

발간등록번호

11-1543000-000938-01

농림축산식품 미생물유전체전략연구사업 연구동향 분석 보고서

2015. 7



농림축산식품

미생물유전체전략연구사업단

Strategic Initiative for Microbiomes in Agriculture and Food



목 차



| | |
|---|-----------|
| I. 미생물 유전체 연구동향 | 3 |
| 제1절 서론..... | 3 |
| 1. 미생물 유전체 연구 비전..... | 3 |
| 2. 미생물 유전체 사업 미션..... | 4 |
| 제2절 농축산식품 미생물 유전체 연구동향..... | 6 |
| 1. 주요 선진국 연구동향..... | 6 |
| 제3절 결론 및 전망 | 13 |
| 제4절 참고문헌..... | 13 |
| | |
| II. 김치 미생물 유전체 연구동향 | 17 |
| 제1절 서론..... | 17 |
| 제2절 김치 유전체 연구동향..... | 17 |
| 1. 김치 유산균의 종류 및 계통학적 위치..... | 17 |
| 2. 김치 유산균의 유전체 연구 현황..... | 18 |
| 3. 김치 유산균 유전체의 공통적 특징..... | 19 |
| 4. 유전체 염기서열 분석을 통한 주요 김치발효 유산균의 특징..... | 20 |
| 5. 국외 유산균 유전체 연구동향..... | 21 |
| 제3절 김치 유전체 연구의 향후전망 및 연구방향 | 23 |
| 제4절 참고문헌..... | 23 |
| | |
| III. 주류 미생물 연구동향 | 29 |
| 제1절 서론..... | 29 |
| 제2절 한국 전통주/유용 미생물 자원의 역사와 현주소..... | 30 |

| | |
|----------------------------------|-----------|
| 1. 한국 전통주의 역사 및 제조법..... | 30 |
| 2. 누룩의 제조 및 유래 미생물..... | 32 |
| 제3절 주류 미생물 유전체 연구동향..... | 33 |
| 1. 주류 미생물 관련 논문 및 특허 동향..... | 33 |
| 2. 국외 주요 주류 미생물 연구동향..... | 36 |
| 3. 국내 전통주(전통누룩) 미생물 연구현황..... | 40 |
| 제4절 결론 및 전망..... | 43 |
| 제5절 참고문헌..... | 44 |
| | |
| IV. 생물비료(미생물제제) 연구동향..... | 49 |
| 제1절 개요..... | 49 |
| 제2절 국내외 연구동향 분석..... | 50 |
| 1. 국내 연구동향 분석..... | 50 |
| 2. 국외 연구동향 분석..... | 51 |
| 제3절 향후 전망..... | 59 |
| 제4절 참고문헌..... | 59 |
| | |
| V. 사료첨가제 미생물 연구동향..... | 63 |
| 제1절 개요..... | 63 |
| 제2절 생균제..... | 63 |
| 제3절 국내 연구동향..... | 64 |
| 제4절 해외 연구동향..... | 65 |
| 제5절 향후 전망..... | 70 |
| 제6절 참고문헌..... | 71 |

| | |
|---|------------|
| VI. 메타유전체를 이용한 농업 미생물 연구동향 | 75 |
| 제1장 개요 | 75 |
| 제2절 농업 미생물 메타유전체 연구동향..... | 77 |
| 1. 농업과 미생물 메타유전체 연구..... | 77 |
| 2. 국내외 연구동향 분석 | 78 |
| 제3절 향후 전망..... | 86 |
| 제4절 참고문헌 | 87 |
| | |
| VII. 진핵미생물의 참조유전체 연구동향 | 91 |
| 제1절 서론 | 91 |
| 제2절 유전체 연구의 역사와 현주소 | 92 |
| 제3절 진핵 미생물 참조 유전체 연구동향..... | 94 |
| 1. 효모 유전체 연구 개발 동향..... | 94 |
| 2. 사상성 곰팡이 유전체 연구 개발 동향..... | 97 |
| 3. 진핵미생물 대상 유전체 분석기법 동향..... | 98 |
| 제4절 결론 및 전망..... | 100 |
| 제5절 참고문헌 | 100 |
| | |
| VIII. 생물정보 연구동향 | 109 |
| 제1절 개요 | 109 |
| 제2절 생물정보 산업 시장..... | 110 |
| 제3절 NGS를 이용한 생물정보 산업 | 112 |
| 1. 유전체 분석..... | 112 |
| 2. NGS를 활용한 휴먼 게놈 산업..... | 113 |
| 3. 휴먼 마이크로바이옴 분석..... | 114 |

| | |
|---------------------|-----|
| 4. 전사체 분석..... | 114 |
| 5. 농업 생물 정보 분석..... | 114 |
| 제4절 맺음말..... | 115 |

IX. 식물병원성 미생물(진균) 연구동향..... 119

| | |
|------------------|-----|
| 제1절 개요..... | 119 |
| 제2절 국내 연구동향..... | 120 |
| 제3절 해외 연구동향..... | 124 |
| 제4절 향후 전망..... | 125 |
| 제5절 참고문헌..... | 127 |

X. 동물병원성 미생물(세균) 연구동향..... 131

| | |
|------------------|-----|
| 제1절 개요..... | 131 |
| 제2절 연구동향 분석..... | 131 |
| 1. 국내 연구동향..... | 131 |
| 2. 해외 연구동향..... | 133 |
| 제3절 향후 전망..... | 135 |
| 1. 국내 동향..... | 135 |
| 2. 해외 동향..... | 136 |
| 제4절 참고자료..... | 137 |

<표 목 차>

| | |
|--|-----|
| [표 1] 농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단의 단위과제 유형과 목표..... | 5 |
| [표 2] 현재까지 보고된 김치 유산균의 유전체 정보..... | 19 |
| [표 3] 2013년도 주류 생산현황 및 매출현황..... | 31 |
| [표 4] 전통누룩과 일본식 입국의 비교..... | 40 |
| [표 5] 국내 생물비료 시장 현황 및 전망..... | 50 |
| [표 6] 국내 주요 생물비료의 주요 기능 및 관련 미생물..... | 51 |
| [표 7] 세계 생물비료 시장 규모..... | 52 |
| [표 8] 국내에서 시판이 가능한 미생물..... | 65 |
| [표 9] 돼지 생균제 관련 논문 356편에서 언급된 Bacteria 종류..... | 68 |
| [표 10] 농업 분야별 키워드..... | 79 |
| [표 11] 국내 친환경 농산물 증가 추이..... | 86 |
| [표 12] 2세대 및 3세대 NGS 플랫폼 비교..... | 93 |
| [표 13] 대표적인 효모의 유전체 서열 데이터베이스..... | 95 |
| [표 14] Génolevures 데이터베이스에서 이용 가능한 반자낭 균류들의 유전체 정보..... | 96 |
| [표 15] 현재까지 알려져 있는 효모 및 곰팡이 게놈 시퀀싱 정보..... | 99 |
| [표 16] 생물정보 산업 시장 규모..... | 110 |
| [표 17] 주요 곰팡이 독소의 IARC 발암등급..... | 121 |
| [표 18] Bioinformatics tools for prediction of secreted proteins..... | 124 |
| [표 19] 동물용 의약품의 세계 시장 규모 추이..... | 137 |

<그 립 목 차>

| | |
|--|----|
| [그림 1] Housekeeping 유전자(<i>dnaK</i> , <i>rplA</i> , <i>rpsB</i> , <i>rpmA</i>)들의 연결서열을 이용한 유산균의 계통학적 분석..... | 18 |
| [그림 2] 전통주 발효과정..... | 32 |
| [그림 3] 누룩의 제조 과정과 발효 후 누룩 내의 미생물..... | 32 |
| [그림 4] 최근 10년간 연도별 주류 미생물 유전체 관련 연구동향 분석..... | 34 |
| [그림 5] 최근 10년간 주류 미생물 유전체 관련 연구동향 분석..... | 35 |
| [그림 6] 최근 10년간 주류 미생물 유전체 관련 연구동향 분석..... | 35 |
| [그림 7] 최근 10년간 주류 미생물 유전체 관련 특허 분석..... | 36 |
| [그림 8] Genetic relationship of <i>S. cerevisiae</i> strains..... | 37 |
| [그림 9] Number and hierarchical clustering of up- or down-regulated genes during the fermentation..... | 38 |
| [그림 10] Comparison of transcript levels in strains T73 and MCY730..... | 39 |
| [그림 11] Phylogenetic tree of larger brewing yeast and 8 yeast species..... | 39 |
| [그림 12] microflora profile of nuruk collected from various provinces in Korea..... | 41 |
| [그림 13] Fungal community dynamics during the fermentation of rice beers..... | 42 |
| [그림 14] Bacterial community dynamics during the fermentation of rice beers..... | 42 |
| [그림 15] 미생물제제 이용 시 문제점..... | 50 |
| [그림 16] 유전체 분석을 이용한 일반적인 bacteria와 archaea의 군집 구조 분석 모식도.. | 54 |
| [그림 17] Scopus에 등록된 생물비료 관련 논문 편수..... | 55 |
| [그림 18] Scopus에 등록된 세균과 곰팡이 유전체 분석 관련 논문 편수..... | 55 |
| [그림 19] Mauve aligner를 이용한 <i>Enterobacter cloacae</i> NCTC9394와 CPCRI-1의 유전체의 다중 서열 분석..... | 56 |
| [그림 20] Tn5 형질전환 물질을 이용한 <i>A. tumefaciens</i> CCNWGS0286의 아연 내성 관련 유전자 발현 측정..... | 57 |
| [그림 21] <i>Allomyces macrogynus</i> 와 <i>Glomus irregulare</i> 내생균근의 <i>atp6</i> 유전자 발현 분석을 통한 <i>Glomus sp.</i> 내 미토콘드리아 유전자 발현 확인..... | 57 |

| | |
|---|-----|
| [그림 22] Markov clustering 프로그램을 이용한 <i>Rhizophagus irregularis</i> 내생균근 포자 핵의 Top 100 proteins sequence group..... | 58 |
| [그림 23] 소화 장관에서의 유산균의 유익 작용..... | 64 |
| [그림 24] Probiotic 연구 논문에서 사람과 돼지 관련성..... | 66 |
| [그림 25] 돼지 연구 논문에서 항생제, 생균제, 박테리오파지, 미생물군집 관련성..... | 66 |
| [그림 26] 돼지 생균제 연구 논문에 나타난 키워드 연관성 분석..... | 68 |
| [그림 27] 돼지 생균제 연구 논문에 나타난 키워드들의 Word Cloud..... | 69 |
| [그림 28] Probiotic 연구 논문에 Genome 연구 경향..... | 70 |
| [그림 29] 미생물 메타유전체 분석..... | 76 |
| [그림 30] 메타유전체를 이용한 미생물 군집분석 연구의 timeline..... | 77 |
| [그림 31] 농작물 스트레스에 저항성을 부여하는 공생균 | 78 |
| [그림 32] 최근 8년간 연도별 농업 미생물 메타유전체 관련 연구동향 분석..... | 79 |
| [그림 33] 농업 미생물 관련 논문의 연도별 발표 수..... | 80 |
| [그림 34] 농업미생물 관련 논문의 최다 배출 국가..... | 80 |
| [그림 35] 농번기 동안의 박테리아와 고세균의 군집변화..... | 81 |
| [그림 36] 메타유전체를 이용하여 근권에서 얻은 신규 유전자 EstD2..... | 82 |
| [그림 37] 옥수수 근권에 영향을 미치는 요인과 미생물 군집..... | 83 |
| [그림 38] 메타유전체와 메타단백질체를 이용해 분석한 논에서의 박테리아와 고세균 다양성분석..... | 84 |
| [그림 39] 식물 근권의 미생물 군집..... | 85 |
| [그림 40] Jasmonic acid에 의해서 변화된 근권의 미생물 군집 | 85 |
| [그림 41] 시퀀싱 실험의 단계 | 93 |
| [그림 42] 대표적인 효모의 유전체 서열 데이터베이스..... | 95 |
| [그림 43] JGI에서 운영 중인 곰팡이 유전체 서열 데이터베이스와 응용 분야..... | 98 |
| [그림 44] DNA sequencing 비용의 추이..... | 109 |
| [그림 45] NGS로부터 Genome 분석을 하는 모식도. | 112 |
| [그림 46] Genome data를 이용한 다양한 분석 방법의 예시..... | 113 |

| | |
|---|-----|
| [그림 47] <i>Fusarium isolates</i> 의 EF1A와 RPB2 염기서열을 이용한 계통분석트리 | 120 |
| [그림 48] <i>Bacillus licheniformis</i> 의 chitinase 활성 비교분석 | 121 |
| [그림 49] <i>Fusarium graminearum</i> 존재하는 DNA-binding motif 별 전사조절인자의 비율 | 122 |
| [그림 50] <i>Fusarium graminearum</i> 의 표현형별 관여하는 전사조절인자의 개수 | 123 |
| [그림 51] 전사조절인자 결손돌연변이체의 기능분석조사 | 123 |
| [그림 52] <i>Fusarium graminearum</i> 에서 protein kinase의 연구 | 125 |
| [그림 53] Phylogenetic analysis of protein kinase genes of <i>Fusarium graminearum</i> .. | 126 |
| [그림 54] 브루셀라 및 살모넬라균 감염 시 발현되는 유전체 분석 기술과 관련된 논문의 연도별 게재 현황 | 134 |
| [그림 55] 브루셀라 및 살모넬라균 감염 시 발병기전 규명 기술과 관련된 논문의 연도별 게재 현황 | 134 |
| [그림 56] 동물의약품 내수시장 추이 | 136 |
| [그림 57] 수입 동물용 의약품 판매 추이 | 136 |



I . 미생물 유전체 연구동향

I. 미생물 유전체 연구동향

농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단

제1절 서론

최근에 발달한 차세대 시퀀싱(NGS; next generation sequencing) 기술은 농축산식품 산업에 절대적 영향을 미치는 미생물 분야의 연구개발에 혁명적인 도약의 원동력이 되고 있다. 우수 농립, 축산, 식품 관련 제품의 생산과 품질에 미치는 미생물체(microbiota)의 영향을 차세대 시퀀싱(NGS) 기술을 통해 종합적이고 포괄적으로 분석·연구할 수 있는 길이 열리고 있는 것이다.

현재 선진국을 중심으로 전 세계적으로 미생물 유전체 연구가 폭발적으로 진행되고 있다. 인간과 자연에 존재하는 수많은 미생물이 인간의 건강과 농림축산 산업 등에 어떤 영향을 끼치는지에 관한 연구가 국가 주도 혹은 다국가 주도의 대규모 연구 프로젝트로 활발하게 진행되고 있다. 전 세계적으로 활발히 진행되고 있는 미생물 유전체 연구 현황과 NGS의 발달이 가져온 혁명적인 연구 환경 변화는 이를 농림축산식품 산업에 최대한 활용할 수 있도록 힘써야 하는 중요한 기로에 위치해 있다. 이와 같은 시점에서 농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단은 “농식품 유용 미생물 유전체 정보의 체계적 자원화 및 실용화 지원체계 구현을 위한 농식품 미생물 유전체 정보 활용 실용화·산업화를 통한 생명산업 육성 기반 마련”이라는 목표 하에 2014년 9월 출범했다.

1. 미생물 유전체 연구 비전

농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단은 미생물 유전체 정보를 활용한 농축산식품 산업의 발전을 위해 다음과 같은 네 가지(ATGC)의 연구 비전을 가지고 있다.

가. (A, Agricultural Resources) 미생물 유전체 연구를 통한 농생명자원·정보 확보

미생물 유전체 정보를 단시간 내에 확보할 수 있는 NGS 기술을 통해 농축산식품 산업의 핵심 전략 미생물 및 환경 미생물의 유전체 정보를 확보함으로써 농생명 자원 및 정보를 확보한다.

나. (T, Technology Transfer) 실용화·산업화를 통한 생명산업 육성 기반 마련

NGS 기술로 확보되는 대용량 유전체 정보는 IT 혁명 이후 세계 경제를 선도할 핵심 산업으로 주목받고 있는 바이오산업에 근본이 되는 핵심적 역할을 할 것이다. 유전체

정보를 바탕으로 한 실용화 및 산업화를 통해 농축산식품 분야의 산업 경쟁력을 확보하기 위해 유전체 정보를 통합 관리하고 분석하는 시스템을 구축하고 유전체 정보를 사용자(end-user)가 손쉽게 이해하고 쓸 수 있는 형태로 분석·가공하여 제공한다.

다. (G, Genomics Research) 목적 지향적 미생물 유전체 연구역량 강화

미생물 유전체 분야는 최근 비약적으로 발전하고 있으나 최근에는 시작된 분야로서 현재 선제적 대응 시 시장 선점 가능성이 높다. 따라서 목적 지향적이고 실제적인 실행안(action plan) 도출을 통해 농생명자원 시장분야에 선제적이고 과감한 투자가 절대적으로 필요한 시점이다. 농림수산식품 분야의 식물, 미생물 등 다양한 생명 자원들의 유전체 정보 분석 결과를 이용한 농업 유용 물질의 발굴 및 산업화와 바이오정보산업 육성을 통한 농산업의 새로운 도약 기반을 마련한다.

라. (C, Connection & Development) 부처와 연구자/산업계 협력 네트워크 구축

유전체 연구는 유전체 정보의 생산·가공·분석·활용 분야의 핵심 원천기술 개발을 위해서 다양한 학문분야의 전문가가 필요하며 BT·IT·NT 등의 융합 기술을 통한 종합적이고 통합적인 연구를 필요로 한다. 폭발적으로 증가하는 유전체 정보를 가공·처리하고 해석하기 위한 인프라 구축과 유전체 정보로부터 생산된 결과를 산업화하는데 필요한 기술·정보 제공을 위한 온·오프라인 협력 네트워크를 구축한다.

2. 미생물 유전체 사업 미션

“농식품 유용 미생물 유전체 정보의 체계적 자원화 및 실용화 지원체계 구현을 위한 농식품 미생물 유전체 정보 활용 실용화·산업화를 통한 생명산업 육성 기반 마련”이라는 최종목표를 성취하기 위해 본 사업단은 1) 조기성과 창출, 2) 연구역량 강화, 3) 부처연계 공동연구 등 세 가지 핵심 사업 분야의 연구개발을 수행하고 있다.

가. 조기성과 창출

조기 산업화가 가능한 미생물 자원 또는 기업이 활용 중인 유용 미생물 유전체 정보를 확보하고 유전체 정보 분석 결과를 토대로 미생물 및 유전정보의 실용화·산업화함을 목표로 한다.

조기성과 창출을 위한 단위 과제로 1) 김치 분야 미생물 유전체 연구, 2) 주류 분야 미생물 유전체 연구, 3) 생물비료 분야 미생물 유전체 연구, 4) 사료첨가제 분야 미생물 유전체 연구 등 4개 과제가 2014년에 선정되어 연구개발이 진행되고 있다.

나. 연구역량 강화

농축산식품 산업의 핵심 유전체 정보의 국가 자원화를 위한 미생물 유전체 연구 경쟁력 및 목적 지향적 바이오산업 응용 역량을 강화한다. 농축산식품 미생물의 생태, 생리 및 기능 연구에 필수적인 환경 미생물 커뮤니티의 메타유전체(metagenome)와 참조 유전체(reference genome) 대량 해독 및 정보 분석을 통하여 미생물 유전체 연구역량을 강화한다.

연구역량 강화를 위한 단위과제로 1) 농업 유용미생물의 메타유전체 정보 분석, 2) 농업 유용미생물의 참조유전체 정보 분석, 3) 농업생물정보 처리 기술 개발 등 3개 과제가 1차 년도에 선정되어 진행되고 있다.

다. 부처연계 공동연구사업

동·식물 병원성 미생물의 유전체 정보를 해독 분석을 통해 유전적 질병 발생 기작을 규명하고 이를 통해 병원균 방지 및 퇴치를 위한 정보를 공공에 제공한다.

부처연계 공동연구사업의 단위과제는 현재 1) 식물병원성 미생물 유전체 분석 및 병원균 제어, 2) 경제동물 병원균 유전체 분석 및 병원균 제어 등 2개 과제가 선정되어 진행되고 있다.

[표 2] 농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단의 단위과제 유형과 목표

| 과제구분 | 과제유형 | 단위과제 분야명 | 과제목표 |
|---------|-------------------------------------|---------------------------|----------------------|
| 단위과제 | 조기성과 창출형 | 김치 분야 미생물 유전체 연구 | 유용 유전자원 확보 및 사업화·실용화 |
| | | 주류 분야 미생물 유전체 연구 | |
| | | 생물비료 분야 미생물 유전체 연구 | |
| | | 사료첨가제 분야 미생물 유전체 연구 | |
| | 연구역량 강화형 | 농업 유용미생물의 메타유전체 정보 분석 | 유전체 정보 및 연구 성과 확보 |
| | | 농업 유용미생물의 참조유전체 정보 분석 | |
| | | 농업생물정보 처리기술 개발 | |
| | (부처 공동) Host-Microbe Interaction 연구 | 식물병원성 미생물 유전체 분석 및 병원균 제어 | 병 발생 기작 규명 |
| | | 경제동물 병원균 유전체 분석 및 병원균 제어 | |
| 총 9개 과제 | | | |

제2절 농축산식품 미생물 유전체 연구동향

1. 주요 선진국 연구동향

가. 북미

1) 미국

- 인체 미생물체 프로젝트(Human Microbiome Project; HMP): 미국에서 진행되고 있는 대표적인 미생물 유전체 연구 프로젝트는 국립보건원(NIH) 주도 하에 진행되고 있는 휴먼마이크로바이옴 프로젝트이다. 이 프로젝트는 5년간 총 1,600억원의 예산으로 2008년에 시작되었다. 최초 5년 기간(예산년도 2007~2012년) 동안은 인간 신체의 각 부위에 존재하는 미생물 공동체의 구성과 다양성을 파악하는 연구에 초점을 맞췄고, 현재(예산년도 2013-2015년)는 인간의 미생물 관련 질병에 있어서 인간과 미생물의 생물정보를 통합적으로 구축하는 연구를 진행하고 있다.
- 지구 마이크로바이옴 프로젝트(The Earth Microbiome Project; EMP): 미국 연방정부의 에너지부 주도로 2010년 시작된 지구 마이크로바이옴 프로젝트는 지구상의 현재 배양 불가능한 자연 상의 미생물의 다양성을 전 지구적 규모로 분석 구축하겠다는 야심찬 목표를 가지고 진행되고 있다. 이 프로젝트는 전 세계 약 200,000여개의 자연 환경 샘플을 가지고 미생물의 다양성과 기능성을 분석 처리하겠다는 비전을 가지고 진행되고 있다. 2014년 7월 기점으로 30,000개 이상의 샘플을 이미 분석 처리하였다. 이 프로젝트는 초기 미연방정부 에너지부에서 직접 연구비를 제공하였으나 2013년부터 존 템플턴(John Templeton) 재단과 켈(Keck) 재단 등 개인 재단을 통해서도 연구비를 제공받고 있다.
- 조인트 지놈연구소(Joint Genome Institute; JGI) 연구동향: 미국 에너지부의 조인트 지놈연구소는 다양한 미생물체 프로젝트를 진행 중인데 그 중 하나가 반추위 미생물체 연구를 통해 메탄가스 감소를 위한 연구이다. 또한 1000 fungal genomes 프로젝트는 1000개의 곰팡이 유전체 서열을 분석하고 최소 2개의 참조유전체를 생성해 내겠다는 계획 하에 진행 중에 있다. 곰팡이가 자연 상에서 생물 및 인조 폴리머의 거의 대부분을 분해하므로 이같은 곰팡이 메타지놈 분석은 인류에 큰 도움을 줄 것으로 기대된다.
- 프로바이오틱스(probiotics) 연구동향: 최근 미국, 유럽 등 선진국에서 프로바이오틱스에 관한 관심이 크게 증가하고 있다. 특히 국립대체의학센터(National Center for Complementary and Alternative Medicine; NCCAM)는 요구르트나 영양제 등을 통해 섭취하는 프로바이오틱스가 인간 미생물유전체에 미치는 영향을 체계적이고

종합적으로 분석 연구하겠다는 계획을 "제3차 전략계획 2011-2015" 보고서를 통해 발표하였다¹. 이를 위해서 국립대체의학센터(NCCAM)는 국립보건원(NIH)의 휴먼 마이크로바이옴 프로젝트와 연계된 연구를 진행하는 등 국립보건원(NIH), 식품의약청(FDA), 미국농업부(USDA) 등과 함께 하는 공동연구를 진행하고 있다.

- 미국농업부(USDA; U.S. Department of Agriculture) 예산 및 연구 사업: 미국농업부 2015년 예산은 약 150조원이 책정되었다(2014년 예산은 약 160조원). 이 중 농업 연구서비스(Agriculture Research Service)에 약 1조2천억원, 국립식품농업연구원(National Institute of Food and Agriculture; NIFA)에 약 1조6천억원, 농식품 연구이니셔티브(Agriculture and Food Research Initiative)에 약 3천5백억원 등 농식품 연구에 전문학적인 예산을 책정하고 있다.
- 민간 분야 동향: 미국은 연방 및 정부 뿐 만아니라 민간 사기업에서도 농작물, 가축의 생산량 증대를 위한 연구에 전문학적인 자금을 투자하고 있는 강점을 가지고 있다. 예를 들면, BASF, Bayer CropScience, Chr. Hansen, Novozyme, Monsanto 등 많은 사기업들이 농작물 생산 증진을 위한 토양 미생물 연구에 약 2조원의 연구비를 투자하고 있다. 농작물 생산성 증진제를 생산하는 사기업 AgBiome은 농작물의 생산성을 크게 증진시킬 수 있는 식물 미생물들을 찾아내는 연구를 진행 중이며 최근 벤처캐피탈을 통해서 155억원의 연구개발 자금을 확보하였다는 발표를 하였다. 또한 Arinos 역시 벤처캐피탈을 통해서 300억원의 연구개발 자금을 2013년 말 확보하는 등 이와 같은 예가 많이 있다.
- 기타 동향: 또한 주목해야 할 미국 내 상황 중 하나는 2014년 9월 2일 미국 대통령 과학 기술 자문 위원회에서 항생제 저항성 문제를 해결하기 위한 보고서, "Report to the President on Combating Antibiotics Resistance"를 발표하고 농업을 포함한 광범위한 분야에서의 항생제 사용을 심각한 문제로 생각하고 항생제 사용의 철저한 규제를 제안하였다³. 이는 앞으로 농축산식품 산업에 크나 큰 파급 효과를 미칠 방법을 예고하고 있다.
- 항생제 내성균 문제와 관련된 또 다른 최근 리포트는 만약 항생제 내성균 문제를 해결하지 못할 경우 2050년에는 전 지구 상 연간 100조원의 비용과 일천만 명의 생명을 빼앗아 가는 등 심각한 전 인류적 문제를 발생할 수 있다고 보고하고 있다⁴.

2) 캐나다

- 지놈캐나다(Genome Canada): 캐나다는 국가적으로 신생학문인 유전체학(genomics) 연구를 진흥시키기 위해 연방정부 산하의 지놈캐나다와 각 지역 별 지놈센터를 설립하여 유전체 연구를 지원하고 있다⁵. 지역 지놈센터는 지놈브리티시컬롬비아

(Genome British Columbia), 지놈알버타(Genome Alberta), 지놈퀘벡(Genome Quebec), 지놈아틀란틱(Genome Atlantic), 지놈프레이어(Genome Prairie), 온타리오 유전체학연구소(Ontario Genomics Institute) 등이 설립되어 있다.

- 지놈캐나다는 농업, 에너지, 환경, 수산업, 산림업, 건강, 광업 등의 분야에 각각 많은 연구자금을 투자하고 있다. 특히 농업은 약 2,000억의 연구비를 15개 프로젝트에 투자하여 밀, 감자 등의 농작물과 가축의 유전체학 연구를 지원하고 있다. 유전체학을 통한 환경변화에 최적화된 농작물의 유전학적 성질 파악, 그리고 유전체학을 통한 가축의 우성 유전자 증진과 친환경적인 축산업의 확립 등의 연구를 진행하고 있다.
- 유전체센터(Genome Center): 지역별 유전체센터들은 각 지역의 특수한 농축산 산업에 맞는 연구주제들을 선정하여 유전체학을 통한 농축산 산업의 발전을 위한 연구를 수행하고 있다. 예를 들면, 지놈브리티시컬롬비아(Genome British Columbia)는 농작물과 가축의 병충, 질병 기작 등의 연구를 통해서 농작물과 가축의 생산과 품질을 증진시킬 수 있도록 지원하고 있다. 또한 새로운 형질의 농작물과 가축 개발을 통해 생산 증대 및 새로운 시장 개척을 위한 연구를 진행하고 있다. 현재 진행되고 있는 “어린 암 젖소 유전체 테스트 평가(Evaluation of Genomic Testing of Dairy Heifers)” 프로젝트는 젖소의 털 샘플의 유전자 마커 분석을 통해서 우유의 지방 및 단백질 함량과 우유 생산량 등 바라는 형질을 갖는 젖소 품종의 개발을 지원하고 있다.
- 또 다른 지역의 유전체센터인 지놈프레이어(Genome Prairie)는 올해 6월 “유전체학과 식량의 미래(Genomics and Feeding the Future)” 프로젝트를 4년간 1,000억의 연구비를 갖고 시작하였다. 이 프로젝트는 인구 증가에 따른 미래의 식량 문제를 해결하기 위해 농식품, 수산 및 양식어업 분야에서의 유전체학 연구를 지원하는 것을 목표로 하고 있다.
- 캐나다 마이크로바이옴 이니셔티브(The Canadian Microbiome Initiative): 미국의 국립보건원에서 시작된 인체 마이크로바이옴 프로젝트의 진행에 발 맞춰 캐나다 국립보건연구원(Canadian Institutes of Health Research; CIHR)은 이 분야에서 캐나다 연구자들이 국제적으로 주도적이고 중요한 역할을 할 수 있는 연구 환경을 조성하고자 140억 자금으로 2007년 캐나다 마이크로바이옴 이니셔티브를 만들었다. 이를 통해 이 분야 연구를 위한 연구자금 확보 등의 중요한 역할을 진행하고 있다.

나. 유럽

- 지평 2020(Horizon 2020): 지평 2020은 2014년에서 2020년까지 7년간 약 80조원의 예산을 가진 유럽연합(EU) 최대의 연구 개발 프로그램이다. 농생물산업은 이 프로그램의 주요 분야 중 하나로써 인류의 식량 확보, 친환경 농업 및 임수산업 등 생물기반 경제 분야의 전반적인 영역의 연구를 통하여 획기적 발견과 기술 도약을 성취하고 이 연구결과들의 농생물산업 분야로의 실용화를 목표로 하고 있다.
- 콰토믹스(QUANTOMICS) 프로젝트: EU는 바이오경제(bioeconomy) 분야에 수 많은 프로젝트들을 진행하고 있다. 바이오경제 분야 내에 식품, 농업 및 임업, 어업 및 양식업, 생물공학 등의 크게 네 분야로 나눠 연구 개발을 지원하고 있다. 콰토믹스 프로젝트는 농업 및 임업 분야의 프로젝트 중 하나로 가축의 유전체 연구를 통해서 뛰어난 경제 형질을 갖는 가축 품종 개발 등 장기적으로 유럽의 축산업이 세계적인 경쟁성을 유지해 나갈 수 있도록 새로운 유전체학의 기술과 지식을 적극 개발 활용하고자 하는 목표로 수행되고 있다.
- 루미노믹스(RUMINOMICS) 프로젝트: 루미노믹스 프로젝트는 또 다른 농업 및 임업 분야 프로젝트로 가축 유전체, 장 미생물 유전체 등의 연구를 통하여 반추위 가축의 영양섭취 효율을 증진시키고 메탄가스 방출을 저해하는 것을 목표로 한 연구를 진행하고 있다.
- 인간 장내 메타유전체(Metagenomics of the Human Intestinal Tract; MetaHIT) 프로젝트: 인간 장내 메타유전체 프로젝트는 유럽연합에 의해 재정 지원을 받아 2008-2012 진행된 프로젝트로 인간 장내 미생물의 유전체와 인간 건강 및 질병간의 연관성을 확립하자는 목표를 가지고 진행되었다. 국제 인체 미생물체 컨소시엄(International Human Microbiome Consortium; IHMC)에 참여하고 있다.
- 국제 인간 마이크로바이옴 표준(International Human Microbiome Standards): 국제 인간 마이크로바이옴 표준은 유럽연합의 재정 지원을 통해 2011-2015에 진행되고 있는 연구 프로젝트이다. 이 프로젝트는 분석 과정과 프로토콜의 표준화를 통해서 장내 미생물체가 인간 건강에 미치는 영향을 측정하는 방법을 최적화하고자 하는 최종목표를 갖고 있다.
- 바이오테저트(BIODESRT; Biotechnology from Desert Microbial Extremophiles for Supporting Agriculture Research Potential in Tunisia and Southern Europe) 프로젝트: 유럽연합이 주관하는 프로젝트로 사막의 극한 조건에 존재하는 미생물 중 건조 사막 지역에서의 농작물 생산을 증진시킬 수 있는 미생물들을 찾아내고 이를 이용하는 등의 연구를 수행하고 있다. 특히 이 프로젝트는 건조한 사막 기후를 갖고

있는 북아프리카 튀니지의 농업을 지원하고자 하는 목표를 가지고 수행되고 있다.

- 메타제노폴리스(MetaGenoPolis; MGP): 메타제노폴리스는 프랑스의 재정 지원 하에 2012년부터 2019년까지 계획 하에 진행되고 있다. 이 연구 프로그램의 전략 목표는 인간 장내 미생물체가 건강과 질병에 영향을 미친다는 것을 증명하고자 하는 것이다.

다. 아시아

1) 중국

- BGI(구, 베이징 지놈 연구소; Beijing Genome Institute) 연구동향: BGI 농축산식품 산업 분야와 관련된 다양한 대형 유전체 연구 프로젝트를 진행 중에 있다. 예를 들면, 일천 개의 식물과 동물(1,000 plants and animals), 국제 감자 유전체 연구(international potato genome research), 쌀 일만 유전체 프로젝트(the rice 10,000 genome project), 식물병원균 파이토프토라 시퀀싱 프로젝트(*Phytophthora* genus sequencing project), 카사바 등의 프로젝트를 진행하고 있다.
- 미생물 유전체와 관련해서는 일만 개의 미생물 유전체를 해독하는 프로젝트(10,000 microbial genome project)를 수행하고 있는데, 이는 일만개의 미생물 참조유전체를 생성하고자 하는 계획 하에 2009년에 시작되었다. 농축산, 생물에너지, 환경, 의학 등 다양한 분야의 미생물들을 포함하고 있다.
- 메타거트프로젝트(Meta-GUT project): 초기 연구비 15억으로 시작한 인간 장 미생물 유전체 연구 프로젝트이다.
- 또한 중국은 330억 규모의 메타히트(MetaHIT) 프로젝트를 유럽과 공동으로 진행하고 있으며, 미국과 공동으로 지구 마이크로바이옴 프로젝트(EMP)를 진행하고 있다.

2) 일본

- 일본은 2005년 시작한 “휴먼 메타지놈 컨소시엄 저팬(Human MetaGenome Consortium Japan)” 등 대형 마이크로바이옴 프로젝트를 수행하고 있으나 현재 각각의 연구기관 단위의 연구 프로젝트가 주류를 이루고 있는 경향이 있다.
- 예를 들면 2019년 3,000억 규모의 세계 시장 규모를 형성할 것으로 예상되는 휴먼 마이크로바이옴 시장을 주도할 주요 회사 중의 하나인 야쿠르트 혼사 등의 사기업과 일본 이화학 연구소(RIKEN) 등의 국립 연구소 등을 통해서 마이크로바이옴 연구가 활발하게 진행되고 있다.

라. 남미 및 오세아니아

1) 브라질

- 브라질은 전 세계 동식물의 20% 정도가 서식하고 있는 광대한 생물 다양성을 가지고 있는 나라로써 2012년 글로벌 생물다양성 정보 기구(Global Biodiversity Information Facility)에 가입하여 브라질 내 생물 다양성 데이터를 무료로 외부에 개방하고 있지만 미생물 다양성에 관한 정보는 거의 전무한 상태였다. 브라질은 현재 브라질 내 미생물 다양성에 대한 정보를 획득하고 분석하기 위한 많은 미생물유전체 연구 프로그램을 진행하고 있고, 브라질 마이크로바이옴 프로젝트(Brazilian Microbiome Project; BMP)는 브라질 내에서 진행 중인 많은 메타지놈 프로젝트를 통합하여 브라질 메타지놈 컨소시엄/데이터베이스를 구축하겠다는 목표 하에 진행 중이다⁷. 현재 브라질에서 진행 중인 마이크로바이옴 연구 프로젝트에는 아마존 원시림 마이크로바이옴 연구, 사탕수수 재배지의 마이크로바이옴 연구(연구기관: CENA/USP), 남극 등 극한 환경의 마이크로바이옴 연구(연구기관: USP), 가축 반추위 마이크로바이옴 연구(연구기관: EMBRAPA Meio Ambiente), 돼지 호흡기 내 마이크로바이옴 연구(연구기관: LNCC) 등 수 많은 다양한 마이크로바이옴 연구가 진행되고 있다.

2) 호주

- 호주 토양환경 바이옴(Biomes of Australian Soil Environments; BASE): 호주 국립 과학기관인 CSIRO(The Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization)에 의해서 주도되고 있는 이 프로젝트는 원시림 지역, 목초지역, 사막 지역, 농업 경작지역 등 다양하고 광활한 호주의 전 지역으로부터 수백 개의 토양 샘플 내의 미생물 유전체를 분석하여 미생물 다양성을 연구하고 있다.
- 가축에 의한 메탄가스 생성 감소(reducing livestock methane emissions) 프로젝트: CSIRO에 의해서 주도되고 있는 가축 장 미생물 유전체 연구 프로그램이다. 호주에서 반추위 가축이 생성하는 메탄가스는 그린하우스 가스 총 생성량의 약 10%를 차지하고 있는 중요한 환경 요소이기 때문에 반추위 가축이 생성하는 메탄가스를 줄이기 위한 반추위 미생물 유전체 연구를 미국, 일본, 프랑스 등 여러 국가와의 공동으로 수행하는 프로그램이다. 호주 정부의 농림수산업부, 산업과학기술부, 기후변화 및 에너지 효율화부 등 여러 부처에서 이 프로그램의 연구 자금을 지원하고 있다.
- 호주 점프스타트 휴먼 마이크로바이옴 프로젝트(The Australian Jumpstart Human Microbiome Project): CSIRO가 연구 자금을 국제 인체 미생물체 컨소시엄(IHMC)의 일부로써 2009년 시작된 프로젝트이다.

3) 뉴질랜드

- 헝게이트 1000 프로젝트(The Hungate 1000 project): 반추위 미생물 유전체 연구를 목적으로 뉴질랜드 정부가 자금을 지원하고 있는 프로젝트이다. 헝게이트 1000 프로젝트는 반추위 미생물 참조유전체를 생성하여 반추위 가축이 생성하는 메탄가스를 줄여 그린하우스 가스를 감소시키는 것을 주 목적으로 하고 있다. 이 프로젝트는 미국 에너지부의 조인트 지놈연구소 등 국제적 공동연구를 통해서 수행되고 있다. 프로젝트의 이름 “헝게이트(Hungate)”는 혐기성 반추위 미생물 배양에 개척적인 연구를 한 "로버트 헝게이트 박사(Dr. Robert E. Hungate)"를 기리기 위해 명명되었다.
- 이상의 각국에 의해서 주도되고 있는 프로젝트 외에 다 국가 간 공동으로 진행되고 있는 주요 프로젝트로 국제 인체 미생물체 컨소시엄이 있다. 국제 인체 미생물체 컨소시엄은 인간의 건강을 증진시키고 질병을 막기 위해 공동의 원리와 정책을 통해서 인간 마이크로바이옴을 연구하자는 목표 하에 전 세계 각 나라로부터 2,500억 원의 연구 투자비를 확보하여 2008년에 시작되었다.

2. 국내 연구 현황

현재 전 세계적으로 활발한 미생물 유전체 연구에 발 맞춰 국내에서도 2000년 초부터 미래창조과학부의 전신인 과학기술부 등 여러 정부 부처에서 몇몇 중대형 프로젝트를 수행하고 있다.

과학기술부에서는 미생물유전체 기능 규명 및 고부가가치 미생물자원의 발굴 활용을 위한 핵심기반기술 확립을 목표로 2002년부터 2012년까지 총 1,104억원의 연구비를 투자하여 「미생물유전체활용기술개발사업」을 21C프론티어사업의 일환으로 추진하였다.

보건복지부에서는 보건의료기술연구개발사업으로 2001년에서 2007년까지 총 127억원의 예산으로 국내 특정 호발 감염성질환의 병원성미생물 유전체 염기서열 완전 해독 및 특정 감염성질환 완치를 위한 진단·예방·치료기술 개발을 목표로 장 관계 미생물, 호흡계 미생물, 피부감염 미생물에 대해 「병원성미생물유전체연구센터」를 운영하였다.

농림수산식품부에서는 농림기술개발사업으로 「유전체 분석을 활용한 전통발효식품의 기능성 표준화 연구」 과제를 선정하여 2009년부터 2014년까지 총 25억원의 연구개발비를 지원하였다.

현재까지 우리나라의 미생물 유전체 연구는 기초학문 분야에서 다양한 환경으로부터 분리한 미생물 종의 분리, 동정 및 유전체 서열 결정에 대한 연구가 주를 이루고 있다. 하지만 농생명·식품산업에 활용도가 높은 진균류, 세균류에 대한 유전체 염기서열 생성,

참조유전체 구축, 메타유전체 연구 등은 크게 미흡한 실정이며 이 분야에 보다 집중적인 연구와 투자가 요망된다. 또한 산업적으로 활용도가 높은 미생물의 유용유전자 발굴 및 사업화를 위한 de novo 유전체 시퀀싱 및 오믹스 기법 활용 등에 대한 체계적인 연구가 미흡한 실정이며 이 분야의 연구역량을 보다 강화시켜야 할 필요성이 큰 실정이다.

제3절 결론 및 전망

최근의 NGS 기술의 발달을 통한 미생물 유전체 연구는 농축산식품 산업에 있어서 혁신적인 발전을 이끌 수 있는 가능성이 크다. 세계 주요 선진국들을 NGS 기술의 발달이 가져온 기술적 비약을 실제 농축산식품 산업과 생물 산업 분야에서의 응용을 통하여 미래 중추 산업인 농축산 및 생물 산업에서의 커다란 발전을 도모하기 위한 연구를 폭발적으로 진행하고 있다. 그리고 미국 등 선진국을 중심으로 생성되고 있는 항생제 남용에 관한 우려와 이의 철저한 규제, 환경 친화적인 농법 등 농축산 산업 분야에서 일어나고 있는 커다란 환경변화 또한 이에 맞는 생물 비료, 생물 사료, 가축 메탄가스 감소 등의 해답을 미생물 유전체 연구를 통해서 찾을 수 있는 길을 열어주고 있다.

우리나라는 2005년부터 3년 연속 신규 미생물 등록 세계 1위를 차지하는 등 생명연구 자원 확보 및 보존 측면에서 국제수준의 연구역량을 유지하고 있다. 따라서 미생물 유전체 연구 분야 중 국가적 대응 필요성이 큰 분야를 선정하여 집중적인 투자가 이루어질 경우 실용화 성과 창출 및 신산업 분야 선점이 가능할 것으로 기대된다.

제4절 참고문헌

1. National Center for Complementary and Alternative Medicine(NCCAM), "Third Strategic Plan 2011-2015", 2011.
2. U.S. Department of Agriculture "USDA FY2015 Budget Summary and Annual Performance Plan", 2014.
3. Executive Office of the President, President's Counsel of Advisors on Science and Technology "Report to the Preseident on Combating Antibiotic Resistance" Sept., 2014.
4. "Seven days: 12-18 December 2014" Nature 516, 292, 2014.
5. Genome Canada, "Genomics-Discovery, Impact, Success-Genome Canada Strategic Plan 2012-2017" 2012.
6. R. Marasco et al., "A drought resistance-promoting microbiome is selcted by root system under desert farming" PLOS ONE, 7,1-14, 2012.
7. V. S. Pylro et al., "Brazilian Microbiome Project: Revealing the unexpected microbial diversity-challeneges and prospects" Microb. Ecol., 67,237-241, 2014.



Ⅱ. 김치 미생물 연구동향

II. 김치 미생물 유전체 연구동향

중앙대학교 전체욱 교수

제1절 서론

김치는 대표적인 한국전통발효식품으로서 우수한 맛과 함께 다양한 건강증진 효과가 알려지면서 세계적인 음식이 되고 있다. 김치는 배추, 당근, 오이와 같은 채소류와 고춧가루, 마늘, 생강, 양파들을 혼합한 양념의 혼합물의 발효산물로서 베타-카로틴, 클로로필, 비타민C, 식이섬유 등 건강증진물질들을 함유하고, 항돌연변이 및 항산화 등 다양한 건강기능적 효과를 갖는다(Cho et al., 1999; Song, 2004).

김치발효는 김치제조를 위해 사용되는 다양한 원재료에서 유래한 미생물들에 의해 일어난다. 그 중, 유산균(lactic acid bacteria)은 대표적인 김치발효 미생물로서 김치발효 과정 중 우점한다. 유산균에 의한 김치발효과정 중 생성된 유기산, 만니톨, 이산화탄소 등은 김치의 독특한 맛과 풍미에 기여하며, 비타민, 아미노산, 프리바이오틱스, 감마-아미노뷰티르산(GABA) 등은 건강증진에 좋은 역할을 한다. 이렇게 김치의 품질에 중요한 역할을 하는 유산균은 한국의 발효식품연구에 중요한 부분을 차지하고 있으며, 그들의 특성을 이해하려는 노력은 계속되고 있다.

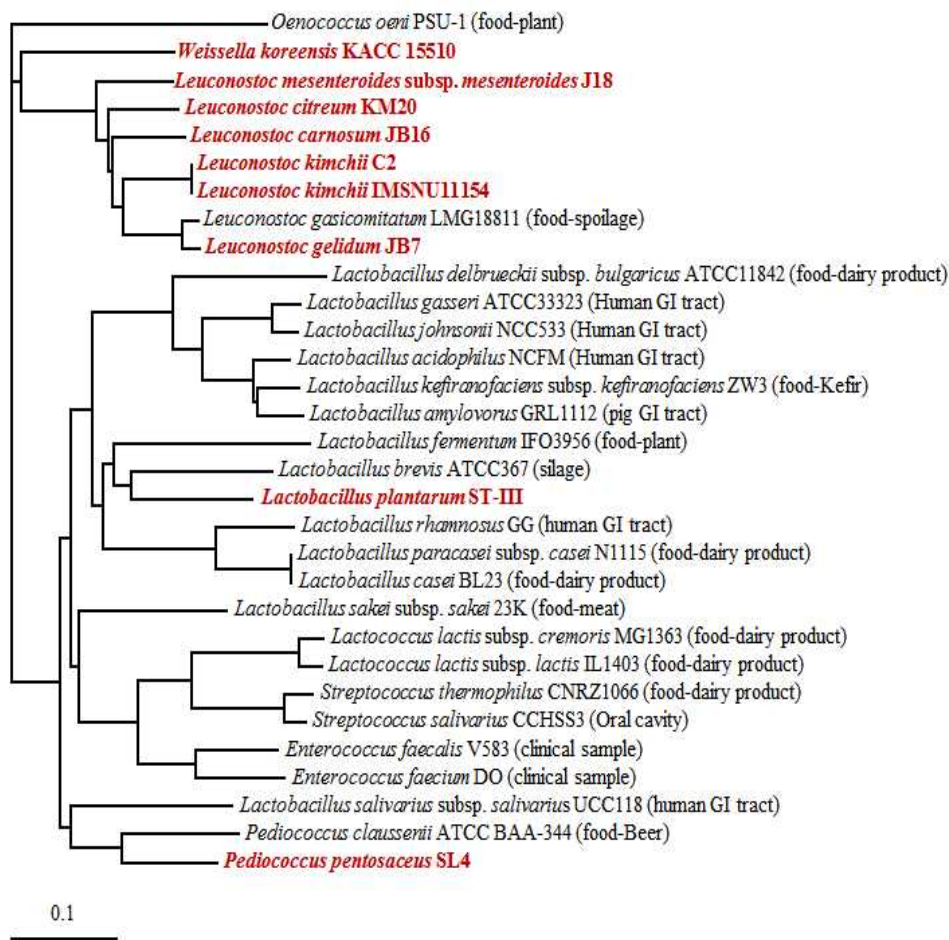
2000년대 이후로 유전체 염기서열 분석기법이 점차 발전하면서 발효식품산업에서도 주요 발효미생물의 유전체 분석을 통해 다양한 발효미생물의 특성이 활발히 연구되고 있다. 특히, 산업적 중요성을 갖는 스타터 유산균의 대사기작 및 잠재적 기능성에 대한 중요한 정보들을 얻고 있다. 김치의 경우에도 마찬가지로 발효미생물의 유전체 분석을 통해 식품 발효적 측면 혹은 기능성 측면에서의 특성들이 연구되고 있다. 본 연구동향 분석보고서를 통해 한국의 대표적인 발효식품인 김치의 유전체 연구 현황을 조사하고 향후 전망에 대해 고찰하고자 한다.

제2절 김치 유전체 연구동향

1. 김치 유산균의 종류 및 계통학적 위치

김치 유산균은 배추, 마늘, 생강, 부추와 같은 다양한 원재료에 매우 적은 수로 존재하지만 혐기, 저온, 풍부한 영양성분과 같은 유산균 생육에 적합한 김치발효 환경조건을 만나면서 우점하게 된다. *Leuconostoc* (*Leu.*) *mesenteroides*, *Leu. citreum*, *Leu. carnosum*, *Leu. gasicomitatum*, *Leu. inhae*, *Leu. gelidum*, *Leu. kimchii*, *Leu. miyukkimchii*, *Lactobacillus* (*Lb.*) *sakei*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Weissella* (*W.*) *koreensis*,

W. cibaria, *W. kimchii*, *W. soli*, *W. confusa*, *Pediococcus (P.) pentosaceus*는 김치에서 빈번하게 발견되는 유산균종으로 김치발효에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Kim and Chun, 2005; Lee et al., 2005; Jung et al., 2011). [그림 1]에서 보는 바와 같이, 김치 유산균들은 주로 치즈, 육류, 주류와 같은 기타 발효식품, 그리고 인체 내에서 존재하는 유산균과는 계통적으로 다른 위치에 존재하는 것을 알 수 있다. 다양한 생태적 지위(niche)를 갖은 유산균 중, 김치 유산균의 생태적 지위는 곡류, 육류가 아닌 식물류라는 것을 나타내준다.



[그림 1] Housekeeping 유전자(*dnaK*, *rplA*, *rpsB*, *rpmA*)들의 연결서열을 이용한 유산균의 계통학적 분석

※ 붉은 글씨는 김치 유산균을 지칭함.

2. 김치 유산균의 유전체 연구 현황

Leu. citreum KM20 및 *Leu. kimchii* IMSNU 11154은 김치 유산균 가운데 가장 처음 유전체 분석이 된 종이며(Kim et al., 2008; Oh et al., 2010), 그 후, 차세대 대용량 염기서열 분석기법(next-generation sequencing technique)의 점진적인 발달로 인해 다양한

김치 유산균들의 유전체 염기서열이 분석되고 있다. 현재까지, 총 16종의 김치 유산균의 유전체 염기서열이 알려져 있는데[표 2], 김치의 대표적 우점종인 *Leu. mesenteroides*, *Lb. sakei*, *W. koreensis* 이외에 *Leu. citreum*, *Leu. kimchii*, *Lb. plantarum*, *Leu. inhae*, *Leu. gelidum*, *Leu. carnosum*, *W. cibaria*, *P. pentosaceus*의 염기서열이 보고되었다(Kim et al., 2008; Oh et al., 2010; Wang et al., 2011; Lee et al., 2011a, b; Jung et al., 2012a, b, c; Dantofta et al., 2013; Lee et al., 2012; Kim et al., 2011a, b, c; Jang et al., 2014; Lim et al., 2014).

[표 3] 현재까지 보고된 김치 유산균의 유전체 정보

| Species | Genome size (Mb) | plasmid | G+C (%) | CDS | NCBI accession # | Ref. |
|---|------------------|---------|---------|-------|------------------|-----------------------|
| <i>Leuconostoc citreum</i> KM20 | 1.89 | 4 | 38.88 | 1,820 | DQ489736 | Kim et al., 2008 |
| <i>Leuconostoc kimchii</i> IMSNU11154 | 2.1 | 5 | 37.91 | 2,129 | CP001758 | Oh et al., 2010 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> ST-III | 3.25 | 1 | 44.6 | 2,996 | CP002222 | Wang et al., 2011 |
| <i>Weissella koreensis</i> KACC 15510 | 1.44 | 1 | 35.52 | 1,357 | CP002899 | Lee et al., 2011 a |
| <i>Leuconostoc kimchii</i> C2 | 1.88 | 0 | 37.9 | 1,855 | CP002898 | Lee et al., 2011b |
| <i>Leuconostoc mesenteroides</i> J18 | 1.9 | 5 | 37.77 | 1,803 | CP003101 | Jung et al., 2012a |
| <i>Leuconostoc gelidum</i> JB7 | 1.89 | 0 | 36.68 | 1,796 | CP003839 | Jung et al., 2012b |
| <i>Leuconostoc carnosum</i> JB16 | 1.77 | 4 | 37.09 | 1,691 | CP003851 | Jung et al., 2012c |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> SL4 | 1.79 | 7 | 37.3 | 1,709 | CP006854 | Dantofta et al., 2013 |
| <i>Weissella koreensis</i> KCTC 3621 | 1.73 | 0 | 35.5 | 1,672 | AKGG000000000 | Lee et al., 2012 |
| <i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 | - | - | 45 | - | AEKT010000000 | Kim et al., 2011a |
| <i>Leuconostoc gelidum</i> KCTC 3527 | - | - | 36 | - | AEMI000000000 | Kim et al., 2011b |
| <i>Leuconostoc inhae</i> KCTC 3774 | - | - | 36 | - | AEMJ000000000 | Kim et al., 2011c |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> wikim 18 | - | - | 44.3 | - | JMEL000000000 | Jang et al., 2014 |
| <i>Lactobacillus sakei</i> wikim 22 | - | - | 40.61 | - | JRFY010000000 | Lim et al., 2014 |

3. 김치 유산균 유전체의 공통적 특징

김치 유산균 유전체의 일반적인 특징은 낮은 GC(%)를 나타내며 그 범위는 *W. koreensis* KCTC 3621의 35.50%에서 *Lb. plantarum* ST-III의 44.60%로 나타난다. 유전체 크기는 *W. koreensis* KACC 15510의 1.44 Mb에서 *Lb. plantarum* ST-III의 3.25 Mb의 범위를 나타낸다. 단백질 코딩 유전자의 경우, 약 1,357개에서 약 2,996개의 범위를 보인다. 대부분의 김치 유산균 유전체는 영양소가 풍부한 환경에서의 진화현상을 반영하듯 유전체 축소에 따른 작은 유전체 크기를 나타낸다. *W. cibaria* KACC 11862, *Leu. gelidum* KCTC 3527, *Leu. inhae* KCTC 3774, *Lb. plantarum* wikim 18, *Lb. sakei* wikim 22의 유전체의 경우, 완전한 유전체 서열이 분석되지 않아 유전체 특징을 알 수 없기에 추가적인 염기서열 분석이 필요하다.

4. 유전체 염기서열 분석을 통한 주요 김치발효 유산균의 특징

가. *Leuconostoc mesenteroides*

대표적 김치 유산균인 *Leu. mesenteroides*의 유전체 정보는 *Leu. mesenteroides* sp. J18로부터 알려져 있다(Jung et al., 2012; Jung et al., 2013). 헤테로-발효 기작과 관련된 유전자를 모두 갖고 있어 젖산뿐만 아니라 김치의 청량감 있는 맛에 역할을 이산화탄소를 생산하는 특성을 뒷받침해 준다. 또한, 김치의 단맛과 시원한 맛에 영향을 미치는 만니톨의 생합성 유전자(MDH)를 가지고 있는 것으로 나타난다. 발효기작에 관한 유전자뿐만 아니라 비타민(B2, B8) 생합성과 같은 김치의 영양학적 가치를 높일 수 있는 유전자, 프로바이오틱 특성 중 class II 박테리오신 생성, 수크로스 대사 및 텍스트한 생성에 관여하는 텍스트란수크레이즈(dextranase) 관련 유전자를 보유한다. 또한, 김치의 발효 환경에서 적응할 수 있도록 하는 산 및 저온 저항성과 관련된 다수의 유전자들을 다수 보유한다.

나. *Leuconostoc citreum*

*Leu. mesenteroides*와 함께 김치 발효 초반기에 우점하는 김치유산균으로 알려진 *Leu. citreum*는 *L. citreum* KM20를 통해 유전체 정보가 알려져 있다(Kim et al., 2008). *Leu. mesenteroides* J18과 마찬가지로 *phosphoketolase* 대사과정을 통한 헤테로-발효 기작과 관련된 유전자를 모두 보유하고 있다. 다양한 탄수화물(sugar)의 가수분해 효소 및 이동 유전자들을 갖고 있다. *Dextranase* 및 *alternansurase*에 관련된 유전자들을 가지고 있어 의도학적 응용 및 식품미생물학을 위한 잠재성을 암시한다. 흥미롭게도 플라스미드에는 세포벽 부착 단백질 관련 유전자가 존재하여 *Lactobacillus*가 갖는 주요 프로바이오틱 특성 가운데 장내 표면에 군락을 이루어 면역학적 조절기능에 역할을 할지도 모른다는 것을 보여주며, 이는 한국전통발효식품의 새로운 생물공학적 응용에 가능성을 나타낸다.

다. *Leuconostoc kimchii*

Leu. kimchii IMSNU 11154는 프로바이오틱 특성 가운데 중요한 항균활성능을 갖는 유산균으로 알려져 있다(Oh et al., 2010). 이 유산균은 수크로오스 대사와 관련된 invertase, sucrose phosphorylase, dextranase 코딩 유전자를 보유한다. 또한, EPS (exopolysaccharide) 합성 및 만니톨 생성 유전자를 보유하여 김치의 맛과 향미를 증진할 수 있을 것으로 나타난다. 다른 *Leuconostoc* sp.와 마찬가지로 catalase 및 superoxide dismutase를 보유하지 않지만 다수의 thioredoxin reductase 등 산 및 oxidative 스트레스에 대처하는데 중요한 유전자가 나타난다. 류코신 B 유사 펩타이드를 부호화하는 유전자가 관찰되어 박테리오신 생성과 관련된 항균활성 기능에 역할을 할 것으로 보인다.

라. *Lactobacillus sakei*

김치발효 후반기에서 주로 우점하는 유산균으로 현재 *Lactobacillus sakei* wikim 22의 유전체가 보고되었다(Lim et al., 2014). 아직 완전한 유전체 염기서열이 분석되지 않아 정확한 특징을 알 수 없지만, 특히 beta-glucoside를 이용하기 위한 당 흡수 요소인 phosphotransferase system (PTS) 관련 유전자(IIA, IIB, IIC, BglG)가 관찰된다.

마. *Weissella koreensis*

Leu. mesenteroides 및 *Lb. sakei*와 함께 김치의 대표적 우점종으로서 현재 *W. koreensis* KACC 15510의 유전체 정보가 알려져 있다(Lee et al., 2012). 이 유산균은 1.4 Mb의 매우 작은 유전체 크기를 보유한다. *Leuconostoc*에 가까운 계통학적 위치를 나타내기 때문에, *Leuconostoc*에 속하는 균주들과 공통적인 특성을 유전체 정보에서도 나타낸다. 특히, 헤테로-발효기작 관련된 pentose phosphate pathway의 전체 유전자를 보유한다.

5. 국외 유산균 유전체 연구동향

가. 유제품(Dairy foods)

치즈 및 요구르트와 같은 유제품(dairy food)는 제조 시 접종되는 스타터균주에 의해 품질이 좌우된다. 주로 스타터 균주의 유전체 분석과 함께 다양한 특성들을 분석하기 위한 노력이 활발하게 이루어지고 있다. *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilli*는 유제품 생산을 위한 대표적 스타터 유산균으로, 최근 유전체 염기서열 분석 및 이용은 더욱 맛있고 건강에도 좋은 유제품을 생산하기 위한 새로운 플랫폼으로 제시되고 있다. 특히, 유전체분석 작업은 스타터 유산균의 발효, 향기성분, 아미노산 생성과 같은 다양한 대사기작의 특성을 정확히 이해하고 이를 시각화하는데 매우 유의하였으며, 향후 균주개량을 위한 유전자 조작 방법의 제시를 가능하도록 하였다(Mills et al., 2010).

대표적인 dairy 스타터인 *Lactococci*의 경우, 락토오즈 이용성, 카제인 분해, 항균물질 생성, 박테리오파아지 저항성, 항생제 저항성, 엑소폴리사카라이드 생성 등 스타터로서 중요한 다양한 특성들이 유전체 분석을 통해 알려졌다(Bolotin et al., 2001; Mills et al., 2006). 대표적 유제품 스타터균주인 *Staphylococcus thermophilus*의 경우, 역시 우유발효, 박테리오파아지 저항성과 관련된 CRISPR, 엑소폴리사카라이드 생성 관련 특성들이 유전체 분석을 통해 보고되었다(Wu et al., 2014). 발효기작과 함께 프로바이오틱 특성은 스타터 균주의 건강기능성 측면에서 매우 중요하며 유전체 분석의 주요목적 중 하나이다. 대표적 균주인 *Lb. rhamnosus* GG (*Lb. GG*)의 경우, 다른 프로바이오틱 *lactobacilli*에

비해 장 정착능 및 장 내 환경에서의 적응성이 매우 우수한 것으로 알려져 있다(Kankainen et al., 2009; Lebeer et al., 2010). 부착능이 약한 *Lb rhamnosus* Lc705와의 비교유전체분석을 통해 *Lb* GG내 pili 생성 유전자가 장부착능에 있어 중요한 역할을 할 것으로 분석되었고 knock-out 돌연변이 제조를 통해 유전자의 실제적 기능을 확인하였다(Kankainen et al., 2009). *Lb* GG 내에서의 pili의 발견은 또 다른 스타터 균주인 *Bifidobacterium*의 장 정착능과 관련된 pili 구조의 발견에 도움을 주었으며(Foroni et al., 2011), 면역작용과 같은 host-health와의 관련성에 관한 연구도 계속적으로 진행되고 있다. *Lb. helveticus* 역시 대표적 유제품 스타터 균주로, 특히 프로바이오틱 및 기능성 식품 내 건강증진 효과가 다수 존재하여 다기능성 유산균으로 중요성을 인정받고 있다(Giraffa, 2014). 치즈에서 분리된 *Lb. helveticus* DPC 4571의 경우, 유전체 분석을 통해 단백질 및 지방 분해와 같은 주요 대사 기능과 관련된 다수의 유전자들이 나타났다(Slattery et al., 2010). 이 단백질 분해 시스템에 의해 생성된 펩타이드 성분들은 angiotensin converting-enzyme (ACE)에 억제효과와 같은 생리활성을 갖게 되어 발효 뿐만 아니라 치료학적 가능성도 나타나는 것으로 알려져 있다(Cremonesi et al., 2013).

나. 와인(Wine)

*Oenococcus (O.) oeni*은 와인의 품질, 특히 관능성에 영향을 미치는 malolactic fermentation (MLF) 작용에 주된 역할을 하는 균주로 와인 제조의 스타터균주로 활용된다(Toit et al., 2011). MLF는 관능적 특성 증가뿐만 아니라 와인의 산성화 경감 및 미생물 군집의 안정화에 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Henick-Kling, 1993; Bartowsky and Henschke, 2004). *O. oeni*의 유전체 분석을 통해 주요 대사기작 관련 유전자들이 관찰되었다(Mills et al., 2005; Capozzi et al., 2014). *O. oeni*의 pangenome 분석을 통해 각각의 *O. oeni* 균주마다 당대사, 아미노산 생합성, 엑소폴리사카라이드 생합성과 같은 와인 발효에 중요한 유전자들의 변이성이 관찰되었는데, 이러한 유전체적 자료들은 산업적으로 중요한 균주들 간 표현형적 변이를 이해하거나 스타터균주로서의 잠재적 특성을 이해하는데 매우 중요하여 필요성이 강조된다.

다. Fermented vegetable

한국의 김치와 함께 서양의 sauerkraut, fermented olive, pickled cucumber는 대표적 채소발효식품으로 *Leuconostoc*이 대표적인 발효균주이다. *L. mesenteroides* ATCC 8293은 fermented olive로부터 분리된 채소발효균주로(Breidt, 2004; Makarova et al., 2006), 헤테로-발효 기작을 나타내는 유산균으로 알려져 있다. 헤테로-발효와 관련된 6-phosphogluconate phosphoketolase pathway에 필요한 모든 유전자를 보유하며, 발효산물의 생성을 촉매하는 다수의 pyruvate 이용 유전자, 그리고 당 통과 및 이용을 위해 코딩된 다수의 유전자들을 보유하는 것으로 나타나 영양분이 많은 발효환경에서 적응

성이 높을 것으로 나타난다. 그러나 현재 채소발효 유산균의 유전체 연구는 유제품 및 주류 발효산업에 비해 다소 부족한 실정이다.

제3절 김치 유전체 연구의 향후전망 및 연구방향

김치의 영양학적 우수성 및 건강기능성이 알려지면서 세계적으로 인기 있는 식품이 되면서 김치시장도 점차 늘어가고 있다. 농협경제연구소 연구리포트에 따르면 김치산업의 시장 규모는 2013년 기준으로 2조 5천 268억 원 정도로 추산되고 있다. 원재료로부터 유래된 다양한 유산균으로 부터 자연발효를 통해 만들어지는 김치 고유의 특성 때문에 김치마다 각기 다른 특성을 나타내는데 특히, 이것은 김치의 수출과정에 있어서 방해요소로 작용할 수 있다. 그래서 김치산업에서는 동일하고 고품질의 김치를 생산하려는 필요성을 인식하여 김치스타터의 사용이 일반화되고 있고 새로운 스타터개발에 노력을 기울이고 있다. 현재, 여러 특허출원과 함께 만니톨 생성, 항균활성, 산저항성을 나타내는 *L. mesenteroides*, *L. citreum*, *Lb. plantarum*을 김치스타터로 활용되고 있다. 그러나 해외 발효식품 산업과는 달리 김치 스타터 균주의 유전적, 대사적, 기능적 특성을 밝히기 위한 유전체 기반 연구는 거의 수행되지 않은 상태이다.

앞서 서술했듯이 유전체 분석을 통한 특성연구는 유산균의 대사기작, 생리, 잠재적 기능에 대한 매우 중요한 정보를 제공한다. 염기서열분석 및 유전자 분석을 위한 비용이 감소함에 따라, 다양한 유산균종의 유전체 염기서열이 분석될 것으로 예상되며 이것을 통해 유산균 특성뿐만 아니라 산업적으로 중요성을 갖는 균주의 선정에 있어서 도움이 될 것이다. 하지만, 유전체 염기서열만을 가지고는 유산균의 모든 혹은 실질적인 특성에 대한 정보를 제공하지 못한다. 유전체 분석과 함께 전사체분석 등 유전체 발현 연구를 접목하는 단계가 필요하며, 이는 균주의 복잡한 특성 및 메커니즘을 이해하는데 좋을 것이다. 메타지노믹스 및 메타볼로믹스와 같은 메타-오믹스 방법도 역시 복잡한 미생물 생태계에서의 대상 미생물의 특성을 분석하는데 도움을 줄 것이다.

제4절 참고문헌

1. Bartowsky EJ, Henschke PA (2004) The “buttery” attribute of wine-diacetyl-desirability, spoilage and beyond. *Int. J. Food Microbiol.* 96: 235-252.
2. Bolotin A, Wincker P, Mauger S, Jaillon O, Malarne K, Weissenbach J, Ehrlich SD, Sorokin A (2001) The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403. *Genome Res.* 11: 731-53.

3. Breidt R (2004) A genomic study of *Leuconostoc mesenteroides* and the molecular ecology of sauerkraut fermentations. *J. Food Sci.* 69: 30-32.
4. Capozzia V, Russoa P, Lamontanarab A, Orru L, Cattivellib L, Spano G (2014) Genome sequences of five *Oenococcus oeni* strains isolated from nero di troia wine from the same terroir in apulia, southern Italy. *GenomeA* 2: e01077-14.
5. Cho EJ, Rhee SH, Park KY (1999) Standardization of materials of Baechu kimchi recipe. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 30:1456-1463.
6. Dantoft SH, Bielak EM, Seo JG, Chung MJ, Jensen PR (2013) Complete genome sequence of *Pediococcus pentosaceus* strain SL4. *Genome Announc.* 1: e01106-13.
7. du Toit M, Engelbrecht L, Lerm E, Krieger-Weber S (2011) *Lactobacillus*: the next generation of malolactic fermentation starter cultures-an overview. *Food Bioprocess Technol.* 4: 876-906.
8. Foroni E, Serafini F, Amidani D, Turrone F, He F, Bottacini F, O'Connell Motherway M, Viappiani A, Zhang Z, Rivetti C, van Sinderen D, Ventura M (2011) Genetic analysis and morphological identification of pilus-like structures in members of the genus *Bifidobacterium*. *Microb. Cell Fact.* 10(Suppl 1): S16.
9. Henick-Kling T (1993) Malolactic fermentation. In *Wine microbiology and biotechnology*. Edited by Fleet GH. Chur, Switzerland: Harwood Academic Publishers, 289-326.
10. Jang JY, Lim HI, Park HW, Choi HJ, Kim TW, Kang M, Lee JH (2014) Draft Genome sequence of *Lactobacillus plantarum* wikim18, isolated from Korean kimchi. *Genome Announc.* 2: e00467-14.
11. Jung JY, Lee SH, Jeon CO (2014) Kimchi microflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98: 2385-2393.
12. Jung JY, Lee SH, Jin HM, Hahn Y, Madsen EL, Jeon CO (2013) Metatranscriptomic analysis of lactic acid bacterial gene expression during kimchi fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 163: 171-179.
13. Jung JY, Lee SH, Kim JM, Park MS, Bae JW, Hahn Y, Madsen EL, Jeon CO (2011) Metagenomic analysis of kimchi, a traditional Korean fermented food *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 2264-2274.
14. Jung JY, Lee SH, Lee SH, Jeon CO (2012a) Complete genome sequence of

- Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* strain J18, isolated from kimchi. *J. Bacteriol.* 194: 730-731.
15. Jung JY, Lee SH, Jeon CO (2012b) Complete genome sequence of *Leuconostoc gelidum* strain JB7, isolated from kimchi. *J. Bacteriol.* 194: 6665.
 16. Jung JY, Lee SH, Jeon CO (2012c) Complete genome sequence of *Leuconostoc carnosum* strain JB16, isolated from kimchi. *J. Bacteriol.* 194: 6672-6673.
 17. Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, von Ossowski I, Reunanen J, Partanen P, Satokari R, Vesterlund S, Hendrickx AP, Lebeer S, De Keersmaecker SC, Vanderleyden J, Hamalainen T, Laukkanen S, Salovuori N, Ritari J, Alatalo E, Korpela R, Mattila-Sandholm T, Lassig A, Hatakka K, Kinnunen KT, Karjalainen H, Saxelin M, Laakso K, Surakka A, Palva A, Salusjarvi T, Auvinen P, de Vos WM (2009) Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human- mucus binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 106: 17193-17198.
 18. Kim DS, Choi SH, Kim DW, Nam SH, Kim RN, Kang A, Kim A, Park HS (2011) Genome sequence of *Weissella cibaria* KACC 11862. *J. Bacteriol.* 193: 797-798.
 19. Kim DS, Choi SH, Kim DW, Kim RN, Nam SH, Kang A, Kim A, Park HS (2011) Genome sequence of *Leuconostoc gelidum* KCTC 3527, Isolated from Kimchi. *J. Bacteriol.* 193: 799-800.
 20. Kim DS, Choi SH, Kim DW, Kim RN, Nam SH, Kang A, Kim A, Park HS (2011) Genome sequence of *Leuconostoc inhae* KCTC 3774, isolated from Kimchi. *J. Bacteriol.* 193: 1278-1279.
 21. Kim JF, Jeong H, Lee JS, Choi SH, Ha M, Hur CG, Kim JS, Lee S, Park HS, Park YH, Oh TK (2008) Complete genome sequence of *Leuconostoc citreum* KM20. *J. Bacteriol.* 190: 3093-3094.
 22. Kim M, Chun J (2005) Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis. *Int. J. Food Microbiol.* 103:91-96.
 23. Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC (2010) Adaptation factors of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Benef. Microbes.* 1: 335-42.
 24. Lee JS, Heo GY, Lee JW, Oh YJ, Park JA, Park YH, Pyun YR, Ahn JS (2005) Analysis of kimchi microflora using denaturing gradient gel electrophoresis. *Int.*

- J. Food Microbiol. 102:143-150.
25. Lee SH, Jung JY, Lee SH, Jeon CO (2011a) Complete genome sequence of *Weissella koreensis* KACC 15510, isolated from kimchi. J. Bacteriol. 193: 5534.
 26. Lee SH, Jung JY, Lee SH, Jeon CO (2011b) Complete genome sequence of *Leuconostoc kimchii* strain C2, isolated from Kimchi. J. Bacteriol. 193: 5548.
 27. Lee JH, Bae JW, Chun J (2012) Draft genome sequence of *Weissella koreensis* KCTC 3621T. J. Bacteriol. 194: 5711-5712.
 28. Lim HI, Lee J, Jang JY, Park HW, Choi HJ, Kim TW, Kang MR, Lee JH (2014) Draft genome sequence of *Lactobacillus sakei* strain wikim 22, isolated from kimchi in Chungcheong province, South Korea. Genome Announc. 2: e01296-14.
 29. Mills DA, Rawsthorne H, Parker C, Tamir D, Makarova K (2005) Genomic analysis of *Oenococcus oeni* PSU-1 and its relevance to winemaking. FEMS Microbiol. Rev. 29: 465-475.
 30. Mills S, McAuliffe OE, Coffey A, Fitzgerald GF, Ross RP (2006) Plasmids of lactococci - genetic accessories or genetic necessities. FEMS Microbiol. Rev. 30: 243-73.
 31. Mills S, O'sullivan O, Hill C, Fitzgerald G, Ross RP(2010) The changing face of dairy starter culture research: From genomics to economics. Int. J. Dairy Technol. 63: 149-170.
 32. Oh HM, Cho YJ, Kim BK, Roe JH, Kang SO, Nahm BH, Jeong G, Han HU, Chun J (2010) Complete genome sequence analysis of *Leuconostoc kimchii* IMSNU 11154. J. Bacteriol. 192: 3844-3845.
 33. Song YO (2004) The functional properties of kimchi for the health benefits. J Food Sci. Nutr. 9:27-33.
 34. Wang Y, Chen C, Ai L, Zhou F, Zhou Z, Wang L, Zhang H, Chen W, Guo B (2011) Complete Genome Sequence of the Probiotic *Lactobacillus plantarum* ST-III. J. Bacteriol. 193: 313-314.
 35. Wu Q, Tun HM, Leung FC, Shah NP (2014) Genomic insights into high exopolysaccharide-producing dairy starter bacterium *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275. Sci Rep. 4: 4974.



Ⅲ. 주류 미생물 연구동향

Ⅲ. 주류 미생물 연구동향

한국식품연구원 우리술연구팀

제1절 서론

20세기 중반부터 분자생물학을 기반으로 발달하기 시작한 분석기술은 미세한 세포 단위의 기작을 연구하기 위한 훌륭한 도구로서 역할을 하고 있다. 이러한 분석기술의 발달로 인하여 DNA에서부터 RNA, 단백질 합성에 이르기까지 다양한 세포 내의 대사 현상의 분석이 가능해졌으며, 이를 기반으로 최근 각 단위별의 세포 안에 발생하는 현상의 데이터를 축적하여 분석하는 유전체학(genomics), 전사체학(transcriptomics), 단백질체학(proteomics) 등 다양한 omics 연구가 이루어지고 있다. 분석기술의 발달과 더불어 대용량 분석 기술의 수요가 증가함에 따라 시퀀싱(sequencing)이나 어레이(array)와 같은 기술을 기반으로 빠른 시간 안에 다량의 측정 데이터를 생성하여 분석하는 차세대 시퀀싱(Next Generation Sequencing, NGS)이 가능해짐에 따라 다량의 데이터 분석을 통하여 세포 내의 복잡한 기작을 이해하고 인간의 질병에 접근하기 위한 새로운 시각에서의 접근이 용이해졌다.

특히 세포 내 유전자(gene)의 발현과 기능들을 복합적이고 정량적으로 분석하는 유전체(genome) 분석 기법은 더욱 확장된 영역에서의 생물학적 기작 연구를 가능케 하고 있다. 최근에는 미생물의 유전체 데이터를 활용한 다양한 분야의 연구가 진행되고 있다. 현재까지도 *in vitro* 상태에서 인공적으로 배양을 할 수 있는 미생물은 전체 미생물의 1% 내외로 매우 소수의 미생물만 배양이 가능하기 때문에 미생물 연구에 큰 한계점으로 작용하고 있었다[1]. 그러나 미생물의 16S ribosomal RNA의 염기서열 분석 데이터를 기반으로 한 분자생물학적 분석 방법의 도입으로 주요 미생물의 염기서열에 기반한 리스트를 확보함에 따라 1,000여종 이상의 미생물 군집의 구조와 기능에 대한 세부적 연구 및 동정이 가능해졌으며, 이렇게 축적된 미생물 유전체 데이터는 메타 유전체학적 분석과 더불어 다양한 분야로 적용되고 있다.

최근 학계에서 가장 뜨거운 이슈로 떠오르고 있는 연구동향은 장내 미생물(gut microbiome)의 다양한 인간 질병과의 연관성을 연구하는 것이라고 할 수 있다. 장 내에 존재하고 있는 수많은 미생물들이 단순히 소화나 면역 방어에 관여하는 것을 넘어서 이들 미생물 조성(composition)의 변화가 비만, 당뇨, 심혈관계 질환과 같은 대사성질환 뿐만 아니라 대장암, 파킨슨병과 같은 다양한 인간 질병의 조절자 역할을 한다는 것이 밝혀지고 있다. 장내미생물의 조성 변화의 관찰이 가능해진 것도 NGS의 발달과 더불어 축적된 미생물 유전체학을 기반으로 고속대량분석(high-throughput analysis)이 상용화되었기 때문이라 할 수 있다.

이러한 미생물 유전체 기반 분석으로 유용 미생물의 판별과 동정, 분석 등과 같은 확장된 분야로의 응용 가능성이 제시되고 있는 가운데, 유용 미생물의 유전체를 연구하고자 하는 움직임이 제시되고 있다. 특히 전 세계적으로 유용 미생물 관련 연구가 가장 많이 이루어지고 있는 발효 관련 미생물의 유전체 분석을 통하여 좀 더 포괄적이고 실용적인 미생물학 연구로의 도약이 필요한 시점이라 할 수 있을 것이다.

본 동향분석보고서에서는 다양한 발효식품 중에서도 가장 역사가 오래된 주류 관련 유용 미생물 연구의 현주소와 특히 전통주 유래 미생물의 유전체 연구동향에 대해서 논하고자 한다. 주류를 생산하는 유용 미생물에 의한 발효는 전 세계적으로도 가장 널리 이용되고 있는 복합적인 대사 단계에 의하여 일어나는 거대한 시스템의 결과물임에도 불구하고 에탄올 발효라는 특정 단계에 치중한 연구가 대부분이며, 따라서 에탄올 생성능이 뛰어난 소수의 미생물을 중점적으로 다룬 연구가 주를 이루고 있다. 이에 본문에서는 다양한 주류 유래 미생물의 유전체 기반 데이터의 연구 현황과 이의 전통주에의 향후 응용 방안에 대하여 살펴보고자 한다.

제2절 한국 전통주/유용 미생물 자원의 역사와 현주소

1. 한국 전통주의 역사 및 제조법

한국의 전통주는 약주(藥酒)와 탁주(濁酒)를 그 기원으로 볼 수 있으며, 고려시대 증류 기술의 유입과 더불어 증류주와 이들을 혼합한 과하주 등의 순서로 발달해 왔을 것으로 추정된다. 전통주는 빚는 방법뿐만 아니라 재료, 지리적 위치, 계절, 용도 등에 따라 수천 종의 다양한 술들이 존재하였으나, 일제 강점기의 밀주 단속 등의 역사적 사건으로 인하여 그 맥이 단절되다시피 하였다. 광복 이후에도 일제 강점기동안 도입된 대형화된 양조장 시스템의 고착화, 단일종균 사용으로 인한 주질의 단순화와 더불어 맥주 등의 외래 주류의 유입으로 매우 제한적인 전통주 (막걸리, 동동주, 소주 등)만이 살아남게 되었다. 2000년대에 접어들어 와인의 소비가 급격히 늘어나게 되면서 전통주의 설 자리는 점차 줄어들었으나 2008년에 일본에서 건강에 좋은 술로 막걸리가 언론에 알려지게 되면서 소비량이 잠시나마 큰 폭으로 증가하였지만 막걸리 외의 다른 전통주 시장은 여전히 침체되어 있다.

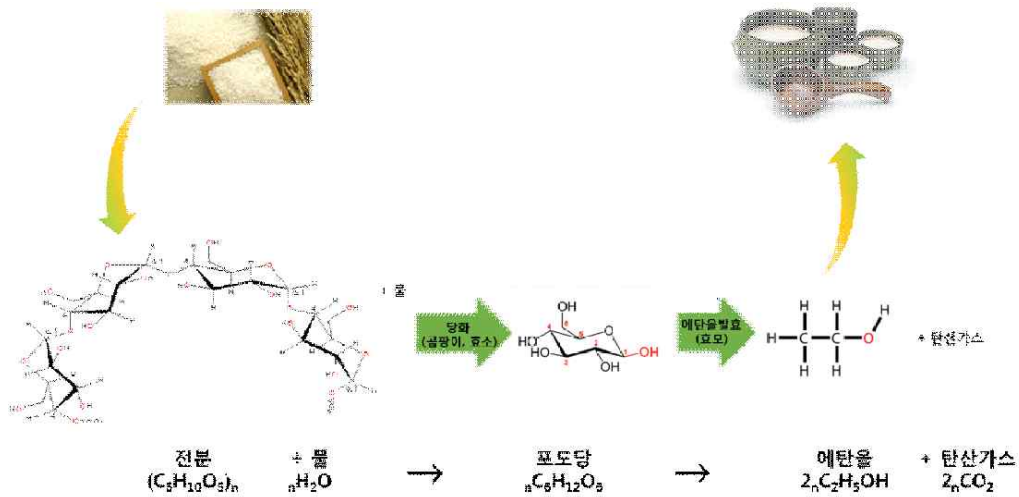
[표 4] 2013년도 주류 생산현황 및 매출현황

| 품목명 | 생산현황 | | | 매출현황 | | | |
|-------|------------|-----------|---------------|-----------|---------------|---------|-------------|
| | 생산능력(T) | 생산량(T) | 생산액(천원) | 국내판매(T) | 국내판매액(천원) | 수출량(T) | 수출액(\$) |
| 소계 | 22,456,962 | 5,159,629 | 5,026,987,806 | 4,778,785 | 6,369,898,108 | 210,650 | 242,260,331 |
| 청주 | 76,568 | 23,499 | 29,190,457 | 23,275 | 78,899,564 | 659 | 3,797 |
| 맥주 | 5,799,123 | 1,945,824 | 2,463,800,715 | 1,852,093 | 3,258,317,423 | 41,348 | 32,239,808 |
| 과실주 | 233,089 | 14,607 | 76,892,141 | 13,766 | 100,659,030 | 560 | 2,201,644 |
| 소주 | 5,582,728 | 1,206,033 | 1,380,594,367 | 1,129,461 | 1,823,335,720 | 75,462 | 108,026,091 |
| 위스키 | 109,850 | 2,250 | 67,422,380 | 2,275 | 128,347,685 | 117 | 7,350,552 |
| 브랜디 | 30,342 | 213 | 4,326,217 | 171 | 5,345,676 | 34 | 586,512 |
| 일반증류주 | 414,748 | 6,572 | 8,095,839 | 6,470 | 10,669,804 | 139 | 346,248 |
| 리큐르 | 199,777 | 1,924 | 7,114,966 | 928 | 4,978,485 | 1,376 | 3,692,936 |
| 기타주류 | 5,226,452 | 289,455 | 285,275,628 | 102,955 | 126,539,662 | 79,032 | 75,040,736 |
| 탁주 | 3,937,467 | 1,375,337 | 317,292,640 | 1,356,253 | 370,897,183 | 11,550 | 11,480,064 |
| 약주 | 524,377 | 33,356 | 36,407,474 | 32,502 | 70,132,892 | 373 | 1,291,943 |
| 주정 | 322,441 | 260,558 | 350,574,982 | 258,636 | 393,774,984 | - | - |

※ 자료: 국세청, 식품의약품안전처

우리나라의 술의 양조 방법을 외국의 양조방법과 비교하여 가장 특이한 것을 꼽으라면 누룩을 사용한다는 점을 들 수 있다. 누룩은 술을 빚을 때 사용하는 발효제로서, 생전분에 야생의 미생물들이 자연적으로 번식된 것이다. 다양한 종류의 곰팡이, 효모, 세균 등이 증식하기 때문에 여러 종류의 당화효소와 효모로 인한 알코올 발효력, 젖산균에 의한 pH 조절도 가능하다.

술의 발효는 전분을 포도당으로(당화), 포도당을 에탄올과 탄산가스로 전환(에탄올 발효)하는 과정에서 일어난다(그림2). 포도, 사과 등의 과실 자체가 가지고 있는 포도당에 효모가 작용하여 에탄올을 생성하는 와인이나 과실주와 달리, 맥주나 누룩을 이용한 전통주의 경우에는 원재료 내의 전분을 포도당으로 전환시키는 효소 활성이 추가적으로 선행되어야 한다. 후자의 경우에는 맥주와 같이 당화와 에탄올 발효를 분리하여 발효(단행복발효)시키거나 두 과정의 발효를 동시에 진행하는 병행복발효 방식이 있다. 대부분의 전통주가 병행복발효 방식으로 제조되며 이 방법은 매우 까다롭기 때문에 최근에는 단행복발효를 도입하여 막걸리를 제조하기도 한다. 하지만 기본적으로 품질 좋은 발효제(누룩)를 사용해야만 술의 이상발효가 일어나지 않아 실패를 줄일 수 있다.



[그림 2] 전통주 발효과정

2. 누룩의 제조 및 유래 미생물

분쇄한 곡류(밀, 쌀, 보리, 녹두 등)을 경우에 따라 다양한 재료들과 추가적으로 배합/반죽하여 형겅, 짚, 풀잎 등에 싸서 발로 밟거나 둥그랗게 빚어 뭉친 후, 누룩방이나 온돌 또는 헛간에 적당히 배열하여 짚이나 쪽으로 덮거나 바람에 건조시켜 누룩곰팡이가 뜰 때까지 배양시킨다 (그림 3). 주로 짧게는 1주일에서 길게는 40일 이상 걸리며, 지방과 계절에 따라 배합 재료와 배양 방법, 기간 등이 상이하다.



[그림 3] 누룩의 제조 과정과 발효 후 누룩 내의 미생물

누룩에서 분리/동정된 주요 미생물은 크게 당화력을 가지는 곰팡이와 에탄올 발효를 일으키는 효모, pH를 조절하여 잡균의 생장을 억제하는 유산균을 포함하는 균류로 나눌 수 있다. 곰팡이의 경우, 전분을 당으로 분해시키는 효소인 *amylase* 생산성이 우수한 *Rhizopus oryzae*, *Asp. niger*가, 효모는 *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces coreanus*가 대표적으로 알려져 있으며, 그 외에도 12속 59종의 곰팡이와 8속 29종의 효모, 4속 16종의 세균이 누룩에 존재한다고 보고되어 있다.

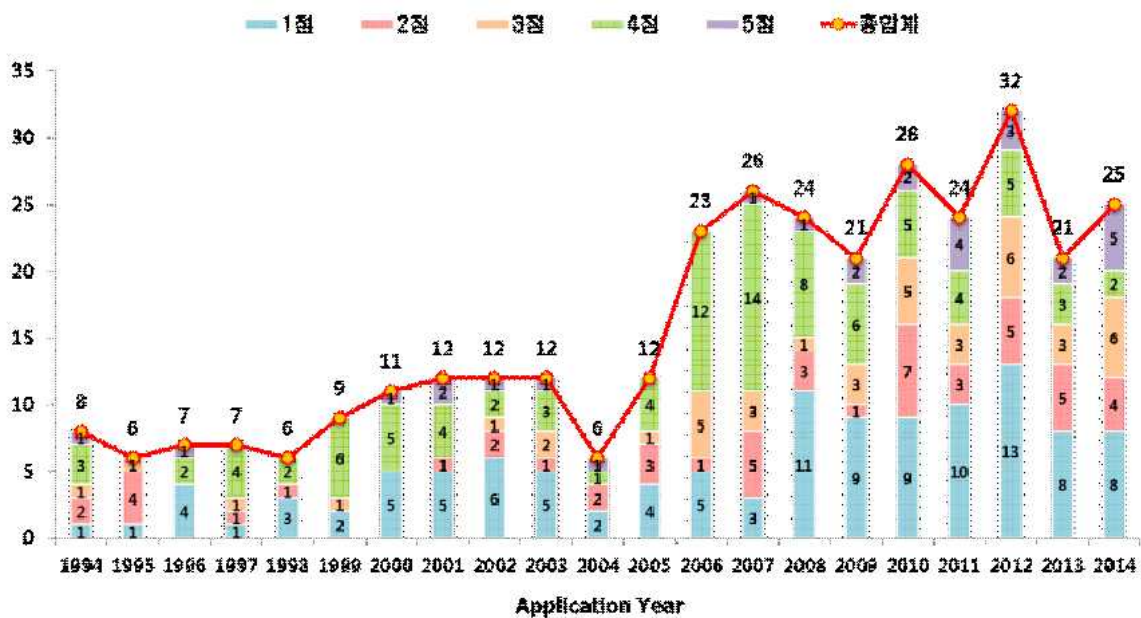
앞서 언급한 바와 같이 전통주는 대부분 병행발효에 의하여 제조되며 누룩이라는 자연 발효제를 사용하기 때문에 각각의 미생물의 조성과 그 역할이 매우 복잡하게 얽힌 발효 과정이 일어나게 된다. 자칫 잘못하면 의도한 바와는 다른 미생물의 증식이나 대사가 일어나면서 잡균의 생장이 두드러지거나 주질이 저하되는 등 발효과정의 관리와 관련 미생물의 연구가 필수적으로 요구되며, 이는 또한 관련 산업의 활성화를 위해서도 전통주 유래 미생물 연구의 필요성을 시사하고 있다. 그러나 대부분의 관련 연구는 에탄올 생성능이나 향기 성분 등이 뛰어난 특정 효모를 발굴하는 데에 그치고 있어 현재 전통주 유래 미생물 연구의 한계점을 드러내고 있다. 전통주는 누룩이라는 미생물 군집체의 발효를 술의 발효와는 별개로 선행하는 과정 등의 복합적이고 단계적인 제조 공정에 의하여 제작되는 특성상, 단순히 에탄올 생성 또는 특정 물질의 생성에 관여하는 단일 미생물의 작용만으로는 보기 힘들며 따라서 다양한 유용 미생물이 복합적으로 관여할 것이다. 따라서 전통주 유래 유용 미생물의 총체적인 분석을 위한 omics 분석 기법의 도입이 필요하다.

제3절 주류 미생물 유전체 연구동향

1. 주류 미생물 관련 논문 및 특허 동향

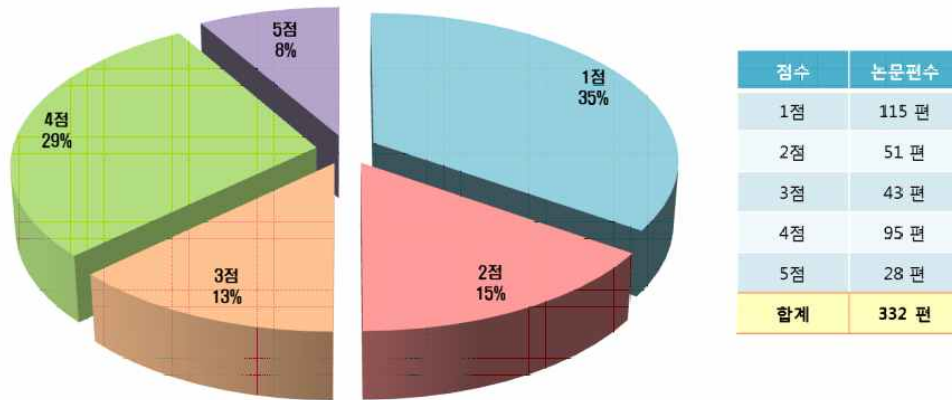
주류 관련 미생물 omics, 특히 여러 미생물을 분포를 파악할 수 있는 유전체학 연구의 필요성이 대두되고 있는 가운데, 현재 관련 연구는 대부분 주질을 향상시키거나 생산성을 높이는 특정 미생물의 발굴에 초점이 맞추어져 있는 것이 사실이다. 최근 10년간 출판된 논문을 중심으로 다음과 같은 검색식을 통하여 연구동향을 분석해본 결과, 실제 주류(전통주 외의 다양한 주류 포함)에 사용될 수 있는 미생물의 유전체를 분석하는 연구 보고는 최근 3-4년 사이에 이르러서나 수행되고 있다는 것을 확인할 수 있었다.

| | |
|---------|---|
| 논문검색 DB | Thomson Innovation |
| 검색식 | (yeast* or fungi* or fungal* or fungus* or microbi* or microorgani*) AND (brew* or wine* or beer* or alcohol* or liquor*) AND ("NGS" or next generat* sequenc* or genom*) |
| 검색결과 | 검색건수 (855편), 노이즈제거 후 (332편) |
| 검색범위 | All text field |
| 검색기간 | 1994-2014년 |
| 문서형태 | Article |
| 검색일 | 2014년 12월 19일 |
| 관련도 | 1점 (관련도 낮음) ~ 5점 (관련도 높음) |



[그림 4] 최근 10년간 연도별 주류 미생물 유전체 관련 연구동향 분석

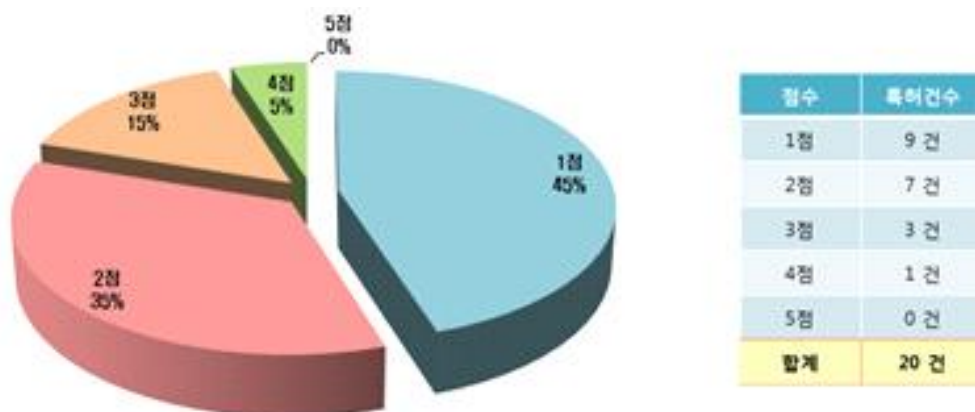
주류분야 미생물의 유전체 선행 연구에 대한 결과 분석에서도 역시 최근 10년간 총 28편(관련도 5점)에 지나지 않았으며, 대부분 주류와 상관없는 미생물의 유전자 관련 연구(관련도 1점, 115편)나 주류 미생물의 특정 기능에 대한 연구(관련도 4점, 95편)가 대부분을 차지하였다.



[그림 5] 최근 10년간 주류 미생물 유전체 관련 연구동향 분석

또한, 주류 관련 연구는 산업체와 연계성이 높아 주류 미생물 연구 대부분이 지식재산권으로 연계되는 특성을 고려하여 특허 분석을 수행한 결과, 역시 마찬가지로 주류 미생물의 유전체 관련 특허는 거의 존재하지 않는 것을 확인할 수 있었다.

| 논문검색 DB | Thomson Innovation |
|---------|---|
| 검색식 | (yeast* or fungi* or fungal* or fungus* or microbi* or microorgani*) AND (brew* or wine* or beer* or alcohol* or liquor*) AND ("NGS" or next generat* sequenc* or genom*) |
| 검색결과 | 검색건수 (114편), 패밀리 특허 제거 후 (78건), 노이즈제거 후 (20편) |
| 검색범위 | Title/Abstract |
| 검색기간 | 1994-2014년 |
| 문서형태 | 미국/유럽/일본/한국 공개 및 등록, PCT 공개 |
| 검색일 | 2014년 12월 19일 |
| 관련도 | 1점 (관련도 낮음) ~ 5점 (관련도 높음) |



[그림 6] 최근 10년간 주류 미생물 유전체 관련 연구동향 분석



[그림 7] 최근 10년간 주류 미생물 유전체 관련 특허 분석

최근에 연구가 활발한 분야는 주류 미생물 중에서도 에탄올 발효에 관여하는 *Saccharomyces*와 같은 효모의 생육이나 발효능을 조절하는 방향의 연구가 대부분이다. 특히 눈 여겨 볼 부분은 그나마도 대부분 일본이나 중국에서 보유한 특허라는 점이다. 일본은 전체 출원의 65%, 중국은 25%를 차지하고 있을 정도로 다수의 주류 미생물 관련 특허를 보유하고 있으나 상대적으로 우리나라는 보유 특허가 매우 적어 관련 연구가 필요함을 강하게 시사하고 있다. 실제로 국내에서는 현재 대부분 외국에서 개발 및 개량된 미생물 종균을 수입하여 사용하고 있으며, 그 중 주류 제조를 포함하여 발효 관련 효모, 효소제 (누룩 포함), 유산균 등의 수입 비용은 약 4,400만불 (한국무역협회, 2010)에 달하고 있다. ABS 나고야의정서가 발효됨에 따라 세계적으로 생물종의 주권이 강화되고 있는 현재의 시점에서 우리나라의 전통주류 유래 미생물의 통합적이고 총체적인 연구를 통하여 미생물 자원의 자국화가 시급하다고 할 수 있을 것이다.

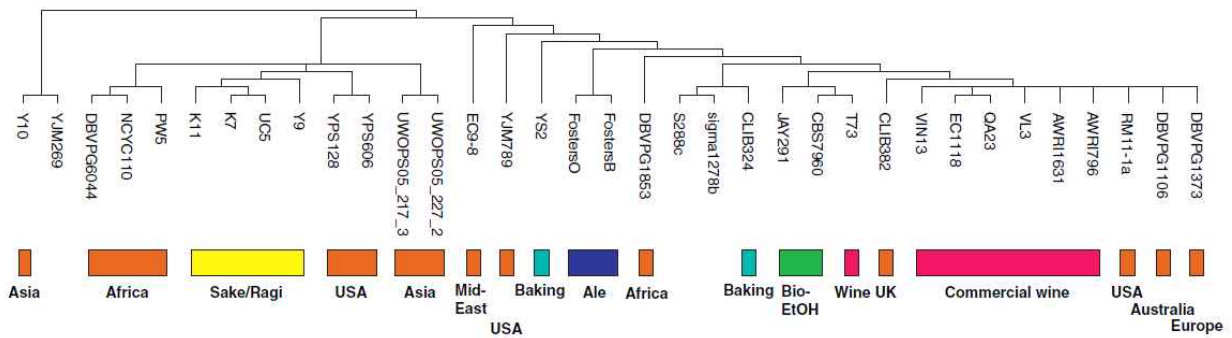
2. 국외 주요 주류 미생물 연구동향

국외에서 이루어지고 있는 주류 관련 미생물의 유전체 분석은 비교적 국내의 전통주, 전통누룩 관련 연구보다는 폭넓게 응용되고 있다. 본 보고서에서는 유전체학과 더불어 omics 기법과 같은 첨단 생명공학기법을 활용하여 진행 중인 주류 관련 미생물에 대한 연구를 선행 연구 결과가 많은 와인, 맥주, 일본의 전통주 등으로 분류하여 분석하고자 한다.

가. 와인

국외에서 이루어지고 있는 주류 유래 미생물에 대한 연구는 대부분 와인 효모라 불리는 *Saccharomyces cerevisiae*에 집중되어 있다. 가장 오랜 기간 인간에 의하여 활용된

미생물이기도 한 *S. cerevisiae* 는 와인 외에도 빵이나 에일맥주의 발효에도 관여하고 있으며, 와인 발효에 사용되는 *S. cerevisiae strain*만 해도 수 백종 이상이 존재하는 것으로 알려져 있다[그림 8]. *S. cerevisiae*은 eukaryote (진핵세포) 최초로 전체 유전체의 염기서열이 밝혀진 만큼 비교적 많은 연구가 진행되어 있다.



[그림 8] Genetic relationship of *S. cerevisiae* strains

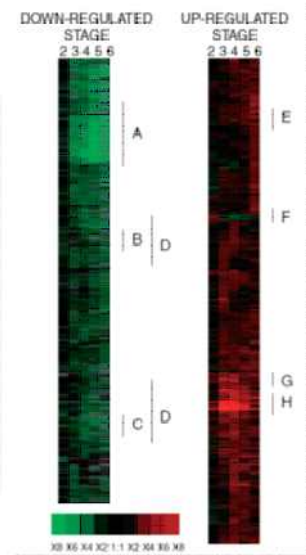
와인의 제조는 포도 자체가 가지고 있는 포도당을 에탄올과 탄산가스로 전환하는 에탄올 발효 과정을 거치게 된다. 고품질의 와인의 숙성을 위하여 포도당을 에탄올로 전환시키는 미생물인 효모(yeast)의 역할이 중요하게 작용하는데, 특히 와인의 경우에는 대부분 *S. cerevisiae*에 의하여 일어나는 것으로 보고되고 있다. *S. cerevisiae*에 대해서는 *Pasteur*에 의하여 최초로 포도 표면에 존재하는 것으로 보고되어 알려졌으나, 근래의 연구결과를 통하여 실제로 *S. cerevisiae*는 포도 표면보다는 포도의 표면에 생긴 상처에 주로 분포하고 있음이 알려져 있다.

와인은 전세계적으로 다양한 브랜드와 종류가 판매되고 있는 만큼 유용미생물에 대한 연구는 상당히 높은 수준으로 진행되어 있다. 전분을 포도당으로 전환 후 이를 다시 에탄올로 생성시키는 복발효 과정을 통해 만들어지는 대부분의 전통주는 단계가 복잡 한만큼 다양한 주류 유용미생물이 관여하여 완성된다. 이와 달리 와인은 포도 자체에 존재하는 한정된 종류의 미생물만이 관여하고 단발효의 형태를 보이기 때문에, 발효과정 이 비교적 단순하고 예측과 조절이 용이한 편이다. 또한 *S. cerevisiae* 전체 유전체 서열이 밝혀짐에 따라 실험실 수준에서의 분석법 적용이 용이하다. 따라서 대부분 와인 유용미생물의 유전체를 비롯한 omics 분석은 *S. cerevisiae*에 한정적이며 에탄올 발효 과정을 중심으로 연구가 진행되어 있다.

에탄올 발효 과정에서 나타나는 와인 효모 (*S. cerevisiae* strain EC1118)의 전사체학적 분석 기법을 통하여 환경적인 변화에 의하여 실제로 2,000여 개의 유전자가 영양과 환경, pH와 같은 생리학적 상태에 따라 그 발현에 영향을 받는다는 것을 확인한 바 있다.

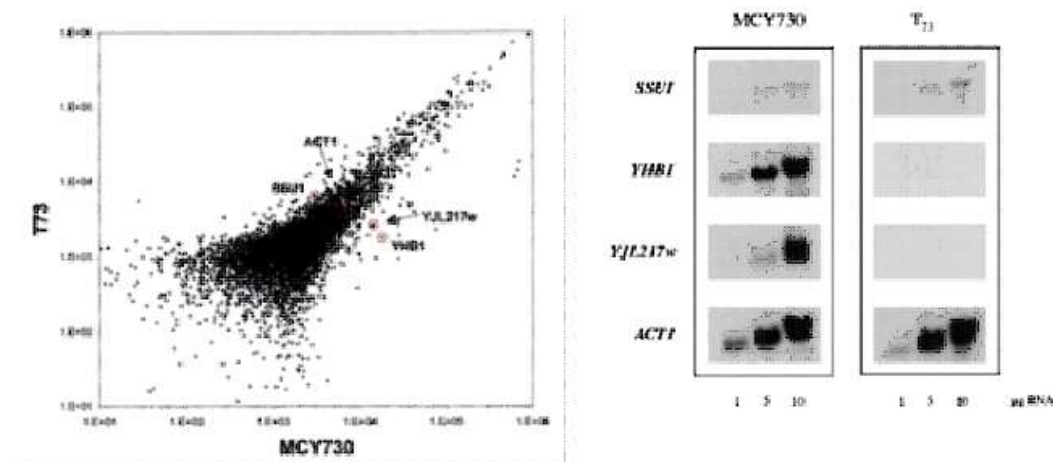
| Stage | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------------------------------|----|-----|-----|-----|-----|------|
| Cells 10 ⁶ cells/ml | 14 | 40 | 115 | 140 | 140 | 140 |
| CO ₂ g/l | 0 | 6 | 25 | 45 | 69 | 89 |
| Ethanol % v/v | 0 | 0.8 | 3.3 | 6 | 9.1 | 11.7 |

| Expression | Ratio | Number of regulated genes | | | | | |
|---------------------|--------------|---------------------------|----|-----|-----|-----|-----|
| Upregulated | IV 10 | — | 6 | 68 | 96 | 55 | 80 |
| | IV 5 and <10 | — | 22 | 108 | 151 | 93 | 164 |
| | IV 8 and <5 | — | 40 | 211 | 272 | 225 | 304 |
| Downregulated | IV 3 and <5 | — | 22 | 211 | 269 | 224 | 238 |
| | IV 5 and <10 | — | 6 | 147 | 179 | 131 | 118 |
| | IV 10 | — | 3 | 23 | 65 | 135 | 129 |
| Total upregulated | | — | 68 | 387 | 519 | 373 | 548 |
| Total downregulated | | — | 31 | 381 | 513 | 490 | 485 |



[그림 9] Number and hierarchical clustering of up- or down-regulated genes during the fermentation

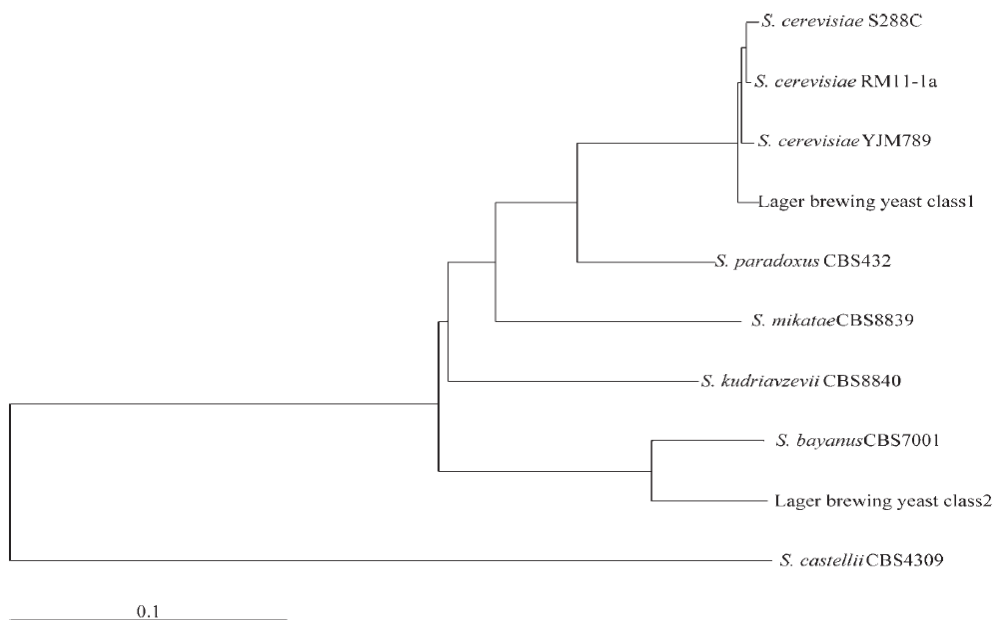
널리 사용되는 와인 효모 *S. cerevisiae* strain T73의 전체 유전체 분석 (whole genome analysis)을 표준 실험실 배경 균주(standard laboratory background strain, *S. cerevisiae* strain MCY730)과 비교 분석이 보고된 바 있다. 놀랍게도 이 두 균주는 정상상태에서도 40개 이상의 유전자의 발현에 확연한 차이를 보이는데, 이를 통하여 와인 발효에 관여하는 제 각각의 균주가 발효 조건 하에서 복잡하고도 여타와 차별적인 기작에 의한 대사 과정을 소화할 것이라는 것을 짐작할 수 있다. 따라서 와인유래 유용 미생물의 통합적이고 복합적인 이해가 요구되고 있는 가운데, 최근 NGS의 응용이 다방면에서 가능해짐에 따라 와인 유래 미생물의 비교 유전체학적 분석이 많은 연구그룹을 통해 보고되고 있다.



[그림 10] Comparison of transcript levels in strains T73 and MCY730

나. 맥주

맥주의 제조는 와인과 같이 1세기의 고대 중동지역에서 게르만족과 켈트족에 의하여 시작되었을 것으로 추측되나, 발효 후 숙성과정을 거치는 라거(lager) 맥주는 16세기에나 이르러서 일 것으로 알려져 있다. 맥주는 일반적으로 단행복발효에 의하여 제조되기 때문에 몰트 내부에 존재하는 효소에 의한 당화과정과 효모에 의한 에탄올 발효가 분리되어 있다. 와인과 유사하게 맥주의 경우에도 대부분 *S. cerevisiae*가 주 발효원으로 사용되고 있으며, 1883년에 최초로 라거 맥주 효모로 보고된 *S. carlsbergensis*를 비롯하여 *S. pastorianus*, *S. bayanus* 등의 다양한 *Saccharomyces complex*가 알려져 있다[그림11].



[그림 11] Phylogenetic tree of larger brewing yeast and 8 yeast species

이들의 유전체 염기서열 분석은 최근 들어 활발히 일어나고 있으며, 특히 *S. cerevisiae*의 유전체와의 비교 분석이 보고되고 있어 차후에는 맥주 효모 *strain*의 종간잡종 (interspecies hybrid) 비교분석까지도 가능할 것으로 예상된다.

다. 일본의 전통주

일명 사케(sake)로 불리는 쌀로 빚은 일본식 청주는 입국(koji)이라 불리는 누룩을 발효제로 하여 발효시킨다. 입국은 우리나라의 전통누룩과는 차이점을 가지는데, 가장 큰 특징이 미생물의 단순성과 인공적 접종에 있다고 할 수 있다. 일본식 입국은 쌀의 호화 전분에 단일균주를 접종하여 만들기 때문에 전분 분해효소를 분비하는 곰팡이나 효모, 젖산균과 같은 다양한 미생물이 증식하기는 어려운 환경이다[표 4]. 따라서 비교적 발효

과정의 조절이 용이하고 일관된 향미를 가지게 되며, 각각의 종류마다 특징적인 풍미와 주질을 가지게 된다.

[표 5] 전통누룩과 일본식 입국의 비교

| | 전통누룩 (곡자, 곡, Nuruk) | 일본식 입국 (국, Koji) |
|-----------|------------------------|---------------------|
| 전분형태 | 생전분 | 호화 전분 |
| 전분종류 | 쌀, 밀, 보리 등 (다양한 재료 사용) | 쌀 |
| 주모(발효) 기능 | 있음 | 없음 |
| 미생물 | 자연접종, 다양함 | 단일균주 접종 |

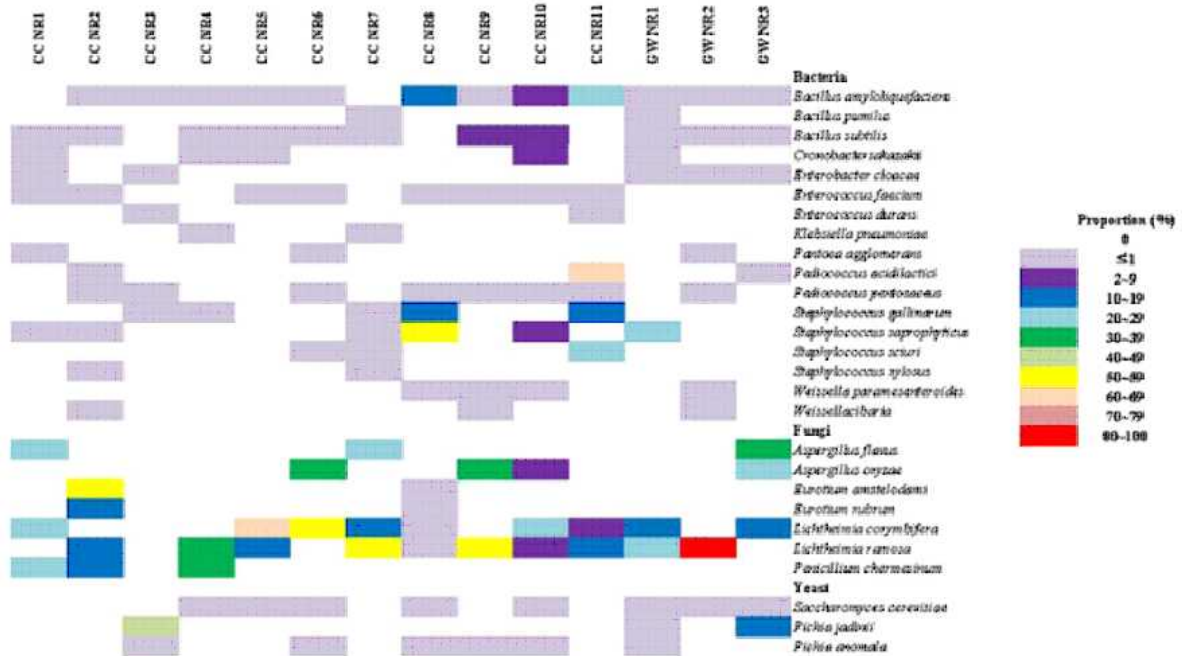
쌀의 호화 전분을 포도당으로 전환하는 곰팡이로는 대부분 황국균인 *Aspergillus oryzae*를 사용하나, 종류에 따라서는 흑국균인 *Asp. awamori*나 백국균인 *Asp. kawachii*를 접종하기도 한다. 입국에 의한 발효 외에도 에탄올 발효를 위한 효모로는 일반적으로 사케효모(sake yeast)라 불리는 *S. cerevisiae*을 주로 사용하는데 이들은 에탄올 발효 외에도 다양한 유기산과 아미노산 등을 생성시켜 사케의 맛과 향에 큰 영향을 준다. 최근의 연구 결과에서 다양한 입국 곰팡이와 사케 효모의 whole genome sequencing이 이루어지고 있어, 차후에는 더욱 통합적인 유전체 분석이 활발히 이루어 질 것으로 예상된다.

3. 국내 전통주(전통누룩) 미생물 연구현황

우리나라 전통 주류의 발효에서 빠질 수 없는 재료인 누룩은 다양한 발효 미생물 및 효소원으로 사용되어 왔다. 그런 만큼 이와 관련된 과학적 연구는 상당히 일찍부터 시작되었다. 최초로 누룩에 대한 연구를 시작한 것은 1892년으로 볼 수 있으며, 1905년에는 1903년에 수집된 조선누룩으로부터 3종의 *Mucor* 속이 분리된 것이 누룩 미생물의 최초 연구라 할 수 있다[27]. 전통누룩의 미생물 구성을 보면, 생전분을 원료로 사용하기 때문에 원료 자체에서 유래된 미생물과 누룩을 띄우는 과정에서 주변 환경으로부터 유래된 미생물들이 증식하게 되므로 매우 다양한 종류의 미생물이 누룩에 존재하게 된다. 특히 그 중에서도 생전분을 분해할 수 있는 미생물이 일차적으로 우점종을 이룰 것이라는 쉽사리 짐작할 수 있다.

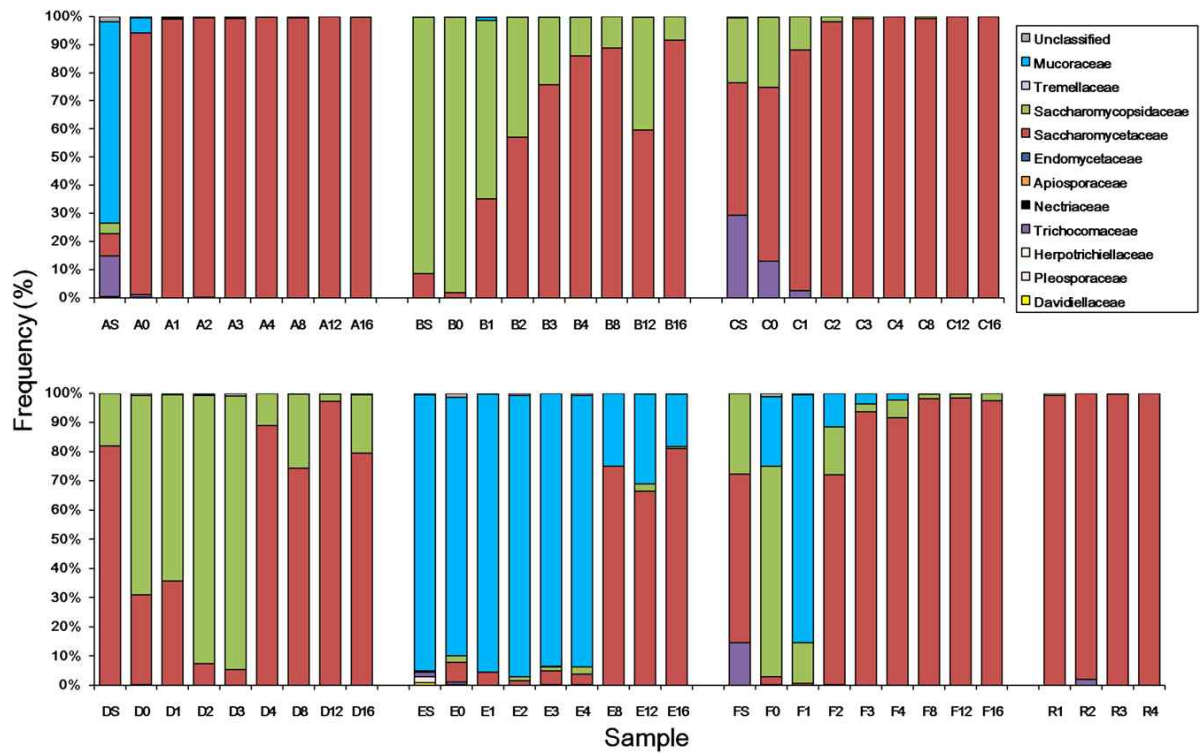
누룩 유래의 미생물로 가장 많이 분리가 되는 것은 *Aspergillus sp.*, *Rhizopus sp.*, *Mucor sp.* 등의 곰팡이류와 *S. cerevisiae*와 같은 효모, 그리고 유산균 등이 보고가 되고 있다. 그 외에도 다양한 미생물이 누룩으로 분리되어 동정된 바 있다. 최근 연구 결과에 따르면 현재 제조가 가능한 현대 누룩의 경우에도 지역마다 미생물총(microflora)의

변화가 크다고 한다. 또한 1945년을 기점으로 이전과 이후에 분리되는 우점종이 차이가 있는 것을 확인한 보고를 더불어 생각할 때, 현재 시판 중인 누룩과 전통방식으로 제조한 누룩의 미생물 군총은 상당히 다른 양상을 띠 것으로 예상된다.

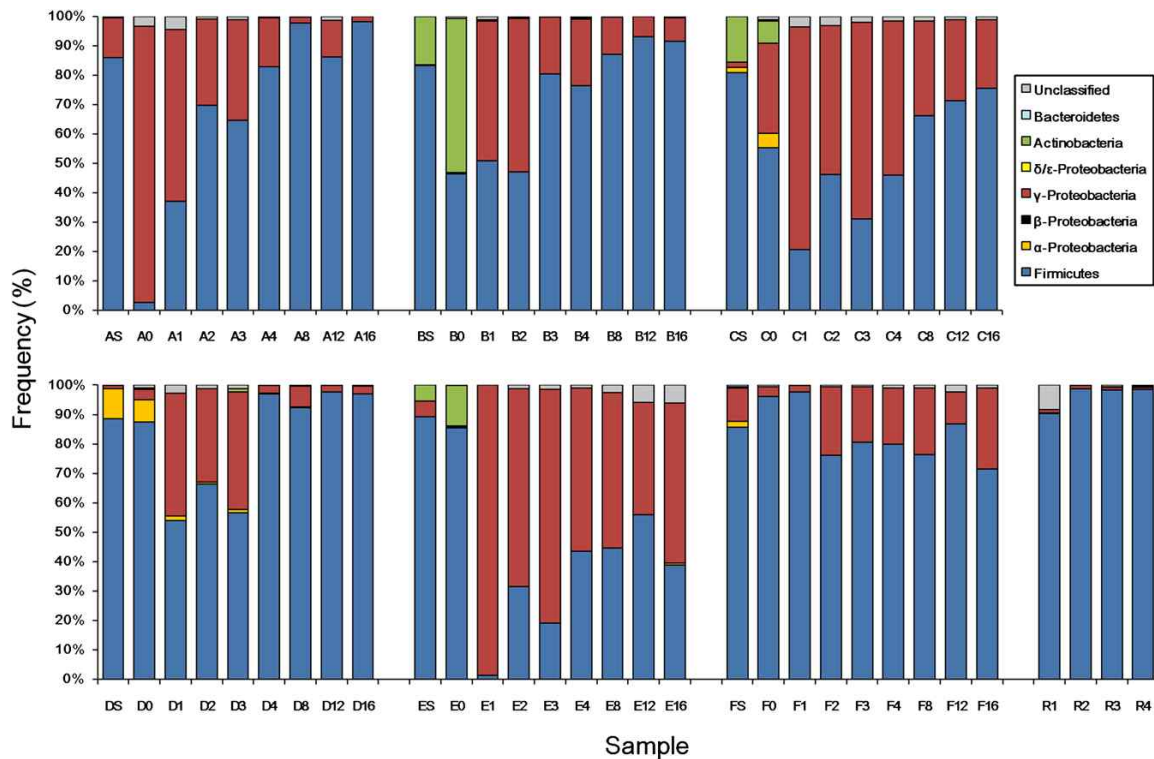


[그림 12] microflora profile of nuruk collected from various provinces in Korea

전통주에서 분리되는 미생물은 발효 기간에 따라서도 큰 차이를 보인다. 6종의 각기 다른 누룩을 사용하여 탁주(막걸리)의 미생물 조성을 유전체학적 분석(fungal spacer region 2 and 16S rRNA gene amplicon sequencing)을 통하여 확인한 결과, *Saccharomycetaceae*가 발효 과정 중에 증가하고(그림 13) 균의 경우에는 *γ-Proteobacteria*에서 Firmicutes가 우점종으로 나타나는(그림 14) 시간에 따른 변화 양상을 확인할 수 있다.



[그림 13] Fungal community dynamics during the fermentation of rice beers



[그림 14] Bacterial community dynamics during the fermentation of rice beers

제4절 결론 및 전망

술의 정의를 생각해보자면 비교적 단순하다. 알코올을 함유한 음료로서 술의 제조는 에탄올을 생성하는 효모에 의한 발효만 제대로 이루어지기만 하면 된다고도 볼 수 있으나, 실상은 그렇게 간단하지 않다. 본 보고서에서 계속 설명했다시피 주류의 발효는 효모의 에탄올 발효 외에도 전분에서 포도당으로 전환하는 등의 과정에서 생성되는 부가적인 대사체들에 의하여 맛과 향이 다양한 주류가 만들어진다.

우리나라 전통주의 발효는 특히나 여러 미생물의 복합적이면서도 체계적인 생물학적 기작에 의하여 일어난다. 전통주의 발효제인 누룩은 매우 다양한 곰팡이와 효모, 세균의 복합적인 집합체로 이루어져 있기 때문에 양조과정 중 이들의 대사를 조절하는 것은 매우 어렵다. 특히 우리나라의 가양주 문화를 바탕으로 생각해볼 때, 지역 및 자연 환경에 따라 다양한 전통누룩과 그 유래 미생물의 분포가 나타나기 때문에 과학적인 분석이 없는 한 균일하고 고품질의 전통주를 생산하는 것은 상당히 어려운 실정이다. 또한 발효협회에서 다양한 종류의 사케 효모를 관리하며 제조사의 요청에 따라 균주를 판매하고 있는 일본의 청주와는 달리, 국내의 전통누룩은 진주곡자, 송학곡자 2개사만이 개별 생산하여 판매하고 있기 때문에 품질관리가 미흡하여 주류의 품질에 지대한 영향을 끼치고 있다. 이는 국내 고유의 미생물자원의 과학적 분석 및 연구를 통한 유용 미생물 자원의 확보와 보존, 더불어 수입 종균의 대체 자원 발굴의 시급함을 시사한다.

*S. cerevisiae*를 최초로 발견한 19세기부터 본격적으로 이루어진 주류 미생물 연구는 최근 들어 omics 분석과 NGS의 발달에 의하여 새로운 국면에 접어들게 되었다. 현재의 미생물학은 기존에 수행되던 단일 유전자(gene)의 기능을 연구하는 것 보다는 유전체(genome)를, 단일 미생물 strain에 대한 개별적 연구보다는 전체 미생물 균총을 분석하는 포괄적인 방향으로의 진전을 진행 중에 있다. 이는 중요 유전자나 특정 미생물 한 두 strain (주로 우점종)에 의해서만 조절될 것이라 생각한 발효 대사가 사실상 여러 유전자와 생명체 (미생물) 간의 interaction에 의하여 주고받는 결과로 보는 시각이 확산되었기 때문이다. 이러한 때에 우리나라 전통주 또는 전통누룩 유래 미생물의 복합적인 분석 결과가 더욱 더 요구되고 있음은 말할 것도 없으며, 이를 통하여 확보된 첨단 과학적 분석은 차후 우리 고유의 전통주의 부흥기의 도래와 더불어 유용 미생물과 전통 문화의 자원화에 크게 기여할 수 있을 것이다.

제5절 참고문헌

1. Amann, R.I., W. Ludwig, and K.H. Schleifer, Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*, 1995. 59(1): p. 143-69.
2. Wood, H., Parkinson disease: Gut reactions-can changes in the intestinal microbiome provide new insights into Parkinson disease? *Nat Rev Neurol*, 2014.
3. Victor, D.W., 3rd and E.M. Quigley, Microbial therapy in liver disease: probiotics probe the microbiome-gut-liver-brain axis. *Gastroenterology*, 2014. 147(6): p. 1216-8.
4. Zhong, W. and Z. Zhou, Alterations of the gut microbiome and metabolome in alcoholic liver disease. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2014. 5(4): p. 514-22.
5. Greenblum, S., P.J. Turnbaugh, and E. Borenstein, Metagenomic systems biology of the human gut microbiome reveals topological shifts associated with obesity and inflammatory bowel disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012. 109(2): p. 594-9.
6. Holmes, E., et al., Understanding the role of gut microbiome-host metabolic signal disruption in health and disease. *Trends Microbiol*, 2011. 19(7): p. 349-59.
7. 유대식, et al., 누룩 미생물의 문헌적 고찰 (1945 년 이전을 중심으로). *한국식품영양과학회지*, 1996. 25(1): p. 170-179.
8. 유대식, et al., 한국 전통 누룩 미생물의 문헌적 고찰 (1945 년 이후를 중심으로). *한국식품영양과학회지*, 1998. 27(4): p. 789-799.
9. Goffeau, A., et al., Life with 6000 genes. *Science*, 1996. 274(5287): p. 546-567.
10. Borneman, A.R., I.S. Pretorius, and P.J. Chambers, Comparative genomics: a revolutionary tool for wine yeast strain development. *Current opinion in biotechnology*, 2013. 24(2): p. 192-199.
11. Pasteur, L., Études sur le vin: ses maladies, causes qui les provoquent, procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir. 1873: F. Savy.
12. Mortimer, R. and M. Polsinelli, On the origins of wine yeast. *Research in microbiology*, 1999. 150(3): p. 199-204.
13. Rossignol, T., et al., Genome wide monitoring of wine yeast gene expression during alcoholic fermentation. *Yeast*, 2003. 20(16): p. 1369-1385.

14. Hauser, N.C., et al., Whole genome analysis of a wine yeast strain. *Comparative and functional genomics*, 2001. 2(2): p. 69-79.
15. LEGRAS, J.L., et al., Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history. *Molecular ecology*, 2007. 16(10): p. 2091-2102.
16. Walther, A., A. Hesselbart, and J. Wendland, Genome Sequence of *Saccharomyces carlsbergensis*, the World's First Pure Culture Lager Yeast. *G3: Genes | Genomes | Genetics*, 2014. 4(5): p. 783-793.
17. Bond, U., The genomes of lager yeasts. *Advances in applied microbiology*, 2009. 69: p. 159-182.
18. Nakao, Y., et al., Genome sequence of the lager brewing yeast, an interspecies hybrid. *DNA research*, 2009. 16(2): p. 115-129.
19. Horinouchi, T., et al., Genome-wide expression analysis of *Saccharomyces pastorianus* orthologous genes using oligonucleotide microarrays. *Journal of bioscience and bioengineering*, 2010. 110(5): p. 602-607.
20. Casaregola, S., et al., Analysis of the constitution of the beer yeast genome by PCR, sequencing and subtelomeric sequence hybridization. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2001. 51(4): p. 1607-1618.
21. Akiyama, H., *Sake: the essence of 2000 years of Japanese wisdom gained from brewing alcoholic beverages from rice*. Translated by T. Inoue. Brewing Society of Japan, Tokyo, Japan, 2010.
22. Andersen, M.R., et al., Comparative genomics of citric-acid-producing *Aspergillus niger* ATCC 1015 versus enzyme-producing CBS 513.88. *Genome Res*, 2011. 21(6): p. 885-97.
23. Galagan, J.E., et al., Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. *Nature*, 2005. 438(7071): p. 1105-15.
24. Machida, M., et al., Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. *Nature*, 2005. 438(7071): p. 1157-61.
25. Futagami, T., et al., Genome sequence of the white koji mold *Aspergillus kawachii* IFO 4308, used for brewing the Japanese distilled spirit shochu. *Eukaryot Cell*, 2011. 10(11): p. 1586-7.

26. Akao, T., et al., Whole-genome sequencing of sake yeast *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai no. 7. *DNA Res*, 2011. 18(6): p. 423-34.
27. 유대식, 유현영, 우리 누룩의 정통성과 우수성. 2011: 월드사이언스. p. 179-227.
28. Hong, Y., et al., Microflora and Physiochemical Characteristics of Nuruk and Main Mashers during Fermentation of a Traditional Andong Soju. *Food Science and Biotechnology*, 1997. 6(4): p. 297-303.
29. Song, S.H., et al., Analysis of Microflora Profile in Korean Traditional Nuruk. *Journal of microbiology and biotechnology*, 2013. 23(1): p. 40-46.
30. Jung, M.-J., et al., Unexpected convergence of fungal and bacterial communities during fermentation of traditional Korean alcoholic beverages inoculated with various natural starters. *Food microbiology*, 2012. 30(1): p. 112-123.



IV. 생물비료(미생물제제) 연구동향

IV. 생물비료(미생물제제) 연구동향

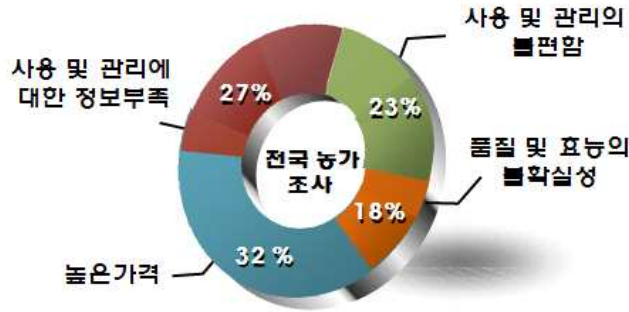
충북대학교 사동민 교수

제1절 개요

최근 생명공학연구의 중심은 유전체, 단백질체 분석과 생물정보 분석을 통한 생명현상의 해석이며, 이러한 자원과 정보를 바탕으로 새로운 신소재를 개발하기 위한 연구개발이 주목받고 있다. 유전체(genome)는 유전자(gene)와 염색체(chromosome)를 합성한 단어이며, 유전체 연구는 생물체의 구성 및 생존에 필요한 모든 요소를 합성하는 암호화된 DNA를 발굴하고, 이들의 염기서열을 밝히고 분석하여 궁극적인 생명현상을 이해하거나 필요한 용도로 활용하기 위하여 조작 또는 가공하는 모든 것을 의미한다. 미생물은 지구 생태계의 근간을 이루고 있으며, 그들의 다양한 물질 대사 능력과 상호작용은 중요한 산업용 소재를 제공해 준다. 따라서 미생물 유전체 연구는 이런 미생물의 지구 생태계 내의 역할을 이해하고 응용한다는 측면에서 중요한 역할을 한다고 할 수 있다.

국내에서는 친환경농업 확산에 따른 미생물제제 개발 필요성이 증가하고 있으나 효능 및 작용 기작에 대한 정보가 미흡하고 유통기간 및 정확한 효과가 입증되어 있지 않아 현재 유통 중인 미생물비료의 효과 재현 실패로 인하여 농가의 불신을 초래하는 실정이다. 실제 한국바이오협회에서 실시한 2007~2010년도 바이오산업 통계에 따르면 전국의 농가 109호를 대상으로 설문조사 실시한 결과, 미생물제제의 이용에 있어 가장 큰 문제점으로 높은 가격(31.2%), 사용 및 관리의 불편함(26.6%), 품질 및 효능의 불확실성(22.0%), 사용 및 관리 방법에 대한 정보부족(17.4%) 순으로 나타났다.[그림 16]

효과/효능, 사용방법/과정, 보관/저장, 가격 등의 4가지 측면에서 확인한 결과 또한 가격 문제점이 74.3%로 가장 높았으며, 불확실한 효과/효능이 44.9%로 두 번째로 높았고, 보관/저장 문제점, 사용방법/과정 순으로 나타났다. 또한 국내 미생물제제 관련 업체 26곳을 조사한 결과 현재 연구개발 및 제품생산 과정에서 가장 필요로 하는 기술은 미생물 소재 개발 분야였으며, 세부적으로는 신물질 개발 기술(46.2%), 균주 및 물질의 대량생산 기술(23.1%), 첨가제 및 보존제 기술(15.4%), 균주의 분리, 선별 및 동정 기술(11.5%) 순으로 나타났다. 이에 따라 국내환경에 적합한 생물비료 개발 및 활용 기술체계를 확립하고, 친환경농업의 경쟁력을 강화하기 위한 생물비료용 전략 미생물 유전체의 구조 및 작용기작을 명확하게 규명함으로써 고효율적인 생물비료 생산 기술 및 체계적 사용방법 개발이 요구된다.



[그림 15] 미생물제제 이용 시 문제점

※ 자료: 2013 농업기술실용화재단 - 국내 미생물제제 산업현황

제2절 국내외 연구동향 분석

1. 국내 연구동향 분석

친환경 농산물에 대한 국민적 수요가 증대됨에 따라 미생물제제와 같은 친환경 농자재의 중요성 또한 증가하고 있다. 이러한 추세로 친환경 농산물 시장규모는 계속 증가할 것이며, 2012년 한국농어촌경제연구원에서 조사한 '국내외 친환경 농산물 생산실태와 시장전망'에 따르면 유기농 농산물 시장은 2015년까지 17,536억 원으로, 무농약 농산물 시장은 51,709억 원으로 성장할 것으로 전망하고 있다. 국내 생물비료 시장은 약 253억 원 규모로 예상되며 친환경 농업의 확산에 따라 생물비료 생산량은 5.5%의 성장률로 2016년에는 297억 원 규모로 성장할 것으로 추정되고 있다.[표 5]

[표 6] 국내 생물비료 시장 현황 및 전망

| 시장규모(단위 : 억 원) | | | | | 성장률 CAGR(%)* |
|----------------|------|------|------|------|-----------------|
| 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | |
| 240 | 253 | 267 | 281 | 297 | 5.5 |

* CAGR (compound annual growth rate, 연평균성장률) <2013년 중소기업청>

국립농업과학원 조사에 따르면 국내 생물비료 생산업체는 135개, 수입 업체는 22여개 업체로 조사되었고, 2014년 현재 농촌진흥청에 등록된 미생물제제는 83개의 업체에서 138개 제품이 등록되어 있으며, 작물생육용자재 22개, 토양개량 및 작물생육용자재 114개, 토양개량용자재 2개가 등록되어 있다. 현재 국내에서 시판중인 생물비료는 주로 Bacillus, Pseudomonas, Rhizobium 등의 균주를 이용하여 토양개량, 병해충방제, 물질분해합성, 양분흡수, 작물생육촉진 및 제초기능으로 사용되고 있다[표 6].

[표 7] 국내 주요 생물비료의 주요 기능 및 관련 미생물

| 기능 | 작용기작 | 관련 미생물 |
|--------|------------|---|
| 토양개량 | 토양입단화 | <i>Azotobactor, Bacillus, Clostridium, Trichoderma</i> |
| | 중금속 불활성화 | <i>Rhizobium</i> |
| 병해충방제 | 항생물질분비 | <i>Bacillus, Pseudomonas, Trichoderma, 균근균</i> |
| | 살충성단백질생성 | <i>Streptomyces, Xanthomonas</i> |
| 물질분해합성 | 유기물분해합성 | <i>Bacillus, Clostridium, Pseudomonas, Streptomyces</i> |
| | 난분해성유기물분해 | <i>Thermus</i> |
| 양분흡수 | 인용해작용 | <i>Aspergillus, Bacillus, Streptomyces</i> |
| | 대기질소고정 | <i>Azospirillum, Rhizobium</i> |
| 작물생육촉진 | 착화합물생성 | <i>Pseudomonas, 광합성 세균</i> |
| | 호르몬분비 | <i>Fusarium</i> |
| 제초 | 잡초병원성균의 대사 | <i>Dendryphiella, Epicoccosorus</i> |

우리나라는 2001년을 ‘생명공학의 해’로 선언한 이후 B-KOREA를 건설하기 위해 연간 50억 원을 지원하고 100명이 참여하는 국가유전체 센터를 통해 인간/동·식물/미생물 유전체 및 생물정보학 연구에 관한 정보 및 인력을 통합·관리하겠다는 계획을 발표했다. 그러나 유전체 연구의 경우 집중적인 연구비 투자가 요구되기 때문에 전반적으로 미생물 유전체에 대한 연구가 미흡한 실정이며 분석하고 있는 미생물 균주도 이미 외국에서 분석이 완료된 균주이기 때문에 국내 생명공학 및 제약 산업에서 빠른 시일 내에 효과를 거둘 수 있는 경쟁력 있는 새로운 미생물 유전자원의 확보와 미생물 유전체에 대한 연구가 절실하다. 또한 미생물과 식물 간 상호작용의 기작을 연구하는 연구수단으로 미생물 유전체 염기서열 해석과 유전체간 유전정보 비교, 기능 유전체 분석 등의 유전체학적 연구방법이 필요하다.

2. 국외 연구동향 분석

BCC Research에서 전 세계 미생물 제품 시장을 조사한 결과, 2012년 미생물 및 미생물제품 시장은 1,170억 달러 수준이었으며, 2013년에는 1,340억 달러로 12.6% 증가하였으며, 2018년에는 1,790억 달러로 5년간의 연평균 성장률 (CAGR)이 6%에 이를 전망으로 보인다. 이 중에서 세계 미생물비료 시장은 2011년 기준 12억 달러 수준이었으나, 연평균성장률이 4.5%인 것을 고려하면 2016년에는 약 15억 달러에 달할 것으로 전망된다.

[표 8] 세계 생물비료 시장 규모

| Segment | 2010 | 2011 | 2016(e) | CAGR (%) |
|-----------------------|-------|-------|---------|----------|
| Bacterial fertilizers | 920 | 980 | 1,165 | 3.5 |
| Fungal products | 180 | 210 | 315 | 8.4 |
| Total(단위 : 백만 달러) | 1,100 | 1,190 | 1,480 | 4.5 |

전 세계적으로 화학비료를 대체할 수 있는 생물비료 개발에 중요성을 두고 있으며, 주요 미생물제제로는 *Azospirillum sp.*, *Azoarcus sp.*, *Azotobactor sp.*, *Bacillus sp.*, *Burkholderia sp.*, *Cyanobacteria sp.*, *Herbaspirillum sp.*, *Rhizobium sp.* 등을 이용한 제제로 토양 미생물의 종류 대비 이용효율이 5% 미만인 실정으로 우수 균주의 지속적인 탐색이 수행되어야 한다. Grand view research에서 2012년에 조사한 자료에 의하면 세계적으로 판매되고 있는 생물비료 제품은 질소고정 생물비료 (77.4%), 인산가용화 생물비료 (14.6%)의 형태로 나타났다.

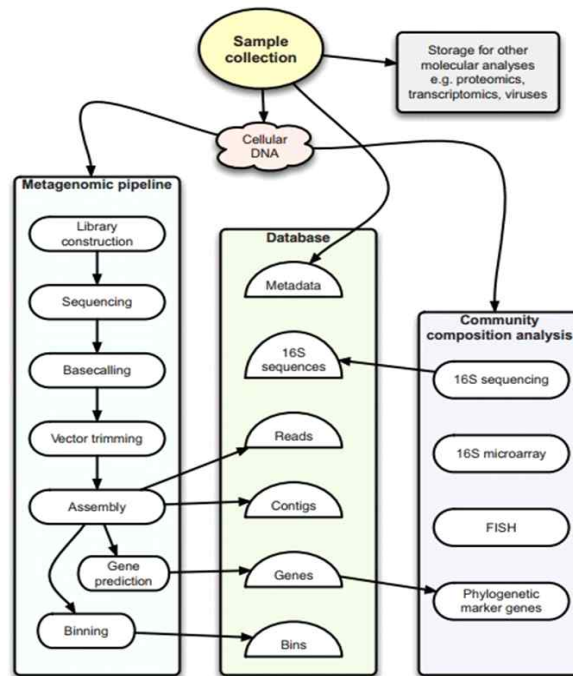
세계 각국의 생물비료 현황을 살펴보면, 먼저 미국의 경우 친환경 비료를 사용하는 농업인들이 늘고 있으며, 대량생산 및 대규모 농장, 협동조합, 전진농업기술에 중점을 두어 생물비료 수요 증가 및 북미 시장 범위가 확장됨에 따라 2018년 생물비료 시장 수익은 약 2억 560만 달러로 전망되고 있다. 일본은 Recycling에 의한 유기질, 베토·토양개량제 비료시장이 활성화되어 있으며, 생물비료에 대한 연구가 활발히 진행되고 있고 토양미생물제제를 지력증진법에 의한 토양개량자재로서 품질표시를 규정하도록 하고 있으며, 현재 VA균근균 자재가 지정되어 있다. 중국의 경우 2012년 친환경비료의 매출액은 전체 비료 매출액의 7%인 595억 위안에 불과하였으나, 친환경비료에 대한 관심이 증가하고 있고 생물비료 산업에 대해 현재 중국 정부가 적극적으로 지원을 하고 있어 전략적 지원사업으로 인해 2015년 매출액은 900억 위안, 2020년에는 1,400억 위안으로 향후 5~10년 이내에 친환경비료의 비중이 15%를 차지할 것으로 전망된다. 말레이시아는 생물비료 및 유기질비 시장은 미미한 수준이나 녹비와 야자 퇴비 등 유기질 비료를 생산하고 친환경 농업에 대한 관심이 증가함에 따라 근류균, 내생균근과 같은 미생물비료 연구가 진행되고 있다.

인도는 *Azotobactor*(곡류, 유류종자, 채소), *Mycorrhizae*(이식용 식물), 인산가용화균 및 근류균 (두과작물) 등 생물비료 연구가 활발히 진행 중에 있다. 베트남과 태국 또한 생물비료 개발에 관한 연구가 활발히 진행 중에 있는데 베트남은 생물비료에 대한 연구가 1982년부터 수행되고 있으며, 10개 이상의 연구기관 및 대학에서 두과작물용 근류균제 생산기술, 비두과 작물용 질소고정 접종제, 농업 및 임업 혼합용 생물비료 개발 등과 같은 연구가 진행 중에 있다. 태국은 작물생산성 증대, 생산비 절감, 품질향상,

지속농업개발, 유기농업개발과 관련된 생물공학 연구 분야에서 생물비료가 중요한 부분을 차지하고 있으며 근류균, 질소고정균, 아졸라, 남조류 및 Mycorrhizae 등을 이용한 생물비료 개발 연구가 활발히 진행 중에 있다.

해외 미생물 유전체 연구기관과 투자 현황을 살펴보면 미국은 에너지성 (DOE), ONR, NIDCR, DARPA, NSF, NIAID, OBER, USDA, 국립보건원 (NIH)으로 가장 다양하며, 한 해의 국가 총 연구개발투자비의 21.5%에 해당하는 178억 달러를 NHGRI와 NCI 등 16개 기관을 지휘하고 있는 NIH에 투입한 바 있다. 유럽연합의 경우 European & Canadian Consortium에서 공동으로 지원하고, 독일의 Ministry of Lower Saxony, BYK Gulden, BMBF, FASF, 네덜란드 NWO, 벨기에 Region Wallonne, 스웨덴 SSF 등에서도 미생물 유전체 연구를 적극 지원하고 있다. 그 밖에 브라질에서는 FAPESP에서, 아시아는 일본 NITE과 중국 CNCBD, Chinese Ministry of Public Health 등에서 국가적으로 미생물 유전체 연구를 지원하고 있다.

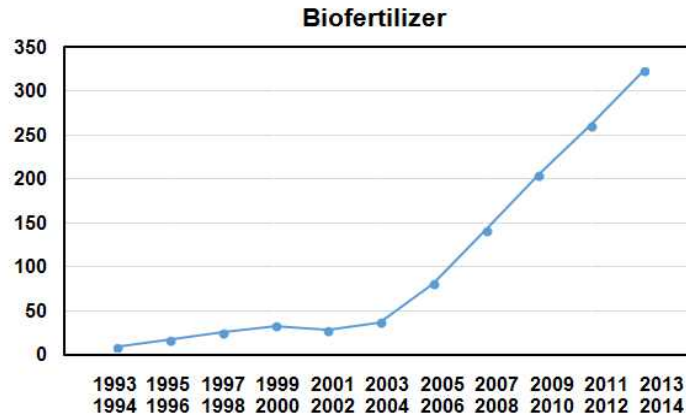
국외에서는 이미 미생물 유전체 분석에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 미생물 군집의 분석은 형태학적으로 확인하거나 수를 측정하기 어려울 뿐만 아니라 분류군의 대부분이 명확한 특징을 보이지 않기 때문에 유전체 분석 기술과 같은 분자 시퀀스 데이터를 이용한다. 미생물 DNA의 유전체 분석은 다양한 식물과 토양 샘플로부터 미생물 군집의 DNA를 추출하여, 차세대 염기서열 분석(Next generation sequencing, NGS) 기술을 이용하여 다양한 환경에 서식하는 세균 및 미생물의 유전체를 분석하는데 주로 사용되고 있으며⁴, 최근에는 식물과 토양에서 분리한 식물생장촉진 미생물의 유전체 분석 연구에도 이용되어 식물과 미생물의 상호 메카니즘에 관여하는 유전적 특성을 확인하는데 매우 중요한 역할을 하고 있다. 최근에는 indole-3-acetic acid (IAA) 생합성, acetoin 합성, siderophore 생산과 같이 식물의 성장촉진에 관여하는 유전체뿐만 아니라 이차 대사과정에서 non-ribosomal의 합성 및 식물의 환경적응에 관여하는 유전체를 분석하는 연구가 활발히 진행되고 있다.



[그림 16] 유전체 분석을 이용한 일반적인 bacteria와 archaea의 군집 구조 분석 모식도

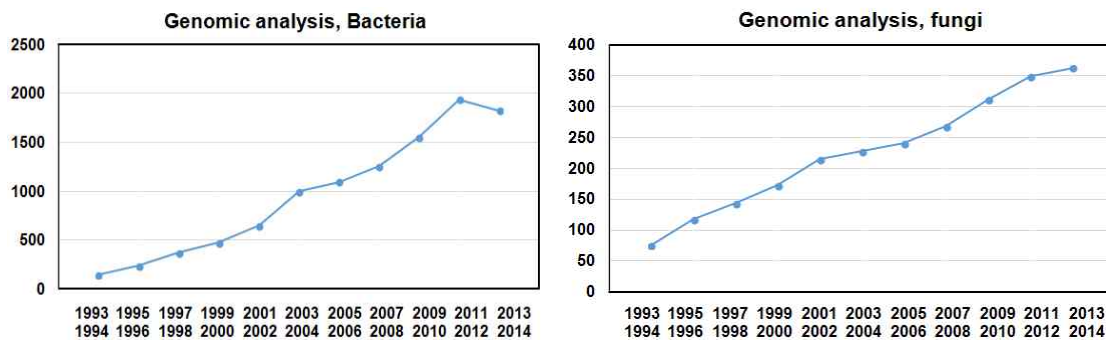
※ 자료 : 미국 Joint Genome Institute)

국의 생물비료 및 유전체 분석에 관한 연구동향을 분석하기 위해, Scopus에 등록된 SCI(E)급 학술 논문 (article)들을 분석하였다. 논문에 대한 검색은 1994년부터 2014년까지 20년간 출판된 논문을 검색하였으며, 검색어는 'Biofertilizer, Genome analysis, Bacteria, Fungi, AMF', 주제영역은 'Agricultural and Biological Science, Biochemistry, Genetic and Molecular Biology, Microbiology, Environmental Science' 범위에서 검색하였다. Scopus에 등록된 생물비료 관련 논문은 총 1,161편이었으며 연구 논문 편수는 2000년대 초반 이후부터는 급격하게 증가하는 추세에 있는 것으로 조사되었다. 논문의 영역범위의 논문 수는 Agricultural and Biological Science가 전체의 72.6%로 가장 많은 비중을 차지하였으며, Environmental Science가 27%, Microbiology가 19.1% 순으로 조사되었다.



[그림 17] Scopus에 등록된 생물비료 관련 논문 편수

미생물 유전체 분석에 관한 논문의 경우, 세균 유전체 분석은 10,553편, 곰팡이는 4,282편의 논문이 조사되었으며, 90년대 이후부터 지속적으로 증가하는 추세를 보이고 있다[그림 18]. 세균 유전체 분석 관련 논문 중에서, *Bacillus*에 유전체 분석 관련 논문이 965편으로 가장 많은 비중을 차지하였으며, *Pseudomonas*와 *Rhizobium*에 관한 논문도 각각 789편, 554편의 논문이 조사되었다. 영역범위별 논문 수는 Biochemistry, Genetic and Molecular Biology 분야가 가장 많은 비중을 차지하였고, Microbiology, Agricultural and Biological Science 순으로 나타났다.

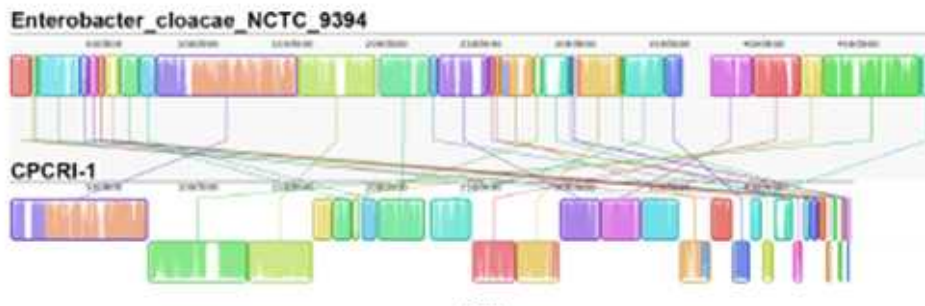


[그림 18] Scopus에 등록된 세균과 곰팡이 유전체 분석 관련 논문 편수

곰팡이 논문의 경우, 세균에 비해 많은 수의 논문이 발표되지는 않았으나 지속적으로 논문의 수가 증가하고 있는 추세이며, 최근에는 내생균근에 관련된 논문도 많은 주목을 받고 있다. 영역별 논문의 수는 Biochemistry, Genetic and Molecular Biology 분야가 가장 많은 비중을 차지하였고, Agricultural and Biological Science, Microbiology 순으로 나타났다.

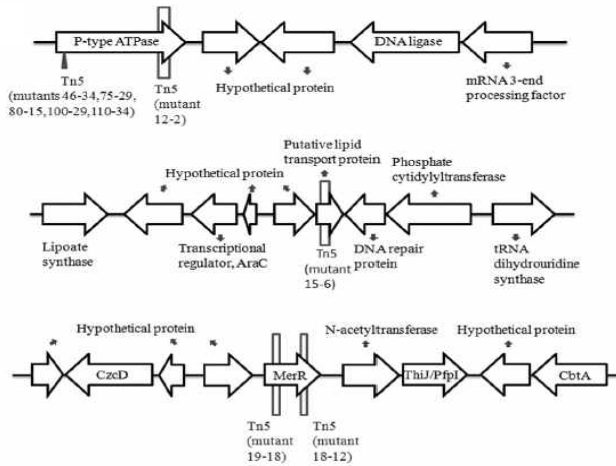
최근에 발표된 유전체 분석 관련 대표 연구를 살펴보면, Gupta(2014)은 코코넛, 코코

아, 베델야자 식물체로부터 식물생장촉진 미생물인 *Enterobacter cloacae* CPCRI-1, *Pseudomonas putida* CPCRI-2, *Enterobacter* sp. CPCRI-3을 분리하여 유전체 서열 분석을 수행하였으며, 그림 19는 Mauve aligner를 이용하여 *Enterobacter cloacae* NCTC9394와 *Enterobacter cloacae* CPCRI-1 유전체의 다중 서열 분석을 나타낸다. 이 연구에서는 세 가지 식물생장촉진 미생물의 4000~4600개의 protein coding 유전자를 확인 하였으며 이 중에서 인산가용화능, ACC deaminase, IAA 생산에 관여하는 기능적 유전자가 존재하는 것을 확인하였으나, 각각의 균주에서 31, 59, 91개의 유전자가 기존 염기서열 데이터베이스와는 다르다는 것을 확인하였다.



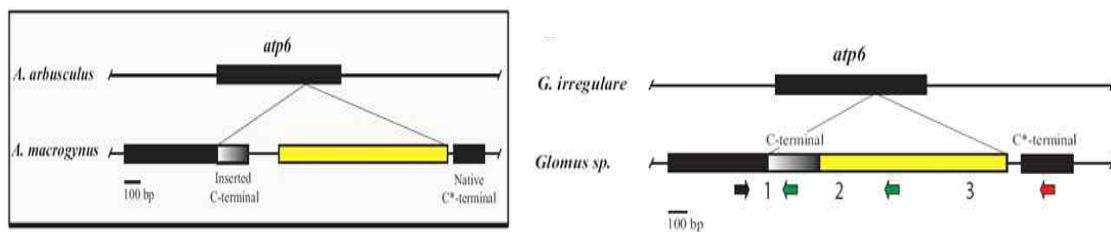
[그림 19] Mauve aligner를 이용한 *Enterobacter cloacae* NCTC9394와 CPCRI-1의 유전체의 다중 서열 분석

Hao(2012)은 나무의 일종인 아까시나무 (*Robinia pseudoacacia*)의 뿌리혹으로부터 금속 내성 식물생장촉진 미생물인 *Agrobacterium tumefaciens* CCNWGS0286을 분리하고 SacII와 EcoRI 분해효소를 이용한 분해를 통해 DNA를 추출한 후 유전체 분석을 수행하였다. *A. tumefaciens* CCNWGS0286의 아연 내성 유전자를 확인하기 위해 Tn5 형질전환 물질을 삽입하여 RT-PCR을 이용해 P-type ATPase의 4가지 유전자 (ATCR100750, ATCR102265, ATCR121065, ATCR121784)의 발현 분석을 실시한 결과, Tn5 형질전환물질의 삽입에 의해 P-type ATPase 활성이 감소하면 균주의 아연 내성 또한 감소하였다. 이는 P-type ATPase 관련 유전자의 발현이 균주의 아연 내성과 관련이 있다는 것을 보여준다고 할 수 있다[그림 20].



[그림 20] Tn5 형질전환 물질을 이용한 *A. tumefaciens* CCNWGS0286의 아연 내성 관련 유전자 발현 측정

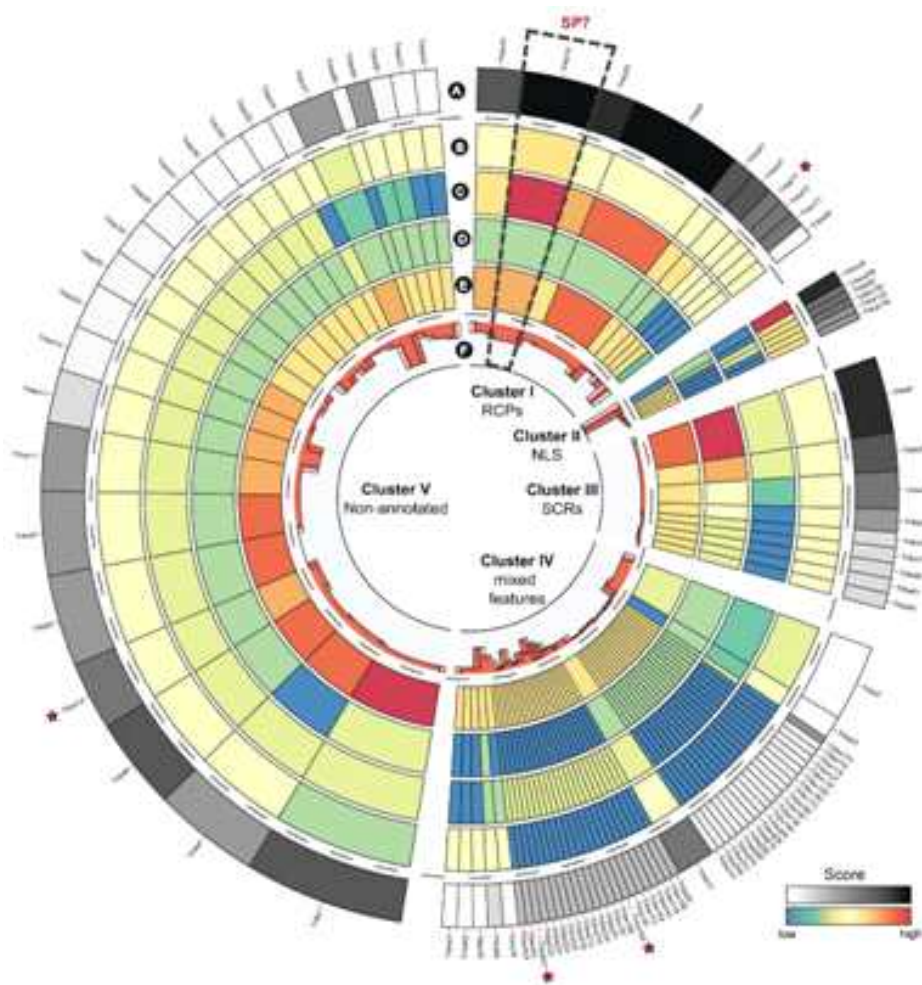
박테리아 이외에도 식물과 공생하는 내생균근(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 또한 유전체 다형성 부분에서 큰 주목을 받고 있으며, 최근 연구에서 Beudet (2013)는 내생균근 내 미토콘드리아의 변동성을 확인하기 위해 454 sequencing 방법을 이용하여 *Glomus sp.* DAOM229456의 미토콘드리아 DNA에 대한 유전체 분석을 통해 기존 *Glomus irregulare* 내생균근의 mtDNA와 비교 분석하였다. 이는 세균과 다르게 균류는 미토콘드리아를 가지고 있는 점을 이용하여 유전체 분석을 통해 기존 내생균근과 분리한 내생균근의 미토콘드리아 내 *atp6* 유전자와 같은 특정 유전자의 발현 측정 비교를 통해 개체간의 계통학적 분류를 결정할 수 있다[그림 21].



[그림 21] *Allomyces macrogynus*와 *Glomus irregulare* 내생균근의 *atp6* 유전자 발현 분석을 통한 *Glomus sp.* 내 미토콘드리아 유전자 발현 확인

다른 연구에서는 Lin (2014)이 *Rhizophagus irregularis* 내생균근 포자의 핵에 대한 de novo 유전체 분석을 실시하였다. 세균은 한 개의 핵을 가지는 반면에 내생균근은 한 개의 포자 안에 수많은 핵이 존재한다. 이 논문에서는 Sytox Green으로 염색한 포자로부터 Confocal Laser Scanning Electron Microscope를 이용하여 임의의 4개의 핵을 분리한 다음 세포 핵 간의 다형성을 확인하였으며, 45S rDNA 염기서열 분석을 실시하였

으나 4개 핵 간의 염기서열의 차이점을 확인할 수 없었다. 그러나 유전체 분석을 통해 SinalP V2.0 software를 이용하여 핵 내에 균류 단백질 유전자 발현을 측정하고, TMHMM V2.0 프로그램을 이용한 각 단백질 내 막전위와 미토콘드리아 신호 펩타이드의 활성을 분석하여 4가지 핵이 서로 다른 단백질 유전자를 가진다는 것을 확인하였고, Markov clustering 프로그램을 통해 유사한 단백질 염기서열로 그룹화하여 나타냈다[그림 22].



[그림 22] Markov clustering 프로그램을 이용한 *Rhizophagus irregularis* 내생균근 포자 핵의 Top 100 proteins sequence group

이와 같이 최근에는 단순히 분리한 미생물을 동정하거나 특성을 파악하는 것과 더불어 세균이나 곰팡이가 가지고 있는 특정 유전자의 발현을 유전체 분석을 통하여 기존에 알려진 미생물과의 유전체적 차이점을 보다 명확하게 비교 분석하여 우수한 신규 미생물자원을 신속하게 확보할 수 있는 연구가 주목받고 있다.

제3절 향후 전망

현재 시판 중인 미생물제제의 경우 효과 대비 높은 가격, 품질 및 효능의 불확실성, 보관 및 저장기간에 따른 효과 감소, 사용방법과 과정에 대한 변수 및 정보부족 등으로 인한 농가의 불신을 초래하고 이에 따른 미생물제제 연구개발 및 제품생산에 있어 미생물 신소재 개발 기술이 필요한 실정이다. 또한 다양한 서식지에 분포하는 미생물에 대한 다양성 연구 및 자원 확보가 필요하며, 단백질 및 유전체에 기반한 미생물에 대한 다양한 특성 평가가 필요하다.

이를 해결하기 위해서는 저비용의 미생물제제를 보급할 수 있는 경제적인 미생물제제 개발 기술을 확립하고 새로운 미생물 선발 및 효능, 효과에 대한 명확한 메커니즘을 분석할 수 있는 연구가 필요하며, 특허 출원 및 품질 인증을 통해 미생물제제의 안정성과 효능 입증을 통해 농가의 신뢰를 회복해야 한다. 이러한 관점에서 유전체 기반 미생물 자원 염기서열 분석 및 DB 구축 확대를 추진하기 위해 특허 미생물을 포함하는 농업용 유용 미생물자원 (식물병 방제 미생물, 식물생장촉진 미생물, 미생물비료 등)의 유전체 연구는 미생물의 유전체 구조 및 작용기작을 규명하는데 유용한 분석 방법이라고 할 수 있다. 유전체 연구를 통해 우수한 신규 미생물자원을 확보한다면 다양한 환경에 적합한 생물비료를 개발하고 생물비료의 성능 및 안전성을 입증하여 친환경적인 작물 생산기술의 확립함으로써 작물의 생산성을 증대시키고 나아가 농가의 신뢰를 회복할 수 있을 것으로 사료된다.

제4절 참고문헌

1. 엄인용, "국내 미생물제제 산업현황", FACT 농업기술실용화재단, 1-8, 2013.
2. BCC Research, "미생물비료 시장- 기술, 응용 및 세계 시장", 2012.
3. Lekberg, Y., S.M. Gibbons, and S. Rosendahl, "Will different OTU delineation methods change interpretation of arbuscular mycorrhizal fungal community patterns?", *New Phytologist*, 202: 1101 - 1104. 2014.
4. Schuster, S.C., "Next-generation sequencing transforms today's biology", *Nat Methods*, 5: 16 - 18. 2008.
5. Mathimaran, N., R. Srivastava, A. Wiemken, A.K. Sharma, and T. Boller, "Genome sequences of two plant growth-promoting fluorescent *Pseudomonas* strains, R62 and R81", *J. Bacteriol.*, 194: 3272 - 3273, 2012.

6. Niazi, A., S. Manzoor, S. Asari, S. Bejai, J. Meijer, and E. Bongcam-Rudloff, "Genome Analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* Subsp. *plantarum* UCMB5113: A Rhizobacterium That Improves Plant Growth and Stress Management", *PLOS ONE*, 9(8): e104651, 2014.
7. Victor Kunin, Alex Copeland, Alla Lapidus, Konstantinos Mavromatis, and Philip Hugenholtz, "A Bioinformatician's Guide to Metagenomics", *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, doi:10.1128/MMBR.00009-08, 2008.
8. Gupta, A., M. Gopal, G.V. Thomas, V. Manikandan, and J. Gajewski, "Whole Genome Sequencing and Analysis of Plant Growth Promoting Bacteria Isolated from the Rhizosphere of Plantation Crops Coconut, Cocoa and Arecanut", *PLoS ONE*, 9(8): e104259, 2014.
9. Hao, X., P. Xie, L. Johnstone, S.J. Miller, C. Rensing, and G. Wei, "Genome sequence and mutational analysis of plant-growth-promoting bacterium *Agrobacterium tumefaciens* CCNWGS0286 isolated from a zinc-lead mine tailing", *Applied and environmental microbiology*, 78(15): 5384-5394. 2012.
10. Beaudet, D., M. Nadimi, B. Iffis, and M. Hijri, "Rapid Mitochondrial Genome Evolution through Invasion of Mobile Elements in Two Closely Related Species of Arbuscular Mycorrhizal Fungi", *PLOS ONE*, 8(4): e60768, 2013.
11. Lin, K., E. Limpens, Z. Zhang, S. Ivanov, D.G.O. Saunders, D. Mu, E. Pang, H. Cao, H. Cha, T. Lin, Q. Zhou, Y. Shang, Y. Li, T. Sharma, R.V. Velzen, N. Velzen, D.K. Aanen, J. Win, S. Kamoun, T. Bisseling, R. Geurts, and S. Huang, "Single Nucleus Genome Sequencing Reveals High Similarity among Nuclei of an Endomycorrhizal Fungus", *PLOS ONE*, 10(1): e1004078. 2014.



V. 사료첨가제 미생물 연구동향

V. 사료첨가제 미생물 연구동향

강원대학교 김은배 교수

서울대학교 허철성 교수

제1절 개요

FTA 확대에 의하여 그동안 축산업은 무한 경쟁 속으로 진입해 왔다. 값싼 외국 축산물과 경쟁하기 위해서는 생산 단가를 낮추는 것뿐만 아니라, 소비자가 신뢰할 수 있는 축산물을 생산하는 것 또한 중요하다. 최근 발생하고 있는 구제역(FMD)과 조류독감(AI) 같은 감염성 질환 발생도 축산 분야에 고질적인 문제가 되어가고 있다. 이로 인한 국가적 경제 손실이 2010 ~ 2011년에 약 3조 이상(농림수산식품부, 보도자료, 2011년 7월), 2014년 야생오리에서 유래한 AI 발생이 최소 3천억원의 직접 손실과 1조원에 이르는 직/간접 손실을 야기한 것으로 추정(파이낸셜 뉴스, 2014년 1월)되고 있다. 따라서, 신뢰받는 축산물 생산과 가축 질병 문제를 해결할 수 있는 방안이 마련되어야 할 것이다.

우선, 신뢰받는 축산물은 기본적으로 친환경 축산물로부터 시작된다. 대한민국은 지난 2011년 7월 동물사료첨가용 항생제 사용을 전면 금지했다. 항생제는 그동안 축산분야에서 가축 질병 예방과 생산성 증진을 위해 오랜 기간 사용해왔다. 항생제 사용이 전면 금지되면서, 축산 농가는 항생제 대체 소재를 요구하고 있다. 이러한 대안으로 생각되는 소재 중에 유산균을 포함한 생균제(Probiotics)가 각광을 받고 있다.

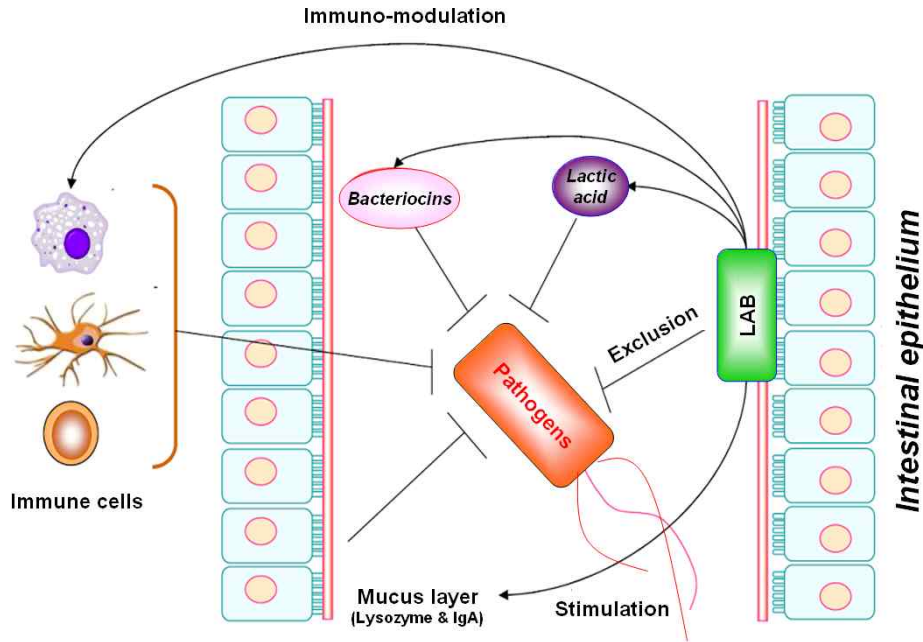
다음으로, 가축 질병을 해결하기 위해서, 농장 방역을 철저히 하고 가축을 사랑으로 돌보는 기본적인 방법 이외에도, 가축의 면역력을 높임으로써 감염성 질병에 대비하는 방법도 있다. 이러한 방법으로 다양한 사료 첨가제들이 사용되고 있으며, 이 중에서도 유산균과 같은 생균제가 주목을 받고 있다.

본고에서는 이러한 이유들로 주목받고 있는 생균제에 대하여 알아보고, 양돈 분야에서의 생균제 연구동향을 분석해 보고자 한다.

제2절 생균제

생균제란 동물이나 사람이 적절한 양을 섭취했을 때, 몸에 이로운 미생물 균체와 그들이 만든 배양물질을 의미한다. 가축용 생균제로 사용되는 미생물에는 유산균, 곰팡이, 효모, 박테리오파지 등이 있고, 일반적으로는 여러 미생물을 혼합하여 가축에게 급여하고 있다. 이 중에서 유산균은 막대·공·Y 모양의 Gram Positive 박테리아(Bacteria)로서, 당을 발효하여 유산(Lactic Acid)을 생산하며, 균주에 따라 항균성(Antimicrobial)의 박

테리오신(Bacteriocins)을 생산할 수 있고, 요구르트나 김치와 같은 발효식품에 널리 분포하며, 유산균이 건강 유지와 수명 연장에 깊은 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 특히, 유산균은 장내에서 다양한 기작에 의하여 병원성 미생물을 억제하고 면역력을 개선하는 것으로 알려져 있다.



[그림 23] 소화 장관에서의 유산균의 유익 작용

※ 유산균은 장상피세포에 부착하여 병원균이 접근하는 것을 막고(경쟁적 배제), 유산과 박테리오신을 생산하여 병원균 사멸할 수 있고, 장 주변에 존재하는 면역세포를 조절하여 면역력을 개선하며, Mucus Layer에 항균성 라이소자임과 항체 생성을 촉진한다.

제3절 국내 연구동향

국내 생균제 시장은 인체용과 가축용으로 크게 나눌 수 있다. 그 중에서 가축용으로 사용되는 미생물에는 표 1과 같은 종(Species)이 있다.

이들 생균제들은 사료에 첨가하는 보조사료로서 포장지에는 주요 균주의 명칭과 생균수 최소량을 표시하게 되어 있다. 생균수는 최소 10⁶CFU/g 이상이 있어야 한다. 단위는 cfu/g 또는 pfu/g(박테리오파지)으로 표시한다. 유효성분별 함량 표시 방법으로는 생균제, 유익곰팡이, 효모제에 대하여 ○○×10ⁿ CFU/kg라고 표기한다.

국내 생균제 시장 규모는 정확한 통계치가 없어 과거 자료를 토대로 정리해 보았다. 2007년 국내 생균제 시장 규모는 약 1조 2천억 정도이고, 그 중에서 유산균 음료가 1조 1천억, 의약품이 약 500-600억, 건강기능식품이 100억대를 차지하고 있다. 2010년에는, 국내 사료첨가용 생균제 시장규모가 약 500억원으로 추정 되었다(농림수산식품부, 보도

자료 2010.06.16.). 국내 사료용 생균제 업체에는 (주)씨티씨바이오, (주)진바이오텍과 같은 대규모 업체와 다수의 중/소규모 업체가 있으며, 이외에도 농협과 지자체에서 생균제를 생산하여 농가에 보급하고 있다.

[표 9] 국내에서 시판이 가능한 미생물

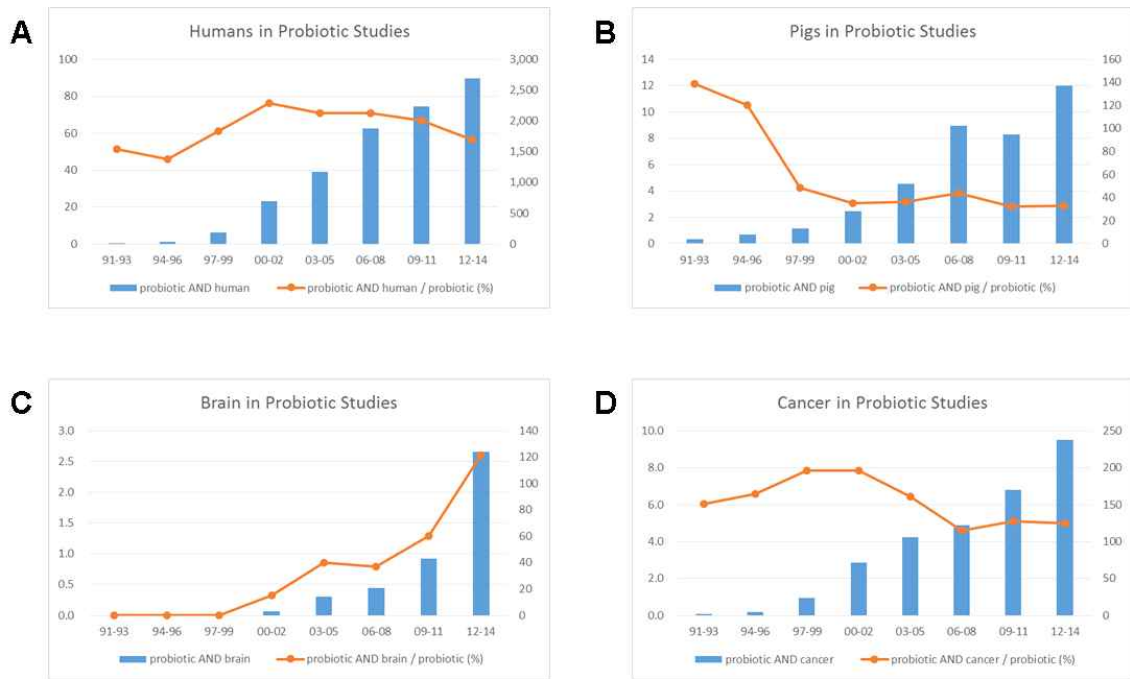
| 구분 | 포함되는 미생물 |
|-------------------------------|--|
| 유익균 <i>Lactobacillus</i> | 락토바실러스 락티스, 락토바실러스 루테리, 락토바실러스 불가리쿠스, 락토바실러스 브레비스, 락토바실러스 살리바리우스, 락토바실러스 애시도필러스, 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 커바투스, 락토바실러스 크리스파투스, 락토바실러스 파라카제, 락토바실러스 퍼멘텀, 락토바실러스 페롤렌스, 락토바실러스 프란타럼, 락토바실러스 헬베티쿠스 |
| 유익균 <i>Bacillus</i> | 바실러스 렌투스, 바실러스 리체니포미스, 바실러스 서브틸리스, 바실러스 세레우스(도요이에 한함), 바실러스 코아글란스, 바실러스 클라우지, 바실러스 폴리프멘티쿠스, 바실러스 푸밀루스 |
| 유익균 <i>Bifidobacterium</i> | 비피도박테리움 롱검, 비피도박테리움 비피덤, 비피도박테리움 서모필럼, 비피도박테리움 인판티스 |
| 유익균 기타 | 로돕슈도모나스 캡슐레이타, 모나스쿠스 퍼퓨리어스, 엔테로코커스 락티스, 엔테로코커스 썬모필러스, 엔테로코커스 웨시엄, 클로스트리디움 브티리컴, 페디오코커스 세레비지아, 페디오코커스 애시디락티시, 페디오코커스 펜토사세우스 |
| 유익곰팡이 | 아스퍼질러스 나이거, 아스퍼질러스 오리제 |
| 유익효모 | 맥주효모, 양조효모, 잔토팜로마이세스 덴드로하우스, 제빵효모, 조사건조효모, 토룰라효모, 피키아 파리노사, 효모배양물 |
| 박테리오파지 Bacteriophage | 살모넬라 갈리나룸 박테리오파지, 살모넬라 엔테라이티디스 박테리오파지, 살모넬라 티피유리움 박테리오파지, 클로스트리디움 퍼프린젠스 박테리오파지 |

※ 생균제와 박테리오파지

국내 연구 논문들이 다수 있기는 하지만, SCI(E)급 논문들과 크게 연구 방향이 다르지 않으므로, 이에 대한 연구동향 분석은 해외 연구동향 분석에서 같이 분석하였다.

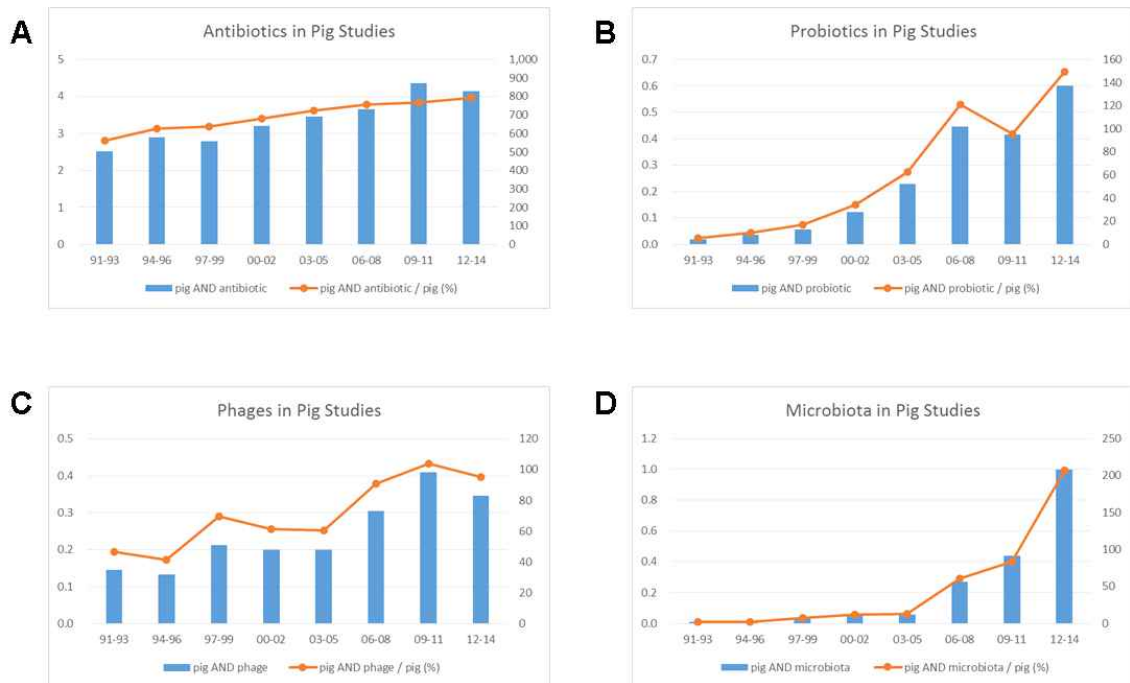
제4절 해외 연구동향

해외 생균제 연구동향을 분석하기 위해, NCBI의 PubMed에 등록된 학술 문헌들의 초록(Abstracts)들을 분석하였다. Probiotic 연구 논문 편수는 90년 이후로 증가세에 있으며, 주로 돼지보다는 사람 관련 연구가 훨씬 많이 되고 있다. 2012-2014년 사이에 출판된 Probiotic 연구 논문은 4,771편인데, 이중에서 2.9%가 돼지 관련 연구이며, 56.5%가 사람관련 연구이다[그림 24]. 이외에도 Probiotic 연구 논문 중, Brain과 Cancer 관련 논문 편수가 지속적으로 증가 추세에 있는 것으로 조사 되었다. 따라서, 뇌 건강이나 암 예방 및 치료 분야에서 생균제의 유익한 효과 또는 역할이 점차 과학적으로 검증되어 가고 있으며, 앞으로 이러한 시장이 생균제 시장에서 중요하게 부각될 것으로 판단된다.



[그림 24] Probiotic 연구 논문에서 사람과 돼지 관련성

※ 가로축은 논문 출판 년도를 타나내고, 왼쪽 세로축은 연구 논문 상대적 비율(%)을 나타내고, 오른쪽 세로축은 연구 논문 편수를 나타냄.



[그림 25] 돼지 연구 논문에서 항생제, 생균제, 박테리오파지, 미생물군집 관련성.

※ 가로축은 논문 출판 년도를 타나내고, 왼쪽 세로축은 연구 논문 상대적 비율(%)을 나타내고, 오른쪽 세로축은 연구 논문 편수를 나타냄.

돼지 연구 논문 중에서, 항생제에 대한 연구는 주춤한 반면, 생균제와 박테리오파지에 대한 연구는 증가하고 있는 추세에 있으며, 시퀀싱 기술의 발달로 Metagenome이나 Microbiota 연구가 최근들어 증가 추세에 있다[그림 25].

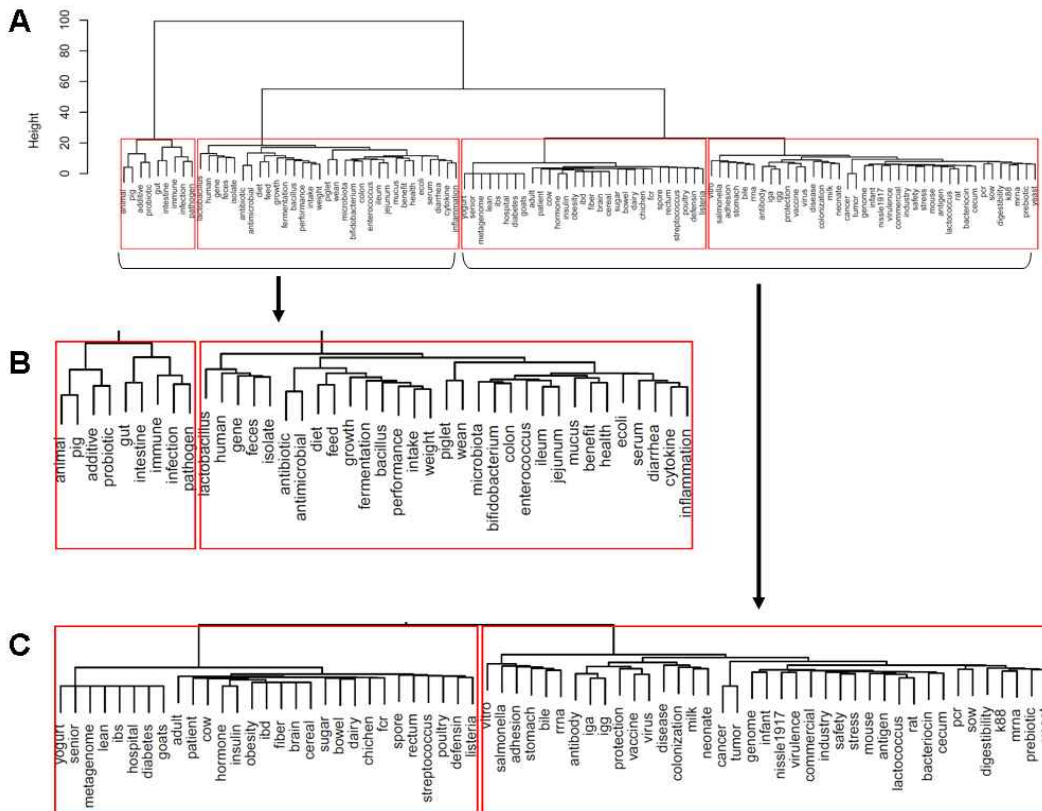
2005년부터 2014년까지 “pig AND probiotic” 키워드로 검색된 356편의 논문을 대상으로 키워드 분석을 실시한 결과, ‘piglet’(자돈) 및 ‘wean’(이유)와 관련된 논문이 각각 181편(50.84%)과 이었고, 94편(26.4%)인데 반해, ‘adult’(성체)와 관련된 논문은 겨우 7편(1.97%)에 불과하였다. 따라서, 양돈 생균제 연구 분야에서는 주로 이유시기를 전후에 있는 자돈에 대한 연구가 주로 이루어지고 있음을 알 수 있다. 또한 ‘pathogen’(병원균)에 대한 연구 논문이 99편(27.81%), ‘antimicrobial’(항균성) 관련 연구 논문이 80편(22.47%)로 돼지 생균제 연구에서 병원성 미생물 제어가 중요한 테마로 연구되고 있음을 알 수 있다.

356편의 돼지 생균제 연구 논문에서 언급된 주요 미생물 그룹 중에서 *Lactobacillus*는 164편(46.07%), *Escherichia*는 90편(25.28%), *Enterococcus*는 51편(14.33%), *Bifidobacterium*은 42편(11.8%), *Salmonella*는 37편(10.39%), Virus는 27편(7.58%), *Lactococcus*는 8편(2.25%), *Streptococcus*는 8편(2.25%), *Listeria*는 6편(1.69%)의 연구 논문에서 다루고 있다. 실제로 축산분야에서 *Lactobacillus*가 많이 사용되고 *Enterococcus*와 *Bifidobacterium*이 적게 사용되는 것과 비슷한 경향이 있다. *Escherichia* 중에는 *Escherichia coli* Nissle1917(15편, 4.21%)이 포함되며 이들을 제외하더라도, 병원성 *Escherichia*에 대한 연구가 양돈분야에서 상당히 중요하게 취급되는 것으로 판단된다. 박테리아의 경우 종(Species) 수준에서 주로 연구가 많이 되고 있는 미생물도 조사를 하였다[표 9]. Prokaryotic Nomenclature Up-to-Date9에 포함된 Prokaryote 13,734 종에 대하여 조사한 결과, 356편의 논문 중에 96종의 Prokaryote들이 발견되었고, 이 중에서 연구가 많이 진행된 종에는 *E. coli*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius* 등이 있다.

[표 10] 돼지 생균제 관련 논문 356편에서 언급된 Bacteria 종류

| Bacterial Species | 논문 (편) | 비중 (%) |
|----------------------------------|--------|--------|
| <i>Escherichia coli</i> | 74 | 20.79 |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 39 | 10.96 |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> | 26 | 7.3 |
| <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | 21 | 5.9 |
| <i>Lactobacillus reuteri</i> | 20 | 5.62 |
| <i>Lactobacillus salivarius</i> | 19 | 5.34 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 14 | 3.93 |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 14 | 3.93 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 13 | 3.65 |
| <i>Lactobacillus casei</i> | 13 | 3.65 |
| <i>Salmonella enterica</i> | 13 | 3.65 |
| <i>Lactobacillus amylovorus</i> | 10 | 2.81 |

356편의 돼지 생균제 연구 논문에서, 빈도수가 높은 단어와 가축 생산성 관련 단어를 모아 109개의 keyword group을 선택하여, 키워드 존재 여부에 따라 Hierarchical Clustering을 실시하여 총 4개의 cluster를 관찰하였다[그림 26].

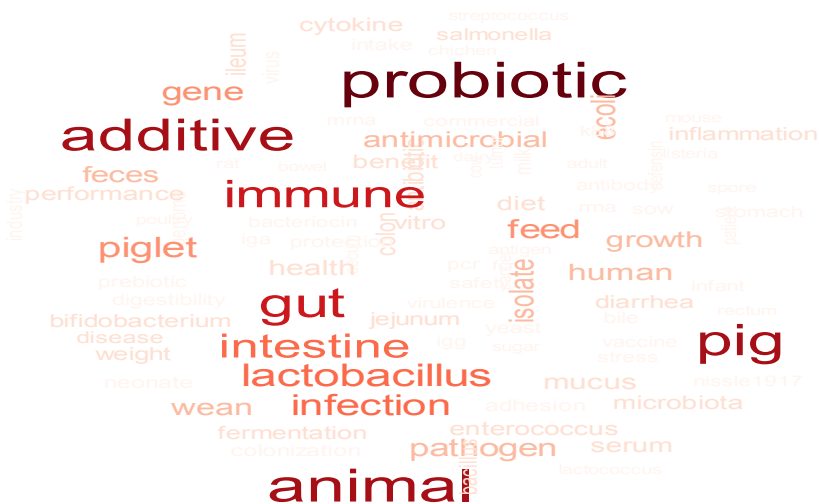


[그림 26] 돼지 생균제 연구 논문에 나타난 키워드 연관성 분석

※ 빈도수가 높은 영역의 cluster들(B)과 빈도수가 낮은 cluster들(C)이 있으며, 각 키워드들은 동일 논문에 동시에 존재할수록 같은 cluster에 묶여서 나타난다.

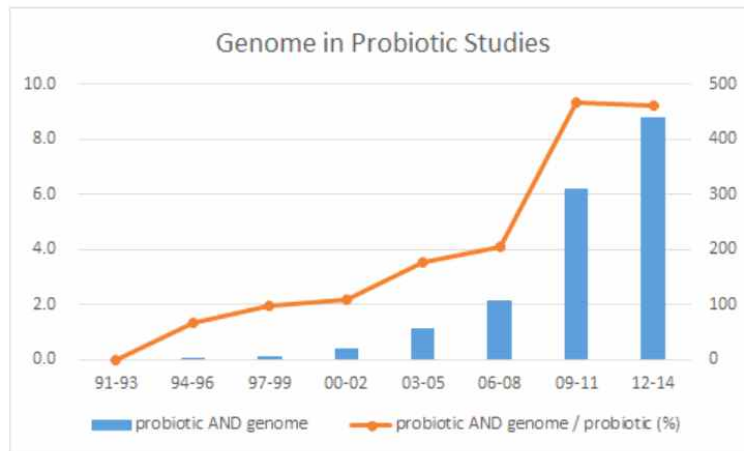
가장 빈도수가 높은 영역의 cluster들[그림26]에 대하여 아래와 같이 해석을 할 수 있다. 양돈('pig') 사료첨가제('additive')중, 생균제('probiotic')는 장관('gut', 'intestine')에서 면역('immune')과 병원균 감염('pathogen', 'infection') 관련 연구에 많이 활용된다. 유산균 genus중 하나인 'Lactobacillus'는 인간('human')을 포함한 여러 동물에서 연구되며 상용 제품으로 활용되고 있고, 주로 분변('feces')에서 분리('isolate')되며, 유전자('gene') 연구도 활발히 진행되고 있다. 사료('feed', 'diet')에서 섭취량('intake')이 체중('weight') 증가로 이어질 때 이를 성장 성적('growth', 'performance')이 좋다고 이야기 하는데, 이런 연구는 주로 바실러스('Bacillus')에서 연구가 많이 되는 것으로 추정된다. 이유 자돈('wean', 'piglet')은 다양한 분야의 연구 테마와 연결 된다. *Lactobacillus* 이외에도 'Enterococcus', 'Bifidobacterium' 미생물이 이유 자돈 연구와 관련이 있는 것으로 추정되며, 장내미생물군집('microbiota') 분석을 위해 소화장관('jejunum', 'ileum', 'colon')에 대한 연구가 최근 많이 이루어지고 있으며, 이유 자돈에서는 염증('inflammation'), 면역물질('cytokine'), 설사('diarrhea') 관련 연구를 통해 대장균('ecoli')과의 연관성이 평가되고 있다.

356편의 돼지 생균제 연구 논문에서, 109개의 keyword group의 빈도수를 이용하여 Word Cloud를 그려보았다 (그림 5). 돼지 연구에서 핵심이 되는 단어들을 살펴보면, 실제 양돈 농가에서 관심을 가지는 개념들이 연결되는 것을 알 수 있다. 예를 들어, 양돈 농가에서는 자돈('piglet')에게 사료 첨가제('additive')를 사용하며, 그 중에서 주로 'Lactobacillus'로 구성된 생균제('Probiotic')를 사용함으로써 감염('infection')성 장관('gut', 'intestine') 질병을 예방하는 사양관리 방법을 적용하고 있다.



[그림 27] 돼지 생균제 연구 논문에 나타난 키워드들의 Word Cloud

※ 글씨의 크기와 색의 진하기는 각 키워드의 빈도수에 비례한다.



[그림 28] Probiotic 연구 논문에 Genome 연구 경향

※ 가로축은 논문 출판 년도를 나타내고, 왼쪽 세로축은 연구 논문 상대적 비율(%)을 나타내고, 오른쪽 세로축은 연구 논문 편수를 나타냄.

Probiotic 분야에서 유전체 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근에 Sequencing 기술이 발전함에 따라, 단순히 미생물의 동정이나 특성 파악을 떠나, 우수한 균과 그렇지 않은 균의 유전체적 차이점을 규명함으로써, 미생물의 유전적 특성을 파악하는 연구가 증가세에 있다 (그림 6). 2012년부터 2014년까지 연구된 Probiotic 연구 논문 중에서 약 9.2%(440편)에 해당되는 연구가 유전체 관련 연구였다. 이와 더불어, NCBI에 등록된 미생물 Complete Genome과 Draft Genome의 수도 점차 증가세에 있다. 유전체 연구를 통해 앞으로 유용한 특성과 연관성이 있는 유전자를 확보한다면, 우수한 미생물을 신속하게 검출할 수 있을 것으로 판단된다.

제5절 향후 전망

앞서 분석된 연구동향 분석 결과를 보면, 여전히 양돈 농가에서는 자돈 관리의 중요성이 높다. 특히 대장균, 살모넬라, 바이러스와 같은 감염성 질병에 노출된 자돈을 얼마나 잘 관리하느냐에 따라, 양돈 농장의 생산성과 수익에 큰 영향을 미친다. 이번 분석에서 주목할 점은 *E. faecium*과 *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. salivarius*가 양돈 분야에서 많은 관심을 받고 있다는 점이다. 이들은 사료공정서에도 등록되어 있는 생균제 미생물로서, 향후 이러한 종을 이용한 생균제를 양돈분야에서 활용하는 연구가 앞으로도 활발히 진행될 것으로 본다. 단순히 체중을 늘려 생산성을 높이는 연구를 떠나, 이제는 동물 복지에도 관심을 가질 필요가 있다. 장내 미생물이 Brain에 영향을 준다는 논문들이 최근 많이 발표되고 있고, 특히 생균제와 Brain과의 관계를 규명하는 연구들이 점점 늘어나고 있는 추세이므로, 앞으로는 가축의 스트레스를 저감할 수 있는

생균제 개발을 통해 농가 생산성 증진과 축산물 품질 개선이 가능할 것으로 보인다. 향후, 유전체 연구가 이러한 다양한 접근 방법에 효율적인 도구로서 활용될 것으로 전망한다.

제6절 참고문헌

1. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, "Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria", FAO Food and Nutrition paper, 85:1-50, 2001.
2. Mary Ellen Sanders, Todd R. Klaenhammer, Arthur C. Ouwehand, Bruno Pot, Eric Johansen, James T. Heimbach, Maria L. Marco, Julia Tennilä, Paul Ross, Charles Franz, Nicolas Pagé, R. David Pridmore, Greg Leyer, Seppo Salminen, Duane Charbonneau, Emma Call, and Irene Lenoir-Wijnkoop. 2014. "Effects of genetic, processing, or product formulation changes on efficacy and safety of probiotics", *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1309, 1-18, 2014.
3. 농림축산식품부, "사료공정서", 농림축산식품부고시 제2014-45호, 2014.4.29.
4. Salminen, S., Deighton, M. and Gorbach, S., "Lactic Acid Bacteria in Health and Disease", *Lactic Acid Bacteria*. 199-225. 1993.
5. Nousiainen, J. and Setälä, J., "Lactic Acid Bacteria as Animal Probiotics", *Lactic Acid Bacteria*. 315-356. 1993.
6. Naidua, A. S., Bidlack, W. R. and Clemensb, R. A., "Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB)", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(1):13-126, 1999.
7. Ljungh, Å. and Wadström, T., "Lactic Acid Bacteria as Probiotics", *Current Issues Intestinal Microbiology*, 7:73-90, 2006.
8. 김은배, 최윤재, "사료 첨가용 유산균 생균제와 생명공학 기술을 이용한 균주 개발", 목운문화재단 창립 10주년 기념논문집, 동물생명공학의 오늘과 내일 (한인규 엮음), 서울대학교출판문화원, 95-110, 2010
9. Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Germany, "Prokaryotic Nomenclature Up-to-Date [February 2015]", <http://www.dsmz.de/bacterial-diversity/prokaryotic-nomenclature-up-to-date>, 2015



VI. 메타유전체를 이용한 농업 미생물 연구동향

VI. 메타유전체를 이용한 농업 미생물 연구동향

경희대학교 배진우 교수

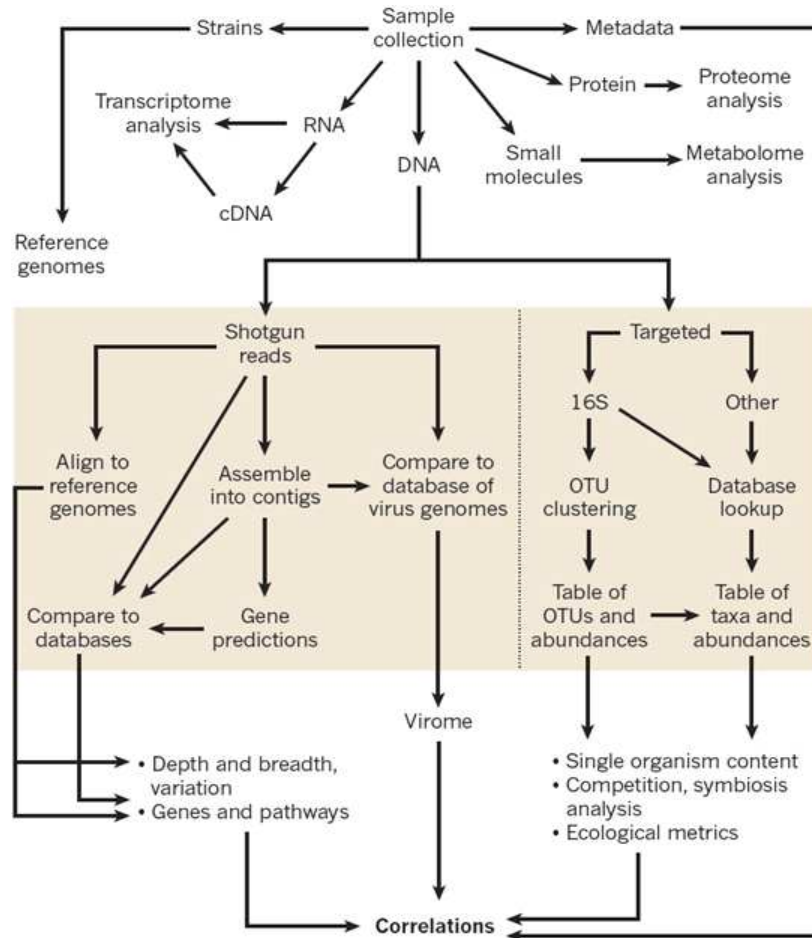
제1장 개요

지구 생물량의 반 이상을 차지하는 미생물은 대기, 토양, 해수, 담수, 식물뿐만 아니라 동물의 장내 등 지구상 곳곳에 서식하는 것으로 알려져 있고 다양한 환경에서 분해자, 공생자, 병원균으로서 역할을 하고 있다. 미생물 연구는 1683년 Leeuwenhoek에 의해 처음 미생물의 생활사가 관찰되고 Schroeter가 처음으로 미생물 순수분리배양에 성공하면서 미생물 연구가 시작되었다. 하지만 실험실의 제한된 조건에서 배양이 가능한 미생물은 극히 일부분에 지나지 않아, 미생물 배양을 통한 연구는 주어진 환경 내 미생물간의 상호작용을 연구하기에 제약이 따름을 인식하게 되었고, 이런 기술적 한계를 뛰어넘을 수 있는 방법이 요구되었다. 1970년대 환경으로부터 미생물 DNA를 직접 뽑아 구성 유전자를 직접 연구하고자 하는 제안이 있는 뒤, Jo Handelsman 교수에 의해 "메타유전체 (metagenome)"라는 단어가 1998년 처음 명시되었다. 이는 "주어진 환경에 존재하는 모든 미생물의 유전체 집합"을 의미하며, 실험 균집의 배양 없이 해당 시료로부터 전유전체를 추출하여 유전체를 분석하는 연구를 "메타유전체학 (metagenomics)"라고 한다. 이 연구는 아직 배양되지 않거나, 배양하기 어려운 시료로부터 미생물 균집 내지 특정 유전자 분포, 새로운 유전자 및 metabolic pathway를 직접적으로 연구할 수 있는 방법으로, 메타유전체 분석은 시료를 직접적으로 시퀀싱하는 방법을 근거로 이루어져, culture에 의한 bias 및 시간과 노력을 줄일 수 있게 되었다.

메타유전체 연구 방법은 크게 consensus sequence에 조각난 유전체를 cloning하여 염기서열을 분석하는 shotgun sequencing과, 많은 양의 짧은 염기서열을 단시간 내에 염기서열 분석할 수 있는 high throughput sequencing 두 가지로 나뉘어진다[그림 29]. 특히 후자의 경우, 일반 Sanger sequencing보다 짧은 염기서열을 sequencing할 수 있지만, 읽을 수 있는 sequence reads 수가 현저히 많고, 또한 cloning의 단계를 거치지 않기 때문에, 시간 소비가 줄어든다는 장점으로 최근 몇 년, 그 사용 목적이 다양해지고 있다.

미생물의 발견 이후, 근 100년동안 세균과 고세균의 동정은 표현형의 차이에 기반하여 왔으나, 분자생물학 기법의 발달에 따라, 1980년 Fox는 16S rRNA 염기서열의 변이 정도를 기준으로 phylogenetic distance 확인하였고 이를 분자 분류 동정 방법으로 제안하였다. 미생물학자들의 미생물 분자분류에 대한 유전적 정보 필요성 인식으로 현재 4,719,540 sequences (SILVA 121 database, 2014.12.16.기준) 이상의 박테리아 16S rRNA

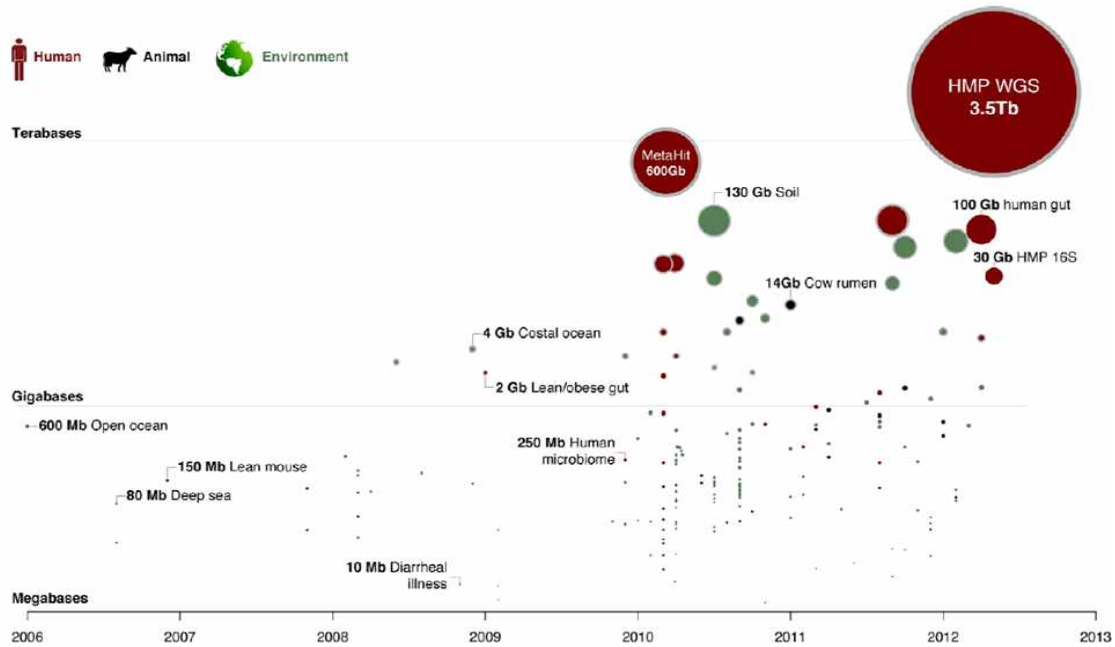
가 등록되어 활발한 정보 이용을 가능케 하였다. 이렇게 축적된 염기서열 데이터를 기반으로 한 메타유전체 분석 방법의 도입은 미생물 생태학의 폭발적인 발전을 이끌어왔으며, 환경 내 미생물 군집의 기능 유추나, 배양불가능한 미생물의 유전자원에 대한 정보를 축적할 수 있는 발판을 제공하였다.



[그림 29] 미생물 메타유전체 분석

※ 출처 Weinstock, 2012 Nature 489:250-256

메타유전체 연구의 발달은 특히 인간의 관심사인 환경 미생물과 동물 장내 미생물 분야에 응용이 되어 좀 더 실용적인 미생물 연구에 관심이 집중되고 있다. 하지만, GOLD database에 따르면 해양 및 인체 미생물에 대한 메타유전체 연구만 전체 프로젝트의 2/3를 차지하고 있어, 여전히 농축식품 산업 등 좀 더 구체적인 목적을 가진 환경에 대한 메타유전체 연구 확대가 필요한 실정이다. 또한 전세계적으로 친환경 농산물에 대한 소비자들의 요구가 증대됨에 따라 화학 비료 및 화학 농약의 사용을 줄이고, 친환경 생물 비료, 생물 농약 등의 사용이 요구되는 바, 본 동향분석 보고서에서는 친환경 농업 분야에서 활용되는 미생물의 메타유전체 연구동향을 살피고, 향후 응용 전망에 대해 살펴보고자 한다.



[그림 30] 메타유전체를 이용한 미생물 군집분석 연구의 timeline

※ 출처 Gevers et al., 2012 PLoS Biology, 10(8): e1001377

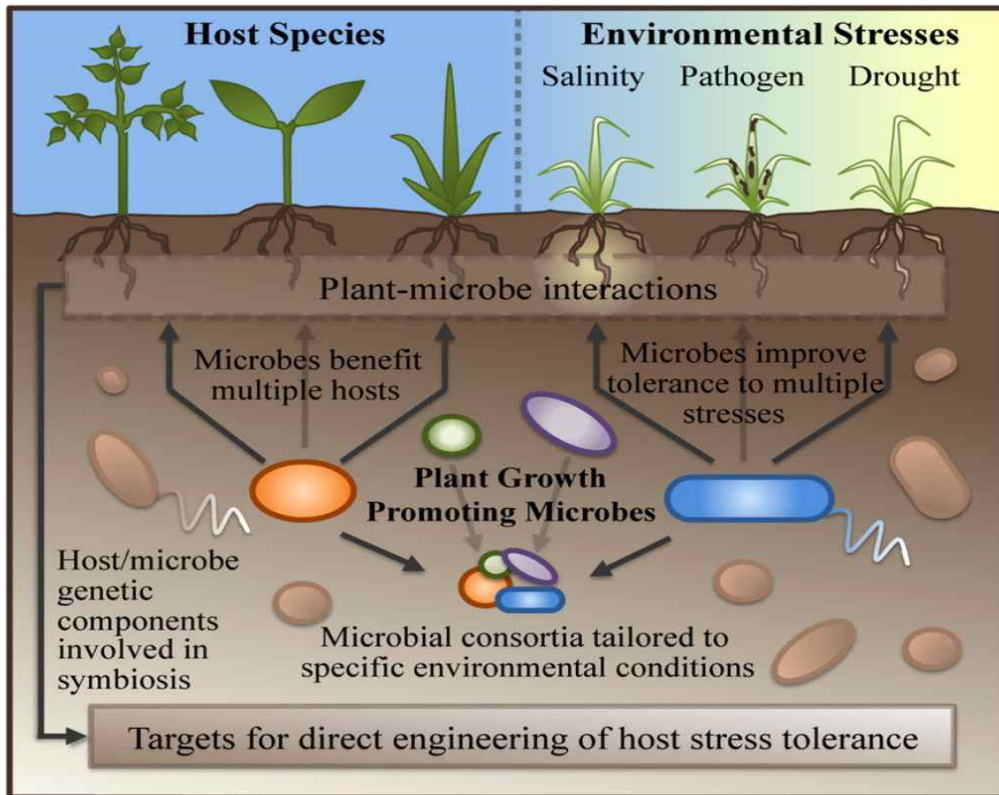
제2절 농업 미생물 메타유전체 연구동향

1. 농업과 미생물 메타유전체 연구

산업화가 진행됨에 따라 어류, 육류, 곡류 등의 식량 공급이 현저하게 늘어나게 되었지만, 급격히 증가한 인구 증가에 따라 더 많은 식량 공급이 요구되었고, 늘어나 수요를 맞추기 위해 농산물의 생산량을 늘리기 위한 화학 농약과 비료 사용의 급증을 가져왔다. 최근 이런 농약, 화학비료의 무분별한 사용으로 산화된 토양의 지력이 약해지고 있다는 보고와 더불어 화학 농약의 토양 잔류에 대한 문제제기가 되고 있어, 화학비료와 농약의 사용을 자제하고 미생물이나 미생물 유래 물질을 이용한 농약, 비료의 사회적 요구도가 높아지고 있는 추세이다.

토양은 농업과 밀접히 연관되어 있는 가장 중요한 요소이다. 토양에는 1그램당 10⁹-10¹⁰의 미생물이 존재하는 것으로 알려져 있으며, 토양에 존재하는 이 미생물 군집은 식물에 필요한 metal ion이나 nitrogen 등의 nutrient cycling을 돕고 병충해 저감에 도움을 제공하여 식물의 성장에 도움을 주는 것으로 알려져 있다[그림 31]. 특히 미생물 농약으로 사용되는 미생물은 농작물의 근권이나 잎에 존재하여 공생 혹은 종속관계에 있는 균주를 후보균으로 사용하는데, 그 이유는 방제제로 사용될 미생물은 농작물에 정착능력이 강해야 다른 병원균과의 서식지 싸움에서 유리해 방제 능력의 밑바탕을 제

공할 수 있기 때문이다. 따라서 토양의 미생물 군집 연구와 토양 내 군집의 역할을 유추할 수 있는 functional metagenomics의 연계 연구가 같이 진행되어야 하고, 그 연구 결과로 기주식물과 미생물의 네트워크 database가 축적되면 농작물의 면역력 및 수확량의 증가를 연계할 수 있는 정보를 제공할 것으로 예측된다.



[그림 31] 농작물 스트레스에 저항성을 부여하는 공생균

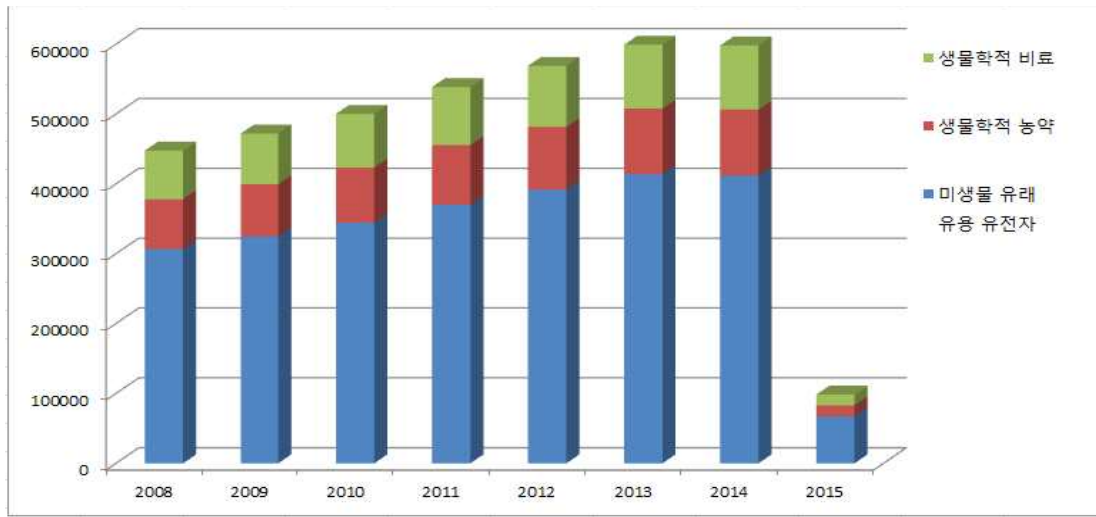
※ 출처: Devin and Susannah, 2014, Front. Microbiol, 5:283

2. 국내외 연구동향 분석

농업 관련 미생물 메타유전체학 연구의 필요성이 대두되고 있는 가운데, 최근 8년간의 연도별 농업 미생물 메타유전체 관련 연구동향 분석결과, 미생물 유래 유용유전자, 생물 농약, 생물 비료 부분의 연구 모두 꾸준히 증가하고 있었다[그림 32]. 생물 농약과 생물 비료 관련 연구는 비슷한 연구량을 보인 반면, 미생물 유래 유용 유전자 연구가 월등히 높은 연구량을 보여 현재 관련 연구의 대부분은 농업에 실질적으로 사용할 수 있는 미생물 유래 유용 유전자 발굴에 초점이 맞추어져 있음을 보였다.

[표 11] 농업 분야별 키워드

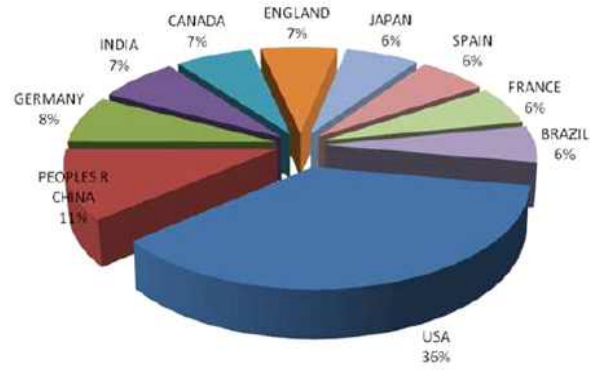
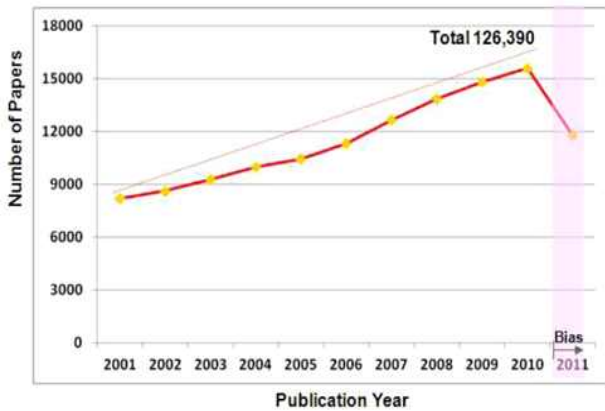
| | |
|---------------|--|
| 대상국가 | 국내, 국외(모든 국가) |
| 논문 DB | web of Science |
| 검색기간 | 2008-2015.03 |
| 검색범위 | 제목 |
| 분류 | 키워드 |
| 공통키워드 | (microb* or bacteri* or fung* or mold or yeast or archa* or prokaryo*) or (metagenom* or "environmental DNA" or "community genom*" or "culture independent") |
| 생물학적 비료 | "microbial fertilizer" or biofertilizer or rhizobacteria or PGPR or stress or resistance or "plant growth" |
| 생물학적 농약 | "biocontrol agent" or biopesticid* or fungicid* or insecticid* |
| 미생물 유래 유용 유전자 | (resistan* or toleran*)or (disease or stress or insecticide or herbicide) or "novel gene" or "novel enzyme" or plant or crop |



[그림 32] 최근 8년간 연도별 농업 미생물 메타유전체 관련 연구동향 분석

가. 국내 연구동향

국내의 미생물 자원연구는 신종 확보 및 발표에 있어서 상위권에 위치하고 있음에도 불구하고 외국에서 개발된 미생물 제제의 수입에 의존하여, 미생물 확보가 자원 활용으로의 산업화 실적은 미흡한 실정이다. 따라서 전세계적으로 농업 미생물의 이용에 대해 관심이 증대에 따라 관련 연구가 증가하고 있음에도 불구하고, 한국 논문 수는 농업 분야 14위 (2.06%)로 농업 선진국에 비해 낮은 수준의 연구력을 보이고 있다.



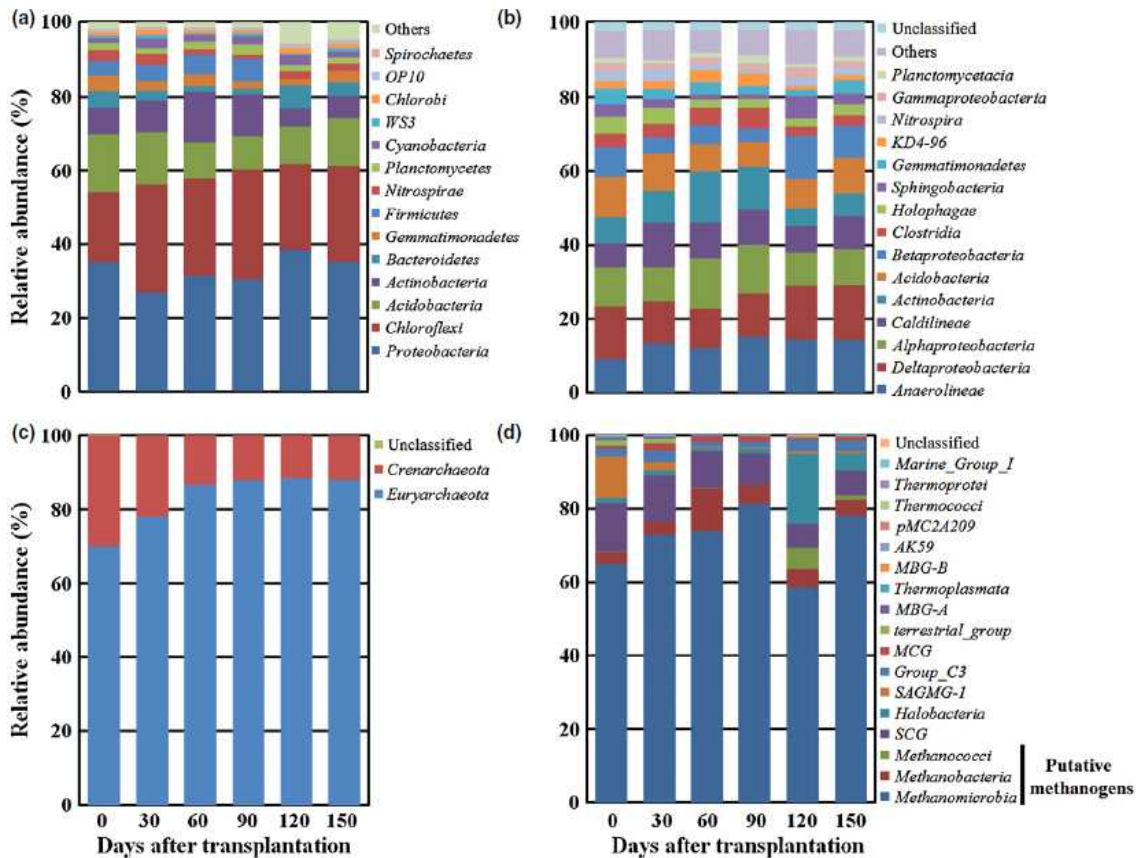
[그림 33] 농업 미생물 관련 논문의 연도별 발표 수 [그림 34] 농업미생물 관련 논문의 최다 배출 국가
 ※ 출처: 농수축산용 미생물산업육성지원센터 설립 방안에 대한 연구, 2011

현재 국내에는 유용 미생물 및 메타유전체 확보와 농업분야의 과학 선진화를 위한 정보 데이터베이스 구축을 위한 전략이 필요한 상황에서 KOBIC이나 NABIC과 같은 국가 생물 연구 정보센터 등의 메타유전체 서열 데이터를 분석할 수 있는 서버 시스템이 구축이 되어 있다. 하지만 메타유전체 데이터의 업로드는 과제성과용으로 한정되어 있고, 서버 시스템을 효율적으로 연구할 수 있는 분석 방법의 정립이나, 국가적 차원에서 데이터베이스 확보에 대한 인식이 부족할 실정이다. 국가 연구 정보 센터 등의 적극적 활용을 위해 메타유전체 분석 방법의 정립 및 체계적인 분석뿐만 아니라 개별 연구실에서도 메타유전체 정보를 효율적으로 다룰 수 있는 서버 시스템의 구축과 이용자들의 인식 변화 등이 이루어져야 한다.

국내에서는 대부분 농작물 관련 미생물의 유전체 분석 및 식물 근권 미생물 군집과 근권에서 분리된 미생물의 신규 유전자에 대한 연구결과가 주를 이루고 있다. 한국생명공학원을 비롯한 많은 연구 기관에서 농업 미생물의 자원과 데이터베이스 확보 그리고 식물과의 상호작용 메카니즘을 이해하기 위해, 식물의 생장을 돕는 근권 미생물의 유전체 염기서열을 분석하고 논문화되고 있다.

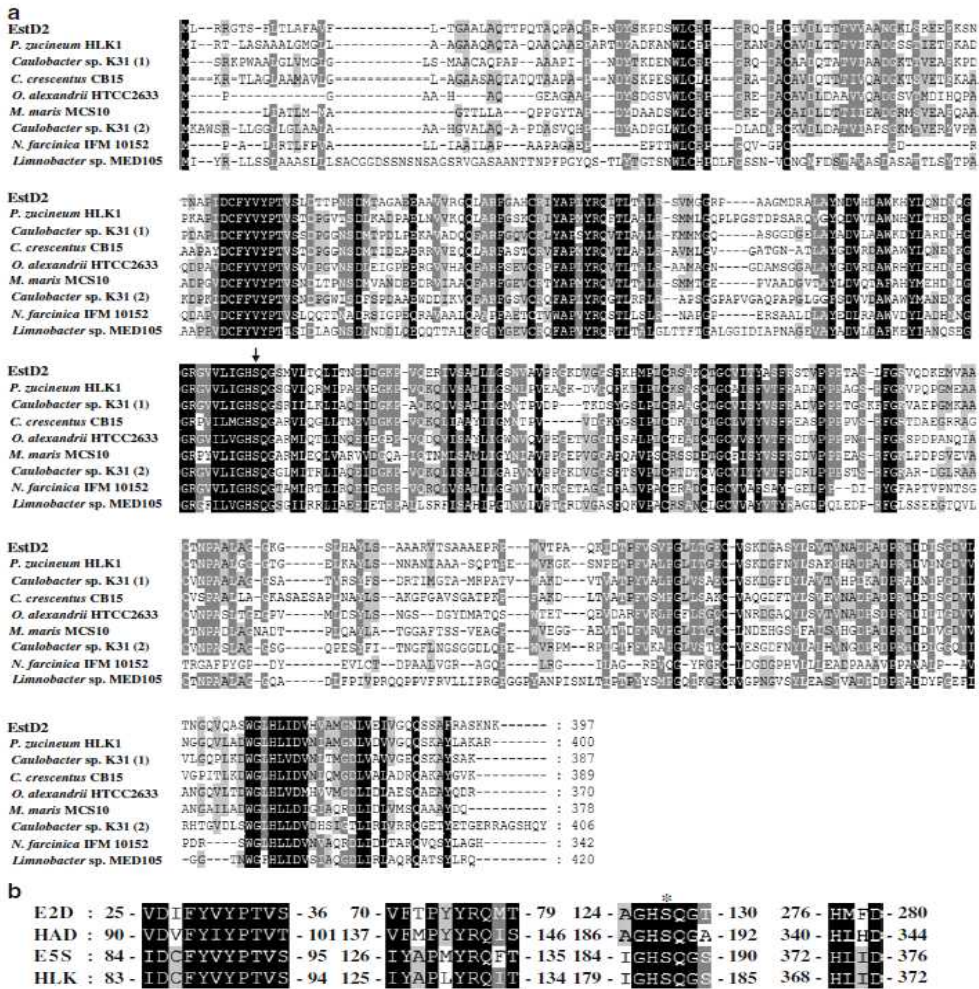
근권 미생물 군집 연구는 주로 주식인 쌀에 대한 근권 메타유전체 연구가 주요 비중을 차지하고 있다 중앙대 전체옥 교수 연구팀은 농번기 동안(6월~10월)의 물이 채워진 논(벼의 품종:남평벼)에서 메타유전체를 추출하여, 박테리아와 고세균의 밀도와 군집의 변화, 그리고 chemical properties를 확인하였다. 박테리아와 고세균은 대부분 90일쯤에 높은 밀도를 보였으며, 시간경과에 따라 군집의 큰 변화를 보이지 않았다. 박테리아는 다양한 종이 분포한 반면, 고세균은 메타노젠이 대부분을 차지하고 있었으며 메타노트로프의 상대적 비율이 적음을 확인하였다. 벼의 transplantation 후에 methane 방출량이 80배 정도 증가하고 mcrA/pmoA ratio를 이용한 메타노젠의 증가는 이 둘 간의

positive correlation이 있음을 보여주고 있다.



[그림 35] 농번기 동안의 박테리아와 고세균의 군집변화

2010년 Appl Microbiol Biotechnol.에 보고된 연구에서 동아대 이선우 교수 연구팀은 고추와 딸기의 근권 토양 샘플에서 메타유전체 라이브러리를 제작, 142,900 fosmid 중 14개의 lipolytic activity를 보이는 clon을 얻었다. 그 중 가장 높은 lipolytic activity를 보이는 lipolytic protein EstD2가 lipolytic enzyme의 novel family의 member임을 phylogenetic analysis를 통해 확인하였고 이 유전자는 Phenyllobacterium zucineum HLK1의 유전자와 가장 높은 homolog를 보임을 확인하였다. lipid는 근권에서 식물과 공생균의 signal molecule로 사용되는데 이 연구팀이 발견한 esterase는 bacteria가 식물과의 interaction을 함을 의미하고, 이 novel esterase의 발견은 근권의 메타유전체는 신규 유전자의 보고임을 의미한다.

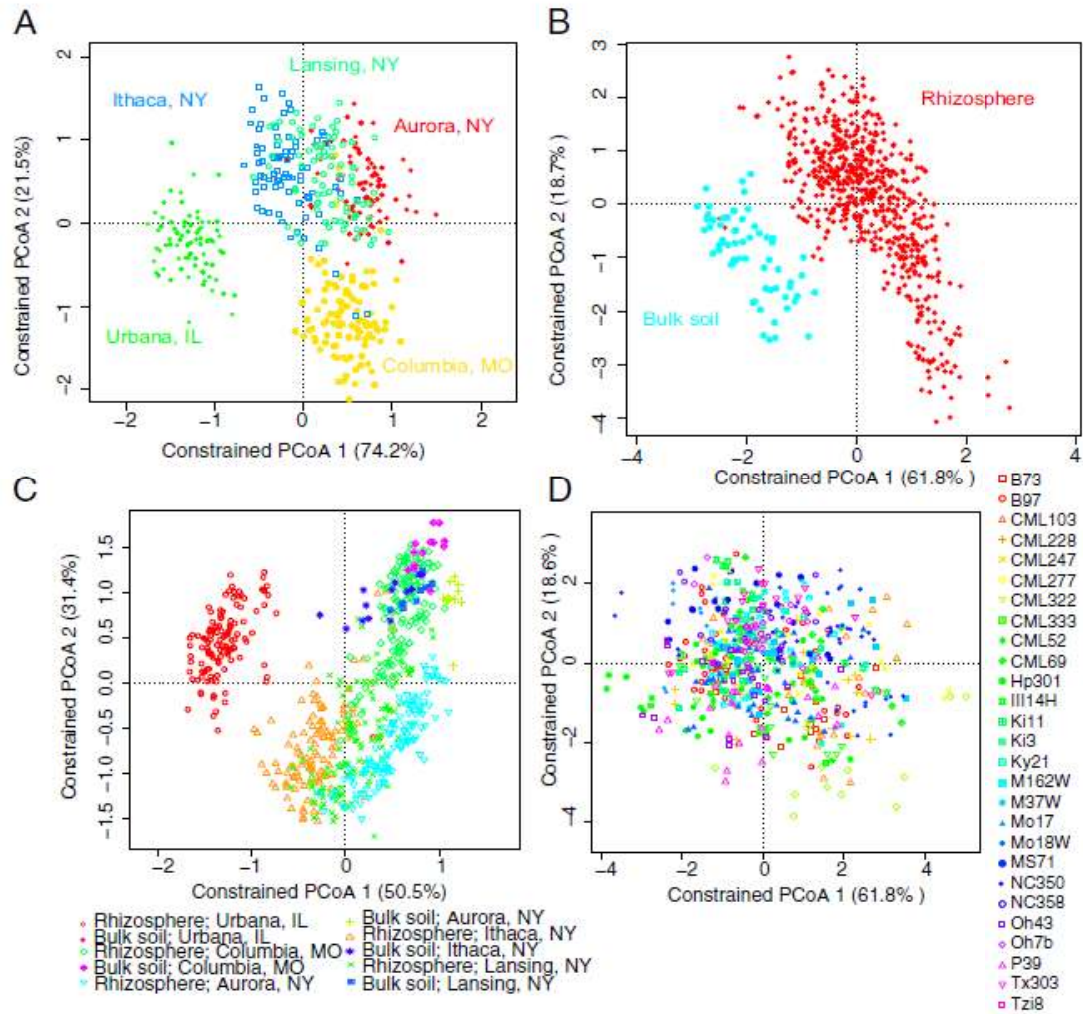


[그림 36] 메타유전체를 이용하여 근권에서 얻은 신규 유전자 EstD2

나. 국외 연구동향

국외에서의 메타유전체 연구는 토양, 식물, 경제 동물의 장내 미생물 분석 등이 농업 전반적인 부분에 활용되고 있다. 대표적인 TerraGenome consortium은 미국, 프랑스, 네덜란드, 영국 과학자들에 기반을 둔 International Soil Metagenome Sequencing consortium으로 다양한 토양 환경의 메타유전체 데이터베이스 확립 및 토양 미생물 군집의 다양성과 기능 연구를 하고 있다.

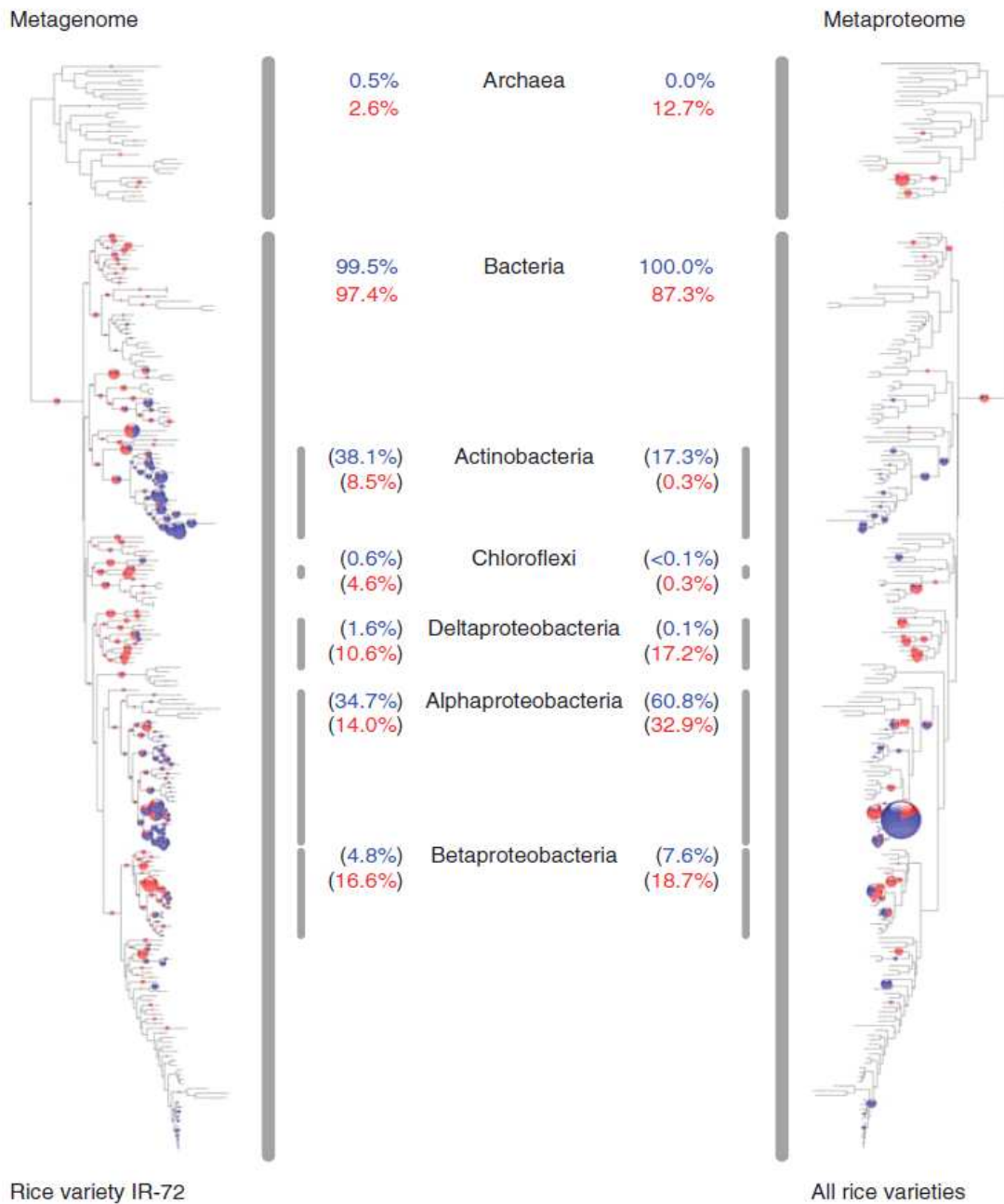
메타유전체를 이용한 농업 미생물 연구는 국내와 마찬가지로 농작물의 근권 미생물 군집 연구가 주를 이루고 있는데 아시아권은 rice field soil인 반면, 아메리카권은 옥수수 근권 미생물 군집을 주로 연구하여, 식문화에 따라 연구대상이 달라짐을 보이고 있다.



[그림 37] 옥수수 근권에 영향을 미치는 요인과 미생물 군집

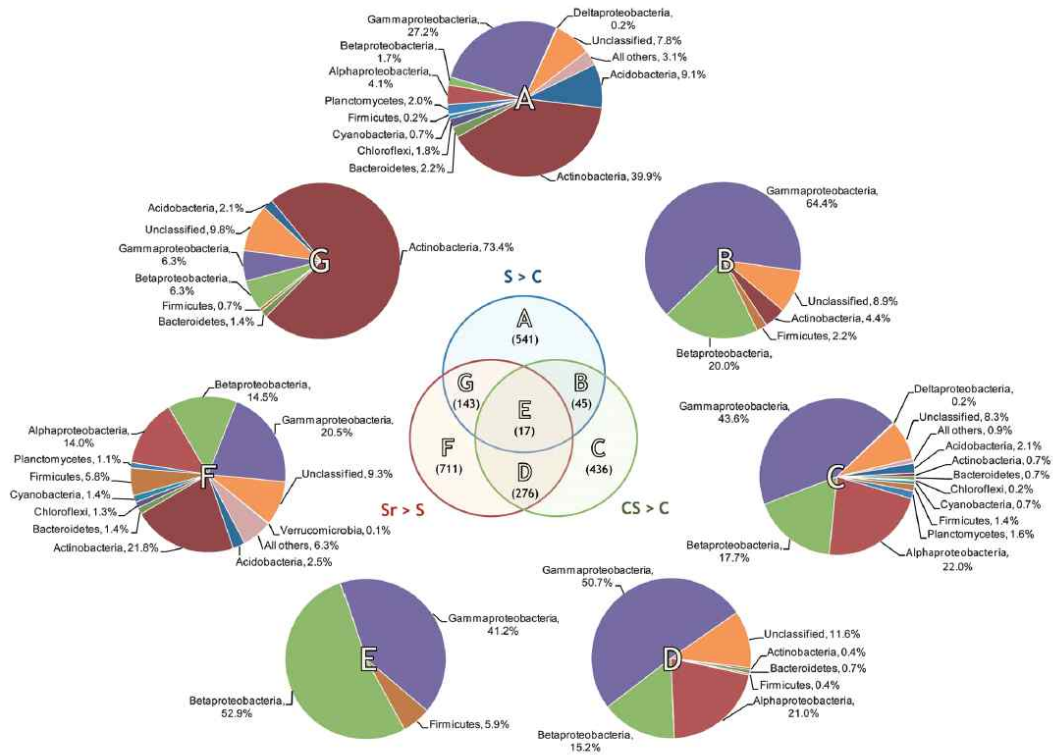
※ 출처: Peiffer et al., 2013, PNAS. 110:6548-6553

하지만 단순히 메타유전체를 이용한 미생물 군집 연구 외에도 메타유전체와 메타단백질체를 연결지어 군집을 분석하는 등의 새로운 방식의 연구방식을 접목한 연구결과도 발표되고 있다.



[그림 38] 메타유전체와 메타단백질체를 이용해 분석한 논에서의 박테리아와 고세균 다양성분석
 ※ 출처: Kneif et al., 2012 ISME J, 6:1378-1390

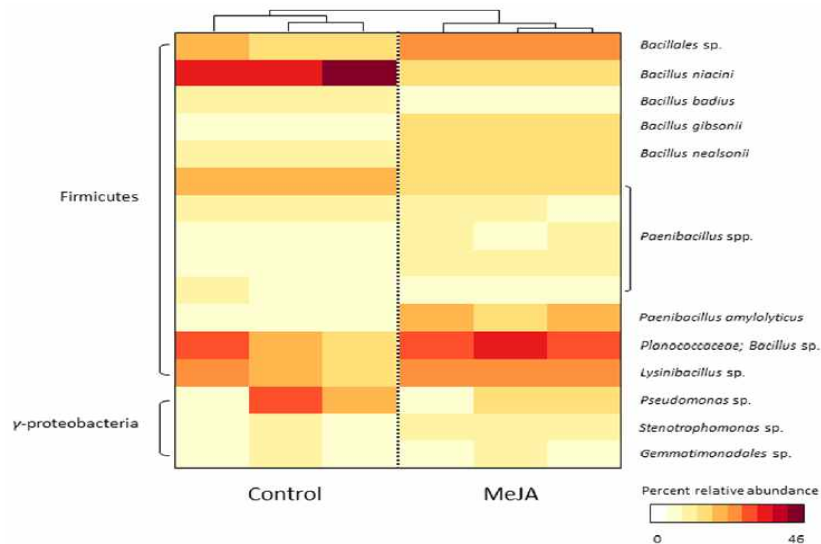
Fungal disease가 제어된 sugar beet의 근권 미생물(박테리아와 고세균) 군집을 phyloChip을 이용하여 확인하여 gamma-Proteobacteria의 member가 nonribosomal peptide synthetases를 이용해 sugar beet의 질병 제어에 관여하는 것을 제시하고 있다. 즉, 근권의 미생물이 fungal root pathogen에 대해 보호 메카니즘이 존재한다는 것을 밝혀 기주식물 근권에서 미생물 농약 후보군을 찾아야 하는 당의성을 제공하였다.



[그림 39] 식물 근권의 미생물 군집

※ 출처: Mendes et al., 2011 SCIENCE 332:1097

그 외에도 곤충을 쫓기 위해 식물이 만들어내는 Jasmonic acid(JA)이 bulk soil의 미생물에 영향을 미치지 않았지만 근권의 미생물 군집을 유의적으로 변화시킨 것으로 보아 이 JA 신호체계가 곤충의 공격뿐만 아니라 병원균에 의해서도 가동되는 것으로 예측된다는 연구 결과가 발표되었다.



[그림 40] Jasmonic acid에 의해서 변화된 근권의 미생물 군집

메타유전체를 이용한 농업 미생물 연구는 국내에서 단순 미생물 균집에 대부분의 초점이 맞춰져 있는 반면, 국외의 연구는 농작물의 단순 미생물 균집부터 시작해서 농작물의 방출물질에 의해서 조절되는 미생물 균집, 미생물 균집에 의해서 제어되는 병충해 관련 연구 등, 연구 결과를 농업에 실질적으로 사용할 수 있는 연구가 진행되고 있다.

제3절 향후 전망

2030년에 농업 등의 1차 산업이 바이오 기술의 중심이 될 것으로 전망하여, 현재 4%대의 농업이 36% 이상의 경제적 기여를 할 것으로 예측한 OECD의 보고서와 더불어 (출처 : “The Bioeconomy to 2030 : Designing a Policy Agenda,”, OECD, 2009), 세계적으로 건강한 삶을 추구하는 소비자들의 증가추세와 함께 국내에도 화학적 농약 및 비료를 사용하지 않은 식품의 소비가 증가하면서 2010년 까지 친환경 농산물의 생산이 증가 추세에 있었다[표 11]. 하지만 화학적 제제에 비해 미생물을 이용한 생물학적 방제는 “원래 거기에 존재”하였던 토착 미생물을 이용하기 때문에 환경에 미치는 영향이 거의 없지만, 가격이 비싸고 방제 효과가 늦고 환경에 따라 효과가 다르게 나타날 수 있다는 단점이 있어 아직은 화학적 제제의 사용이 많은 것이 사실이다. 이 결과는 2010년 이후 친환경 농산물 생산 농가의 수가 줄어든 이유와 연결될 수 있다. 이런 단점을 극복하고, 그 기능을 효과적으로 높이기 위해 미생물의 유전체 정보에 기초하여 미생물의 활용 및 분자생태적 연구를 통한 미생물의 기능 강화가 필요하다.

[표 12] 국내 친환경 농산물 증가 추이

| | | (단위 천톤,호,ha) | | | | | | |
|---------|------------|--------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| 생산량 | 계 | 1,786 | 2,188 | 2,358 | 2,216 | 1,852 | 1,498 | 1,181 |
| | 전체농산물대비(%) | -9.7 | -11.9 | -12.2 | -12 | -10.6 | -9.6 | (7.5p) |
| | 유 기 | 107 | 115 | 109 | 122 | 123 | 168 | 117 |
| | 무농약 | 444 | 554 | 880 | 1,040 | 980 | 842 | 693 |
| | 저농약 | 1,235 | 1,519 | 1,369 | 1,054 | 749 | 488 | 371 |
| 생산 농가 | 계 | 131,460 | 172,553 | 198,891 | 183,918 | 160,628 | 143,083 | 126,746 |
| | 유 기 | 7,507 | 8,460 | 9,403 | 10,790 | 13,376 | 16,733 | 13,957 |
| | 무농약 | 31,540 | 45,089 | 63,653 | 83,136 | 89,765 | 90,325 | 89,992 |
| | 저농약 | 92,413 | 119,004 | 125,835 | 89,992 | 57,487 | 36,025 | 22,797 |
| | 재배 면적 | 계 | 122,882 | 174,107 | 201,688 | 194,006 | 172,672 | 164,289 |
| 전체대비(%) | | -6.9 | -9.9 | -11.6 | -11.3 | -10.2 | -9.5 | -8.3 |
| 유 기 | | 9,739 | 12,033 | 13,343 | 15,518 | 19,311 | 25,467 | 21,206 |
| 무농약 | | 27,288 | 42,938 | 71,039 | 94,533 | 95,253 | 101,657 | 98,237 |
| 저농약 | | 85,865 | 119,136 | 117,306 | 83,955 | 58,108 | 37,165 | 22,208 |

※ 자료 : 농림축산식품부 2014

현재 국내의 메타유전체를 이용한 농업 미생물 연구는 보통 근권 미생물 군집을 확인하거나, 신규 유전자를 찾는 연구를 분리하여 진행되고 있다. 지금까지 연구된 자료에 의하면 근권 미생물은 기주 식물과의 복합적 interaction을 통해 식물의 면역력을 높이고 성장률을 높이는 것으로 보고되고 있다. 국내에서도 농산물의 고유 근권 미생물을 이용한 유전체 분석 및 분자생태학적 기능을 병행하여 연구한다면, 유용 미생물 자원화에 큰 도움을 줄 것으로 예측된다.

제4절 참고문헌

1. Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari RR, Smith DC, D'Hondt S. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109:16213-16216, 2012.
2. Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, Clardy J, Goodman RM. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. *Chem Biol*, 5: R245 - R249, 1998.
3. Fox GE, Stackebrandt E, Hespell RB, Gibson J, Maniloff J, Dyer TA, Wolfe RS, Balch WE, Tanner RS, Magrum LJ, Zablen LB, Blakemore R, Gupta R, Bonen L, Lewis BJ, Stahl DA, Luehrsen KR, Chen KN, Woese CR. The phylogeny of prokaryotes, *Science*, 25;209:457-463, 1980.
4. Vogel TM, Simonet P, Jansson JK, Hirsch PR, Tiedje JM, van Elsas JD, Bailey MJ, Nalin R, Philippot L. TerraGenome: a consortium for the sequencing of a soil metagenome, *Nature Reviews Microbiology*, 7:252, 2009.
5. Coleman-Derr D and Tringe SG. Building the crops of tomorrow: advantages of symbiont-based approaches to improving abiotic stress tolerance, *Front Microbiol*, 5:283, 2014.
6. Lee GW, Lee KJ, Chae JC. Genome sequence of *Herbaspirillum* sp. strain GW103, a plant growth-promoting bacterium, *J Bacteriol*, 194:4150, 2012.
7. Kim BK, Jung MY, Yu DS, Park SJ, Oh TK, Rhee SK, Kim JF. Genome sequence of an ammonia-oxidizing soil archaeon, "*Candidatus Nitrosoarchaeum koreensis*" MY1. *J Bacteriol*, 193:5539-5540, 2011.
8. Lee HJ, Kim SY, Kim PJ, Madsen EL, Jeon CO. Methane emission and dynamics

of methanotrophic and methanogenic communities in a flooded rice field ecosystem, *FEMS Microbiol Ecol*, 88:195-212, 2014.

9. Lee MH, Hong KS, Malhotra S, Park JH, Hwang EC, Choi HK, Kim YS, Tao W, Lee SW. A new esterase EstD2 isolated from plant rhizosphere soil metagenome, *Appl Microbiol Biotechnol*. 88:1125-34, 2010.
10. Knief C, Delmotte N, Chaffron S, Stark M, Innerebner G, Wassmann R, von Mering C, Vorholt JA. Metaproteogenomic analysis of microbial communities in the phyllosphere and rhizosphere of rice, *ISME J*, 6:1378-1390, 2012.
11. Mendes RL, Kruijt M, de Bruijn I, Dekkers E, van der Voort M, Schneider JH, Piceno YM, DeSantis TZ, Andersen GL, Bakker PA, Raaijmakers JM. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria, *Science*, 332:1097-1100, 2011.
12. Carvalhais LC, Dennis PG, Badri DV, Tyson GW, Vivanco JM, Schenk PM. Activation of the Jasmonic Acid Plant Defence Pathway Alters the Composition of Rhizosphere Bacterial Communities, *PLoS One*, 8(2):e56457, 2013.



VII. 진핵미생물의 참조유전체 연구동향

VII. 진핵미생물의 참조유전체 연구동향

중앙대학교 강현아 교수

제1절 서론

유전체학(genomics)이란 생물체의 염색체를 이루고 있는 전체 게놈(genome) DNA를 의미하는 유전체를 연구하는 학문 분야로 재조합 DNA 응용, DNA 시퀀싱 방법, 게놈 구조 및 기능 분석, 시퀀스 조립에 대한 생물정보학 등을 포함하는 유전학의 한 분야이다. 유전체학 기반 연구는 생명체의 미세 규모의 유전체 매핑 및 생명체의 전체 DNA 시퀀스를 결정하는 것과 게놈 내의 잡종강세(heterosis), 유전적 상위(epistasis), 다면발현(pleiotropy), 게놈 내 대립형질(alleles)과 위치(loci) 사이의 상호 작용과 같은 생명현상을 규명하는데 유용한 정보를 제공한다. 이다. 현재 주된 유전체 분석 기술 중 가장 기본이 되는 DNA 시퀀싱 분석 기술은 1975년에 Edward Sanger에 의해 생겨 시퀀싱 기법(Sanger sequencing, 체인 종료법)으로 전체 DNA 시퀀스 정보를 알아낼 수 있는 기술 개발의 시작이었다. 또한 1983년 Kary Mullis에 의해 적은 양의 DNA를 가지고 동일한 부분의 DNA의 양을 증폭시킬 수 있는 Polymerase Chain Reaction (PCR)의 발명으로 유전체 분석 연구는 더욱 가속화되었고, 1990년 인간의 전체 DNA 정보를 알기 위한 Human Genome Project가 시작되었다(Lander et al, 2001).

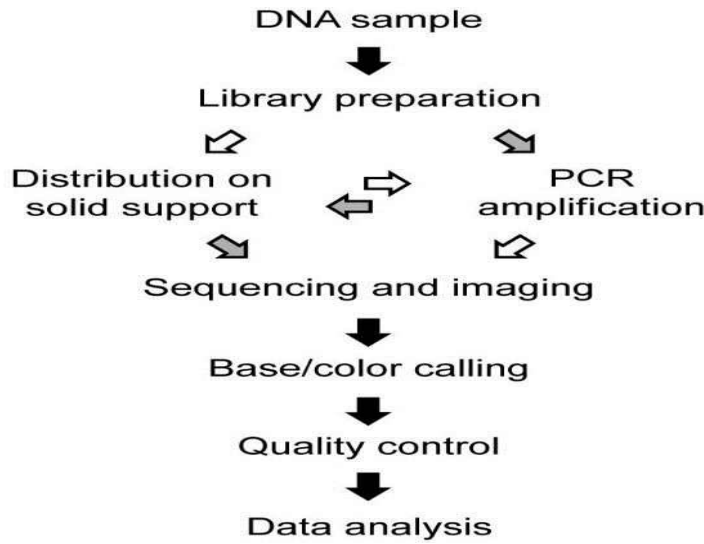
이러한 유전체 시퀀싱의 노력은 대표성을 지니는 종들의 유전자들의 세트를 디지털 핵산 시퀀스 데이터 베이스로 구축하는 참조 유전체 연구(reference genome)의 시초라고 할 수 있다. 한 생물종의 참조유전체 데이터베이스 구축은 DNA 시퀀싱 비용이 떨어지고 새로운 전체 게놈 시퀀싱 기술이 보급 되면서 늘어나는 종 내의 새로운 전체 게놈 시퀀싱이 이루어졌을 때 참조 유전체를 위한 시퀀싱을 보다 훨씬 더 빠르고 저비용으로 게놈 분석을 할 수 있게 해 주는데 의미가 있다(Wheeler et al, 2008). 생물체의 전체 DNA 게놈에 대한 정보 분석이 이루어져 유전체의 정보를 획득한 후에는 이를 이용하여 생명현상에 대하여 포괄적으로 이해 할 수 있는 RNA의 전사 수준을 분석하는 전사체학(transcriptomics), 전사체를 이용하여 단백질로 발현되는 수준에 대해 분석하는 단백질체학(proteomics), 생명현상의 복합적 상호작용에 의해 생산 되는 물질을 분석하는 대사체학(metabolomics) 등과 같은 다양한 오믹스(Omics) 연구를 수행할 수 있다(Tyers and Mann, 2003; Rochfort, 2005; Wang et al, 2009).

1996년 진핵생물로는 최초로 전통 효모종인 *Saccharomyces cerevisiae* 유전체 서열분석이 완료 되었다(Goffeau et al, 1996). 이에 따라 참조 유전체 정보를 이용하여 오래 전부터 인류에게 밀접하게 이용되는 효모인 와인 효모, 사케 효모, 빵 효모 등 다양한 종

의 시퀀싱이 이루어 졌으며 균주간의 차이를 분석하여 각 제품의 품질 제어를 가능하게 하였다(Salinas et al, 2010; Akao et al, 2011; Noguchi et al, 2012). 이와 같은 추세에 따라 본 동향 분석 보고서에서는 유전체 분석의 방법에 대한 발달 과정과 현주소에 대해서 분석하며 이를 이용한 진핵 미생물인 효모 및 사상성 곰팡이 관련 유전체 개발 동향에 대하여 논하고자 한다.

제2절 유전체 연구의 역사와 현주소

DNA 시퀀싱은 지난 10년간 세계적으로 학술적 연구뿐 아니라 임상 연구 분야에서 기하급수적으로 이용되고 있는 유전체 분석법이다. 최초의 주된 진출은 1990년도에 시작된 인간 게놈 프로젝트이며 이는 30억 달러의 비용과 13년의 긴 시간을 소요하여 완성되었다. 이 프로젝트에서 사용된 기술은 1세대 시퀀싱 방법으로 알려져 있는 1975년에 개발된 생거 시퀀싱이다. 첫 번째 인간 게놈 시퀀스의 완료 이후로 더 빠르고 경제적인 시퀀싱 기술 방법의 요구가 증대 되었는데 이러한 요구에 따라 2세대 시퀀싱 기술(Second-generation sequencing: SGS)과 차세대 시퀀싱 기술(next-generation sequencing: NGS)이 고안되었다(Grada and Weinbrecht, 2013). SGS 기술은 대표적으로 3가지 시스템이 있다. 첫 번째 시스템은 2005년 개발된 454 Life Sciences(현재 Roche사가 인수)의 Genome Sequencer였다. 두 번째로 고안된 시스템인 Genome Analyzer는 2006년 Solexa사에 의해 고안되었고 Illumina 사에서 기술력을 향상 시켰다. 세 번째로 고안된 시스템은 2007년 Applied Biosystems사가 개발한 SOLiD 시스템이다. SGS의 단계는 DNA 샘플을 라이브러리화 한 후 DNA 증폭, 시퀀싱, 퀄리티 컨트롤(QC) 및 데이터 분석의 단계를 거치는 데, Illumina 시스템에서는 solid support에 고정 후 PCR 증폭을 하는 방식을 사용하지만 Roche 454나 SOLiD 시스템에서는 PCR 증폭 후 solid support에 고정하여 시퀀싱이 이루어진다[그림 41]. 이러한 SGS 기술들은 1세대 시퀀싱 방법에 비해 에러율이 높고 read 길이가 짧아(100~200bp) 데이터 분석에 어려움이 있지만 비용이 경제적이며 빠르다는 장점을 가지고 있다. 이러한 SGS 기술의 상대적으로 높은 에러율은 시퀀싱 read 수를 늘려 커버리지(coverage)를 높이는 방법으로 보완하며 짧은 read 길이에 따른 DNA 시퀀스 alignment의 어려움을 long-mate-paired-end 시퀀싱으로 보완하여 게놈 시퀀싱을 완료시킨다.



[그림 41] 시퀀싱 실험의 단계

※ 검은선은 SGS에서 공통적인 실험 방법을 나타내며 회색화살표는 Roche 454와 SOLiD 시스템에서 사용되는 단계, 흰색 화살표는 Illumina 시스템에서 사용되는 단계를 나타낸다.

SGS 기법에서 제기되는 문제점들, 즉 DNA 시퀀스 alignment의 어려움과 PCR 증폭이 되지 않는 부분은 시퀀싱이 잘 되지 않는다는 점을 보완한 NGS 방법이 개발되었는데 이는 2011년에 상용화된 Pacific Biosciences사의 Single molecule real time (SMRT) 시퀀싱이 대표적이다. 2세대 시퀀싱과 달리 SMRT는 형광표기가 인산기에 되어 있어 합성 시 떨어져 나간 인산기의 형광표지를 인지하여 신호를 탐지한다. 1, 2세대 시퀀싱과 비교하여 1회 반응 시 에러율은 매우 높으나 이는 높은 시퀀싱 커버리지로 보완하며, 비용적인 면에서 SGS 보다 경제적이고 긴 read 길이로 인한 alignment 분석이 용이하다(표12). 이러한 NGS 기술의 발달로 인해 다양한 생명체들의 유전체 분석이 저비용으로 활발하게 이루어지고 있다.

[표 13] 2세대 및 3세대 NGS 플랫폼 비교

| Instrument | Read length (nucleotides) | No. of reads ^a | Output (Gb) ^a | No. of samples ^{a, b} | Runtime | Advantages | Disadvantages |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------|----------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| Roche 454 GS FLX+ | 700 ^e | 1×10 ⁶ | 0.7 | 192 ^d | 23 h | Long reads, short run time | Homopolymer errors, expensive |
| Illumina HiSeq 2000 | 100 ^e | 3×10 ⁹ | 600 | 384 | 11 days ^f | High yield | No. of index tags limiting |
| Life Technologies SOLiD 5500xl | 75 ^g | 1.5×10 ⁹ | 180 | 1152 | 14 days ^f | Inherent error correction | Short reads ^g |
| Roche 454 GS Junior | 400 ^e | 1×10 ⁵ | 0.035 | 132 | 9 h | Long reads | Homopolymer errors, expensive |
| Illumina MiSeq | 150 | 5×10 ⁶ | 1.5 | 96 | 27 h | Short run time, ease of use | Expensive per base |
| Ion Torrent PGM Ion 316 chip | > 100 ^h | 1×10 ⁶ | 0.1 | 16 | 2 h | Short run time, low reagent cost | Not well evaluated |
| Helicos BioSciences HeliScope | 35 ^h | 1×10 ⁹ | 35 | 4800 | 8 days | SMS, sequences RNA | Short reads, high error rate |
| Pacific Biosciences PacBio RS | > 1,000 ^h | 1×10 ⁵ | 0.1 | 1 | 90 min | SMS, long reads, short run time | High error rate, low yield |

Most of this information is subject to rapid change, and the aim of this table is not to present absolute numbers but to provide a general comparison between different sequencing systems.

^a Numbers calculated for two flow cells on HiSeq2000 and SOLiD 5500xl.

^b Calculated as no. of index tags (provided by the sequencing company) × no. of divisions on solid support.

^c Average for single-end sequencing, paired-end reads are shorter.

^d No. of reads decreases when the PicoTiterPlate is divided.

^e 36 nucleotides for mate-pair reads.

^f Run time depends on the read length, and on whether one or two flow cells are used.

^g Second read in paired-end sequencing is limited to 35 nucleotides, and mate pair reads to 60 nucleotides.

^h Average.

SMS = single molecule sequencing.

제3절 진핵 미생물 참조 유전체 연구동향

1. 효모 유전체 연구 개발 동향

효모의 유전체 연구는 1996년 진핵 생물로서 가장 먼저 서열 분석이 완료되었다. 전통 효모 *S. cerevisiae*(Goffeau et al, 1996)는 아주 오랜 시간 동안 식품산업인 와인, 빵, 양조 때 사용되는 진핵 미생물이다. 전통 효모 균주에서 대표적 데이터베이스인 *S. cerevisiae* Genome Database (SGD; <http://www.yeastgenome.org/>)는 상업적 균주에서부터 실험실 균주, 그리고 야생에서 분리된 균주들을 아우르는 다양한 세트의 *S. cerevisiae* 유전체 서열과 분석에 관한 총체적인 정보를 제공하며 현재까지도 실험실 및 다양한 산업에서 이용되는 여러 *S. cerevisiae*의 유전체 분석이 참조 유전체를 참조하여 다양한 방향으로 분석 연구되고 있다(Otero et al, 2010).

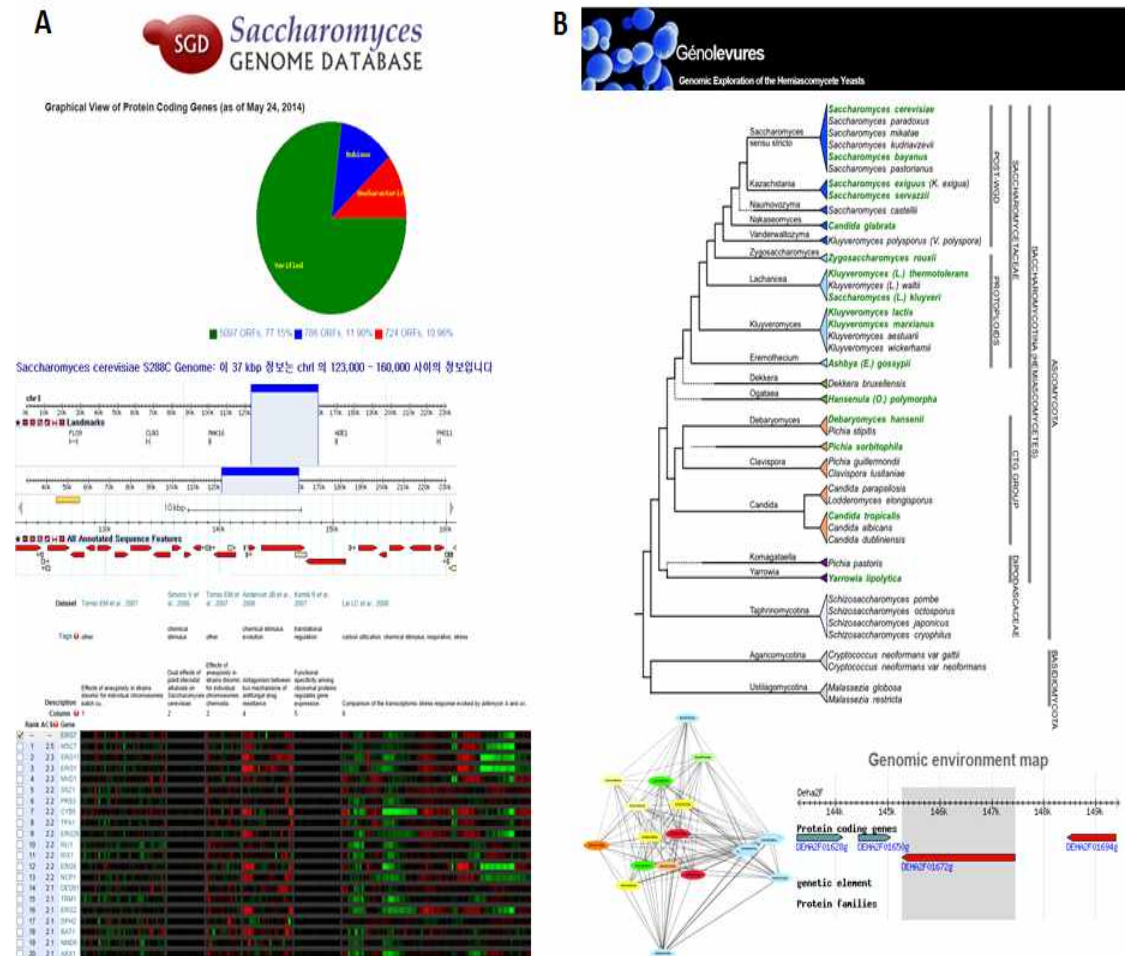
전통 효모 균주 뿐 아니라 산업적, 의학적으로 유용한 여러 비전통효모 (non-Saccharomyces) 균주들도 유전체 분석 연구가 활발하게 진행되어 왔다. 대표적으로 인체 기회 감염성 균주인 *Candida*속과 *Cryptococcus neoformans*, 분열 효모 *Schizosaccharomyces pombe*(PomBase; <http://www.pombase.org/>), 메탄올자화 효모 *Pichia pastoris*(*Pichia pastoris* Genome Browser; <http://www.pichiagenome.org/>)등에 대한 공공 데이터베이스가 구축되어 있으며, 유전체 염기서열 정보 확보 후 비교 분석, 그리고 이를 기반으로 하는 전사체, 단백질체, 대사체 등의 오믹스 분석 연구가 활발하게 수행되고 있다(Sazer, 2006; Liang et al, 2012; Engel and Cherry, 2013; Breunig et al, 2014; Janbon et al, 2014).

[표 14] 대표적인 효모의 유전체 서열 데이터베이스

| Species | Genome Database | URL |
|----------------------------------|---------------------------------------|---|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Saccharomyces Genome Database (SGD) | http://www.yeastgenome.org/ |
| <i>Candida</i> spp. | <i>Candida</i> Genome Database (CGD) | http://www.candidagenome.org/ |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | Broad Institute | http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/cryptococcus_neoformans/ |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i> | PomBase | http://www.pombase.org/ |
| <i>Pichia pastoris</i> | <i>Pichia pastoris</i> Genome Browser | http://www.pichiagenome.org/ |

특히 반자낭 균류(hemiascomycetous yeast) 18여종에 대한 비교 유전체 분석 연구에 대한 도구와 정보를 제공하는 The Génolevures online database (URL: <http://www.genolevures.org>)는 유전체 서열의 염색체 요소뿐만 아니라 이들 효모 균주들의 진화적 유연관계에 관한 정보를 제공한다(Martin et al, 2011).

[그림 42] 대표적인 효모의 유전체 서열 데이터베이스



* A : Saccharomyces Genome Database, B : Génolevures online database

최근에는 *S. cerevisiae* S288c 균주를 참조유전체로 하여 여러 산업용 사카로마이세스 계통의 효모 균주들의 유전체 분석 및 유전체 비교 분석이 수행되어 왔다. 일반적으로 이들 균주간의 뚜렷한 차이는 Ty elements의 수와 분포 패턴, single-nucleotide polymorphisms (SNPs), 특정 균주만 지니고 있는 단백질의 유전자 존재 및 일부 유전자 구조적 변이성에 기인한 다양성에 있다(Borneman et al, 2008). *S. cerevisiae* 참조 유전체 서열과 분석에 관한 총체적인 정보는 SGD에서 제공하고 있으며, 영국의 Sanger institute에서 수행하고 있는 Saccharomyces Genome Resequencing Project (<http://www.sanger.ac.uk/Teams/Team71/durbin/sgrp/>)를 통해 현재로는 *S. cerevisiae* 37 균주와 *S. paradoxus* 27 균주에 대한 대규모 유전체 비교 분석 정보가 확보되어 있다. 더 많은 비교 유전체 분석 결과가 축적 될수록 특정 형질에 연계된 유전적 변이를 규명하는 것이 가속화 될 것으로 기대되고 있다.

[표 15] Génolevures 데이터베이스에서 이용 가능한 반자낭 균류들(hemiascomycetous yeasts)의 유전체 정보

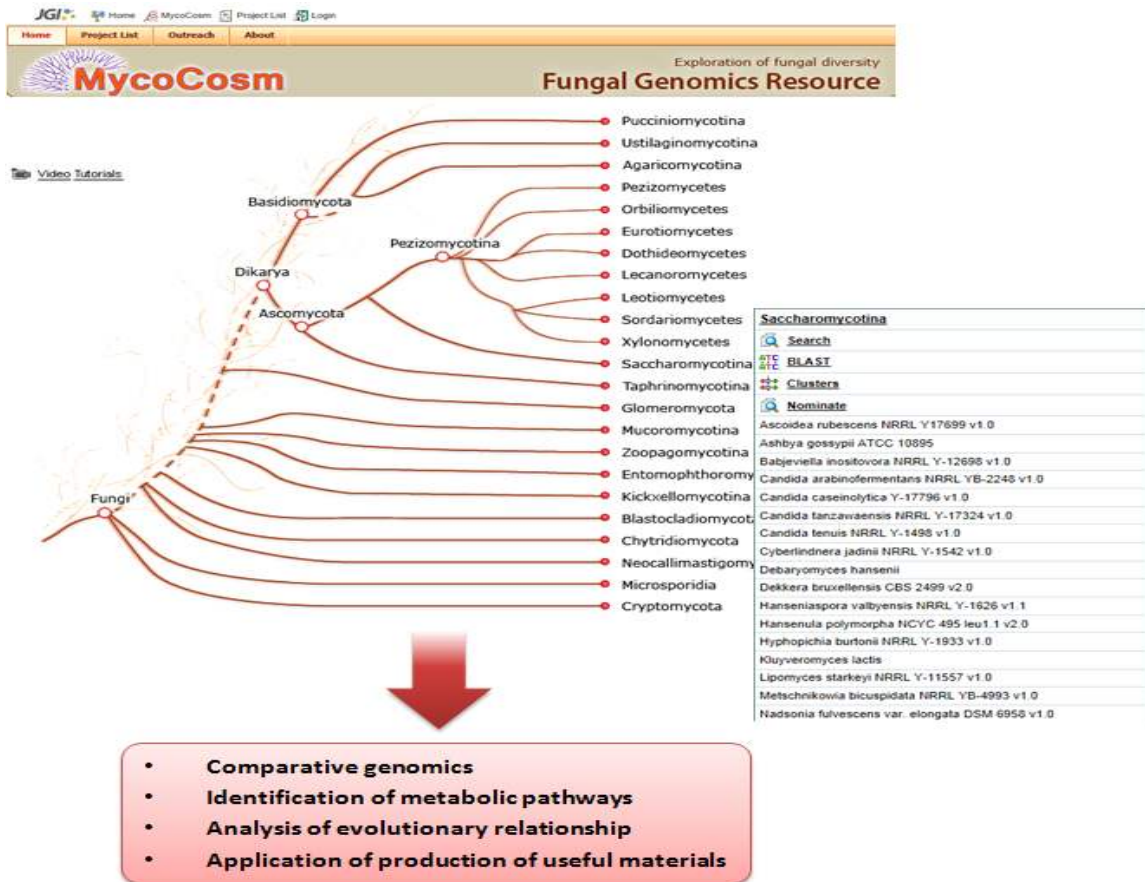
| Species | Assembly | Genome size (Mb) | Number of protein coding genes in: | | | | |
|---|----------|------------------|------------------------------------|------------------|----------------|--------------|---------------|
| | | | Predicted proteome | Protein families | Synteny blocks | Gene fusions | Tandem arrays |
| <i>Candida glabrata</i> | Complete | 12.3 | 5210 | 4869 | 4850 | 152 | 120 |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>hansenii</i> | Complete | 12.2 | 6286 | 5213 | 1155 | 194 | 344 |
| <i>Kluyveromyces lactis</i> var. <i>lactis</i> | Complete | 10.6 | 5088 | 4810 | 4844 | 150 | 96 |
| <i>Kluyveromyces thermotolerans</i> | Complete | 10.4 | 5105 | 4898 | 4937 | | 117 |
| <i>Saccharomyces kluyveri</i> | Complete | 11.3 | 5308 | 5048 | 5177 | | 133 |
| <i>Yarrowia lipolytica</i> | Complete | 20.5 | 6456 | 5036 | 699 | 162 | 148 |
| <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> | Complete | 9.8 | 4999 | 4802 | 4884 | | 112 |
| <i>Candida tropicalis</i> | Partial | 15.0 | 1130 | | | 18.1% | |
| <i>Kluyveromyces marxianus</i> | Partial | 14.0 | 1546 | | | 49.8% | |
| <i>Pichia angusta</i> | Partial | 9.0 | 2502 | | | 18.9% | |
| <i>Pichia sorbitophila</i> | Partial | 13.9 | 1593 | | | 59.2% | |
| <i>Saccharomyces bayanus</i> var. <i>uvarum</i> | Partial | 11.5 | 2887 | | | 97.9% | |
| <i>Saccharomyces exiguus</i> | Partial | 18.0 | 1600 | | | 70.7% | |
| <i>Saccharomyces servazzii</i> | Partial | 12.3 | 1535 | | | 70.2% | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Complete | 12.1 | 5769 | 5381 | 5450 | 172 | 187 |
| <i>Eremothecium (Ashbya) gossypii</i> | Complete | 8.7 | 4718 | 4474 | 4584 | 146 | 79 |
| <i>Pichia stipitis</i> | Complete | 15.4 | 5816 | | | | |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i> | Complete | 14.1 | 5004 | | | 152 | |

한편으로, 인류의 오랜 역사 동안 다양한 주류 및 장류, 치즈 등 발효 식품에서 주요한 역할을 하고 있는 효모들에 대한 유전체 분석 연구도 유럽과 칠레를 중심으로 진행되어 왔는데, 맥주와 와인을 비롯한 주류 발효 조건 하에서 효모의 기능 유전체 분석, 전사체 분석, 단백질체 분석을 통해, 주류 발효 과정에 결정적인 영향을 미치는 잠재적인 유전자들을 규명하고, 효모 세포의 전반적인 생리 활성화에 대한 정보를 제공하고 있다(Varela et al, 2005; Blein-Nicolas et al, 2013; Novo et al, 2013).

2. 사상성 곰팡이 유전체 연구 개발 동향

한편, 중국과 일본에서는 전통 발효 식품에서 당화, 발효 및 풍미에 결정적인 역할을 담당하고 있는 사상성 균주에 대한 연구들이 집중적으로 수행되고 있다. 중국에서는 중국 전통 주류에 널리 이용되어온 *Rhizopus chinensis*의 유전체 서열 분석 연구가 진행 중이며(Wang et al, 2013) 특히 일본에서는 주류 제조에 유용균주로 알려진 *Aspergillus oryzae* 균주에 대하여 오랫동안 당화능, 단백질 분해능에 관련된 유전자에 대한 유전체 학적인 연구를 수행해 왔다(Hata et al, 1991; Maeda et al, 2004; Machida et al, 2005; Machida et al, 2008). 최근, 한국의 막걸리, 일본의 소주 제조 등에 사용되는 *Aspergillus* 속의 다양한 흑색과 백색 누룩곰팡이의 유전자 염기서열을 분석해 이들의 분류학적인 위치를 밝혀 동아시아의 누룩곰팡이 연구의 초석이 마련되었다(Hong et al, 2014).

또한 최근의 관심사인 바이오연료로 바이오에탄올 생성을 위한 목적으로 많은 진균의 유전체가 연구되어 2000년대에 많은 주요 사상성 진균류 즉 *Aspergillus nidulans*, *Neurospora crassa* 등의 모델 진균의 유전체 해독(Galagan et al, 2003; Galagan et al, 2005) 연구가 활발히 수행되고 있다. 미국 에너지부(DOE, Department of Energy)는 에너지와 환경 분야를 위한 다양한 바이오매스 응용을 목표로 Joint Genome Institute(JGI)을 설립하였고, 가장 최근 새로이 통합된 곰팡이 유전체 자원인 MycoCosm (<http://jgi.doe.gov/fungi>)을 구성하여 “Fungal Genomics Program”을 시작하였다(Grigoriev et al, 2012).



[그림 43] JGI에서 운영 중인 곰팡이 유전체 서열 데이터베이스와 응용 분야

3. 진핵미생물 대상 유전체 분석기법 동향

시퀀싱 분석 기술이 발달함에 따라 진핵 미생물의 시퀀싱 관련 보고가 최근 2000년 후반에 들어 점점 늘어나고 있다. 특히 지금까지 보고된 효모 및 사상성 곰팡이의 게놈 시퀀싱의 대부분은 2세대 시퀀싱 분석 기술을 사용하여 수행되었다. 1세대를 이용한 게놈 시퀀싱은 효모 4종 사상성 곰팡이 3종 정도가 알려져 있으며 아직 3세대 기반으로 시퀀싱한 진핵 미생물 종은 별로 알려진 바가 없다. 또한 2세대 시퀀싱 기술 중에서 Roche 454 GS 시스템 보다는 Illumina의 Hiseq, Miseq 분석 기술을 사용한 종이 대부분을 차지한다. 지금까지의 게놈 시퀀싱의 결과에서 효모 종은 대부분 10 M base 내외의 크기를 가지며 최대 20 M base 정도의 크기를 가지지만 사상성 곰팡이들은 대부분 30 M base 이상의 게놈 크기를 가지며 식물의 병원균은 100 M base가 넘는 크기를 가지는 것으로 보고되어 있다. 이러한 점에 유의하여 진핵 미생물의 게놈 시퀀싱을 할 때, 원핵 미생물과 고등 진핵생물의 유전체 크기 및 구조적 차이점을 고려하여 가장 적절한 시퀀싱 분석 기술을 선택하여 시퀀싱을 할 필요성이 있다고 사료된다[표 15].

[표 16] 현재까지 알려져 있는 효모 및 곰팡이 게놈 시퀀싱 정보

| Species | genome size(Mb) | total CDS | GC(%) | sequencing technique | ref |
|--|-----------------|-----------|-------|----------------------|-----|
| Yeast | | | | | |
| <i>Arxula adenivorans</i> | 11.8 | 6,116 | 48.1 | Roche 454 GS FLX+ | a |
| <i>Candida glabrata</i> | 12.3 | 5,210 | 38.8 | Illumina HiSeq2000 | m |
| <i>Candida orthopsilosis 90-125</i> | 12.6 | 5,700 | 37.46 | Illumina MiSeq | h |
| <i>Candida orthopsilosis AY2</i> | 14.5 | | 37.31 | Illumina MiSeq | h |
| <i>Candida orthopsilosis MCO456</i> | 13.2 | 5,756 | 34.42 | Illumina MiSeq | h |
| <i>Candida tropicalis</i> | 15 | | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Cyberlindnera fabianii (Hansenula fabianii)</i> | 12.3 | 5,944 | 44.4 | Illumina HiSeq2000 | c |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> | 12.2 | 6,286 | 38 | Roche 454 GS FLX+ | a |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> | 12.2 | 6,906 | 36.3 | Roche 454 GS FLX+ | a |
| <i>Dekkera bruxellensis CBS2499</i> | 13.39 | 5636 | 39.9 | Roche 454 GS FLX+ | f |
| <i>Hansenula polymorpha DLI</i> | 9.06 | 5325 | 47.8 | Roche 454 GS FLX+ | f |
| <i>JAY291 (haplotype of s. cerevisiae)</i> | 11.6 | 5880 | | Roche 454 GS Junior | n |
| <i>Kluyveromyces lactis</i> | 10.6 | 5088 | 38.7 | Illumina HiSeq2000 | m |
| <i>Kluyveromyces marxianus</i> | 14 | | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Kluyveromyces thermotolerans</i> | 10.4 | 5105 | 49.2 | Illumina HiSeq2000 | m |
| <i>Lachancea thermotolerans (CBS6340)</i> | 10.4 | 5094 | 49.2 | shotgun sequencing | a |
| <i>Pichia angusta</i> | 9 | | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Pichia pastoris</i> | 9.3 | 5313 | 41.1 | Roche 454 GS Junior | d |
| <i>Pichia pastoris GS115</i> | 9.22 | 5040 | 41.1 | Roche 454 GS FLX+ | f |
| <i>Pichia sorbitophila</i> | 13.9 | | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Pichia stipitis</i> | 15.4 | 5816 | 41.1 | shotgun sequencing | i |
| <i>Rhodospiridium toruloides CECT1137</i> | 20.4 | 8206 | 61.9 | Roche 454 GS FLX+ | j |
| <i>Saccharomyces bayanus var. uvarum</i> | 11.5 | | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 12.1 | 5769 | | Illumina HiSeq2000 | a |
| <i>Saccharomyces exiguus</i> | 18 | | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Saccharomyces kluyveri</i> | 11.3 | 5308 | 43.1 | Sanger sequencing | m |
| <i>Saccharomyces serevisiae</i> | 12.1 | 5807 | 38.3 | Roche 454 GS FLX+ | a |
| <i>Saccharomyces servazzii</i> | 12.3 | | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Schizosaccharomyces pombe</i> | 14.1 | 5004 | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Wickerhamomyces ciferrii</i> | 15.9 | 6702 | 30.4 | Illumina HiSeq2000 | c |
| <i>Yarrowia lipolytica</i> | 20.5 | 6,456 | 49 | Illumina HiSeq2000 | a |
| <i>Zygosaccharomyces rouxii</i> | 9.8 | 4,999 | 40.2 | Sanger sequencing | m |
| Fungi | | | | | |
| <i>Acarospora strigata</i> | 27 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Arthonia rubrocincta</i> | 26 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Ashbya gossypii</i> | 8.7 | 4,715 | 52 | Illumina HiSeq2000 | m |
| <i>Aspergillus oryzae 100-8</i> | 36.7 | 11,187 | 48.3 | Roche 454 GS FLX+ | j |
| <i>Blumeria graminis</i> | 120 | | | shotgun sequencing | g |
| <i>Dibaeis baeomyces</i> | 35 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Endocarpon pallidulum</i> | 41 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Eremothecium gossypii (=Ashbya gossypii)</i> | 8.7 | 4,718 | | Illumina HiSeq2000 | i |
| <i>Erysiphe pisi</i> | 151 | | | shotgun sequencing | g |
| <i>Golovinomyces orontii</i> | 160 | | | shotgun sequencing | g |
| <i>Graphis scripta</i> | 36 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Leptogium austroamericanum</i> | 46 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Lichtheimia ramosa</i> | 30.71 | 11,510 | 41.2 | Roche 454 GS FLX+ | k |
| <i>Peltula cylindrica</i> | 32 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Physcia cf. stellaris</i> | 59 | | | Illumina HiSeq2000 | b |
| <i>Sordaria macrospora</i> | 39.8 | 10,789 | 52.4 | Roche 454 GS Junior | l |
| <i>Sporothrix schenckii ATCC 58251</i> | 32.23 | 8,674 | 55.2 | Illumina MiSeq | e |

a. (Kunze et al, 2014), b. (McDonald et al, 2013), c. (Freel et al, 2014), d. (De Schutter et al, 2009), e. (Cuomo et al, 2014), f. (Ravin et al, 2013), g. (Raffaele et al, 2010), h. (Pryszcz et al, 2014), i. (Sherman et al, 2009), j. (Morin et al, 2014), k. (Linde et al, 2014), l. (Nowrousian et al, 2010), m. (Genolevures et al, 2009), n. (Argueso et al, 2009)

제4절 결론 및 전망

지금까지 진핵 미생물 중심으로 유전체학 기반의 생물체 분석의 역사와 생물의 유전체 분석에 대한 전반적인 동향을 살펴보았다. 전 세계적으로 유전체 분석 연구가 우리의 생활과 밀접하게 닿아 있는 식품산업 및 주류 산업에서 많이 사용되는 효모와 곰팡이를 대상으로 활발하게 이루어지고 있다는 점은 기존에 수행되던 단일 유전자의 기능을 연구하는 것 보다는 유전체를 연구하여 미생물의 전반적인 생물학적 메커니즘을 이해하기 위한 방향으로 연구 방식이 변환되고 있음을 반영하고 있다.

또한 각 산업에서 사용되는 진핵 미생물의 유전체 분석은 미생물의 2차 대사산물이나 식품 및 주류산업 상품의 맛의 결정이 1~2가지의 미생물에 의해서 결정되는 것이 아니라는 점에서 여러 미생물 균주들에 대한 집단 유전체 연구의 필요성이 인식되고 있다. 최근 빠른 속도와 정확도를 목표로 하고 있는 게놈 시퀀싱 분석 방법을 적절히 사용하여 산업적으로 중요한 미생물 균주들의 유전체 정보를 분석하여 이를 기반으로 하는 다중 오믹스 분석 기반을 확립하는 것이 새로운 연구 패러다임으로 자리 잡아가고 있다. 특히 참조 유전체의 데이터베이스를 구축하는 것은 식품 및 주류 산업에서 사용되는 여러 가지 균주를 비교 분석함에 있어서 보다 정확하고 빠른 분석을 가능하게 한다는 점에서 반드시 선행되어야 하는 과업이기에 유용 미생물에 대한 참조 유전체 분석은 산업내의 다른 경쟁자들과 차별화를 가져 기술적 우위를 선점하는데 크게 기여할 것으로 기대된다. 그러나 전통 발효 산업의 주요 진핵미생물인 효모와 사상성 진균 대상의 고품질의 참조 유전체 정보를 확보하는 것은 유전체의 크기 및 구조가 원핵 미생물과 고등 진핵생물의 유전체와는 매우 상이하기 때문에 유전체 분석 및 생물정보학적 해석에 있어 기존의 방식과는 다른 새로운 접근 방식이 필요할 것으로 사료된다.

제5절 참고문헌

1. Akao, T., I. Yashiro, A. Hosoyama, H. Kitagaki, H. Horikawa, D. Watanabe, R. Akada, Y. Ando, S. Harashima, T. Inoue, Y. Inoue, S. Kajiwara, K. Kitamoto, N. Kitamoto, O. Kobayashi, S. Kuhara, T. Masubuchi, H. Mizoguchi, Y. Nakao, A. Nakazato, M. Namise, T. Oba, T. Ogata, A. Ohta, M. Sato, S. Shibasaki, Y. Takatsume, S. Tanimoto, H. Tsuboi, A. Nishimura, K. Yoda, T. Ishikawa, K. Iwashita, N. Fujita, and H. Shimoi (2011) Whole-genome sequencing of sake yeast *Saccharomyces cerevisiae* Kyokai no. 7. DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes 18: 423-434
2. Argueso, J.L., M.F. Carazzolle, P.A. Mieczkowski, F.M. Duarte, O.V.C. Netto, S.K. Missawa, F. Galzerani, G.G.L. Costa, R.O. Vidal, M.F. Noronha, M. Dominska, M.G.S. Andrietta, S.R. Andrietta, A.F. Cunha, L.H. Gomes, F.C.A. Tavares, A.R.

- Alcarde, F.S. Dietrich, J.H. McCusker, T.D. Petes, and G.A.G. Pereira (2009) Genome structure of a *Saccharomyces cerevisiae* strain widely used in bioethanol production. *Genome research* 19: 2258-2270
3. Berglund, E.C., A. Kiialainen, and A.C. Syvanen (2011) Next-generation sequencing technologies and applications for human genetic history and forensics. *Investigative genetics* 2: 23
 4. Blein-Nicolas, M., W. Albertin, B. Valot, P. Marullo, D. Sicard, C. Giraud, S. Huet, A. Bourgeois, C. Dillmann, D. de Vienne, and M. Zivy (2013) Yeast Proteome Variations Reveal Different Adaptive Responses to Grape Must Fermentation. *Mol Biol Evol* 30: 1368-1383
 5. Borneman, A.R., A.H. Forgan, I.S. Pretorius, and P.J. Chambers (2008) Comparative genome analysis of a *Saccharomyces cerevisiae* wine strain. *FEMS yeast research* 8: 1185-1195
 6. Breunig, J.S., S.R. Hackett, J.D. Rabinowitz, and L. Kruglyak (2014) Genetic Basis of Metabolome Variation in Yeast. *Plos Genet* 10
 7. Cuomo, C.A., N. Rodriguez-Del Valle, L. Perez-Sanchez, A. Abouelleil, J. Goldberg, S. Young, Q. Zeng, and B.W. Birren (2014) Genome Sequence of the Pathogenic Fungus *Sporothrix schenckii* (ATCC 58251). *Genome announcements* 2
 8. De Schutter, K., Y.C. Lin, P. Tiels, A. Van Hecke, S. Glinka, J. Weber-Lehmann, P. Rouze, Y. Van de Peer, and N. Callewaert (2009) Genome sequence of the recombinant protein production host *Pichia pastoris*. *Nat Biotechnol* 27: 561-566
 9. Engel, S.R., and J.M. Cherry (2013) The new modern era of yeast genomics: community sequencing and the resulting annotation of multiple *Saccharomyces cerevisiae* strains at the *Saccharomyces Genome Database*. *Database-Oxford*
 10. Freel, K.C., V. Sarilar, C. Neugeglise, H. Devillers, A. Friedrich, and J. Schacherer (2014) Genome Sequence of the Yeast *Cyberlindnera fabianii* (*Hansenula fabianii*). *Genome announcements* 2
 11. Galagan, J.E., S.E. Calvo, K.A. Borkovich, E.U. Selker, N.D. Read, D. Jaffe, W. FitzHugh, L.J. Ma, S. Smirnov, S. Purcell, B. Rehman, T. Elkins, R. Engels, S. Wang, C.B. Nielsen, J. Butler, M. Endrizzi, D. Qui, P. Ianakiev, D. Bell-Pedersen, M.A. Nelson, M. Werner-Washburne, C.P. Selitrennikoff, J.A. Kinsey, E.L. Braun, A. Zelter, U. Schulte, G.O. Kothe, G. Jedd, W. Mewes, C. Staben, E. Marcotte, D. Greenberg, A. Roy, K. Foley, J. Naylor, N. Stange-Thomann, R. Barrett, S. Gnerre, M. Kamal, M. Kamvysselis, E. Mauceli, C. Bielke, S. Rudd, D. Frishman, S. Krystofova, C. Rasmussen, R.L. Metzenberg, D.D. Perkins, S. Kroken, C. Cogoni, G. Macino, D. Catcheside, W. Li, R.J. Pratt, S.A. Osmani, C.P. DeSouza, L. Glass, M.J. Orbach, J.A. Berglund, R. Voelker, O. Yarden, M. Plamann, S. Seiler, J. Dunlap, A. Radford, R. Aramayo, D.O. Natvig, L.A. Alex, G. Mannhaupt, D.J. Ebbole, M. Freitag, I. Paulsen, M.S. Sachs, E.S. Lander, C. Nusbaum, and B. Birren (2003) The genome sequence of the filamentous fungus

Neurospora crassa. Nature 422: 859-868

12. Galagan, J.E., S.E. Calvo, C. Cuomo, L.J. Ma, J.R. Wortman, S. Batzoglou, S.I. Lee, M. Basturkmen, C.C. Spevak, J. Clutterbuck, V. Kapitonov, J. Jurka, C. Scazzocchio, M. Farman, J. Butler, S. Purcell, S. Harris, G.H. Braus, O. Draht, S. Busch, C. D'Enfert, C. Bouchier, G.H. Goldman, D. Bell-Pedersen, S. Griffiths-Jones, J.H. Doonan, J. Yu, K. Vienken, A. Pain, M. Freitag, E.U. Selker, D.B. Archer, M.A. Penalva, B.R. Oakley, M. Momany, T. Tanaka, T. Kumagai, K. Asai, M. Machida, W.C. Nierman, D.W. Denning, M. Caddick, M. Hynes, M. Paoletti, R. Fischer, B. Miller, P. Dyer, M.S. Sachs, S.A. Osmani, and B.W. Birren (2005) Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. Nature 438: 1105-1115
13. Genolevures, C., J.L. Souciet, B. Dujon, C. Gaillardin, M. Johnston, P.V. Baret, P. Cliften, D.J. Sherman, J. Weissenbach, E. Westhof, P. Wincker, C. Jubin, J. Poulain, V. Barbe, B. Segurens, F. Artiguenave, V. Anthouard, B. Vacherie, M.E. Val, R.S. Fulton, P. Minx, R. Wilson, P. Durrens, G. Jean, C. Marck, T. Martin, M. Nikolski, T. Rolland, M.L. Seret, S. Casaregola, L. Despons, C. Fairhead, G. Fischer, I. Lafontaine, V. Leh, M. Lemaire, J. de Montigny, C. Neuveglise, A. Thierry, I. Blanc-Lenfle, C. Bleykasten, J. Diffels, E. Fritsch, L. Frangeul, A. Goeffon, N. Jauniaux, R. Kachouri-Lafond, C. Payen, S. Potier, L. Pribylova, C. Ozanne, G.F. Richard, C. Sacerdot, M.L. Straub, and E. Talla (2009) Comparative genomics of protoploid Saccharomycetaceae. Genome research 19: 1696-1709
14. Goffeau, A., B.G. Barrell, H. Bussey, R.W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, J.D. Hoheisel, C. Jacq, M. Johnston, E.J. Louis, H.W. Mewes, Y. Murakami, P. Philippsen, H. Tettelin, and S.G. Oliver (1996) Life with 6000 genes. Science 274: 546-&
15. Grada, A., and K. Weinbrecht (2013) Next-generation sequencing: methodology and application. J Invest Dermatol 133: e11
16. Grigoriev, I.V., H. Nordberg, I. Shabalov, A. Aerts, M. Cantor, D. Goodstein, A. Kuo, S. Minovitsky, R. Nikitin, R.A. Ohm, R. Ollilar, A. Poliakov, I. Ratnere, R. Riley, T. Smirnova, D. Rokhsar, and I. Dubchak (2012) The genome portal of the Department of Energy Joint Genome Institute. Nucleic acids research 40: D26-32
17. Hata, Y., K. Tsuchiya, K. Kitamoto, K. Gomi, C. Kumagai, G. Tamura, and S. Hara (1991) Nucleotide sequence and expression of the glucoamylase-encoding gene (*glaA*) from *Aspergillus oryzae*. Gene 108: 145-150
18. Hong, S.B., O. Yamada, and R.A. Samson (2014) Taxonomic re-evaluation of black koji molds. Applied microbiology and biotechnology 98: 555-561
19. Janbon, G., K.L. Ormerod, D. Paulet, E.J. Byrnes, V. Yadav, G. Chatterjee, N. Mullapudi, C.C. Hon, R.B. Billmyre, F. Brunel, Y.S. Bahn, W.D. Chen, Y. Chen, E.W.L. Chow, J.Y. Coppee, A. Floyd-Averette, C. Gaillardin, K.J. Gerik, J. Goldberg, S. Gonzalez-Hilarion, S. Gujja, J.L. Hamlin, Y.P. Hsueh, G. Ianiri, S.

- Jones, C.D. Kodira, L. Kozubowski, W. Lam, M. Marra, L.D. Mesner, P.A. Mieczkowski, F. Moyrand, K. Nielsen, C. Proux, T. Rossignol, J.E. Schein, S. Sun, C. Wollschlaeger, I.A. Wood, Q.D. Zeng, C. Neuveglise, C.S. Newlon, J.R. Perfect, J.K. Lodge, A. Idnurm, J.E. Stajich, J.W. Kronstad, K. Sanyal, J. Heitman, J.A. Fraser, C.A. Cuomo, and F.S. Dietrich (2014) Analysis of the Genome and Transcriptome of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* Reveals Complex RNA Expression and Microevolution Leading to Virulence Attenuation. *Plos Genet* 10
20. Kunze, G., C. Gaillardin, M. Czernicka, P. Durrens, T. Martin, E. Boer, T. Gabaldon, J.A. Cruz, E. Talla, C. Marck, A. Goffeau, V. Barbe, P. Baret, K. Baronian, S. Beier, C. Bleykasten, R. Bode, S. Casaregola, L. Despons, C. Fairhead, M. Giersberg, P.P. Gierski, U. Hahnel, A. Hartmann, D. Jankowska, C. Jubin, P. Jung, I. Lafontaine, V. Leh-Louis, M. Lemaire, M. Marcet-Houben, M. Mascher, G. Morel, G.F. Richard, J. Riechen, C. Sacerdot, A. Sarkar, G. Savel, J. Schacherer, D.J. Sherman, N. Stein, M.L. Straub, A. Thierry, A. Trautwein-Schult, B. Vacherie, E. Westhof, S. Worch, B. Dujon, J.L. Souciet, P. Wincker, U. Scholz, and C. Neuveglise (2014) The complete genome of *Blastobotrys* (*Arxula*) *adenivorans* LS3 - a yeast of biotechnological interest. *Biotechnology for biofuels* 7: 66
21. Lander, E.S., L.M. Linton, B. Birren, C. Nusbaum, M.C. Zody, J. Baldwin, K. Devon, K. Dewar, M. Doyle, W. FitzHugh, R. Funke, D. Gage, K. Harris, A. Heaford, J. Howland, L. Kann, J. Lehoczký, R. LeVine, P. McEwan, K. McKernan, J. Meldrim, J.P. Mesirov, C. Miranda, W. Morris, J. Naylor, C. Raymond, M. Rosetti, R. Santos, A. Sheridan, C. Sougnez, N. Stange-Thomann, N. Stojanovic, A. Subramanian, D. Wyman, J. Rogers, J. Sulston, R. Ainscough, S. Beck, D. Bentley, J. Burton, C. Clee, N. Carter, A. Coulson, R. Deadman, P. Deloukas, A. Dunham, I. Dunham, R. Durbin, L. French, D. Grafham, S. Gregory, T. Hubbard, S. Humphray, A. Hunt, M. Jones, C. Lloyd, A. McMurray, L. Matthews, S. Mercer, S. Milne, J.C. Mullikin, A. Mungall, R. Plumb, M. Ross, R. Shownkeen, S. Sims, R.H. Waterston, R.K. Wilson, L.W. Hillier, J.D. McPherson, M.A. Marra, E.R. Mardis, L.A. Fulton, A.T. Chinwalla, K.H. Pepin, W.R. Gish, S.L. Chissoe, M.C. Wendl, K.D. Delehaunty, T.L. Miner, A. Delehaunty, J.B. Kramer, L.L. Cook, R.S. Fulton, D.L. Johnson, P.J. Minx, S.W. Clifton, T. Hawkins, E. Branscomb, P. Predki, P. Richardson, S. Wenning, T. Slezak, N. Doggett, J.F. Cheng, A. Olsen, S. Lucas, C. Elkin, E. Uberbacher, M. Frazier, et al. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409: 860-921
22. Liang, S.L., B. Wang, L. Pan, Y.R. Ye, M.H. He, S.Y. Han, S.P. Zheng, X.N. Wang, and Y. Lin (2012) Comprehensive structural annotation of *Pichia pastoris* transcriptome and the response to various carbon sources using deep paired-end RNA sequencing. *Bmc Genomics* 13
23. Linde, J., V. Schwartze, U. Binder, C. Lass-Florl, K. Voigt, and F. Horn (2014) De Novo Whole-Genome Sequence and Genome Annotation of *Lichtheimia ramosa*.

Genome announcements 2

24. Machida, M., K. Asai, M. Sano, T. Tanaka, T. Kumagai, G. Terai, K. Kusumoto, T. Arima, O. Akita, Y. Kashiwagi, K. Abe, K. Gomi, H. Horiuchi, K. Kitamoto, T. Kobayashi, M. Takeuchi, D.W. Denning, J.E. Galagan, W.C. Nierman, J. Yu, D.B. Archer, J.W. Bennett, D. Bhatnagar, T.E. Cleveland, N.D. Fedorova, O. Gotoh, H. Horikawa, A. Hosoyama, M. Ichinomiya, R. Igarashi, K. Iwashita, P.R. Juvvadi, M. Kato, Y. Kato, T. Kin, A. Kokubun, H. Maeda, N. Maeyama, J. Maruyama, H. Nagasaki, T. Nakajima, K. Oda, K. Okada, I. Paulsen, K. Sakamoto, T. Sawano, M. Takahashi, K. Takase, Y. Terabayashi, J.R. Wortman, O. Yamada, Y. Yamagata, H. Anazawa, Y. Hata, Y. Koide, T. Komori, Y. Koyama, T. Minetoki, S. Suharnan, A. Tanaka, K. Isono, S. Kuhara, N. Ogasawara, and H. Kikuchi (2005) Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae*. *Nature* 438: 1157-1161
25. Machida, M., O. Yamada, and K. Gomi (2008) Genomics of *Aspergillus oryzae*: Learning from the History of Koji Mold and Exploration of Its Future. *DNA Research* 15: 173-183
26. Maeda, H., M. Sano, Y. Maruyama, T. Tanno, T. Akao, Y. Totsuka, M. Endo, R. Sakurada, Y. Yamagata, M. Machida, O. Akita, F. Hasegawa, K. Abe, K. Gomi, T. Nakajima, and Y. Iguchi (2004) Transcriptional analysis of genes for energy catabolism and hydrolytic enzymes in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* using cDNA microarrays and expressed sequence tags. *Applied microbiology and biotechnology* 65: 74-83
27. Martin, T., D.J. Sherman, and P. Durrens (2011) The Genolevures database. *Cr Biol* 334: 585-589
28. McDonald, T.R., O. Mueller, F.S. Dietrich, and F. Lutzoni (2013) High-throughput genome sequencing of lichenizing fungi to assess gene loss in the ammonium transporter/ammonia permease gene family. *Bmc Genomics* 14
29. Morin, N., X. Calcas, H. Devillers, P. Durrens, D.J. Sherman, J.M. Nicaud, and C. Neuveglise (2014) Draft Genome Sequence of *Rhodosporidium toruloides* CECT1137, an Oleaginous Yeast of Biotechnological Interest. *Genome announcements* 2
30. Noguchi, C., D. Watanabe, Y. Zhou, T. Akao, and H. Shimoï (2012) Association of constitutive hyperphosphorylation of Hsf1p with a defective ethanol stress response in *Saccharomyces cerevisiae* sake yeast strains. *Applied and environmental microbiology* 78: 385-392
31. Novo, M., A. Mangado, M. Quiros, P. Morales, Z. Salvado, and R. Gonzalez (2013) Genome-Wide Study of the Adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to the Early Stages of Wine Fermentation. *PloS one* 8
32. Nowrousian, M., J.E. Stajich, M. Chu, I. Engh, E. Espagne, K. Halliday, J. Kamerewerd, F. Kempken, B. Knab, H.C. Kuo, H.D. Osiewacz, S. Poggeler, N.D.

- Read, S. Seiler, K.M. Smith, D. Zickler, U. Kuck, and M. Freitag (2010) De novo assembly of a 40 Mb eukaryotic genome from short sequence reads: *Sordaria macrospora*, a model organism for fungal morphogenesis. *Plos Genet* 6: e1000891
33. Otero, J.M., W. Vongsangnak, M.A. Asadollahi, R. Olivares-Hernandes, J. Maury, L. Farinelli, L. Barlocher, M. Osteras, M. Schalk, A. Clark, and J. Nielsen (2010) Whole genome sequencing of *Saccharomyces cerevisiae*: from genotype to phenotype for improved metabolic engineering applications. *Bmc Genomics* 11
 34. Prysycz, L.P., T. Nemeth, A. Gacser, and T. Gabaldon (2014) Genome Comparison of *Candida orthopsilosis* Clinical Strains Reveals the Existence of Hybrids between Two Distinct Subspecies. *Genome Biol Evol* 6: 1069-1078
 35. Raffaele, S., R.A. Farrer, L.M. Cano, D.J. Studholme, D. MacLean, M. Thines, R.H.Y. Jiang, M.C. Zody, S.G. Kunjeti, N.M. Donofrio, B.C. Meyers, C. Nusbaum, and S. Kamoun (2010) Genome Evolution Following Host Jumps in the Irish Potato Famine Pathogen Lineage. *Science* 330: 1540-1543
 36. Ravin, N.V., M.A. Eldarov, V.V. Kadnikov, A.V. Beletsky, J. Schneider, E.S. Mardanova, E.M. Smekalova, M.I. Zvereva, O.A. Dontsova, A.V. Mardanov, and K.G. Skryabin (2013) Genome sequence and analysis of methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* DL1. *Bmc Genomics* 14: 837
 37. Rochfort, S. (2005) Metabolomics reviewed: a new "omics" platform technology for systems biology and implications for natural products research. *J Nat Prod* 68: 1813-1820
 38. Salinas, F., D. Mandakovic, U. Urzua, A. Massera, S. Miras, M. Combina, M.A. Ganga, and C. Martinez (2010) Genomic and phenotypic comparison between similar wine yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae* from different geographic origins. *Journal of applied microbiology* 108: 1850-1858
 39. Sazer, S. (2006) New 'omics tools for fission yeast. *Nat Biotechnol* 24: 789-790
 40. Sherman, D.J., T. Martin, M. Nikolski, C. Cayla, J.L. Souciet, P. Durrens, and C. Genolevures (2009) Genolevures: protein families and synteny among complete hemiascomycetous yeast proteomes and genomes. *Nucleic acids research* 37: D550-554
 41. Tyers, M., and M. Mann (2003) From genomics to proteomics. *Nature* 422: 193-197
 42. Varela, C., J. Cardenas, F. Melo, and E. Agosin (2005) Quantitative analysis of wine yeast gene expression profiles under winemaking conditions. *Yeast* 22: 369-383
 43. Wang, D., R. Wu, Y. Xu, and M. Li (2013) Draft Genome Sequence of *Rhizopus chinensis* CCTCCM201021, Used for Brewing Traditional Chinese Alcoholic Beverages. *Genome announcements* 1: e0019512
 44. Wang, Z., M. Gerstein, and M. Snyder (2009) RNA-Seq: a revolutionary tool for

transcriptomics. *Nature reviews. Genetics* 10: 57-63

45. Wheeler, D.A., M. Srinivasan, M. Egholm, Y. Shen, L. Chen, A. McGuire, W. He, Y.J. Chen, V. Makhijani, G.T. Roth, X. Gomes, K. Tartaro, F. Niazi, C.L. Turcotte, G.P. Irzyk, J.R. Lupski, C. Chinault, X.Z. Song, Y. Liu, Y. Yuan, L. Nazareth, X. Qin, D.M. Muzny, M. Margulies, G.M. Weinstock, R.A. Gibbs, and J.M. Rothberg (2008) The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature* 452: 872-876



VIII. 생물정보 연구동향

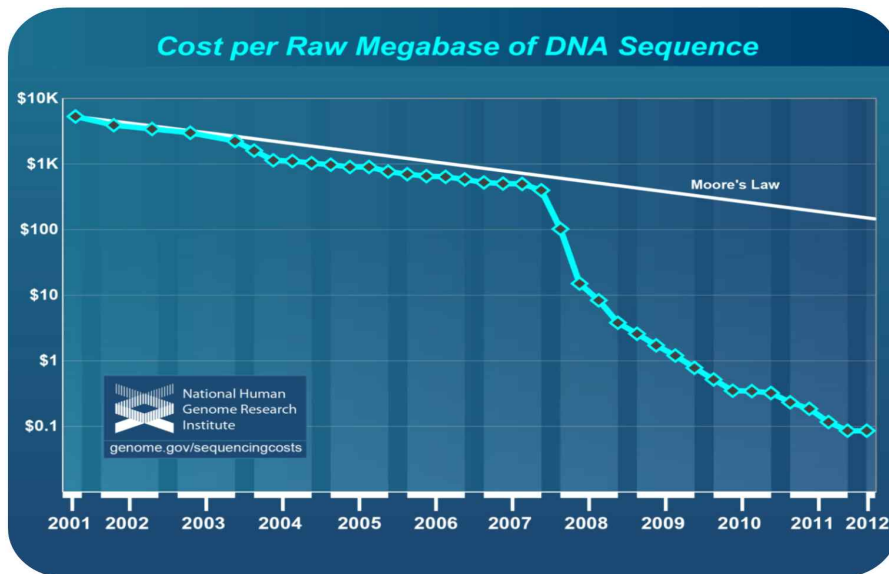
VIII. 생물정보 연구동향

(주)천랩 이제희 책임연구원

제1절 개요

생물정보는 미래 생명공학산업의 경쟁력을 좌우하는 필수 요소로 의약, 농업, 식품 등의 신제품 개발에 적극 활용되어 생명공학의 산업화를 주도할 수 있는 신 성장 동력으로 인식되고 있다. 또한 유전체 정보의 산업적 활용도가 증가함에 따라 대용량 생명 정보 생산 및 분석에 의한 정보발굴의 중요성이 증가하고 있다.

인간게놈프로젝트 이후 “10만 달러 유전체 해독기 개발 사업”을 통해 Next generation sequencing (NGS) 기술의 급격한 발전이 이루어졌다. 2000년대 중반 이후 Roche사에서 GS 454-FLX 개발을 시작으로, 일루미나(Illumina)사의 솔렉사 Genome Analyzer, Life Technology사의 SOLiD 시스템이 개발 된 이후, 현재 일루미나 HiSeq2500, Life Technology의 Ion PGM, Ion Proton 등 신규 출시된 NGS 장비들이 유전체 해독시장을 주도 하고 있다. 이 같은 차세대 유전체 해독기술 (NGS)의 발달로 유전체 해독에 소요되는 시간 및 비용이 획기적으로 감소하게 되었으며, 이에 따라 다양한 맞춤형 의료 시장 등 응용분야의 유전체 시장이 급속도로 확대되고, 유망산업으로 발전하는 추세에 이르렀다.



[그림 44] DNA sequencing 비용의 추이

- ※ DNA 1 Megabase 당 sequencing 비용의 추이를 살펴보면, Moore의 법칙을 따르던 sequencing 비용 하락 추세가 NGS 발달 이후로 급격히 sequencing 비용이 하락하고 있다. (출처: genome.gov/sequencingcosts)

생물정보(Bioinformatics) 시장은 인간 유전체를 기반으로 한 개인별 맞춤 의료 시대가 도래함에 따라 급격히 산업화가 진행되고 있으며, 머지 않아 “1인 1핸드폰”시대와 같은 “1인 1유전체 검사”시대가 도래하여, 이를 통한 전통적 의료산업의 변화가 불가피할 것으로 전문가들은 예견하고 있다.

이 같은 유전체 연구에 기반한 맞춤의료 분야는 미래의 고부가가치 창출산업으로서 여겨지고 있기 때문에 현재 많은 외국 대기업들이 사업과 투자를 진행하고 있으며, 맞춤의료 분야 외 유전체 연구시장은 미래 바이오 핵심시장인 농업, 기후변화, 바이오에너지 분야로 그 활용도가 계속 증가하고 있다. 특히 농업에 대한 중요성이 점차 증가하고 있으며, 생물정보 기술을 이용하여 농업의 효율성을 극대화 하고, 미생물을 포함한 환경과 농업 작물의 연관관계를 이해하여 효과적인 농작물을 재배 할 수 있으며, 친 환경적인 농작물 재배를 수행할 수 있게 되었다. 이러한 시장의 요구를 충족하기 위해 국내외에 대형 유전체 해독 및 생물정보 분석 연구기관들이 설립되기 시작했고, 다양한 유전체 해독연구 및 생명정보 분석을 수행하고 있다. 중국의 베이징게놈연구소(BGI), 미국의 브로드 연구소(Broad Institute), 영국의 생어연구소(Sanger Institute), 싱가포르의 싱가포르 유전체연구소(GIS) 등이 현재 차세대 유전체 관련 연구를 주도하고 있다. 한국에서는 (재)게놈연구재단과 KRIBB소속의 국가생명연구자원정보센터(KOBIC), 서울의 대 GMI가 이러한 연구를 담당하고 있다.

제2절 생물정보 산업 시장

생물정보 시장은 크게 Data 분석 및 소프트웨어 시장, Bioinformatic tool과 database 서비스 시장 그리고 IT hardware 와 infrastructure 시장 등 3가지 분야로 구분할 수 있으며(표1 참조), 연평균 18.6%의 높은 성장률을 보일 것으로 예상되어 2012년 32억불 규모에서 2017년에는 2배가 넘는 75억불 규모까지 시장규모가 증가할 것으로 기대되고 있다.

[표 17] 생물정보 산업 시장 규모

| | [US\$ billions] | | |
|---|-----------------|------------|---------------------|
| | 2012년 | 2017년 | CAGR (2012-2017) |
| Data analysis and software market | 1.1 | 2.9 | 20.3% |
| Bioinformatic tools and database services | 1.5 | 3.4 | 17.9% |
| IT hardware and infrastructure market | 0.532 | 1.2 | 17.2% |
| Total Global Bioinformatics market | 3.2 | 7.5 | 18.6% |

※ 출처: Bioinformatics, Technologies and Global Markets(BCC Report, May 2013),

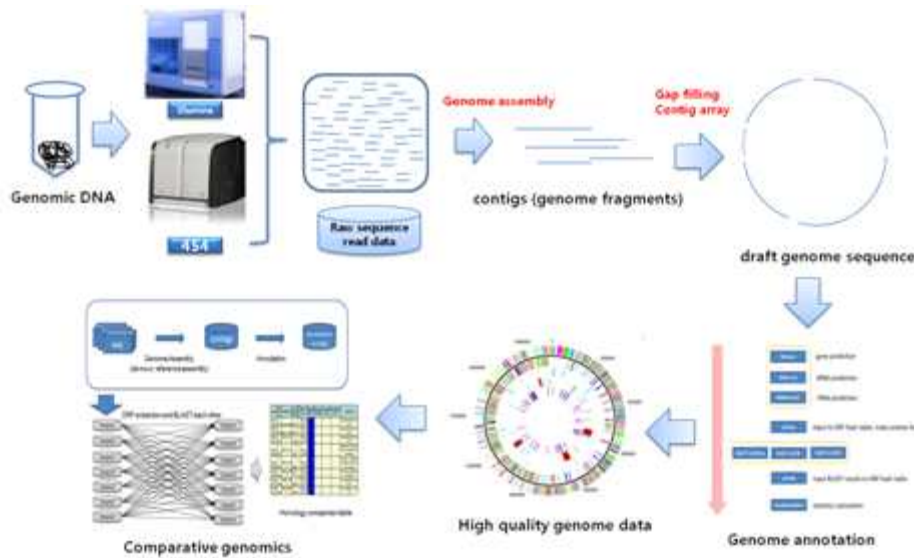
<http://www.prweb.com/releases/2013/5/prweb10707641.htm>

국내의 유전체분석 및 생물정보 기업으로는 마크로젠, 테라젠, 디엔에이링크, 삼성 SDS, 천랩 등이 있다. 마크로젠은 NGS 분석을 포함한 유전체 분석 서비스와 차세대 유전체 분석장비의 개발을 진행 중에 있다. 디엔에이링크는 개인 유전체 분석사업 등을 사업모델로 제시하고 있으며, 테라젠은 개인 유전자 정보 서비스인 헬로지놈과 헬로진을 출시한 바 있다. 삼성그룹은 삼성종합기술원, 삼성테크윈, 삼성SDS와 삼성의료원 등 각 개별 계열사들을 중심으로 유전자 정보분석 분야에 대한 연구를 진행하고 있는 것으로 알려지고 있다. 천랩은 생물정보 전문기업으로 독자적으로 구축한 데이터베이스 및 분석 파이프라인을 이용하여 미생물 균집분석, 유전체 분석, 전사체 분석 등을 수행하고 있으며, 고객에게는 분석 결과파일과 함께 자체 개발한 visualization에 특화된 소프트웨어를 제공하는 등 생물정보 분야에 있어 total solution을 제공하고 있다.

해외의 기업으로는 여러 회사가 있지만, 대표적으로 퍼스널 지노믹스 관련 회사로 미국의 23andMe와 Navigenics를 들 수 있다. 주 서비스는 염기다형성정보(SNP 분석)에 기초하여 특정 질병과의 연관성을 예측하는 서비스를 시행 중인데, 소비자가 샘플을 제공하면 게놈와이드 어레이(genomewide SNP array)를 사용하여 염기다형성정보를 계산하고 이러한 유전정보를 사용하여 다양한 질병에 걸릴 확률에 대한 통계적인 자료를 제공하고 있다.

맞춤의학 서비스 회사로는 미국의 진렉스(genelex)사와 유럽의 유로핀(Eurofins)사가 있다. 진렉스사는 주로 약물-약물 상호작용 데이터베이스를 통하여 약물 부작용 관련 자동화된 분석서비스를 수행하고 있고, 유럽에 기반한 유로핀사는 약물의 흡수, 분포, 대사, 배설(ADME) 관련 특화된 기술로 약물 유전체 관련 서비스를 수행하고 있는데, 특히, 특화된 ADME 기술을 기반으로 약물개발 회사와 공동으로 약물개발의 효율을 높이는 방식을 모색하는 비즈니스 모델을 보유하고 있다.

생물정보 소프트웨어 개발사로는 CLC bio, DNA nexus, Softgenetics 등의 분석 패키지 시스템 소프트웨어 개발 회사들이 있고, Illumina에서는 아마존 클라우드 시스템을 이용하여 sequencing 기기와 연계한 cloud 소프트웨어 platform인 Basespace 서비스를 진행 중에 있다.

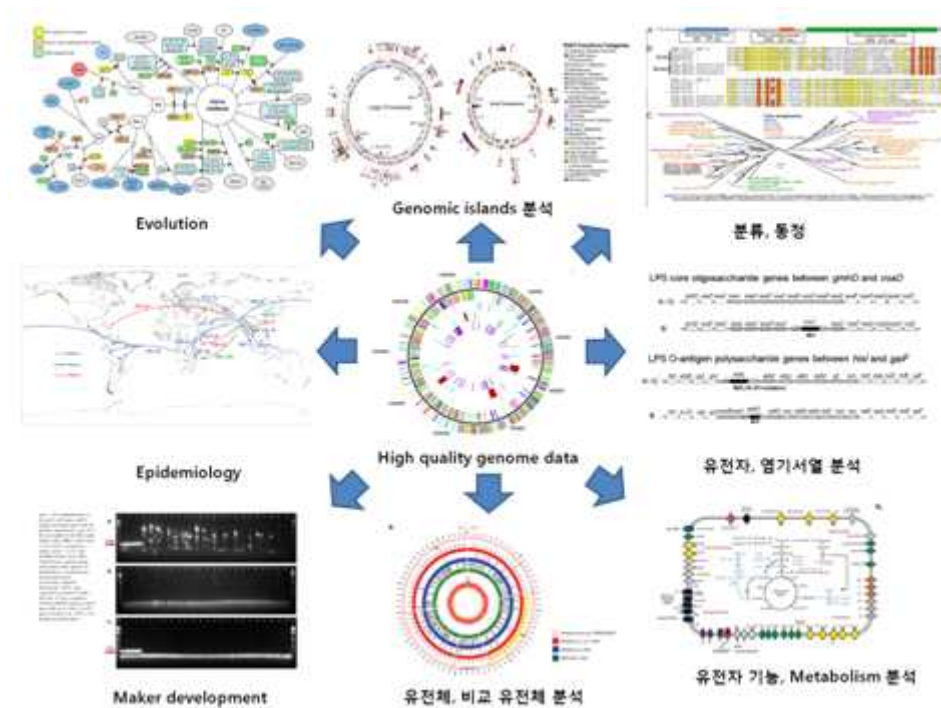


[그림 45] NGS로부터 Genome 분석을 하는 모식도.

제3절 NGS를 이용한 생물정보 산업

1. 유전체 분석

NGS data를 이용한 생물정보 분석은 다양한 분야에서 사용 가능하다. 유전체 분석은 새로운 유전체를 분석하는 de novo 분석과 기존의 분석된 유전체를 바탕으로 SNP 등을 찾는 Resequencing 분석으로 나눌 수 있다. 새로운 유전체 분석은 NGS data로부터 나온 500 bp 미만(illumina platform의 경우 100bp 정도)의 짧은 read sequence들을 좀 더 긴 sequence의 집합체인 contig로 조합하는 assemble 단계, assemble된 contig에서 유전자를 찾아서 유전자의 정보를 해석하는 annotation 단계, annotation된 유전체 data를 비교 분석 하는 단계로 크게 나눌 수 있다. Resequencing 분석은 기존의 유전체에 mapping하고, 분석하는 단계로 나눌 수 있다. 각 단계별로 생물정보 소프트웨어와 서버단위의 high performance computing power가 필요하다. 이렇게 분석된 유전체 data는 그 자체로도 유전체 데이터베이스 축적의 의미가 있고, 이것을 비슷한 종 또는 다른 유전체와 비교 분석하면 종의 evolution, 유전자의 variation, SNP analysis, epidemiology, functional analysis 등 많은 생물정보 분석이 가능하게 되고 이를 산업적으로 이용하게 되면, 개인별 맞춤 진단 정보 서비스를 이용한 헬스케어 서비스 등의 산업으로 응용 가능하게 된다.



[그림 46] Genome data를 이용한 다양한 분석 방법의 예시

※ Genome data를 이용하여 다양한 종의 분류, 동정, 유전자 염기서열 분석, 유전자 기능 분석, 비교 유전체 연구, marker discovery, epidemiology, 진화 연구 등의 분석을 수행 할 수 있다.

2. NGS를 활용한 휴먼 게놈 산업

생물정보 기술을 활용한 휴먼 게놈(Human Genome) 산업은 인간게놈 프로젝트의 성과를 이용하는 사업영역 전반을 말하는데, 유전체 진단 서비스, 맞춤 의료, 게놈신약 등이 이에 해당된다. 유전체 진단 서비스는 유전체 데이터베이스를 통하여 진단 marker를 발굴하고, 개인 NGS data를 통하여 암 등 각종 질병에 걸릴 위험도를 평가하고 예측, 진단하는 서비스이다. 최근에 안젤리나 졸리가 유방암에 걸릴 위험도 진단을 받은 후 예방차원에서 유방암 절제술을 받은 것이 그 예시라 할 수 있겠다. 맞춤의료 부문에서는 약에 특이적인 유전자 및 마커를 NGS data를 통해 분석하여, 개별 환자에게 적합하고 부작용이 없는 약과 치료 방법을 선택하게 하는 서비스이다. 게놈신약은 염기배열의 의미와 기능을 해석하여 질병과 관련 있는 유전자와 질병 메커니즘을 연구함으로써, 전립선 암이나 파킨스씨병 같은 난치성 질환에서 독성 및 부작용을 최소화 하는 새로운 약과 치료 방법을 개발하는 것을 의미한다. 유전체 산업은 다양한 산업과의 융합으로 맞춤형 줄기세포 치료, 나노바이오 산업과 융합한 새로운 치료방법 개발, IT 기술과 연계하여 개인 건강을 모니터링하는 유비쿼터스 헬스케어 분야 등으로 계속 확대되어 갈 전망이다.

3. 휴먼 마이크로바이옴 분석

NGS를 이용한 다른 분야로는 휴먼 마이크로바이옴(Human Microbiome) 분석 등 미생물 군집분석을 들 수 있다. 이는 환경 샘플 또는 사람의 장내, 피부 등에 존재하는 미생물의 군집을 16S rRNA를 NGS로 sequencing하여 전체 미생물의 분포를 살펴보는 분석이다. 최근 장내 미생물이 비만 및 아토피, 대장암 등 다양한 질병과 관련되어 있다는 연구가 보고됨에 따라 활발히 연구가 이루어지고 있는 추세이다. 과거에 군집분석을 하기 위해서는 대장균을 이용한 library를 만들어서 분석했어야 했는데, NGS 기술과 생물정보 분석기술의 발달로 짧은 시간에 많은 데이터 분석이 가능해졌다.

4. 전사체 분석

NGS를 이용한 또다른 응용기술로는 전사체 분석(RNA-Seq)을 들 수 있다. 모든 생명체는 유전자가 mRNA로 전사된 후에 protein으로 번역되어 유전자가 작동하도록 되어 있는데, 이 RNA의 발현양상을 NGS 기술을 이용하여 분석하는 것이 가능해졌다. RNA는 ribosomal RNA(rRNA), messenger RNA(mRNA), transfer RNA(tRNA) 등으로 나눌 수 있는데, 이중 mRNA만을 분리하여 NGS로 sequencing하게 된다. RNA-Seq의 장점은 기존의 Microarray에 비해 데이터가 sensitive하고, technical replication이 필요 없으며, 결과물이 digital 형태로 출력되어 데이터의 재사용 및 데이터베이스화가 가능하다는 점이다. 또한 유전자의 발현(Gene expression) 이외에도 유전자 구조(gene structure) 등 다양한 추가정보 확보가 가능하다는 특징을 가지고 있다.

5. 농업 생물 정보 분석

농업생물 유전체 사업으로 얻어진 대량의 생물정보의 활용도를 높이고 실용화 연구로 연결하기 위해서는 차세대 유전체 분석 기술, 유전자네트워크 분석 및 시스템 생물학 등 오믹스(omics) 기술 개발이 필요하며 이에 따른 연구가 많이 수행되고 있다. 농생물 분야의 시스템 생물학은 유전자, 단백질, 생체 물질 등 생물현상에 관여하는 요소의 발견과 각각의 기능을 규명하여 생명현상 요소의 상호작용을 체계적으로 해석하려는 생명공학의 핵심 영역 중 하나이다. 생물학적 체계를 시스템 생물학의 관점에서 접근하기 위해서는 시스템 내의 모든 구성 인자에 대해 인자들 간의 정보 흐름을 규명하고 인자들이 서로 관계하는 유전자 발현 네트워크의 구조와 동적 변화를 밝히는 것이 필요하다. 최근에는 오믹스(Omics)의 발달에 따른 개별 유전자의 특성보다 전체적인 세포내에서의 전사인자와 유전자의 역할을 규명하는 것이 중요하게 되었다. 유전체 연구와 전사체 연구를 종합 분석함에 따라서 유전자와 전사인자의 상호작용 네트워크에 관한 유전자 대사경로(pathway)를 규명하여 효율적인 유용 기능성 물질을 생산할 수 있다.

최근 차세대 시퀀싱 분석 기술의 발달로 배양 가능한 미생물에서 전체 미생물상을 분석하여 미생물 종류와 양에 대해 한 연구로 패러다임이 바뀌고 있다. 작물 재배 토양의 미생물은 작물의 종류와 토양의 물리/화학적 특징(토질, 온도, 수분, 식생의 유무등)에 따라 미생물 커뮤니티(미생물 종류와 양)이 상이하며 이에 따라 서로 생육을 조장하거나 혹은 길항하여 생활하며 복잡한 생태계를 보여준다. 또한 작물의 재배 방법(농약의 유무 등)에 따라 토양 내 미생물상이 상이한 것으로 보고되고 있다. 최근 기후변화 및 환경오염 등으로 미생물 생태계가 급격히 변화하고 있다. 이에 따라 미생물 다양성 연구가 매우 활발히 진행 중이며 더불어 산업적 활용 가치가 큰 유용 미생물을 메타게놈으로 찾고자 하는 시도가 활발한 상황이다.

제4절 맺음말

2000년 중반부터 개발된 NGS의 발달로 유전체 data는 기하 급수적으로 쌓이고 있는 상황이다. 하지만 방대한 data를 분석하는 생물정보학 기술과 분석 플랫폼은 그 data의 증가만큼 발전이 뒤따르지 못하고 있는 실정이므로 산업시장에서 생물정보학 기술의 요구가 점점 증가하고 있으며, 이에 따라 그 발전 가능성과 시장성도 한층 더 커지고 있다. 생물정보학은 많은 data를 빠른 시간에 해석하고 분석해야 하는 특징을 가지고 있기 때문에 고성능의 computing power를 요구하는 서버 단위의 분석이 수행되어야 하며, 이는 인터넷을 통하여 컴퓨팅 자원에 접속하여 원하는 만큼 빌려 쓰는 클라우드 컴퓨팅 기술로 해결 할 수 있을 것으로 기대되고 있어 전세계적으로 클라우드 인프라 구축과 분석 소프트웨어 개발에 많은 투자가 진행되고 있다. 그러나, 현재 국내에는 이 같은 클라우드 인프라가 미흡한 실정이며, 또한 분석할 수 있는 자체개발 소프트웨어도 부족한 상황이다. 따라서, 기업체뿐만 아니라 학계에서도 이 분야에 대한 선행투자 및 연구가 절실하다.

BT와 IT를 융합하여 Big data를 분석하는 생물정보 시장은 급속한 성장세를 보일 것으로 예상되고 있으며, 이 같은 생물정보 분야는 현재 시장형성 초기 단계이므로 조기에 우수한 아이디어(또는 사업모델) 및 소프트웨어, 더 나아가 플랫폼을 개발한다면 미래 생명공학 및 의료산업의 핵심이 될 생물정보 시장을 선점할 수 있을 것이다.



IX. 식물병원성 미생물(진균) 연구동향

IX. 식물병원성 미생물(진균) 연구동향

강원대학교 김경수 교수

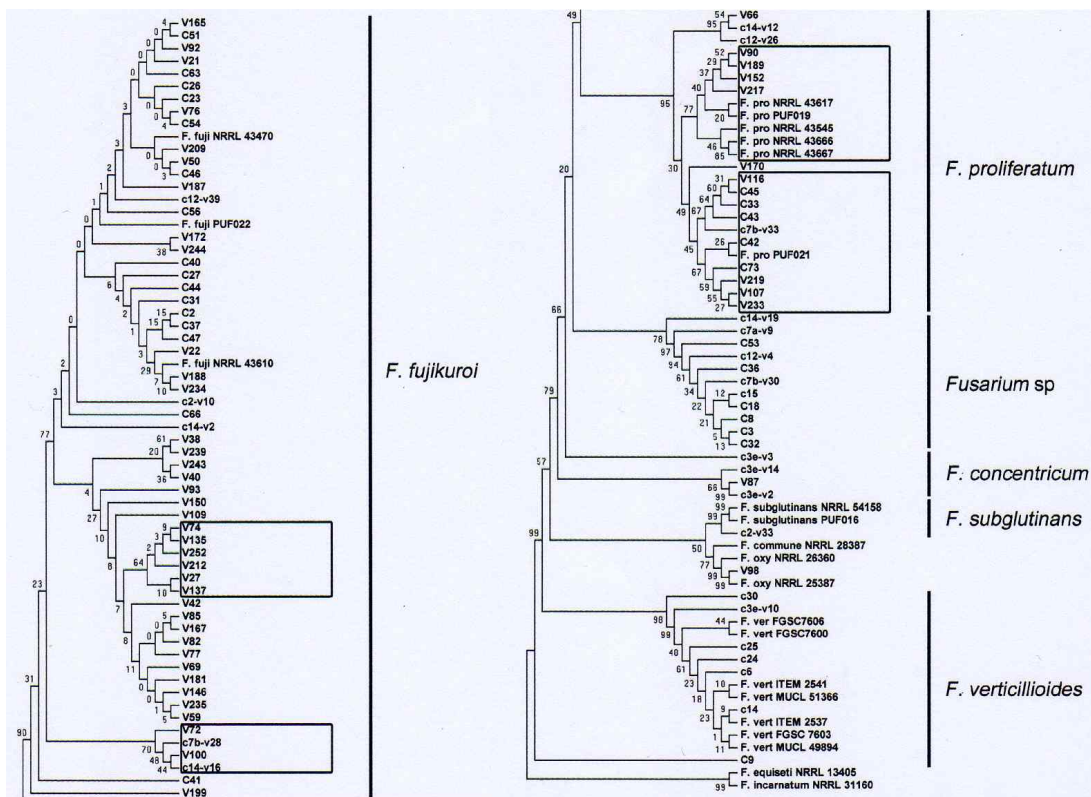
제1절 개요

식물병원균의 발달과 발병에 관한 연구는 생명현상에 대한 과학적 이해 및 지식 축적 면에서 그리고 시대에 부응하는 새로운 방제기법 개발에 있어 매우 중요하다. 첨단 생명과학기술의 발달로 인하여 과거의 “one gene one postdoc” 연구접근에서, 현재는 수백 수천 개의 유전자를 동시에 분석하는 “integrated genomics” 으로 연구방식이 전환되었다. 이런 패러다임의 변화를 가져온 가장 큰 요인은 DNA 염기분석 기술 분야의 발달과 그로 인한 비용 절감이라 할 수 있다. 1985년에 31억 쌍의 DNA 염기서열로 구성된 인간게놈을 해독하자는 제안은, 그 당시 염기 당 1달러의 비용이 들었기 때문에, 천문학적인 비용이 드는 엄청난 사건이었다. 하지만 인간게놈 해독 실행은 첨단 염기서열분석기술의 발전을 초래하여 인간게놈 해독이 완성된 2003년에는 분석비용은 염기 당 0.00001페니로 절감되었고, 동시에 관련 연구 분야, 특히 생물정보학의 분야의 괄목할 만한 발전을 유도하여 빅데이터 유전정보의 효과적인 분석에 크게 기여하였다.

최첨단 염기서열 분석기법은 식물병원균 연구 분야에도 적용되어 많은 발전과 변화를 불러 일으켰다. 과거의 모델 미생물체 중심의 연구 틀에서 벗어나 중요한 식물병원균에 대한 연구기반이 조성되었다. 식물병원성 미생물의 연구는 크게 진단시스템 개발, 생물제제 개발, 그리고 독소저감기술 및 안전성 확보방향으로 진행되고 있으며, 유전자 기능 분석에 있어서도 signaling pathways에 관여하는 조절유전자 중심의 연구에서 hypothesis-driven transcriptome이나 proteome 연구와 이를 통해 밝혀진 network에 기반을 둔 단계별 주요 유전자의 기능분석으로 발전하였다. 또한 최근에 들어서 한 미생물의 유전체에 존재하는 같은 기능 분류에 속하는 모든 유전자의 기능을 밝히는 연구가 진행되고 있다. 예를 들어 모든 전사인자를 대상으로 결손돌연변이체를 만들어 그 기능을 high-throughput 방식으로 밝히거나, kinase를 코딩하고 있는 모든 유전자의 기능을 밝히는 kinome study가 진행되고 있다. 과거에는 같은 전사인자나 kinase 중에서 같은 family에 속하는 유전자들에 대한 기능을 분석하는 경향에서 더 확장된 규모로 진행되고 있다. 또한 transcriptome과 metabolome의 통합적인 분석으로 unknown genes의 기능을 밝히거나 세포내에서 gene-to-metabolite 간의 correlation을 결정하는 연구가 진행되고 있다. 본고에서는 위에서 언급한 일부 연구 분야에 대하여 소개하고자 한다.

제2절 국내 연구동향

기존의 PCR방법 및 real-time PCR 방법을 이용한 식물병원성 미생물을 신속하고 정확히 진단하기 위한 시스템이 개발되었고, 이는 형태학적 분자학적 구분이 어렵거나 전문 인력 없이도 검역 및 진단 과정에서 용이하게 적용되고 있다. 특히 이병조직을 이용한 direct PCR방법은 균배양, 분리배양, 그리고 확인시험에 적어도 3일이상이 소요되는 과정을 불과 몇 시간 만에 진단이 가능하다는 장점이 있다. 식물병원성 미생물의 동정과 검출에 대한 연구와 더불어, 유전체가 해독된 주요 병원균에 대한 계통분류학적 정보에 관한 연구가 또한 활발히 수행되고 있다. [그림 47]은 *Fusarium fujikuroi* species complex에 속하는 *Fusarium* species 의 multilocus sequences를 이용한 계통분류를 분석한 것으로, 각각의 species내에 subclade을 구성하는 isolates를 보여주고 있다.

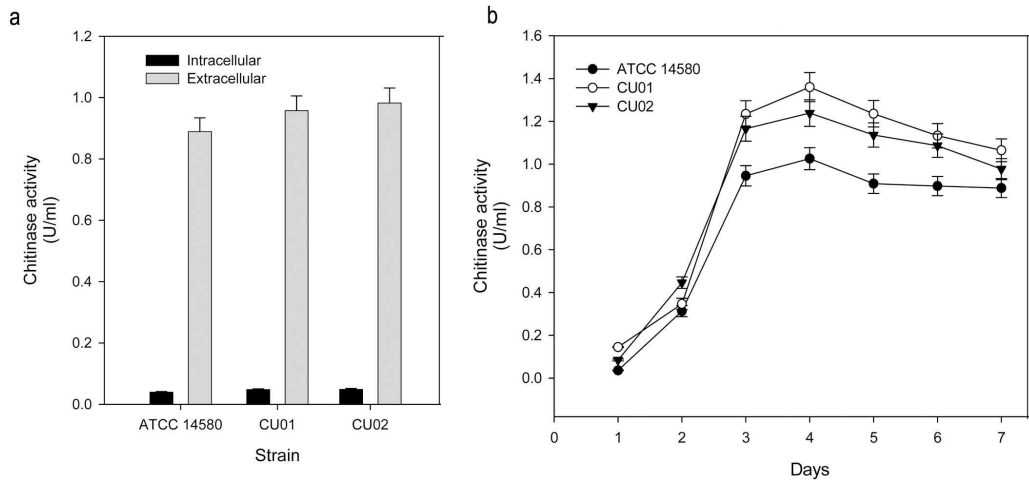


[그림 47] *Fusarium* isolates의 EF1A와 RPB2 염기서열을 이용한 계통분석트리

※ 사각형으로 표시한 것은 각 species의 subclade에 속하는 isolates를 보여주고 있다.

식물병원성 진균 방제를 위한 생물학적 방제제는 바실러스를 비롯한 몇 개 속의 세균에 집중되어 있으며 이들로부터 항진균성활성을 보이는 물질이 분리되어 동정되고 있다. 식물병원성 곰팡이의 세포주성분은 chitin으로 구성되어 있으며, 최근에 chitinase

활성이 높은 *Bacillus licheniformis*을 황토로부터 분리하고, chitinase 최적 생산 조건을 규명하여 항진균 제제로 이용할 수 가능성을 탐색했다. [그림 48]는 황토에서 분리한 *B. licheniformis* strains의 chitinase 활성이 대조구보다 높은 활성을 보이는 것(a)과 최적조건 하에서 배양한 *B. licheniformis*의 chitinase 활성 변화(b)를 보여준다. 미생물을 활용한 친환경농자재의 제제화를 위한 연구가 산학연 협력연구를 통해 활발히 진행되고 있다.



[그림 48] *Bacillus licheniformis*의 chitinase 활성 비교분석

※ (a) *Bacillus licheniformis* strains간의 chitinase 활성 비교

(b) 최적화된 배양조건 하에서 *B. licheniformis* strains의 chitinase 활성 변화 조사

진균독소 저감화 및 관리를 통한 안전성에 대한 연구가 농촌진흥청, 식약처, 대학 연구소를 중심으로 활발히 진행되고 있으며 진균 독소별 유해성평가를 기초로 최대 허용기준, 지침 등을 설정하기 위한 연구가 수행중이며, 동시에 유전체를 활용한 독소 저감에 관여하는 유전자를 동정하고 그 기능을 규명하기 위한 연구가 수행되고 있다. [표 17]은 주요 곰팡이 독소의 IARC 발암등급을 보여주고 있다.

[표 18] 주요 곰팡이 독소의 IARC 발암등급

| 곰팡이 독소 | IARC 발암등급* |
|----------|------------|
| 아플라톡신 B1 | Group 1 |
| 아플라톡신 M1 | Group 2B |
| 오크라톡신 A | Group 2B |
| 푸모니신 B1 | Group 2B |
| T-2 독소 | Group 3 |
| 데옥시니발레놀 | Group 3 |
| 제랄레논 | Group 3 |
| 파툴린 | Group 3 |

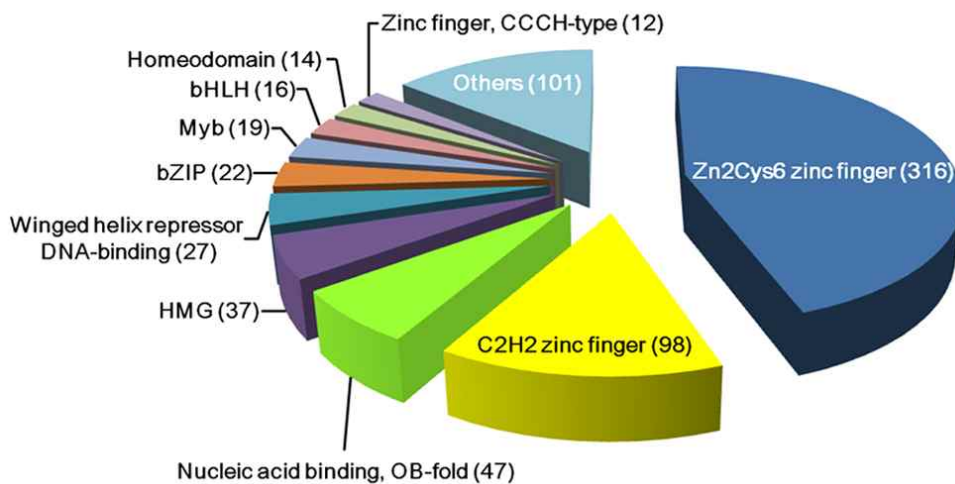
* Group 1: carcinogenic to humans

Group 2A: probably carcinogenic to humans

- Group 2B: possibly carcinogenic to humans
- Group 3: not classifiable as to carcinogenicity to humans
- Group 4: probably not carcinogenic to humans

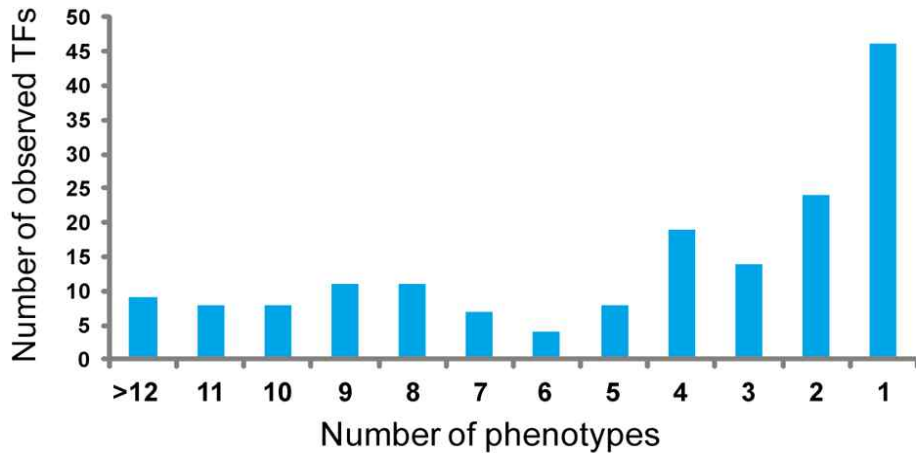
국내 식물바이러스 유전체 연구는 주로 대학 및 연구소를 중심으로 연구가 진행되고 있으며, 과거에는 병징을 보이는 식물샘플로부터 바이러스 동정 뒤 참고 유전체를 바탕으로 PCR 에 의한 cloning 방법을 통해 개별적인 식물바이러스 유전체 연구가 진행되었다. 최근에는 NGS 방법을 이용하여 많은 종류의 식물바이러스들이 동정되고 있으며, 얻어진 부분 염기서열을 바탕으로 다시 PCR 에 의한 cloning을 수행하여 유전체 연구를 수행하고 있다.

전사조절인자는 환경 및 내외부의 신호에 반응하여 필요한 유전자의 발현을 조절함으로써 환경 적응 및 분화 그리고 발병을 조절하는 매우 중요한 역할을 수행하는 유전자이다. Cereal head blight의 원인균인 *Fusarium graminearum* 유전체에 존재하는 전체 전사조절인자의 기능분석이 국내연구진에 의해 수행되어 PLoS Pathogen 에 발표된 내용을 소개한다. 식물병원균마다 서로 다른 개수의 전사조절인자를 가지고 있으며 *F. graminearum*은 전체 유전자의 6.1% (657개)가 전사조절인자이며, [그림 49]은 DNA-binding motif 별 전사조절인자의 비율을 나타내고 있으며 zinc finger에 속하는 전사조절인자가 큰 비중을 차지하고 있음을 보여주고 있다.



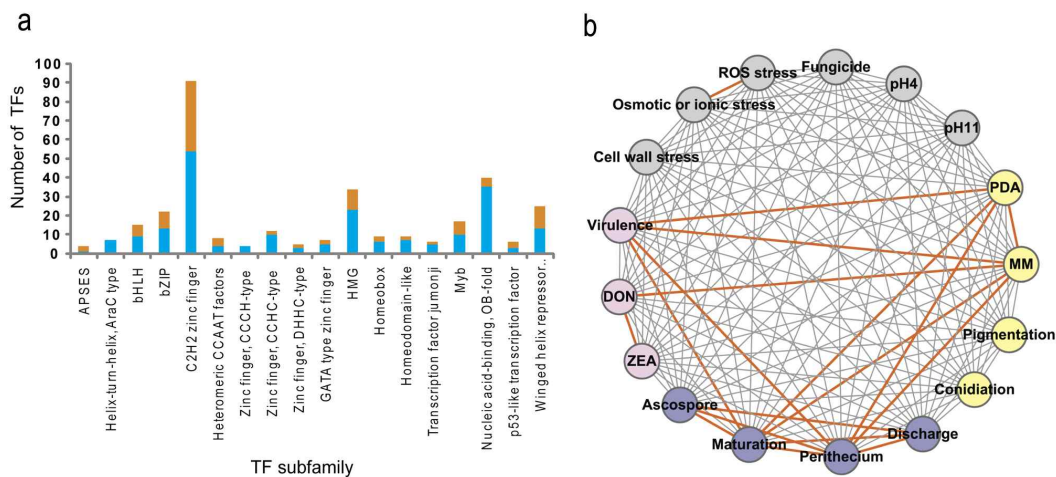
[그림 49] *Fusarium graminearum*에 존재하는 DNA-binding motif 별 전사조절인자의 비율

※ zinc finger에 속하는 전사조절인자가 큰 비중을 차지하고 있음을 보여주고 있다.



[그림 50] *Fusarium graminearum*의 표현형별 관여하는 전사조절인자의 개수
 ※ 가로축은 나타난 표현형의 개수를 나타내고, 세로축은 TF의 개수를 나타냄.

각 전사조절인자들의 기능을 결손돌연변이체를 이용하여 조사한 결과, 많은 돌연변이체는 한 가지의 표현형을 보여 해당 전사인자가 특이적인 기능에 관여함을 알 수 있었고 반면에 여러 돌연변이체는 많은 표현형을 보여 다양한 형질에 그 기능이 관여함을 알 수 있었다[그림 50]. 전사조절인자 결손돌연변이체의 기능분석조사는 같은 family에 속하는 전사조절인자 내에서도 표현형에 관여하는 유전자와 표현형이 없는 유전자로 구분됨을 알 수 있었다[그림 51-a]. Pearson's correlation coefficient (PCC) 값에 의거한 표현형간의 연관성을 조사하여 유성생식, 병원성, 성장, 독소 생성 등에 높은 연관성을 찾을 수 있었고, 특히 유성생식에서 자낭생성과 성숙, 자낭포자 생성간에 높은 연관성을 볼 수 있었다[그림 51-b].



[그림 51] 전사조절인자 결손돌연변이체의 기능분석조사

- ※ a) 전사조절인자 family 별 표현형을 보이는 것 유전자(오렌지색)와 보이지 않는 유전자(청색) 개수.
- b) 표현형간에 연관성 조사. 오렌지색 선은 positive correlation을 나타냄.

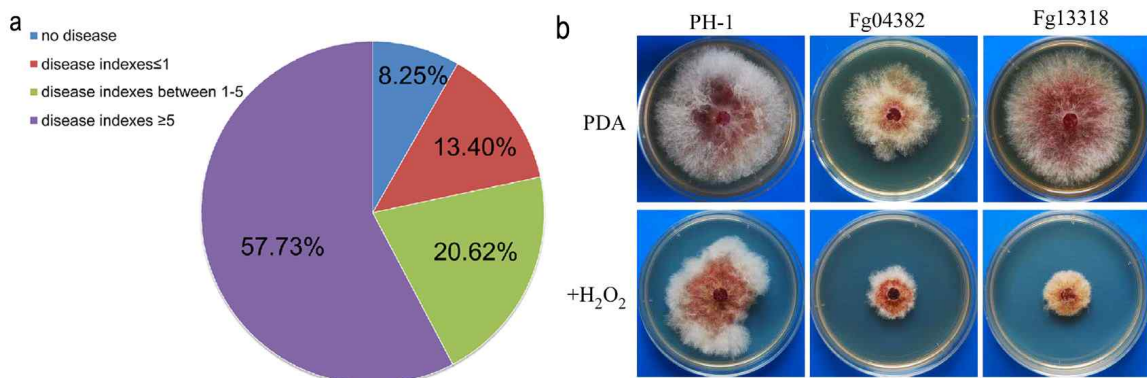
제3절 해외 연구동향

Fusarium 속 곰팡이를 대상으로 종별, 종내 집단별 개별대립유전자가 동정되어 이를 기반으로 진단용 프라이머가 개발되고 있으며, 대학 내 식물진단학센터를 중심으로 식물병원성 진균에 대한 진단 및 방제법에 대한 매뉴얼이 제작되고 있다. 국내의 연구동향과 유사하게, 식물병원성 진균에 대한 세균 및 진균을 활용한 방제제 개발이 이루어지고 있고 이들의 작용기작에 대한 연구가 활발히 수행중에 있다. 진균 유전체를 기반으로 동정한 독소 저감 유전자를 활용하여 식물형질전환체를 제작하여 병에 대한 저항성을 증가시키고 독소 오염을 낮추기 위한 연구가 진행되고 있다. 국외 식물바이러스 유전체 연구는 NGS 기술을 바탕으로 대규모 식물바이러스 동정 연구가 이루어지고 있으며, 동정된 식물바이러스에 대한 유전체 연구가 수행되고 있다. 바이러스 순수 정제 및 NGS를 통해 식물바이러스 유전체 조립이 이루어지고 있으며, small RNA sequencing을 통해 식물바이러스 유전체 조립이 이루어지고 있는 상황이다. 또한 새롭게 보고되는 식물바이러스 종류가 점차 증가하고 있다. 다양한 생물정보학 프로그램을 이용하여 유전체의 기능을 예측하는 연구가 동시에 시도되고 있으며, 표 2는 분비 단백질을 예측하기 위한 일부 생물정보학 tools을 보여준다.

[표 19] Bioinformatics tools for prediction of secreted proteins

| Tool | Features | Websites |
|--------------|-------------------------------------|---|
| PrediSi | Signal peptide prediction | http://www.predisi.de/ |
| SpScan | Signal peptide prediction | http://www.csd.hku.hk/bruhk/gcgdoc/spscan.html#local |
| Signal-BLAST | Signal peptide secretion | http://sigpep.services.came.sbg.ac.at/signalblast.html |
| WoLF PSORT | Subcellular prediction | http://wolfsort.org/ |
| LipoP | Lipobox signal prediction | http://www.cbs.dtu.dk/services/LipoP |
| NClassG+ | Non-classical secretion prediction | http://www.biolisi.unal.edu.co/web-servers/nclassgpositive/ |
| ProtComp | Subcellular localization prediction | http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=index&group=programs&subgroup=proloc |
| TATFIND | Twin-arginine prediction | http://signalfind.org/tatfind.html |
| SignalP | Signal peptide prediction | http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/ |

유전체 연구에 있어서 주요 regulator 중심으로 연구가 진행되고 있으며, 최근에는 kinome 분석으로 주요 식물병원균에서 전체 kinase 모두를 대상으로 결손돌연변이체를 만들어 high-throughput으로 표현형을 연구하는 방식으로 진행되고 있다. 예를 들어, *Fusarium graminearum*는 약 116개의 protein kinase가 존재하며, 이들에 대하여 결손돌연변이체를 만들어 17개의 표현형을 대상으로 분석하였다. 병원성에 관여하는 protein kinase 의 비율[그림 52-a]과 스트레스에 관여하는 일부 kinase를 보여주고 있다[그림 52-b]. 그리고 전체 protein kinase를 이용한 phylogenetic tree를 만들어 유전적 연관성을 조사하였다[그림 53].



[그림 52] *Fusarium graminearum*에서 protein kinase의 연구

※ (a) 병심각도가 다른 protein kinase 뮤탄트의 비율. (b) oxidative stress 반응에 결함을 보이는 protein kinase mutants.

제4절 향후 전망

식물병원성 미생물 진단 시스템 개발 측면에서는 진단의 정확도와 신속성을 높이기 위해 병원균, 식물병, 기주 정보 및 유전체 정보가 지속적으로 업데이트되어야 하며, 동시에 현장 적용성과 친환경 방제법 개발을 통한 살균 효율성을 높이는 시도가 필요할 것으로 보인다.

생유전체학적 접근을 통한 식물병원성 미생물의 발달과 발병, 그리고 환경 적응에 대한 변이를 규명할 필요성이 있을 것으로 사료된다.

제5절 참고문헌

1. 김기영, 박셋별, 문지혜, 이상대, 이새롬, 장윤정, “황색포도상구균 신속 검출용 간이 진단키트”, *CNU Journal of Agricultural Science*, 40(2): 139-146, 2013.
2. 윤여홍, 서동연, 김현주, 김성환, “PCR 기법을 이용한 *Phoma glomerata*의 특이검출”, *Kor. J. Mycol.* 41(1):52-55, 2013.
3. Ji-Hye Kim, Mi-Ran Kang, Hee-Kyoung Kim, Seung-Ho Lee, Theresa Lee and Sung-Hwan Yun, “Population Structure of the *Gibberella fujikuroi* Species Complex Associated with Rice and Corn in Korea”, *Plant Pathol. J.* 28(4):357-363, 2012.
4. Gui Hwan Han, Ki Moon Bong, Jong Min Kim, Pyoung Il Kim, and Si Wouk Kim, “Production and Characterization of Antifungal Chitinase of *Bacillus licheniformis* Isolated from Yellow Loess”, *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal* 29(3):131-138, 2014.
5. Kil-Jin Kang, Hye-Jung Kim, Yeon-Gyeong Lee, Kyung-Hee Jung, Sang-Bae Han, Sun-Hee Park, and Hye-Yeong Oh, “Administration of Mycotoxins in Food in Korea”, *J. Fd Hyg. Safety*, 25(4):281~288, 2010.
6. 심원보, 전향숙, 배동호, 정덕화, “곰팡이독소의 국가안전관리체계구축을 위한 연구 - 아플라톡신을 중심으로”, 독성물질국가관리사업연구보고서 제4권 *The Annual Report of KNTP*, 2005.
7. Mi Sa Vo Phan, Jang-Kyun Seo, Hong-Soo Choi, Su-Heon Lee and Kook-Hyung Kim, “Molecular and Biological Characterization of an Isolate of Cucumber mosaic virus from *Glycine soja* by Generating its Infectious Full-genome cDNA Clones”, *Plant Pathol. J.* 30(2):159-167, 2014.
8. Son H, Seo Y-S, Min K, Park AR, Lee J, Jin J-M, et al., “A Phenome-Based Functional Analysis of Transcription Factors in the Cereal Head Blight Fungus, *Fusarium graminearum*”, *PLoS Pathog*, 7(10):e1002310, 2011.
9. Mohammad Arif, Shilpi Chawla, N. W. Zaidi, J. K. Rayar, M. Variar and U. S.

- Singh, "Development of specific primers for genus *Fusarium* and *F. solani* using rDNA sub-unit and transcription elongation factor (TEF-1 α) gene", *African Journal of Biotechnology* 11(2):444-447, 2012.
10. Ken Pernezny, Monica Elliott, Aaron Palmateer and Nikol Havranek, "Guidelines for identification and management of plant disease problems: part II. diagnosing plant diseases caused by fungi, bacteria, and viruses" U. S. Department of Agriculture, UF/IFAS Extension Service, University of Florida.
 11. Denise A Marston, Lorraine M McElhinney, Richard J Ellis, Daniel L Horton, Emma L Wise, Stacey L Leech, Dan David, Xavier de Lamballerie and Anthony R Fooks, "Next generation sequencing of viral RNA genomes", *BMC Genomics*, 14(444), 2013. doi:10.1186/1471-2164-14-444.
 12. Yeen Ting Hwang, Melanie Kalischuk, AdrianaF. Fusaro, Peter M. Waterhouse, Lawrence Kawchuk, "Small RNA sequencing of Potato leaf roll virus-infected plant reveals an additional subgenomic RNA encoding a sequence-specific RNA-binding protein", *Virology* 438:61 - 69, 2013.
 13. Dario Caccia, Matteo Dugo, Maurizio Callari, Italia Bongarzone, "Bioinformatics tools for secretome analysis", *Biochimica et Biophysica Acta*, 1834:2442 - 2453, 2013.
 14. Wang C, Zhang S, Hou R, Zhao Z, Zheng Q, et al., "Functional Analysis of the Kinome of the Wheat Scab Fungus *Fusarium graminearum*", *PLoS Pathog*, 7(12): e1002460, 2011.



X. 동물병원성 미생물(세균) 연구동향

X. 동물병원성 미생물(세균) 연구동향

경상대학교 김 석 교수

제1절 개요

국내 산업동물에서 막대한 경제적 손실을 유발하는 주요 세포내 기생성 세균(브루셀라 균, 살모넬라 균)의 유전체 분석을 이용하여 핵심 병원성 인자를 규명하고, 이들 병원균의 병원성 인자의 해석이 본 질병을 제어하는데 필수적이다.

또한, 숙주세포와의 상호작용에 기초한 발병기전 및 숙주 내재성 제어기전 해석은 이들 병원체로부터 산업동물의 피해를 최소화 함과 동시에 국민 보건 증진 함양에 선행되어야 할 과제이다.

감염병의 효과적인 관리를 위해서는 원인 병원체의 총체적인 분석을 바탕으로 진단, 백신 및 치료제 개발에 응용될 수 있는 분자 생물학적 표적을 발굴하는 것이 핵심적인 사안이다.

최근 대용량 분석 기법의 발달로 병원체에 관한 방대한 양의 생물정보자료가 쏟아져 나오고 있고, 이에 대응하여 생물정보학을 통한 생물정보의 선택적 분석과 관리 시스템 운용의 중요성이 크게 증가하고 있으며, 생물정보학적인 분석 및 관리시스템은 이제 단순한 서열비교 및 기능 예측 분석을 뛰어 넘어 후성 유전체학, 단백질 상호작용 그리고 병원체-숙주 상호작용을 총괄 분석하는 시스템 생물학(System Biology)은 질병의 발병 기전 및 치료법 개발에 있어서 핵심적인 학문으로 자리 잡고 있으며, 이의 응용과 적용은 난치성 질병의 치료 및 근절을 위해 필수적인 연구 분야로 인식되고 있다.

제2절 연구동향 분석

1. 국내 연구동향

Brucella spp. 균과 *Salmonella spp.* 균의 특징 중 하나는 세포내 기생하면서 질병을 유발하는 원인체 중 하나임으로, 숙주세포 내 침입에 관여하는 요인과 숙주세포 내 증식에 관여하는 요인이 병원성 인자로서의 핵심이며, *Brucella spp.* 균에 대한 병원성 인자 발굴에 대한 연구는 다양하게 진행되고 있다. 이에 대한 방법으로는 polar mutation 방법, transposon mutation 방법 등 여러 가지가 소개되고 있으나 그중 transposon mutation 방법이 가장 일반적인 방법으로 알려져 있다.

최근까지 알려진 *Brucella spp.* 균의 병원성 인자로는 Type IV secretion system, zinc uptake system, pyrazinamidase, DNA/RNA metabolism, cytochrome oxidase,

stringent response 등이 밝혀졌으나 이외에도 다양한 인자가 있을 것으로 예측되어져 많은 연구가 진행되고 있다.

최근까지 알려진 *Brucella* 균의 세포내 침입에 관여하는 요인으로는 균축 요인으로 Lipopolysaccharide (LPS), Type IV secretion system(virB), stringent response regulator 등이 밝혀졌고, 숙주 세포 측 요인으로는 lipid rafts-associated molecules로서 GPI anchored protein, GM1 ganglioside, cholesterol, scavenger receptor, prion protein 등이 밝혀졌으나 이외에도 다양한 요인이 작용할 것으로 예상되어져 많은 연구가 진행되고 있다.

백신 산업을 크게 구분하면, 인체용 백신과 동물용 백신으로 나눌 수 있으며. 그중 본 그룹에서 연구할 부분은 동물용 백신에 관련된 분야임. 우리나라의 동물용 백신 사업은 크게 성장하여, 이제는 선진국과 경쟁 할 만큼 국내의 수의 미생물학 분야도 급속히 발전하여 국내 동물자원산업의 발전에 기여하고 있다.

동물용 백신 관련 기술은, 가축의 질병예방 뿐만이 아니라 전 세계적으로 이슈화 되고 있는 생물무기 (두창, 탄저균 등), SARS (중증 급성 호흡기 증후군), AI (조류 인플루엔자)등 인수공통전염병(Pandemic zoonosis)에 대한 대응기술개발에 많은 공헌을 하고 있으며, 국가적으로도 전략 사업으로 인식되고 있으며, 국내 브루셀라감염증 및 살모넬라 감염증에 의한 피해는 전 세계적으로 가장 심각한 수준이다.

이러한 문제로 인하여 국내의 연구는 진단, 역학 및 예방분야에 집중되어 있으며, 숙주와 균의 상호작용에 기초한 연구는 전무한 실정이며, 기존의 균축 인자 해석에 중점을 둔 발병기전 해석과 감염시 숙주의 반응에 기초한 오믹스 분석은 기초단계로 미흡한 실정이며, 실험동물 및 목적동물 감염 후 나타나는 시스템 생물학(System Biology) 분석이 미흡하여 이에 대한 대책이 요구되고 있다.

브루셀라균 및 살모넬라균은 세포내 기생하며 질병을 유발하기 때문에 숙주와 균의 상호작용에 기초한 연구가 필수적인 사안이며, 전 세계적으로 브루셀라균 및 살모넬라균의 탐식기전 및 세포내 증식기전에 대한 연구는 진행되고 있으나, 브루셀라균의 탐식세포 내 탐식기전 및 증식기전 연구는 미흡한 실정이다.

브루셀라균 및 살모넬라균의 숙주 세포 및 감염동물에서 발현되는 병원성 인자 및 발병기전에 대한 연구가 미흡한 실정이지만, 최근 병원체-숙주 상호작용을 총괄 분석하는 시스템 생물학(System Biology)은 질병의 발병기전 및 치료법 개발을 위해 활발하게 진행되고 있으며, 이를 토대로 한 세포내 기생성 세균 감염증 발병기전 해석이 기대되고 있다.

선진국의 경우 숙주의 수용체 매개 내재성 제어기전을 이용한 난치성 세균 감염병

치료 및 예방법의 개발에 박차를 가하고 있으며, 이는 감염의학의 획기적 발전을 구축할 것으로 기대 되고 있다.

국내의 경우 브루셀라 및 살모넬라 관련 전문가의 부족, 편향된 연구, 정책적 지원 부족 등으로 인하여 본 질병에 의한 피해가 매년 되풀이 되고 있으며, 국민보건에 상당한 위협을 초래하고 있어서, 이에대한 대책 마련이 시급한 실정이다.

기존의 연구들이 이미 알려진 병원성 인자에 대한 발병기작에 대한 단편적이고 일차원적인 연구가 대부분인 것에 비해, 다양한 오믹스 기법을 활용하여, 병원성 인자의 통합적 분석 및 표적 생체분자를 통하여 병원성 기작에 대한 통합적 연구를 토대로 본 질병을 제어 할 수 있는 연구가 추후 진행 될 것으로 판단된다.

브루셀라 및 살모넬라균등 병원성을 나타내는 균의 감염 시 나타나는 유전체 발현 양상의 변화와 관련된 유전체 분석 기술과 관련하여 최근 20여년 간 관련 논문 편수가 증가하는 것으로 보아 꾸준히 연구되는 기술임을 알 수 있음

브루셀라 및 살모넬라균등 병원성을 나타내는 균의 감염 시 생성되는 발병기전과 관련된 유전자의 발현 기작과 매커니즘에 관련하여 최근 20여년 간 관련 논문 편수가 꾸준히 증가하는 기술임을 알 수 있었음. 그러나 발현되는 유전자와 관련하여 백신 생성 기술에 연구는 아직 미비한 단계임.

2. 해외 연구동향

미국과 국내의 연구기관에서는 transposon을 이용한 변이주 작성 및 세포내 생존능 등에 대한 작성 변이주의 특성 등에 대한 조사가 진행 되고 있으며, 미국과 국내의 연구기관에서는 interferon regulatory factor 1-deficient mice (IRF-1^{-/-} mice)을 이용하여 *B. abortus*의 virulence을 결정하기 위한 criteria을 설정하였고 (Rajashekara 등, 2005), *B. abortus*에서 intergrase/recombinase xerD와 monofunctional biosynthesis peptidoglycan transglycosylase 유전자가 in vitro 와 in vivo 에서의 병원성의 관련성을 규명 하였다.

프랑스의 한 대학에서는 Siderophore 2,3-dihydroxybenzoic acid가 *B. abortus*가 세포내에서의 생존에 중요한 역할을 함을 규명하였으며, 영국과 미국의 연구소에서는 cyclic b-1,2 glucan이 *Brucella* 균의 세포내 성장에 중요한 병원성 인자의 역할을 규명하였고, *B. abortus*의 유전체 분석 확립과 *B. melitensis*, *B. suis* 의 sequence 와 비교분석하였다.

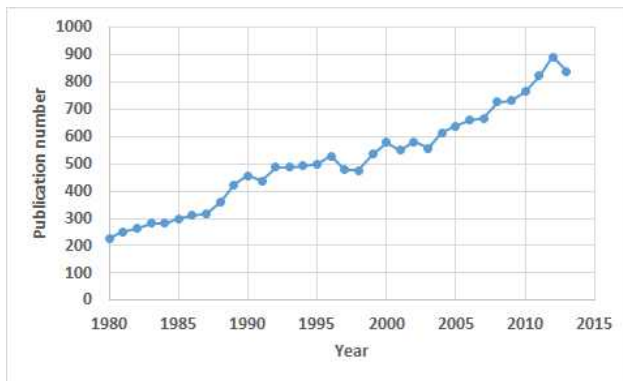
세균성 질병에 대한 백신 개발 : Gram 음성세균 백신의 경우 균체 성분인 LPS (lipopoly-saccharide) 에 의한 발열반응 등의 부작용이 있는 한편, 항원 분자가 너무

커서 항원제시 세포가 항원을 특이적으로 인식하지 못함으로 인해 백신의 효과가 떨어지는 경우가 많기 때문에, 돼지 호흡기의 세균성 질병의 원인체인 *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus sp.*, *Hemophilus sp.* 등은, 균체 또는 균체를 과쇄하여 단백질만을 정제, toxoid화 시킨 subunit 백신이 단일 또는 복합 형태로 개발되어 성공적으로 사용되고 있다.

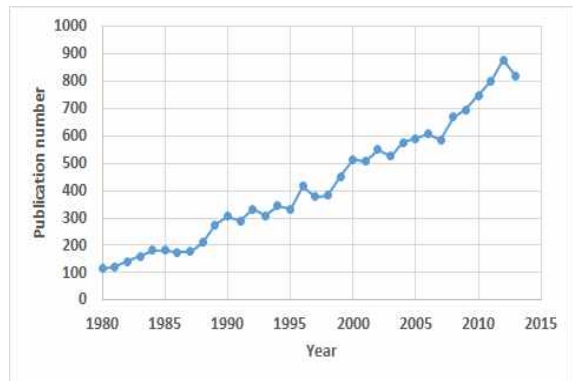
그 중 살모넬라 관련 질병은 면역 기전의 특성상 사균 보다는 생균백신이 효과가 좋으나, 병원성을 없애기 위해 균체의 병원성 유전자를 제거하는 기술이 백신 개발의 관건이다. 닭의 병원체인 *Salmonella gallinarum*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* 등 으로부터 nutritional drift mutant를 이용한 비병원성 생균 백신주가 개발됨으로써 질병을 효과적으로 예방하고 있다.

브루셀라 및 살모넬라균등 병원성을 나타내는 균의 감염 시 나타나는 유전체 발현 양상의 변화와 관련된 유전체 분석 기술과 관련하여 최근 20여년 간 관련 논문 편수가 증가하는 것으로 보아 꾸준히 연구되는 기술임을 알 수 있음

브루셀라 및 살모넬라균등 병원성을 나타내는 균의 감염 시 생성되는 발병기전과 관련된 유전자의 발현 기작과 매커니즘에 관련하여 최근 20여년 간 관련 논문 편수가 꾸준히 증가하는 기술임을 알 수 있었음. 그러나 발현되는 유전자와 관련하여 백신 생성 기술에 연구는 아직 미비한 단계임



[그림 54] 브루셀라 및 살모넬라균 감염 시 발현되는 유전체 분석 기술과 관련 된 논문의 연도별 게재 현황



[그림 55] 브루셀라 및 살모넬라균 감염 시 발병기전 규명 기술과 관련된 논문의 연도별 게재 현황

세계 가축백신 시장에서 경쟁력을 갖춘 새로운 백신 소재의 개발이 필요한데, 그 이유는 동물약품 세계시장규모는 2008년을 기준으로 볼 때 \$17,000 million(약 19조) 수준으로 이 중 백신류는 전체 매출액의 약 24%(약 4조원)를 점하고 있으며, 시장의 나머지 45%는 동남아시아와 남미, 중동지역 등이 차지하고 있는데, 이 지역들은 주로 가축중심의 백신이 주를 이루며, 현재 동남아시아를 중심으로 점점 동물백신의 시장이 커져가고

있는 상황이다. 또한, 국내 동물의약품 시장은 2008년 기준 5,663억원이고 이중 동물백신시장은 1,171억원으로 시장규모가 작은 편임. 하지만 최근 동물백신시장이 급속히 커지고 있으며, 매년 ~25%의 성장세를 보이고 있음. 이는 항생제에 대한 규제강화로 인한 대체효과와 치료대신 예방이라는 인식의 변화로 인해 최근 동물백신에 대한 수요가 커진 것으로 보여진다.

일반적으로 화학제제에 비하여 상대적으로 고가의 제조설비와 전문기술이 요구되는 백신류 제조는 대개 소수의 다국적 선도기업이 주류를 이루는 것이 국제적인 추세로 보여지며 국내상황도 대동소이하어 제조업소는 5개업체에 불과한 반면 수입업은 28개 업체가 등록되어 있다.

기존의 불활화백신 생산기술로 다양한 가축 전염병 변이체 인자에 대해 신속하게 가축을 예방할 수 없으므로 이를 대체할 새로운 백신생산 기술이 필요하다. 2010년 하반기부터 국내에 창궐한 구제역 전염병으로 약 3조원의 물질적인 피해와 이보다 더 심각할 수 있는 환경과 국민정신건강에 대한 피해를 고려해 볼 때, 매년 새로운 변종이 생기는 구제역과 조류인플루엔자 바이러스 등에 신속하게 대처할 수 있는 가축전염병 예방용 백신 개발기술이 절실한 실정이다.

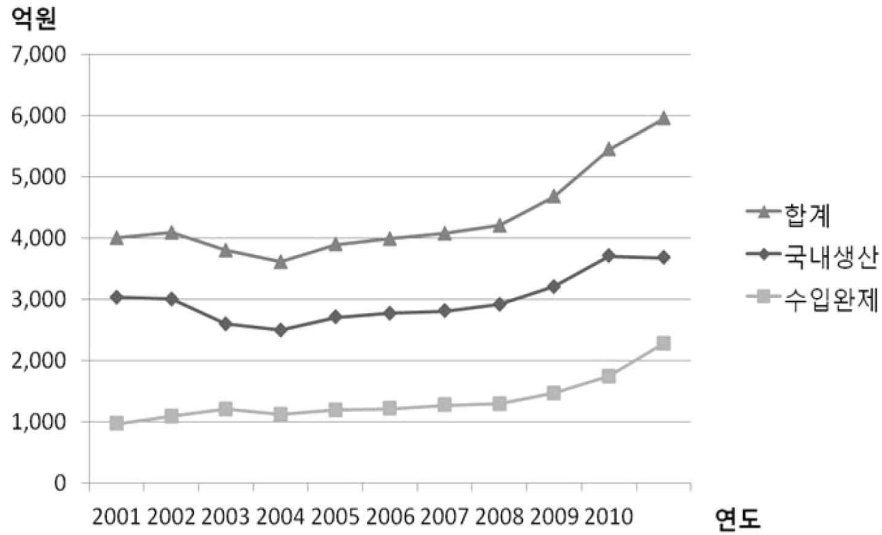
현재 사용되고 있는 동물 질병 백신들은 대부분 불활화백신으로 백신의 투여가 오히려 감염을 초래할 수 있다는 단점을 가지고 있으며, 특히 구제역과 조류인플루엔자 바이러스에 대한 불활화 백신은 연구시설의 부재와 고감염성 가축전염병 관련 연구 규제에 의해 국내 생산이 불가능하다.

국가재난형 가축전염병의 효과적인 방제기술의 일부로 새로운 가축용 백신소재의 개발이 절실하다.

제3절 향후 전망

1. 국내 동향

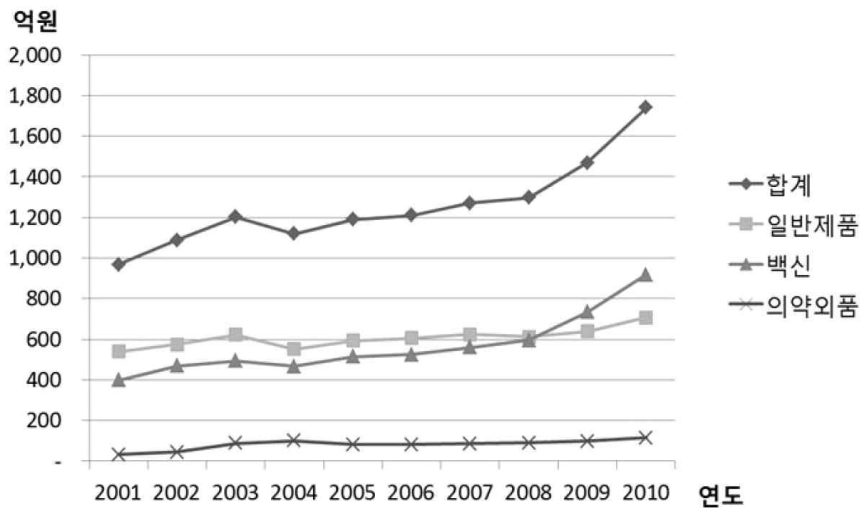
동물용의약품 내수시장에서 국산과 수입산 비중을 비교해보면, 2001년 우리나라의 동물용의약품 산업은 지속적인 성장을 하고 있는데, 내수 시장 규모 (국내 생산 내수용 제품과 수입 완제품 포함)가 2007년 4,076억 원에서 2011년 6,000억 원으로 확대되어 연평균 10%의 성장을 보이고 있고, 2012년은 6,600억 원까지 성장할 것으로 전망되고 있음. 특히, 수출 규모는 내수 규모보다 더 빠른 성장세를 보이고 있는데, 2007년 4,900만 달러에서 2011년 1억 달러까지 연평균 30% 이상의 성장세를 시현하고 있고 2012년에는 1억 2천만 달러가 될 것으로 예측된다.



[그림 56] 동물약품 내수시장 추이

※ 한국동물약품협회 자료 일부 수정

이상과 같은 원료용 수입 감소와 완제품 수입 증가는 우리나라 동물용의약품 내수 시장에서 동물용의약품업체들이 해외 업체와의 경쟁에서 밀려나고 있음을 반영하고 있어 문제점으로 지적됨. 특히, 비중이 증가하고 있는 완제품의 경우 대부분 동물용의약품산업 선진국 제품으로 상품 경쟁력에서 열위를 보이고 있다.



[그림 57] 수입 동물용 의약품 판매 추이

※ 한국동물약품협회 자료 일부 수정

2. 해외 동향

동물용 의약품의 세계 시장은 지속적으로 증가하고 있는데, 2010년 기준 201억 달러 (약 23조원)로 2006년 160억 달러에서 26% 증가한 수치임. 품목별로는 화학제제가 전체

의 63%로 대부분을 차지하고 있고, 지역별로는 북미가 46%로 절반임. 또한 축종별로 보면 가축과 반려동물의 비중이 서로 비슷한데, 앞으로 반려동물 시장이 더 늘어날 것으로 전망된다.

- 품목별 판매 비율 :화학제제 63%,백신 25%,사료첨가제 12%
- 지역별 판매 비율 :북미 46%,유럽 33%,기타 21%
- 축종별 판매 비율 :가축 59%,반려동물 41%

[표 20] 동물용 의약품의 세계 시장 규모 추이

단위: 억 달러

| 연도 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 |
|-------|------|------|------|------|------|
| 시장 규모 | 160 | 179 | 191 | 186 | 201 |

※ 농림축산식품부 자료 일부 수정

동물용의약품의 해외 시장 규모 확대는 우리나라 동물용의약품 산업에 좋은 기회로 다가올 수 있음. 특히, 국내 시장 규모가 세계시장의 3%가 되지 않는 상황에서 우리나라 동물용의약품 업체들이 내수 시장보다는 해외 시장을 보다 적극 공략하여야 할 것임. 다만, 선진국과의 격차 심화와 WTO 및 FTA 확대 등에 따른 시장 경쟁 가속화는 우리나라 동물용 의약품 산업이 반드시 극복해야 할 문제로 부각될 것이다.

제4절 참고자료

1. Kim, S., Watarai, M., Kondo, Y., Makino, S-I. and Shirahata, T. Isolation and characterization of mini-Tn5Km2 insertion mutants of *Brucella abortus* deficient in internalization and intracellular growth in HeLa cells. *Infect. Immun.* 71: 3020-3027, 2003.
2. Kim,S., Watanabe, K., Shirahata, T. and Watarai, M. Zinc uptake system (znuA locus) of *Brucella abortus* is essential for intracellular survival and virulence in mice. *J. Vet. Med. Sci.* 66: 1059-1063, 2004.
3. Kim, S., Kurokawa, D., Watanabe, K., Makino, S., Shirahata, T. and Watarai, M. *Brucella abortus* nicotinamidase (PncA) contributes to its intracellular replication and infectivity in mice. *FEMS Microbiol. Lett.* 234: 289-295, 2004

4. Kim, S., Watarai, M., Suzuki, H., Makino, S-I., Kodama, T. and Shirahata, T. Lipid raft microdomains mediate class A scavenger receptor-dependent infection of *Brucella abortus*. *Microb. Pathog.* 37: 11-19, 2004.
5. Rajashekara G, Krepps M, Eskra L, Mathison A, Montgomery A, Ishii Y, Splitter G. Unraveling *Brucella* genomics and pathogenesis in immunocompromised IRF-1^{-/-} mice. *Infect Immun.* 2006 May;74(5):2925-36.
6. Bellaire BH, Elzer PH, Baldwin CL, Roop RM 2nd. Production of the siderophore 2,3-dihydroxybenzoic acid is required for wild-type growth of *Brucella abortus* in the presence of erythritol under low-iron conditions in vitro. *Infect Immun.* 2003 May;71(5):2927-832.
7. Nagy TA, Moreland SM, Andrews-Polymenis H, Detweiler CS. The ferric enterobactin transporter Fep is required for persistent *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection. *Infect Immun.* 2013, 81(11):4063-70.
8. Chia TW, McMeekin TA, Fegan N, Dykes GA. Significance of the rdar and bdar morphotypes in the hydrophobicity and attachment to abiotic surfaces of *Salmonella* Sofia and other poultry-associated *Salmonella* serovars. *Lett Appl Microbiol.* 2011, 53(5):581-4.

농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단
미생물 유전체 연구동향 분석 보고서

-
- 발행일 : 2015년 8월 7일
 - 발행처 : 농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단
 - 주 소 : 서울특별시 서대문구 연세로50, 연세대학교 첨단과학기술관
(www.imaf.or.kr)
-

이 책에 수록된 내용과 관련하여 문의사항이 있으시면
아래 연락처로 연락주시기 바랍니다.

농림축산식품 미생물유전체전략연구사업단 ☎ 02-2123-8126