

## Molecular Characterization of *sca* Genes Found in *Orientia tsutsugamushi* Genome

Na Young Ha, Myung-Sik Choi and Nam-Hyuk Cho\*

Department of Microbiology and Immunology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Scrub typhus is an acute, febrile illness caused by *Orientia tsutsugamushi* infection and it is one of the main causes of acute febrile illness in the Asian-Pacific region. The incidence of scrub typhus has been significantly increased in Korea during last 10 years. Although early diagnosis and proper antibiotic treatment are important to prevent severe complications, the clinical discrimination of scrub typhus from other undifferentiated fevers, such as leptospirosis or dengue fever, is often very difficult. In addition, an effective vaccine has not yet been developed. As a novel diagnostic and vaccine target for scrub typhus, we described surface cell antigen (*sca*) family genes encoding autotransporter proteins found in the genome of *O. tsutsugamushi*. The molecular characteristics and recent findings on the bacterial genes were introduced in this letter.

**Key Words:** *Orientia tsutsugamushi*, Scrub typhus, Autotransporter protein, *sca* gene

### 서 론

쯔쯔가무시병(scrub typhus)은 급성열성 감염질환(acute febrile disease)으로 우리나라에서는 결핵 다음으로 많이 발생하는 법정전염병 중 하나이다 (1, 2). 동아시아지역에서 매년 백만명 이상의 환자가 발생하는 것으로 추정되고 있으며, 국내에서는 2012년 8,600여명의 환자가 발생하는 등, 매년 감염보고가 증가하고 있고, 20명 이상 발생지역이 지난 10여년 사이 점차 복잡하고 있다고 보고되어 기후변화에 의한 발생률 증가가 의심되고 있다 (3). 신속한 진단과 항생제 치료를 통해 쯔쯔가무시병 환자를 치료하는 것이 가능하지만, 근본적인 예방이 가능한 백신은 아직 개발되지 못했다. 본 글에서는 유전체 분석을 통해 새로이 밝혀진 쯔쯔가무시균의 자가수송막단백 (autotransporter protein)인 Sca (surface cell antigen) 단백을

소개하고 진단 및 백신 표적으로서의 가능성을 제안하고자 한다.

### 본 론

쯔쯔가무시균은 주 막단백인 56 kD 단백질(Tsa56)의 혈청형 또는 유전형에 따라 100여 종 이상의 아종이 보고되어 있으며 (4), NCBI database에는 최근까지 750개 이상의 *tsa56* 유전자 서열이 보고되어 있다. 이러한 항원성의 차이로 인해 동남아시아지역에서는 재감염이 빈번하게 발생하고 있고, 지역별로 주로 발생하는 유전형에 차이가 있어 모든 유전형을 예방할 수 있는 백신을 제조하기 위해서는 유전형의 차이가 적은 단백질항원 표적이 필요한 상황이다.

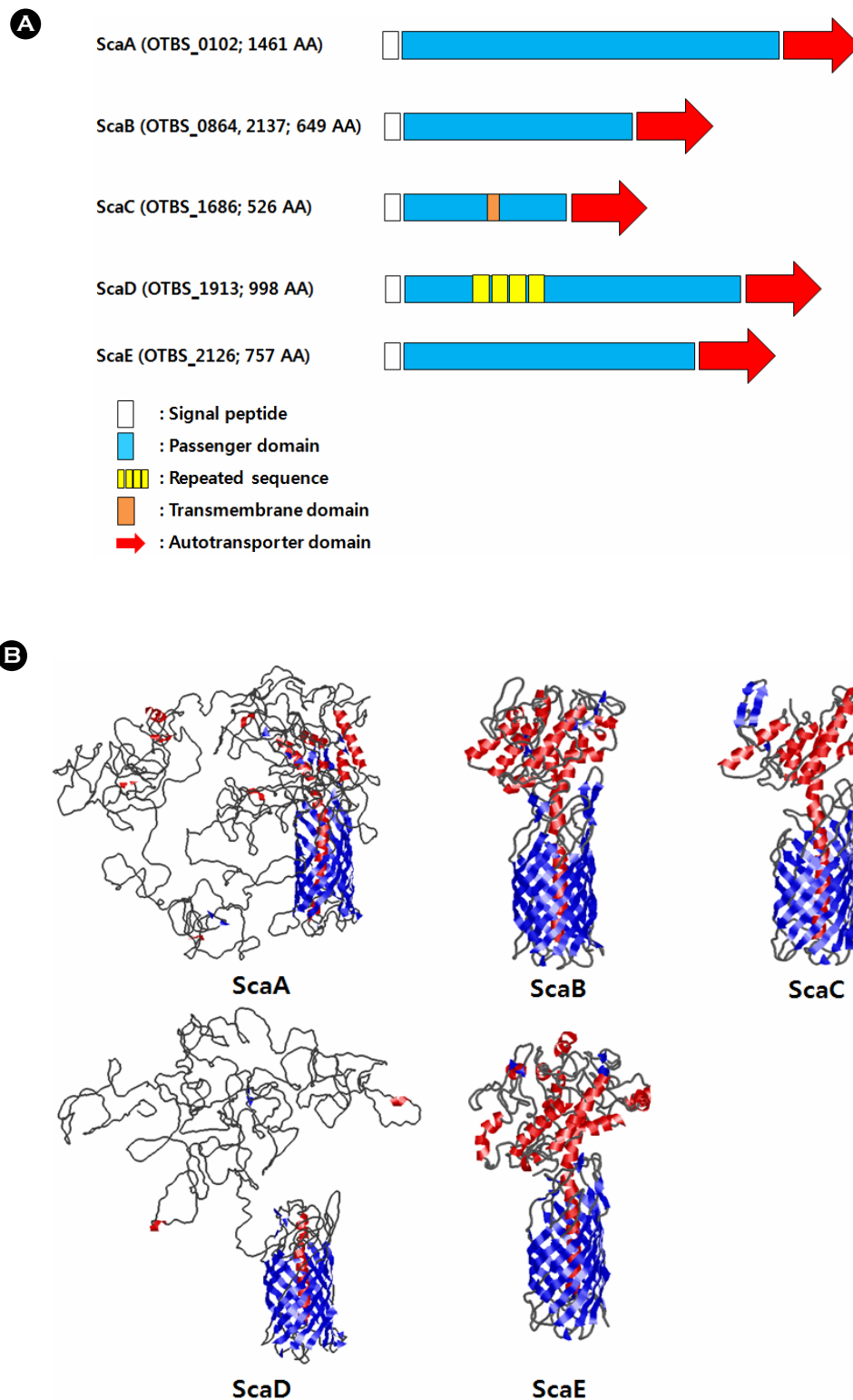
자가수송단백은 외막 단백질으로써 다양한 그람음성 세균들에서 확인되고 있으며, 세균의 숙주세포 부착들에

Received: May 31, 2013/ Revised: June 3, 2013/ Accepted: June 5, 2013

\*Corresponding author: Nam-Hyuk Cho. Department of Microbiology and Immunology, College of Medicine, Seoul National University 103 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-799, Korea.

Phone: +82-2-740-8392, Fax: +82-2-743-0881, e-mail: chonh@snu.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.** (A) Schematic diagram of *O. tsutsugamushi* autotransporter proteins. Schematic presentation of the five Sca proteins identified in the genome of the *O. tsutsugamushi* Boryong strain. The domain structures were predicted using SMART (Simple Modular Architecture Research Tool; <http://smart.embl-heidelberg.de/>). (B) 3D Structure model of the autotransporter proteins predicted by I-TASSER program (<http://zhanglab.cmb.med.umich.edu/I-TASSER/>).

관여하는 등, 주요 병원성 인자로 알려져 있다 (5). 이 막단백들은 분비에 필요한 아미노말단의 신호펩타이드(signal peptide)와 카르복시말단의 자가수송 도메인을 공통적으로 보유하고 있으며, 이들 도메인 사이의 중간에 세포막 밖으로 노출되는 패신저 도메인(passenger domain)이 존재한다. 신호펩타이드가 이 단백을 원형질막공간(periplasm)으로 이동시키고 자가수송 도메인이 세포외막에  $\beta$ -barrel 구조를 형성하여 패신저 도메인을 세균외막 밖으로 이송하게 된다 (6). 이렇게 세균 외로 노출된 단백질들은 숙주세포에의 부착(adhesion) 및 침입(invasion) 과정에 관여하거나, protease, esterase, proteolytic toxin 등의 활성을 발현하기도 하고, biofilm 형성을 매개하기도 한다 (5). 또한 이들 자가수송단백들은 균의 외막에 주로 발현되므로 그람음성 세균에 대한 백신항원으로 활용하는 연구들이 활발하게 진행되고 있고, 이 중에서 *Bordetella pertussis*의 pertactin이나 *Haemophilus influenzae*의 Hap와 같이 숙주세포에의 부착능력을 가지고 있는 자가수송단백들이 효과적인 방어면역반응을 유도한다고 보고되어 있다 (7~10). 본 연구그룹도 최근 *O. tsutsugamushi*의 유전체에서 5종류의 자가수송단백들을 암호화하는 유전자들을 동정하여 보고하였으며, 이 유전자들을 각각 *scaA-E*라고 명명하였다(Fig. 1) (11). Boryong strain에서만 발견되는 *scaB*을 제외한 4개의 유전자들은 Karp, kato, Gilliam, Ikeda 유전형에서도 검출되었으며, 패신저 도메인의 아미노산 서열은 유전형간에 상동성이 비교적 높은 것으로 확인되었다(*ScaA*: 65.8~81.8%, *ScaC*: 77.4~97.5%, *ScaD*: 69.7~93.8%, *ScaE*: 62.8~85.3%) (11). 또한 *ScaA*와 *ScaC*는 쯔쯔가무시병 환자에서 항체 반응을 유도하는 것도 확인되었다 (12). 유전형간 아미노산 서열 상동성이 가장 높은 *ScaC* 단백질의 경우, 이 세균 표면에 발현되는 것이 면역염색을 통해 확인되었으며, 숙주세포에 *O. tsutsugamushi* 균이 부착하는 과정에 관여하고 있음을 보고하였다 (11). 이 유전자를 발현하는 재조합 대장균도 숙주세포에 부착능이 증가되는 것을 확인하여 이를 표적으로 항체는 중화 항체로서의 역할을 할 수 있을 것으로 판단된다. 이와 비슷한 자가수송단백의 기능이 *Rickettsia conorii*의 *Sca1*, 2에서도 보고된 바 있다 (13, 14).

## 결 론

결론적으로 쯔쯔가무시균의 *sca* 유전자들 중 일부는

다양한 유전형의 세균들에서 비교적 높은 상동성을 가지며 보존되어 있고, 초기 감염 시 숙주세포의 부착에 관여하며, 감염을 통해 항체를 형성함을 알 수 있다. 이러한 사실들을 근거로 *Sca* 단백질 중 일부는 쯔쯔가무시병의 새로운 백신항원 후보물질로 될 수 있을 것으로 판단되며, 기존에 주로 사용되어 온 백신항원인 *Tsa56* 단백질과 병용 사용할 경우 백신의 효능을 증가시키는데 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 현재 본 연구그룹에서는 동물 실험을 통하여 다양한 유전형의 감염에 대한 보호면역이 *Sca* 단백질 백신을 통해 유도될 수 있는지 확인하는 실험을 진행 중이다.

## 참 고 문 헌

- 1) Seong SY, Choi MS, Kim IS. *Orientia tsutsugamushi* infection: overview and immune responses. *Microbes Infect* 2001;3:11-21.
- 2) Kim SY, Choi MS, Cho NH. Cellular and systemic Interactions of *Orientia tsutsugamushi* with mammalian host. *J Bacteriol Virol* 2012;42:276-83.
- 3) Kweon SS, Choi JS, Lim HS, Kim JR, Kim KY, Ryu SY, *et al.* Rapid increase of scrub typhus, South Korea, 2001-2006. *Emerg Infect Dis* 2009;15:1127-9.
- 4) Kelly DJ, Fuerst PA, Ching WM, Richards AL. Scrub typhus: the geographic distribution of phenotypic and genotypic variants of *Orientia tsutsugamushi*. *Clin Infect Dis* 2009;48:203-30.
- 5) Wells TJ, Tree JJ, Ulett GC, Schembri MA. Autotransporter proteins: novel targets at the bacterial cell surface. *FEMS Microbiol Lett* 2007;274:163-72.
- 6) Henderson IR, Navarro-Garcia F, Desvaux M, Fernandez RC, Ala'Aldeen D. Type V protein secretion pathway: the autotransporter story. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004;68:692-744.
- 7) Cherry JD, Gornbein J, Heininger U, Stehr K. A search for serologic correlates of immunity to *Bordetella pertussis* cough illnesses. *Vaccine* 1998;16:1901-6.
- 8) Cutter D, Mason KW, Howell AP, Fink DL, Green BA, St Geme JW 3rd. Immunization with *Haemophilus influenzae* Hap adhesin protects against nasopharyngeal colonization in experimental mice. *J Infect Dis* 2002;186:1115-21.
- 9) Everest P, Li J, Douce G, Charles I, De Azavedo J, Chatfield S, *et al.* Role of the *Bordetella pertussis* p.69/pertactin protein and the p.69/pertactin RGD motif in the adherence to and

- invasion of mammalian cells. Microbiology 1996;142:3261-8.
- 10) Fink DL, Green BA, St Geme JW 3rd. The *Haemophilus influenzae* Hap autotransporter binds to fibronectin, laminin, and collagen IV. Infect Immun 2002;70:4902-7.
- 11) Ha NY, Cho NH, Kim YS, Choi MS, Kim IS. An autotransporter protein from *Orientia tsutsugamushi* mediates adherence to nonphagocytic host cells. Infect Immun 2011; 79:1718-27.
- 12) Ha NY, Kim Y, Choi JH, Choi MS, Kim IS, Kim YS, *et al.* Detection of antibodies against *Orientia tsutsugamushi* Sca proteins in scrub typhus patients and genetic variation of *sca* genes of different strains. Clin Vaccine Immunol 2012;19: 1442-51.
- 13) Cardwell MM, Martinez JJ. The Sca2 Autotransporter Protein from *Rickettsia conorii* Is Sufficient to Mediate Adherence to and Invasion of Cultured Mammalian Cells. Infect Immun 2009;77:5272-80.
- 14) Riley SP, Goh KC, Hermanas TM, Cardwell MM, Chan YG, Martinez JJ. The *Rickettsia conorii* autotransporter protein Sca1 promotes adherence to nonphagocytic mammalian cells. Infect Immun 2010;78:1895-904.
-