

미생물의 유전자(Genome) 해석과 임상세균학에 이용

영남대학교 의과대학 미생물학교실

김 성 광

Microbial Genome Analysis and Application to Clinical Bacteriology

Sung-Kwang Kim

Department of Microbiology

College of Medicine, Yeungnam University, Daegu, Korea

—Abstract—

With the establishment of rapid sequence analysis of 16S rRNA and the recognition of its potential to determine the phylogenetic position of any prokaryotic organism, the role of 16S rRNA similarities in the present species definition in bacteriology need to be clarified. Comparative studies clearly reveal the limitations of the sequence analysis of this conserved gene and gene product in the determination of relationship at the pathogenic strain level for which DNA-DNA reassociation experiments still constitute the superior method.

Since today the primary structure of 16S rRNA is easier to determine than hybridization between DNA strands, the strength of the sequence analysis is to recognize the level at which DNA pairing studies need to be performed, which certainly applies to similarities of 97% and higher.

Key Words: Prokaryotic organism 16S rRNA, Sequence analysis, DNA-DNA reassociation

서 론

사람의 유전자(Genome) 전염기 배열이 발표되고 생물학의 새로운 시대를 맞이하게 되는 시기이지만, 미생물에 있어서도 1995

년 *Haemophilus influenzae*의 전염기 배열이 해석된 이래 40여종 균주의 유전자 해석이 완료되었고 190주(73종) 이상의 균주가 현재 유전자 해석중에 있는 현실이다(표 1).

의학분야에 있어서도 분자생물학적 실험을

Table 1. Reference and genome analysis of pathogenic bacteria

균주(종)	size (Mb)	전배열 (bp)	유전자수	G+ C%	발표잡지
<i>Aquifex aeolicus</i>		1,551,335	1,512	65.0	<i>Science</i> 286:1571-1577, 1999.
<i>Bacillus stearothermophilus</i> Strain 10					<i>Extremophiles</i> 4:99-108, 2000.
<i>Bacillus subtilis</i>	4.2	4,214,630	4,106		<i>Nature</i> 390:249-256, 1997.
<i>Borrelia burgdorferi</i> B31	0.9	910,725	853		<i>Nature</i> 390:580-586, 1997.
<i>Buchnera</i> sp. APS	0.6	640,681			<i>Nature</i> 407:81-86, 2000.
<i>Campylobacter jejuni</i> NCTC11168	1.6	1,641,481		30.6	<i>Nature</i> 403:665-668, 2000.
<i>Caulobacter crescentus</i> CB15	4.0	4,016,942	3,767		<i>PNAS</i> 98:4136-4141, 2001.
<i>Chlamydia Trachomatis</i> L2	1.0	1,038,608	997		<i>Nat Genet</i> 21:385-389, 1999.
<i>Chlamydia Trachomatis</i> MOPN	1.0	1,069,412			<i>Nuc Acid Res</i> 28:1397-1406, 2000.
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	1.2	1,230,025	1,069		<i>Nat Genet</i> 21:385-389, 1999.
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> AR39	1.2	1,229,853		40.6	<i>Nuc Acid Res</i> 28:1397-1406, 2000.
<i>Chlamydophila pneumoniae</i> J138	1.2	1,226,565	1,072	40.7	<i>Nuc Acid Res</i> 28:2311-2314, 2000.
<i>Clostridium acetobutyricum</i> ATCC 824	4.1				<i>J Bacteriol</i> 183:4823-4838, 2001.
<i>Deinococcus radiodurans</i> R1	2.6	3,284,156			<i>Science</i> 286:1571-1577, 1999.
<i>Escherichia coli</i> K-12	4.6	4,639,221	4,288	51.0	<i>Science</i> 277:1453-1462, 1997.
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 EDL933(ATCC 700927)	5.5	5,528,970	5,349	50.5	<i>Nature</i> 409:529-533, 2001.
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 Sakai	5.5	5,498,450	5,361	50.5	<i>DNA Res</i> 8:11-22, 2001.
<i>Haemophilus influenzae</i> Rd KW20	1.8	1,830,137	1,740		<i>Science</i> 269:496-512, 1995.
<i>Helicobacter pylori</i> J99	1.7				<i>Nature</i> 397:176-180, 1999.
<i>Helicobacter pylori</i> Strain 26695	1.6	1,667,867	1,590		<i>Nature</i> 388:539-547, 1997.
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> IL1403					<i>Genome Res</i> 11:731-753, 2001.
<i>Mesohizobium loti</i>					<i>DNA Res</i> 7:311-338, 2000.
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i> K-10	5.0				<i>Nature</i> 409:1007-1011, 2001.
<i>Mycoplasma genitalium</i> G-37	0.6	580,070	470		<i>Science</i> 270:397-403, 1995.
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> M129	0.8	816,394	677	40.0	<i>Nuc Acid Res</i> 24:4420-4449, 1996.
<i>Mycoplasma pulmonis</i>	1.0				<i>Nuc Acid Res</i> 29:2145-2153, 2001.
<i>Neisseria meningitidis</i> MC58	2.2	2,272,351	2,158	51.5	<i>Science</i> 287:1809-1815, 2000.
<i>Neisseria meningitidis</i> Serogroup A Z2491	2.2	2,184,406	2,121	51.8	<i>Nature</i> 404:502-506, 2000.
<i>Neisseria meningitidis</i> Serogroup B MC58	2.2	2,272,351	2,158	51.5	<i>Science</i> 287:1809-1815, 2000.
<i>Pasteurella multocida</i> PM70	2.3	2,257,487	2,014		<i>PNAS</i> 98:3460-3465, 2001.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	6.3	6,264,403	5,570	66.6	<i>Nature</i> 406:959-964, 2000.
<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50	2.8	2,878,084	2,697	32.9	<i>Lancet</i> 357:1225-1240, 2001.
<i>Staphylococcus aureus</i> N315	2.8	2,813,641	2,595	33.0	<i>Lancet</i> 357:1225-1240, 2001.
<i>Streptococcus pneumoniae</i> TIGR4	2.2	2,160,837	2,236		<i>Science</i> 293:498-506, 2001.
<i>Streptococcus pyogenes</i> Strain M1 GAS	1.9	1,852,442	1,752	39.0	<i>PNAS</i> 98:4658-4663, 2001.
<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	1.8	1,860,725	1,877		<i>Nature</i> 399:323-329, 1999.
<i>Treponema pallidum</i> Nichols	1.1	1,138,006	1,041		<i>Science</i> 281:375-388, 1998.
<i>Vibrio cholerae</i> El Tor N16961	2.9	4,033,460	3,885		<i>Nature</i> 406:477-483, 2000.
<i>Xylella fastidiosa</i> -almond Dixon	2.6	2,679,305	2,904	52.7	<i>Nature</i> 406:151-157, 2000.
<i>Xylella fastidiosa</i> -grape Temeculal	2.6				<i>Nature</i> 406:151-157, 2000.
<i>Xylella fastidiosa</i> -oleander ann1	2.6				<i>Nature</i> 406:151-157, 2000.

이용한 질병형태의 해명 및 진단이 개시되었고
치료 분야에까지 응용이 진행되어 실용화 단계
에까지 이르고 있다.

수년이내에 원핵생물의 주된 균종의 유전자
염기배열 전부가 밝혀질 것으로 기대되던 사실
이 현실적으로 진행되고 있다. 사람을 비롯한

원핵생물에 세균의 유전자가 해명되고 그 정보가 모아져서 쌓이게 되면 어떠한 일들이 해명되며 이러한 것들이 실제로 임상 및 검사현장에서 어떠한 역할이 이루어지는가를 유전자 해석의 결과에서 보다 명확히 할 수 있다는 것은, 균이 숙주세포 내에 침입하기 위해서 필요한 유전자군, 부착에 관여하는 선모형성에 필요한 유전자군과 같이 하나하나의 표현형을 담당하는 유전자군(island)들의 이동과 운반에는 bacteriophage 나 유전자(삽입배열이나 transposon 등) 및 DNA의 추출삽입(transformation)이 관여하고 있다는 현상들이다. 이러한 현상들이 일어나는 인체내 장소로는 균의 밀도가 높은, 즉 세균총을 형성하고 있는 장관내와 같은 장소가 이용되고 있는지도 모른다.

세균의 유전자 염색체는 항상 변화를 일으키고 전체의 균이 똑같은 상태로는 존재하지 않는다는 사실이다. 때문에 어느 한정된 시간 이내에 새로운 유전자군을 획득하는 세균이 출현할 수 있는 가능성이 있음을 의미하는 것이다. 이러한 현상들이 사람에게나 동식물에 새로운 질병을 야기시킬 수 있는 능력을 가지는 병원원인체가 된다는 사실을 충분히 이해하여야 한다.

*Haemophilus influenzae*와 *Mycoplasma genitalium*의 유전자가 해석되고(Fraser 등, 1995), 불과 6년밖에 경과되지 않았지만, 세계에서는 유전자 해석이 초고속으로 실시되고있는 현재로서 유전자 진단이 임상의학, 의료에 이용되고 인간 유전자의 전염기배열 해독이 완성단계에서, Post Genome 시대의 개막을 알리고 있다.

이와 때를 같이하여 병원성 세균의 병원 유전자가 발견되고 유전자 해석 기술과 정보처리

기술에도 커다란 진보가 보여 유전자 진단은 이와 같은 성과를 보다 빨리 채택하여 그 적용범위를 넓혀 나아가야 하는지를 실용성 있게 적절히 활용하는 것이 최선이라고 생각된다.

생물의 유전자 구조와 분류체계에서의 충격

원핵생물의 유전자는 제일 작은 *M. genitalium*의 470-Kb에서 제일 큰 유전자를 보유하고 있는 *Streptomyces sp.*의 8-Mb 사이에는 20배 이상의 차이가 있다(Glass 등, 2000, Dorigo-Zestma 등, 2001, Chambaund 등, 2001).

세균염색체의 구조로 한가닥의 환상 DNA에서부터 생각할 수 있지만 계통이 다른 유전자 구조가 밝혀지면서 원칙을 벗어나는 균종의 존재를 인식하게 되었다. 2종류의 환상 염색체를 보유하고 있는 *Vibrio* 균속의 종류, 선상구조의 염색체를 많이 갖고 있는 *Borrelia* 속이 그 대표적인 예이다. 이와같이 세균 유전자 구조의 다양한 구조가 규명되어지고 있다. 유전자가 두종류라고 한다면 plasmid와 구분이 문제가 된다(Karaolis 등, 1999). 현재로서는 환상 DNA가 숙주로부터 없어진 상태라면 생존이 가능한지 어떤지가 그 생물에는 중요한 의미를 갖게 될 뿐만 아니라 생존에 불가결의 유전자가 포함되어 있는지 여부가 판단기준이 되는 것이다(Hare 등, 2001).

Ribosome DNA (rDNA)의 copy 수는 일반 유전자 크기가 크게되면 증가한다(그림 1). 유전자 크기가 1-Mb 이하로 적은 *Mycoplasma sp.*에서 유전자는 1 또는 2 copy, 유전자 크기가 최대로 큰 *Streptomyces sp.*에서는 8 copy로 되어 있다. 예외적인 것은 발육이 늦은 *Mycobacterium* 속에서는 4.4-Mb의 크기를 갖

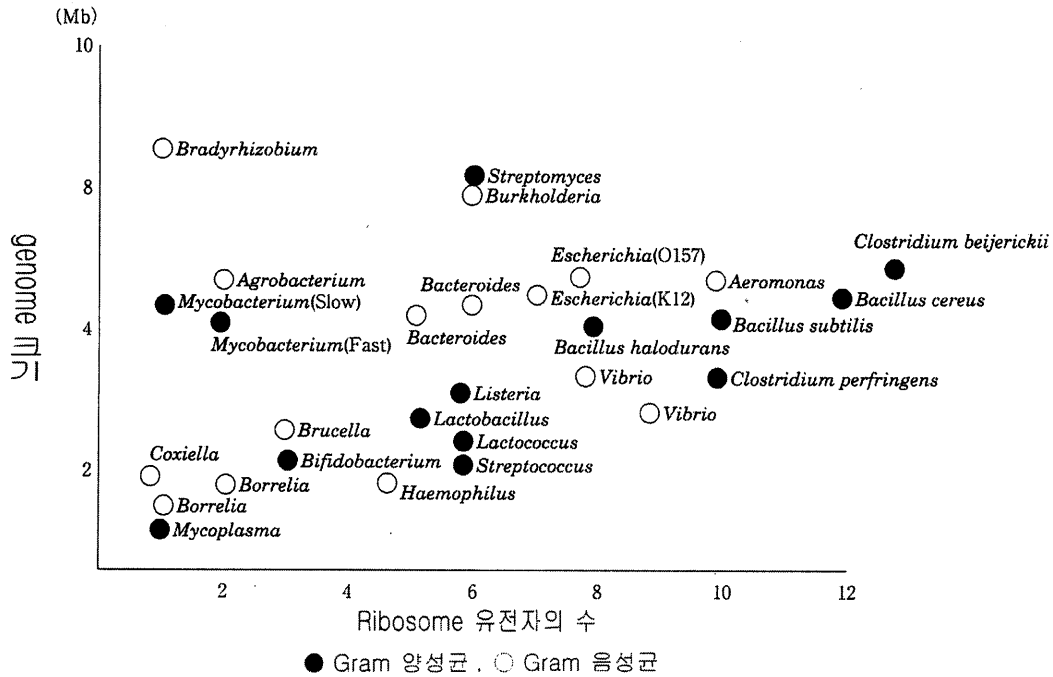


Fig. 1. Copy number of ribosome and genome size.

고 있으면서도 copy 수는 1 뿐인 것도 있다(Cole 등, 1998). 한편, *Bacillus* 속이나 *Clostridium* 속에서는 유전자 크기가 3-Mb 내지 4-Mb 또는 6-Mb 인데도 ribosome의 copy 수는 10개 내지 15개 정도로 상당히 많다. 이런 균종들은 증식의 속도와 관계가 있는 것으로 예측된다. 거의 대부분이 같은 유전자 크기의 4.5-Mb를 갖고있는 *Escherichia* 속은 7 copy(O157은 5.5-Mb로서 8 copy)로 비교하여도 이상한 것이다(그림 1).

계통분류학상의 입장에서 한 균종의 Ribosome (rRNA) 배열이 copy-copy 사이에 어느 정도의 다른점이 있느냐 하는 점이 큰 관심이 되었다. 대장균에 있어서는 7 종류의 copy 사이에는 1% 이내의 변화밖에 없지만 이제부터 이 정보가 보다 많이 축적된다면 종과 종 사이에 rRNA 배열의 기본적인 구조가 명확히 밝혀질 것임에

는 의심치 않는다(Ohnishi 등, 1999; Ohnishi 등, 2000).

세균 유전자 DNA의 GC%도 25%에서 80%까지 다양하다. GC%만 다르더라도 원핵생물의 진화는 어느 유전자 정보를 지표로 하여 계통진화를 비교할 것인가 하는데 여러 가지 이론이 나누어져 있다. 이러한 진화이론에서 일보 진전된 논리가 1980년대부터 시작되어서 세균의 16S rDNA 배열의 정보 축적이 되어왔다. 16S rDNA는 전 생물에 공통적으로 폭발적인 연구 여세로서 염기배열 정보의 축적이 이루어지기 시작하여 현재까지 기재되어진 것만도 850속 5,500종의 거의 대부분이 16S rDNA의 배열이 결정되어 계통분류학상의 위치가 명확히 밝혀져 있다.

세균의 분류체계가 16S rDNA로 정리될 수 있는 결정점이 보여지더라도, 이번에는 이 분

류체계의 결점이 나타나게 되었다. 많은 점들이 이제까지의 분류체계와 모순없이 균종의 속(屬)에서 과(科) 등위의 상위분류가 정비되었다.

지금까지 분류되어진 과(科), 목(目)과 상위 분류체계는, 생물이 갖고있는 기능을 중심으로 분류하여 왔다. 광합성의 유무나 대사경로의 다른 점이 상위분류에 중요한 의미를 가져왔다. 그러나 유전자 배열과 분포의 차이로서 상위 분류를 논하게 되면 강(綱), 목(目), 과(科)의 경계가 배열로서는 몇%의 차이에 해당되는지를 논의하는 것은 별로 설득력을 갖지 못하게 된다. 현실적으로 16S rDNA의 분류체계는 속(屬)이나 과(科) 등위까지의 재편성에 이용되고 있고, 상위분류에는 모두에게 설득시킬 수 있는 힘이 없기 때문이다.

구체적으로 본다면 16S rDNA의 계통으로는 통상 Gram 음성균은, *Proteobacteria* group과 *Bacteriodes-Cytophaga-Fusobacterium-Flavobacterium* complex group 으로 크게 나누어진다. Gram 양성균은 GC%가 50% 이하의 *Firmicutes*와 GC%가 50% 이상의 *Actinobacteria*로 나누어진다. 이러한 것들이 종래에 표현형질의 분류체계에 대조해 보더라도 큰 모순은 없었다. 그렇지만 *Veillonella*, *Acidaminococcus* 속과 같은 혐기성 Gram 음성균이 Gram 양성균의 *Sporomusa* 속과 계통적으로 같은 속으로 분류되었다. 이들 양자의 유전자 구조가 규명된다면 Gram 양성균과 음성균의 진화의 방향성이 해명될 것으로 생각되지만 아쉽게도 진행 중인 Genome project에서는 이것들 속의 균종은 나타나지 않았다.

계통분류학적 위치가 문제가 되어있는 세균의 유전자 정보가 보다 많이 축적되고, 균종의

유전자의 분포가 상세하게 해석되어진다면 Gram 양성균과 음성균의 분기 역사가 해명되는 방법이 될 것이다. 생물의 진화를 유전자의 종류와 분포로서 해석되어질 날이 오는 미래가 기다려진다.

균주의 유전자 정보 축적의 의미

균주의 유전자 해석이 각 나라마다 독자적으로 실행하여 발표된 결과 몇 개의 균종에서 전 유전자 정보가 한 가지의 균종 중에 여러 개 균주로서 축적되어 있다.

*Escherichia coli*는 병원인자 보유가 각각 다른 6주, *Staphylococcus aureus*는 4주로서 약제 내성과 감수성균주, *Neisseria meningitidis*는 3개의 혈청형과 균주의 다양성을 해석하는 환경에 정치되어있다(Blatner 등, 1997).

분류학적인 종(種: species)의 정의는 70% 이상의 염색체 유사도를 갖는 균주의 집단이라고 정의되어 있다. 이 정의에 의하면 종은 30% 이내의 상이점을 가진 균주의 집단이라고도 할 수 있다. *E. coli* K12 균주의 유전자는 4.75-Mb 이고 O157 균주는 5.5-Mb 이다. 약 16%의 유전자가 K12 균주보다 증가되어 있다. 그러나 이 정도의 증가는 균종의 정의에는 영향을 주지 않는다(Hayashi 등, 2001).

현재 분류학에서는 균종을 염색체의 DNA hybrid 형성 실험으로 계측하지만 상대적인 유사도의 측정치를 위한 정보만으로는 객관적이 되지 못한다. 전 유전자 배열을 비교하는 경우 유전자 크기가 균종, 균주에서 다르다면 설득력이 있는 방법이 아니겠지만 그래도 기대할 수 있는 것은 기준주가 보유하고 있는 유전자의 종류가 균주와 균주 사이에 어느 정도 분포되

어 있는지의 정보이다. 기준주와 같은 유전자를 동일 균종의 균주에서 어느 정도 보유하는지의 정보를 축적하고 있다면, 하나의 종이 보유하는 유전자군(island)이 표현되게 된다.

생명의 진화를 생각하면서 해석하고자 한다면 각 균종의 기준주의 해석을 우선적으로 하여야 한다. Genome project에는 생명진화의 관점으로부터 벗어나고 있다. 결정된 균주가 종의 다양성중에서 제일 멀리 떨어져 있다면 종의 개념구축이 보다 난관에 부딪치게 된다. 비판의 대상이 되지 않고서 결정된 균주를 이미 구축된 기준주와 비교하는 일은 분류학자들에게는 아직도 할 수 있는 일인지는 모르지만 비교하고자하는 정보는 새로운 종의 개념 확립에 기본 정보가 되어 장래에는 종의 정의가 변화되어야 할 가능성을 갖고 있는 것이다.

세균의 유전자 발현 해석과 의의

세균학에서는 인공배지로서 세균을 배양시키는 일이기 때문에 서로 다른 조건에서 배양시킬 경우, 어느 정도의 인자가 발현되어 병원성을 발휘하는가의 연구가 오래전부터 시행되어왔다. 예를 들면 일반적인 통상의 배지에 배양했을 때는 발현하지 않지만 낮은 침투압에서 배양한 균이 생산하는 독소의 생산기구를, 그 유전자와 직접 관련하는 제어기구에 대한 해석이 중심이 되어왔다. 그래서 자신이 관찰한 몇 개의 유전자 이외에 환경의 변화가 수 천 종류의 다른 유전자에 어느 정도 영향을 미치는가를 알고자 한다. 그러나 지금까지는 이를 해명하고자 하는 실험적 수기가 없었다. 어느 세균학자의 “세균의 세포벽에 작은 구멍을 내어 세포질 내부를 필사적으로 관찰할 뿐, 사실은 창

문에 빛이 들어오지도 않는 곳에 자신의 상상을 초월한 엄청난 변화가 일어나고 있다.” 라는 말이 생각날 정도로 항상 불만을 가지고 연구를 계속하고 있는 것이다(Xia 등, 1999).

그러나, 유전자 전염기배열이 속속 규명되고 있는 것은 전 유전자의 변화를 해석할 수 있는 환경이 이미 만들어져 있다는 사실을 의미한다. *E. coli*의 4,000 종류의 유전자 발현을 동시에 보기위해서는 4,000 종류의 유전자를 증폭하여 고정된 genome chip을 만든다면 모두 해석할 수 있다. 이러한 해석환경으로 만들어진 미생물 균주가 190 종류를 넘어서고 있다는 현실과 연구의 진행속도도 초과속적이라고 할 수 있다.

세균의 mRNA의 발현량을 정량하여 해석하는 기술은 현재로서는 진핵세포의 해석을 실행하는 것보다 어려운 일이고, 원핵세포로서 수명이 짧은 세포의 mRNA에는 원핵세포와 같은 poly A가 없기 때문에 mRNA의 분리가 보다 어려운 과제이다. 전 RNA를 추출하여도 rRNA의 혼잡이 많이 되고, 그것대로 표식하여도 rRNA의 표식자가 크게 된다. Random hexamer를 사용하여 reverse transcriptase(RT) 반응을 시행표식하는 논문이 많이 발표되었지만 이것도 rRNA의 표식자가 길게 연속하여 나타나게 된다. 한편 목적하는 유전자를 잘라서 넣으면 348 well 이나 98 well의 plate를 사용하는 real-time PCR로서 특이적인 RT 반응이 가능하지만 이보다 특이성이 높은 해석이 가능한 환경으로 개발되어지기를 기대하게 된다.

숙주와 상호작용의 해석

병원성 세균을 각기 다른 조건의 인공배지

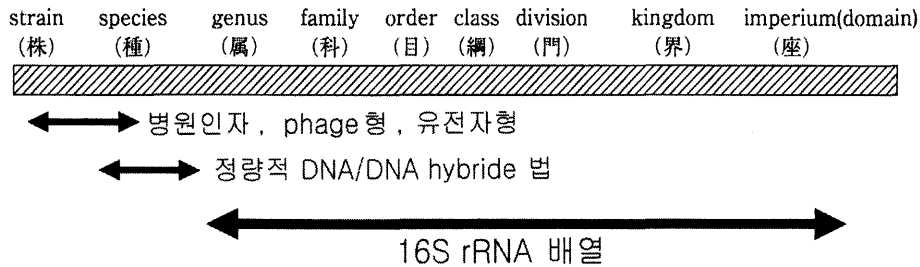


Fig. 2. Identification of bacteria.

에 배양하여 유전자 발현을 해석하는 DNA chip법, real-time RT-PCR 법의 환경이 잘 정비되어도 숙주에 감염을 일으켰을 때는 숙주의 반응과 세균의 유전자 발현의 양측면을 동시에 해석해야 한다.

숙주에 감염시 장내에 있을 때 유전자의 발현과 숙주의 응답, 조직 침입시에 탐식세포내에 기생하고 있을 때의 세균의 발현 유전자의 해석과 숙주세포의 응답, 혈청중에서의 유전자의 발현과 숙주의 면역계의 응답과 해석 장소는 아주 많다. 숙주측의 유전자 발현 해석에는 대부분 microarray plate가 시판되고 있고, real-time RT-PCR, 총체적인 cytokine의 해석을 쉽게 할 수 있도록 되어있다(Invanv 등, 2000).

세균의 유전자 발현과 숙주 응답의 총체적인 해석을 행한다면, 지금까지는 작은 구멍으로 관찰하던 생물의 상호작용을 완전히 천장을 개방하고 커다란 공간으로 전유전자의 발현조절을 해석하는 시대로 돌입하였다.

임상세균학(감염증 진단과 치료)에의 이용

감염증 진단에는 특정의 미생물 종이 특이적인 primer를 사용하여 그 병원체의 검출방법을 만든다. 이때 방법이 한가지 균종중에 어느 정도로 보편성이 있는 검출계인지는 하나하나

임상주를 사용하여 검증하지 않으면 안된다.

생물에 속, 과, 목의 각 분류계층에 존재하는 유전자 분포정보는 아주 중요하다. 미생물에서 검출하는 경우에 현재까지는 가장 많은 정보를 축적하고 있는 16S-rDNA 배열을 사용하였다. 16S-rDNA 배열에는 종, 속, 과에 공통적으로 관찰되는 경우가 많기 때문에 광의적으로 균종을 내포하는 primer 나 probe을 작성하기도 한다(그림 2).

그렇지만 균종에 특이적인 배열이 있다면 이 방법에도 한계가 있게된다. rRNA 배열이 기존의 균주와 100% 일치하여도 분류학적으로는 별개의 종일 수도 있다. *Mycobacterium kansasii*와 *Mycobacterium gastri*가 이의 대표적인 예가 된다. 양 균주의 16S-rDNA 배열이 100% 일치하여도 앞서 말한 종의 유전학적 정의인 염색체 DNA 유사도를 계측하면 50% 내지 60% 정도의 수치밖에 되지 않는다.

균종을 검출하는 경우에는 rDNA 정보만으로는 불충분하기 때문에 현재는 여러 가지의 정보에다가 최종적인 종의 결정은 micorarray plate 상에서 정량적 DNA/DNA hybrid를 형성시키고 있다. 이 방법은 임상검사의 실무에 이용하기에는 어려운 점이 많다. 때문에 의학세균학에서는 병원체의 검출에는 병원인자가 사용되는 일이 많다. 그러나 병원인자는 균주

에 따라서 분포가 다를 경우와 때로는 균종을 초월하여 분포하는 경우도 있다. *E. coli*의 종 중에서도 균종의 동정만 하는 것이 아니고, 병원인자의 독소나 조직 침입인자(Shiga like toxin, ST, LT, invasion 인자)를 종의 동정과 동시에 증명하여야 하는 것도 이러한 이유이다. 또한 병원인자만의 검출에는 균종동정은 되지 않는다. *Vibrio parahaemolyticus*의 *tdh* 유전자와 같이 동일 균속의 *Vibrio mimicus*나 *Vibrio cholerae*에도 *tdh* 유전자가 분포되어 있기 때문이다(Tracksis 등, 1998). 병원인자와 ribosome의 검출이나 또는 병원인자도 전 유전자의 정량적 DNA/DNA hybrid의 양면을 검정하여야 할 필요가 있다(Heidelberg 등, 2000).

균종 특이적, 균주 특이적 또는 균속 특이적인 유전자 분포정보의 집약은 앞으로의 과제이기도 하겠지만 이를 숙주 유전자의 유전자 다형(SNP) 해석에 대응할 수 있을 만큼의 노력과 연구비의 뒷받침이 따라 주어야만 하고 이 분야의 세균 유전자의 다양성 연구에 집중력을 기울여야만 한다.

미생물 약제내성의 해석과 생물의 강력한 진화

병원 세균의 약제내성에 관여하는 유전자의 정보축적은 약제 내성균의 출현과 함께 대량의 정보가 축적되어왔다. 약제내성에 영향을 주는 유전자는 외래성의 plasmid, 균종 고유의 구조 유전자, 그들의 발현조절인자의 변화 등 다양하다. 현재는 ORF의 정보 축적과 약제내성이 논의되고있으나 약제의 유입, 배출(관)에 관한 조절유전자 정보의 축적이 시작되고 있는 실정이다.

다제내성은 *Pseudomonas sp.*에서 보는 바

와 같이 약제의 유입, 배출(관)에 관여하는 유전자를 많이 집적한 균종이나 *Staphylococcus aureus*에서의 세포벽의 구조를 변화시켜 내성화를 획득한 균종과 내성에 관여하는 유전자는 균종에 따라서 다르다. 여러 가지 상상을 초월하는 초강력적인 변화가 일어나고, 연구의 진행에 따라 대량의 정보가 축적되어가고 있다 (Ji 등, 1999; Mccarthy 등, 2000; Kuroda 등, 2001; Liang 등, 2001).

이러한 정보해석도 DNA microarray 384 well을 이용한 real-time RT-PCR의 사용으로 한번에 대량의 정보를 처리가능한 검사체계를 이용하지 않으면, 정말로 미생물의 생존하고자 하는 강력한 전략의 전모를 규명할 수 있을지와 또 미생물을 제어하는 일을 해결할 수 있을지 염려된다.

결 론

21세기는 밀레니엄 의학이라고 하며, 유전자의 구조나 기능을 조사하여 질병의 진단과 예방에 기여하고 처리하는 기술을 유전자 진단술이라고 한다. 그 속에 병원 미생물학은 정보생물학이라고 말한다. 전 유전자 정보를 동시에 관찰할 수 있고 세균의 초강력적인 변화를 붙잡을 수 있는 대량의 정보를 해석, 제어하는 정보공학의 발상을 의학분야에 접목하여 새로운 연구방법으로 체세포에 공통의 유전자에 관한 진단, 치료 및 대사 특성의 검사를 시행하고, 특정의 조직세포에서의 유전자 발현 해석은 혈액이외, 생검시료나 수술시에 채취되는 조직편에서의 유전자 발현을 해석하는 기술이 필요하게 된다. 이와같은 고도의 검사 수기를 빠른 시간에 도입하고 숙련된 기술이 의료현장

에서 넓게 활용되어야 한다.

참 고 문 헌

- Blatner FR, Plunkett G 3rd, Bloch CA, Perna NT, Burland V, Riley M, Collado-Vides J et al.: The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* 277: 1453-1474, 1997.
- Chambaud I, Heilig R, Ferris S, Barbe V, Samson D, Galisson F, Moszer I, et al.: The complete genome sequence of the murine respiratory pathogen *Mycoplasma pulmonis*. *Nucleic Acids Res* 29: 2145-2153, 2001.
- Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, Gordon SV, et al.: Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393: 537-544, 1998.
- Dorigo-Zetsma JW, Wilbrink B, Dankert J, Zaat SA: *Mycoplasma pneumoniae* P1 type 1- and type 2-specific sequences within the P1 cytoadhesin gene of individual strains. *Infect Immun* 69: 5612-5618, 2001.
- Fraser CM, Gocayne JD, White D, Adams MD, Clayton RA, Fleischmann RD, Bult CJ, et al.: The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science* 270: 297-403, 1995.
- Glass JI, Lefkowitz EJ, Glass JS, Heiner CR, Chen EY, Cassell GH: The complete sequence of the mucosal pathogen *Ureaplasma urealyticum*. *Nature* 407: 757-762, 2000.
- Hare RS, Walker SS, Dorman TE, Greene JR, Guzman LM, Kenney TJ, Sulavik MC, et al.: Genetic footprinting in bacteria. *J Bacteriol* 183: 1694-1706, 2001.
- Hayashi T, Makino K, Ohnishi M, Kurokawa K, Ishii K, Yokoyama K, Han CG, et al.: Complete genome sequence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and genomic comparison with a laboratory strain K-12. *DNA Res* 8: 11-22, 2001.
- Heidelberg JF, Eisen JA, Nelson WC, Clayton RA, Gwinn ML, Dodson RJ, Haft DH, et al.: DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. *Nature* 406: 477-483, 2000.
- Invanv I, Schaab C, Planitzer S, Teichmann U, Machl A, Theml S, Meier-Ewert, S et al.: DNA microarray technology and antimicrobial drug discovery. *Pharmacogenomics* 1: 169-178, 2000.
- Ji Y, Marra A, Rosenberg M, Woodnutt G: Regulated antisense RNA eliminates alpha-toxin virulence in *Staphylococcus aureus* infection. *J Bacteriol* 181: 6585-6590, 1999.
- Karaolis DK, Somara S, Maneveal DR Jr, Johnson JA, Kaper JB: A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and a phage receptor in cholera bacteria. *Nature* 399: 375-379, 1999.
- Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I, Cui L, et al.: Whole genome sequencing of methicillin-

- resistant *Staphylococcus aureus*, the major hospital pathogen. *Lancet* 357: 1225-1240, 2001.
- Liang X, Pham X-QT, Olson MV, Lory S: Identification of a genomic island present in the majority of pathogenic isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 183: 843-853, 2001.
- McCarthy M: *Pseudomonas* genome reveals a formidable foe. *Lancet* 356: 918, 2000.
- Ohnishi M, Murata T, Nakayama K, Kuhara S, Hattori M, Kurokawa K, Yasunaga T, et al.: Comparative analysis of the whole set of rRNA operons between an enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 Sakai strain and an *Escherichia coli* K-12 strain MG1655. *Syst Appl Microbiol* 23: 315-324, 2000.
- Ohnishi M, Tanaka C, Kuhara S, Ishii K, Hattori M, Kurokawa K, Yasunaga T, et al.: Chromosome of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7; comparative analysis with K-12 MG1655 revealed the acquisition of a large amount of foreign DNAs. *DNA Res* 6: 361-368, 1999.
- Trucksis M, Michalski J, Deng YK, Kaper JB: The *Vibrio cholerae* genome contains two unique circular chromosomes. *Proc. Natl Acad Sci USA* 95: 14464-14469, 1998.
- Xia M, Lunsford RD, McDevitt D, Iordanescu S: Rapid method for the identification of essential genes in *Staphylococcus aureus*. *Plasmid* 42: 144-149, 1999.
-