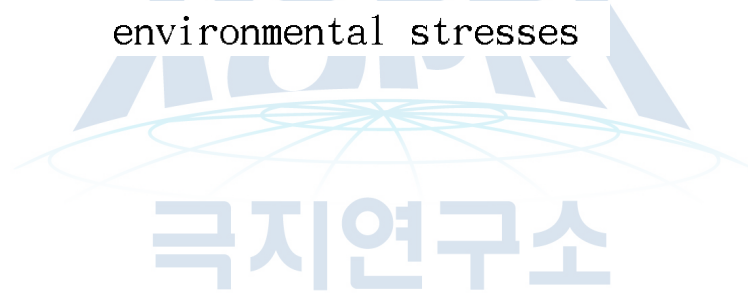


극지요각류에서의 유전체와 대사체 정보 확보  
및 이를 활용한 극지환경적응 기작 연구

Construction of genome and metabolome database of  
polar copepods and its applications for investment of  
their adaptation and defense mechanism in response to  
environmental stresses

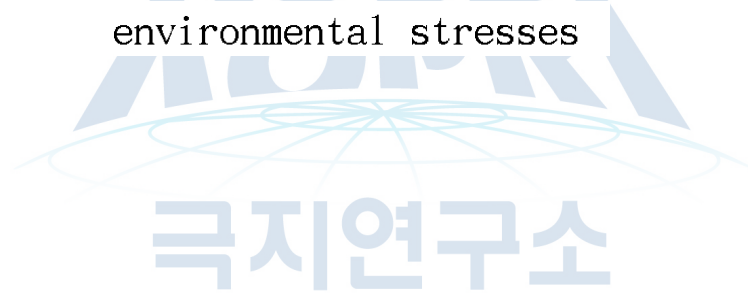


성균관대학교 산학협력단



극지요각류에서의 유전체와 대사체 정보 확보  
및 이를 활용한 극지환경적응 기작 연구

Construction of genome and metabolome database of  
polar copepods and its applications for investment of  
their adaptation and defense mechanism in response to  
environmental stresses



성균관대학교 산학협력단

# 제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “극지적응 고유생물 유래 대사체의 상용화 구축사업” 과제의 위탁연구 “극지요각류에서의 유전체와 대사체 정보 확보 및 이를 활용한 극지환경적응 기작 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.



2020. 01. 20.

총괄연구책임자 : 임 정 한  
위탁연구기관명 : 성균관대학교 산학협력단  
위탁연구책임자 : 이 재 성  
위탁참여연구원 : 이 민 철  
“ : 윤 덕 서  
“ : 김 민 섭  
“ : 이 진 솔

## 보고서 초록

위탁연구과제명	극지요각류에서의 유전체와 대사체 정보 확보 및 이를 활용한 극지환경적응 기작 연구				
위탁연구책임자	이 재 성	해당단계 참여연구원수	4명	해당단계 연구비	145,000,000 원
연구기관명 및 소속부서명	성균관대학교 산학협력단		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
요약				보고서 면수	39
<p><b>○ 연구목적</b></p> <p>본 연구과제의 목적은 &lt;극지요각류에서의 유전체와 대사체 정보 확보 및 이를 활용한 극지환경적응 기작 연구&gt;에 있다.</p> <p><b>○ 연구 수행 내용</b></p> <p>극지요각류의 유전체와 대사체 정보 확보 및 환경변화에 따른 유전체와 대사체의 변화 측정</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-극지요각류의 유전체 및 단백질체 동정</li> <li>-극지요각류의 환경변화에 따른 유전체 발현 변화</li> <li>-극지요각류의 자외선 노출에 의한 단백질체 발현 변화 분석 및 대사체 생성경로 파악</li> </ul> <p><b>○ 연구개발결과의 활용</b></p> <p>본 연구를 통해 확보된 해양 극지요각류의 유전체 및 단백질체를 활용하여 극지 해양 환경변화에 따른 생명현상에 대한 연구에 적용할 수 있고, 분자수준에서 관찰되는 생물 영향과 개체수준에서의 변화에 대한 비교연구는 국내외 다양한 분야의 연구자들에게 극지생물의 극한 환경 적응기작 규명 및 극지 생태환경 연구를 위한 기초자료로 활용될 것이며, 향후 생태계의 변화를 이해하는데 중요한 자료로 활용될 수 있을 것이다.</p>					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	극지요각류, 유전체, 단백질체, 자외선, 해독기작,			
	영 어	Antartic copepod, transcriptome, proteome, Ultraviolet B (UV-B), detoxification pathway			

# 요 약 문

## I. 제 목

극지요각류에서의 유전체와 대사체 정보 확보 및 이를 활용한 극지환경적응 기작 연구

## II. 연구개발의 목적

극지요각류의 유전체와 대사체를 확보하고 환경변화에 따른 해당 유전체 및 대사체의 변화정도를 분석하여 극지환경변화에 따른 극지요각류의 적응방식을 파악하고자 한다.

## III. 연구개발의 내용 및 범위

- 극지요각류의 유전체와 대사체 정보 확보 및 환경변화에 따른 유전체와 대사체의 변화 측정
- 극지요각류의 유전체 및 단백질체 동정
  - 극지요각류의 환경변화에 따른 유전체 발현 변화
  - 극지요각류의 자외선 노출에 의한 단백질체 발현 변화 분석 및 대사체 생성경로 파악

## IV. 연구개발결과

- 극지요각류에서 유전체 및 단백질체 정보를 확보하였다. 환경변화에 따른 유전체 및 단백질체 변화를 분석하였다.
- 확보된 유전체 및 단백질체 정보를 활용하여 환경변화에 의해 유발되는 극지요각류의 적응기작을 분자수준에서 규명하였다.

## V. 연구개발결과의 활용계획

극지 해양 환경변화에 따른 극지 해양생물의 생태학적 영향 분석에 대한 기초자료를 제공 및 환경변화가 극지 해양생물에 미치는 영향에 대해 개체수준 및 분자기작에 미치는 영향에 대한 기초자료 제공

# S U M M A R Y

## **I. Title**

Construction of genome and metabolome database of polar copepods and its applications for an investment of their adaptation and defense mechanism in response to environmental stresses

## **II. Purpose of R&D**

The purpose of this study is to identify genomes and proteome of the Antarctic copepod and to analyze the modulation of the genomes and metabolites according to environmental changes.

## **III. Contents and Extent of R&D**

Identify the genome and metabolome of the Antarctic copepod and measure changes in genome and metabolome according to environmental changes.

- Identification of genomes and proteomes.
- Changes in transcriptome expression according to environmental changes.
- Analysis of proteome modulation and metabolite production pathway by UV exposure.

## **IV. R&D Results**

- Genomic and proteomic information was obtained from the Antarctic copepod. The changes in genomes and proteome according to environmental changes, were analyzed.
- Using the obtained genome and proteome information, the mechanism of adaptation of the Antarctic copepod caused by environmental changes was identified at the molecular level.

## **V. Application Plans of R&D Results**

This project can provide basic information on the analysis of the ecological impact on the Antarctic copepod and give an insight into how environmental changes affected the Antarctic copepod at the individual and molecular level.

# 목 차

<b>제 1 장 서론</b>	
1-1. 연구개발의 목적 .....	6
1-2. 연구개발 필요성 .....	6
<b>제 2 장 국내의 기술개발 현황</b>	
1-1. 국내 동향 .....	8
1-2. 국외 동향 .....	8
<b>제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과</b>	
3-1. 연구개발 목표 .....	9
3-2. 연구개발 내용 및 결과 .....	9
<b>제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도</b>	
3-1. 연구개발목표 달성도 .....	33
3-2. 연구개발목표 대외기여도 .....	36
<b>제 5 장 연구개발결과의 활용계획</b> .....	37
<b>제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보</b> .....	38
<b>제 7 장 참고문헌</b> .....	39



# 제 1장 서론

## 제 1절. 연구개발 목적

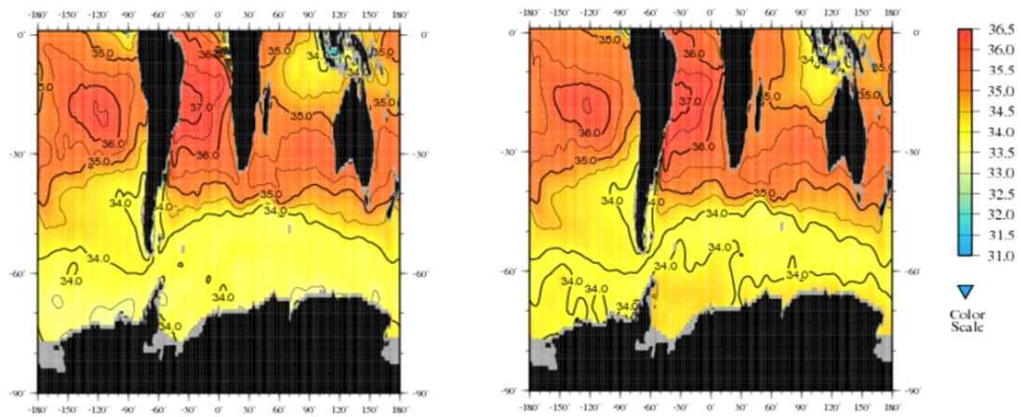
극지요각류의 유전체와 대사체 정보를 확보하고 이를 활용하여 극지요각류가 극지환경에 적응하는 기작에 대하여 연구한다.

## 제 2절. 연구개발의 필요성

1. 최근 지구온난화로 인해 극지역의 생태계가 붕괴되고 있어 이에 대비하기 위한 수많은 연구가 진행되고 있다. 따라서, 극지역의 환경 변화가 생물체에 미치는 생태·생리학적 변화의 관찰과 더불어 분자기작에 대한 연구를 병행하여 수행하여 환경에 의해 유발되는 극지생명체의 먹이사슬 변화 또는 종 분화등에 대한 정보를 예측할 수 있다. 이를 위하여, 유전체 및 단백질체 정보의 수집이 필요하다.

2. 극지생물로부터 유전체 정보 및 대사체를 확보하여 극지생화학 및 분자생물학 분야에서 우수한 경쟁력을 확보할 수 있으며, 국내 기술력을 이용한 극지생물의 유전체 및 대사체 정보의 생화학 및 분자생물학적 활용법 개발로 세계 선도적인 연구집단으로 부상할 수 있다.

3. 남극의 염분은 계절별로 평균 34 psu로 나타나며 큰 변화가 없다 (그림 1). 하지만 지구온난화로 인해 해빙이 녹으면서 일어나는 다양한 염분 및 온도변화에 따른 영향을 고려하여 다양한 조건에서의 영향을 확인할 필요성이 있다. 또한, 남극해의 자외선은 오존층의 두께가 얇아지고 있는 영향으로 다른 지역에 비해 매우 높은 것으로 보고되고 있으며, 향후 기후 변화로 인해 자외선의 증가 할 것으로 예측되고 있다 (그림 2). 따라서 이를 종합적으로 고려하여 극지요각류를 활용한 극지환경변화 조건을 산출하여 이에 따른 영향을 연구할 필요성이 있다.



**Winter (Jan.-Mar.) salinity [PSS] at the surface. (2005 - 2012)**      **Summer (Jul.-Sep.) salinity [PSS] at the surface. (2005 - 2012)**  
 Min Value= 25.72    Max Value= 37.35    Contour Interval= 0.50      Min Value= 29.29    Max Value= 37.42    Contour Interval= 0.50  
 World Ocean Atlas 2013      World Ocean Atlas 2013

그림 1. 남빙해 계절별 염분도(NODC; <http://www.nodc.noaa.gov/>)

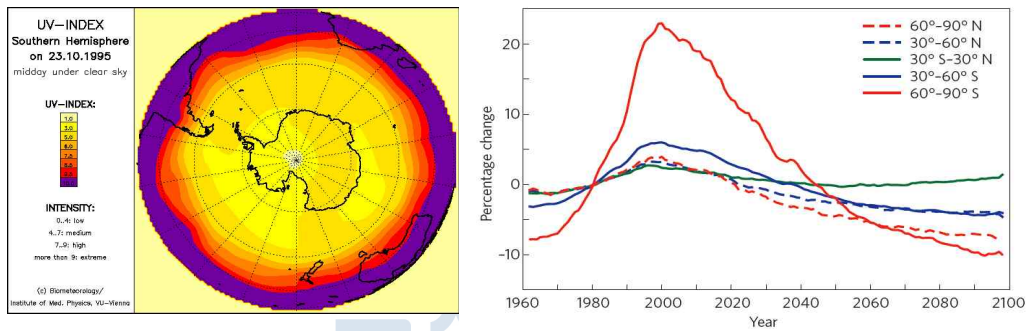


그림 2. 남극지역 UV-index 및 기후변화를 고려한 UV 변화예측도  
 (Williamson CE et al., 2014)

## 제 2장 국내외 기술개발 현황

### 제 1절. 국내 동향

1. 극지 연구 중 기후학, 대기학, 지질학 등에 대비하여 생태 및 생물학 분야는 상대적으로 많은 관심과 집중이 이루어지지 않고 있다. 생태 및 생물학 분야들의 연구는 현재 극지 생태계에 서식하는 생물들의 종 동정 및 분류에 집중되고 있으며, 유전체 정보는 계통분류학에 필요한 수준의 marker DNA나 mitochondrial DNA 등 소수 정보가 활용되고 있다.

2. 극지 생물체 연구에 필요한 안정적인 배양 시설을 갖춘 곳 역시 극지연구소 외에는 없는 실정이며, 기반 인프라와 정부 투자의 부족으로 대학이나 연구소 등 다양한 연구기관의 시설 투자는 현재까지 미비한 수준이다.

3. 극지 생물들을 이용하여 생태계와 환경을 연구하기 위해서는 이미 생태·생리학 및 유전학적으로 잘 밝혀진 모델 생물종이 아닌 비모델생물들에 대한 지식과 연구 경험이 풍부해야 하지만, 모델 생물들이 아닌 비생물종을 이용하여 다양한 측면에서 접근하는 연구 방법을 보유한 연구 기관은 극히 드물다.

### 제 2절. 국외 동향

1. 극지 연구는 현재 선진국들을 중심으로 (영국, 미국, 독일 등) 대규모의 투자가 이루어져 연구들이 수행되고 있으며, 정부 지원 및 기업체 차원에서의 연구 자금 투자가 이루어져 연구결과를 생산하고 있다.

2. 극지연구자들은 주기적으로 “국제극지의 해 (IPY)” 프로그램을 이용하여 극지 뿐 아니라 전 지구적 환경 변화 관련 연구를 수행한다. 이들 프로젝트들 중 상당수는 환경생태 및 생물 관련 연구에 집중되어 있으며, 극지환경 적응에 필요한 생리·생태적 뿐만 아니라 생화학 및 분자생물학적 적응 기작을 밝히고, 극지의 환경 변화에 대한 생물들의 반응과 스트레스 등을 연구하는 것이 중요한 주제이다.

3. 극지 온난화로 인해 발생할 수 있는 환경변화에 따라 나타나는 생물체의 변화 및 생화학적, 대사학적 변화에 대한 연구는 국제적으로도 미진한 수준에 있다.

## 제 3장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1절. 연구개발 목표

최종목표

- 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*를 활용하여 극지환경 적응에 있어 유용한 유전자 정보를 확보하고 극지 환경변화에 따른 대사 경로를 규명한다.

연차별 연구목표

연차	연구 목표	연구 내용
1차년도 (2017)	극지요각류에서의 유전체 및 단백질체 정보 확보	<i>T. kingsejongensis</i> 의 RNA seq. Database 구축
		i-TRAQ를 활용하여 라이브러리 및 DB 확보
2차년도 (2018)	극지환경적응기작 중요 유전체 및 단백질체 marker 동정	극지환경적응기작 중요 관련유전자의 발현 유전체 동정
		극지환경적응기작 중요 단백질체 marker 동정
3차년도 (2019)	극지환경변화 및 오염원에 대한 유전체 및 단백질체 활용과 이를 활용한 대사체 생성경로를 파악	극지환경 변화 및 오염원에 대한 극지요각류의 영향 연구
		극지환경 변화 및 적응에 의해 변화하는 유전체 및 단백질체의 분석

### 제 2절. 연구개발 내용 및 결과

1. 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*의 mitochondrial DNA 염기서열 분석
  - 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*의 mitochondrial genome 전체 염기서열을 분석하였다 (Hwang et al., 2019). 전체 염기서열의 길이는 총 14,940bp이다. 유전자의 배열을 확인한 결과, 같은 *Tigriopus* 속에 속하는 *T. japonicus* 및 *T. californicus*와 는 유전자의 배열이 다른 것을 확인하였다 (그림 3). *T. kingsejongensis*의 mitochondrial 염기서열에는 13개의 protein-coding 유전자, 2개의 리보솜 RNA, 및 22개의 운반 RNA가 존재하였다. 13개의 protein-coding 유전자의 염기서열은 *T. japonicus* 및 *T. californicus*와 각각 53.42, 52.17%의 유사도를 보였으나 아미노산 서열은 64.38, 63.86%의 유사도를 보여 더 높게 나타났다. 이러한 연구결과는

*Tigriopus* 속의 mitogenome 진화의 이해도에 도움을 줄 것이라고 보여진다.

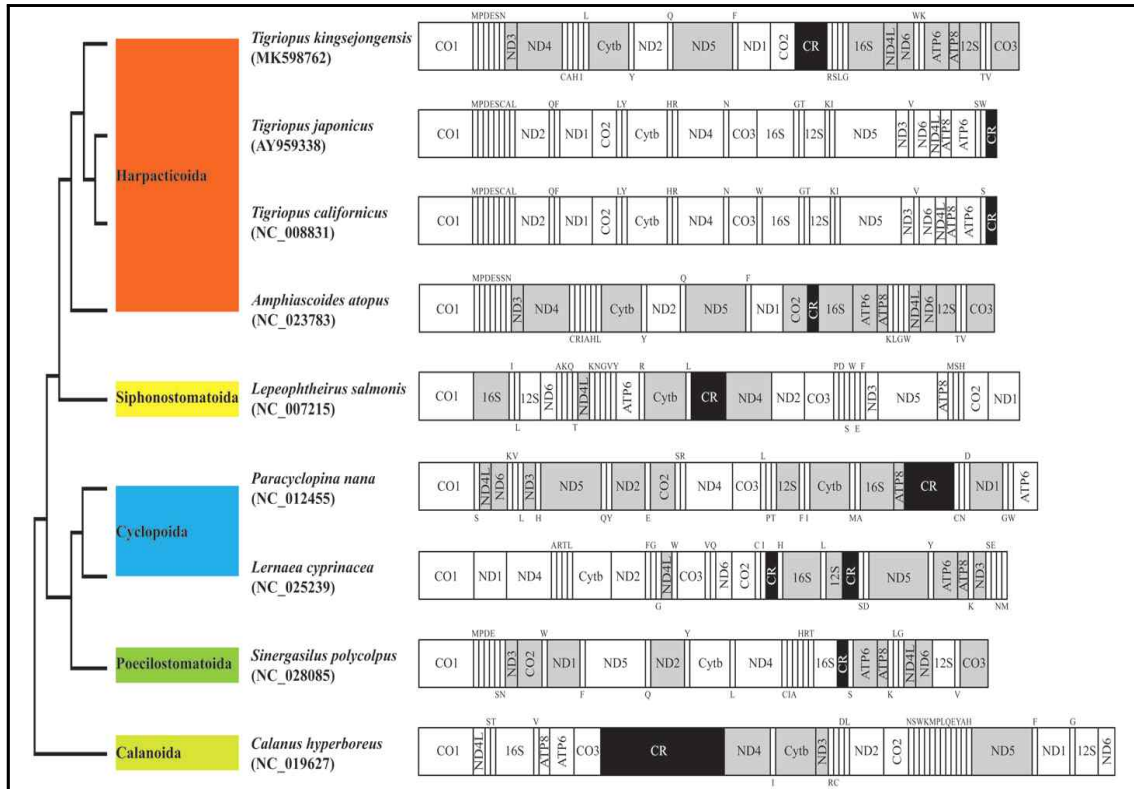


그림 3. 요각류 9종의 mitochondrial 염기서열의 계통도

## 2. 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*의 RNA sequencing Database 구축

### (1) RNA sequencing

- Random sequencing: 본 연구에서는 Illumina Hiseq 2000을 이용하여 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 대규모 발현유전체 정보를 얻어냈다. Illumina Hiseq 2000를 이용한 염기서열 분석은 서울대학교 나이섬에서 sequencing을 수행하였으며, *de novo* assembly 과정과 bioinformatics 툴을 이용하여 전체 발현유전체 정보를 확보하였다. 일련의 assembly 과정을 통해 얻어진 발현유전체 정보를 미국 NIH의 National Center for Biotechnology Information (NCBI) database를 이용하여, 총 38,250개의 contigs를 확보하였으며, 이 data를 Ensemble genome data를 이용하여 gene annotation을 수행한 후 발현유전체 data를 구축하였다. 이 data는 NCBI의 BLAST web page에서 nucleotide 비교 분석이 가능하며, local blast를 통해 database 내의 다른 contig/singleton과 비교 분석이 가능하도록 만들어졌다. data 내의 contig/singleton의 frame 방향과 amino acid match 정보, e-value, 유의성 등이 분석되어 명기되어 있으며, 이를 통해 각 contig/singleton 관련 정보를 한 눈에 알아보기 쉽게 정렬하였다.

- (2) 극지요각류 *T. kingsejongensis* 전체 발현유전체 GO (Gene Ontology) 분석
- Illumina Hiseq 2000와 일련의 assembly 과정을 통해 확보한 *T. kingsejongensis* 발현유전체를 기능별로 분류하고 본 연구의 목적에 맞는 특이 유전자 탐색 및 발굴을 위해 Gene Ontology (GO) 분석을 실시하였으며, 이를 통하여 유전자 분석 및 탐색을 위한 지표를 만들었다. 유전자 GO analysis는 다음과 같은 3가지 큰 분석기준으로 분석하였다. 첫 번째 분석기준은 분자 및 세포수준에서의 일어날 수 있는 ‘Biological process’의 기능을 가지는 유전자들을 다음과 같은 세부 항목으로 분류 및 분석하였다. Biological process에 대한 GO analysis는 대표적인 20개의 기능을 이용하여 분석하였으며, 그 결과 cellular process, metabolic process, single-organism 이 가장 높게 나타났다. 두 번째 분석 기준은 생물체를 구성하는 형태상의 기본 그리고 생명현상을 나타내는 기능상의 최소단위인 세포의 성분에 관여하는 ‘Cellular component’이며, 각 세부 항목별 발현유전체의 위치를 분석하였다. Cellular component에 대한 GO analysis는 총 14개의 기능을 이용하여 분석하였으며, 그 결과 binding, catalytic activity, transporter activity 이 가장 높게 나타났다. 세 번째 분석기준은 세포내의 유기적 생명현상의 발생, 유지, 조절에 관여하는 분자적 논리에 기반을 두고 기능을 분리한 ‘Molecular function’이며 다음과 같은 세부 항목으로 분류하였다. Molecular function에 대한 GO analysis는 총 10개의 기능을 이용하여 분석하였으며, 분석결과 binding activity가 가장 높은 이유는 세포내에서 일어나는 모든 mechanism 이 binding과 interaction이기 때문에 binding에 관련된 유전자가 가장 많이 분석된 것으로 생각되며 요각류 뿐만 아니라 타생물종의 GO analysis에서도 대부분의 조직에서 binding과 관련된 유전자가 50% 가까이 차지했던 것으로 알려져 있다 (그림 4).



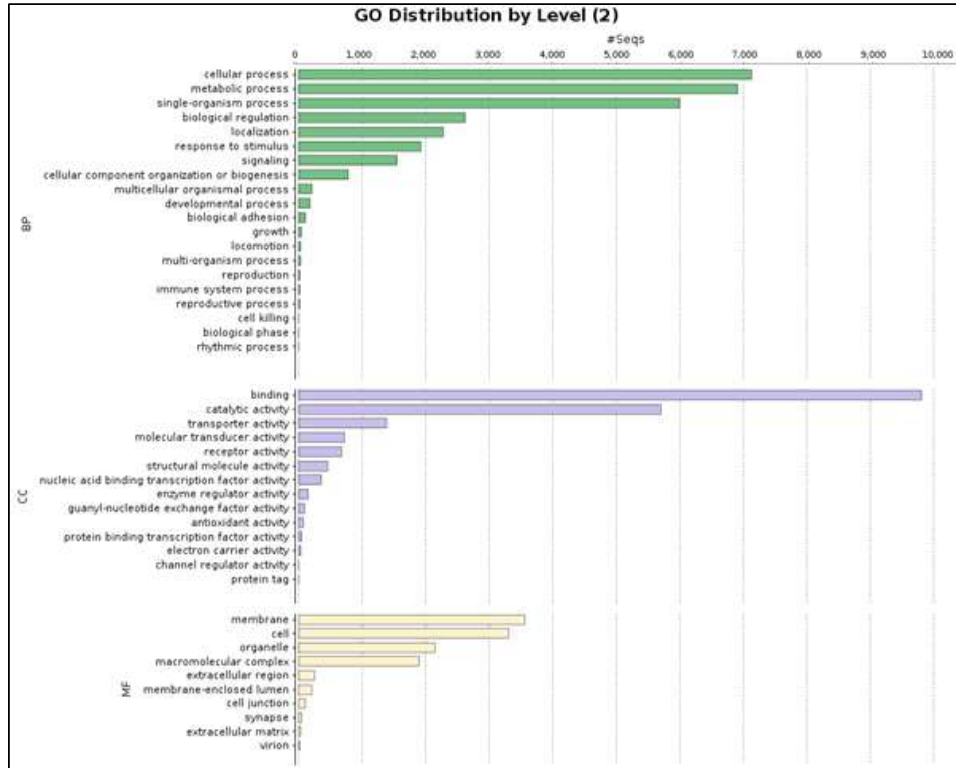


그림 4. Gene Ontology (GO) 분석

(3) 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*의 Jbrowse 제작

- 발현유전체 데이터와 새로 분석한 genome 정보를 활용하여 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*의 Jbrowse를 제작하였다 (<http://rotifer.skku.edu:8080/Tk>). Jbrowse에는 scaffold에 위치한 유전자의 이름, 위치, 전사방향, exon 및 intron의 개수 등의 정보가 기록되어있어 손쉽게 우리에게 필요한 정보를 수확할 수 있다는 장점이 있다 (그림 5).

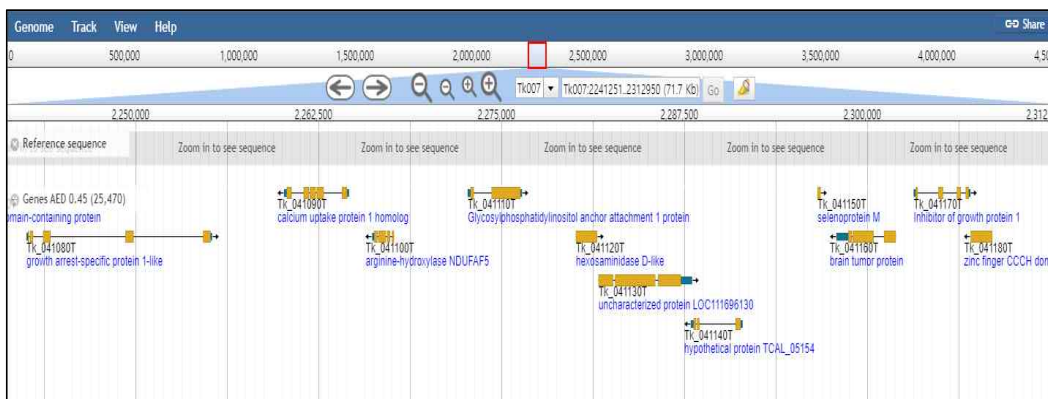


그림 5. 극지요각류의 Jbrowse의 예시

- 최종적으로 구축된 극지요각류의 유전체 및 genome 서열의 정보는 아래 표와 같다 (표 1과 2).

표 1. 극지요각류의 genome scaffold 정보

Scaffold information	
Number of scaffolds	937
Length of scaffolds (bp)	338,597,028
N50 (bp)	1,473,880
Largest scaffold (bp)	9,103,457
Gap (%)	0.16
GC content (%)	47.3

표 2. 극지요각류의 유전체 정보

Categories	Statistics
Number of genes	25,470
Total coding sequence length (bp)	35,739,996
Average gene length (bp)	3,814
Largest gene length (bp)	114,816
Average CDS length (bp)	1,403
Average intron length (bp)	847
GC content (%)	53.04

- 본 연구를 통해 확보한 극지요각류의 유전체 데이터베이스를 기반으로 하여, 향후 극지생태계의 이해를 위한 연구에 활용할 수 있을 것이라고 기대된다.

### 3. 극지요각류의 극지환경적응기작 중요 발현 유전체 동정

#### (1) RNA sequencing data base를 활용한 지표유전자군 검색

- 극지요각류에서의 RNA sequencing DB를 확보한 후 database 내에서 detoxification, oxidative stress나 DNA-repair mechanism에 관련된 유전자의 sequence들을 선별한다. 극지환경변화에 의한 이들 유전자의 상관관계를 알아보기 위해 다양한 기작들에 포함된 유전자들을 선별하여 annotation을 하였다.

#### (2) 극지요각류 면역 관련 유전자의 발굴

- 요각류의 극지 환경변화에서 나타날 수 있는 특정 면역 관련 유전자의 발굴과 이에 관련된 메카니즘 분석을 통하여 환경변화 및 오염원 연구의 진행 및 이에 관련된 생리적 반응에 대한 분자적 이해를 도울 수 있으리라 기대된다. 확보된 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 RNA sequencing database를 활용하여 잘 알려진 면역 체계 시스템 (그림 6)을 참고하여 8개의 toll or toll



like receptor (TLR)을 발굴하였다 (그림 7). TLR의 활성화는 신호전달을 거쳐 *NF-κB*의 활성화로 이어진다. 이에 nuclear factor κB (*NF-κB*)와 lipopolysaccharide-induced TNF-α factor (*LITAF*)를 발굴하였으며, 두 유전자의 domain을 분석하였다.

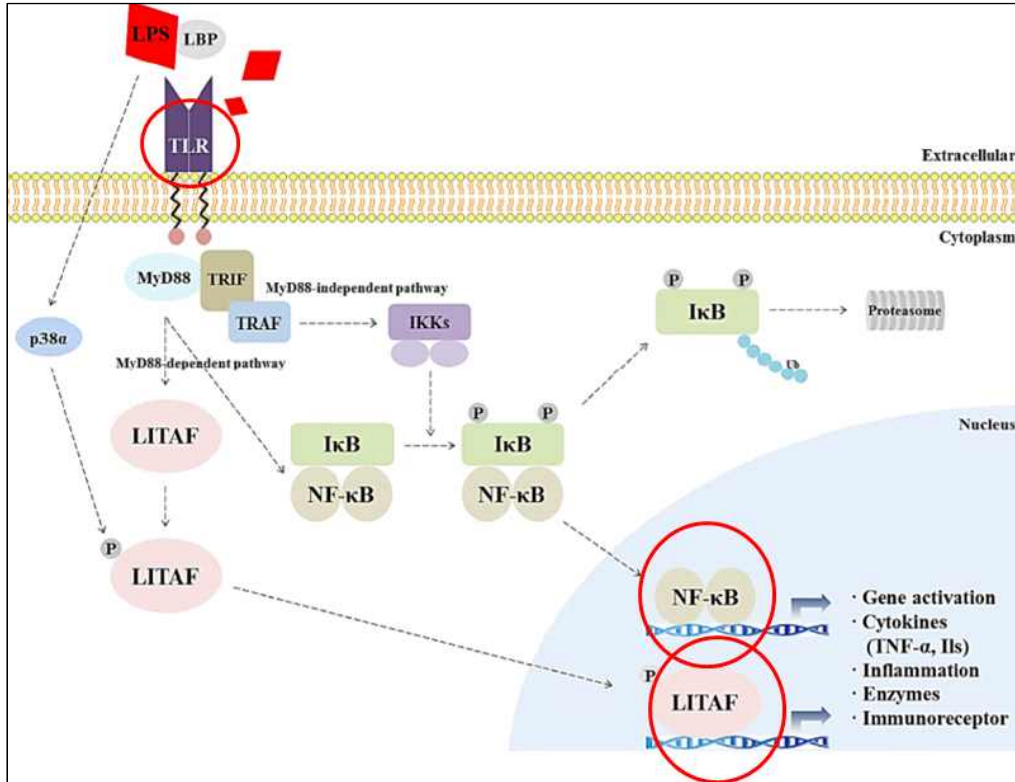


그림 6. Immune system 기작의 대표적인 예

Gene	ORF size (a.a)	5' RACE	3' RACE	Matched species	E-value
Toll receptor1	667	726	0	<i>Halyomorpha halys</i>	2-97
Toll receptor2	602	903	0	<i>Anoplophora glabripennis</i>	1e-36
Toll receptor3	840	513	0	<i>Anoplophora glabripennis</i>	0.0
Toll receptor4	291	468	528	<i>Aethina tumida</i>	6e-53
Toll receptor5	810	636	0	<i>Portunus trituberculatus</i>	7e-109
Toll receptor6	1070	0	53	<i>Cimex lectularius</i>	7e-102
Toll receptor7	918	224	193	<i>Trachymyrmex cornetzi</i>	0.0
Toll receptor8	233	1085	0	<i>Trichogramma pretiosum</i>	0.0

그림 7. *T. kingsejongensis*의 toll like receptor (TLR) 유전자

- *NF-κB*와 *LITAF* 유전자는 domain이 잘 보존되어 있고 타 종과의 유사도도 상당히 높은 것으로 보아 기존에 밝혀진 기능과 유사할 것으로 예상된다 (그림 8).

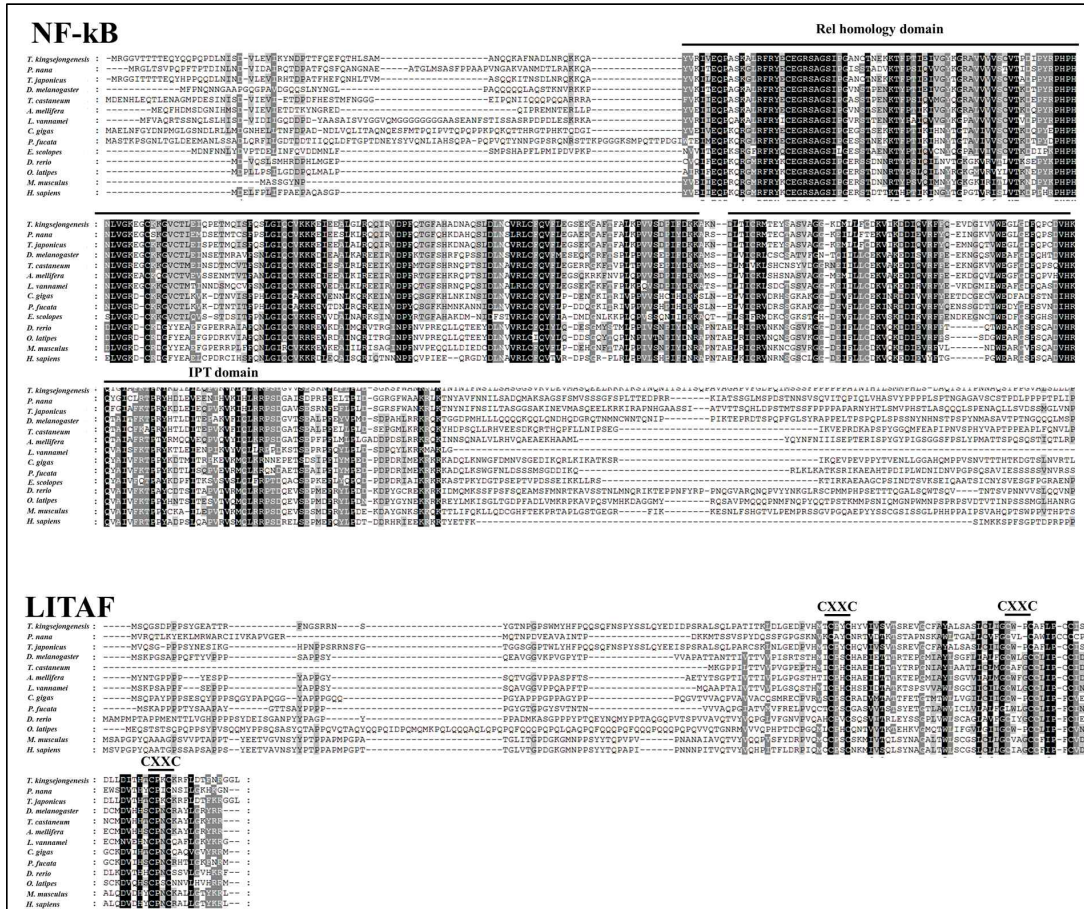


그림 8. NF- $\kappa$ B와 LITAF의 domain 분석

(3) 극지요각류 해독 관련 유전자의 발굴

- 극지요각류의 해독기작을 확인하기 위하여, 외인성물질의 Phase I 기작 (제1 상 반응)에 관여하는 효소 중 가장 많은 촉매반응을 일으키는 유전자군인 Cytochrome P450 (CYP) 30개를 극지요각류 *T. kingsejongensis*에서 발굴하였다 (그림 9).

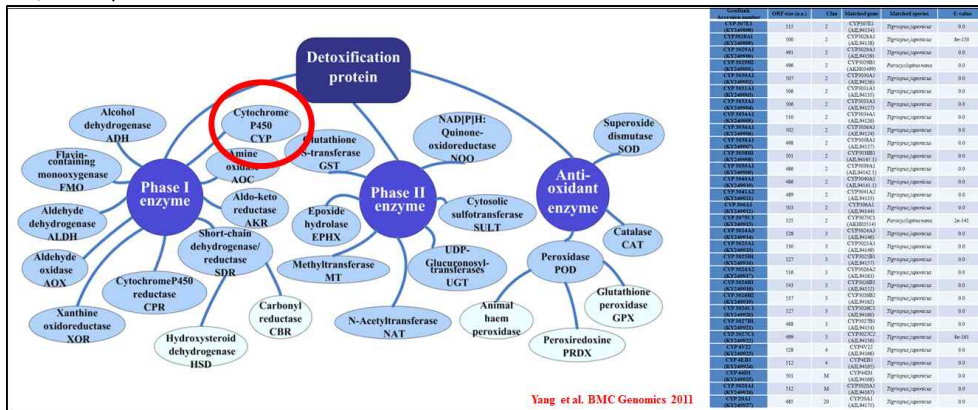


그림 9. 해독 기작 및 *T. kingsejongensis* CYPs 유전자

(4) 극지요각류 DNA repair 관련 유전자의 발굴

- 확보된 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 RNA sequencing database에서 DNA repair 관련 유전자군 22개를 확보하였다. 요각류의 극지 환경변화에서 나타날 수 있는 특정 DNA repair 관련 유전자의 발굴과 이에 관련된 메카니즘 분석을 통하여 환경변화 및 오염원 연구의 진행 및 이에 관련된 생리적 반응에 대한 분자적 이해를 도울 수 있으리라 기대된다 (그림 10).

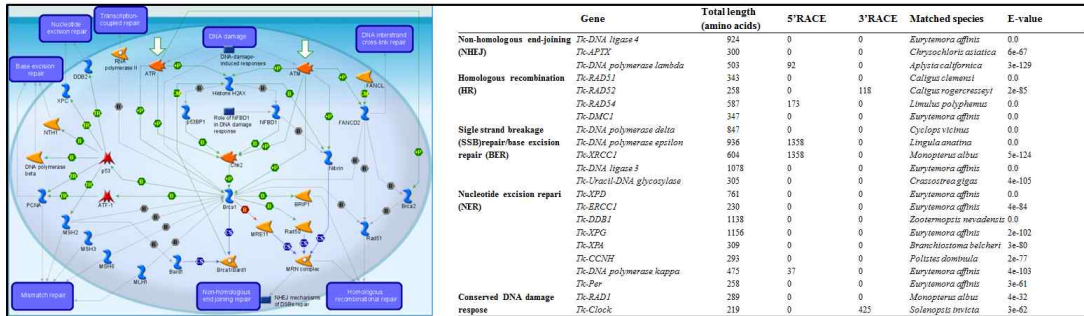


그림 10. DNA repair schematic pathways 모식도 및 유전자 발굴

(5) 극지요각류 chitin biosynthetic pathway 관련 유전자의 발굴

- Chitin은 갑각류를 비롯한 절지 동물의 외표피를 구성하는 주요 biopolymer으로써 chitin의 합성 및 분해는 절지동물의 형태 변화를 위한 molting 및 metamorphosis에 중요한 영향을 준다. 확보된 극지요각류의 RNA sequencing database에서 chitin biosynthetic pathway 관련 유전자군 11개를 확보하였다. 요각류의 극지 환경변화에서 나타날 수 있는 특정 chitin biosynthetic pathway 관련 유전자의 발굴과 이에 관련된 기작분석을 통하여 환경변화, 오염원 연구의 진행뿐만 아니라 이와 관련된 생리적 반응에 대한 분자적 이해를 도울 수 있을 것으로 기대된다 (그림 11).

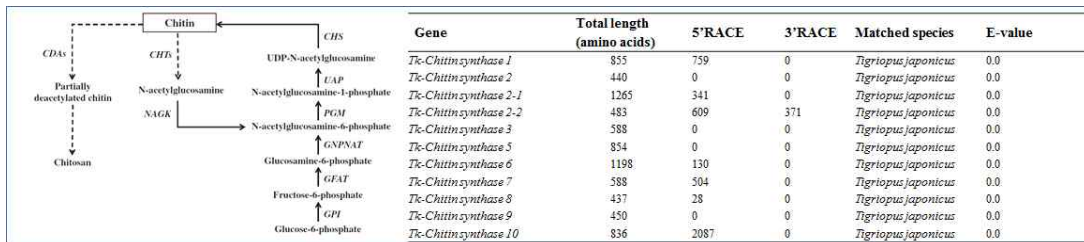


그림 11. Chitin biosynthetic schematic pathway 모식도 및 유전자 발굴

(6) 극지요각류의 지질대사 관련 유전자의 발굴

- 지질대사 관련 유전자인 elongation of very long chain fatty acid (*Elovl*) 및 fatty acid desaturase (*Fad*) 유전자군 17개를 확보하였다 (그림 12). *Elovl* 및 *Fad* 유전자는 지방산의 탄소 수를 늘리거나 불포화도를 증가시키는 유전



자이프로 지방산 pool을 풍부하게 하여 생명체의 항상성을 조절하는데 중요한 역할을 차지한다.

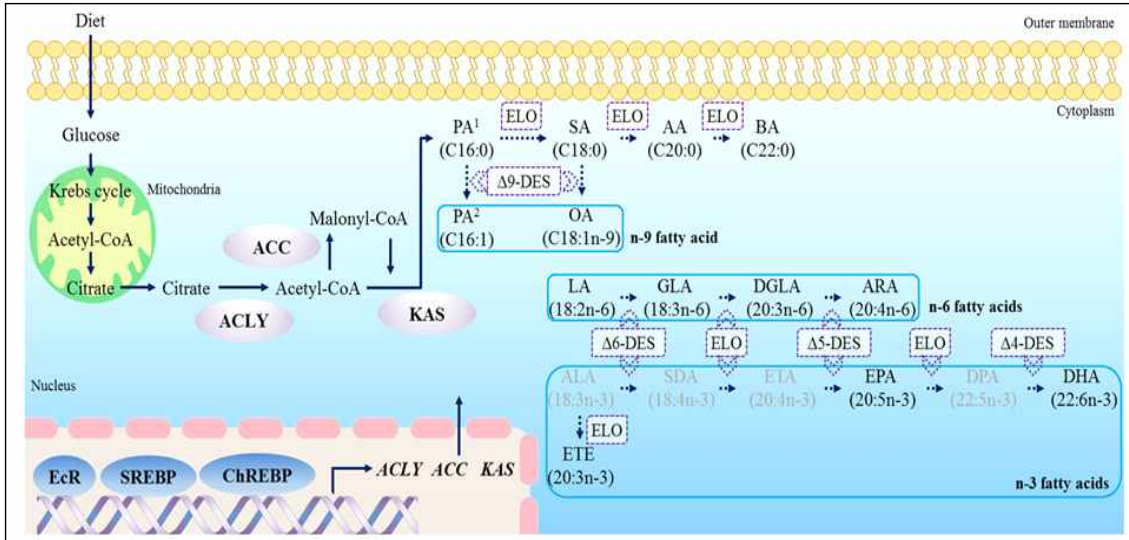


그림 12. 요각류에 기반한 지질대사관련 유전자의 schematic pathway 모식도

- 유전자의 아미노산 서열을 활용하여 분자계통도를 분석한 결과 (그림 13), 기존에 보고되지 않은 새로운 유전자들이 발견되었다. Fatty acid desaturase 유전자 중에서는 Δ5/6 desaturase가 크게 두 개의 family로 나뉘는 것을 확인할 수 있었다 (Δ5/6 desaturase a와 b). Elov1 중에서는 Elov11이 요각류에서 새롭게 발견되었다. Elov1은 척추동물을 기준으로 1번부터 7번까지만 존재한다고 밝혀졌지만, 최근 무척추동물에서 새로운 Elov1 유전자가 보고되고 있다. 이번 연구 결과에서는 기존에 윤충류에서 Elov19, 10이 보고되었던 것과는 또 다른 Elov1이 발굴하였고, 극지요각류를 활용하여 온대요각류와 비교분석하여 새로운 유전자 family를 발굴했다는 점에서 의미가 크다. 마지막으로 Elov11/7 유전자가 다양한 분지를 형성하는 것을 확인할 수 있는데, 이러한 현상은 무척추동물에게서 두드러지게 나타나는 특징 중 하나이다.

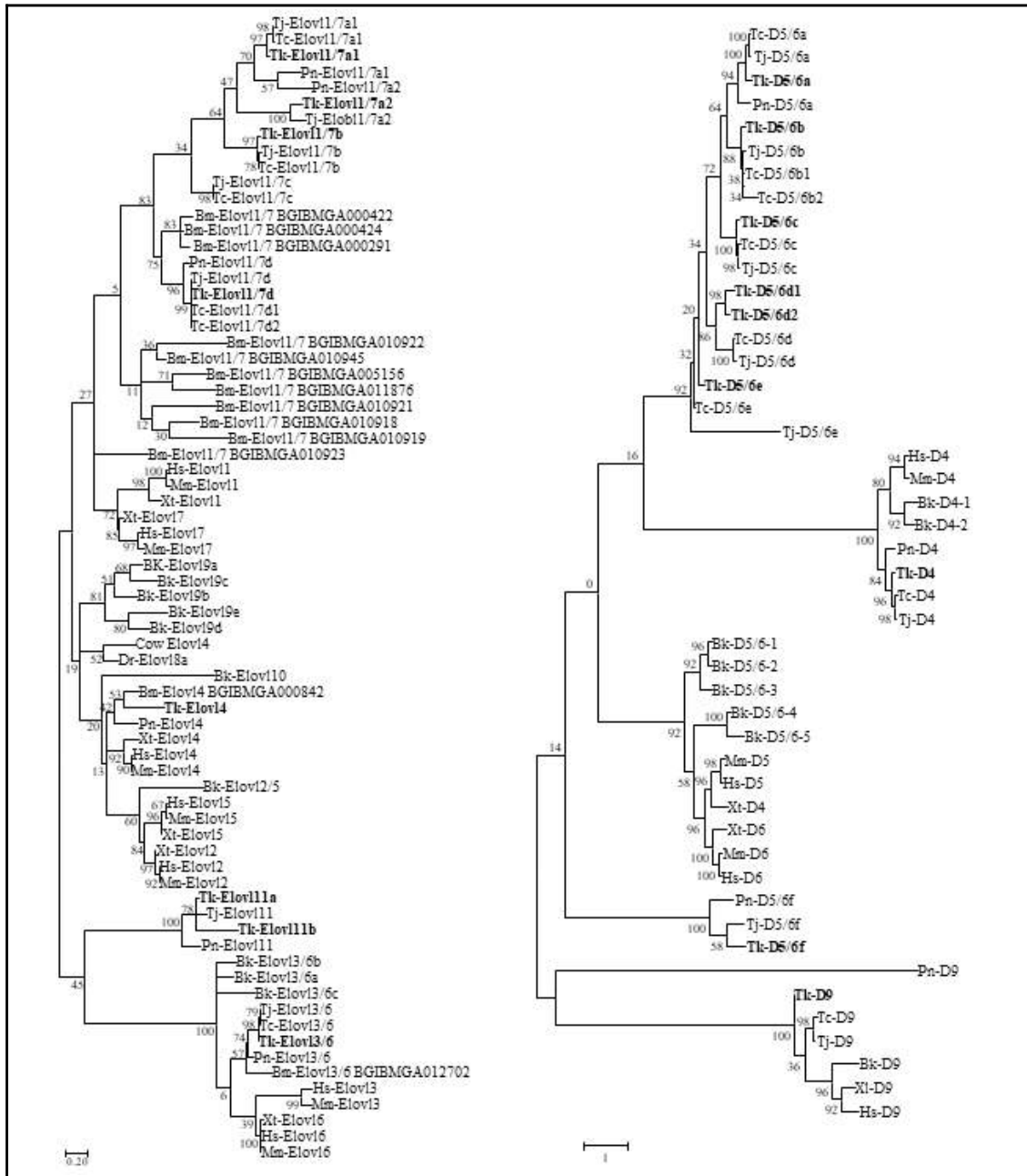


그림 13. 지질대사 관련 유전자의 계통도

- 극지요각류에서 발굴한 지질대사 관련 유전자를 같은 속에 속하는 *T. japonicus*, *T. californicus* 및 다른 종인 *Paracyclopsina nana*와 비교하였다 (표 3). 그 결과, 극지요각류가 가장 많은 종류의 유전자를 가지고 있는 것으로 나타났다. 대부분 *Tigriopus* 속의 요각류가 많은 종류의 유전자를 가지고 있는 것으로 나타났다.

표 3. 극지요각류와 다른 요각류의 지질대사관련 유전자 개수 비교

Gene	Species			
	<i>T. kingsejongensis</i>	<i>T. japonicus</i>	<i>T. californicus</i>	<i>P. nana</i>
<i>Δ4 desaturase</i>	1	1	1	1
<i>Δ5/6 desaturase a</i>	1	1	1	1
<i>Δ5/6 desaturase b</i>	1	1	1	
<i>Δ5/6 desaturase c</i>	1	1	1	
<i>Δ5/6 desaturase d</i>	2	1	1	
<i>Δ5/6 desaturase e</i>	1	1	2	
<i>Δ5/6 desaturase f</i>	1	1		1
<i>Δ9 desaturase</i>	1	1	1	1
Total	9	8	8	4
<i>Elovl1/7 a</i>	1	2	1	2
<i>Elovl1/7 b</i>	1	1	1	
<i>Elovl1/7 c</i>		1	1	
<i>Elovl1/7 d</i>	1	1	2	1
<i>Elovl3/6</i>	1	1	1	1
<i>Elovl4</i>	1			
<i>Elovl11 a</i>	1	1	1	1
<i>Elovl11 b</i>	1			
Total	7	7	7	5

(6) 극지요각류의 G protein coupled receptor 유전자의 발굴

- GPCR은 생체내에 수백여개 정도의 수용체가 존재한다고 알려져 있으며, 거의 모든 생리적 반응을 촉매한다고 알려져있다 (그림 14).

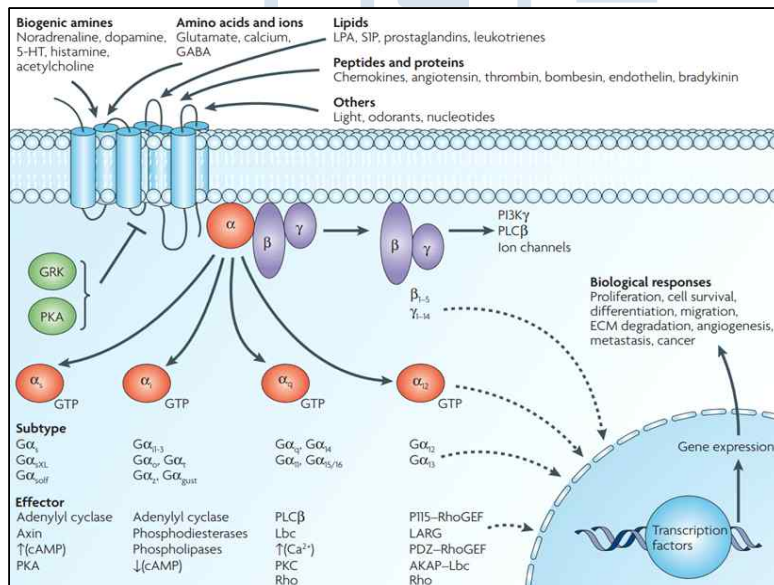


그림 14. G protein coupled receptor의 기능에 대한 예시

- 대부분의 GPCR은 class 1에 속해있는 것으로 나타났고 나머지 분류군에는 많은 숫자의 GPCR이 존재하지 않는데, 이는 다른 생물종의 연구와 매우 유사한 결과이다 (표 4).

표 4. 극지요각류의 G protein coupled receptor 유전자의 분류 및 개수

Class	Gene name	No.
Class 1	G protein coupled receptor, rhodopsin-like	196
Class 2	GPCR, family 2, secretin-like	28
	GPCR, family 2, extracellular hormone receptor domain	11
Class 3	GPCR, family 3	13
	GPCR, family 3, metabotropic glutamate receptor	1
Chemoreceptor	7TM chemoreceptor	7
SRW	7TM GPCR, serpentine receptor class w (Srw)	11
SRX	7TM GPCR, serpentine receptor class x (Srx)	2
Frizzled	Frizzled/Smothered, transmembrane domain	2
Total		271

#### 4. 환경스트레스에 노출된 극지요각류의 유전체 발현 변화

##### (1) 환경스트레스로 인해 유도된 유전자의 발현변화 분석 실험방법

- 극지환경변화로 인한 유전자의 발현양상을 분석을 위하여 극지요각류 *T. kingsejongensis*를 환경스트레스에 노출시킨 뒤 total RNA를 추출하고, real-time RT-PCR을 수행한다. 이를 위하여 각 시간 및 농도별로 total RNA를 추출하고 추출된 total RNA를 정량하여 cDNA를 superscript reverse transcriptase III를 이용하여 합성한 후, real-time RT-PCR을 수행한다 (그림 15). 최종 데이터의 분석은  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  방법으로 하며, one-way ANOVA test 또는 Student's t-test를 사용하여 통계 분석을 수행한다.

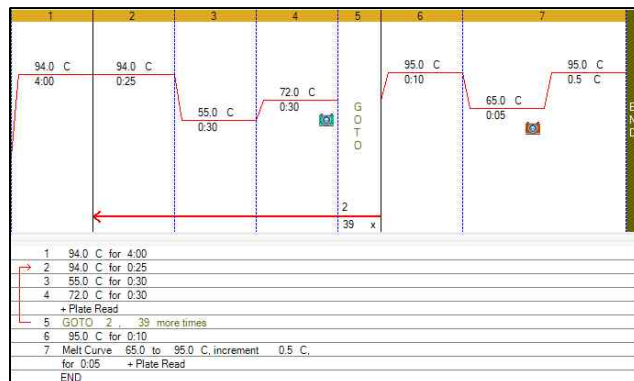


그림 15. Real-time RT-PCR의 protocol

(2) 유류 오염에 노출된 극지요각류의 유전체 분석 결과

- 환경스트레스가 극지요각류에 미치는 유전자 수준에서의 반응 양상을 분석하고 이를 통해 극지요각류가 환경에 적응하는 기작을 알아보고 극지환경 변화 및 오염원에 따른 영향을 분석하였다.
- 발굴된 Cytochrome P450 (CYP)를 극지요각류 *T. kingsejongensis*에서 30개의 CYP 유전자들을 바탕으로, 극지 유류 오염에 적응하기 위하여 극지요각류를 water accommodated fraction (WAF)에 노출시킨 뒤 발현변화를 확인하였다 (Han et al., 2017). 유전자는 기존 연구에서 WAF에서 특이적으로 높은 발현 변화를 보였던 온대성 요각류 *Tigriopus japonicus*의 CYP 유전자들 중 같은 그룹에 속하는 *T. kingsejongensis* CYP 유전자를 선정하였다 (그림 16).

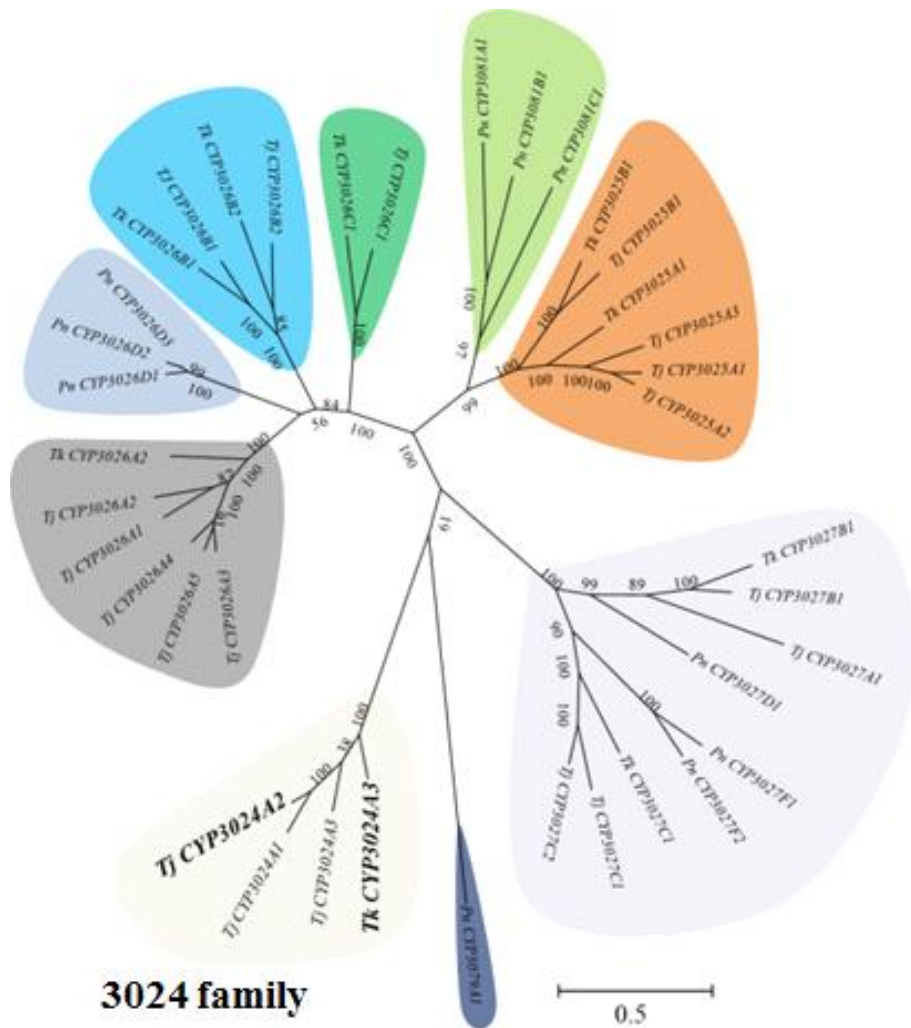


그림 16. *Tigriopus* CYPs의 계통도



- 실험 결과 WAF의 세가지 농도군 (40, 60, 80%) 모두에서 24시간에 *CYP3024A3* 유전자의 발현이 가장 높은 것을 확인하였다 (그림 17).

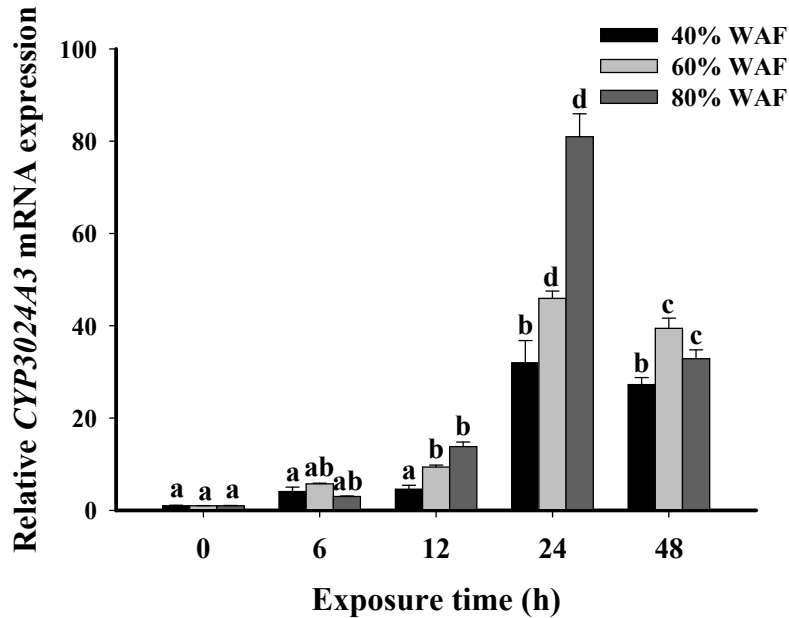


그림 17. *Tk-CYP3024A3*의 WAF노출에 의한 발현 변화

- 이 결과를 통해 WAF에 의한 극지요각류의 세포 내 단백질들에 데미지가 일어날 수 있다는 것을 알 수 있었으며, 외인성 물질인 WAF에 의해 세포 내 산화적 대사 작용을 위해 *CYP* 유전자의 발현이 증가하였음을 유추할 수 있었다. 또한 상기 농도 및 시간대별 발현양상 결과를 바탕으로 *CYP3024A3*이 WAF 영향에 대한 잠재적인 biomarker로 사용될 수 있으리라 기대된다. 종합적으로 보면, 하등 무척추 동물인 극지요각류에서 *CYP* 유전자의 기능을 유추해 볼 수 있었으며, 이를 이용하여 향후, 유류오염의 초기 경보체제를 확립할 수 있으리라 기대된다.

(3) 온도변화에 노출된 극지요각류의 유전체 분석 결과

- 온도변화로부터 세포를 보호하기 위한 molecular chaperone인 heat shock protein (*Hsp*) 유전자를 극지요각류에서 확보한바 있다 (*Hsp10*, *Hsp20*, *Hsp40*, *Hsp70*, *Hsp90*). 이를 바탕으로, 극지 온도변화에 적용하기 위하여 극지요각류를 저온 및 고온에 노출시킨 뒤 발현 변화를 확인하였다 (Han et al., 2018; 그림 18).

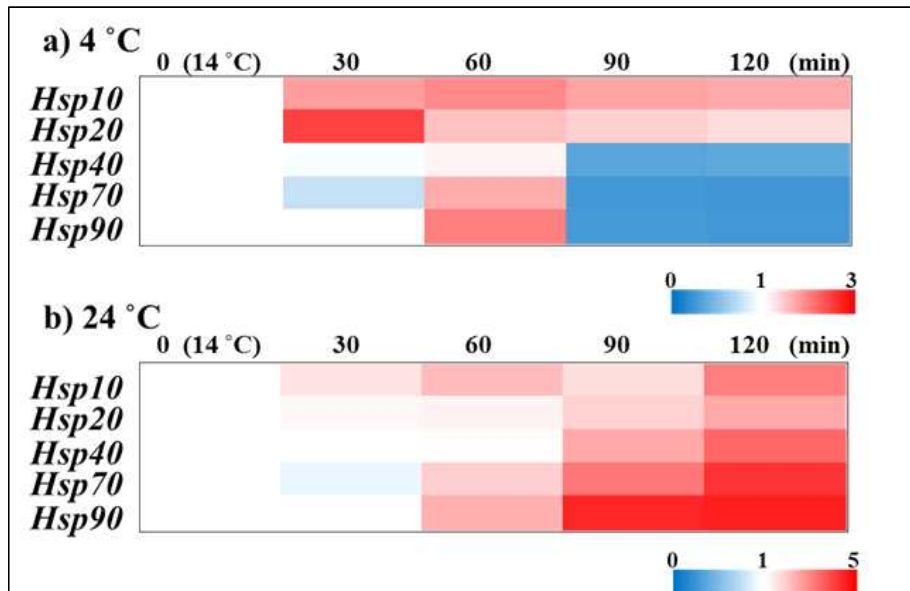


그림 18. 온도변화에 따른 Hsp 유전자의 발현 변화

- 이 결과를 통해 온도변화에 의한 극지요각류의 세포 내 단백질들에 데미지 및 스트레스가 일어날 수 있다는 것을 추정할 수 있었으며, 온도변화로 인해 Hsp 유전자들의 발현이 유의미하게 변화하는 것을 확인할 수 있었다.
- 그림 19은 생물 내에서의 지방산의 생합성경로를 보여주는 대표적인 예이다. 요각류의 지방산 생합성에 영향을 미치는 기작을 이해하고 환경에서 보이는 지방산의 조성뿐만 아니라 관련 효소의 유전자 발현 양상을 연구하여 극지환경 및 변화에 대한 적응기작에 중요한 지표를 제시할 수 있다.

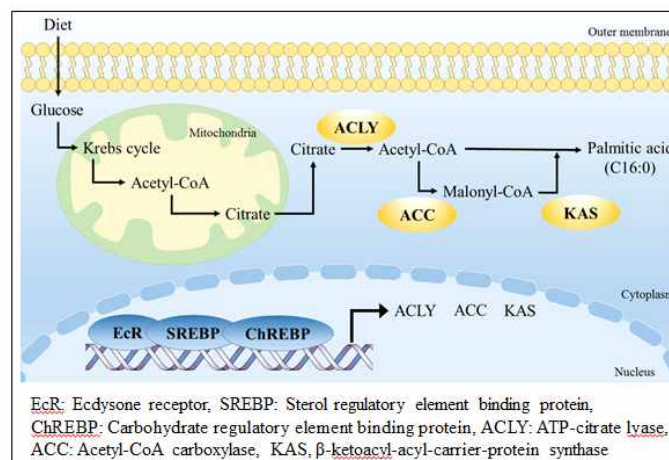


그림 19. 지방산 생합성 기작

- 온도의 변화에 따른 극지요각류의 지방산 생합성 기작관련 유전자의 발현 변화

를 확인하였다. 온도가 낮을수록 지방산관련 유전자들의 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있었으며, 반대로 높은 온도에서는 시간에 따라 발현변화가 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (그림 20).

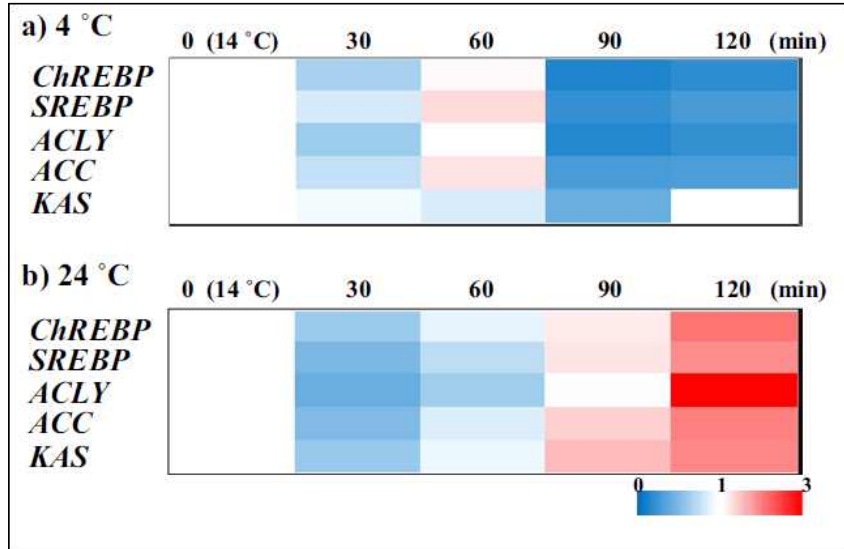


그림 20. 온도에 따른 지방산 생합성 관련 유전자의 발현변화

- 이 결과를 통해, 온도변화에 의해 세포 내 항상성유지를 위해 지방산 생합성 관련 유전자의 발현이 변화하였음을 확인할 수 있었다. 또한, 상기 온도 및 시간대별 발현양상 결과를 바탕으로 온도변화에 대한 지방산관련 유전자를 잠재적인 biomarker로 사용될 수 있으리라 기대된다.
- 극지 온도변화에 적용하기 위하여 극지요각류를 저온 (4도) 및 고온 (24도)에 노출시킨 뒤 *Fad* 및 *Elovl* 유전자의 발현 변화를 확인하였다. 실험결과, 온도가 낮을수록 지질대사 유전자들의 발현이 감소하는 것을 확인할 수 있었으며, 반대로 높은 온도에서는 시간에 따라 발현변화가 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (그림 21). 일반적으로, 지질대사 관련 유전체의 발현은 저온에서 높아지고 고온에서 낮아지는 것으로 보고된다. 이는 이번 극지요각류를 활용한 실험결과와는 상반된 것으로 나타난다. 하지만, 이전까지의 연구결과들은 온대지방에 서식하는 생물을 대상으로 실험한 결과이기 때문에 극지생물과는 다른 경향성을 보일 수 있을것이라고 생각된다. 다만, 향후 추가적인 실험을 통하여 온대요각류와 극지요각류가 온도변화에 따라 어떠한 차이를 보이는지를 밝혀내는 것이 필요할 것이다.

	60 min			90 min			120 min		
	4°C	14°C	24°C	4°C	14°C	24°C	4°C	14°C	24°C
<i>D4</i>	0.99	1.00	0.96	0.47	1.00	1.36	0.51	1.00	1.66
<i>D5/6a</i>	0.94	1.00	1.04	0.58	1.00	1.22	0.51	1.00	1.45
<i>D5/6b</i>	1.29	1.00	1.26	0.41	1.00	1.01	0.60	1.00	1.57
<i>D5/6c</i>	1.61	1.00	1.27	0.41	1.00	1.23	0.51	1.00	1.34
<i>D5/6d1</i>	0.48	1.00	0.62	0.54	1.00	1.38	0.55	1.00	1.76
<i>D5/6d2</i>	0.71	1.00	0.87	0.83	1.00	2.79	0.52	1.00	2.36
<i>D5/6e</i>	1.26	1.00	1.11	0.69	1.00	0.86	0.69	1.00	1.73
<i>D5/6f</i>	0.58	1.00	0.50	0.36	1.00	0.71	0.35	1.00	1.54
<i>D9</i>	0.66	1.00	0.73	0.57	1.00	1.26	0.73	1.00	1.84
<i>Elov1/7a1</i>	1.49	1.00	1.28	0.51	1.00	1.57	0.62	1.00	1.25
<i>Elov1/7a2</i>	1.07	1.00	0.78	0.70	1.00	1.51	0.66	1.00	1.35
<i>Elov1/7b</i>	0.76	1.00	0.96	0.47	1.00	1.26	0.49	1.00	1.71
<i>Elov1/7d</i>	1.21	1.00	1.17	0.61	1.00	1.66	0.57	1.00	1.53
<i>Elov13/6</i>	1.26	1.00	1.41	0.51	1.00	1.20	0.43	1.00	1.75
<i>Elov14</i>	0.77	1.00	0.81	0.42	1.00	1.37	0.55	1.00	1.49
<i>Elov11a</i>	1.74	1.00	1.57	0.66	1.00	2.80	0.66	1.00	1.52
<i>Elov11b</i>	1.87	1.00	1.65	0.66	1.00	2.50	0.88	1.00	1.86

그림 21. 온도에 따른 지질관련 유전자의 발현변화

(4) 자외선에 노출된 극지요각류의 유전체 분석 결과

- 극지 환경변화에 지질대사 관련 유전자의 발현이 변화하는지 관찰하기 위하여 자외선에 노출시킨 후 *Elov1* 및 *Fad* 유전자의 발현량을 측정하였다. 자외선 (12 kJ/m<sup>2</sup>)의 노출은 극지요각류의 지질대사에 크게 영향을 미친다는 것을 확인할 수 있었으나 지질대사 관련 유전자의 발현은 경향성을 시간에 따른 경향성을 찾아볼 수 없었다 (그림 22).

	Ultraviolet		
	Control	1 h	3 h
<i>D4</i>	1.00	0.71	1.33
<i>D5/6a</i>	1.00	0.72	1.68
<i>D5/6b</i>	1.00	0.59	1.55
<i>D5/6c</i>	1.00	0.66	1.42
<i>D5/6d1</i>	1.00	0.97	1.79
<i>D5/6d2</i>	1.00	1.18	1.89
<i>D5/6e</i>	1.00	0.51	0.91
<i>D5/6f</i>	1.00	1.03	1.65
<i>D9</i>	1.00	0.69	1.27
<i>Elov1/7a1</i>	1.00	0.68	1.72
<i>Elov1/7a2</i>	1.00	0.80	1.54
<i>Elov1/7b</i>	1.00	0.68	1.51
<i>Elov1/7d</i>	1.00	0.49	1.52
<i>Elov13/6</i>	1.00	0.49	1.39
<i>Elov14</i>	1.00	0.89	1.74
<i>Elov11a</i>	1.00	0.54	1.79
<i>Elov11b</i>	1.00	0.62	1.58

그림 22. 자외선에 노출된 극지요각류의 지질관련 유전자의 발현변화

5. 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*의 단백질체 marker 동정

(1) 극지환경적응기작 중요 단백질체 marker 동정

- 분석된 극지요각류의 RNA-seq 정보중 NCBI NR Blast에서 hit된 23,918개의 유전자 정보에서 protein DB를 구축하였다. 이후 ITRAQ (Isobaric tags for relative and absolute quantitation) 방법을 통해 단백질체 marker를 동정하였다. 실험 방법은 시료 확보, 단백질 추출, 단백질 가수분해, 품질검사 등의 단계를 거쳐 LC-MS/MS 방법으로 단백질을 확보하였고, 확보한 단백질은 bioinformatics analysis pipeline을 통하여 활용하였다 (그림 23).

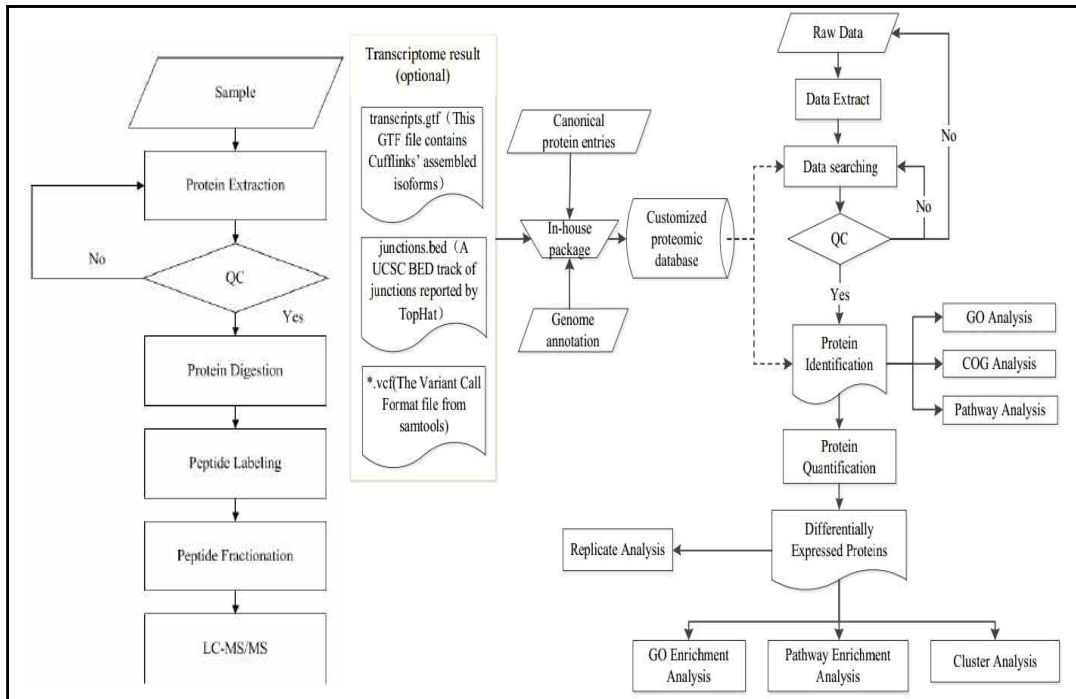


그림 23. 단백질체 발굴 pipeline의 모식도

- 실험은 2반복군으로 진행되었으며 실험결과, 총 28,011개의 펩타이드 및 5507개의 단백질을 동정하였다 (그림 24 및 표 5).

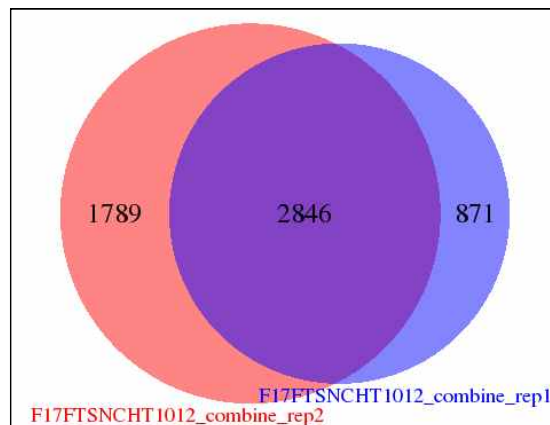


그림 24. 단백질체 동정 벤다이어그램 개요



표 6. 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*의 단백질 동정 개요

Sample name	Peptide	Unique peptide	Protein
<i>T. kingsejongensis</i> 1	16,209	15,679	3,718
<i>T. kingsejongensis</i> 2	21,146	20,574	4,635
Total	28,011	27,320	5,507

- 추가적으로 GO분석 및 pathway분석을 통하여 각 단백질의 역할에 대하여 분류하였고, 분류된 단백질을 KEGG pathway와 비교분석하여 극지요각류의 대사기전 중 다른 모델생물종과 유사한 기전에 대해서 밝혀내고자 하였다 (그림 25).

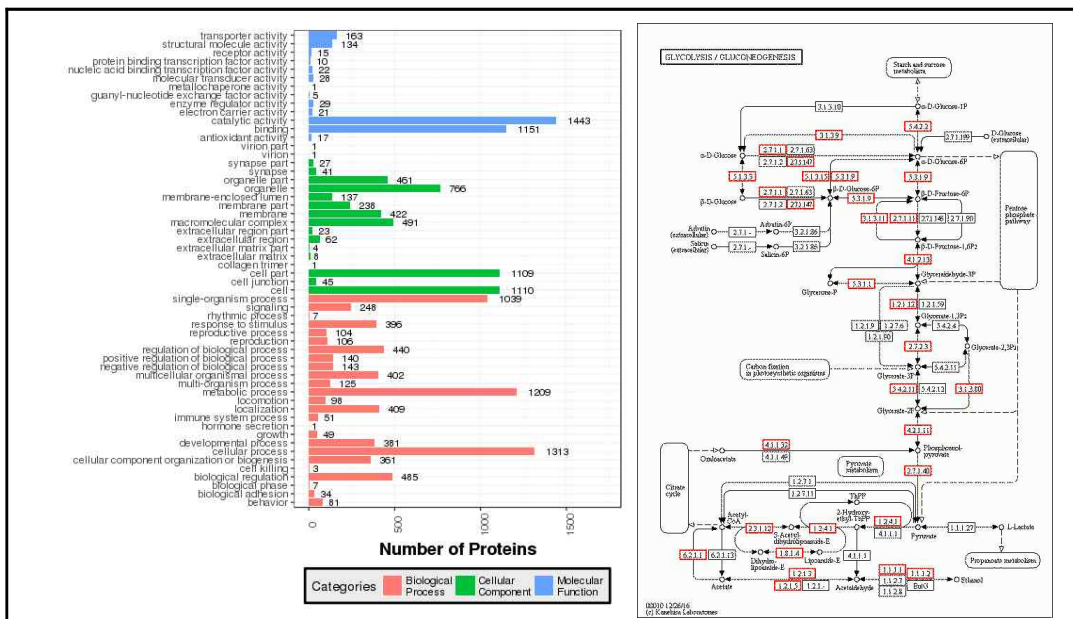


그림 25. 극지요각류 단백질체의 분류 및 대사기작의 예시

(2) 자외선에 노출된 극지요각류의 단백질체 변화 분석

- 발굴한 단백질체 연구결과를 바탕으로 하여, 극지요각류를 12 kJ/m<sup>2</sup>의 자외선에 0, 6, 12, 24, 48시간 동안 노출시킨 후 수확한 시료를 대조군과 비교분석하여 단백질체의 변화를 관찰하였다. 그 결과 UV에 노출 후 48시간 동안 노출된 후에 가장 많은 수의 단백질의 발현이 변화되는 것을 확인할 수 있었다 (그림 26).

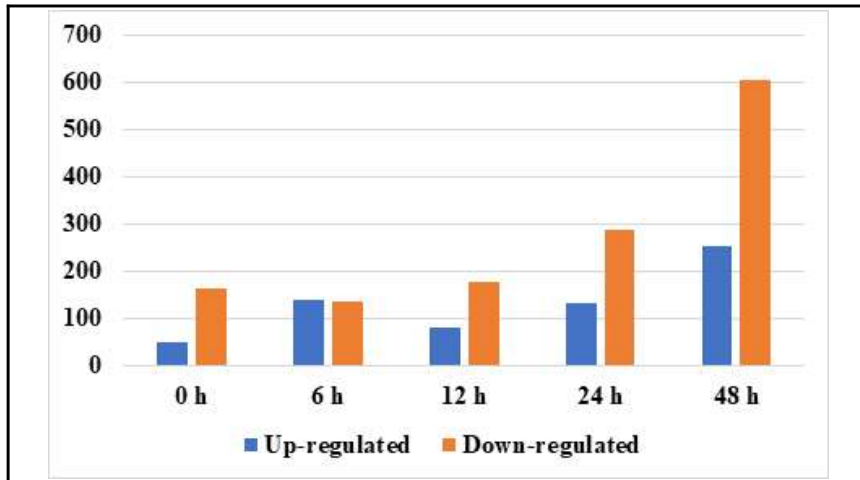
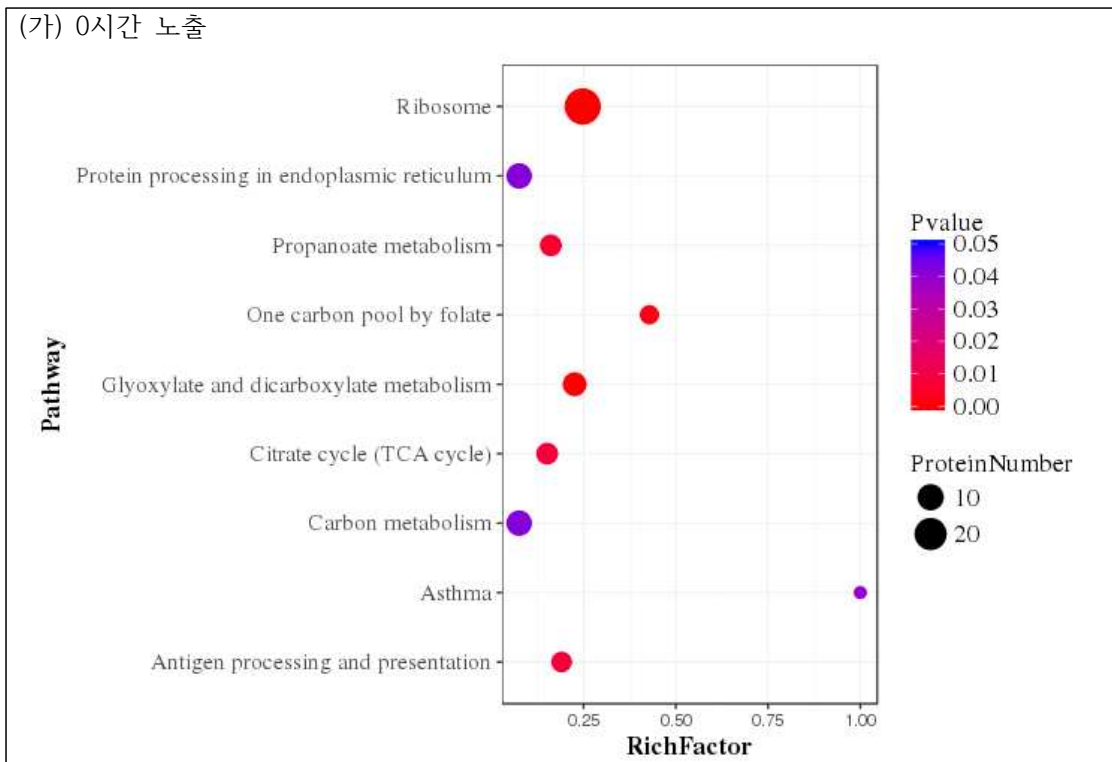
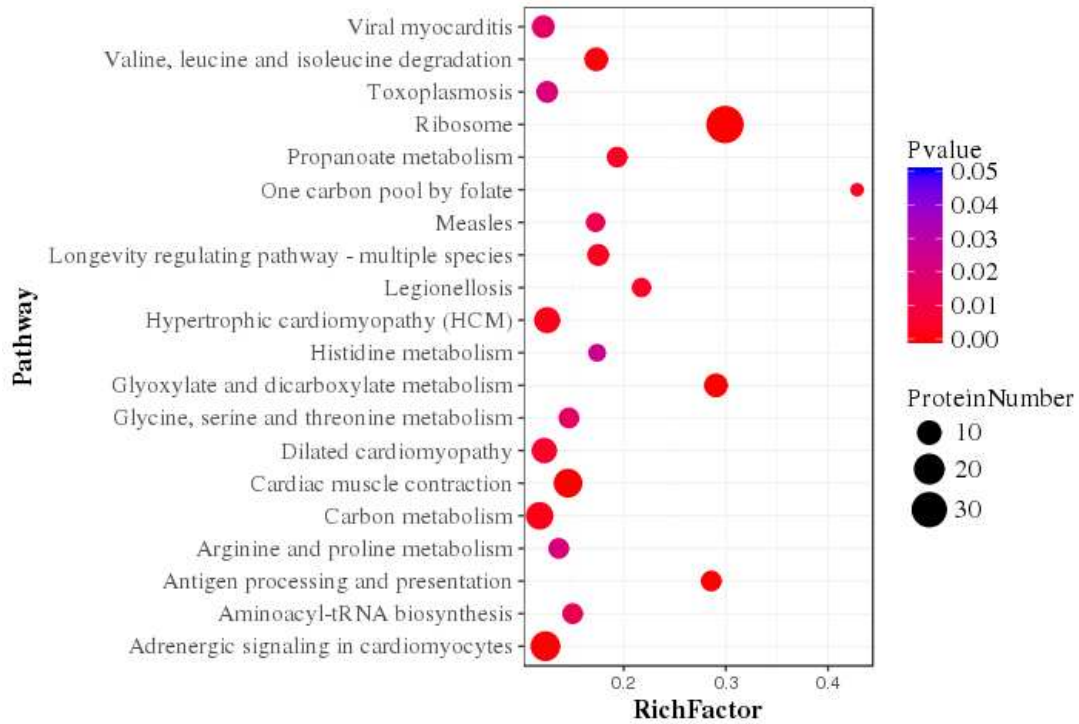


그림 26. 자외선에 노출된 극지요각류에서 변화된 단백질의 개수

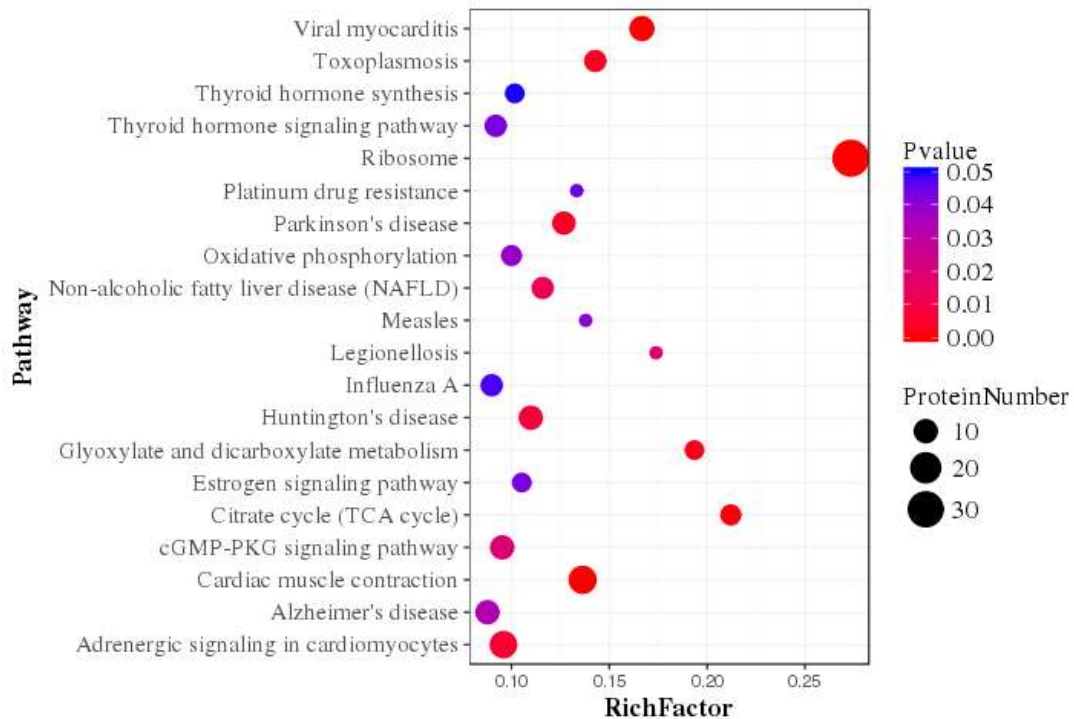
- 최종적으로, 자외선에 노출된 극지요각류의 단백질체 중 영향을 기전을 분류해보기 위하여, 모식도를 그려 분류하였다 (그림 27).



(나) 6시간 노출

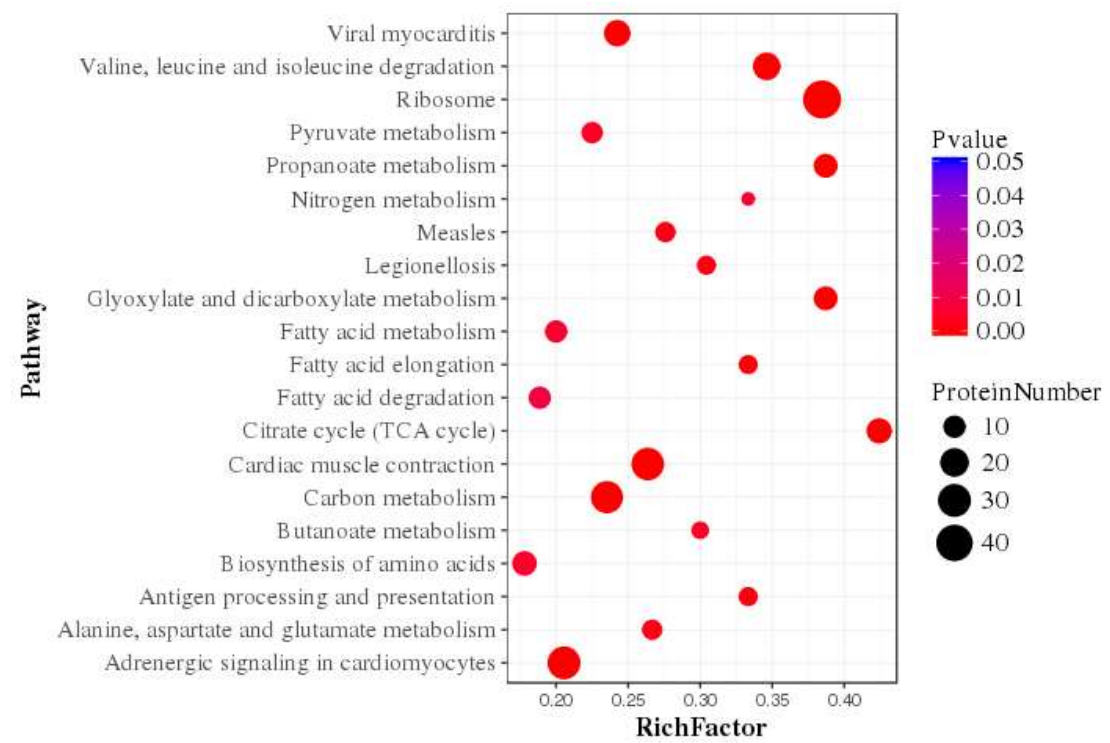


(다) 12시간 노출





(라) 24시간 노출



(마) 48시간 노출

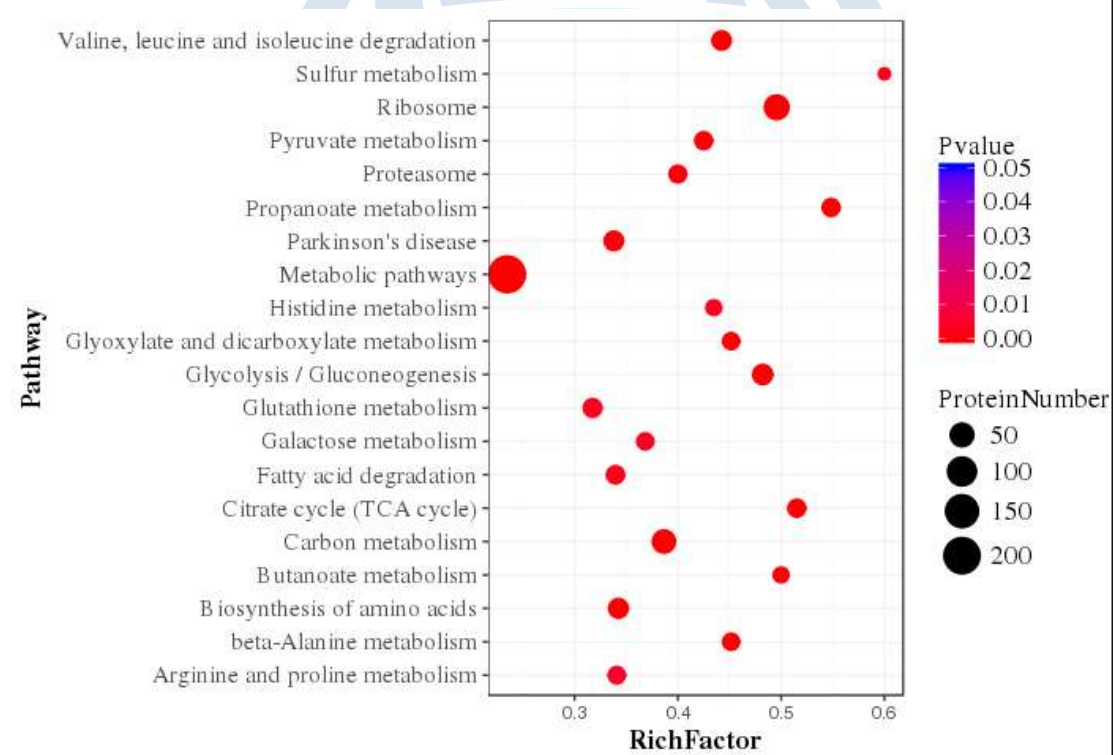


그림 27. 자외선에 노출된 극지요각류에서 유의적으로 영향을 받은 pathway 모식도

- 실험군은 12 kJ/m<sup>2</sup>의 자외선에 노출된지 0시간째부터 시작하여 6, 12, 24, 48 시간 노출된 극지요각류이며, 이를 수확하여 대조군과 비교하였다. 좌측의 pathway는 5,507개의 단백질을 pathway별로 분류하였을 때 유의적으로 영향을 받은 단백질체가 있는 경우 나타냈으며 RichFactor는 인간의 pathway를 기준으로 유사도가 높을수록 RichFactor의 값이 높아진다. 그리고 원의 크기는 유의하게 영향을 받은 단백질이 많을수록 커지며 빨간색에 가까울수록 통계적인 유의성이 큰 것으로 표시하였다.
- 실험결과, 자외선에 노출된 시간이 길어질수록 더 유의적인 변화가 일어난 단백질체들이 많은 것으로 나타났다 (0시간: 9개, 6, 12, 24, 48시간: 각 20개씩).
- 모든 시간대에서 유의하게 변화한 pathway는 Ribosome 및 glyoxylate and dicarboxylate metabolism pathway 2종류였고, 그 중 ribosome과 관련된 단백질체의 발현이 가장 많이 변화하였다. Ribosome은 mRNA와 결합한 후 mRNA의 정보에 따라 단백질을 합성하는 역할을 주로 수행한다. 따라서, 자외선에 노출된 극지요각류의 경우 대조군과 비교하였을 때 단백질의 합성이 크게 영향을 받았을 것이라고 예상할 수 있다. 특히, 대부분의 ribosome pathway 관련 단백질체의 합성이 감소한 것으로 나타났기 때문에 단백질체의 합성을 억제했을 것이라고 추정할 수 있다 (그림 28).

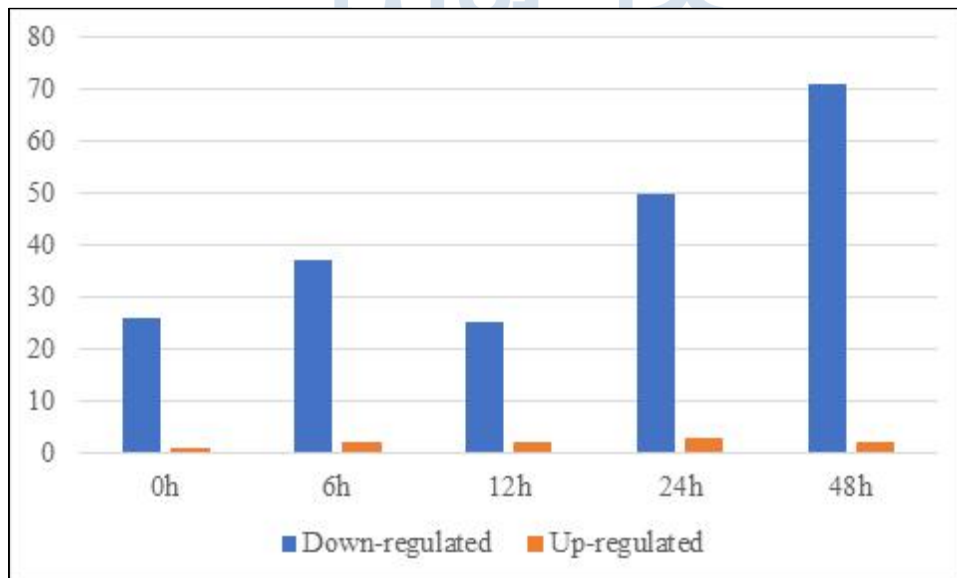


그림 28. 자외선에 노출된 극지요각류의 단백질체 중 ribosome pathway 관련 단백질체의 개수

- 에너지대사와 관련된 pathway들이 자외선에 노출된 극지요각류에서 많이 변화된 것으로 나타났다 (citrate cycle, carbon metabolism, biosynthesis of amino acids pathway 등).
- 이번 실험 결과를 통하여 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*에 존재하는 단백질을 스크리닝 분석할 수 있었으며, 극지요각류에 잘 보존되어 있는 존재하는 대사기작들에 대한 기초적인 정보를 제시할 수 있었다. 또한, 극지 환경에서 노출되기 쉬운 UV에 대한 단백질체 수준에서의 영향을 평가했다는 점에서 향후 연구자료로서 활용될 가치가 높다고 판단된다.



## 제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

### 제 1절 연구개발 목표 달성도

#### 1. 연구개발 최종 목표

극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*를 활용하여 극지환경 적응에 있어 유용한 유전자 정보를 확보하고 극지 환경변화에 따른 대사 경로를 규명한다.

#### 2. 연구개발 세부 목표

연구 내용	연구 결과
극지요각류에서의 유전체 및 단백질체 정보 확보	<i>T. kingsejongensis</i> 의 RNA seq. Database 구축
	i-TRAQ를 활용하여 라이브러리 및 DB 확보
극지환경적응기작 중요 유전체 및 단백질체 marker 동정	극지환경적응기작 중요 관련유전자의 발현 유전체 동정
	극지환경적응기작 중요 단백질체 marker 동정
극지환경변화 및 오염원에 대한 유전체 및 단백질체 활용과 이를 활용한 대사체 생성경로를 파악	극지환경 변화 및 오염원에 대한 극지요각류의 영향 연구
	극지환경 변화 및 적응에 의해 변화하는 유전체 및 단백질체의 분석

#### 3. 연구개발목표 및 달성도

성과목표	세부목표	달성 주요내용	달성도(%)
극지요각류에서의 유전체 및 단백질체 정보 확보	1-1 <i>T. kingsejongensis</i> 의 RNA seq. Database 구축	- RNA sequencing Database 구축 - Jbrowse 제작	100 %
	1-2 i-TRAQ를 활용하여 라이브러리 및 DB 확보	- 단백질체 라이브러리 확보	100 %

극지환경적응기작 중요 유전체 및 단백질체 marker 동정	2-1	극지환경적응기작 중요 관련 유전자의 발현 유전체 동정	- 면역, 해독, DNA repair, chitin 생합성, 지질대사, GPCR 관련 유전체 발굴	100 %
	2-2	극지환경적응기작 중요 단백질체 marker 동정	- 단백질체 5507개 동정	100 %
극지환경변화 및 오염원에 대한 유전체 및 단백질체 활용과 이를 활용한 대사체 생성경로를 파악	3-1	극지환경 변화 및 오염원에 대한 극지요각류의 영향 연구	- 유류, 온도, 자외선에 노출된 극지요각류의 영향 연구 - 자외선에 노출된 극지요각류에서 변화된 단백질 clustering	100 %
	3-2	극지환경 변화 및 적응에 의해 변화하는 유전체 및 단백질체의 분석		100 %

#### 4. 정량적 논문성과

게재일	논문명	저자			학술지명	Vol. (No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동저자				
2017-08-04	Effects of water accommodated fractions (WAFs) of crude oil in two congeneric copepods <i>Tigriopus</i> sp.	한정훈	이재성	김희수, 김일찬, 김상희, 황운기	Ecotoxicology and Environmental Safety	145	국외	SCI

2018-07-25	Effects of temperature shifts on life parameters and expression of fatty acid synthesis and heat shock protein genes in temperate and Antarctic copepods <i>Tigriopus japonicus</i> and <i>Tigriopus kingsejongensis</i>	한정훈	이재성	이민철, 박준철, 김상희	Polar Biology	41	국외	SCI
2019-03-23	Complete mitochondrial genome of the Antarctic copepod <i>Tigriopus kingsejongensis</i> (Harpacticoida, Harpacticidae)	황대식	이재성	최범순, 이민철, 한정훈, 김상희	MITOC HONDRI AL DNA PART B	4	국외	SCI
2019-07-10	Complete mitochondrial genome of the calanoid copepod <i>Eurytemora affinis</i> (Calanoida, Temoridae)	최범순, 한정훈	이재성	황대식, Sami Souissi, Atsushi Hagiwara	MITOC HONDRI AL DNA PART B	4	국외	SCI

## 5. 연구수행에 따른 문제점 및 개선방향

문제점 또는 원인	개선방향 또는 대책
단백질체 변화양상 확인	극지환경변화에 따른 단백질체 분석을 통하여 표적 단백질을 확인하고자 하였으나 pathway수준에서의 단백질체 변화양상만 확인할 수 있었음. 차후 더 정밀한 수준에서의 연구가 요구됨.

## 6. 주요 연구변경 사항

해당사항 없음

## 제 2절 대외 기여도

1. 본 연구를 통해 극지의 해양 환경변화가 극지 해양생물에 미칠 수 있는 영향을 유전체 및 단백질체 수준에서 발현패턴을 분석할 수 있다. 또한, 전체 대사체를 분석함으로써 생명체의 고유반응 기작과 환경 변화에 대한 적응기작을 분석하여 이를 종합하여 환경의 변화에 적응하는 극지생명체의 적응기작을 설명할 수 있다.
2. 극지 해양 환경변화 및 환경오염이 극지 해양생물에 미치는 영향을 초기단계에서부터 매우 미세한 수준에서 검출하고 이들 환경요인이 극지 해양생물의 개체수준 및 분자기작에 미치는 영향을 심도있게 연구하는데 중점을 둘 수 있다.

## 제 5장 연구개발결과의 활용계획

1. 극지 해양 환경변화에 반응하는 극지 요각류 유전자의 동정을 통하여 환경감시체계 수립의 기초자료를 제공할 수 있다.
2. 국내 기술력을 이용한 극지생물들의 유전체 및 대사체 정보의 생화학 및 분자생물학적 활용법을 개발할 수 있다.
3. 극지생물들의 유전체 및 대사체 정보를 선점함으로써 국내 연구진의 위상 확보 및 동종 분야 내 국제적 경쟁력을 확보할 수 있다.





## 제 6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

1. 요각류를 활용한 단백질체 연구는 최근 중국 Xiamen 대학교의 Wang Minghua 교수가 우수한 성과를 내고 있다. 해당 연구실에서는 온대요각류 *Tigriopus japonicus*를 실험생물로 하여 다세대 관찰과 단백질체 분석을 통하여 중금속 및 해양 미세플라스틱의 위험성에 대해서 경고한 바 있다.



## 제 7장 참고문헌

1. Williamson, C.E., Brentrup, J.A., Zhang, J., Renwick, W.H., Hargreaves, B.R., Knoll, L.B., Overholt, E.P., Rose, K.C., 2014. Lakes as sensors in the landscape: Optical metrics as scalable sentinel responses to climate change. *Limnol. Oceanogr.* 59, 840-850.
2. Hwang, D.-S., Choi, B.-S., Lee, M.-C., Han, J., Kim, S., Lee, J.-S., 2019. Complete mitochondrial genome of the Antarctic copepod *Tigriopus kingsejongensis* (Harpacticoida, Harpacticidae). *Mitochondrial DNA Part B* 4, 1470-1471.
3. Han, J., Kim, H.-S., Kim, I.-C., Kim, S., Hwang, U.-K., Lee, J.-S., 2017. Effects of water accommodated fractions (WAFs) of crude oil in two congeneric copepods *Tigriopus* sp. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 145, 511-517.
4. Han, J., Lee, M.-C., Park, J.C., Kim, S., Lee, J.-S., 2018. Effects of temperature shifts on life parameters and expression of fatty acid synthesis and heat shock protein genes in temperate and Antarctic copepods *Tigriopus japonicus* and *Tigriopus kingsejongensis*. *Polar Biol.* 41, 2459-2466.

## 주 의

1. 이 보고서는 극지연구소 위탁과제 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 위탁연구과제로 수행한 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.