

## 동물병원성 뇌수막염 유발 곰팡이 *Cryptococcus neoformans*의 Pathogenomic Signaling Network 연구와 항곰팡이제 개발

고영준 · 권유원 · 나한나 · 반응선\*

연세대학교 생명시스템대학 생명공학과, 곰팡이병원성연구센터

**Pathogenomic Signaling Networks and Antifungal Drug Development for Human Fungal Pathogen *Cryptococcus neoformans*.** Ko, Young-Joon, Yoo Won Kwon, Hanna Na, and Yong-Sun Bahn\*. Department of Biotechnology, Center for Fungal Pathogenesis, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea – Past decade systemic mycoses caused by opportunistic human fungal pathogens, including *Candida*, *Aspergillus*, and *Cryptococcus*, have been a growing problem for both immunocompromised and immunocompetent individuals. Particularly, *Cryptococcus neoformans* has recently emerged as a major fungal pathogen, which can cause fungal pneumonia and meningitis that are lethal if not timely medicated. However, treatment for cryptococcosis has been difficult due to a lack of proper anti-cryptococcal drugs with fungicidal activity and less toxicity. In this review we introduced novel therapeutic methods for treating cryptococcosis by exploring pathogenomic signaling networks of *C. neoformans* with genome-wide transcriptome approaches as well as diverse molecular/genetic tools.

**Key words:** Antifungal drugs, cAMP-pathway, *Cryptococcus neoformans*, fungal pathogen, HOG-pathway, pathogenomic signaling network

### 서 론

지난 수십 년 동안 장기이식수술, 항암치료, 후천성면역결핍증(AIDS) 및 고령화 등으로 인하여 면역능력이 저하된 환자들이 급격히 증가하고 있고, 이들 고위험 군의 경우 *Candida*, *Aspergillus* 및 *Cryptococcus* 등의 인간 기회감염성 병원성 곰팡이(human opportunistic fungal pathogen)에 의한 감염과 질환이 전세계적으로 지속적인 증가추세를 보이고 있다[11]. 특히 가장 대표적인 기회감염성 곰팡이인 *Candida*는 미국 병원들에서 4번째로 혈액 배양물에서 많이 검출되는 병원감염(nosocomial infection) 원인균으로서, 미국 내 전체 Candidemia (*Candida* 혈액감염증) 환자의 수는 약 10,500~42,000명에 이르고, 그 사망률은 29~47%에 이르는 것으로 알려져 있다[11]. 또한 사상성곰팡이(filamentous fungi)인 *Aspergillus*에 의한 침습성곰팡이감염(invasive fungal infection)은 골수 이식 환자 사망의 주된 원인이 되고 있다. 한편 2006년의 경우 전 세계적으로 조사된 HIV-감염 환자 중에서 957,900명의 사람들이 *Cryptococcus neoformans*에 의한 뇌수막염에 걸렸고 이 중 624,700명이 그로 인해 사망했으며, 90일 이내에 사망하는 확률 또한 지역에 따라 적게는 9%에서 많게는 70%에 이르렀다는 결과가 발표된 바

있다[15]. 특히 sub-Saharan Africa 지역의 경우 HIV에 감염된 환자 중 cryptococcosis에 의한 사망이 말라리아, 설사병, 어린이 집단질병에 이어 4번째로 높았다[15]. 최근에는 *C. neoformans*에 의한 뇌수막염이 면역기능이 정상적인 건강한 사람에게서 집단으로 발병하여 사망한 사례까지 알려져서 더 이상 곰팡이류에 의한 감염은 면역기능이 저하된 사람에게서만 발병되지 않는다는 것이 입증되었다[6].

앞으로 의료기술의 발달로 전 세계가 노령화 사회로 접어들면서 면역 기능의 저하로 인한 곰팡이 감염은 점점 더 증가될 것으로 예상되고 있으나, 현재 상업적으로 널리 이용되는 항진균제의 경우 지나친 독성 및 빈번한 저항성 균주의 출현으로 광범위한 활성을 나타내면서 독성은 적은 새로운 항진균제에 대한 필요성이 증대되고 있다. 본 총설에서는 이러한 인간병원성 곰팡이인 *C. neoformans*의 생리학적 특성에 대해 설명하고, 그 생존, 분화, 및 병원성을 조절하는 필수 신호전달체계의 특징과 이를 이용한 새로운 항곰팡이 치료법 개발의 예를 설명하고자 한다.

### *Cryptococcus neoformans*란?

*C. neoformans*는 담자균류(basidiomycota)에 속하는 동물감염성 병원성 곰팡이로서, 동물 숙주 내에서 살아갈 수 있는 기생생활사(parasitic life cycle)를 갖지만 동시에 일반 자연환경에서도 살아갈 수 있는 부생성생활사(saprophytic life cycle) 역시 가지고 있다. *C. neoformans*는 기본적으로 반수체(haploid) 생활사를 갖지만, 유성생식(sexual reproduction)

\*Corresponding author

Tel: 82-2-2123-5558, Fax: 82-2-362-7265

E-mail: ysbahn@yonsei.ac.kr

과정에서는 포자형성 전에 일시적으로 이배체(diploid) 생활사를 갖기도 한다. *C. neoformans* 분화과정에서 한가지 흥미로운 점은  $\alpha$ -mating type과 a-mating type 사이에서 일어나는 유성분화과정 이외에도  $\alpha$ -mating type사이에서 주로 일어나는 monokaryotic fruiting이라는 분화과정이다. 전 세계에서 발견되는 대부분의 *C. neoformans*는  $\alpha$ -mating type이기 때문에 monokaryotic fruiting에 의한 분화과정은 *C. neoformans*의 진화과정에 큰 영향을 끼친다는 것을 예상할 수 있다[7].

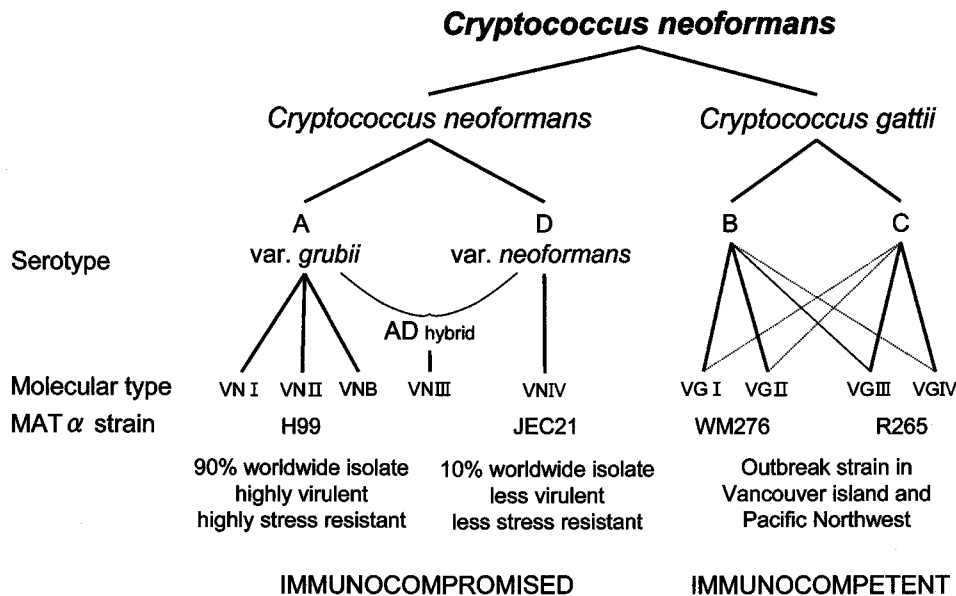
*C. neoformans*는 인간 기회감염성 병원성 곰팡이로서 AIDS, 장기이식, 장기항암치료 등에 의해 면역력이 저하되거나 결핍된 환자들의 중추신경계에 곰팡이성 뇌수막염(fungal meningitis)을 일으킨다. *C. neoformans*는 토양, 나무, 새의 배설물 등과 같은 다양한 자연환경에서 광범위하게 발견되며 포자(spore)나 건조효모세포(dried yeast cell)의 형태로 호흡기를 통해 폐에 감염되어 곰팡이성 폐렴(fungal pneumonia)을 일으키거나, 이후 중추신경계로 퍼져 뇌혈관장벽(blood-brain-barrier)을 통과한 후 뇌수막염을 일으키게 된다[7].

*C. neoformans*의 대표적인 두 가지 병원성 요소는 다당류성 캡슐(polysaccharide capsule)과 멜라닌(melanin)이다. *C. neoformans*의 세포벽 주위를 둘러싸고 있는 캡슐은 세포의 크기를 증가시켜 대식세포(macrophage)에 의한 식세포작용(phagocytosis)과 탈수현상(dehydration)을 저해한다. 항산화성 물질인 멜라닌은 산화, 자외선 노출, 고온 등의 스트레스 환경에 대한 강한 저항성을 갖게 함은 물론 캡슐과 마찬가지로

지로 대식세포의 식세포작용 역시 저해하여 *C. neoformans*에 대한 숙주의 방어체계를 약화시킨다[7].

*C. neoformans*는 A, B, C, D의 네 가지 혈청형(serotype) 가운데 serotype A(*C. neoformans* var. *grubii*)가 전 세계적으로 가장 많이 발견되며, serotype D(*C. neoformans* var. *neoformans*)는 일부 유럽지역에서 많이 발견되는 혈청형으로서 주로 면역력이 저하된 환자들에게서 많이 발견된다. 이에 반해 serotype B와 C(*C. neoformans* var. *gattii*)는 면역력이 저하된 사람뿐만 아니라 면역체계에 이상이 없는 건강한 사람들에게도 감염되는 것으로 알려져 있다[4](Fig. 1). 따라서 최근에는 새로운 종으로 분리되어 *Cryptococcus gattii*로 명명되었다[10]. 특히 *C. gattii*에 의한 뇌수막염은 캐나다 British Columbia 지역에서 1999년에 처음 발병한 이래 현재까지 약 160여명의 정상인이 감염되어 그 중에서 8명이 사망함은 물론 미국 서북부 지역까지 감염이 보고되어 그 우려가 증가되고 있다[6, 14, 16].

현재 cryptococcosis를 치료하기 위한 약물로 polyene계열인 Amphotericin B, pyrimidine 길항제인 flucytosine, cytochrome P450을 타깃으로 하는 azole계열인 fluconazole 등이 사용되는데 대표적으로 치료율이 70%에 달하는 Amphotericin B와 flucytosine의 병행요법이 주로 사용된다. 하지만 각각의 약들은 인체에 대한 심각한 부작용과 내성을 지닌 균의 등장으로 사용상의 많은 제약이 있다. 따라서 이를 극복하기 위한 노력으로 전 세계적으로 많은 연구실에서 새로운 항크립토크쿠스 타깃 인자를 개발하기 위한 노력을



**Fig. 1. Evolution of the *Cryptococcus neoformans* species complex.** *Cryptococcus neoformans* is classified into four different serotypes (A to D) based on the capsular structures. Serotype A (*C. neoformans* var. *grubii*) and serotype D (*C. neoformans* var. *neoformans*) generally cause fungal pneumonia and meningitis in immunocompromised patients. Between these, serotype A strains are more widely distributed worldwide and generally more stress-resistant than the serotype D strains. In contrast, serotypes B and C strains have been recently reclassified as an independent species *Cryptococcus gattii* due to their ability to cause fungal meningitis in immunocompetent individuals, as witnessed in recent outbreak in Vancouver Island, the Canada mainland, and Pacific Northwest.

기울이고 있다. 특히 연세대학교 생명공학과와 반응신 교수 연구실에서는 이러한 한계를 극복하기 위해 다양한 분자생물학적, 분자유전학적, 유전체학적, 시스템생물학적 방법을 적용하여 새로운 항진균 타깃을 찾고 가장 효과적인 약물을 개발하고자 노력하고 있다.

### C. neoformans의 Stress-activated Signaling Pathway의 연구

지구상에 존재하는 수많은 생명체들은 생명 유지를 위해서 주변환경과 다른 생물체들과 상호작용하며 적응하여 살아간다. 외부에서 감지된 자극은 다양한 신호전달체계를 통해서 신호로 전달되고, 이 신호는 성장, 분화, 생식, 대사 등 세포 내에서 매우 복잡한 활동을 조절하여 해당 환경에 적응할 수 있도록 한다. 만약 이러한 환경 반응성 신호전달체계를 정확하게 이해 하고 조절 할 수 있다면 새로운 항곰팡이제의 개발 및 여러 질병의 치료에 획기적인 도구가 될 것이다.

반응신 교수 연구실은 인간병원성 곰팡이 *C. neoformans*의 환경 반응성 신호전달네트워크의 작용기작을 규명하고, 신규 곰팡이 병원성 조절 유전자 및 관련 신호전달체계의 기능을 밝히는데 초점을 두고 있다. 특히 지난 수 년간 본 연구실은 다양한 환경적 스트레스에 중추적인 역할을 하는 *C. neoformans*의 HOG(High Osmolarity Glycerol response)와 Ras/cyclic-AMP(cAMP) 신호전달체계의 특성 규명에 많은 기여를 한 바 있다[2, 3]. 특히 이 두 가지 신호전달체계들은 환경스트레스 반응 이외에도 *C. neoformans*의 두 가지 주요 병원성인자인 캡슐과 멜라닌의 합성에 결정적인 역할을 함과 동시에, 유성생식에 의한 포자형성과정에도 매우 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀짐으로써, 이와 관련된 신규 *C. neoformans* 유전자의 발굴과 특성규명에 많은 노력을 기울이고 있는 중이다. 그 중 가장 최근에 발표된 연구성과는 HOG 와 Ras/cAMP 신호전달네트워크의 유전체 수준에서의 전사체 연구에 관한 것으로[9, 12], 이 연구들을 통해 두 신호전달체계에서 지금까지 알려지지 않았던 새로운 특성들이 발견되었음은 물론이고 신규 HOG- 및 Ras/cAMP-의존적인 유전자들이 발굴되었다. HOG 신호전달체계에 관련된 유전자가 변이된 균주(예, *hog1Δ*, *ssk1Δ*)는 야생형과 비교하여 같은 환경스트레스에 대해 매우 다른 유전자 발현 양상을 보이고, 스트레스의 종류에 따라라도 유전자 발현 양상이 달라지는 것을 발견하였으며, 이를 통해 HOG pathway에 의존적으로 스트레스에 반응하는 새로운 유전자를 발견하였다[9]. 또한 Ras/cAMP 신호전달체계의 비교전사체 연구를 통해서 많은 수의 환경스트레스 반응성 유전자들이 Ras/cAMP 신호전달체계에 의해 발현이 조절됨은 물론 실제 Ras/cAMP 변이체들이 다양한 환경스트레스에 야생형 균주보다 증가된 감수성을 보임이 밝혀졌다[13]. 앞으로도 이러한 선행연구에서 나온 결과를 바탕으로 심도 있는 연구를 수행하여 아직도 남겨져 있는 많은 HOG 및 Ras/cAMP 신호전달체계의

비밀에 대해서 연구한다면 좋은 결과물을 얻을 수 있을 것이다.

인간 병원성 곰팡이의 또 하나 중요한 신호전달체계는 이산화탄소(CO<sub>2</sub>)-감지성 신호전달경로이다. *C. neoformans*가 일반 자연환경에서 동물 숙주 내로 감염될 때 약 150배의 급격한 CO<sub>2</sub>의 농도 차이(0.036%에서 5%로 증가)를 경험하게 된다. 따라서 이러한 CO<sub>2</sub>의 변화를 감지하고 이에 대한 적당한 세포반응 및 대사를 조절하는 것은 동물병원성 곰팡이의 중요한 능력 중의 하나라고 볼 수 있다[5, 17]. 반응신 교수 연구실에서는 2005년에 발표된 연구에서 *C. neoformans*의 CO<sub>2</sub> 감지 및 대사과정에 중요한 역할을 하는 carbonic anhydrase 유전자(*CAN2*)를 발견하고 그 기능을 규명한 바 있다[1]. 흥미롭게도 *CAN2* 유전자는 낮은 CO<sub>2</sub> 농도의 일반 자연환경에서 *C. neoformans*가 생존하는데 필수적인 역할을 함과 동시에 유성분화과정에서도 중요한 역할을 함을 밝힌 바 있다[1]. 최근에는 *CAN2* 유전자의 발현을 인위적으로 조절할 수 있는 균주를 개발하여 유전체수준의 전사체분석을 실시하여 CO<sub>2</sub>와 carbonic anhydrase에 의해 조절되는 타깃 유전자 규명에 주력 하고 있다.

### C. neoformans 유전자의 기능규명 방법

*C. neoformans* 유전자의 기능규명에 가장 일반적으로 많이 사용되는 방법은 유전자 특이적 결손변이체(targeted gene-deletion mutant) 제조와 이의 형질분석(phenotypic analysis)이다. 일반적으로 유전자변이체를 만들기 위한 gene-disruption cassette는 타깃 유전자의 5'과 3' 영역의 약 1 kb 크기의 flanking region과 dominant selectable marker인 NAT(Nourseothricin acetyltransferase)사이의 overlap PCR을 이용해 제조한다. *C. neoformans*는 일반적으로 곰팡이에 사용되는 형질전환 방법으로는 효과가 없기 때문에 particle delivery system(gene-gun이라고도 불리움)에 의한 biolistic transformation 방법으로 형질전환을 하고 있다. 최근에 반응신 교수 연구실의 경우에는 비효율적인 overlap PCR의 단점을 극복하고 단기간 내에 대용량의 유전자 결손변이체를 만들기 위해, 일부 곰팡이에서 효과적으로 사용된 바 있는 split-marker transformation 방법을 최초로 *C. neoformans*에 도입하였다[8]. Split-marker transformation 방법은 double joint PCR(DJ-PCR)을 이용하여 기존의 overlap PCR 방법과는 달리 NAT selectable marker를 두 조각으로 나누어 합성하는 방법으로, gene-disruption cassette를 훨씬 더 쉽고 효율적으로 제조할 수 있고, 변이체 수득율을 향상시킬 수 있음이 연구를 통해 밝혀졌다. 이러한 방법을 통해 현재 반응신 교수 연구실에는 총 842개의 유전자변이체가 제조되어 보관 중에 있으며, 최근에 Hiten Madhani 그룹(University of California, San Francisco)에 제조한 1,200여개의 유전자 변이체 라이브러리와 함께[12] 약 2,000여 개의 유전자변이체를 보유하고 있다. 이들 유전자 결손 변이체들은 다양한

표현형질분석(phenotypic analysis)과 동물실험을 통하여 병원성조절 여부를 검증하고 있다.

이러한 개별유전자의 기능분석 이외에 유전체 수준의 유전자 발현 분석을 위해서 *C. neoformans*에서는 비교적 저렴한 가격(\$40/chip)으로 DNA microarray chip이 공급되고 있어, 현재 전 세계적으로 많은 전사체(transcriptome) 연구가 이루어지고 있다. 반응선 교수 연구실도 DNA microarray 분석시설을 갖추고 *C. neoformans*에서 제조된 다양한 유전자 변이체에 대한 비교전사체분석(comparative transcriptome analysis)을 진행하고 있다. 현재 분석에 쓰이는 DNA microarray slide에는 *Cryptococcus*의 serotype A와 D genome을 이용해 만든 두 가지 종류의 slide가 있어 두 가지 serotype에 대한 연구가 모두 가능하다. 비교전사체 분석을 통해 특정 생육환경 및 스트레스 상황에 반응하는 유전자의 동정 및 유전자변이체의 전사체 발현 양상을 파악하여 정량적으로 주목할만한 변화를 보이는 유전자를 선정하는데, 이러한 유전자가 예측된 기능을 실제로 갖는지 확인하기 위해서는 역시 유전자변이체 제조에 의한 추가적인 형질분석이 필요하다.

### C. neoformans 전사조절인자(Transcription factor)에 대한 연구

병원성 곰팡이의 병원성결정인자(virulence factor)는 숙주 내의 특정한 환경에서 그 발현 및 생성량이 조절되며, 대부분은 곰팡이의 생존, 분화 및 병원력 조절에 큰 영향을 준다. 이러한 다양한 병원성결정인자의 발현을 가장 직접적으로 조절하는 인자가 전사조절인자(Transcription Factor, TF)이다. 지금까지 동물/식물 병원성 곰팡이에서 다양한 전사조절인자들이 개별적으로 연구되어 왔으나 아직 이들 신호전달물질을 타겟으로 하는 항곰팡이 신약의 개발은 극히 미미한 상태이다. 그 주된 이유는 지금까지의 연구가 이미 다른 종에서 보고된 사실을 바탕으로 한 진화적으로 보전된 신호전달의 핵심 유전자/단백질의 연구에 치중되어 이들 병원성 곰팡이의 특이적인 신호전달인자는 극히 제한적으로만 보고되고 있기 때문이다. *C. neoformans*의 신호전달네트워크 내에서 중심적인 역할을 담당하는 신호전달인자들은 진화적으로 잘 보전되어 있으나, 최종적인 신호전달의 역할을 담당한 전사조절인자들의 경우는 다른 종들에게서 ortholog가 많이 발견되지 않아, 이 부분이 *C. neoformans*의 특이적 병원성 조절의 결정적인 단서를 가지고 있다고 유추할 수 있다. 최근의 보고에 따르면, *C. neoformans*에는 최소 184개의 전사조절인자들이 존재하는 것으로 예측되었다(DBD: Transcription factor prediction database, www.transcriptionfactor.org)[18]. 따라서 반응선 교수 연구실에서는 전체 유전체수준에서 전사조절인자 특이적인 focused mutant library를 구축하여, 이들의 기능적 역할을 생장, 분화, 대사 및 병원성 조절의 측면에서 분석 및 규명하여 통합적이고 종합적인 *C. neoformans*의 대사 및 신호전달네트워크의 구축을 목표로

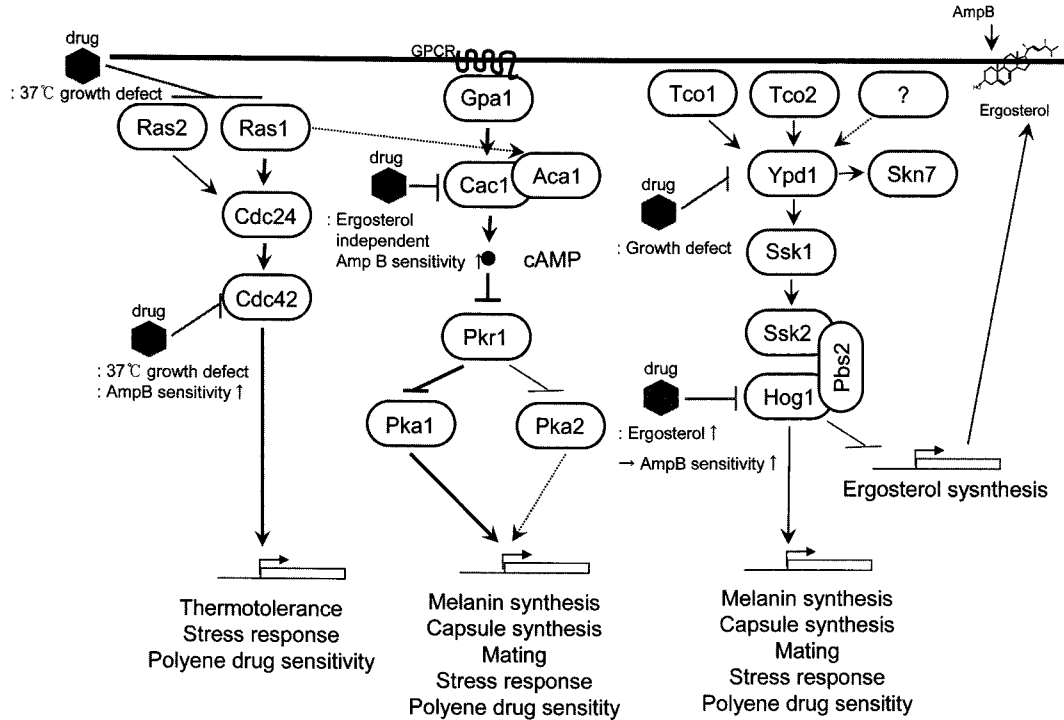
하여 연구를 진행하고 있다. 이러한 병원성곰팡이의 전사조절인자들의 기능을 종합적으로 규명할 수 있다면 생장, 분화, 생식, 대사 및 신호전달과 관련된 복잡하고 상호연계성이 있는 세포내의 활동을 이해할 수 있음은 물론 장기적으로 새로운 차원의 항크립토크코스 및 항곰팡이 신약 개발의 초석이 될 것이다.

### Signaling pathway 연구를 이용한 새로운 항진균 치료법의 개발

항크립토크코스 및 항곰팡이 치료제는 개발이 상당히 어렵고, 따라서 항세균 치료제에 비하여 그 종류와 개수가 매우 적다. 그 결정적인 이유는 곰팡이/효모가 기본적으로 인간세포와 거의 동일한 진핵세포의 구조를 가지고 있기 때문에 알려진 곰팡이 특이적인 타겟의 개수가 원핵세포인 세균의 특이적인 개수보다 훨씬 적기 때문이다. 따라서 곰팡이의 생장과 병원성 조절에 영향을 끼치는 새로운 타겟 유전자/단백질을 도출하는 것이 급선무라고 할 수 있다.

최근에 반응선 교수 연구실에서는 2009년 Eukaryotic cell 지에 발표한 논문(Ko et al., 2009; 미국미생물학회 선정 하이라이트 논문[9])을 통해 *C. neoformans*의 HOG pathway를 타겟으로 한 새로운 차원의 항크립토크코스증 및 항곰팡이 치료제 개발의 가능성을 제시하였다. 이 연구에서는 HOG pathway 변이균인 *hog1Δ*, *ssk1Δ*, *skn7Δ* 변이균 및 야생형 H99균과 DNA microarray를 이용한 비교전사체분석을 실시하여 HOG pathway 타겟유전자를 규명하였다. 이 연구에서 가장 흥미로운 발견은 많은 ergosterol 합성관련 유전자들이 HOG pathway 변이체에서 그 발현이 증가하고, 실제 세포내 ergosterol 함량 역시 증가한다는 사실이다[9]. 따라서 HOG pathway 변이체는 ergosterol에 binding하는 Amphotericin B에 대한 감수성이 급격히 증가하는 현상을 발견하였다. 이러한 발견은 HOG pathway의 inhibitor와 Amphotericin B의 복합치료요법(combination therapy)이 매우 효과적인 Cryptococcosis의 치료제가 될 수 있다는 것을 의미한다(국내특허출원 10-2009-0001947 및 국제특허출원 PCT/KR2010/000137).

또한 반응선 교수 연구실에서는 2010년에 Eukaryotic Cell 지 3월호에 스포트라이트 논문으로 선정된 Ras/cAMP pathway의 DNA microarray를 이용한 비교전사체연구를 통해 Ras/cAMP pathway를 타겟으로 한 새로운 차원의 항크립토크코스증 및 항곰팡이 치료제 개발의 가능성을 제시하였다. 이 연구에서 밝혀진 흥미로운 사실은 HOG pathway와는 달리 Ras/cAMP pathway 변이균들은 ergosterol유전자의 발현과 함량과는 관계없이 매우 증가된 Amphotericin B 감수성을 보였다라는 것이다. 이 때문에 HOG pathway와 Ras/cAMP pathway의 이중변이균은 각각의 단일 변이균보다 매우 낮은 농도의 Amphotericin B에도 큰 감수성을 보였다. 또한 Azole 계열의 drug에는 resistance를 보이던 HOG



**Fig. 2. Potential antifungal target for the HOG, RAS/cAMP pathway of *Cryptococcus neoformans*.** The HOG and Ras/cAMP pathways appear to be good antifungal drug targets since these pathways not only play important roles in sensing and adapting to a plethora of environmental stresses, but also controls production of virulence factors, such as capsule and melanin, and mating process of *C. neoformans*. A drug targeting to and inhibiting the HOG pathway could increase expression levels of ergosterol biosynthesis genes and intracellular ergosterol contents, which renders *C. neoformans* highly sensitive to polyene drugs such as Amphotericin B. In contrast, a drug targeting to and inhibiting the cAMP pathway could increase sensitivity against Amphotericin B independent of the ergosterol biosynthesis. A drug targeting to Ypd1 in the HOG pathway could directly cause cell lethality whereas a drug targeting to Ras could affect cell survival at high temperature.

pathway 변이균이 cAMP pathway 유전자가 이중변이 되었을 때는 매우 높은 감수성을 보이는 것이 관찰되었다[13](국내특허출원 10-2009-0127206 및 국제특허출원 PCT/KR2010/000137). 이것은 HOG 및 Ras/cAMP 신호전달체내의 주요한 단백질을 동시에 저해할 수 있는 inhibitor 들과 Amphotericin B 혹은 Azole 계 치료제의 복합치료법의 효율성을 극대화 시킬 수 있다는 것을 의미한다(Fig. 2).

**맺음말**

현재 반응선 교수의 미생물 생명공학 실험실에서는 지금까지 이루어진 많은 선행연구를 바탕으로, *C. neoformans*의 Serotype A, B, C, D의 모든 유전체의 서열 분석 완료라는 매우 큰 이점과 대용량 유전자변이체 제조법 및 Microarray 등을 이용한 전사체분석 등의 최신 연구도구를 이용하여 진화적으로 보존된 신호전달체계의 기능 규명 뿐만 아니라, *C. neoformans* 특이적인 신호전달 체계의 발굴 및 기능연구가 활발하게 진행 중이다. 이를 통해 새로운 항곰팡이제 및 병원성 곰팡이 연구도구 개발 뿐 아니라 넓게는 효모를 이용한 바이오 연료 개발 등에 새로운 길을 여는 연구 결과물들

을 계속해서 이루어낼 수 있을 것으로 기대하고 있다.

**감사의 글**

이 논문은 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No.2009-0058681).

**REFERENCES**

1. Bahn, Y. S., G. M. Cox, J. R. Perfect, and J. Heitman, 2005. Carbonic anhydrase and CO<sub>2</sub> sensing during *Cryptococcus neoformans* growth, differentiation, and virulence. *Curr. Biol.* **15**: 2013-2020.
2. Bahn, Y. S., J. K. Hicks, S. S. Giles, G. M. Cox, and J. Heitman, 2004. Adenylyl cyclase-associated protein Acal regulates virulence and differentiation of *Cryptococcus neoformans* via the cyclic AMP-protein kinase A cascade. *Eukaryot. Cell* **3**: 1476-1491.
3. Bahn, Y. S., K. Kojima, G. M. Cox, and J. Heitman, 2005. Specialization of the HOG pathway and its impact on differentiation and virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Mol. Biol. Cell.* **16**: 2285-2300.

4. Chen, S., T. Sorrell, G. Nimmo, B. Speed, B. Currie, D. Ellis, D. Marriott, T. Pfeiffer, D. Parr, and K. Byth, 2000. Epidemiology and host- and variety-dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. Australasian Cryptococcal Study Group. *Clin. Infect. Dis.* **31**: 499-508.
5. Henry, R. P., 1996. Multiple roles of carbonic anhydrase in cellular transport and metabolism. *Annu. Rev. Physiol.* **58**: 523-538.
6. Hoang, L. M., J. A. Maguire, P. Doyle, M. Fyfe, and D. L. Roscoe, 2004. *Cryptococcus neoformans* infections at Vancouver Hospital and Health Sciences Centre (1997-2002): epidemiology, microbiology and histopathology. *J. Med. Microbiol.* **53**: 935-940.
7. Idnurm, A., Y. S. Bahn, K. Nielsen, X. Lin, J. A. Fraser, and J. Heitman, 2005. Deciphering the model pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**: 753-764.
8. Kim, M. S., S. Y. Kim, J. K. Yoon, Y. W. Lee, and Y. S. Bahn, 2009. An efficient gene-disruption method in *Cryptococcus neoformans* by double-joint PCR with NAT-split markers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **390**: 983-988.
9. Ko, Y. J., Y. M. Yu, G. B. Kim, G. W. Lee, P. J. Maeng, S. S. Kim, A. Floyd, J. Heitman, and Y. S. Bahn, 2009. Remodeling of global transcription patterns of *Cryptococcus neoformans* genes mediated by the stress-activated HOG signaling pathways. *Eukaryot. Cell* **8**: 1197-1217.
10. Kwon-Chung, K. J. and J. E. Bennett, 1984. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Am. J. Epidemiol.* **120**: 123-130.
11. Lewis, R. E., 2009. Overview of the changing epidemiology of candidemia. *Curr. Med. Res. Opin.* **25**: 1732-1740.
12. Liu, O. W., C. D. Chun, E. D. Chow, C. Chen, H. D. Madhani, and S. M. Noble, 2008. Systematic genetic analysis of virulence in the human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Cell* **135**: 174-188.
13. Maeng, S., Y. J. Ko, G. B. Kim, K. W. Jung, A. Floyd, J. Heitman, and Y. S. Bahn, 2010. Comparative transcriptome analysis reveals novel roles of the Ras- and cAMP-signaling pathways in environmental stress response and antifungal drug sensitivity in *Cryptococcus neoformans*. *Eukaryot. Cell* **9**: 360-378.
14. Nicol, A. M., C. Hurrell, W. McDowall, K. Bartlett, and N. Elmieh, 2008. Communicating the risks of a new, emerging pathogen: the case of *Cryptococcus gattii*. *Risk Anal.* **28**: 373-386.
15. Park, B. J., K. A. Wannemuehler, B. J. Marston, N. Govender, P. G. Pappas, and T. M. Chiller, 2009. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* **23**: 525-530.
16. Stephen, C., S. Lester, W. Black, M. Fyfe, and S. Raverty, 2002. Multispecies outbreak of cryptococcosis on southern Vancouver Island, British Columbia. *Can. Vet. J.* **43**: 792-794.
17. Watson, P. H., S. K. Chia, C. C. Wykoff, C. Han, R.D. Leek, W. S. Sly, K. C. Gatter, P. Ratcliffe, and A. L. Harris, 2003. Carbonic anhydrase XII is a marker of good prognosis in invasive breast carcinoma. *Br. J. Cancer* **88**: 1065-1070.
18. Wilson, D., V. Charoensawan, S. K. Kummerfeld, and S. A. Teichmann, 2008. DBD-taxonomically broad transcription factor predictions: new content and functionality. *Nucleic Acids Res.* **36**: D88-92.

(Received Feb. 28, 2010/Accepted March 13, 2010)