

Nucleoside Diphosphate Kinase from Microorganisms

Chul Hee Choi*

Department of Microbiology, School of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea

Nucleoside diphosphate kinase (Ndk) is ubiquitous and highly conserved multifunctional key enzyme in nucleotide metabolism. It generates nucleoside triphosphates (NTPs) by transfer of gamma-phosphates from nucleoside triphosphates such as ATP or GTP to nucleoside diphosphate. The formation of an autophosphorylated enzyme intermediate is involved in that mechanism. The phosphate is usually supplied by ATP and Ndk activity in different subcellular compartments. Ndk may regulate the crucial balance between ATP and GTP or other nucleoside triphosphates. Ndk is playing an important role in bacterial pathogenesis and emerging evidences recognize multiple roles of Ndk in host-microbe interaction. Here, I review some examples of the role of Ndk in intra- and extracellular microorganism.

Key Words: Nucleoside diphosphate kinase, Ndk, Extracellular ATP, Microorganism

1. 서론

세균 감염병은 숙주세포의 특이성에 따라 부착, 침윤, 감염부위에서의 증식, 다른 부위로의 재감염으로 설명될 수 있다. 세균의 부착 및 침윤 과정 동안에 많은 종류의 독성인자(virulence factor)들이 생성되며, 이러한 인자들에 의해 숙주세포의 면역체계 교란, 세포간 신호전달 교란, 세균의 성장에 필요한 영양분 획득에 중요한 역할을 함으로써 결론적으로 숙주세포의 방어기전을 회피할 수 있게 된다. 병원성 세균의 생존과 증식, 그리고 독성인자를 생산하는데 필요한 에너지생산은 세균의 생물학적 활성을 유지하는데 중요하다 (1). Nucleoside diphosphate kinase (Ndk)는 ATP를 기질로 이용하는 효소로서, deoxynucleoside triphosphate (dNTP) γ -인산기를 deoxynucleoside diphosphate로 전이시키는 것을 촉진하고 dNTP pool을 유지하는 역할을 함으로써 DNA와 RNA 합성을 위한 전구물질로 이용될 수 있게 한다 (2). 이러한 Ndk의 역할이 세균의 성장조절, 신호전달, 독성유발에 중

요하게 작용하는 것으로 밝혀지고 있다. 또한 대부분의 병원성 세균들은 유전적으로 잘 보존된 Ndk를 가지고 있으며(Fig. 1), 숙주세포 내 또는 세포 외부로 특이적인 단백질을 분비함으로써 감염상태를 유지할 수 있게 된다 (3). 소수의 병원성 세균에서 Ndk가 분비 단백질로 보고되어 있지만 Ndk가 가지고 있는 기능연구는 현재까지 미비한 상태이다. 이런 점에도 불구하고 Ndk는 초기감염에 중요한 역할을 담당하고 있으며 숙주세포의 신호전달분자를 매개로 하는 세포사멸과 면역 및 신호전달을 조절하는 잠재적인 기능을 가지고 있다고 보고되고 있다 (4~9). 본 중설에서는 세균감염에 있어서 병원성 세균의 Ndk의 기능 및 잠재적 중요성에 대해서 알아보고자 한다.

2. 푸린수용체(purinergic receptor)를 통한 병원성 세균유래 Ndk의 기능

최근 푸린수용체 활성화에 관여하는 세포 외 ATP (extracellular ATP)의 분비가 숙주세포의 면역반응에 관여

Received: April 30, 2013/ Revised: May 5, 2013/ Accepted: May 10, 2013

*Corresponding author: Dr. Chul Hee Choi. Department of Microbiology, School of Medicine, Chungnam National University, 6 Munhwa-dong, Junggu, Daejeon 301-747, Korea.

Phone: +82-42-580-8246, Fax: +82-42-585-3686, e-mail: choich@cnu.ac.kr

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

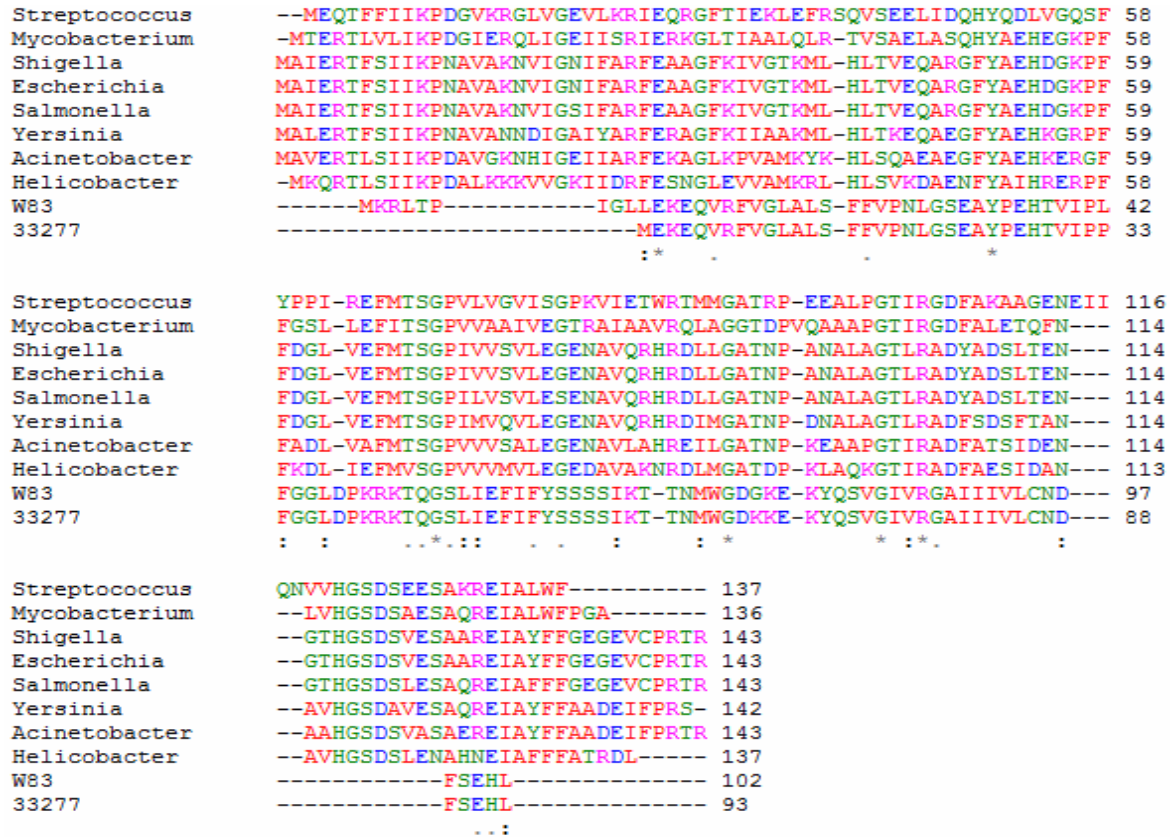


Figure 1. Sequence alignment of nucleoside diphosphate kinase in different microorganisms. Sequence alignment was performed using Clustal/W.

한다는 사실이 밝혀졌다 (10, 11). 즉, 세포 외 ATP에 의한 푸린수용체(P2X₇ 수용체) 활성화의 대표적 면역반응은 숙주세포사멸과 다량의 염증유발 사이토카인의 분비이다 (12). 이와 같이 세포 외 ATP에 의해 유도되는 특이적 숙주면역반응 이해를 통해 숙주세포로부터 유래되는 신호전달 촉진인자를 이용함으로써 숙주세포와 병원성 세균의 정착을 조절할 수 있다. 세포 외 ATP에 의해 유도되는 병원성 세균에 대한 면역반응은 caspase-1 활성화와 pro-inflammatory 사이토카인(cytokine)인 interleukin (IL)-1 β 와 IL-18의 분비를 활성화하는 inflammasome의 형성 촉진을 들 수 있다 (13). 세포 외 ATP-P2X₇ 수용체를 매개로 활성화된 inflammasome 복합체는 pro-inflammatory 사이토카인의 분비를 촉진하고 세포 내 활성산소(reactive oxygen species)를 증가시킨다 (14). 이러한 활성산소의 유도는 inflammasome 복합체 활성화의 신호전달 상위단계(upstream)에서 일어나기 때문에 세균감염조절에 있어서 중요한 조절기전이라고 할 수 있다. 그리고 이와 같은

점은 숙주세포 내에서 푸린수용체를 통한 세균감염조절의 가능성을 시사한다. 부가적으로 *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*)에서 분비된 Ndk 단백질이 숙주세포에 감염되는 동안에 중요한 요소로 작용하는 것으로 보고되었다 (15, 16). 급성 및 만성감염에 있어서 세균에서는 숙주세포의 방어기전을 극복할 수 있는 방법이 높게 요구된다. 이러한 점에 있어서 진화적으로 상당히 잘 보존된 NTPase와 유사한 Ndk는 숙주세포로부터 유래되는 세포 외 ATP와 같은 푸린분자를 제거함으로써 병원성 세균감염에서 중요한 기능을 담당하는 것을 알 수 있으며, 향후 다양한 병원성 세균의 Ndk-푸린수용체간의 상호관련성에 관한 연구는 앞으로 숙주세포의 신호전달조절과 관련한 면역반응연구에 중요한 표적분자가 될 것으로 생각된다(Table 1) (3, 4, 8, 17).

Table 1. Utilization of Ndk in host-microbe interaction

Organism	Classification	Lifestyle in host cells	Functions	Reference
<i>Mycobacterium</i> spp.	Other	Intracellular	Modulation of purinergic signaling	(17)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Gram negative	Intracellular	Modulation of purinergic signaling	(3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram negative	Extracellular	Modulation of purinergic signaling	(8)
<i>Vibrio cholerae</i>	Gram negative	Extracellular	Modulation of purinergic signaling	(3, 4)

3. Intracellular bacteria에서의 Ndk의 기능

Ndk와 관련한 초기 연구에서는 숙주와 병원성 세균간의 발병기전에서의 뚜렷한 역할이 증명되지는 않았지만 병원성 세균의 Ndk는 숙주세포사멸에 관여하기 보다는 숙주세포의 안정화(cyto-protective)에 중요한 역할을 할 것이라고 여겨져 왔다. 최근 들어 세포 내 또는 세포 외 병원성 세균의 연구가 활발히 이루어지면서 숙주세포의 면역반응조절에 관련해서 다양한 기능을 할 것이라는 연구결과가 발표되고 있으며, 분비 단백질로 Ndk를 가지면서 숙주세포의 생물학적인 기능에 잘 적응된 병원성 세균이 지속적이며 만성적인 감염을 잘 유발한다는 보고가 있다 (6, 18). *Burkholderia cepacia* complex (BCC)는 cystic fibrosis (CF)에서 폐질환과 관련되어 있는 기회감염균으로서 숙주세포의 면역반응을 회피하기 위해 phagosome 성숙을 억제함과 동시에 NADPH-oxidase의 활성화를 억제하는 기전을 가지고 있다고 보고되어 있다 (19). *Burkholderia cepacia* (*B. cepacia*)와 관련한 감염에서도 숙주세포의 면역조절에 Ndk가 작용하는 것으로 알려져 있으며, *B. cepacia*의 Ndk는 두 가지 측면의 기능을 가지고 있는 것으로 확인되었다 (18, 19). 임상분리균주의 경우는 Ndk를 분비하며 또한 Ndk와 유사한 분비 단백질을 가지고 있어 대식세포(macrophage)와 비만세포(mast cell) 사멸에 기여하는 것으로 보고되어 있다. 앞서 설명되었다시피 P2X₇ 수용체의 주요 활성인자는 세포 외 ATP이다. 최근에 들어 ADP와 AMP와 같은 다른 아데닌 분자(adenine nucleotide molecules)가 세포 외 ATP에 의한 활성화 이후 후속 자극분자로 보고되고 있다 (20). *Mycobacteria*를 이용한 숙주반응연구는 오랫동안 연구되어 왔고 대식세포를 대상으로 하여 숙주세포 내 생존기전 연구가 되어 왔다 (21). *Mycobacterium bovis* bacilli Calmette-Guerin (BCG)에서 분비되는 Ndk에 의해 세포 외 ATP를 매개로 하는 대식세

포사멸이 억제된다는 보고가 있었다 (9, 22). 이러한 보고는 포식세포(phagocytes) 내의 결핵균의 생존가능성을 시사하는 것이며 이는 숙주세포 내에서 장기간 생존이 가능한 하나의 생존전략의 예로 볼 수 있다. 이와 대조적으로 *M. tuberculosis*의 Ndk는 숙주세포의 DNA에 직접적인 상해를 가함으로써 결핵균의 재감염에 중요한 기능을 한다는 보고가 있다 (23). 샤가스병(Chagas's disease)의 원인균인 *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*)는 대식세포를 비롯한 다양한 세포에 감염을 일으킨다 (24, 25). 이 세균에 의한 급성감염에서 세포 외 ATP와 P2X₇ 신호로 인해 다른 세포로 전이되는 것이 억제되는 것으로 보고되었으며 (26), *T. brucei*와 *Escherichia coli* (*E. coli*)의 Ndk는 숙주세포의 핵 내에 위치하며 직접적으로 DNA와 상호작용을 하는 것으로 알려져 있다 (27, 28). Toxoplasmosis의 원인이 되는 *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)에 의한 감염병에서 P2X₇ 수용체의 활성화에 의해 감염이 억제되는 것으로 나타났다 (29). 기회감염균으로 알려진 *Leishmania amazonensis* (*L. amazonensis*)의 최근 연구에 의하면 세포 외 ATP와 P2X₇ 수용체의 매개로 숙주세포의 사멸이 저해되는 것을 Ndk의 역할 규명을 통해 확인하였으며, 이러한 Ndk의 기능적인 특성으로 숙주세포와 세균의 증식이 가능하다는 보고가 있다 (7). 세균감염 후 활성화된 숙주세포의 면역반응에서의 Ndk의 기능적 특성은 숙주세포 내에서 세균의 생존과 증식에 필수적으로, 숙주세포의 면역체계를 직접적으로 회피할 수 있는 전략적으로 중요한 것으로 설명될 수 있다. *Leishmania*에 의해 분비되는 Ndk는 숙주세포의 세포막에서 주로 발견이 되고 대식세포 내 미토콘드리아(mitochondria)의 막투과성(membrane permeability)의 안정성에 기여함으로써 숙주세포의 사멸을 억제하는 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 숙주세포 내에서 생존하는 병원성 세균(intracellular bacteria)들은 세포 외 ATP를 매개로 하는 세포사멸로부터 Ndk 단백을 이용함으로써 숙주세포의 사멸을 억제함과 동시에 지속적인 감

염을 유지하는 것으로 생각된다.

4. Extracellular bacteria에서의 Ndk의 기능

대표적인 extracellular pathogen인 *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*)는 급성 설사와 관련한 식중독과 관련이 깊으며, 발병에 있어서 Ndk의 역할이 거론되고 있는 실정이다. 기존 연구결과에 의하면 세포 외 ATP에 활성화된 세포에서 *V. cholerae*의 분비 단백질은 대식세포와 비만세포의 사멸을 촉진시킨다는 보고가 있었다 (4). Ndk 활성화연구에서 세균배양액에서 ATP-modifying 효소와 함께 분비된 Ndk 단백질이 검출되었으며 세포 외 ATP의 자극이 없는 조건에서도 Ndk에 의해 대식세포와 비만세포에서 DNA 절편화(DNA fragmentation) 및 높은 빈도의 공포형성(vacuolization)을 동반한 세포사멸이 관찰되었다. 이러한 결과를 볼 때 *V. cholerae*의 배양액에는 숙주세포사멸을 유도하는 인자가 있음을 알 수 있으며, 또한 *V. cholerae*에서 분비되는 또 다른 ATP-modifying 효소에 의해 P2X₇ 수용체가 활성화됨을 알 수 있다. 기존의 Ndk의 역할을 비추어볼 때 *V. cholerae*의 ATP-modifying 효소에 의한 수용체 활성화는 이론의 여지가 있음을 시사한다 (3). 또 다른 extracellular pathogen인 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)의 Ndk는 숙주세포의 기능을 저해하는 것으로 보고되었다 (8). 특징적인 점은 mucoid *P. aeruginosa*에서만 Ndk가 분비되며, nonmucoid *P. aeruginosa*에 의해 대식세포의 사멸이 유도되는 것으로 알려졌다. 주목할 점은 Ndk가 포함되지 않은 배양액에 의한 숙주세포사멸이 관찰된다는 것이다. Nonmucoid *P. aeruginosa*의 추가적인 연구를 통해 Ndk와 세포 외 ATP를 매개로 하는 대식세포의 사멸은 관련이 없음이 확인되었다. 결론적으로 Ndk는 *P. aeruginosa*에서 분비되는 일종의 분비 단백질이며 다른 ATP-modifying 효소보다는 약한 활성을 가지고 있는 것으로 보여진다 (8). 이러한 결과를 토대로 *V. cholerae*와 *P. aeruginosa*의 Ndk는 면역세포사멸과 관련이 없고 또한 숙주세포에 대한 독성작용도 없는 것으로 판단된다. 실제로 여러 연구결과에서 다른 병원성 세균에서의 Ndk는 숙주세포의 안정성(cyto-protective)에 기여하는 특성을 가지는 것으로 알려져 있다. 위의 설명에서 볼 수 있듯이 extracellular bacteria들은 다른 intracellular bacteria와는 달리 감염 후 숙주세포의 생존이 필요하지 않기 때문에 진화적으로 Ndk와 같은 숙주세포의 생존에 관여하는 효소

들이 필요하지 않았을 것이다. 일 예로 *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*)의 경우 유전자 내에 Ndk의 유전 서열의 상동성이 낮은 비율로 보존되어 있는 것을 확인할 수 있다 (29). 최근 연구결과에 따르면 intracellular microorganism과 extracellular microorganism간의 Ndk 유전자의 상동성은 기능적으로 나누어져 있을 것이라고 추정하고 있다. 세포 외 ATP 처리 후, intracellular pathogen인 *M. tuberculosis*와 *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*)의 배양액 처리에 의해 대식세포의 사멸이 억제된 반면, Ndk 유전자가 결손된 *S. Typhimurium* 돌연변이 균주의 배양액에서는 대식세포의 사멸이 관찰되었다 (3). Intracellular 또는 extracellular pathogen간의 Ndk 유전자의 기능을 알아보기 위해 Ndk 유전자가 결손된 *S. Typhimurium*에 extracellular pathogen인 *V. cholerae*의 Ndk 유전자를 치환하였으며, *V. cholerae* Ndk 유전자를 획득한 *S. Typhimurium*은 야생형 *S. Typhimurium* Ndk 유전자의 고유한 생화학적 특성을 나타내었다. 흥미로운 사실은 배양액을 통한 실험에서 extracellular pathogen의 Ndk 유전자를 획득하였음에도 불구하고 숙주세포의 안정화에 기여하는 것으로 나타났으며, Ndk 유전자가 결손된 *V. cholerae*의 배양액을 통한 연구에서 야생형 균주보다 높은 빈도의 숙주세포사멸이 관찰되었다. 이와 같은 결과를 종합해 볼 때, intracellular 또는 extracellular microorganism에 상관없이 Ndk에 의한 숙주세포 안정화 및 생화학적 활성은 동일하게 나타나는 것으로 설명될 수 있다.

5. 숙주세포 내에서 외부로의 Ndk의 분비기전

지금까지 진핵세포 및 원핵세포에서의 Ndk 분비기전에 대해서는 정확하게 알려진 바가 없다. 대부분의 분비 단백질이 가지고 있는 분비신호서열(leader signal sequence)이 Ndk에서는 발견되지 않고 있기 때문이다. 최근 보고들에 따르면 숙주세포에 감염된 세균에 의한 Ndk의 숙주세포의 외부로 분비가 되는 것으로 보고되고 있다 (30~32). 이러한 점을 생각했을 때 적절한 분비신호서열이 없어도 숙주세포 내 세포산물 분비에 관련된 소포체 및 골지체와 같은 숙주세포 내 소기관의 분비시스템을 이용할 가능성이 있을 수 있다. Kamath 등의 연구에 따르면 *P. aeruginosa* Ndk의 분비는 carboxy-terminal motif가 중요한 역할을 한다고 보고하였다 (33). 이러한 사실은 뚜렷한 분비표적인자가 없는 대부분의 Ndk 분비기전에 적용하기

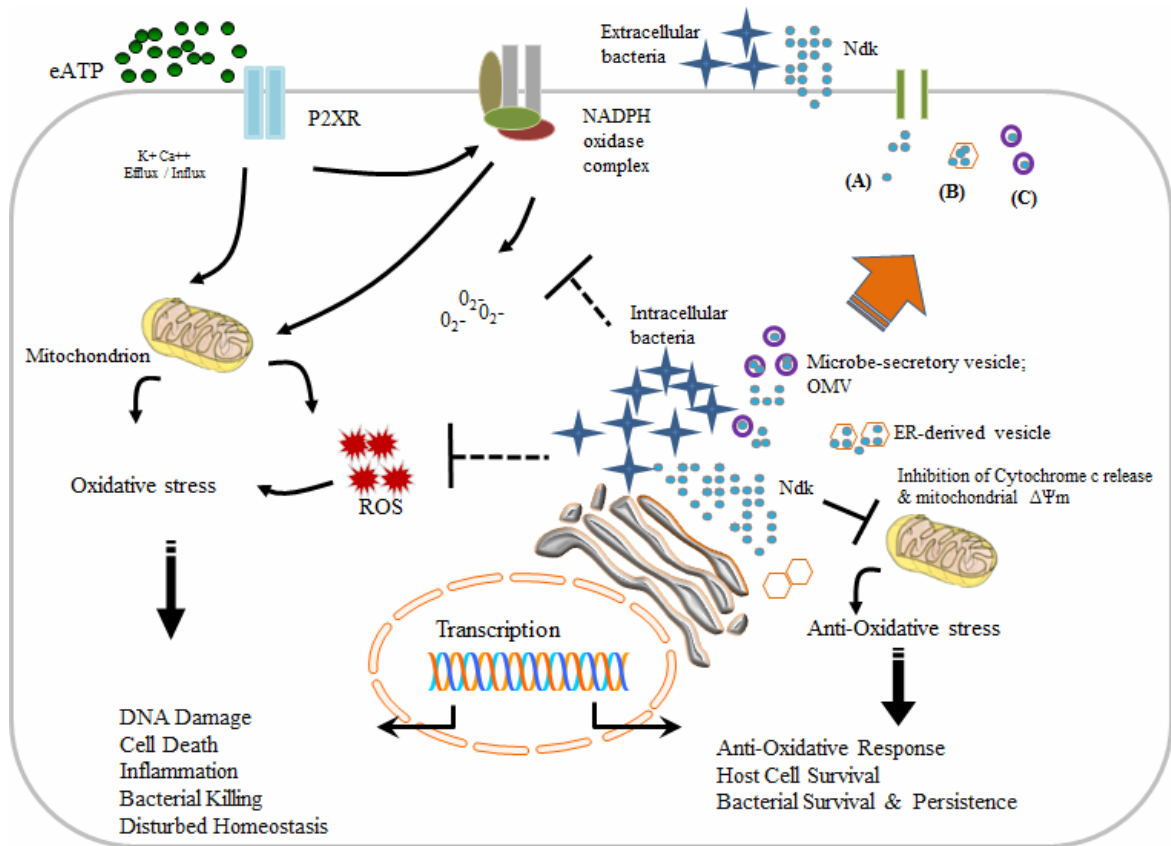


Figure 2. Schematic diagram of potential functions of Ndk and eATP-P2X receptor signaling in possible exploitation by intracellular pathogens for release of Ndk outside of host cells. Translocation of Ndk through cell membrane channels to extracellular environment (A). Association of Ndk with host ER-derived vesicle and consequent export (B). Simultaneous integration of Ndk within microbe secretory vesicles that fuse with host cell membrane and release contents (C).

에는 무리가 있다. 세포 내 단백질이 세포 외부로 분비되는 기전 중에 진핵세포인 숙주세포의 cargo protein, plasma membrane transporter 및 세포막의 직접 접촉과 같은 non-classical protein secretion 기전이 좋은 예가 될 수 있다 (34). 이러한 숙주세포 내 분비기전 시스템은 감염세균이 분비하는 단백질이 세포 외부로 이동하기 위한 하나의 수단으로 이용될 수 있는 가능성을 제시한다(Fig. 2).

6. 세균에서의 Ndk의 분비기전

최근 그람 음성 세균의 outer membrane vesicle (OMV)은 병원성 세균의 병인과 관련이 있음이 보고되고 있다 (35~37). 세균이 분비하는 단백질의 유전자 내에는 숙주 세포의 핵 및 미토콘드리아를 포함한 세포 소기관을 타겟으로 하는 특정 유전서열을 포함하게 되는데 (38, 39),

정확한 분비기전으로 연구된 것은 없지만 이러한 유전자 서열을 가지고 있지 않은 Ndk의 경우는 감염세포 내로 분비되는 OMV를 통해 숙주세포 내부를 포함한 외부로 분비될 가능성이 있으며 소포체에서 유래된 exosome을 통해 감염세포 외부로 분비될 가능성이 있을 수도 있다 (Fig. 2). 이와 관련된 연구를 살펴보면 그람 음성 세균에 감염된 숙주세포 내에서 세균의 분비 단백질들은 OMV를 통해 숙주세포와 상호작용하며 세포간 전이와 감염에도 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다 (40~43).

7. 결론

세포 생물학 및 세균의 의한 병인기전에 걸친 다양한 분야에서 Ndk의 기능에 대해 알아보았다. 병원성 세균으로부터 유래되는 Ndk는 감염세포와의 상관관계에 있어

서 상당한 부분을 차지하고 있으며 이러한 부분에 비추어 Ndk의 생물학적 기능은 병원성 세균의 감염기전연구에 중요한 정보를 제공하고 있다. 종래의 Ndk의 유전학적인 연구는 효소의 진화학적인 새로운 관점을 제시하며, 숙주세포 내 생존 세균의 숙주세포 기능조절에 중요한 인자로서의 역할을 한다고 볼 수 있다. 세균감염 연구에 있어 Ndk와 관련된 연구정보가 충분하지 않은 현실적인 제한점이 있지만 세균감염에 있어서 Ndk와 같은 숙주세포에 효과적인 영향을 줄 수 있는 세균영양인자(microbial effector)의 연구가 필요하며, 이를 통해 향후 숙주세포에 만성감염을 유발하는 병원성 세균감염 기전 이해 및 예방방법 모색에 기여할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Clark VL, Bavoil PM. Bacterial pathogenesis, part A: identification and regulation of virulence factors. Methods in Enzymology. San Diego: Academic Press vol. 235, 1994.
- Chakrabarty AM. Nucleoside diphosphate kinase: role in bacterial growth, virulence, cell signalling and polysaccharide synthesis. Mol Microbiol 1998;28:875-82.
- Dar HH, Prasad D, Varshney GC, Chakraborti PK. Secretory nucleoside diphosphate kinases from both intra- and extra-cellular pathogenic bacteria are functionally indistinguishable. Microbiology 2011;157:3024-35.
- Punj V, Zaborina O, Dhiman N, Falzari K, Bagdasarian M, Chakrabarty AM. Phagocytic cell killing mediated by secreted cytotoxic factors of *Vibrio cholerae*. Infect Immun 2000;68:4930-7.
- Melnikov A, Zaborina O, Dhiman N, Prabhakar BS, Chakrabarty AM, Hendrickson W. Clinical and environmental isolates of *Burkholderia cepacia* exhibit differential cytotoxicity towards macrophages and mast cells. Mol Microbiol 2000;36:1481-93.
- Yilmaz O, Yao L, Maeda K, Rose TM, Lewis EL, Duman M, et al. ATP scavenging by the intracellular pathogen *Porphyromonas gingivalis* inhibits P2X7-mediated host-cell apoptosis. Cell Microbiol 2008;10:863-75.
- Kolli BK, Kostal J, Zaborina O, Chakrabarty AM, Chang KP. *Leishmania*-released nucleoside diphosphate kinase prevents ATP-mediated cytolysis of macrophages. Mol Biochem Parasitol 2008;158:163-75.
- Zaborina O, Dhiman N, Ling Chen M, Kostal J, Holder IA, Chakrabarty AM. Secreted products of a nonmucoid *Pseudomonas aeruginosa* strain induce two modes of macrophage killing: external-ATP-dependent, P2Z-receptor-mediated necrosis and ATP-independent, caspase-mediated apoptosis. Microbiology 2000;146:2521-30.
- Bours MJ, Swennen EL, Di Virgilio F, Cronstein BN, Dagnelie PC. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. Pharmacol Ther 2006;112:358-404.
- Ali SR, Timmer AM, Bilgrami S, Park EJ, Eckmann L, Nizet V, et al. Anthrax toxin induces macrophage death by p38 MAPK inhibition but leads to inflammasome activation via ATP leakage. Immunity 2011;35:34-44.
- Pedra JH, Cassel SL, Sutterwala FS. Sensing pathogens and danger signals by the inflammasome. Curr Opin Immunol 2009;21:10-6.
- Ramachandra L, Qu Y, Wang Y, Lewis CJ, Cobb BA, Takatsu K, et al. *Mycobacterium tuberculosis* synergizes with ATP to induce release of microvesicles and exosomes containing major histocompatibility complex class II molecules capable of antigen presentation. Infect Immun 2010;78:5116-25.
- Spooner R, Yilmaz O. The role of reactive-oxygen-species in microbial persistence and inflammation. Int J Mol Sci 2011;12:334-52.
- Fontanils U, Seil M, Pochet S, El Ouailiti M, Garcia-Marcos M, Dehay JP, et al. Stimulation by P2X(7) receptors of calcium-dependent production of reactive oxygen species (ROS) in rat submandibular glands. Biochim Biophys Acta 2010;1800:1183-91.
- Yilmaz O, Verbeke P, Lamont RJ, Ojcius DM. Intercellular spreading of *Porphyromonas gingivalis* infection in primary gingival epithelial cells. Infect Immun 2006;74:703-10.
- Meena LS, Chopra P, Bedwal RS, Singh Y. Nucleoside diphosphate kinase-like activity in adenylate kinase of *Mycobacterium tuberculosis*. Biotechnol Appl Biochem 2003;38:169-74.
- Sureka K, Sanyal S, Basu J, Kundu M. Polyphosphate kinase 2: a modulator of nucleoside diphosphate kinase activity in mycobacteria. Mol Microbiol 2009;74:1187-97.
- Huynh KK, Plumb JD, Downey GP, Valvano MA, Grinstein S. Inactivation of macrophage Rab7 by *Burkholderia cenocepacia*. J Innate Immun 2010;2:522-33.
- Keith KE, Hynes DW, Sholdice JE, Valvano MA. Delayed association of the NADPH oxidase complex with macrophage

- vacuoles containing the opportunistic pathogen *Burkholderia cenocepacia*. Microbiology 2009;155:1004-15.
- 20) North RA. Molecular physiology of P2X receptors. Physiol Rev 2002;82:1013-67.
 - 21) Meena LS, Rajni. Survival mechanisms of pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. FEBS J 2010;277:2416-27.
 - 22) Sun J, Wang X, Lau A, Liao TY, Bucci C, Hmama Z. Mycobacterial nucleoside diphosphate kinase blocks phagosome maturation in murine RAW 264.7 macrophages. PLoS One 2010;5:e8769.
 - 23) Saini AK, Maithal K, Chand P, Chowdhury S, Vohra R, Goyal A, et al. Nuclear localization and in situ DNA damage by *Mycobacterium tuberculosis* nucleoside-diphosphate kinase. J Biol Chem 2004;279:50142-9.
 - 24) Epting CL, Coates BM, Engman DM. Molecular mechanisms of host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. Exp Parasitol 2010;126:283-91.
 - 25) Mantuano-Barradas M, Henriques-Pons A, Araújo-Jorge TC, Di Virgilio F, Coutinho-Silva R, Persechini PM. Extracellular ATP induces cell death in CD4+/CD8+ double-positive thymocytes in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. Microbes Infect 2003;5:1363-71.
 - 26) Wolf M, Müller T, Dandekar T, Pollack JD. Phylogeny of Firmicutes with special reference to Mycoplasma (Mollicutes) as inferred from phosphoglycerate kinase amino acid sequence data. Int J Syst Evol Microbiol 2004;54:871-5.
 - 27) Hunger-Glaser I, Hemphill A, Shalaby T, Hänni M, Seebeck T. Nucleoside diphosphate kinase of *Trypanosoma brucei*. Gene 2000;257:251-7.
 - 28) Levit MN, Abramczyk BM, Stock JB, Postel EH. Interactions between *Escherichia coli* nucleoside-diphosphate kinase and DNA. J Biol Chem 2002;277:5163-7.
 - 29) Corrêa G, Marques da Silva C, de Abreu Moreira-Souza AC, Vommaro RC, Coutinho-Silva R. Activation of the P2X(7) receptor triggers the elimination of *Toxoplasma gondii* tachyzoites from infected macrophages. Microbes Infect 2010;12:497-504.
 - 30) Kowluru A, Veluthakal R, Kaetzel DM. Regulatory roles for nm23/nucleoside diphosphate kinase-like enzymes in insulin secretion from the pancreatic islet beta cell. J Bioenerg Biomembr 2006;38:227-32.
 - 31) Vu ND, Wagner PD. Stimulation of secretion in permeabilized PC12 cells by adenosine 5'-[gamma-thio]triphosphate: possible involvement of nucleoside diphosphate kinase. Biochem J 1993;296:169-74.
 - 32) Zaborina O, Li X, Cheng G, Kapatral V, Chakrabarty AM. Secretion of ATP-utilizing enzymes, nucleoside diphosphate kinase and ATPase, by *Mycobacterium bovis* BCG: sequestration of ATP from macrophage P2Z receptors? Mol Microbiol 1999;31:1333-43.
 - 33) Kamath S, Chen ML, Chakrabarty AM. Secretion of nucleoside diphosphate kinase by mucoid *Pseudomonas aeruginosa* 8821: involvement of a carboxy-terminal motif in secretion. J Bacteriol 2000;182:3826-31.
 - 34) Nickel W. The mystery of nonclassical protein secretion. A current view on cargo proteins and potential export routes. Eur J Biochem 2003;270:2109-19.
 - 35) Pollak CN, Delpino MV, Fossati CA, Baldi PC. Outer membrane vesicles from *Brucella abortus* promote bacterial internalization by human monocytes and modulate their innate immune response. PLoS One 2012;7:e50214.
 - 36) Manning AJ, Kuehn MJ. Contribution of bacterial outer membrane vesicles to innate bacterial defense. BMC Microbiol 2011;11:258.
 - 37) Bomberger JM, Maceachran DP, Coutermarsh BA, Ye S, O'Toole GA, Stanton BA. Long-distance delivery of bacterial virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane vesicles. PLoS Pathog 2009;5:e1000382.
 - 38) Xiong H, Li S, Yang Z, Burgess RR, Dynan WS. *E. coli* expression of a soluble, active single-chain antibody variable fragment containing a nuclear localization signal. Protein Expr Purif 2009;66:172-80.
 - 39) Mukhopadhyay A, Ni L, Yang CS, Weiner H. Bacterial signal peptide recognizes HeLa cell mitochondrial import receptors and functions as a mitochondrial leader sequence. Cell Mol Life Sci 2005;62:1890-9.
 - 40) Berleman J, Auer M. The role of bacterial outer membrane vesicles for intra- and interspecies delivery. Environ Microbiol 2013;15:347-54.
 - 41) Kuehn MJ, Kesty NC. Bacterial outer membrane vesicles and the host-pathogen interaction. Genes Dev 2005;19:2645-55.
 - 42) Kulp A, Kuehn MJ. Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. Annu Rev Microbiol 2010;64:163-84.
 - 43) Schertzer JW, Whiteley M. Bacterial outer membrane vesicles in trafficking, communication and the host-pathogen interaction. J Mol Microbiol Biotechnol 2013;23:118-30.