

Comparison of Metabolic Pathways of Less Orthologous Prokaryotes than *Mycoplasma genitalium*

Dong-Geun Lee*

Major in Pharmaceutical Engineering, Division of Bio-industry, College of Medical and Life Science, Silla University, Kwaeop-dong 1-1, Busan 617-736, Korea

Received December 27, 2017 / Revised February 23, 2018 / Accepted February 23, 2018

Mycoplasma genitalium has 367 conserved genes and the smallest genome among mono-culturable prokaryotes. Conservative metabolic pathways were examined among *M. genitalium* and 14 prokaryotes, one hyperthermophilic exosymbiotic archaeon *Nanoarchaeum equitans* and 13 intracellular eubacteria of plants or insects, with fewer conserved genes than *M. genitalium*. They have 11 to 71 metabolic pathways, however complete metabolic pathways ranged from 1 to 24. Totally, metabolic pathway hole is very high due to the lack of 45.8% of the enzymes required for the whole metabolic pathways and it could be suggested that the shared metabolic pathway with the host's enzyme would work or the essential substances are host dependent. The number of genes necessary for mass transfer through the cell membrane is also very low, and it may be considered that the simple diffusion or the protein of the host will function in the cell membrane of these prokaryotes. Although the tRNA charging pathway was distributed in all 15 prokaryotes, each has 5-20 tRNA charging genes. This study would give clues to the understanding of the metabolic pathways of intracellular parasitic bacteria of plant and endosymbiotic bacteria of insects, and could provide basic data for prevention of crop damage, development of insect pests and human medicines.

Key words : Conservative metabolic pathway, intracellular eubacteria, metabolic pathway hole, *Mycoplasma genitalium*

서 론

유전자나 단백질의 서열 등 방대한 양의 생물관련 정보들이 보고되면서 생물정보학(bioinformatics)이 태동되었다. 생물정보학은 생물학, 컴퓨터 과학, 통계학, 수학적 방법론 등이 결합하여 주로 분자 수준에서 생물학을 다루는 학문으로 연구 영역은 서열정렬, 유전자 검색, 유전자 조합, 단백질 구조 정렬, 단백질 구조 예측, 유전자발현의 예측, 단백질간 상호작용, 진화모델 등 다양하다[9].

원핵생물들은 서식지, 대사, 특징 등이 아주 다양하며 이들의 생명현상은 학술적, 생태적, 경제적 관점 등에서 매우 중요하다[4]. 생명체의 유전자가 많으면 다양한 생합성 및 물질분해 효소, 스트레스 저항 단백질 등의 생산을 통해 여러 환경에서 생존할 수 있다[8].

게놈서열의 파악과 생물정보학의 도움으로 원핵생물이 다른 생물의 도움 없이 자유 생활을 하는데 필요한 최소 유전자

수는 800개 정도이고, 숙주 세포 내부에서 생활하는 원핵생물들은 140개 이하의 유전자를 갖고 있다는 보고가 있다[6, 16]. 하지만 1,100개 이상의 단백질 합성유전자를 가진 공생 세균 *Lactobacillus fermenticum* CECT 5716 [11]와 세포 내 기생 세균 *Candidatus Phytoplasma australiense* NZSb11 [15]도 있다. 한편 세포 내 공생 세균이었다가 세포 소기관화된 것으로 알려진 미토콘드리아는 63개 정도의 유전자를 보유하고 있지만[2], 색소체(엽록체)는 200개 정도의 유전자를 보유하고 있다[7] 세포 내 원핵생물보다 유전자 수가 많다. 즉 아직 유전자 수와 자유 생활/공생(기생) 생활, 세포 소기관/생물에 대한 경계가 모호하다고 할 수 있다.

한편 게놈의 염기서열 분석과 유전자 파악이 완료된 생물 종들의 유전자를 생물정보학적 방법으로 상호 비교하여 3가지 이상의 생물 종에 보존적인 유전자들에서 유래한 단백질들을 COG (Clusters of Orthologous Group of proteins)라고 한다[5]. 2015년 현재 653개의 원핵생물에 관한 COG들이 보고되었다[5]. DNA 서열분석과 COG 방법을 통해 비교 대상 세포 소기관과 생물 종들에 보존적인 유전자의 파악이 가능하며 배양 없이도 원핵생물의 기능 유추 등 여러 방면에 적용할 수 있다[3, 14, 15]. Lee는 미토콘드리아와 원핵생물의 공통 COG [14], 367개의 보존적 유전자를 가진 *M. genitalium* 보다 작은 수의 보존적 유전자를 가진 원핵생물들이 가지는 COG를 파악하고 상호 비교하였다[15].

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-6282, Fax : +82-51-999-5636

E-mail : ldg@silla.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하지만 COG 방법은 개별적 보존적 유전자만 파악 가능한 한계가 있다. 생물체의 물질대사는 하나의 유전자가 아닌 여러 유전자가 관여하는 대사경로를 통해 이루어진다. 게놈분석이나 대사공학 등의 목적으로도 사용 가능한 MetaCyc와 KEGG 프로젝트를 통해 대사경로 데이터베이스가 구축되었다[3, 12]. MetaCyc 데이터베이스는 실험자료를 기반으로 하고 있으며 KEGG 데이터베이스에 비해 대사경로나 반응에서 우위에 있는데, 2017년 현재 2,526개의 대사경로와 2,844개의 생물에 관한 정보를 담고 있다[3].

생명현상에는 물질 이동과 대사경로가 필수적이므로 본 연구에서는 게놈 서열이 파악된 원핵생물 중에서 *M. genitalium* 보다 작은 수의 보존적 유전자를 가진 14종 원핵생물과 *M. genitalium*이 가지는 대사경로를 파악하고 물질이동 관련 단백질도 상호 비교하여 이들이 보이는 생명현상과의 관계를 토의하고자 하였다.

적은 대사경로 수

Table 1에 각 균주의 대사경로 수와 물질 운반 관련 유전자의 수 그리고 게놈의 크기 등을 나타내었다. 각 균주들의 약어를 균주명 뒤의 괄호 안에 나타내었다. *Candidatus*로 시작되는 원핵생물은 총 13개로 이들은 시험관 배양이 불가능하고, 표

기법도 다른 생물들과 차이를 보이며 아직 완전한 분류가 되지 않은 상태로 *Candidatus Phytoplasma* 속에 속하는 구성원 서로간에도 유연관계가 높지 않다[4]. 균주들 중에서 *Nanoarchaeum equitans* Kin4-M (이하 Nanequ)는 고세균으로 초고온성이며 세포 외 공생을 하며, 나머지는 진정세균이다. *M. genitalium* (이하 Mycgen)은 단독 시험관 배양이 가능하지만, 자연계에서는 세포 내 기생을 한다[15]. 식물 세포 내 병원균 (*Candidatus Phytoplasma* 속)이 4개이며, 나머지 9개는 곤충 세포 안에 공생하는 원핵생물들이다[15]. 대장균(*Escherichia coli* K-12)과 고초균(*Bacillus subtilis* 168)은 비교균이다. 각 원핵생물이 보유한 대사경로의 비교를 위하여 BioCyc의 MetaCyc 데이터베이스에서[3] 확보한 자료를 이용하였다.

15개 원핵생물의 대사경로 수는 Nasdel이 12개로 최소였고 Syndia의 71개가 최대였다(Table 1). 이들의 대사경로 수는 대장균의 312개, 고초균의 228개에 비해 월등히 작았다. MetaCyc 데이터베이스에는 전체 2,526개의 대사경로가 있는데, 분석 대상 15종 원핵생물들의 대사경로 종류는 모두 합쳐 159개로 이들 각각이 보유한 대사경로의 수가 얼마나 작은지 알 수 있었다. 대사경로의 수가 작다는 것은 합성과 분해할 수 있는 물질의 종류가 작다는 것을 의미하여, 이들이 자유생활을 못하고 기생이나 공생생활을 하는 것과 연관이 있을 것으로 유추되었다.

Table 1. Lineage and the number of pathways, transporters and genome size of analyzed 15 prokaryotes

Phylum Organism (Abbreviation)		# of Pathways without holes	# of Pathways with holes	# of genes for transporter	Genome size (Kbp)
Nanoarchaeota					
<i>Nanoarchaeum equitans</i> Kin4-M (Nanequ)		1	11	1	490.9
Mollicutes					
<i>Mycoplasma genitalium</i> G37 (Mycgen)		24	39	25	579.7
<i>Candidatus</i> <i>Nasuia deltocephalinicola</i> str. NAS-ALF (Nasdel)		1	11	0	112.1
<i>Candidatus</i> <i>Phytoplasma asteris</i> AYWB (Astyel)		9	22	1	724.0
<i>Candidatus</i> <i>Phytoplasma asteris</i> OY-M (Oniyel)		8	27	0	853.1
<i>Candidatus</i> <i>Phytoplasma australiense</i> (Phyaus)		14	22	0	880.0
<i>Candidatus</i> <i>Phytoplasma australiense</i> NZSb11 (Strlet)		13	22	1	960.0
Bacteroidetes					
<i>Candidatus</i> <i>Uzinura diaspidicola</i> str. ASNER (Uzidia)		14	21	0	263.4
<i>Candidatus</i> <i>Sulcia muelleri</i> CARI (Sulmue)		19	13	8	276.5
Proteobacteria					
<i>Candidatus</i> <i>Hodgkinia cicadicola</i> Dsem (Hodcic)		4	17	0	143.8
<i>Candidatus</i> <i>Tremblaya phenacola</i> PAVE (Trephe)		8	21	0	171.5
<i>Candidatus</i> <i>Zinderia insecticola</i> CARI (Zinins)		9	22	17	208.6
<i>Candidatus</i> <i>Profftella armatura</i> (Syndia)		16	55	23	464.9
<i>Candidatus</i> <i>Carsonella ruddii</i> DC (Carrud)		11	24	9	174.0
<i>Candidatus</i> <i>Portiera aleyrodidarum</i> BT-QVLC (Porale)		11	13	26	357.5
<i>Escherichia coli</i> K-12 (Esccol)		295	17	475	5,178.6
Firmicutes					
<i>Bacillus subtilis</i> 168 (Bacsub)		146	82	102	4,136.8

많은 대사경로 구멍(metabolic pathway hole)

대사경로를 분석 대상 균주들과 대장균이나 고초균과 비교한 특징은 첫째 전술한 것과 같이 대사경로의 수가 작다는 것이었다. 둘째는 전체 대사경로에 필요한 효소 개수에서 부족한 효소개수로 구한 대사경로 구멍의 비율이 높다는 것이다. 대장균과 고초균은 각각 3과 19%였고, 분석 대상 15종은 전체 대사경로의 45.8%였다. 즉 대사경로를 구성하는 효소의 45.8%가 없었다. Table 1에서 고초균의 'Pathways with holes'의 개수는 82개로 전체 대사경로 228개의 36.0%인데, 긴 대사경로에는 많은 수의 효소가 필요할 것이므로 분석대상 원핵생물의 대사경로 구멍의 비율과 차이를 보였을 것이다.

대사경로 구멍이 없는 완벽한 대사경로의 수는 Nasdel과 Nanequ가 최소로 1개, Mycgen이 최대로 24개였고 평균 10.8개로 대장균의 295개와 고초균의 145개에 비해 아주 낮았다 (Table 1). 이는 이들이 대사경로를 통해 생성 내지 분해하는 물질의 종류가 아주 적으며, 이들의 단독배양이 어려운 이유와 이들이 기생이나 공생이 필요한 이유와 연관되는 것으로 판단되었다.

대사경로 구멍과 물질 운반

Table 1을 보면 비교 대상 원핵생물들의 대사경로 수가 적고 대사경로 구멍의 비율이 대장균과 고초균에 비해 높았다. 대사경로 구멍(metabolic pathway hole)은 계놈에서 대사경로의 효소들에 해당하는 유전자 중 일부가 없다는 것으로 이러한 상태에서 이들의 생명현상과의 관계로 다음의 가능성들이 있을 수 있다.

첫째, 이들의 서식환경이 매우 일정하여 여러 개의 완전한 대사경로 없이 몇 개의 완전한 대사경로에서 생기는 대사산물만으로도 생존이 가능한 경우이다. 실제 분석 대상 15종의 세균 중 Nanequ를 제외하면 모두 세포 내 공생체 혹은 세포 내 병원체이다. 즉 그들 세포의 바깥은 다른 세포의 내부로, 물리화학적 환경이 비교적 일정할 것이다. 그리고 외부 공생체인 Nanequ도 초고온성 고세균으로 비교적 서식환경이 일정하다고 할 수 있을 것이다. Nilsson 등은 환경이 일정한 실험실 조건에서 세포 내 세균이 아닌데도 계놈감소가 매우 빠르게 일어나는 것을 보고하였고[18], Oakeson 등은 절대 내부 공생체가 된 후 28,000년 만에 전체 유전자의 55%가 감소한 원핵생물을 보고하였다[19]. 하지만 분석 대상 원핵생물들이 10개 이하의 완전한 대사경로로(Table 1) 세포에 필요한 뉴클레오타이드와 아미노산 공급 그리고 에너지 생산을 해결하기는 어려울 것이다.

둘째, 대사경로에 있지 않은 기질특이성이 낮은 다른 효소에 의한 대사경로의 완성 가능성이 있다[13]. 계놈의 크기가 작은 세균의 일부 효소는 기질특이성이 낮아 여러 기능을 보일 수

있는데, 여러 기능을 하는 효소와 유전자의 명명이 주기능만 명시되어 2가지 이상의 대사경로에 참여할 수 있는데도 간과될 수 있다. 이에 대한 확인은 수많은 실험이 필요할 것이다.

셋째, 공생하는 두 생물의 효소들이 합쳐서 하나의 대사경로를 완성하는 공유대사경로(shared metabolic pathway)의 가능성이다. Isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine과 valine의 합성에 진딧물과 공생 세균인 *Buchnera aphidicola*의 효소가 모두 필요하다는 보고[20]와 같은 경우이다. 이 경우 하나의 생물에서만 구한 유전체 정보에서는 대사경로 구멍이 관찰될 것이다.

넷째, 이들 대사경로에 구멍이 있는 세균들의 외부 즉 숙주 세포의 내부로부터 유입되는 물질이 세포 내 세균의 세포막 운반체에 의하거나 단순확산에 의존하는 경우이다. 세포는 기능유지에 물질과 에너지를 필요로 하므로, 세포 내 공생 혹은 세포 내 기생 원핵생물도 그들의 세포막을 통한 물질의 출입이 있어야 하며 특히 대사경로 수가 부족한 경우는 더욱 그럴 것이다. 저분자량 혹은 전하가 없는 물질이 단순확산에 유리하고, 세포막의 운반체가 단순확산에 비해 훨씬 다양하고 많은 양의 물질을 운반할 수 있을 것이다.

BioCyc 데이터베이스에서 물질 운반 기능을 보일 수 있는 유전자의 수는 대장균이 475개, 고초균이 102개인데 비해 Mycgen 25개, Porale 26개, Syndia 23개, Zinins 17개, Carrud 9개, Sulmue 8개 등으로 나타났고, 나머지는 7개 이하였다 (Table 1). BioCyc 데이터베이스와 중복되지 않는 COG 데이터베이스에서 transport, permease, channel, pump, carrier 등 물질 운반과 관련된 COG를 계수해 보았다. 대장균 277개, 고초균 184개에 비해 *Mollicutes* 강에 속하는 Mycgen 44개, Oniyel 43개, Phyaus, Astyel, Strlet는 모두 41개가 물질수송에 관련되는 것으로 파악되었다. 그리고 Hodcic, Trephe, Carrud, Uzidia 등은 0개, Zinins 1개, Nasdel 3개, Sulmue 4개, Nanequ 7개, Porale 10개, Syndia 16개 등으로 나타났다. 분석 대상 15종의 원핵생물 중 단독배양이 가능한 Mycgen은 BioCyc와 COG 데이터베이스에서 모두 가장 많은 수의 물질수송 관련 유전자를 가지고 있었다. Hodcic, Trephe, Uzidia는 두 데이터베이스에서 모두 물질 운반에 관련된 유전자가 0개였다. 따라서 이들은 필요물질의 운반이 단순확산 혹은 다른 기작에 의존할 것으로 사료되었다.

다섯째, 숙주세포의 단백질이 분석대상 원핵생물에서 작동할 가능성이다. 미토콘드리아 내부의 tRNA charging에 필요한 효소들의 유전정보가 핵에 존재하는 것[10]과 유사한 경우이다. 미토콘드리아는 독자적 DNA를 가진 세포 소기관으로 세포질과의 물질교환을 위한 많은 수송체계를 가지고 있다 [22]. 원핵과 진핵생물에 공통적인 보존유전자 62개 중에서 20개가 미토콘드리아 관련이었는데 물질 운반 관련 보존유전자는 없었다[14]. 이는 미토콘드리아와 세포질 사이에 교환되는 물질이 각 생물에 따라 다를 수 있거나, 미토콘드리아의 물질

운반 관련 유전자가 핵에 존재할 수 있다는 것이다. 본 연구의 분석 대상 원핵생물들도 공생체와 병원체 등 숙주와의 관계에 따라 그리고 각 생물의 대사 상태에 따라 교환하거나 흡수하는 물질의 종류가 다를 것이다. 한편 Zimorski 등은 세포 내 공생체에서 숙주의 핵으로 endosymbiotic gene transfer가 일어난 후 세포 내 공생체의 단백질 수송체계가 핵 유래 유전자에 의존하면 공생체가 세포 소기관화된다고 보고하였다[22]. 이와 같이 숙주의 계놈에서 유래한 단백질 수송체계가 연구대상인 세포 내 원핵생물의 세포막 수송을 담당할 가능성도 유추할 수 있었다. BioCyc 데이터베이스에서 현재까지 파악된 운반 가능한 물질의 종류를 보면 Nasdel, Trephe, Uzidia는 전무하였으며 Hodcic, Phyaus, Carrud, Sulmue, Zinins, Oniyel, Nanequ는 H⁺ 뿐이었다. Sulmue와 Nasdel이 10개의 필수아미노산을 공생하는 곤충 세포에 공급하지만[17], Sulmue와 Nasdel도 10개의 필수아미노산이 그들의 생존에 필요할 것인데 BioCyc와 COG 데이터베이스에서 운반체가 발견되지 않았다[3]. 따라서 이들 아미노산은 숙주세포유래 운반단백질이나 단순확산으로 공급될 가능성이 있을 수 있다.

마지막으로, 아직 염기서열에서 유전자가 파악되지 않았거나 대사경로가 아닌 것을 대사경로로 파악하여 나타난 결과일 수도 있다[3]. 즉 실제 기능을 하는 단백질이 존재하지만 현재까지 파악이 되지 않은 경우가 있을 수 있다. 그러나 생물정보학의 발전으로 계놈에서 유전자를 파악하는 genome annotation 기법은 굉장한 발전을 하였으며, 분석에 사용된 MetaCyc 데이터베이스는 실험자료를 기반으로 하고 있어[3] 이러한 오류의 가능성이 낮다고 할 수 있었다.

보존적 대사경로

Table 2에 분석 대상 15개 원핵생물이 나타내는 공통적인

대사경로와 보유하는 원핵생물의 수 그리고 해당경로가 없는 원핵생물을 나타내었다. 15개 원핵생물 모두에서 나타나는 대사경로는 tRNA charging 하나뿐이었고, 11-14개의 원핵생물에 보존적 대사경로는 없었다.

분석 대상 원핵생물들은 세포 내 절대공생성인 Nasdel, Hodcic, Trephe, Sulmue, Zinins 등도 tRNA charging에 필요한 유전자를 보유하고 있는 것으로 나타났다. 아미노산의 합성경로가 없더라도 생명현상의 유지에 필요한 단백질을 합성하기 위한 charged tRNA 생성의 대사경로는 분석 대상 원핵생물 모두에 보존적이라는 것으로 판단할 수 있었다. 하지만 MetaCyc 데이터베이스에는 tRNA charging 대사경로만 표시되고 20개의 아미노산 각각에 대한 경로가 없었다. COG 데이터베이스에서 Mycgen, Astyel, Oniyel, Syndia은 20개의 tRNA synthetase가 있지만, 나머지 원핵생물들은 5~19개 사이였다. 이는 부족한 tRNA synthetase 혹은 그에 상응하는 charged tRNA가 공생하는 세포에서 공급될 가능성이 높다는 것으로 판단되었다.

미토콘드리아와 엽록체의 tRNA charging에 필요한 효소들의 유전정보는 핵의 DNA가 보유하고 있다[10]. Williams 등은 기생 세균인 Rickettsiales 그룹과 미토콘드리아의 DNA가 매우 유사하며 미토콘드리아가 이들에게서 유래하였을 것이라고 보고하여[21] 공생 세균이 아닌 기생 세균도 세포 소기관화가 가능한 것을 알 수 있었다. 미토콘드리아와 엽록체가 공생 원핵생물유래의 세포 소기관이라면, 본 연구의 원핵생물들 중 Nanequ를 제외한 나머지는 숙주의 세포 내에 있으므로 진화적으로 세포 소기관화 되어가는 진화경로에 있을 수 있다.

Hodcic, Nasdel, Porale, Sulmue, Uzidia는 아데노신과 구아노신 핵산의 신생(*de novo*)합성을 하지 못하는 것으로 나타났다. Purine 염기들은 신생(*de novo*) 혹은 회수(*salvage*) 경로로 합성되는데, 5개 원핵생물 중 Sulmue만 pyrimidine nucle-

Table 2. Common pathway and deficient organisms among analyzed 15 procaryotes

# of Organisms	Pathway	Deficient organisms
15	tRNA charging	-
10	adenosine ribonucleotides de novo biosynthesis	Hodcic, Nasdel, Trephe, Uzidia, Zinins
	adenosine deoxyribonucleotides de novo biosynthesis	Hodcic, Nasdel, Porale, Sulmue, Uzidia
	guanosine deoxyribonucleotides de novo biosynthesis I	Hodcic, Nasdel, Porale, Sulmue, Uzidia
9	glutamine degradation I	Hodcic, Nasdel, Syndia, Zinins, Mycgen, Nanequ
	UTP and CTP de novo biosynthesis	Carrud, Hodcic, Nasdel, Porale, Sulmue, Uzidia
	CMP phosphorylation	Carrud, Hodcic, Nasdel, Porale, Sulmue, Uzidia
	pyrimidine deoxyribonucleotide phosphorylation	Carrud, Hodcic, Nasdel, Porale, Sulmue, Uzidia
8	tRNA processing	Carrud, Hodcic, Nasdel, Trephe, Zinins, Nanequ
	glycine biosynthesis I	Nasdel, Porale, Sulmue, Trephe, Uzidia, Zinins, Nanequ
	PRPP biosynthesis I	Astyel, Nasdel, Phyaus, Syndia, Nanequ, Oniyel, Strlet
	alanine biosynthesis III	Astyel, Hodcic, Phyaus, Syndia, Mycgen, Nanequ, Oniyel

See table 1 to know the abbreviated organisms.

obase salvage I 경로가 있고 나머지는 pyrimidine deoxy-ribonucleosides salvage 경로, purine deoxyribonucleosides salvage 경로, pyrimidine ribonucleosides salvage I 경로 등이 모두 없었다(Table 2). 따라서 이들은 주로 숙주세포에 필요한 뉴클레오티드를 의존할 것으로 유추되었다.

대사경로 계통수(phylogenetic tree)

Mega 프로그램(ver. 6.06)의 phylogeny analysis를 이용하여 분석대상 원핵생물의 각 대사경로 보유 유무로 Presence-Absence phylogenetic tree를 작성하면서 bootstrap method (n=1,000)로 분석하였다[15].

Fig. 1에 분석 대상 15종의 원핵생물과 비교그룹 대장균(Esccol)과 고초균(Bacsub)의 2,526개의 대사경로 보유 유무에 따른 대사경로 보유 계통수(Presence-Absence Phylogenetic tree)를 나타내었다. 크게 2 분류그룹인 대장균-고초균, 분석대상 15종 원핵생물로 구분되었고, Mollicutes 강(class)은 Nasdel을 제외하고 하나의 작은 분류그룹으로 묶였다. 이러한 경향은 Maximum likelihood, Minimum evolution, Neighbor-Joining, UPGMA 방법으로 작성한 계통수 모두에서 동일하였다. 이는 대사경로에서 분석대상 15종이 대장균과 고초균에 비해 많은 차이를 나타내는 것으로 판단되었다.

분석 대상 15종 원핵생물들이 보유한 대사경로 수는 Syndia의 71개가 최고로 작아서 대장균의 312개, 고초균의 228개 보다 월등히 작았다(Table 1). 따라서 2,526개의 대사경로 모두를 계통수 작성에 이용하지 않고, 분석대상 원핵생물 1종 이상이

보유한 대사경로 159개 각각을 각 원핵생물이 보유하는 지 행렬로 작성한 후 보유 계통수를 작성한 결과를 Fig. 2에 제시하였다. 크게 2 분류그룹인 Mycgen-Bacsub-Esccol, 나머지 분석대상 14종 원핵생물로 구분되었고 Mollicutes 강은 Mycgen과 Nasdel을 제외하고 여전히 하나의 작은 분류그룹으로 묶였다. Fig. 2의 Maximum likelihood 계통수 외에 Minimum evolution, Neighbor-Joining, UPGMA, Maximum parsimony로 작성한 계통수에서도 Carrud-Trephe-Sulmue-Uzidia, Hodcic-Nasdel, Astyel-Oniyel-Phyaus-Strlet가 가장 높은 유연관계를 보였고 Mycgen-Bacsub-Esccol은 UPGMA를 제외한 계통수에서 모두 가장 높은 유연관계를 보였다. Fig. 1, Fig. 2를 비교하면 공통점은 Mollicutes 강에 속하는 Astyel-Oniyel-Phyaus-Strlet과 Bacsub-Esccol은 여전히 동일한 분류그룹이고 고세균인 Nanequ가 분석대상 원핵생물들과 분리되지 않은 점이며, 차이점은 나머지 원핵생물의 계통수에서 위치변화 특히 Mycgen의 위치변화였다. 단독배양이 가능한 Mycgen만 대장균(Esccol) 그리고 고초균(Bacsub)과 같은 그룹에 속하였고, 대사경로의 수가 비슷하더라도 나머지 분석대상 원핵생물과 계통수에서는 다른 곳에 위치하는 특징이 있었다. 즉 Mycgen이 전체 2,526개의 대사경로에서는 비교군인 대장균 및 고초균과 유사성이 매우 낮고 비교대상 14종과 유사하지만, 비교대상 원핵생물들에만 해당하는 159개의 대사경로에서는 오히려 대장균 및 고초균과 유사성이 높은 것으로 나타났다. Fig. 1, 2는 구멍이 있는 대사경로도 완전한 대사경로로 간주하여 작성한 것으로 완전한 대사경로만 고려하면 대장균 및 고초균과 더 명확한 차이를 보였을 것이다.

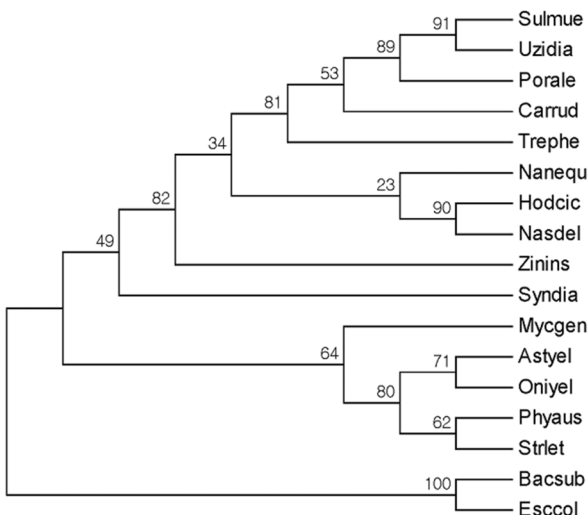


Fig. 1. ML (Maximum Likelihood) phylogenetic tree of 15 procaryotes and outgroups of *E. coli* K-12 and *B. subtilis* 168 in the point of presence or absence of the union of 2,526 metabolic pathways represented by 15 procaryotes. Bootstrap values at each node are expressed as a percentage of 1,000 trials. See table 1 for abbreviations of organisms.

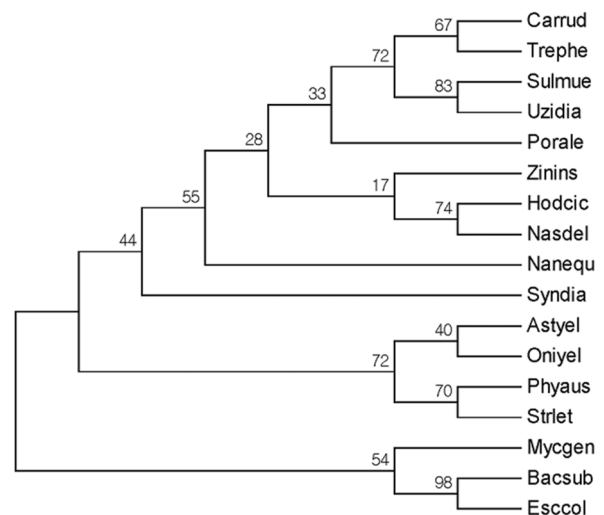


Fig. 2. ML (Maximum Likelihood) phylogenetic tree of 15 procaryotes, *E. coli* K-12 and *B. subtilis* 168 in the point of presence or absence of the union of 159 metabolic pathways represented by 15 procaryotes. Bootstrap values at each node are expressed as a percentage of 1,000 trials. See table 1 for abbreviations of organisms.

숙주세포 내 원핵생물 응용 가능성

Beasategui 등은 곤충의 공생 세균은 아미노산과 비타민 등 필수영양분의 공급, 소화효소의 공급 등의 기능 외에 병원균, 기생체, 포식자에게서 보호 등의 기능이 있어 이를 이용하여 농작물의 해충구제와 인간질환의 치료 등에 이용할 수 있어 생물공학적 가치도 높다고 하였다[1]. 본 연구의 *Astyel*, *Oniyel*, *Phyaus*, *Strlet*는 농작물의 질병 유발 세균으로 이들에 대한 이해를 통해, 농작물의 피해 방지와 해충구제, 의약품 개발 등에 사용할 기초자료를 제공할 수 있을 것이다.

References

- Berasategui, A., Shukla, S., Salem, H. and Kaltenpoth, M. 2016. Potential applications of insect symbionts in biotechnology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**, 1567-1577.
- Burger, G., Gray, M. W., Forget, L. and Lang, B. F. 2013. Strikingly bacteria-like and gene-rich mitochondrial genomes throughout jakobid protists. *Genome Biol. Evol.* **5**, 418-438.
- Caspi, R., Altman, T., Dreher, K., Fulcher, C. A., Subhraveti, P., Keseler, I., Kothari, A., Krummenacker, M., Latendresse, M., Mueller, L. A., Ong, Q., Paley, S., Pujar, A., Shearer, A. G., Travers, M., Weerasinghe, D., Zhang, P. and Karp, P. D. 2012. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases. *Nuc. Acids Res.* **40**, D742-D753.
- Firrao, G., Gibb, K. and Stretten, C. 2005. Short taxonomic guide to the genus 'Candidatus Phytoplasma'. *J. Plant Pathol.* **87**, 249-263.
- Galperin, M. Y., Makarova, K. S., Wolf, Y. I. and Koonin, E. V. 2015. Expanded microbial genome coverage and improved protein family annotation in the COG database. *Nucleic Acids Res.* **43**, D261-D269.
- Ghai, R., Mizuno, C. M., Picazo, A., Camacho, A. and Rodriguez-Valera, F. 2013. Metagenomics uncovers a new group of low GC and ultra-small marine actinobacteria. *Sci. Rep.* **3**, 2471.
- Glöckner, G., Rosenthal, A. and Valentin, K. 2000. The structure and gene repertoire of an ancient red algal plastid genome. *J. Mol. Evol.* **51**, 382-390.
- Han, K., Li, Z. F., Peng, R., Zhu, L. P., Zhou, T., Wang, L. G., Li, S. G., Zhang, X. B., Hu, W., Wu, Z. H., Qin, N. and Li, Y. Z. 2013. Extraordinary expansion of a *Sorangium cellulosum* genome from an alkaline milieu. *Sci. Rep.* **3**, 2101.
- <https://ko.wikipedia.org/wiki/%EC%83%9D%EB%AC%BC%EC%A0%95%EB%B3%B4%ED%95%99>.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6033/?report=reader>.
- Jiménez, E., Langa, S., Martín, V., Arroyo, R., Martín, R., Fernández, L. and Rodríguez, J. M. 2010. Complete genome sequence of *Lactobacillus fermentum* CECT 5716, a probiotic strain isolated from human milk. *J. Bacteriol.* **192**, 4800.
- Kanehisa, M., Goto, S., Furumichi, M., Tanabe, M. and Hirakawa, M. 2010. KEGG for representation and analysis of molecular networks involving diseases and drugs. *Nucleic Acids Res.* **38**, D355-D360.
- Kelkar, Y. D. and Ochman, H. 2013. Genome reduction promotes increase in protein functional complexity in bacteria. *Genetics* **193**, 303-307.
- Lee, D. G. 2014. Comparison of mitochondria-related conserved genes in eukaryotes and prokaryotes. *J. Life Sci.* **24**, 791-797.
- Lee, D. G. 2017. Conservative genes of less orthologous prokaryotes. *J. Life Sci.* **27**, 694-701.
- Martínez-Cano, D. J., Reyes-Prieto, M., Martínez-Romero, E., Partida-Martínez, L. P., Latorre, A., Moya, A. and Delaue, L. 2015. Evolution of small prokaryotic genomes. *Front Microbiol.* **5**, 742.
- McCutcheon, J. P. and Moran, N. A. 2010. Functional convergence in reduced genomes of bacterial symbionts spanning 200 million years of evolution. *Genome Biol. Evol.* **2**, 708-718.
- Nilsson, A. I., Koskiniemi, S., Eriksson, S., Kugelberg, E., Hinton, J. C. and Andersson, D. I. 2005. Bacterial genome size reduction by experimental evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 12112-12116.
- Oakeson, K. F., Gil, R., Clayton, A. L., Dunn, D. M., von Niederhausen, A. C., Hamil, C., Aoyagi, A., Duval, B., Baca, A., Silva, F. J., Vallier, A., Jackson, D. G., Latorre, A., Weiss, R. B., Heddi, A., Moya, A. and Dale, C. 2014. Genome degeneration and adaptation in a nascent stage of symbiosis. *Genome Biol. Evol.* **6**, 76-93.
- Russell, C. W., Bouvaine, S., Newell, P. D. and Douglas, A. E. 2013. Shared metabolic pathways in a coevolved insect-bacterial symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* **79**, 6117-6123.
- Williams, K. P., Sobral, B. W. and Dickerman, A. W. 2007. A robust species tree for the alphaproteobacteria. *J. Bacteriol.* **189**, 4578-4586.
- Zimorski, V., Ku, C., Martin, W. F. and Gould, S. B. 2014. Endosymbiotic theory for organelle origins. *Curr. Opin. Microbiol.* **22**, 38-48.

초록 : *Mycoplasma genitalium* 보다 보존적 유전자 수가 작은 원핵생물들의 대사경로 비교

이동근*

(신라대학교 의생명과학대학 바이오산업학부 제약공학전공)

*Mycoplasma genitalium*은 367개의 보존적 유전자를 가지고 있으며 단독배양이 가능한 원핵생물 중 게놈크기가 최소이다. 본 연구에서는 *M. genitalium*과 *M. genitalium*보다 보존적 유전자 수가 적은 14개 원핵생물 즉 세포외 공생을 하는 초고온성 고세균 *Nanoarchaeum equitans*, 식물 세포 내부 기생성 진정세균 혹은 곤충 세포 내부 공생성 진정세균 13종 등의 원핵생물에 보존적인 대사경로를 검토하였다. 이들은 11~71개의 대사경로를 가졌지만 완전한 대사경로는 1~24개였다. 전체 대사경로에 필요한 효소의 45.8%가 결핍되어 대사경로 구멍(metabolic pathway hole)이 매우 많아, 숙주의 효소와 함께 공유대사경로(shared metabolic pathway)를 나타내거나 필수물질의 상당 부분이 숙주에 의존적일 것으로 사료되었다. 세포막을 통한 물질이동에 필요한 유전자의 개수도 아주 적어 단순확산 내지 숙주의 단백질이 이들의 세포막에서 물질이동의 기능을 할 것으로 사료되었다. tRNA charging 경로만이 15개의 분석 대상 원핵생물 모두에 분포하였지만, 분석 대상 원핵생물들은 각각 5~20개의 tRNA charging 유전자를 보유하고 있었다. 본 연구 결과는 배양 불가능한 식물 세포 내 기생성 그리고 곤충 세포 내 공생성 원핵생물들의 대사경로 이해에 대한 단서와 함께 농작물 피해 방지와 해충구제, 의약품 개발 등에 사용할 기초자료를 제공할 수 있을 것이다.