빙하미생물의 탐색과 기능성 자원 개발 기획 연구



한국해양과학기술원 부설 극지연구소

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 "빙하미생물의 탐색과 기능성 자원 개발 기획 연구 "과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016. 05. 31.



보고서 초록

과제관리번호	PE15430	해당단계 연구기간	2015.1 2016.0	1.02 3.31.	단계 구분	(해당단	난계) / (총단계)
लेन्धलेख	중 사 업 명	창의 연구 사업					
27413	세부사업명	빙하미생물의	탐색과	기능성 자	원 개발 기획	연구	
ले ७ ज जो चो म	중과제명						
친구과세형	세부(단위)과제명						
연구책임자	김 한 우	해당단계 참여연구원수	총 : 내부 : 외부 :	10 명 10 명 명	해당단계 연구비	정부: 기업: 계:	20,000 천원 천원 천원
연구기관명 및 소속부서명	극지연구소 극지	생명과학연구부	참여	기업명			
국제공동연구	상대국명 :		상대국연	구기관명 :			
위탁연구	연구기관명 :		연구책임기	자 :			
요약(연구결과	를 중심으로 개조식	500자이내)				보고서 면수	
○ 극지역의 대부분은 빙하로 덮여 있으며, 특히 남극대륙은 98%는 얼음으로 덮여 있어 극히							
일부지역	을 제외하고는 싱	물도 얼음을	기반으로	살아가야	함. 그럼에도	불구하고	1 내륙빙하나
빙붕, 눈,	. 유빙 등에 대한	빙하미생물	연구는 전]혀 진행되	니고 있지 않음	i.	

이 빙하미생물 기반연구를 통하여 극한 미생물 연구분야에 있어서 선도적인 연구모델을 제시할
 수 있음

ᆰᇊᇯᅴᆺ

 - 국지과학에 있어서 빙하내의 생명체에 대한 정보는 저온성 효소 및 생체 동결보존 기술 등과 같은 산업적 활용 가능성이 풍부한 반면, 현재 이와 관련된 연구정보는 미비한 실정, 이에 따 라 환경 특이적 유전자와 생리활성 물질을 연구 개발하여 관련 정보를 관리할 수 있는 시스 템이 필요

- 이 빙하미생물 연구는 궁극적으로 미래 바이오 산업 자원의 원천을 확보하는 기반 조성이라고 볼 수 있음. IBP (Ice-binding protein)과 같은 단백질 등의 예에서도 알 수 있듯이, 극지에서 확보된 생물과 유전자원은 향후 바이오 산업에서 다양한 신물질과 효소 등의 개발에 활용 가능성 높음
- 혹한의 땅인 극지역에서의 생명체 탐색활동은 우주탐사에 비견할 만한 인류의 도전정신과 탐험
 정신을 실현하는 모험의 장으로써, 국민 자긍심을 고취하고 과학적 관심사를 집중할 수 있는
 전기를 마련할 수 있음

색 인 어	한	글	빙하미생	물, 극한미생물,	항동결, 자	· 온 효소,	생리기작,	빙하	생태계, 기]능성	자원
(각 5개 이상)	ශ්	어	Glacial Metabolic	microorganism, mechanism, Gl	Extremo acial ecosy	ophiles, /stem, Bic	Cryoproted presources	ctant,	Cold-act	ive	enzyme,

요 약 문

I.제 목

빙하미생물의 탐색과 기능성 자원 개발 기획 연구

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

극지역의 대부분은 빙하로 덮여 있으며, 극히 일부지역을 제외하고는 생물도 얼음을 기반으 로 살아가야한다. 현재까지 극지생명과학연구는 내륙빙하나 빙붕, 눈, 유빙 등에 대한 빙하 미생물 연구에 대한 연구는 아직까지 진행되고 있지 않은 실정이다. 남극대륙의 빅토리아랜 드에 장보고과학기지의 준공으로 남극대륙으로의 접근이 용이해 지고 있고, 장보고기지 기 반 생물연구가 전무한 현실에서 대형연구주제 발굴이 시급한 실정이다.

빙하와 같은 극한지 유래의 극한 미생물의 생명현상에 관한 연구는 분리 및 배양기술 등의 한계로 인해 연구수행이 다소 어려움이 있으나, 빙하미생물 기반기술을 구축하고 관련 연구 를 활성화 함으로서 극한미생물 연구분야에서 선도적인 연구모델을 제시할 수 있을 것이다. 이와 더불어서, 최근 극지기초과학 분야의 협력 연구에 있어서도 빙하에 존재하는 미생물의 생태학적 다양성과 생리기작 연구의 중요성에 많은 관심을 가지고 있다.

빙하지역의 극한미생물 연구 분야에서 우선시 되어야 할 것은 극한지 시료로부터 소량의 미생물을 분리, 배양 및 활성을 확인하는 기술을 확보하는 것이 우선이 되어야 할 것이다. 이러한 기술개발과 더불어서 난배양성 빙하미생물의 단일세포 유전체 분석을 통하여 연구 의 접근성을 용이하게 할 수 있으며, 다양한 분야에서 활용할 수 있도록 유전 정보 공유 시 스템을 구축하여야 할 것이다.

빙하미생물 연구를 통한 기술 개발과 확보된 생명자원은 국가 생명공학 분야에서 새로운 유전자원 확보 및 활용에 기여할 것으로 파악이 되며 이를 위하여 미지의 빙하미생물 연구 에 대한 기획안을 제시하고자 한다.

Ⅲ. 국내외 기술개발 현황

국내 미생물 연구는 크게 육상미생물과 해양미생물에 관한 연구가 주를 이루고 있으며, 농 축산식품 미생물 유전체 전략연구사업단이 육상미생물을 소재로 하고 해양 극한생물 분자 유전체 연구단은 해양미생물을 중점적으로 연구수행 하여 왔으며, 미생물의 생리적 기능 및 활용분야 개발을 중심으로 하는 전략적 연구사업으로 현재 진행되어지고 있다. 그러나 빙하 미생물 연구와 관련된 사업은 현재까지 전무한 실정이다.

극지연구소는 극지고유 유전자원 확보 및 이용기술 개발 사업을 통하여 빙하 유래의 배양 미생물에 대한 다양성 조사를 실시하였으며, 극지연구소 연구사업인 남극 킹조지섬의 생물 다양성과 생태계 변화 연구에서 구축된 미생물 기탁은행, Polar and Alpine Microbial Collection (PAMC), 을 통해서 일부 빙하 미생물이 보관되고 있다.

국제적으로는 서남극 빙하 코어 프로젝트, West Antarctic Ice Sheet (WAIS) Divide Ice Core, 보스톡 기지 등에서 빙하시추와 빙저호 연구를 통하여 빙하 코어에서의 생물학적 활 성과 고기후 복원에 관한 자료로서 빙하미생물을 통한 융합연구를 수행되어지고 있다. 극한 미생물 연구는 배양이 어려운 미생물의 분리기술, 배양기술, 단일세포 유전체 분석기 술 등에서 현재까지 기술적으로 보완해야 될 부분이 많이 존재하며, 초기 핵심기술의 구축 이 시급한 상황임.

Ⅳ. 빙하미생물의 연구 전략

본 연구개발 과제의 최종목표는 빙하 환경에서의 고유 미생물에 대한 생태 연구 및 다양 성 분석, 빙하 미생물의 환경 특이적인 생명 현상 이해 및 생물학적 기능 연구, 빙하 미 생물 기반 유용생물자원 발굴 및 확보하는데 있다. 이러한 목표를 효율적으로 수행하기 위하여 다음과 같은 세부과제로 기획하였다.

제1세부과제: 빙하환경 생태계 연구 기반 구축

- 빙하미생물 자원의 다양성 확립
- 환경 특이적 미생물 생태 커뮤니티 분석
- 빙하환경과 연관된 미생물 생리 생태학적 분석
- 빙하환경 생태계 연구 기반기술 구축
- 제2세부과제: 빙하환경에 적응한 미생물의 생리적 대사활성 기작 규명
- 극한미생물의 순수분리 및 배양에 관한 원천기술 개발
- 단일세포 유전체 정보 확보와 분석을 위한 기반기술 확립
- 환경 특이 유전자의 기능성 규명 및 분자수준의 해석
- 생리활성 적응기작 규명을 위한 모델 생물 검증을 통한 시스템 생물학 연구

제3세부과제: 유용 생명자원 활용 기술 개발

- 빙하미생물의 다양성을 기반으로 하는 유용 생명자원 탐색
- 발굴된 생명자원의 기능성 최적화 설계
- 유용 유전자의 활용 기술 개발 및 최적화 구현
- V. 기대성과 및 활용방안
 - 난배양성 빙하 미생물의 유전체 및 생리적 기능을 분석하기 위한 기반 인프라와 원천기 술 확립 (단일 미생물 분리 및 단일세포 수준의 유전체 기술 확립)
 - 미개발된 빙하미생물의 유전체 분석(20종 이상) 및 환경 유전체(환경시료 5종 이상)을
 통한 생명현상 규명과 기능성 생물자원 개발 (원천 특허등록 2건 이상)
 - 3. 빙하미생물 관련 유전체 정보의 효율적인 활용을 위한 유전정보 공유 시스템 구축

제 1 장 서론
제 1 절 연구기획의 배경과 목적
1. 빙하미생물의 연구에 대한 필요성
2. 빙하미생물 연구의 목적
제 2 장 국내외 기술개발 현황
제 1 절 빙하미생물 연구에 대한 현황 및 전망
1. 국내 현황
2. 국제 현황
3. 현 기술상태의 취약성
4. 앞으로의 전망
제 3 장 빙하미생물의 확보, 생리적 기능 규명 및 활용 개발에 대한 연구 전략 13
제 1 절 빙하미생물 연구개발의 핵심기술
1. 빙하환경에서의 미생물 탐사와 생명현상 분석을 위한 핵심기술 13
2. 생명자원 확보를 위한 미생물 분리기술
3. 난배양성 미생물의 단일세포 유전체 분석
4. 빙하미생물의 생리기작 분석
5. 신규 생명자원의 개발
제 2 절 빙하 유래의 기능성 생명자원과 관련된 특허동향
1. 특허동향조사를 위한 특허검색
2. 정량분석
3. 기술 분류
4. 특허동향조사 결론
제 4장 연구개발 추진 계획

				1. 연구	-개발	의 최종	목표	<u>.</u>	•••••	•••••	•••••	•••••		•••••		•••••	•••••	28
				2. 예상	상 최종	성과	글		•••••	•••••	•••••	•••••		•••••		•••••	•••••	28
				3. 연구	-개발	의 비전	••••••		•••••	•••••	•••••	•••••		•••••				29
				4. 단계	베별 목	- 班					•••••					•••••		30
		제	2 3	철 연구	내용	및 범의	위		•••••	•••••	•••••			•••••				31
		제	3 ද	철 연구	추진	체계…	•••••				•••••			•••••				32
제	5	장	연구	'개발	예산,	인력 및	! 시설	<u>]</u>	•••••	•••••			•••••	•••••		•••••	•••••	33
		제	1 3	철 소요	예산	•••••	•••••		•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••	•••••		33
		제	2 3	철 소요	인력		•••••		•••••	•••••	•••••		•••••	•••••				34
			0 7	ন তা ০	วไปไ	נו וח	ન											24
		세	3 4	길 걸요	오미	옷 시설	ë											34
제	6	장	참고	1문헌 .														35
.,	-	0	1															



제 1 장 서론

제 1 절 연구기획의 배경과 목적

1. 빙하미생물의 연구에 대한 필요성

🗌 기술적 측면

- 국지역의 대부분은 빙하로 덮여 있으며, 특히 남극대륙은 98%는 얼음으로 덮여 있어 극히
 일부지역을 제외하고는 생물도 얼음을 기반으로 살아가야함. 그럼에도 불구하고 내륙빙하
 나 빙붕, 눈, 유빙 등에 대한 빙하미생물 연구는 전혀 진행되고 있지 않음
- 남극대륙의 빅토리아랜드에 장보고과학기지의 준공으로 남극대륙으로의 접근이 용이해
 지고 있음에도 불구하고, 장보고기지 기반 생물연구가 전무한 실정으로 대형연구주제 발 굴이 시급함
- 빙하와 같은 극한지 유래의 극한 미생물의 생명현상에 관한 연구는 분리 및 배양기술 등
 의 한계로 인해 연구수행이 다소 어려움
- 빙하미생물 기반연구를 통하여 극한 미생물 연구분야에 있어서 선도적인 연구모델을 제시
 할 수 있음

Habitat	Average area [‡] (10 ⁶ km²)	Average volume [§] (10 ³ km ³)	Cell density (number of cells per ml)	Total cell numbers
Seasonal snow	47	2	10 ² -10 ⁵	10 ²⁰ -10 ²³
Sea ice	25	50	10 ⁴ -10 ⁷	$10^{23} - 10^{26}$
Supraglacial habitats	17	0.02	10 ⁴ -10 ⁸	10 ²³ -10 ²⁷
Englacial habitats	As above	33,000	10 ¹ -10 ³	$10^{23} - 10^{25}$
Subglacial basal zone	As above	0.02	10 ³ -10 ⁵	1022-1024
Subglacial lake waters	>0.05	165	10 ² -10 ⁵	10 ²¹ -10 ²⁴
Permafrost	23	300	10 ⁵ -10 ⁸	$10^{25} - 10^{28}$
Sum of cryosphere habitats	112	~33,400	10 ¹ -10 ⁸	10 ²⁵ -10 ²⁸

그림 1. 빙하환경 생태계에서 존재하는 미생물 세포의 양적 예측 수치



Nature Reviews | Microbiology

그림 2. 빙하환경 생태계에서의 생지화학적 기작

□ 경제·산업적 측면

- 국가 재산권에 있어서 중요한 생물자원 확보는 생명공학 산업분야에 있어서 원천기술의
 핵심으로 인식
- 육상, 해양 생물자원과 더불어 지구 면적의 10%에 덮여져 있는 빙하에서 존재하는 생물자
 원에 대한 연구는 새로운 유전자원 확보와 유용물질 발굴에 있어서 매우 중요한 연구
- 즉지과학에 있어서 빙하내의 생명체에 대한 정보는 저온성 효소 및 생체 동결보존 기술
 등과 같은 산업적 활용 가능성이 풍부한 반면, 현재 이와 관련된 연구정보는 미비한 실정,
 이에 따라 환경 특이적 유전자와 생리활성 물질을 연구 개발하여 관련 정보를 관리할 수
 있는 시스템이 필요
- 극지 생물연구는 궁극적으로 미래 바이오 산업 자원의 원천을 확보하는 기반 조성이라고

볼 수 있음. IBP (Ice-binding protein)과 같은 단백질 등의 예에서도 알 수 있듯이, 극지 에서 확보된 생물과 유전자원은 향후 바이오 산업에서 다양한 신물질과 효소 등의 개발에 활용 가능성 높음

🗌 과학적 측면

- 과거 고기후와 대기 환경변화 복원과 관련된 빙하 연구 분야의 시료 분석에 있어서, 빙
 하미생물의 생리활성에 의한 가스 형성과 같은 생물학적 활성 정보는 매우 중요하지만,
 이와 관련된 전문적인 기술과 연구가 부재, 이에 따른 빙하미생물 연구의 필요성이 대
- 난배양성 빙하미생물의 유전체 분석을 통하여 다양한 분야에서 활용할 수 있도록 유전 정
 보 공유 시스템의 구축이 필요



그림 3. 극지기초과학연구 사업에서 빙하미생물 연구에 의한 파급효과

□ 사회·문화적 측면

- 급속도록 진행되고 있는 빙하의 후퇴로 인해 고대 빙하속 박테리아 병원균의 증가가 사 회적 문제를 초래할 수 있으며, 이에 따른 생태계 변화에 대한 기초 연구를 제시
- 빙하미생물에 관한 대표과제로 대중의 극지연구에 관한 관심 증대에 기여
- 후한의 땅인 극지역에서의 생명체 탐색활동은 우주탐사에 비견할 만한 인류의 도전정신과
 탐험정신을 실현하는 모험의 장으로써, 국민 자긍심을 고취하고 과학적 관심사를 집중할 수
 있는 전기를 마련할 수 있음



그림 4. 동토층에서 발견된 고대 바이러스

- 2. 빙하미생물 연구의 목적
 - 극지기초과학 분야 중, 빙하지역에 존재하는 미생물의 생태학적 다양성과 생명유지를 위한
 생리기작 연구의 중요성 증가
 - 빙하지역의 극한미생물 분야에서 우선시 되어야 할 것은 극한지 시료로부터 소량의 미생물
 을 분리, 배양 및 활성을 확인하는 기술을 확보하는 것임
 - 국가 생명공학 분야에서 새로운 유전자원 확보 및 활용을 위하여 미지의 빙하미생물 연구에
 대한 기획안 도출이 필요



빙하미생물 : in Icy world

3i Research and Development

Nature 빙하환경

Glaciers, Ice core, Cryoconite hole, Snow, Melt pond, Sea ice, etc



Cell for Life 빙하유래 미생물체

세균 Bacteria, 고세균 Archaea, 바이러스 Virus, 진균 Fungi, 조류 Algae

선도적 생명과학 기술활용 미생물 분리 기술 Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS),

난배양성 미생물 배양 기술 Bio-chip system, microfluidic device 단세포 유전체 분석 기술 Single Cell Genomics (SCG)

그림 5. 빙하미생물 연구개발의 개요

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 빙하미생물 연구에 대한 현황 및 전망

1. 국내 현황

- 기초기술연구회 사업의 일환인 "극지결빙방지물질의 얼음제어능을 활용한 고부가 생물자
 원의 동결보존 후보물질 발굴"연구사업에서 빙하 유래의 미생물 분리 및 유전체 분석에
 관한 연구결과에 대하여 발표하였음
- 국지연구소는 극지고유 유전자원 확보 및 이용기술 개발 사업을 통하여 빙하 유래의 배양
 미생물에 대한 다양성 조사를 실시하였음.
- 국지연구소 연구사업인 남극 킹조지섬의 생물 다양성과 생태계 변화 연구에서 구축된 미 생물 기탁은행, Polar and Alpine Microbial Collection (PAMC), 을 통해서 일부 빙하 미 생물이 보관하고 있음.
- 국내 미생물 연구는 크게 육상미생물과 해양미생물에 관한 연구가 주를 이루고 있으며, 농축산식품 미생물 유전체 전략연구사업단 (2014-2021)이 육상미생물을 소재로 하고 해 양 극한생물 분자유전체 연구단 (2004-2013)은 해양미생물을 중점적으로 연구수행 하여 왔으며, 미생물의 생리적 기능 및 활용분야 개발을 중심으로 하는 전략적 연구사업으로 현재 진행되어지고 있음. 그러나 빙하미생물 연구와 관련된 사업은 현재까지 전무한 실정 임.

2. 국제 현황

- 미국: 서남극 빙하 코어 프로젝트, West Antarctic Ice Sheet (WAIS) Divide Ice Core (2005~2014),에서 협동연구 주제로서 빙하 코어에서의 생물학적 활성과 고기후 복원에 관 한 자료로서 빙하미생물을 통한 융합연구를 수행.
- 러시아: 보스톡 기지에서 빙하시추와 빙저호 연구를 통하여 빙하미생물의 생태와 생리 연 구를 위하여 꾸준히 연구를 수행 중임
- EU: 보스톡에서 약 560km 떨어져 있는 Dome C에서 (75°19'S 39°42'E) EPICA
 (European Project for Ice Coring in Antarctcia)를 수행하여 약 3,200 m 깊이의 빙하 시

추. 빙하 코어링을 통한 고기후 복원 및 빙하미생물 연구를 수행.

- 중국: PANDA (The Prydz Bay, Amery Ice Shelf and Dome-A Observatories) program'
 으로 빙하 연구를 진행 중임.
- 3. 현 기술상태의 취약성
 - 빙하유래 미생물에 대한 간헐적인 연구 결과는 있으나 빙하를 채취하기 쉽지 않고 취급하
 기도 어려워 빙하미생물에 관한 집중적인 연구는 본격적으로 진행되지 못하고 있음.
 - 빙하에는 부피 대비 매우 낮은 생체량이 존재하므로 시료 오염 문제가 가장 문제로 부각
 됨. 현재 극지연구소 내에는 극빈의 생체량을 다룰 수 있는 연구시설이 전혀 없으므로 빙
 하미생물을 연구하기 위한 가장 필수조건인 청정시스템을 갖추는 것이 가장 시급함.
 - 극한 미생물 연구는 배양이 어려운 미생물의 분리기술, 배양기술, 단일세포 유전체 분석기
 술 등에서 현재까지 기술적으로 보완해야 될 부분이 많이 존재하며, 초기 핵심기술의 구
 축이 시급한 상황임.
- 4. 앞으로의 전망



- 극한 미생물의 연구범위 확대, 생명자원 확보 경쟁 및 우주생물에 대한 탐색과 관련하여
 연구경쟁이 가속화 될 것으로 예상되어짐.
- 미답지 환경에서의 생명자원을 통한 유용 기능성 자원이나 신물질이 발견되면 특허 출원
 및 등록 후, 산업체 참여하여 협동 연구 추진하여, 국내의 극한 생명공학 사업을 선도할 예
 정.

제 3 장 빙하미생물의 확보, 생리적 기능 규명 및

활용 개발에 대한 연구 전략

제 1 절 빙하미생물 연구개발의 핵심기술

1. 빙하환경에서의 미생물 탐사와 생명현상 분석을 위한 핵심기술

- 빙하환경에서 생존하고 생육하는 미생물에 대한 연구는 극한 환경에서의 생명현상에 대한 이해로 확장할 수 있음. 남극의 영구 얼음층 (permanent ice cover)에서 극저온 극염의 생 대시스템 (-13℃, 염도, 200)이 확인이 되었으며, 이러한 생대계의 발견과 생지화학적 연구 를 위하여 코어링 시료의 오염원을 제거하기 위하여 특별히 청정시스템을 구축 설비가 필 요하였음. 정밀 화학 분석 결과는 다른 빙하에서의 생명현상 연구에 있어서 매우 중요한 자료이므로 협력 연구가 필수적으로 요구되어짐.
- 극한 환경에서 유래된 미생물은 배양방법 및 생장속도의 한계로 인해 유세포 분리기, 단세 포 유전체 분석기술 등의 배양독립적 (culture independent) 미생물 분석기술을 적용하고 최적화하기 위한 기술개발을 중점적으로 진행해야할 것으로 사료됨.
- 생지화학적 연구 접근
 - 빙하 시료의 비생물학적 관점에서의 물리 화학적 특성에 대한 정보 분석은 주로 생지
 화학적 연구의 일환으로서 많이 이루어지고 있으며, 비생물학적 인자가 생명현상을 이
 해하는 중요한 인자로 알려져 있음
 - 극저온 환경에서의 특이적 생리현상 규명과 활용성을 구체적으로 제시하기 위하여 극
 한 환경인자에 적응한 생리기작에 대한 연구를 중심으로 이루어지고 있으며, 빙하미생
 물에 관해서는 아직까지 세계적으로 초기 연구 단계에 머물고 있음.
- 연구 추진 방법
- 세계적 생물자원 센터 ATCC, 극지연구소 미생물 보존센터 PAMC 등을 활용한 빙하미 생물에 대한 현황 분석
- 빙하 시료에서 생물학적 활성과 연관된 기초 과학적 자료에 대한 수집 확대
- 극한미생물 연구 기반의 생태, 생리, 생명공학 기술을 총체적으로 분석하여 빙하미생물
 연구에 대한 기본 연구 방향을 수립

빙하미생물 분리 배양 (생명자원 확보)	단일세포 유전체 분석	빙하미생물 생리기작 분석
유세포 분리기 Fluorescence-Activated Cell Sorter (FACS) 를 활용한	단일세포 확보를 위한 단일 세포 분리 기술 도입	빙하미생물의 대사기작 규명 을 위한 생리학적 분석 기술 확보
미생물의 분리 기술 확보	단일세포 수준에서의 유전체 정보분석 기술 확보	단백질 구조 분석 을 통한 기 능성 규명 기술의 확장
한해영영 미정물의 준다 및 배양을 위한 미세유체 시스템 Microfluidic system 의 활용 기술 개발	빙하미생물의 비교유전체 연 구 기술 확립	환경 특이 대사기작의 이해 를 통한 응용 연구의 기반 확 보

그림 6. 빙하미생물 연구개발의 분야별 핵심기술

2. 생명자원 확보를 위한 미생물 분리기술

- 미생물 연구에 있어서 가장 오랫동안 풀려지지 않은 미지의 영역중에 하나는 미생물의 배양에 있어서 인공배지에서 생육할 수 있는 미생물의 군집 다양성은 매우 한정이 되어 있다는 사실임. 이러한 난배양성 혹은 미지의 미생물은 전체 지구상의 미생물 중에서 99% 이상을 차지하는 것으로 알려져 있음에 따라, 난배양성 미생물에 대한 정보는 생물학적 화학적으로 전혀 밝혀지지 않은 새로운 정보를 제공할 수 있는 생명자원임.
- 난배양성 미생물 연구의 일환으로서 배양 독립적 (culture independent) 미생물 생리 생태
 연구가 이루어지고 있으며, 단일세포 수준의 연구를 기반으로 하고 있음.
- 한경시료로부터 미생물 세포의 특성분석을 위한 단일세포의 분리는 매우 어려운 과정으로
 서, 최근에는 형광 probe를 이용하여 유세포 분석기와 cell sorting을 결합한 유세포분석
 (FACS:fluorescence activated cell sorting)을 활용하여 미생물 단일세포의 분리가 가능함.
- 단일세포의 분리는 생물 분류상, 세균의 문(Bacterial Phyla) 수준에서 알려지지 않은 생태계의 연구를 가능하게 할 수 있음. 토양 시료에서 Candidate Division TM7 bacteria의 분리 및 검출에 사용된 예가 있음.
- 새로운 형태의 미생물 배양기술의 일환으로서 확산 챔버(diffusion chamber)를 이용한 분 리칩(ichip: isolation chip)이 최근에 연구발표되었음. 수 백개의 매우 작고 정밀화된 확산 챔버로 구성된 분리칩은 확산 챔버안에서 포집된 미생물이 생육이 가능하며, 다양한 환경 시료에 존재하는 영양분은 챔버내로 확산이 되는 것과 동시에 다른 미생물의 공격으로부

터 물리적으로 보호가 될 수 있는 장치로 알려져 있음. 분리칩에 의해 생육이 확인된 미생 물의 수는 전체 미생물의 약 45% 정도의 배양율을 나타냄으로서 기초 응용 연구분야에 적 합한 새로운 분리 배양 기술로 사료됨.

 최근 미세유체 시스템의 기술이 빠르게 진보함에 따라 미생물의 분리 및 배양에 활용하기 위한 기술이 연구 개발되어지고 있음. 미세유체 칩(microfluidic chip)내에는 수천개의 미세 한 홈(well)들이 채널로 연결이 되어 있는 형태로서 다양한 실험을 병행할 수 있음. 채널을 통해서 단일 혹은 다수의 세포를 이동시켜 홈에서 배양함으로서 미생물의 분리와 배양을 동시에 실현 시킬 수 있는 선도적 기술임. 이러한 기술로 새로운 미생물, microfluidics 1 이라고 명명된 세균을 분리한 사례가 보고되었으며, 최근에는 미생물 community에 관한 연구에 활용되어 빙하미생물 연구에서 매우 중요한 기술로 개발이 되어야 할 것으로 사료 됨.



그림 7. 미생물 분리칩(ichip: isolation chip)의 이해를 위한 도면



그림 8. 미량의 시료에서 난배양성 미생물 분리를 위한 선도적 분리기술 및 배양기법

3. 난배양성 미생물의 단일세포 유전체 분석

- 난배양성 미생물의 배양은 매우 복잡하며, 그 결과의 재현성이 부족하다는 문제를 있음에
 따라, 배양 단계를 거치지 않고, 단일세포의 유전체를 분석함으로서 미생물의 생명현상을
 규명하는 연구가 활발히 진행되어 지고 있음.
- 세균 감염 바이러스의 DNA 복제 효소를 이용하여 단일세포의 유전체를 증폭할 수 있는 기술이 개발이 됨에 따라 단일세포 유전체 분석 (single-cell sequencing)이 가능하게 됨.
- 스위스 연방공대의 연구진은 단일세포 유전체 분석을 통하여 바다해면의 난배양성 세균을
 직접 확인하였으며, 이를 통하여 항암제, 항생제, 기타 의학적 용도로 사용될 수 있는 화학
 물질의 새로운 발견 가능성을 보여줌.
- 단세포 유전체 기술의 세계적 수준을 도입하고, 지금까지 연구되어 있지 않은 빙하미생물
 을 이러한 유전체 분석기술에 적용함으로서 극한 환경에서의 생명현상의 규명과 신규 생 리활성 물질의 개발 연구에 매우 유용하게 활용이 될 것으로 사료됨.



그림 9. 단일세포 유전체 분석을 위한 환경시료에서의 미생물 분리 및 분석기술 모식도

4. 빙하미생물의 생리기작 분석



- 생명현상으로 미생물 대사활성은 -5℃~-32℃의 온도를 가지는 빙하환경에서 관찰되어
 져 왔으나, 미생물의 생육(growth)을 위한 대사인지 생존(survival) 유지를 위한 대사인지
 에 대한 차이를 구별하기 위하여 다양한 연구방법이 현재까지 보고 되어지고 있음.
- 빙하환경에서 미생물 대사활성이 생육에 관여하는지를 조사하기 위하여 영양이 풍부한 빙 하조건(얼음과 고염의 조건)에서 ¹⁴C-acetate utilization, macromolecule syntheses, 그리고 CTC (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride)의 감소를 통한 생존 수치를 간접 적으로 측정하는 등의 다양한 방법을 시도함으로서 미생물의 대사활성과 생육에 관한 정 보를 확보할 수가 있음.
- 저온 미생물 psychrophiles의 생육 최저 온도는 -12℃, 대사기능 최저 온도는 -20℃로
 알려져 있으며, 빙하조건에서 미생물의 다양한 생리 특성을 살펴보면 다음과 같음.
 - 남극 lichen Umbilicaria aprina의 경우 17℃에서 광합성이 가능,
 - 효모 Rhodotolura glutinis, -18℃에서 냉동식품의 부패를 야기할 수 있음.
 - -20℃이하에서 지속적인 세포 기능성 유지를 확인.

- 극저온의 환경은 고분자 상호작용, 물 점도 (water viscosity), 용매 확산율 (solute diffusion rates), 세포 보존(cell integrity), 세포막 유동성(membrane fluidity), 효소 역학 (enzyme kinetics)에 있어서 영향을 줌으로서 생리기능에 심각한 물리화학적 제약을 줌.
- 빙하미생물의 생존을 위해서는 필수 세포기능을 유지하기 위한 다양한 적응 전략이 필요
 함. 특히 낮은 유용영양분, 높은 삼투압, 매우 높거나 낮은 pH 조건, 과도한 UV량, 방사선, 건조와 같은 극한조건에서의 스트레스 요소에 대응할 수 있는 진화된 생리기작을 빙하미 생물에서는 보유하고 있음.
- 저온미생물의 생물학적 이해는 차세대 유전체 분석기술에 의해서 상당히 진보된 연구 결과를 도출할 수 있으며, 비교유전체 분석을 통한 생육 온도 영역에서의 특이 유전자의 검출은 환경 적응 인자의 기능적 연구에 핵심 정보를 제공할 수 있음.
- 오믹스(omics) 분석에 의한 저온 적응 인자에 대한 연구는 저온내성 세균 Exiguobacterium sibiricum 255-15 (-5℃~40℃의 온도범위에서 생육이 가능)의 전사 체, 단백체 분석을 통하여 이루어졌으며, 그 결과 DNA복제, 전사, 번역, 탄수화물과 아미 노산 대사, 그리고 세포막 적응과 관련된 유전자가 상이한 발현양상이 분석됨으로서 저온 적응에 대한 이해가 가능하게 됨.
- 남극의 빙붕 연못(ice shelf ponds)에서의 미생물 환경유전체에서는 세포외 다당류 합성 (exopolysaccharide biosynthesis)과 세포막 적응(membrane adaptations)에 관련된 유전자 가 다수 발견되었으며, 이러한 현상은 남극 연못에서의 동결과 연관하여 높은 삼투 스트레 스에 노출됨으로서 이에 대한 적응을 위한 미생물 커뮤니티의 생리학적 특성으로 관찰됨.
- 저온 생태계(cold ecosystem)에서의 분석된 유전체 정보에 있어서 빙하환경 유래의 미생
 물 유전체 분석에 대한 정보는 매우 미미한 실정임.
- 온도는 생화학적 반응에서 매우 중요한 요소중의 하나로 알려져 있으며, 낮은 온도에서의 반응속도는 현저히 급감됨. 이에 저온성 미생물의 효소는 세포의 생리적 기능을 위하여 적 절한 생촉매 반응을 유지할 수 있게 적응 진화되어 있음.
- 저온 적응 효소는 단백질 구조 상 전체적으로 높은 유연성(flexibility)을 가지고 있거나, 촉매부위에 국한적으로 유연한 구조를 가지고 있음으로 해서 생촉매 반응에 있어서 저위 에너지의 변동성을 유발할 수 있음. 이러한 구조적 특성에 의해 촉매 반응에서의 활성 에너지의 감소와 기질 전환 반응 속도를 높힐 수 있음.
- 즉지의 빙하 환경 혹은 영구동토증에서의 극한 환경은 태양계의 화성이나 미지의 행성에
 서의 환경과 비슷한 점들이 많이 발견되기 때문에 빙하미생물의 생명체에 대한 생리기작
 에 대한 연구결과들은 우주생물의 존재가능성과 연구접근 방법에 대한 과학적 정보를 제
 공할 수가 있음.



그림 10. 다양한 저온환경 생태계에서의 저온성 미생물의 유전체와 환경 유전체 정보의 분포.



그림 11. 저온성 효소 단백질의 특이적 구조에 의한 생화학적 특성

• 빙하미생물 대사 분석 기반 기술

・ 환경 특이 유전자 기능성 규명

Ice-adaptation Short-term evolution

• 단백질의 분자수준에서의 기능 규명



그림 12. 빙하미생물의 환경적응에 관련된 대사기작 분석에 대한 모식도

5. 신규 생명자원의 개발



- 이 빙하환경에서 존재하는 미생물은 저온에서의 직접적인 혹은 간접적인 생명 위협 요소를 극복하기 위하여 생물학적 환경적응 전략이 고도로 진화되어 왔으며, 이러한 고유의 특성 으로 알려진 저온 활성 효소는 생명공학 분야에서 신규 생명자원으로서 활용이 가능하며 생물학적 정화시스템의 목적으로도 적용 가능성이 높음
- · 빙하가 대부분(99%)을 차지하는 남극에서 분리된 효모는 현재 수백 균주가 보고되어 있으
 며, 약 70종이 동정이 되어 있는 상태임.
- 즉지역 이외의 유럽 빙하지역(Alps, Apennines 그리고 Pyrenees)에서는 최근 저온성 효모
 41종이 발견이 되었으며, 효모 유사종 역시 다수 발견되어짐에 따라 빙하미생물 연구를 위
 한 환경시료 확보에 중요한 지역임.
- 저온성 미생물의 환경 적응 전략으로 알려진 다음과 같은 특성을 가진 특이 유전자를 확
 보하고 활용을 위한 개발이 가능함.
 - 세포벽 지질 성분의 구성의 변형시켜서 낮은 온도에서 세포벽의 유동성을 증가 시킴.
 불포화 지방산이 다량 분포되어 있음.
 - 온도 스트레스에 대응하기 위한 단백질의 합성. 일반적으로 저온 충격 단백질(cold shock protein, csp)의 합성이 활발히 일어나고 있으며, 이당류의 일종인 trehalose 축적 에 의한 저온내성에 대한 현상은 동시에 발생 되어지지 않는 것으로 보고되어짐

- 세포내 얼음결정의 형성 최소화하기 위하여 항동결 고분자의 합성. 항동결 물질 (cryoprotectant, antifreeze protein)는 세포내의 손상을 감소하기 위해 합성되는 저온성 미생물에 있어서 매우 중요한 생체물질로 알려져 있으며, 세균 뿐만 아니라 효모에서도 다수 발견되어 지고 있음
- 세포내 소기관, 분자, 및 대사의 변화. 미생물의 소기관의 형태학적 변화는 외부환경 변화에 의해 발생이 되는 것으로 알려져 있으며, 이러한 현상은 분자생물학적으로 온도 감수성 DNA 합성의 저해 등의 결과로 알려져 있음.
- 생육속도의 감소. 유전자 합성 저해로 인한 전체적인 생리학적 기능이 저해 됨에 따라,
 에너지 소모의 감소와 더불어서 생육속도가 감소됨.
- 저온 활성 효소의 합성. 단백질 구조적 유연성에 의해 생촉매 활성의 증가와 더불어서
 단백질 안정성이 떨어지는 직접적인 원인이 되기도 함.
- 저온 활성 효소는 세제 첨가 효소, 섬유산업에서 biopolishing공정, 바이오연료 공정, 식품 산업 등에서 활용이 되어지고 있음. 이러한 다양한 산업에서의 적절한 효소를 개발하기 위 한 연구대상으로 빙하미생물은 매우 유용할 것으로 판단됨
- 난분해성 페놀 관련 물질과 석유화학 탄화수소물을 낮은 온도에서 효율적으로 분해 할 수
 있는 저온성 효모 균주들이 보고됨에 따라 생명공학적으로 활용가치성이 매우 큼.
- 유용물질(gamma-decalactone, exopolysaccharide, mannan-like EPS, biodiesel 등) 생산
 균주로서 보고되어진 저온성 미생물은 주로 빙하 지역에서 분리되었으며, 환경인자와 관
 련된 유용 유전자의 특성상 빙하미생물의 산업적 이용 가치성이 매우 클 것으로 사료됨.

표1. 저온성 효모의 생명공학적 활용특성

			Original	
Properties	Biotechnological potential	Species	designation	Reference(s)
Production of cold-active enzymes				
Production of α-amylases and glucoamylases	Food and beverage processing industry	Pseudozyma antarctica	Candida antarctica	De Mot & Verachtert (1987)
Production of aspartyl proteinases	Conversion of substrates via biocatalysis	Candida humicola	Cryptococcus humicola	Ray et al. (1992)
Production of β-fructosidases and α-glucosidases	Food and beverage processing industry	Leucosporidium antarcticum		Turkiewicz et al. (2005)
Production of β-glucosidases	Hydrolysis of cellulose-containing materials	Cryptococcus albidus		Pavlova et al. (2002)
Production of lipases and proteases	Food and beverage processing industry	Cryptococcus laurentii; Cryptococcus macerans; Dioszegia crocea; Leucosporidiella creatinivora; Leucosporidiella fragaria; Pseudozyma antarctica; Rhodotorula colostri; Rhodotorula mucilaginosa; Sporobolomyces ruberrimus	Candida antarctica	de Maria et al. (2005), Brizzio et al. (2007), Brandão et al. (2011)
Production of pectate lyases	Low-temperature pretreatment of wastewaters	Mrakia frigida		Margesin et al. (2005)
Production of polygalacturonases	Fruit and vegetable processing industry	Cryptococcus aquaticus; Cryptococcus macerans; Cystofilobasidium capitatum	Cystofilobasidium lari-marini	Birgisson et al. (2003)
Production of xylanases	Xylan hydrolysis for biofuel and solvent industry	Cryptococcus adeliensis; Cryptococcus albidus	Cryptococcus adeliae	Amoresano et al. (2000), Gornes et al. (2000), Petrescu et al. (2000), Scorzetti et al. (2000)
Production of serine proteinases	Conversion of substrates via biocatalysis	Leucosporidium antarcticum		Pazgier et al. (2003), Turkiewicz et al. (2003)
Degradation of pollutant compounds	at low temperature			
Degradation of phenol-related compounds at low temperature	Bioremediation strategies of cold polluted environments	Cryptococcus terreus; Cryptococcus terricola; Rhodotorula creatinivora; Sporidiobolus metaroseus	Sporidiobolus metaroseus	Bergauer et al. (2005), Krallish et al. (2006)
Production of other miscellaneous co	ompounds			
Production of γ -decalactone at low temperatures	Aroma compounds for foods and beverages	Rhodotorula aurantiaca		Alchihab et al. (2009)
Production of exopolysaccharides (EPS)	Biopolymers for pharmaceutical, food and cosmetic industry	Cryptococcus flavus; Sporobolomyces salmonicolor		Pavlova et al. (2009), Poli et al. (2010)
Production of extracellular yeast glycoproteins (YGs)	Investigation on the effect of YGs on cold-stored rat livers	Leucosporidium antarcticum		Tilšer et al. (1996)
Production of intracellular lipids	Production of biodiesel via transesterification	Rhodotorula glacialis		Amaretti et al. (2010)



Programmable nuclease

Ice-binding protein

그림 13. 빙하미생물 특이적 생리기작을 활용한 생명자원의 모식도

제 2 절 빙하 유래의 기능성 생명자원과 관련된 특허동향

1. 특허동향조사를 위한 특허검색

- 빙하유래의 새로운 유전자원 확보 및 기능성 자원에 대한 활용기술 개발을 위하여, 국내·
 외 저온성 생명소재 및 미생물의 활용과 분리기술에 대한 특허동향을 파악함으로서 경쟁
 력 있는 연구개발 사업의 기초자료로 활용하기 위함임.
- 특허분석 대상 기술인 '빙하유래 기능성 생명자원 개발'의 특허동향조사를 위해 한국 공개 /등록 특허, 미국 공개/등록 특허 및 유럽 공개/등록 특허를 분석 대상으로 하였으며, 각국 의 연도별/출원인별 출원 동향 조사를 위한 샘플을 확보하기 위해 2016년 2월 현재까지 공개된 분석 대상에 대해 아래 표의 내용으로 검색을 실시함

국가	사용 DB	검색 범위	검색 년도	검색 범위
한국	WIPS	공개/등록특허		
미국	WIPS	공개/등록특허	~ 2016.2 (공개익자 기준)	서지, 요약, 대표첫구한
유럽	WIPS	공개/등록특허		

<국가별 사용 DB 및 검색 범위>

극지연구수

특허 검색 결과, 저온성 미생물의 적용 분야에서는 한국 693건, 미국 4,049건, 유럽 488건
 으로 총 5,230건의 특허가 검색되었으며, 저온성 미생물의 분리분석기술에서는 한국 255
 건, 미국 3,219건, 유럽 237건으로 총 3,711건의 특허가 검색되었음

2. 정량분석

- 저온성 미생물의 적용 및 분리분석기술 특허의 출원동향을 살펴보면, 전체 대상 특허 452 건 중 미국이 286건(63%)이며 한국이 84건(19%), 유럽이 81건(18%)의 특허점유율을 나타 냄. 유럽과 한국의 특허 건수가 비슷한 수준인 반면, 미국의 특허 건수가 과반 이상을 차 지하는 것으로 보아 미국은 저온성 미생물 관련 분야에서 앞서있는 기술을 상당히 보유하 고 있을 것으로 판단됨
- 전 세계 특허출원 건수를 대상으로 연도별 변동추세를 확인한 결과, 꾸준한 상승 추세를 유지하다가 2014년부터 감소하는 경향을 보이는데 이는 특허 출원일로부터 1년 6월이 경 과할 시 출원을 공고하는 출원공개제도에 의한 일시적인 현상으로 판단됨. 특히 극지 미 생물관련 특허는 2000년대 이전에 거의 출원되지 않았으며, 2003년도 이후에 본격적으로



그림 14. 저온성 미생물의 연도별 출원동향(미국, 유럽, 한국)

- 저온성 미생물 관련 특허의 주요출원인 현황을 살쳐보면, 듀폰에 인수된 덴마크의 식품, 효소 관련 기업 Danisco가 가장 많은 31건의 특허를 보유하고 있는 것으로 나타났으며, 그 뒤를 이어 Dupont의 자회사이자 미국의 효소 기술을 기반으로 하는 바이오 기업인 Genencor가 24건을 보유한 것으로 확인됨.
- 또한 저온성 미생물 특허 중 국지 미생물을 이용한 특허 총 27건의 출원인 동향을 살펴본 결과, 한국해양과학기술원이 6건으로 가장 많은 특허를 보유하고 있었으며, 그 뒤를 이어 The University of Chile가 많은 특허를 보유하고 있는 것으로 나타났고 The Council of Scientific and Industrial Research(인도), Affymetrix, Inc., 한국생명공학연구원, 그리고 경북대학교가 각각 2건의 특허를 보유하고 있는 것으로 조사되었음

* 상위 17개 출원인



그림 15. 저온성 미생물 관련 특허의 주요출원인 현황

- 전체 저온성 미생물 관련 특허의 상위출원인이 기업인 것과 비교하여 극지 미생물 관련
 특허는 상위출원인 대부분이 대학/연구소/공공기관인 것을 확인할 수 있었음. 이러한 결
 과는 극지 미생물이 아직 상업적으로 활발하게 이용되지는 않고 있지만, 향후 이용 가능
 성이 큰 분야로 평가받고 있기 때문에 대학 및 국가 주도하에 연구가 진행되고 있는 것으
 로 판단됨
- 3. 기술 분류
 - 저온성 미생물 관련 특허 총 452건 중 극지 미생물 관련 특허는 27건으로 나타나 저온성
 미생물 관련 특허 중 약 6% 정도를 차지하는 것으로 조사되어 발전 가능성에 비하여 아
 직까지는 연구 활동이 활발하지 못한 것으로 나타남
 - 하지만 특허 정량분석에서 보았듯이 극지 미생물의 연구는 2000년대 이후부터 본격적으로 출원되기 시작했으며, 비교적 최근에 주목받기 시작한 분야이므로 향후 전망이 매우 밝은 분야로 예상됨
 - 저온성 미생물 관련 특허 전체 452건 중 연구 대상 기술과 더욱 밀접하게 연관되어 있는
 179건의 주요특허의 기술 분류를 수행한 결과, 저온성 미생물의 적용과 기술로 나눌 수 있
 었음
 - 저온성 미생물의 적용과 관련된 기술들은 효소, 환경 스트레스 저항, 동결 방지, 동결 보

존, 빙핵, 미생물에 의한 환경 복원, 전분 및 지질 축적, 피부노화 방지, 항균, β-카로틴으 로 구분할 수 있었으며, 그 중 극지 미생물 특허를 많이 보유하고 있는 기술들은 효소(10 건), 환경 스트레스 저항(5건), 동결 방지(5건)으로 나타났음

저온성 미생물의 기술과 관련된 특허는 총 20건으로 적용과 관련된 특허에 비하여 건수가
 적은 것을 확인 할 수 있었으며, 세부 기술인 PCR, Microfluidic devices, 염기서열, 유전공
 학, 미생물 배양 중 염기서열 기술만 극지 미생물과 관련된 특허를 보유하고 있는 것으로
 확인되었음



그림 16. 저온성 미생물 적용의 기술 분류



그림 17. 저온성 미생물 기술의 기술 분류

- 4. 특허동향조사 결론
 - 빙하미생물 관련 특허동향조사 결과, 저온성 미생물 특허는 미국, 유럽, 한국 중 미국이 가 장 많은 특허를 보유하고 있는 것으로 확인되었으며 전체적으로 특허 건수는 증가추세로 나타났고 극지 미생물의 경우 2000년대 이후에 본격적으로 출원되기 시작했음
 - 또한 저온성 미생물 특허의 주요출원인은 주로 Danisco, Genencor 등과 같은 기업으로 나타났지만, 극지미생물의 경우에는 한국해양과학기술원, The University of Chile 등의 학교/연구소가 주를 이루는 것을 확인할 수 있었으며 이를 통하여 극지 미생물 연구가 현재 기업이 이용할 만한 상업적인 수요에 의하여 진행되기보다는 미래의 연구가치가 큰 분야라고 판단되어 대학 및 국가 주도하에 연구가 진행되고 있는 것으로 추론되므로 현재 극지 미생물이 전체 저온성 미생물 특허의 6%에 불과하지만 향후 그 비율이 더욱 증가할 것으로 예상됨
 - 기술 분류 결과, 저온성 미생물 기술 분야 보다는 저온성 미생물 적용 분야의 연구가 더욱 활발한 것으로 나타났으며, 적용 분야 중 효소, 환경 스트레스 저항, 동결 방지의 세부 기 술 분야에서 극지 미생물 연구가 활발한 것을 확인하였음

제 4 장 연구개발 추진 계획

제 1 절 연구개발의 목표

1. 연구개발의 최종 목표

- 지구면적의 10%, 남극대륙의 대부분을 덮고 있는 빙하, 이러한 빙하 환경 (내륙빙하, 빙붕,
 눈, 유빙, 해빙 등)에서 생명을 유지하는 빙하미생물 생태 시스템에 관한 연구
- 극지기초과학 분야로서, 빙하미생물의 생태학적 다양성과 빙하환경에서의 생명유지를 위
 한 미생물 생리기작 연구
- 빙하미생물 기반의 유용 생물자원 발굴
- 2. 예상 최종 성과물

KOPR

- 난배양성 빙하 미생물의 유전체 및 생리적 기능을 분석하기 위한 기반 인프라와 원천기술
 확립 (단일 미생물 분리 및 단일세포 수준의 유전체 기술 확립)
- 미개발된 빙하미생물의 유전체 분석(20종 이상) 및 환경 유전체(환경시료 5종 이상)을 통
 한 생명현상 규명과 기능성 생물자원 개발 (원천 특허등록 2건 이상)
- 빙하미생물 관련 유전체 정보의 효율적인 활용을 위한 유전정보 공유 시스템 구축

3. 연구개발의 비전



4. 단계별 목표

	1단계 (2017-2020)	2단계 (2021-2023)	3단계 (2024-2025)	최 종
^{제1세부과제} (생태, ecology)	빙하미생물 자원의 다양성 확립	환경 특이적 미생물 생태 커뮤니티 분석	빙하환경과 미생물 생리 생태학적 분석	빙하 생태계 연구 기반 구축
^{제2세부과제} (생리, physiology)	빙하 미생물 특이 생체 대사 분석	환경 특이 유전자 기능성 규명 및 분자수준 해석	빙하미생물 생리 기작 의 보편적 해석 (기능성 모사)	빙하환경 적응 생리활성 기작 규명
제³세부과제 (응용, application)	유용 빙하 생명자원 탐색 및 발굴	유용 소재의 기능성 최적화 설계	유용 생명자원의 활용 효율성 최적화 구현	유용 유전자 활용 기술 개발
연구목표	핵심기반 기술확립	창의적 원천기술 창출	빙하 생명시스템 정보 확보	빙하미생물의 자원 탐색과 가치성 발굴

M 7 8 5		1차년도	2차년도	3차년도	4차년도
연구	푹 표	2017	2018	2019	2020
	빙하미생물	유빙 및 고(산지대 빙하로부터의	미생물 확보 및 다	양성 분석
	자원의 다양성 확립	빙하 환경 미생	물 군집 분석	생태학적 환경	영 적응 해석
빙하미생물 자의 탄생가	빙하 미생물	단세포 분리 및 유	전체 기술 구축	단백질 수준의 홈	활성 기작 규명
자원 임덕과 가치성 발굴	특이 생세 내 사 분석		오믹스 기법을 흼	활용한 세포 및 생리	학적 특성규명
,	유용 빙하	유전체 및	L 기능성 관련 활성	검증을 통한 유용물	질 탐색
	생명사원 탐색 및 발굴		유용 유전지	ት 활용을 위한 핵심 :	기술 개발

예측 성과



그림 19. 연구 개발의 단계적 목표

제 2 절 연구 내용 및 범위





빙하미생물 연구를 통한 극한 생명과학 분야의 창의적 연구 기반 기술 활용

제 5 장 연구개발 예산, 인력 및 시설

제 1 절 소요 예산

○ 연구개발 시작 연도 예산 요구액: 10,000백만원/5년

	'17년		'18년			
구분	연구내용	연구비 (백만원)	연구내용	연구비 (백만원)		
1	빙하미생물 연구 기반 시설 및 장비 구축	500	빙하미생물 배양 시설 및 단백체 연구 장비 구축	500		
2	빙하미생물 생태 연구 및 생리 화학적 분석을 위한 플랫폼 구축	1,000	현장 연구 및 환경대응 생리활성 적응 기작 연구	1,000		
3	유용 빙하 생명자원 탐색 및 발굴	500	기능성 신소재 및 단백질 개발	500		
	빙하미생물의 탐색과 기능성 자원 개발	2,000	빙하미생물의 탐색과 기능성 자원 개발	2,000		

제 2 절 소요 인력

- 박사급 15인
- 전공: 미생물 생태학, 미생물 생리학, 단백질 공학, 단백질 구조학, 유전체 분석, 균류학, 생
 화학, 발효공학, 생리활성 물질
- 연구원 20인

제 3 절 필요 장비 및 시설

- 유세포 분석기 (Fluorescence-activated cell sorting, FACS)
- 차세대 유전체 분석기, PACBIO
- 저온 배양기, Fermentor
- 단백질 정제 장치, Fast protein liquid chromatography (FPLC)



[빙하미생물 청정실험실]

[형광표지 유세포 분리기]

제 6 장 참고문헌

- Anesio, A.M., and C.M. Bellas. 2011. Are low temperature habitats hot spots of microbial evolution driven by viruses? *Trends in microbiology* 19: 52-57.
- Bakermans, C., and M. Skidmore. 2011a. Microbial respiration in ice at subzero temperatures (-4°C to -33°C). *Environmental microbiology reports* 3: 774-782.
- Bakermans, C., and M.L. Skidmore. 2011b. Microbial metabolism in ice and brine at -5°C. Environmental microbiology 13: 2269-2278.
- Bartlett, D.H. 1999. Microbial adaptations to the psychrosphere/piezosphere. Journal of molecular microbiology and biotechnology 1: 93-100.
- Bellas, C.M., A.M. Anesio, and G. Barker. 2015. Analysis of virus genomes from glacial environments reveals novel virus groups with unusual host interactions. *Frontiers in microbiology* 6: 656.
- Bidle, K.D., S. Lee, D.R. Marchant, and P.G. Falkowski. 2007. Fossil genes and microbes in the oldest ice on earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 13455-13460.
- Boetius, A., A.M. Anesio, J.W. Deming, J.A. Mikucki, and J.Z. Rapp. 2015. Microbial ecology of the cryosphere: sea ice and glacial habitats. *Nature Reviews Microbiology*.
- Buzzini, P., E. Branda, M. Goretti, and B. Turchetti. 2012. Psychrophilic yeasts from worldwide glacial habitats: diversity, adaptation strategies and biotechnological potential. *FEMS microbiology ecology* 82: 217-241.
- Christner, B.C., J.A. Mikucki, C.M. Foreman, and J. Denson. 2005. Glacial ice cores: a model system for developing extraterrestrial decontamination protocols. *Icarus*.
- Christner, B.C., E. Mosley-Thompson, and L.G. Thompson. 2000. Recovery and identification of viable bacteria immured in glacial ice. *Icarus*.
- Christner, B.C., J.C. Priscu, A.M. Achberger, C. Barbante, S.P. Carter, K. Christianson, A.B. Michaud, J.A. Mikucki, A.C. Mitchell, M.L. Skidmore, T.J. Vick-Majors, and W. Team. 2014. A microbial ecosystem beneath the West Antarctic ice sheet. *Nature* 512: 310-313.
- Clarke, A., J.G. Morris, F. Fonseca, B.J. Murray, E. Acton, and H.C. Price. 2013. A Low Temperature Limit for Life on Earth. *PLoS ONE*.
- Clarke, D.B., and S.F. Ackley. 1984. Sea ice structure and biological activity in the Antarctic marginal ice zone. *Journal of Geophysical Research: Oceans (1978 2012)* 89: 2087-2095.
- Ewert, M., and J.W. Deming. 2013. Sea ice microorganisms: environmental constraints and extracellular responses. *Biology* 2: 603-628.
- Feng, S., S.M. Powell, R. Wilson, and J.P. Bowman. 2014. Extensive Gene Acquisition in the Extremely Psychrophilic Bacterial Species Psychroflexus torquis and the Link to Sea-Ice Ecosystem Specialism. *Genome Biology and Evolution* 6: 133-148.

- Gratia, E., A. Hoyoux, M.A. Meuwis, G. Sonan, and C. Gerday. 2001. Did psychrophilic enzymes really win the challenge? *Extremophiles*.
- Irvine Fynn, T.D.L., and A. Edwards. 2014. A frozen asset: The potential of flow cytometry in constraining the glacial biome. *Cytometry Part A* 85.
- Irvine Fynn, T.D.L., A. Edwards, S. Newton, H. Langford, S.M. Rassner, J. Telling, A.M. Anesio, and A.J. Hodson. 2012. Microbial cell budgets of an Arctic glacier surface quantified using flow cytometry. *Environmental microbiology* 14.
- Junge, K., H. Eicken, B.D. Swanson, and J.W. Deming. 2006. Bacterial incorporation of leucine into protein down to- 20 C with evidence for potential activity in sub-eutectic saline ice formations. *Cryobiology*.
- Kohfeld, K.E., L.C. Quéré, S.P. Harrison, and R.F. Anderson. 2005. Role of marine biology in glacial-interglacial CO2 cycles. *Science*.
- Legendre, M., A. Lartigue, and L. Bertaux. 2015. In-depth study of Mollivirus sibericum, a new 30,000-y-old giant virus infecting Acanthamoeba. *Proceedings of the ...*.
- Leiros, H.-K.S., A.L. Pey, M. Innselset, E. Moe, I. Leiros, I. Steen, and A. Martinez. 2007. Structure of phenylalanine hydroxylase from Colwellia psychrerythraea 34H, a monomeric cold active enzyme with local flexibility around the active site and high overall stability. *The Journal of biological chemistry* 282: 21973-21986.
- Ling, L.L., T. Schneider, A.J. Peoples, A.L. Spoering, I. Engels, B.P. Conlon, A. Mueller, T.F. Schäberle, D.E. Hughes, S. Epstein, M. Jones, L. Lazarides, V.A. Steadman, D.R. Cohen, C.R. Felix, K.A. Fetterman, W.P. Millett, A.G. Nitti, A.M. Zullo, C. Chen, and K. Lewis. 2015. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 517: 455-459.
- Lutz, S., A.M. Anesio, K. Field, and L.G. Benning. 2015. Integrated 'omics', targeted metabolite and single-cell analyses of Arctic snow algae functionality and adaptability. *Frontiers in Microbiology*.
- Maayer, D.P., D. Anderson, and C. Cary. 2014. Some like it cold: understanding the survival strategies of psychrophiles. *EMBO*
- Marx, J.C., T. Collins, S. D'Amico, G. Feller, and C. Gerday. 2007. Cold-adapted enzymes from marine Antarctic microorganisms. *Marine Biotechnology*.
- Methé, B.A., K.E. Nelson, and J.W. Deming. 2005. The psychrophilic lifestyle as revealed by the genome sequence of Colwellia psychrerythraea 34H through genomic and proteomic analyses. *Proceedings of the …*.
- Miteva, V.I., and P.P. Sheridan. 2004. Phylogenetic and physiological diversity of microorganisms isolated from a deep Greenland glacier ice core. *Applied and Environmental ···*.
- Nichols, D., N. Cahoon, E.M. Trakhtenberg, L. Pham, A. Mehta, A. Belanger, T. Kanigan, K. Lewis, and S.S. Epstein. 2010. Use of ichip for high-throughput in situ cultivation of "uncultivable" microbial species. *Applied and environmental microbiology* 76: 2445-2450.

- Nichols, D., K. Lewis, J. Orjala, S. Mo, R. Ortenberg, P. O'Connor, C. Zhao, P. Vouros, T. Kaeberlein, and S.S. Epstein. 2008. Short peptide induces an "uncultivable" microorganism to grow in vitro. *Applied and environmental microbiology* 74: 4889-4897.
- Ostrom, N.E., V. Peng, and A. Ponce. 2012. Microbial life at 13 C in the brine of an ice-sealed Antarctic lake. *Proceedings of the …*.
- Priscu, J.C., B.C. Christner, and C.M. Foreman. 2006. Biological material in ice cores. ... of Quaternary sciences.
- Rogers, S.O., V. Theraisnathan, L.J. Ma, Y. Zhao, G. Zhang, S.G.G. Shin, J.D. Castello, and W.T. Starmer. 2004. Comparisons of protocols for decontamination of environmental ice samples for biological and molecular examinations. *Applied and* environmental microbiology 70: 2540-2544.
- Rohde, R.A., P.B. Price, R.C. Bay, and N.E. Bramall. 2008. In situ microbial metabolism as a cause of gas anomalies in ice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 8667-8672.
- Saliba, A.-E., A.J. Westermann, S.A. Gorski, and J. Vogel. 2014. Single-cell RNA-seq: advances and future challenges. *Nucleic acids research* 42.
- Sanguino, L., L. Franqueville, T.M. Vogel, and C. Larose. 2015. Linking environmental prokaryotic viruses and their host through CRISPRs. *FEMS microbiology ecology* 91.
- Sarmiento, F., R. Peralta, and J.M. Blamey. 2015. Cold and Hot Extremozymes: Industrial Relevance and Current Trends. *Frontiers in bioengineering and biotechnology* 3: 148.
- Siddiqui, K.S. 2015. Some like it hot, some like it cold: Temperature dependent biotechnological applications and improvements in extremophilic enzymes. *Biotechnology advances*.
- Tung, H.C., N.E. Bramall, and P.B. Price. 2005. Microbial origin of excess methane in glacial ice and implications for life on Mars. *Proceedings of the ...*.
- Wannicke, N., K. Frindte, G. Gust, I. Liskow, A. Wacker, A. Meyer, and H.-P.P. Grossart. 2015. Measuring bacterial activity and community composition at high hydrostatic pressure using a novel experimental approach: a pilot study. *FEMS microbiology ecology* 91.
- Xu, Y., G. Feller, C. Gerday, and N. Glansdorff. 2003. Metabolic enzymes from psychrophilic bacteria: challenge of adaptation to low temperatures in ornithine carbamoyltransferase from Moritella abyssi. *Journal of bacteriology*.
- Zhao, J.-S., Y. Deng, D. Manno, and J. Hawari. 2010. Shewanella spp. Genomic Evolution for a Cold Marine Lifestyle and In-Situ Explosive Biodegradation. *PLoS ONE*.

- Anesio, A. M. and C. M. Bellas (2011). "Are low temperature habitats hot spots of microbial evolution driven by viruses?" Trends in microbiology 19(2): 52-57.
- Bakermans, C. and M. Skidmore (2011). "Microbial respiration in ice at subzero temperatures (-4°C to -33°C)." Environmental microbiology reports 3(6): 774-782.
- Bakermans, C. and M. L. Skidmore (2011). "Microbial metabolism in ice and brine at -5°C." Environmental microbiology 13(8): 2269-2278.
- Bartlett, D. H. (1999). "Microbial adaptations to the psychrosphere/piezosphere." Journal of molecular microbiology and biotechnology 1(1): 93-100.
- Bellas, C. M., A. M. Anesio, et al. (2015). "Analysis of virus genomes from glacial environments reveals novel virus groups with unusual host interactions." Frontiers in microbiology 6: 656.
- Bidle, K. D., S. Lee, et al. (2007). "Fossil genes and microbes in the oldest ice on earth." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104(33): 13455-13460.
- Boetius, A., A. M. Anesio, et al. (2015). "Microbial ecology of the cryosphere: sea ice and glacial habitats." Nature Reviews Microbiology.
- Buzzini, P., E. Branda, et al. (2012). "Psychrophilic yeasts from worldwide glacial habitats: diversity, adaptation strategies and biotechnological potential." FEMS microbiology ecology 82(2): 217-241.
- Christner, B. C., J. A. Mikucki, et al. (2005). "Glacial ice cores: a model system for developing extraterrestrial decontamination protocols." Icarus.
- Christner, B. C., E. Mosley-Thompson, et al. (2000). "Recovery and identification of viable bacteria immured in glacial ice." Icarus.
- Christner, B. C., J. C. Priscu, et al. (2014). "A microbial ecosystem beneath the West Antarctic ice sheet." Nature 512(7514): 310-313.
- Clarke, A., J. G. Morris, et al. (2013). "A Low Temperature Limit for Life on Earth." PLoS ONE.
- Clarke, D. B. and S. F. Ackley (1984). "Sea ice structure and biological activity in the Antarctic marginal ice zone." Journal of Geophysical Research: Oceans (1978 2012) 89(C2): 2087-2095.
- Ewert, M. and J. W. Deming (2013). "Sea ice microorganisms: environmental constraints and extracellular responses." Biology 2(2): 603-628.
- Feng, S., S. M. Powell, et al. (2014). "Extensive Gene Acquisition in the Extremely Psychrophilic Bacterial Species Psychroflexus torquis and the Link to Sea-Ice Ecosystem Specialism." Genome Biology and Evolution 6(1): 133-148.
- Gratia, E., A. Hoyoux, et al. (2001). "Did psychrophilic enzymes really win the challenge?" Extremophiles.
- Irvine Fynn, T. D. L. and A. Edwards (2014). "A frozen asset: The potential of flow cytometry in constraining the glacial biome." Cytometry Part A 85(1).

- Irvine Fynn, T. D. L., A. Edwards, et al. (2012). "Microbial cell budgets of an Arctic glacier surface quantified using flow cytometry." Environmental microbiology 14(11).
- Junge, K., H. Eicken, et al. (2006). "Bacterial incorporation of leucine into protein down to- 20 C with evidence for potential activity in sub-eutectic saline ice formations." Cryobiology.
- Kohfeld, K. E., L. C. Quéré, et al. (2005). "Role of marine biology in glacial-interglacial CO2 cycles." Science.
- Legendre, M., A. Lartigue, et al. (2015). "In-depth study of Mollivirus sibericum, a new 30,000-y-old giant virus infecting Acanthamoeba." Proceedings of the
- Leiros, H.-K. S., A. L. Pey, et al. (2007). "Structure of phenylalanine hydroxylase from Colwellia psychrerythraea 34H, a monomeric cold active enzyme with local flexibility around the active site and high overall stability." The Journal of biological chemistry 282(30): 21973-21986.
- Ling, L. L., T. Schneider, et al. (2015). "A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance." Nature 517(7535): 455-459.
- Lutz, S., A. M. Anesio, et al. (2015). "Integrated 'omics', targeted metabolite and single-cell analyses of Arctic snow algae functionality and adaptability." Frontiers in Microbiology.
- Maayer, D. P., D. Anderson, et al. (2014). "Some like it cold: understanding the survival strategies of psychrophiles." EMBO
- Marx, J. C., T. Collins, et al. (2007). "Cold-adapted enzymes from marine Antarctic microorganisms." Marine Biotechnology.
- Methé, B. A., K. E. Nelson, et al. (2005). "The psychrophilic lifestyle as revealed by the genome sequence of Colwellia psychrerythraea 34H through genomic and proteomic analyses." Proceedings of the
- Miteva, V. I. and P. P. Sheridan (2004). "Phylogenetic and physiological diversity of microorganisms isolated from a deep Greenland glacier ice core." Applied and Environmental
- Nichols, D., N. Cahoon, et al. (2010). "Use of ichip for high-throughput in situ cultivation of "uncultivable" microbial species." Applied and environmental microbiology 76(8): 2445-2450.
- Nichols, D., K. Lewis, et al. (2008). "Short peptide induces an "uncultivable" microorganism to grow in vitro." Applied and environmental microbiology 74(15): 4889-4897.
- Ostrom, N. E., V. Peng, et al. (2012). "Microbial life at- 13 C in the brine of an ice-sealed Antarctic lake." Proceedings of the
- Priscu, J. C., B. C. Christner, et al. (2006). "Biological material in ice cores." ... of Quaternary sciences.
- Rogers, S. O., V. Theraisnathan, et al. (2004). "Comparisons of protocols for decontamination of environmental ice samples for biological and molecular

examinations." Applied and environmental microbiology 70(4): 2540-2544.

- Rohde, R. A., P. B. Price, et al. (2008). "In situ microbial metabolism as a cause of gas anomalies in ice." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 105(25): 8667-8672.
- Saliba, A.-E., A. J. Westermann, et al. (2014). "Single-cell RNA-seq: advances and future challenges." Nucleic acids research 42(14).
- Sanguino, L., L. Franqueville, et al. (2015). "Linking environmental prokaryotic viruses and their host through CRISPRs." FEMS microbiology ecology 91(5).
- Sarmiento, F., R. Peralta, et al. (2015). "Cold and Hot Extremozymes: Industrial Relevance and Current Trends." Frontiers in bioengineering and biotechnology 3: 148.
- Siddiqui, K. S. (2015). "Some like it hot, some like it cold: Temperature dependent biotechnological applications and improvements in extremophilic enzymes." Biotechnology advances.
- Tung, H. C., N. E. Bramall, et al. (2005). "Microbial origin of excess methane in glacial ice and implications for life on Mars." Proceedings of the
- Wannicke, N., K. Frindte, et al. (2015). "Measuring bacterial activity and community composition at high hydrostatic pressure using a novel experimental approach: a pilot study." FEMS microbiology ecology 91(5).
- Xu, Y., G. Feller, et al. (2003). "Metabolic enzymes from psychrophilic bacteria: challenge of adaptation to low temperatures in ornithine carbamoyltransferase from Moritella abyssi." Journal of bacteriology.
- Zhao, J.-S., Y. Deng, et al. (2010). "Shewanella spp. Genomic Evolution for a Cold Marine Lifestyle and In-Situ Explosive Biodegradation." PLoS ONE.