petersohn, A., H. Antelmann, U. Gerth, and M. Hecker. 1999. Identification and transcriptional analysis of new members of the σ^B regulon in *Bacillus subtilis*. *Microbiology* 145, 869-880.
 43. Price, C.W. 2000. Protective function and regulation of the general stress response in *Bacillus subtilis* and related gram-positive bacteria, pp. 179-197. In G. Storz and R. Henнге-Aronis (eds.), *Bac-*

- terial Stress Responses. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
44. Price, C.W. 2002. General stress response, pp. 369-384. In A.L. Sonenshein, R. Losick, and J.A. Hoch (eds.), In *Bacillus subtilis* and its closest relatives: from genes to cells. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
 45. Price, C.W., P. Fawcett, H. Crmonie, N. Su, C.K. Murphy, and P. Youngman. 2001. Genome-wide analysis of the general stress response in *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 41, 757-774.
 46. Raengpradub, S., M. Wiedmann, and K.J. Boor. 2008. Comparative analysis of the σ^B -dependent stress responses in *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* strains exposed to selected stress conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 158-171.
 47. Shin, J.H., M.S. Brody, and C.W. Price. Unpublished results.
 48. Spiegelhalter, F. and E. Bremer. 1998. Osmoregulation of the *opuE* proline transport gene from *Bacillus subtilis*: contributions of the σ^A - and σ^B -dependent stress-responsive promoters. *Mol. Microbiol.* 29, 285-296.
 49. Sue, D., D. Fink, M. Wiedmann, and K.J. Boor. 2004. σ^B -dependent gene induction and expression in *Listeria monocytogenes* during osmotic and acid stress conditions simulating the intestinal environment. *Microbiology* 150, 3843-3855.
 50. Sue, D., K.J. Boor, and M. Wiedmann. 2003. σ^B -dependent expression patterns of compatible solute transporter genes *opuCA* and *lmo1421* and the conjugated bile salt hydrolase gene *bsh* in *Listeria monocytogenes*. *Microbiology* 149, 3247-3256.
 51. Vijay, K., M.S. Brody, E. Fredlund, and C.W. Price. 2000. A PP2C phosphatase containing a PAS domain is required to convey signals of energy stress to the σ^B transcription factor of *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 35, 180-188.
 52. Voelker, U., A. Voelker, B. Maul, M. Hecker, A. Dufour, and W.G. Haldenwang. 1995. Separate mechanism activate σ^B of *Bacillus subtilis* in response to environmental and metabolic stresses. *J. Bacteriol.* 177, 3771-3780.
 53. Völker, U., B. Maul, and M. Hecker. 1999. Expression of the σ^B -dependent general stress regulon confers multiple stress resistance in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 181, 3942-3948.
 54. Von Blohn, C., B. Kempf, R.M. Kappes, and E. Bremer. 1997. Osmostress response in *Bacillus subtilis*: characterization of a proline uptake system (*OpuE*) regulated by high osmolarity and the alternative transcription factor σ^B . *Mol. Microbiol.* 25, 175-187.
 55. Walker, S.J., P. Archer, and J.G. Banks. 1990. Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *J. Appl. Bacteriol.* 68, 157-162.
 56. Wemekamp-Kamphuis, H.H., R.D. Sleator, J.A. Wouters, C. Hill, and T. Abee. 2004. Molecular and physiological analysis of the role of osmolyte transporters BetL, Gbu, and OpuC in growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 2912-2918.
 57. Wemekamp-Kamphuis, H.H., J.A. Wouters, P.P.L.A. de Leeuw, T. Hain, T. Chakraborty, and T. Abee. 2004. Identification of sigma factor σ^B -controlled genes and their impact on acid stress, high hydrostatic pressure, and freeze survival in *Listeria monocytogenes* EGD-e. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 3457-3466.
 58. Wiedmann, M., T.J. Arvik, R.J. Hurley, and K.J. Boor. 1998. General stress transcription factor σ^B and its role in acid tolerance and virulence of *Listeria monocytogenes*. *J. Bacteriol.* 180, 3650-3656.
 59. Wise, A.A. and C.W. Price. 1995. Four additional genes in the *sigB* operon of *Bacillus subtilis* that control activity of the general stress factor σ^B in response to environmental signals. *J. Bacteriol.* 177, 123-133.
 60. Zheleznova, E.E., P.N. Markham, A.A. Neyfakh, and R.G. Brennan. 1997. Preliminary structural studies on the multi-ligand-binding domain of the transcription activator, BmrR, from *Bacillus subtilis*. *Protein Sci.* 6, 2465-2468.
 61. Zheng, W. and S. Kathariou. 1995. Differentiation of epidemic-associated strains of *Listeria monocytogenes* by restriction fragment length polymorphism in a gene region essential for growth at low temperatures (4°C). *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 4310-4314.
 62. Yang, X., C.M. Kang, M.S. Brody, and C.W. Price. 1996. Opposing pairs of serine protein kinases and phosphatases transmit signals of environmental stress to activate a bacterial transcription factor. *Genes Dev.* 10, 2265-2275.

(Received February 3, 2009/Accepted March 11, 2009)

ABSTRACT : Comparison of the σ^B -Dependent General Stress Response between *Bacillus subtilis* and *Listeria monocytogenes*

Ji-Hyun Shin (Department of Microbiology, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu 700-422, Republic of Korea)

A diverse range of stresses such as heat, cold, salt, ethanol, oxygen starvation or nutrient starvation induces same stress-responsive proteins. This general stress response enhances bacterial survival significantly. In *Bacillus subtilis* and closely related Gram-positive bacteria *Listeria monocytogenes*, the general stress response is controlled by the alternative transcription factor σ^B . The activity of σ^B is regulated post-translationally by a signal transduction network that has been extensively studied in *B. subtilis*, and serve as a model for *L. monocytogenes*. The proposed model of *L. monocytogenes* signal transduction network is similar to that of *B. subtilis*, but the energy stress pathway is missing. More than 150 general stress proteins belong to σ^B regulon of *B. subtilis* and *L. monocytogenes*. In both bacteria, σ^B function is primarily important for resistance to diverse stresses. In addition, σ^B function contributes to the control of important virulence genes in food-borne pathogen *L. monocytogenes*. Therefore, understanding of the general stress response is important not only for bacterial physiology, but also for pathogenicity.