

극지 요각류의 영양 대사체 및 관련 유전체의
분석을 통한 극지환경적응기작 연구

Study of polar environmental adaptation mechanism through
analysis of nutrient metabolism and it related genome in the
Antarctic copepod



성균관대학교 산학협력단

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “극지 바이오 대사체 상용화 구축 사업” 과제의 위탁연구 “극지 요각류의 영양대사체 및 관련 유전체의 분석을 통한 극지환경적응기작 연구” 과제의 단계보고서로 제출합니다.



(본과제) 총괄연구책임자	:	김일찬
위탁연구기관명	:	성균관대학교 산학협력단
위탁연구책임자	:	이재성
위탁참여연구원	:	김덕현
“	:	이요섭
“	:	정학수
“	:	윤성찬

요 약 문

I. 제 목

극지요각류의 영양대사체 및 관련 유전체의 분석을 통한 극지환경적응기작 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

먹이사슬에서 1차 소비자로 중요한 역할을 하는 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*를 활용하여 급변하는 극지환경에서 온도변화 적응에 따라 나타나는 유전체, 전사체, 대사체의 변화를 규명하고, 온대 요각류와 같은 다른 환경의 자매종과 비교하여 궁극적으로 환경 변화에 따른 요각류 에너지 대사체의 상관관계에 대한 핵심기반지식을 구축한다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

극지요각류에서 온도 스트레스에 적응하는 전사체, 대사체 분석

- 온도 스트레스에 대해 적응하는 전사체 database 구축
- 온도 스트레스에 대해 적응하는 대사체 database 구축
- 온도 스트레스에 반응하는 전사체와 대사체간 상관관계 규명

IV. 연구개발결과

- *T. kingsejongensis*의 전사체 database 구축
- *T. kingsejongensis*의 대사체 database 구축
- 전사체와 대사체 상관관계 규명

V. 연구개발결과의 활용계획

극지 해양 환경변화 및 온도 스트레스가 극지 해양생물에 미치는 영향을 초기 단계에서부터 매우 미세한 수준에서 검출하고 이들 환경요인이 극지 해양생물의 개체수준 및 분자기작에 미치는 영향을 심도 있게 연구하는데 중점을 둘 수 있다.

S U M M A R Y

I. Title

Study of polar environmental adaptation mechanism through analysis of nutrient metabolism and it related genome in the Antarctic copepod

II. Purpose and Necessity of R&D

To investigate the changes in the genome, transcriptome, and metabolome that occur in response to rapid temperature adaptations in the changing polar environment, the polar copepod *Tigriopus kingsejongensis*, which plays a vital role as a primary consumer in the food chain, will be utilized. By comparing these changes with those in temperate copepods and other related species in different environments, the study aims to establish foundational knowledge about the correlation between environmental changes and the energy metabolism.

III. Contents and Extent of R&D

- Construct the transcriptome database for adaptation to temperature stress
- Construct the metabolome database for adaptation to temperature stress
- Elucidation of the correlation between transcriptome and metabolome responses to temperature stress

IV. R&D Results

- Establishment of a transcriptome database for *T. kingsejongensis*
- Establishment of a metabolome database for *T. kingsejongensis*
- Clarification of the correlation between transcriptome and metabolome

V. Application Plans of R&D Results

The research will focus on detecting the impacts of polar marine environmental changes and temperature stress on polar marine organisms from the initial stages and at a very fine level. This approach will enable a comprehensive study of how these environmental factors influence the population levels and molecular mechanisms of polar

목 차

제 1 장 서론	
1-1. 연구개발의 목적	6
1-2. 연구개발 필요성	6
제 2 장 국내외 기술개발 현황	
2-1. 국내 동향	7
2-2. 국외 동향	7
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	
3-1. 연구개발 목표	8
3-2. 연구개발 내용 및 결과	8
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	
4-1. 연구개발목표 달성도	27
4-2. 연구개발목표 대외기여도	29
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	30

KOPRI
극지연구소

제 1장 서론

제 1절. 연구개발 목표

먹이사슬에서 1차 소비자로 중요한 역할을 하는 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*를 활용하여 급변하는 극지환경에서 온도변화 적응에 따라 나타나는 유전체, 전사체, 대사체의 변화를 규명하고, 온대 요각류와 같은 다른 환경의 자매종과 비교하여 궁극적으로 환경변화에 따른 요각류 에너지 대사체의 상관관계에 대한 핵심기반지식을 구축한다.

제 2절. 연구개발의 필요성

1. 생물다양성 협약, 남극조약 등 생물자원에 대한 중요성이 지속적으로 증가하고 있으며, 특히 극지생물은 극지환경에서 생존하기 위한 특이적 작용 메커니즘 등을 보유하고 있어, 다른 지역에서 서식하는 생물들과는 차별되는 생물자원으로 가치가 높다.
2. 이러한 극지생물로부터 유전체 정보, 및 대사체 등을 확보하여, 극지생화학, 분자생물학 분야에서의 신규 유전자원, 대사체 발굴을 통해 궁극적으로는 생체기능, 생물공정, 신소재 활용 등 기술 개발까지의 가능성을 열어둘 수 있으며, 기초정보의 축적이라는 측면에서도 세계 선도적인 연구집단으로 부상할 수 있다.
3. 최근 지구온난화, 해양산성화, 저산소증, 미세플라스틱 등 환경 변화요소가 급부상하며 극지역의 생태계도 변화를 맞고 있다. 이러한 변화에 대비하기 위해, 다양한 극지환경변화 요소가 생물체에 미치는 영향을 생태, 생리, 분자적 측면에서의 연구를 수행하여 궁극적으로는 극지생명체의 먹이사슬 변화, 종 분화 등에 대한 정보를 예측하는 것이 매우 중요하다.
4. 온도 스트레스에 적응하는 극지요각류의 전사체, 대사체, microbiome의 변화를 omics level에서 확인할 수 있으며, 이들의 역학관계 규명은 급격한 온도 변화와 같은 극지 해양 환경변화가 극지 다른 해양생물에 미칠 수 있는 복합 영향규명 연구에 핵심 기반지식으로 활용할 수 있다. 또한, 전사체-대사체-마이크로바이옴에 대한 다중 규명연구로 국내 외 연구진의 기술력, 연구력을 향상시킬 수 있다.

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 거의 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 비 모델생물들에 대한 지식과 연구 경험이 풍부해야 하지만, 모델 생물들이 아닌 비 모델생물종을 이용하여 다양한 측면에서 접근하는 연구 방법을 보유한 연구기관은 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 차원에서 연구 자금 투자가 이루어져 연구결과를 생산하고 있다.
2. 극지연구자들은 주기적으로 “국제극지의 해 (IPY)” 프로그램을 이용하여 극지 뿐 아니라 전 지구적 환경변화 관련 연구를 수행한다. 이들 프로젝트들 중 상당수는 환경생태 및 생물 관련 연구에 집중되어 있으며, 극지환경 적응에 필요한 생리·생태적 뿐만 아니라 생화학 및 분자생물학적 적응기작을 밝히고, 극지의 환경변화에 대한 생물들의 반응과 스트레스 등을 연구하는 것이 중요한 주제이다.
3. 하지만, 온난화, 저산소화, 미세플라스틱 등 극지환경 변화로 인해 발생할 수 있는 생물체의 변화 및 생화학적, 대사학적 변화에 대한 연구는 국제적으로도 미진한 수준에 있다.

제 3장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절. 연구개발 목표

가. 연구개발 최종 목표

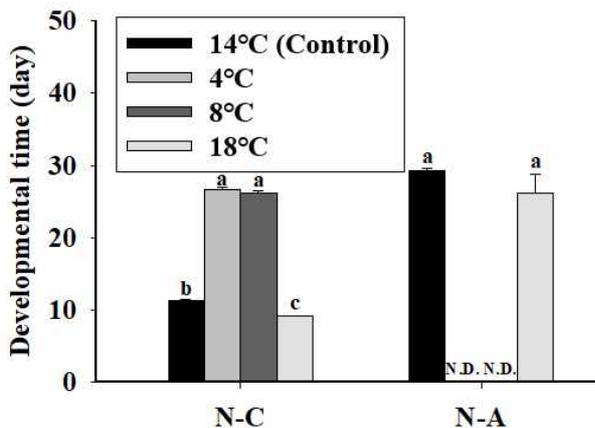
먹이사슬에서 1차 소비자로 중요한 역할을 하는 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*를 활용하여 급변하는 극지환경에서 온도변화 적응에 따라 나타나는 유전체, 전사체, 대사체의 변화를 규명하고, 온대 요각류와 같은 다른 환경의 자매종과 비교하여 궁극적으로 환경변화에 따른 요각류 에너지 대사체의 상관관계에 대한 핵심기반지식을 구축한다.

제 2절. 연구개발 내용 및 결과

○ 온도 스트레스에 대해 적응하는 전사체 database 구축

- 지난 연구에서 극지환경 온도변이에 따른 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 지방산 대사변이 확인을 위해, 3개의 온도 범위 (8°C, 14°C, 18°C)에 따른 *In vivo* 생체 지표 (발달시간, 생식능 등)을 확인했다. (그림 1).

A) Developmental time



B) Reproduction

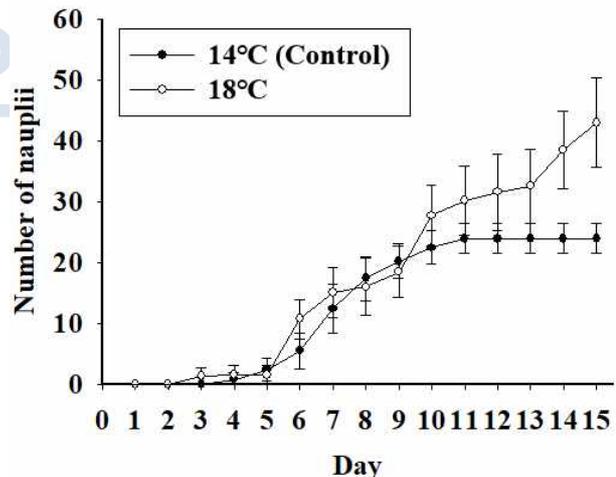


그림 1. A) 온도 조건에 따른 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 발달시간 B) 극지 요각류 *T. kingsejongensis*의 생식능

- 같은 조건하에 대사체 분석과 더불어 전사체들의 변화가 어떻게 일어나는지 확인하기 위하여, RNAseq 분석 수행함. 분석 결과, 전체 평균 31.16 백만 개의 sequence reads가 분석되었으며, Q30 퀄리티 수치를 갖는 reads의 비율이 95% 이상으로 양호하게 분석되었음. 또한, adaptor trimming 및 95% 이상의 Quality를 갖는 시퀀스의 선별 과정을 거친 이후, 모든 실험군간의 quality score가 일관되게 나옴이 확인되었다 (그림 2).
- 현재 RNAseq 분석 결과를 바탕으로, 관련 데이터들을 분석중에 있으며, GO, KEGG 및 IPA를 활용한 pathway 및 network analysis 분석 예정이다.

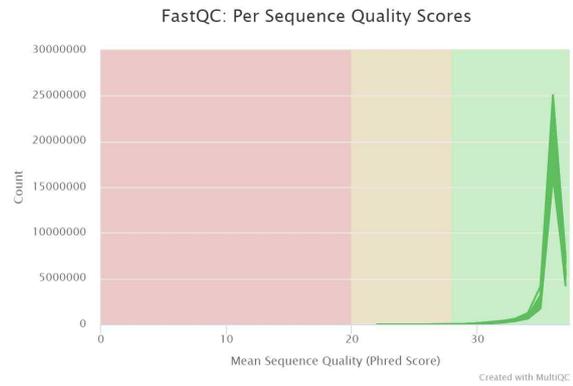
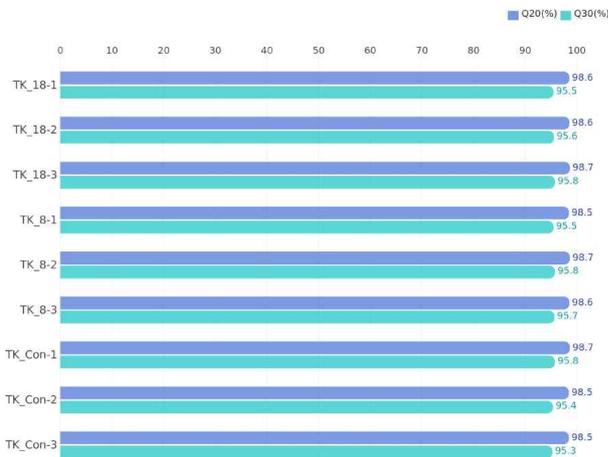


그림 2. 온도변화에 따른 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 RNAseq raw reads data

○ 온도 스트레스에 대해 적응하는 대사체 database 구축

- 같은 조건하에, LC-MS를 활용한 Untargetted metabolomics 분석을 수행하였다. 대사체 분석 결과 총 16,846개의 대사체 (metabolites)가 분석되었으며, 이 중 4,005개의 대사체가 어떤 것인지 신원 확인되었다. 이들을 class 별로 분류하였을 때, lipid 관련된 물질과, Amino acids, peptide, and analogues가 첫 번째, 그리고 두 번째로 많았으며, Benzene 및 steroid 관련 물질들이 다음으로 많이 검출됨이 확인되었다 (그림 3).

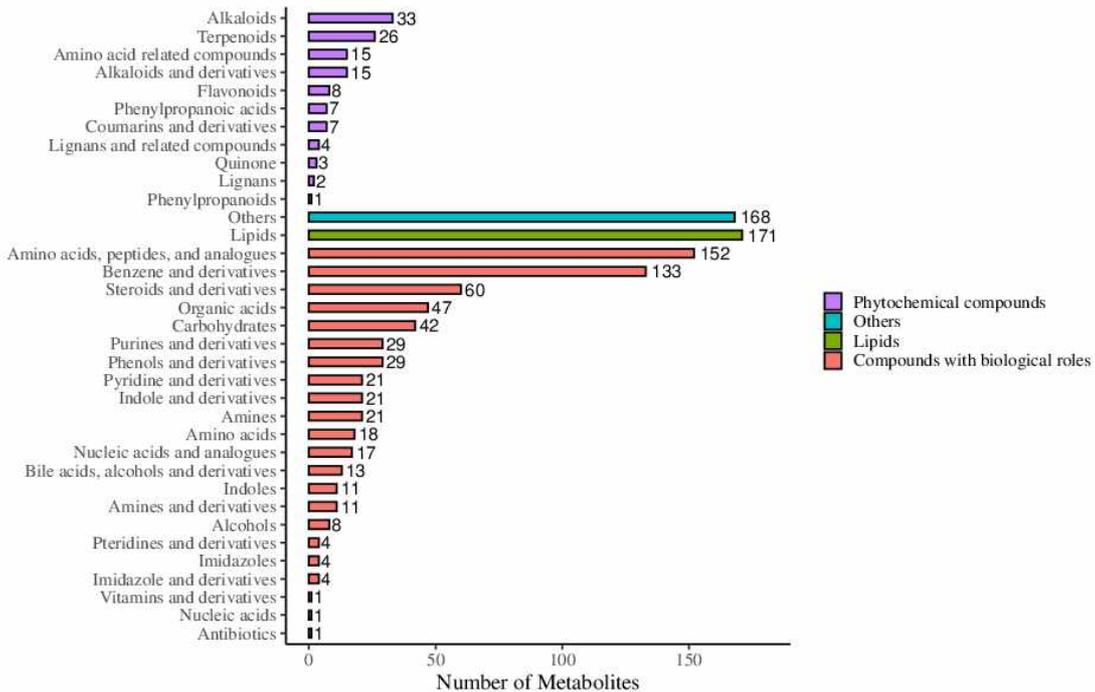


그림 3 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 대사체 분류

- 이들을, KEGG pathway 분석에 맞추어 분류하였을 때, amino acid metabolism, Biosynthesis of other secondary metabolite, lipid metabolism이 주를 이루고 있는 것으로 보아, 극지요각류에서 단백질 및 2차생산물, 지질관련 대사들이 기본적으로 많이 활성화되어

역할을 하는 것으로 확인할 수 있다 (그림 4).

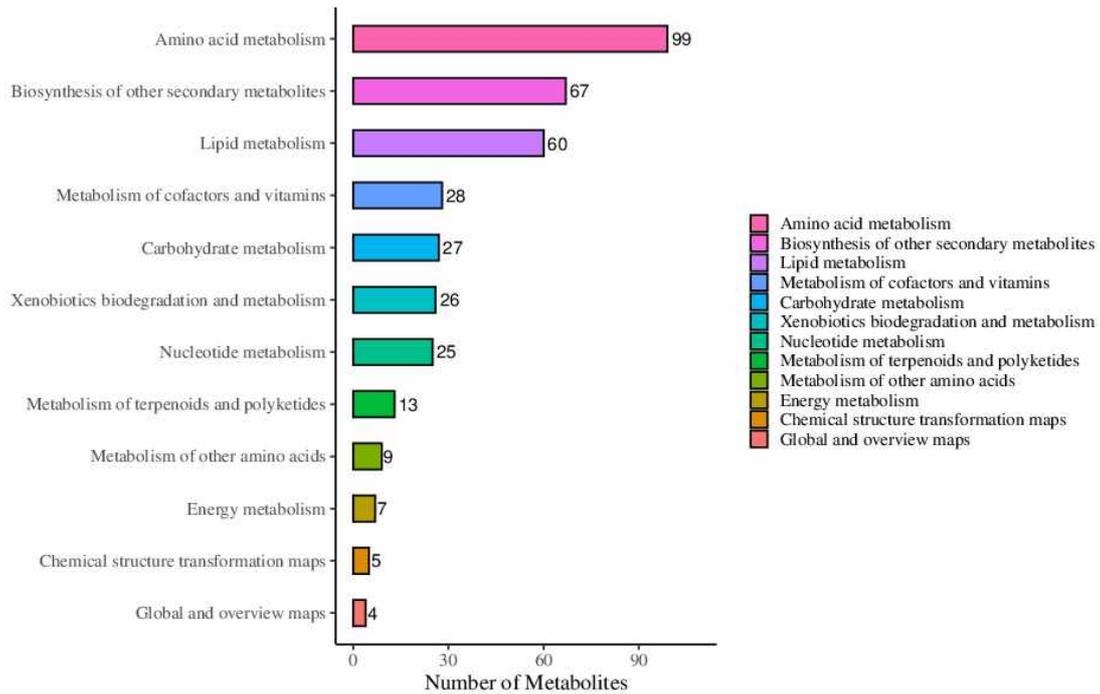


그림 4 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 대사체 KEGG 분석

- 온도 스트레스 (8°C, 14°C, 18°C)에 대응하는 *T. kingsejongensis*의 대사체 발현 profile을 전체적으로 통계분석 했을 시, PCA 분석에서는 3개의 그룹간의 유의미한 차이를 보이지 않았지만 (그림 5A), 각각 발현치를 normalizaion 한 이후, 양상비교를 했었을 때는, 서로 간 차이가 나는 그룹들을 비교분석 할 수 있었다 (그림 5B).

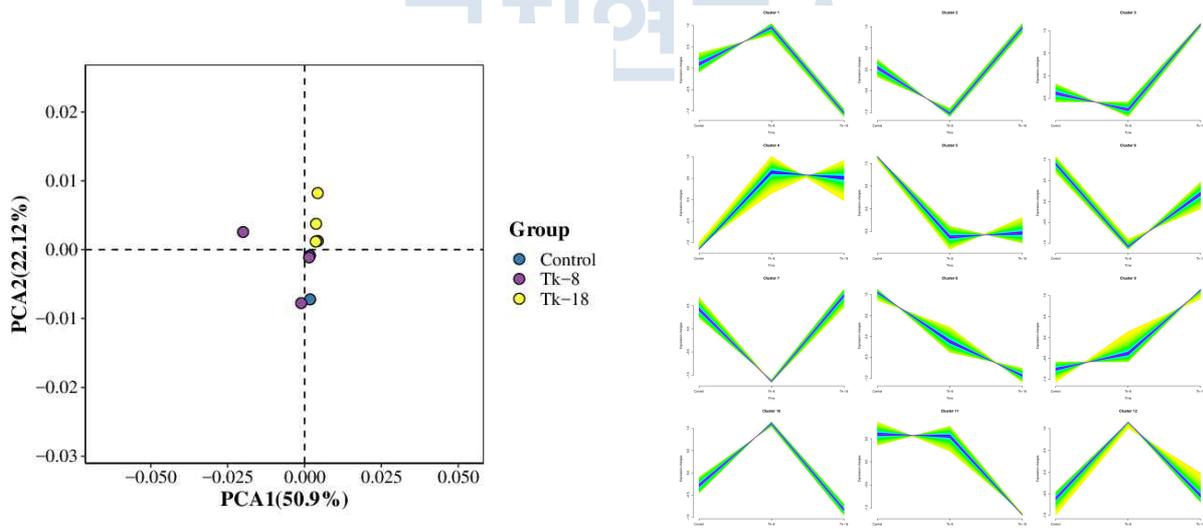


그림 5 A) global PCA 분석, B) 대사체 발현 값 trend 분석

- 각 그룹간 DEM (differentially expressed metabolites) 비교분석 시, 18°C와 14°C (Control)에서는 총 248개의 DEM이 확인되었으며, 8°C와 14°C (Control)에서는 218개의 비슷한 정도의 DEM이 확인되었다. 한편, 18°C와 8°C의 비교에서는 708개의 유의적인 DEM이 확인되어, 극지 요각류 *T. kingsejongensis*에서는 온도 변화에 대한 저항성을 보유하고 있음을 추측해 볼 수 있었다 (그림 6).

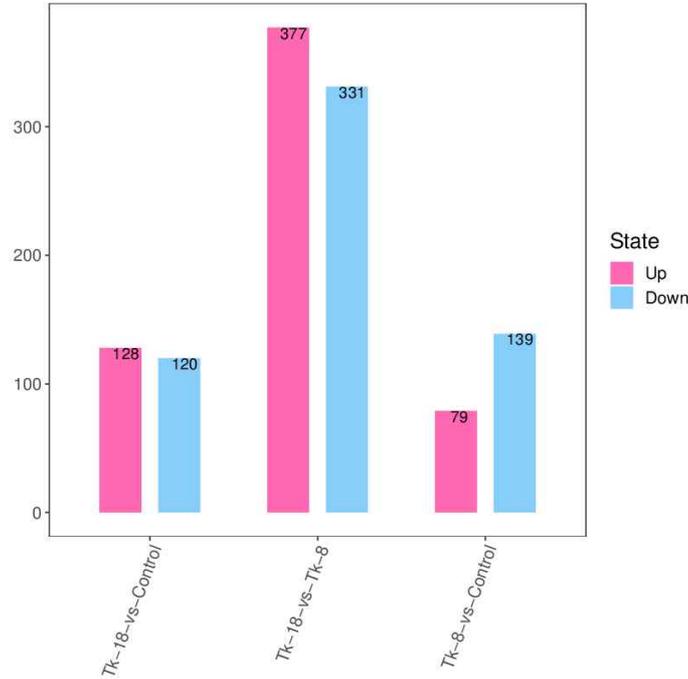


그림 6 극지요각류 *T. kingsejongensis*의 온도별 DEM 분석

- 유의미하게 증감한 DEM을 KEGG 및 enrichment pathway analysis를 통해서 구체적인 지표들을 확인해보았을 때, 8°C의 경우 대조군에 비하여 riboflavin metabolism이 상당히 감소하고, ABC transporter 관련 metabolite들이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 (그림 7A), 18°C의 경우 2-Oxocarboxylic acid metabolism의 감소와, biosynthesis of amino acid 및 biosynthesis of unsaturated fatty acid 지표가 증가하는 것으로 보아 온도 스트레스에 대해 지질 및 아미노산 대사의 변화를 통한 극지요각류의 적응기작을 확인할 수 있었다 (그림 7B).

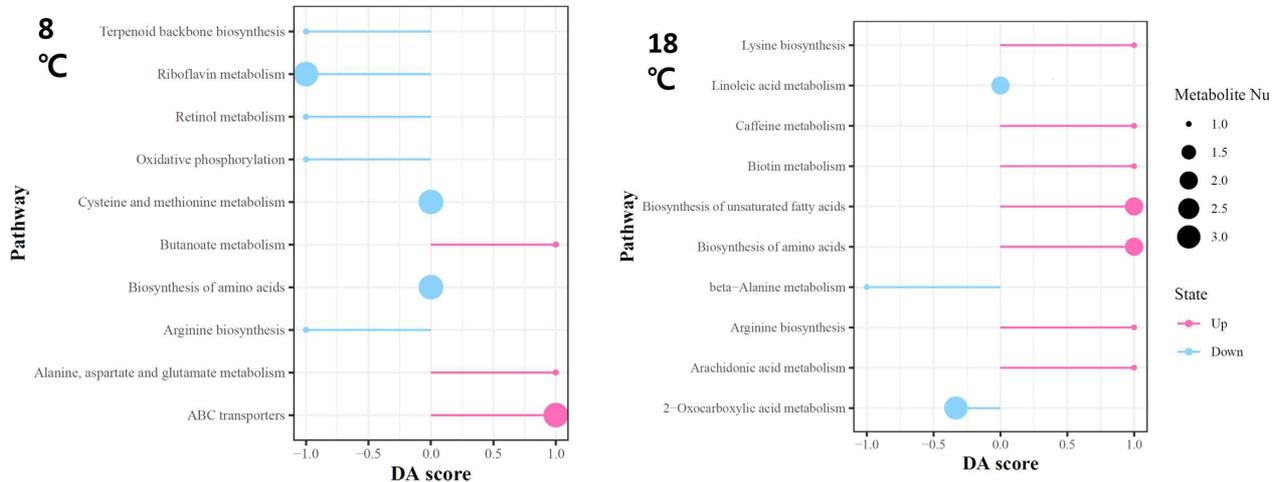


그림 7 Enrichment of metabolic pathway analysis A) 8°C, B) 18°C

- 종합하면, 극지생태계에 적응한 *T. kingsejongensis*는 다가불포화지방산 비율이 높아서 극지 생태계 적응에 역할이 중요할 것으로 추정되나, 온도가 낮은 환경에 노출될수록 지방산의 불포화도를 높이는 유전자들의 발현이 증가하고, 지구온난화 등의 환경으로 인해 온도 스트레스 영향을 받을 경우, 지방산과 아미노산 대사를 활용한 적응기작이 일어남을 대사체 수준에서도 확인하였다. 따라서, 해당 연구결과는 극지환경 변화에 따른 분자생리학적 적응기작에 대한 기본지식을 제공할 수 있다.



제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제 1절. 연구개발 목표 달성도

가. 연구개발 최종 목표

먹이사슬에서 1차 소비자로 중요한 역할을 하는 극지요각류 *Tigriopus kingsejongensis*를 활용하여 급변하는 극지환경에서 온도변화 적응에 따라 나타나는 유전체, 전사체, 대사체의 변화를 규명하고, 온대 요각류와 같은 다른 환경의 자매종과 비교하여 궁극적으로 환경변화에 따른 요각류 에너지 대사체의 상관관계에 대한 핵심기반지식을 구축한다.

나. 연구개발목표 및 달성도

성과목표	세부목표		달성 주요내용	달성도(%)
1. 극지요각류에서 온도 스트레스에 적응하는 전사체, 대사체 분석 (2023)	1-1	온도 스트레스에 대해 적응하는 전사체 database 구축	- <i>T. kingsejongensis</i> 의 전사체 database 구축	- 전 처리 단계까지 적용. 추후 분석 필요. (80%)
	1-2	온도 스트레스에 대해 적응하는 대사체 database 구축	- <i>T. kingsejongensis</i> 의 대사체 database 구축	- 대사체 분석 완료 (100%)

다. 연구수행 세부 내용 및 결과

○ 세부목표 1-1: 극지요각류에서 온도 스트레스에 적응하는 전사체, 대사체 분석

연구 내용	연구 결과
온도 스트레스에 대해 적응하는 전사체 database 구축	- <i>T. kingsejongensis</i> 의 전사체 database 구축
온도 스트레스에 대해 적응하는 대사체 database 구축	- <i>T. kingsejongensis</i> 의 대사체 database 구축

라. 연구성과(정량적 성과)

□ 계획 대비 실적

(계획(건수)/대비(건수))

구분		계획/실적					
		국외			국내		
논문	SCI	기타	소계	SCI	기타	소계	
	1/0	/	/	/	/	/	
Proceeding		국외			국내		
		/			/		
단행본(저서)		/					
특허	출원	국외			국내		
	등록	/			/		
기술실시계약		/					
세미나개최		/					
인터넷사이트 개설		/					
기타사항		/					

제 2절. 대외 기여도

- 본 기술을 통해 향후 온도 스트레스에 적응하는 극지요각류의 전사체, 대사체, microbiome의 변화를 omics level에서 확인할 수 있으며, 이들의 역학관계 규명은 급격한 온도 변화와 같은 극지 해양 환경변화가 극지 다른 해양생물에 미칠 수 있는 복합 영향규명 연구에 핵심 기반지식으로 활용할 수 있다. 또한, 전사체-대사체-마이크로바이옴에 대한 다중 규명연구로 국내 외 연구진의 기술력, 연구력을 향상시킬 수 있다.
- 극지 해양 환경변화 및 온도 스트레스가 극지 해양생물에 미치는 영향을 초기 단계에서부터 매우 미세한 수준에서 검출하고 이들 환경요인이 극지 해양생물의 개체수준 및 분자기작에 미치는 영향을 심도있게 연구하는데 중점을 둘 수 있다.
- 최근 빠르게 진행되고 있는 극지 해양 온도변화에 따른 극지 해양생물의 생태학적 영향 분석에 대한 기초자료를 제공할 수 있다.

제 5장 연구개발결과의 활용계획

- 극지요각류 특이적으로 반응하는 대사체, 특수 전사체 유전자 등을 활용하여 온도 스트레스에 민감하게 반응하고 적응하는 biomarker 정보를 제공할 뿐만 아니라, 이를 개발하고 활용하여 단백질의 생산 및 항체 제작 등으로 이어가 이를 이용한 상업적인 연구도 가능하다.
- 온도 스트레스 상황에서 바이오마커를 활용한 전사체-대사체-마이크로바이옴 역학 모델에 대한 규명은 다른 해양생물종을 활용한 생태독성평가 및 장기적인 관점에서의 극지 환경영향평가와 정책수립에도 도움이 될 수 있다



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.