

식품 미생물 균총 연구를 위한 최신 마이크로바이옴 분석 기술

Recent next-generation sequencing and bioinformatic analysis methods
for food microbiome research

권준기¹ · 김선균¹ · 이주훈^{1*}

Joon-Gi Kwon¹, Seon-Kyun Kim¹, Ju-Hoon Lee^{1*}

¹경희대학교 생명과학대학 식품생명공학과

¹Department of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Biotechnology, Kyung Hee University

Abstract

Rapid development of next-generation sequencing (NGS) technology is available to study microbes in genomic level. This NGS has been widely used in DNA/RNA sequencing for genome sequencing, metagenomics, and transcriptomics. The food microbiology area could be categorized into three groups. Food microbes including probiotics and food-borne pathogens are studied in genomic level using NGS for microbial genomics. While food fermentation or food spoilage are more complicated, their genomic study needs to be done with metagenomics using NGS for compositional analysis. Furthermore, because microbial response in food environments are also important to understand their roles in food fermentation

or spoilage, pattern analysis of RNA expression in the specific food microbe is conducted using RNA-Seq. These microbial genomics, metagenomics, and transcriptomics for food fermentation and spoilage would extend our knowledge on effective utilization of fermenting bacteria for health promotion as well as efficient control of food-borne pathogens for food safety.

Keywords: microbiome, next-generation sequencing, metagenomics, genomics, bioinformatics

서론

식품에서 미생물의 중요성은 매우 크다. 미생물은 식품을 발효해서 생기는 대사산물에 의해서 인

*Corresponding author: Ju-Hoon Lee
Department of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Biotechnology
Kyung Hee University, Yongin, 17104, Korea
Tel: +82-31-201-3483
Fax: +82-31-204-8116
E-mail: juhlee@khu.ac.kr
Received August 7, 2019; revised September 16, 2019; accepted September 16, 2019



체 건강에 도움이 되는 물질을 생성하기도 하고 부패를 일으켜 고약한 냄새를 풍기며 인체에 해로운 독소를 생성하기도 한다. 과거 식품에서의 미생물 산업은 생화학적 특성에만 의존하여 미생물을 식품에 적용하였으나, 분자생물학적 기술의 발달에 따라 생화학적 특성 이외에도 유전자 수준에서의 미생물의 특성을 확인 할 수 있게 되었으며, 더 나아가 차세대 염기 서열 분석(next-generation sequencing, NGS) 기술의 발달에 따라 메타게놈(metagenome) 수준에서의 분석이 가능해지면서, 미생물 하나가 아닌 특정 환경에서 존재하는 미생물 군집, 즉 마이크로바이옴(microbiome) 분석이 가능해졌다. 이러한 마이크로바이옴 분석 기술은 다양한 연구분야에서 활용되고 있으며, 특히 식품 산업에 적용되어 발효식품의 제조나 식중독균의 제어 등에 적용되어 식품산업 발전에 이바지 하고 있으며, 식품 미생물 산업에서 메타게놈 분석 기술은 절대 없어서는 안될 기술로 변모하고 있다.

본론

1. NGS의 발달과정

NGS란 next-generation sequencing의 약자로 차세대 염기서열 분석법을 말한다. 이러한 기술의 발달과 분석 비용의 절감으로 인해 프로바이오틱스(probiotics) 균주의 기능성 검증, 식중독균 분리 및 동정 시 필요한 유전체 정보 데이터베이스 구축 등과 같은 다양한 연구 분야에서 NGS를 보편적으로 사용하고 있다. 또한 의료계 및 산업계에서도 활발하게 사용되고 있다.

차세대 염기서열 분석법(NGS) 이전에 사람의 몸을 구성하는 DNA 서열을 모두 알고자 했던 과학자들은 DNA sequencing 기술을 연구하기 시작했다. DNA sequencing이란 생화학적 방법으로 DNA 사슬을 구성하는 A, T, G, C 염기의 서열을 분석

하는 방법이다. 이러한 DNA sequencing은 1977년 영국의 생화학자 프레더릭 생어(Frederick Sanger)가 최초로 개발한 방법에서 시작되었다. 생어 염기서열 분석법(Sanger sequencing)은 가장 오래되고 널리 상용화된 염기서열 분석법이다. DNA 복제시 진행되는 DNA 중합효소(DNA polymerase) 반응을 기반으로 하며, 서열을 분석할 DNA의 단일가닥을 주형(template)으로 사용한다. 또한 DNA사슬의 연장을 특이적으로 종료시키는 물질인 ddNTPs(deoxy nucleoside triphosphates)를 사용한다. ddNTPs는 deoxyribose의 3' 위치에 수산화기(-OH)가 없고 H기로 치환되어 있어 DNA 중합효소에 의해 DNA가 복제될 때 다음 뉴클레오타이드(nucleotide)와 인산디에스테르 결합(phosphodiester bond)을 형성할 수 없어 DNA 사슬의 합성이 종료된다. 이러한 방법을 이용하여 4가지 염기 각각의 ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP로 반응을 종결시켜 염기서열을 확인할 수 있다. 따라서 사슬종결법(chain-termination method)이라 한다(Sanger 등, 1977). 생어 염기서열 분석법은 오랫동안 검증되어 기술적 신뢰도가 높고 분석 방법이 비교적 간단하다. 하지만 짧은 유전자의 염기서열을 분석할 경우 좋은 선택지가 될 수 있지만, 유전체와 같은 거대한 DNA를 분석하기에는 비용적인 문제와 시간이 오래 걸리는 단점을 가진다. 또한 사용하는 효소의 효율 문제로 얻을 수 있는 염기서열은 약 1kb 미만으로 제한적이다.

NGS는 이러한 단점을 보완하기 위하여 high-throughput sequencing이 가능하도록 개발되었다. 2004년 최초로 상용화된 454 Pyrosequencer 이후 현재까지 그 성능이 발전하고 있다. 하나의 유전체를 무수히 많은 조각으로 분해하여 각 조각을 동시에 읽어낸 뒤, 얻어 지는 데이터를 생물정보학적 기법을 이용하여 조합하고 대용량의 유전체 정보를 빠르게 해독할 수 있다. Roche가 처음으로 NGS 장비를 출시한 이후 Illumina Solexa, Applied Biosystems 등이 연이어 출시하였다. NGS 장비 출시 전에는 생

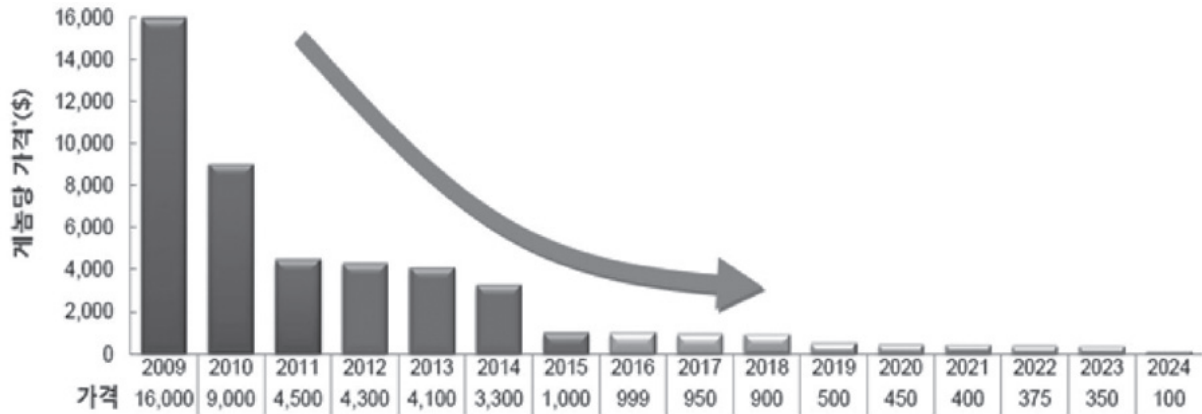


그림 1. 미국 내 NGS 서비스 시장의 개놈당 분석비용(Frost 와 Sullivan, 2006)

어 염기서열 분석법을 이용한 장비는 기껏해야 동시에 수십 개의 전기영동이 가능한 반면, NGS 장비는 수십만에서 수십억 개의 서로 다른 염기서열 분석이 가능해졌다. 또한 이러한 기술의 발달로 유전체 분석에 소요되는 시간과 비용까지 점차 절감하고 있다. 2001년 사람의 유전체 염기서열 분석 비용은 약 1억달러 정도 였으나, 2017년 기준 약 1,000달러로 비용이 감소하였다(그림1).

NGS의 많은 장비들 중에 대표적으로 454 Roche Pyrosequencing, Illumina sequencing, PacBio SMRT가 있다. 이러한 NGS 분석 장비들의 기본적인 원리는 서로 비슷하지만, 염기서열의 검출 방식 등의 차이로 각 장비마다 서로 다른 특징과 장단점을 가지고 있다. 454 Roche Pyrosequencing은 처음으로 출시된 NGS 분석 플랫폼이다. Pyrophosphate가 방출될 때 연쇄 반응에 기초한 광 검출로 염기서열을 분석한다. 하지만 현재는 더 이상 사용하지 않는 장비이며, 반응이 느리고, 염기서열의 길이는 비교적 긴편이나 분석할 수 있는 염기서열의 양이 비교적 적다는 단점을 가지고 있다(Ronaghi, 2001).

다음으로는 Illumina sequencing이 있다. Illumina sequencing은 2010년에 등장하였으며, Illumina에는 NovaSeq, NextSeq, MiSeq, HiSeq, MiniSeq, iSeq 등

여러가지 분석 장비가 있다. 분석할 유전자의 길이, 분석 후 얻는 데이터의 양 등의 다양한 조건에 따라 사용할 장비가 달라진다. 이 중에서 특히 Illumina MiSeq을 많이 사용하는데, MiSeq은 2011년에 출시하였으며 현재 가장 많이 사용하고 있는 분석법 중 하나이다. 또한 MiSeq은 메타게놈 분석에 일반적으로 많이 사용하는 분석법이다. 분석 방법은 샘플에서 total DNA를 추출하고 sequencing platform에 맞게 PCR을 이용하여 adapter를 붙여주는 작업을 한다. 이것을 library preparation이라 한다. 다음으로 flow cell에 library를 전개시켜 flow cell에 붙어 있는 oligonucleotide와 상보적인 결합을 하게 된다. 이후 DNA 분자를 증폭시켜 cluster를 만들고 sequencing을 진행하게 된다. 많은 DNA의 염기서열을 빠르게 분석할 수 있는 장점이 있으나, 단점으로는 읽을 수 있는 유전자의 길이가 약 300bp로 짧다는 것이다.

최근 Illumina로 인수합병이 결정된 것으로 알려진 Pacific Bioscience의 경우 PacBio라는 이름으로 sequencing platform을 제공하고 있다. 앞서 말한 SMRT는 single molecule real-time으로 library preparation 과정에서 만들어지는 SMRT bell이 가장 중요한 기술이라 할 수 있다. Illumina와 마찬가지로 library preparation과정에서 adapter를 붙이는

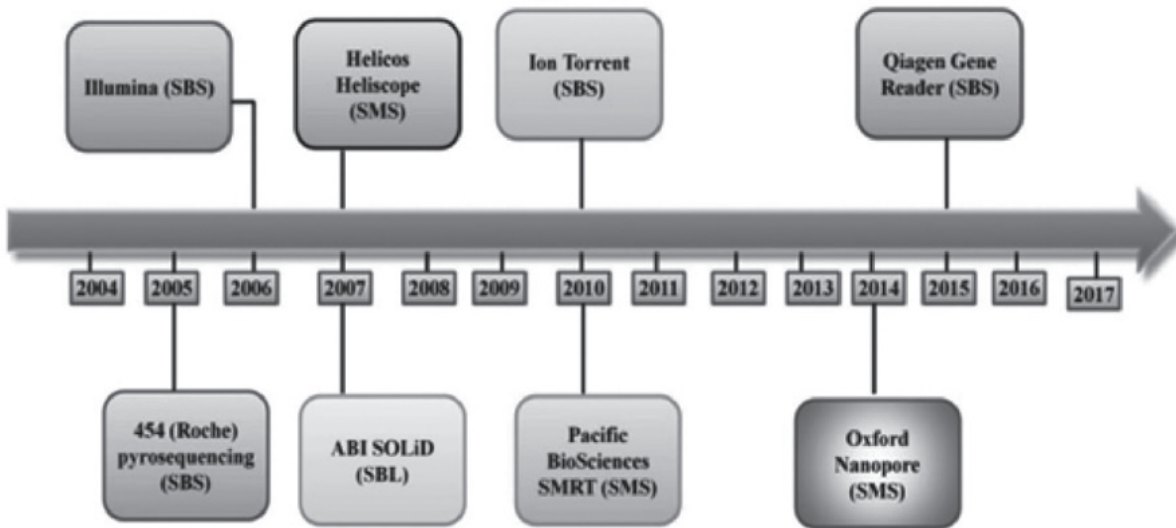


그림 2. NGS의 발달과정(Malla 등, 2019). SBS, Sequencing by Synthesis; SMS, Single Molecule Sequencing; SBL, Sequencing by Ligation

데, 이 adapter는 일종의 hairpin 구조를 가지고 있다. 이로 인해 library preparation이 끝나게 되면 마치 종(bell) 두 개가 붙은 끝 모양이 된다. 그리고 denaturation을 통해 원형의 library가 만들어지게 된다. DNA 분자가 원형이므로 효소는 동일 분자를 여러 번 sequencing할 수 있으며, 이를 통해 error rate를 낮출 수 있다. 또한 PacBio sequencing은 다른 sequencing 방법에 비해 읽을 수 있는 염기서열의 길이가 매우 길다. 길게 읽을 수 있는 만큼 얻어 지는 contig의 수가 적고, 박테리아의 유전체를 sequencing하는 경우 전체를 sequencing할 수 있다 (McCarthy, 2010). 다만 장비가격이 매우 고가이며, sequencing 비용 자체도 상대적으로 고가이다. 그리고 Illumina에 비해 yield가 다소 낮은 점이 단점이라 할 수 있다.

최근에 개발된 Nanopore 방식의 Oxford사의 Minion은 효소에 의해서 DNA의 이중나선이 single strand로 나뉘지고 이 single strand가 전자적으로 저항성이 있는 막 지나가게 된다. 이때 흐르는 전류를 측정하여 염기서열을 분석한다. DNA 염기서열

을 이루는 아데닌, 사이토신, 구아닌, 티로신은 각각 구조가 다르므로 전자적인 저항이 다르게 되므로 DNA의 염기서열이 구분되게 된다. Minion의 경우 손바닥 안에 들어가는 아주 작은 크기로 휴대성이 있다는 아주 큰 장점이 있지만 아직까지 염기서열 분석의 에러율이 높다는 단점을 가지고 있다. 하지만 이 점은 계속해서 보완을 하고 있다(Clarke 등, 2009). 이러한 NGS 기술의 발달 과정은 그림2에 정리되어 있다.

2. 메타게놈 분석 기술 및 식품산업에서의 활용

유전체의 경우 한 개체가 지닌 모든 유전 정보를 말한다. 메타게놈의 경우는 주어진 환경에서 존재하는 모든 미생물의 유전체를 말한다. 메타게놈 분석의 경우 16S rRNA를 증폭시켜서 분석하는 16S rRNA 앰플리콘 시퀀싱(16S rRNA amplicon sequencing)과 환경 샘플의 주어진 모든 유전자의 염기서열 분석을 하는 샷건 메타게놈(shotgun metagenome) 분석이 있다(그림3). 16S rRNA 앰플

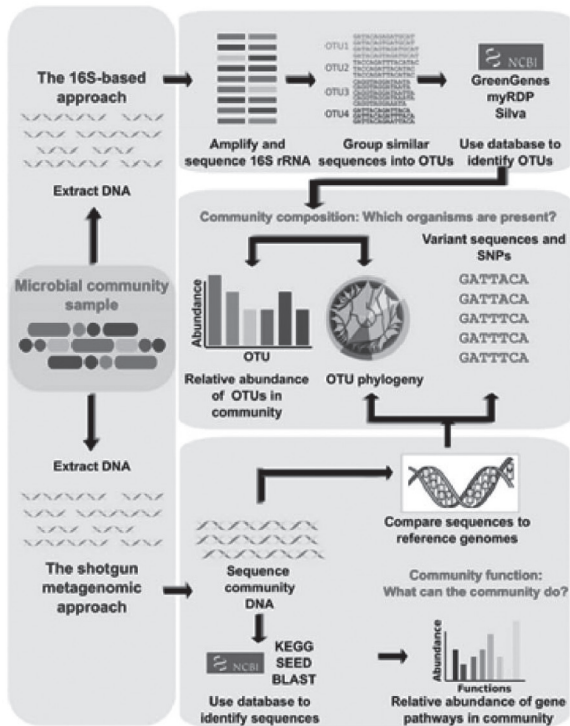


그림 3. 메타게놈 분석을 위한 생물정보학적 방법(Morgan과 Huttenhower, 2012)

리콘 시퀀싱의 경우 환경에서의 균주 조성만을 확인 가능하며 미생물 군체의 기능적인 면까지는 확인이 어렵다. 하지만 샷건 메타게놈의 경우 군체의 균주 조성은 물론 기능적인 면까지 가능하다는 장점을 가지지만 16S rRNA 앰플리콘 시퀀싱에 비해 수 많은 정보를 가지고 있기 때문에 용량이 크다는 점과 이에 분석량이 많고 비용적으로도 비싸다는 단점을 가지고 있다.

식품에서의 균주 조성을 알기 위하여 16S rRNA 앰플리콘 분석을 진행 할 시에는 먼저 식품의 전체 DNA를 추출해야한다. 하지만 식품의 경우 여러 효소나 화학물질들이 존재하고 있기 때문에 고품질의 전체 DNA를 추출하는 것이 매우 까다롭다. 또한 식품의 물성이나 특징에 따라 식품의 전체 DNA를 추출하는 방법이 달라지기 때문에 식품 별로 최적화 할 필요가 있다. 최적화된 방법으로 식품의 전체 DNA를 추출하였다면 전체 DNA에서 박테리아만이 가지고 있는 16S rRNA 부분을 증폭시킨다. 16S rRNA는 박테리아만이 가지고 있기 때문에 식품 전체 DNA에서 박테리아의 조성을 확인하기

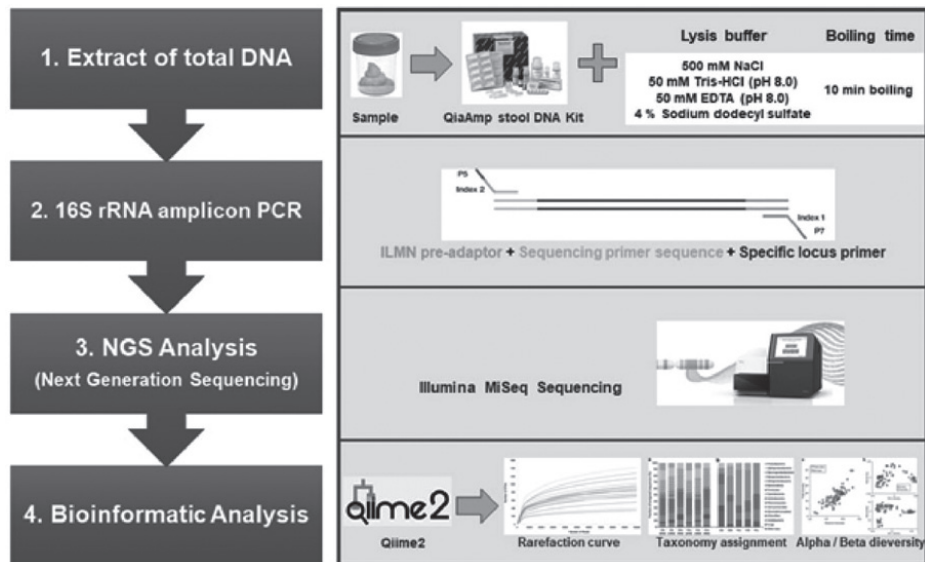


그림 4. 메타게놈 분석 방법 순서도



표 1. 메타게놈 분석 프로그램 비교 (Plummer 등, 2015)

	QIIME	mothur	MG-RAST
License	Open-source	Open-source	Open-source
Implemented in	Python	C++	Perl
Website	http://qiime.org/	http://www.mothur.org/	http://metagenomics.anl.gov
Primary usage	Command line	Command line	GUI(at website above)
Amplicon analysis	YES	YES	YES
Whole metagenome shotgun analysis	YES-experimental only	NO	YES
Sequencing technology compatibility	Illumina, 454, Sanger, Ion Torrent, PacBio	Illumina, 454, Sanger, Ion Torrent, PacBio	Illumina, 454, Sanger, Ion Torrent, PacBio
Quality control	YES	YES	YES
16S rRNA gene Databases searched	RDP, SILVA, Greengenes and custom database	RDP, SILVA, Greengenes and custom database	M5RNA, RDP, SILVA and Greengenes
Alignment Method	PyNAST, MUSCLE, INFERNAL	Needleman-Wunsch, blastn, goth	BLAT
Taxonomic analysis/assignment	UCLUST, RDP, BLAST, mother	Wang/RDP approach	BLAT
Clustering algorithm	UCLUST, CD-HIT, mother, BLAST	mother, asapts DOTUR and CD-HIT	UCLUST
Diversity analysis	alpha and beta	alpha and beta	alpha
Chimera detection	UCHIME, chimera slayer, BLAST	UCHIME, chimera slayer, and more	NO
Visualization	PCA plots, OUT networks, bar plots, heat map	Dendrograms, heat maps, Venn diagrams, bar plots, PCA plots	PCA plots, heat maps, pie charts, bar plots, krona and circus for visualization
User Support	Forum, tutorials, FAQs, help video	Forum, SOPs, FAQs, user manual	Video tutorials, FAQs, user manual, 'How to' section on website

에 아주 좋은 유전자이다. 일반적으로 메타게놈 분석은 Illumina sequencing을 많이 이용한다. 하지만 Illumina sequencing의 경우 한 번에 최대 300bp 까지만 염기서열 분석이 가능하기때문에 1.5kb나 되는 16S rRNA의 전체 염기서열을 분석하기에는 어려움이 있다. 16S rRNA의 경우는 9개의 hypervariable regions이 위치하고 있는데 이는 genus 또는 species 정도의 수준에서 다른 염기서열을 가진다. 이와 같은 특징을 이용하여 hypervariable regions의 염기서열을 NGS를 활용하여 분석한 후 생물정보학 프로

그램을 기반으로 SILVA, GreenGees, EzBioCloud와 같은 16S rRNA 데이터베이스와 비교분석을 통하여 미생물 군체의 조성 분석이 가능해진다(그림4).

이러한 분석은 많은 정보량으로 인해 컴퓨터를 기반으로 하는 생물정보학 프로그램을 이용하여 분석을 하게 된다. 메타게놈 분석의 경우 주로 Qiime, Mothur와 같은 command line을 기반으로 하는 분석 파이프라인 프로그램과 컴퓨터를 잘 이용하지 못하는 생명공학자를 위한 GUI (graphic user interface) 기반의 MG-RAST 프로그램이 있다. MG-RAST

의 경우는 웹에 분석된 염기서열 파일을 업로드하기만 하면 자동으로 분석되고 컴퓨터의 성능이 좋지 않아도 분석이 된다는 장점이 있다. 하지만 parameter 설정의 제한과 대기자가 있을 시에 시간이 오래 걸리는 단점을 가진다. 하지만 Qiime, Mothur와 같은 프로그램은 컴퓨터의 성능이 좋아야 하고, command line이 어색한 사용자에게 프로그램 사용이 어려울 수 있지만 익히두면 원하는 방향으로 쉽게 분석이 가능하다. 더 자세한 프로그램의 비교 분석은 표 1에 명시되어 있다.

이와 같은 메타게놈 기술은 식품산업에서 매우 유용하게 활용될 수 있다. 위에서 얘기한 바와 같이 식품안전을 위한 식품에서 식중독균의 관리는 매우 중요한데 식품의 생산, 가공, 유통 단계마다 샘플을 채취하여 메타게놈 분석 기술을 활용하여 식품 내의 미생물 조성을 확인함으로써 식중독균이 식품 내에 어느 정도의 비율로 존재함을 파악하게 된다면, 식중독 사고를 미리 예방할 수 있다. 또한 발효 식품에서도 메타게놈 분석기술이 활용될 수 있다. 예로 미국 UC Davis의 Dr. David A. Mills 연구팀은 메타게놈 분석 기술을 통해 지역별, 기후별 포도의 마이크로바이옴이 다른 것을 확인 하였고, 발효 후 와인의 마이크로바이옴 및 대사산물과의 상관관계를 머신러닝(machine learning) 기반의 회귀모델을 활용하여 확인함으로써 와인 발효 전 포도의 마이크로바이옴 확인을 통하여 최종적으로 와인의 품질을 예측할 수 있었다(Bokulich 등, 2016).

3. 식품 미생물 유전체

NGS기술의 발달에 따라 개별 유전 정보인 유전자만을 연구하던 시대에서 한 개체가 지닌 모든 유전정보 전체인 유전체를 연구하는 시대로의 변화에 따라 식품 미생물 산업에서도 미생물 유전체 연구에 비중이 쏠리고 있다. 식중독 사고 원인 조사의 경우 기존의 방법은 식중독균의 생화학적인 특

성을 활용하여, 선택배지를 이용하여 균주를 동정하여 식중독 사고의 원인을 확인하는 방법을 활용하였으나 이와 같은 방법의 경우 시간이 오래 걸리고 노동집약적이며, 배양이 어렵거나 불가능한 균이 존재하여 식중독 사고 원인 확인이 어렵다. 2018년 식중독 사고의 경우 전체 식중독 사고의 약 36%는 세균이 원인으로 알려져 있다. 하지만 거의 같은 비율인 약 36%로 원인 물질 불명으로 확인된다(식품의약품안전처, 2019).

이러한 단점을 미생물 유전체 기술을 활용한다면 보완이 가능하다. 수 많은 식중독균의 유전체 정보를 확보하여 DB가 구축되어 있다면, 식중독 사고 발생 시 동정을 위한 배양 과정 없이 식중독 균의 DNA를 추출하여 NGS를 통하여 염기서열을 분석을 하게 된다면 신속하고 정확하게 식중독균의 동정이 가능하다. 실 예로 미국의 경우 식품안전현대화법(Food Safety Modernization Act, FSMA) 법규의 개정과 안전한 식품을 제공하기 위한 법률 강화 작업을 통하여 실제 식중독균의 규명 방법으로 유전체학적 수준의 안전 평가법을 제시하고 있으며, 2012년 7월부터 UC Davis 대학을 중심으로 미국 FDA, 식품안전응용영양국, Agilent Technologies로 구성된 “100K Pathogen Genome Project”를 진행하고 있다. 이는 10만 건의 식중독균 유전체 정보의 축적을 목표로 하며 다양한 식중독 유발 균체 및 바이러스의 유전체 정보를 획득하여 데이터베이스를 구축하고 이를 분석할 수 있는 기반을 만들려는 대규모 프로젝트이다(Weimer, 2017). 또한 FDA와 CDC가 함께 출범시킨 “GenomeTrakr”는 병원성대장균, 캄필로박터, 비브리오 등 다양한 식중독균의 유전체 정보를 분석하는 연구를 진행하고 있으며, 축적된 정보를 바탕으로 식품의 안전성 확보를 위한 활용방안을 고려하고 있다(Timme 등, 2018). 국내의 경우 식품의약품안전처 식중독균유전체연구사업단(FORC, Food-borne pathogen Omics Research Center)은 국민 건강에 악영향을 미

치는 식중독 피해를 줄이고, 예방하기 위해 2014년 3월 출범하여 식중독 다발성 식품 유래 식중독균의 유전체 정보 DB축적과 축적된 유전체 정보를 바탕으로 유해 미생물들에 의한 지속적인 국내 식중독 발생에 신속 대처 및 예방이 가능하도록 하였다.

미생물의 유전체 분석 기술 활용은 식중독균외에 발효식품 속의 미생물이나 발효 유제품 속의 미생물의 안전성 검사에도 사용된다. 인체에 도움이 되는 미생물을 프로바이오틱스(probiotics)라 일컫는데 프로바이오틱스는 몸에 유익하다고 널리 알려져 있지만 간혹 부작용을 일으키기도 하기 때문에 안전성 검사가 필수적이다. 프로바이오틱스의 유전체 정보가 확보되어 있을 시에 균주의 안전성은 어느정도 예측이 가능하다. NGS 염기서열 분석을 통해 얻은 염기서열 정보를 활용하여 Virulence Factor DB (VFDB)를 통한 병원성 인자 유무 확인과 Antibiotic Resistance DB (ARDB)를 통한 항생제 내성 유전자의 유무를 확인하여 유전자 단계에서 안전성 평가가 가능하다. 또한 분석된 유전체 염기서열을 바탕으로 기존에 분석된 정보와 비교분석을 통하여 기능성을 예측할 수 있으며, 균주의 대사과정 또한 예측하여 산업적으로 활용 시 대량생산이 가능하다.

4. 식품 미생물 전사체

Metatranscriptome은 특정 환경에서 미생물들의 유전자 발현을 연구함으로써 복잡한 미생물 군집의 전체 유전자 발현 프로파일링을 얻을 수 있다. 메타게놈은 미생물 구성과 군체의 기능은 파악이 가능하지만 실제로 발현 유무에 대한 파악이 어렵다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 metatranscriptome 연구를 통하여 특정 환경에 존재하는 미생물 군체의 실질적인 발현 수준을 정량화하고 수준이 서로 다른 조건에서 어떻게 변경되는지를 모니터링하는 등 특정 환경 내에서 활성 유전자의 다양성을

연구하는데 사용할 수 있다. 이것의 장점은 미생물 군집의 활성 기능의 차이에 관한 정보를 제공할 수 있다는 것이다. 실제로 미국 시애틀 Institute for Systems Biology 소속의 Sean M. Gibbons 연구팀에 발표에 따르면 쥐에게 항생제 처리 이후 분변의 메타게놈 분석 결과 약 30% 쥐에서 항생제 처리 전과 장내균총의 조성은 크게 달라진 바가 없지만, metatranscriptome 분석 결과 항생제 내성에 대한 기능을 하는 유전자들이 많이 발현 되는 것을 확인했다(Diener 등, 2019).

오늘날 전사체를 분석함에 있어서도 NGS 분석기술은 매우 필수적이며, 전사체 분석을 위해서 RNA-Seq방법을 활용하고 있다. RNA-Seq은 whole transcriptome shotgun sequencing (WTSS)라고도 불리며 NGS를 이용한 방법으로 발현되는 모든 RNA의 존재와 양을 분석할 수 있는 방법이다(Wang 등, 2009). RNA-Seq 이전에는 하이브리드화 기반의 microarray를 이용하여 유전자 발현 연구를 수행하였다. Microarray는 여러 개의 유전자 발현을 동시에 분석하거나 낮은 농도로 발현된 유전자의 정량화가 어렵다는 등의 단점들이 있다. 하지만 NGS의 발달로 RNA-Seq을 통해 대량의 분석이 가능해졌다.

결론

차세대 염기서열 분석 기술(NGS)의 급속한 발전에 따라 미생물의 유전자 단계에서의 연구가 가능해지고 현재 NGS는 유전체학, 메타게놈학, 전사체학에서 광범위하게 사용되고 있다. 식품 미생물의 NGS분석 활용은 크게 3가지 그룹으로 나뉜다. 프로바이오틱스와 식중독균과 같은 단일 균주의 유전체 연구, 식품 발효 또는 부패 동안의 균주 조성 분석을 위한 메타게놈 연구, 마지막으로 식품환경에서의 미생물의 발효 또는 부패 기간의 특정 미생물의 반응을 확인하기 위하여 RNA-seq 기술을 기

반으로 RNA 발현량 비교 패턴 분석이 있다. 이러한 유전체학, 메타게놈학, 전사체학에서의 NGS 분석 기술은 효과적인 식중독균 조절뿐만 아니라 건강 증진을 위한 발효 식품 미생물의 효과적인 이용에도 널리 이용될 것이다.

참고문헌

- Bokulich NA, Collins TS, Masarweh C, Allen G, Heymann H, Ebel-er SE, Mills DA. Associations among wine grape microbiome, metabolome, and fermentation behavior suggest microbial contribution to regional wine characteristics. *mBio* 7: e00631-16 (2016)
- Clarke J, Wu HC, Jayasinghe L, Patel A, Reid S, Bayley H. Continuous base identification for single-molecule nanopore DNA sequencing. *Nat. Nanotechnol.* 4: 265-270 (2009)
- Diener C, Hoge AC, Kearney SM, Edman SE, Gibbons SM. Non-responder phenotype reveals microbiome-wide antibiotic resistance in the murine gut. *bioRxiv*. doi: <https://doi.org/10.1101/566190> (2019)
- Frost&Sullivan. US Next-generation Sequencing Services Market. (2006)
- Malla MA, Dubey A, Kumar A, Yadav S, Hashem A, Abd_Allah EF. Exploring the human microbiome: The potential future role of next-generation sequencing in disease diagnosis and treatment. *Front. Immunol.* 9: 2868 (2019)
- McCarthy A. Third generation DNA sequencing: pacific biosciences' single molecule real time technology. *Chem. Biol.* 17: 675-676 (2010)
- Morgan XC, Huttenhower C. Human microbiome analysis. *PLoS Comp. Biol.* 8: e1002808 (2012)
- Plummer E, Twin J, Bulach DM, Garland SM, Tabrizi SN. A comparison of three bioinformatics pipelines for the analysis of preterm gut microbiota using 16S rRNA gene sequencing data. *J. Proteomics Bioinform.* 8: 283 (2015)
- Ronaghi M. Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. *Genome Res.* 11: 3-11 (2001)
- Sanger F, Nicklen S, Coulson. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Acad. Sci. USA* 74: 5463-5467 (1977)
- Timme RE, Rand H, Leon MS, Hoffmann M, Strain E, Allard M, Roberson D, Baugher JD. GenomeTrakr proficiency testing for foodborne pathogen surveillance: an exercise from 2015. *Microb. Genom.* 4 (2018)
- Wang Z, Gerstein M, Snyder M. 2009. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat. Rev. Genet.* 10: 57 (2009)
- Weimer BC. 100K Pathogen genome project. *Genome Announc.* 5:e00594-17 (2017)
- 식품의약품안전처. 식중독 통계 자료 Available from: https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=3724&menu_grp=MENU_NEW02. Assesed Jul. 31, 2019.