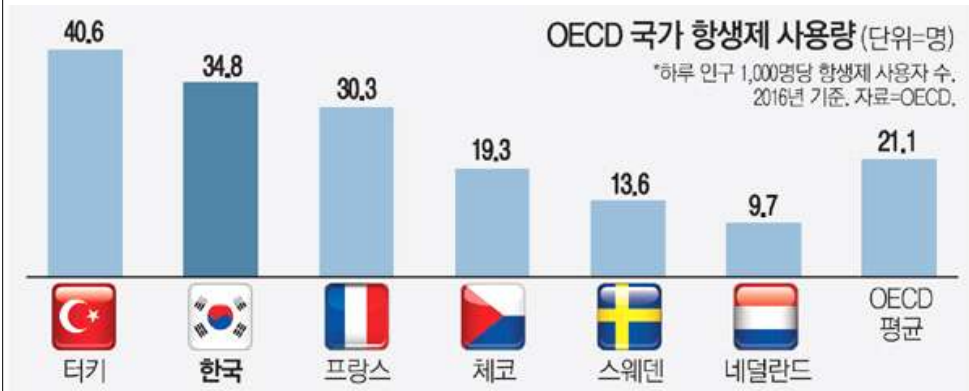


연구과제명	빅데이터 기반의 첨단 염기서열 분석기술을 활용한 부산시 도시 하수처리시설 항생제 내성 유전자 및 박테리아 조사 연구		
연구기간	2020년 4월 ~ 2020년 12월(9개월)		
연구비	30,000천원		
과제분류	연구분야 및 세부연구분야		
	하폐수 처리	상수도 및 정수	수질관리
<input type="checkbox"/> 환경정책 <input checked="" type="checkbox"/> 조사연구 <input type="checkbox"/> 현안기술개발 <input type="checkbox"/> 산학협력연구	<input type="checkbox"/> 물리·화학적 처리 <input type="checkbox"/> 생물학적 처리 <input type="checkbox"/> 막처리 및 재이용 <input type="checkbox"/> 하수처리 시스템 <input type="checkbox"/> 질소 및 인 제거 <input type="checkbox"/> 하폐수 처리 기타 <input type="checkbox"/> 축산폐수 처리	<input type="checkbox"/> 막분리 <input type="checkbox"/> 정수처리 및 수질관리 <input type="checkbox"/> 고도정수처리 <input type="checkbox"/> 상수관망	<input type="checkbox"/> 수질오염 <input type="checkbox"/> 수질모델 <input checked="" type="checkbox"/> 수질관리기타
	자연환경분야	폐기물관리	대기관리
	<input type="checkbox"/> 환경정책 <input type="checkbox"/> 생활환경 <input type="checkbox"/> 건강위해성 <input type="checkbox"/> 생태관리 <input type="checkbox"/> 환경오염사고대비 <input type="checkbox"/> 소음관리 <input type="checkbox"/> 청정기술개발	<input type="checkbox"/> 매립 및 침출수 처리 <input type="checkbox"/> 슬러지 처리 <input type="checkbox"/> 소각 및 열분해 <input type="checkbox"/> 재활용 및 자원화 <input type="checkbox"/> 음식물 쓰레기 처리 <input type="checkbox"/> 폐기물 관리 기타	<input type="checkbox"/> 대기오염측정 및 관리 <input type="checkbox"/> 대기오염모델링,위해도 <input type="checkbox"/> 대기오염 처리기술 <input type="checkbox"/> VOCs 및 악취 처리
	토양지하수오염	기타환경분야	기후변화대응분야
	<input type="checkbox"/> 오염토양처리관리 <input type="checkbox"/> 폐광토양오염,지하수처리 <input type="checkbox"/> 지하수 환경관리	<input type="checkbox"/> 기타	<input type="checkbox"/> 온실가스배출량산정 <input type="checkbox"/> 온실가스배출량감축연구 <input type="checkbox"/> 배출권거래 <input type="checkbox"/> 기타
연구의 목적 및 필요성	<p>○ 연구의 배경 및 필요성</p> <p>-WHO (World Health Organization)와 UNEP (United Nations Environment Programme)에서 항생제 내성이 인류의 생존과 환경 유해성을 위협하는 전 세계적인 문제임을 지속적으로 보고하고 있음 (WHO, 2017; UNEP, 2018)</p> <p>-우리나라는 항생제의 사용 빈도가 세계에서 가장 높은 국가 중 하나이며, 현재 OECD 가입국 중 다제 내성의 병원성 세균 (소위 슈퍼박테리아)의 출현 가능성이 높은 국가로 분류 되어 있음</p> <p>-하지만, 현재 국내외적으로 주요 환경매체 내 항생제 내성 유전자와 박테리아가 얼마나 다양하게 분포하고 있는지에 대한 정보는 매우 미비한 상태임</p>		

연구의 목적 및
필요성
(계속)



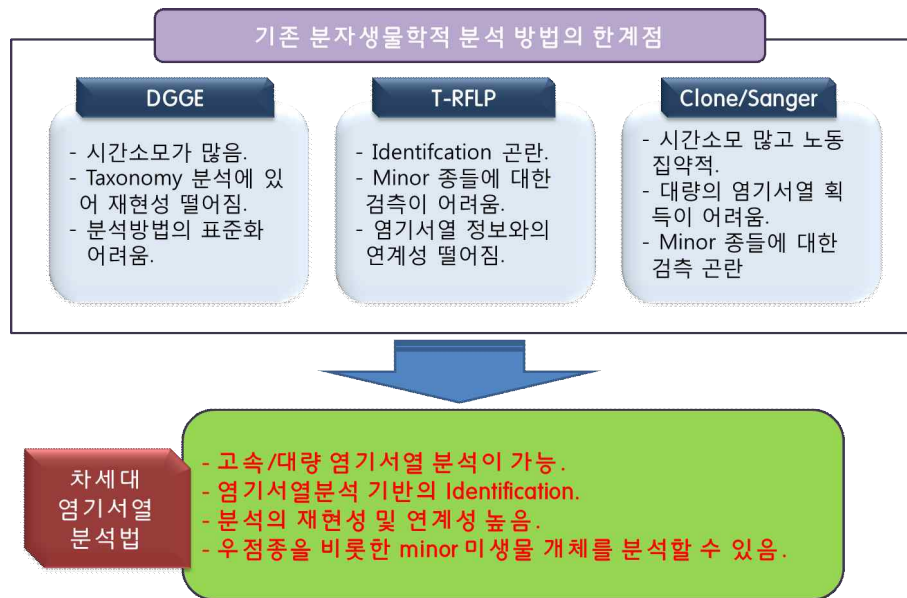
- 특히, 다른 환경매체와 달리 하수환경은 항생제 내성 유전자 및 박테리아의 다양성이 비교적 높고, 하수처리시설은 아래 그림과 같이 다양한 항생제 내성 유전자와 박테리아 유입되고 증식될 수 있는 hotspot으로 여겨지고 있음 (Guo et al., 2017)
- 항생제 내성은 하수처리시설 내 혐기조 소화 및 염소소독, UV 처리 등과 같은 극한 환경조건에서도 완전히 제거가 되지 않고, 유출수를 통해 타환경매체로 퍼져 나가고 있는 것으로 최근의 연구결과들에서 밝혀지고 있음 (Karkman et al., 2017; Mania et al., 2018)



- 환경부에서는 2015년부터 환경 중 항생제 내성 관리 방안을 마련하기 위해 지속적으로 환경 중 항생제 내성 관련 연구과제를 지원하고 있음
- 하지만, 현재까지 KISTEP(한국과학기술기획평가원)에서 관리하고 있는 NTIS 시스템의 국가연구과제 현황을 살펴보면, 하수처리시설과 같은 hotspot에서 항생제 내성이 얼마나 퍼져 있고, 어떤 항생제 내성 유전자와 박테리아가 있는지 현황을 조사한 연구는 미비한 상황임

연구의 목적 및
필요성
(계속)

- 특히, 부산의 경우 해안도시이기 때문에 하수처리시설의 유출수에 포함되어 있는 항생제 내성 유전자와 박테리아가 강하구와 퇴적지, 부산 연안 해안으로 매우 쉽게 유입될 수 있고 해양환경까지 급속히 확산될 수 있어 피해의 범위와 위해성이 상당히 높음
- 하지만, 부산에서는 하수처리시설 환경 내 항생제 오염에 대한 체계적인 조사 및 검측 연구가 매우 소수의 연구만 수행되어, 부산시민과 수환경이 직·간접적으로 항생제 내성에 무방비로 노출되어 있음
- 기존의 선행 연구들에서는 배양방법을 사용하여 수환경 내 항생제 내성 미생물과 유전자들을 검측하였다. 그러나 현존하는 배양방법으로는 환경 내 존재하는 전체 미생물의 약 5% 정도만을 검측할 수 있으며 (Yoo et al., 2017), 지금까지 항생제 내성 분석에 사용된 Polymerase Chain Reaction (PCR) 기반의 분자생물학적 방법들은 대량의 유전자 정보 획득할 수 없고, 하수처리시설과 같은 수환경 내 항생제 내성 물질과 유전자를 검측하고 미생물군집 차원의 총체적인 분포와 조성을 파악하는데 기술적으로 한계점이 있음 (Yoo et al., 2017)



- 하지만, 빅데이터 기반으로 대용량의 미생물군집 유전체 전체를 분석하는 shotgun metagenomic sequencing 방법은 기존 분자생물학적 방법의 제한성을 극복할 수 있으며, 항생제 내성 유전자와 박테리아를 검측하고 스크리닝 할 수 있어 국내 하천 및 하수처리시설과 같은 다양한 수환경 내 항생제 내성 오염 현황을 파악하는데 적절함
- 기존 선행연구들은 방법상의 한계뿐만 아니라, 도시 하수처리시설에 대한 항생제 내성 현황과 실태를 파악하기 위한 정보를 제공하고 있지 않기 때문에, 도시 하수처리시설 내 항생제 내성과 관련된 환경 현안과 문제점을 파악하는데 상당한 제한점이 있음

연구의 목적 및
필요성
(계속)

-따라서, 부산시 도심 하수처리시설의 항생제 내성 위해성을 평가하고 원인 규명을 정확하게 하기 위해서는 검출 방법의 선진화와 더불어서, 현재 어떤 종류의 항생제 내성 박테리아와 유전자가 얼마나 부산시 하수처리시설에 분포되어 있는지 실태를 조사할 수 있는 연구가 필요함

○ 연구의 목적

- 본 연구에서는 빅데이터 기반의 Shotgun Metagenomics 기술을 활용하여 부산 도시 하수처리시설 내 항생제 내성 유전자 및 박테리아의 분포와 항생제 오염 실태를 신속하고 정확하게 파악하고,
- 조사된 항생제 내성 유전자와 박테리아 빅데이터는 부산시 도시 하수처리시설 항생제 내성 DB로 list화 하고자 함

○ 국내외 선행연구 및 기술 동향

(1) 국외수준

- 현재 미국, 유럽 등과 같은 선진국을 비롯하여 중국에서는 도시 하수처리시설의 항생제 내성 오염을 심각하게 받아들여, 이미 주요 도시 하수처리시설에 대한 전수조사를 실시하고 있음
- 최근의 해외 연구사례를 살펴보면, 빅데이터 기반의 대용량 염기서열 분석방법을 활용하여 하수처리시설, 하천, 강하구 등에서 항생제 내성 유전자와 박테리아를 검출하고 특성을 파악하고 데이터들을 지속적으로 추적하고 있음
- 미국과 캐나다, 중국 등에서는 주요 항생제 내성 유전자와 항생제 내성을 전달하는 유전정보들 중 이미 일부 정보는 DB화 하였고, 이를 통합하고 시스템화 하기 위한 노력을 하고 있음

(2) 국내수준

- 기존의 전통적인 분자생물학적 방법 위주로 환경 매체별로 항생제 내성 유전자를 조사하고 파악하고 있으며, 빅데이터 기반의 대용량 염기서열 정보를 바탕으로 항생제 내성 유전자와 박테리아, 항생제 내성 전이 염색체 등을 파악하기 위한 연구는 최근에 들어서 소수의 연구진에 의해서 연구가 수행됨
- 현재 국내에서 수행되고 있는 항생제 내성 유전자 및 박테리아 검출 연구는 모두 PCR 기반의 분자생물학적 방법으로만 수행하고 있어, 항생제 내성 오염에 대한 전수조사가 불가능 하며 정확한 현황과 실태 정보를 파악하는데 한계가 있음
- 현재 국내에서는 고속/대량 염기서열 분석 방법을 활용한 미생물 군집 분석은 세계적 수준에 근접해 있으나, 다량의 바이오 빅데이터에서 항생제 내성 유전자와 박테리아의 co-occurrence pattern이나 연관관계를 파악하는데 필요한 ET/BT/IT 융합기술은 해외에 비해 초기단계 임

주요 연구내용

○ 연구의 목표

- 하수처리시설의 유입수와 반응조, 유출수에서 항생제 내성 유전자와 박테리아의 분포와 조성의 변화 및 추세 파악
- Data mining을 이용한 하수처리시설 내 항생제 내성 유전자와 박테리아의 상호관계 파악
- 부산 주요 도시 하수처리시설별 주요 항생제 내성 오염물질 및 유전자 빅데이터 정보 list 화

○ 연구의 추진 전략 및 방법

(1) 연구의 추진전략

- 본 연구의 연구목표를 달성하기 위해서 해당 연구분야의 전문가들을 참여시키고 지속적으로 자문을 받는 추진전략을 사용할 계획 임
- 한국해양대학교 유근제 교수는 국내 항생제 내성 분야 전문가 (연세대학교 박준홍 교수, 고려대학교 김성표 교수, 중앙대학교 설우준 교수 등) 뿐만 아니라, 현재 미생물 생태학의 세계적인 권위자인 미국 Michigan State University의 James M. Tiedje 교수를 비롯하여, 하수처리 전문가인 미국 Columbia University의 Kartik Chandran 교수, 항생제 내성 전문가인 미국 Columbia University Medical Center의 Ian Lipkin 교수와 국제 네트워크를 형성하고 있으며, 함께 공동연구를 지속적으로 수행하고 있기 때문에 본 연구에서 도출된 결과에 대해 전문적인 자문을 받고 토론을 할 계획임
- 또한, 본 연구의 질을 향상시키고 활용성을 증대하기 위해 산·학·연·관의 담당자 및 전문가들도 포함하여 자문단을 구성하고, 자문회의를 개최할 계획임

(2) 연구방법

- 본 연구를 위해 부산시 주요 도시 하수처리시설에서 약 1년 동안 주기적 (한달에 1-2회, 계절별 샘플링 포함)으로 샘플링을 실시하여 지속적인 모니터링을 수행할 계획임
- 항생제 내성 유전자 및 박테리아의 전수조사를 위해 빅데이터 기반의 첨단 염기서열 기법인 Shotgun sequencing 방법을 활용할 것이며, 최근 빅데이터와 함께 각광 받고 있는 기술인 첨단 생물정보학(Bioinformatics) 방법을 활용하여 종합적인 항생제 내성 정보를 분석하고 신뢰성 높은 정보를 제공할 계획임
- 특히, 국제적으로 공신력이 높은 항생제 내성 유전자 DB인 CARD(<https://card.mcmaster.ca/>)와 ARDB(<https://ardb.cbcb.umd.edu/>)를 활용하여 항생제 내성물질과 유전자를 스크리닝하고 분석할 계획임
- 항생제 내성 박테리아는 세계적으로 널리 사용하고 있는 DB인 NCBI 기반 RefSeq(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>)를 이용하여 검출하고 분석할 계획임

주요 연구내용
(계속)

- 현재 미생물생태 및 환경공학 연구분야에서 가장 과학적이라고 여겨지는 환경정보공학 기술 (환경통계학, 데이터 마이닝 등)을 활용해서 정보공학과 통계학적으로 유의하다고 판단되는 항생제 내성 유전자와 박테리아만을 관심 대상으로 선정하고 DB화를 위한 list up을 진행할 계획임

○ 주요 연구 내용

(1) 하수처리시설의 유입수와 반응조, 유출수에서 항생제 내성 유전자와 박테리아의 분포와 조성의 변화 및 추세 파악

- 시간별, 계절별 하수처리시설 공정에 따른 항생제 내성 유전자 및 박테리아 검출
- 기존 선행연구 대비 부산시 도시 하수처리시설 내 항생제 내성 유전자 및 박테리아 분포 차이 및 유사성 비교 · 분석
- 항생제 내성 유전자 DB간 검출 결과의 유사성과 차이 유무를 파악하고 통계적 유의검정 실시
- 부산시에서 사용하고 있는 주요 항생제 내성물질 정보를 관계기관의 협조를 통해 확보하여 부산시 도시 하수처리시설에서 주로 검출되는 항생제 내성물질 및 유전자와 상관관계 분석 실시

(2) Data mining을 이용한 하수처리시설 내 항생제 내성 유전자와 박테리아의 상호연관관계 파악

- 시간별, 계절별로 구분하여 항생제 내성 유전자와 박테리아를 활용하여 spearman 상관계수 기반의 correlation coefficient 분석
- 도출된 correlation coefficient 중 상관계수가 0.7 이상인 항생제 내성 유전자와 박테리아를 추출하고, 추출된 변수들 중 통계적으로 유의한 변수만 최종적으로 추출
- 최종적으로 추출된 항생제 내성 유전자와 박테리아의 co-occurrence pattern이나 연관관계를 파악하기 위해 Network 분석 실시
- 시간별, 계절별로 Network 분석을 각각 실시 후, 결과 검토 및 해석
- 분석된 Network 결과와 선행연구사례를 비교 · 검토하여 본 연구결과에서 도출된 새로운 결과와 기존 결과와의 유사성 및 차이점 분석

(3) 부산 주요 도시 하수처리시설별 주요 항생제 내성 오염물질 및 유전자 빅데이터 정보 list 화

- 기존의 통계방법론적 유의성과 빅데이터 기반의 데이터 마이닝 결과를 모두 만족하는 결과만을 추출
- 추출된 결과와 국내 선행연구사례를 비교하여 부산시 도시 하수처리시설에 특화된 항생제 내성 유전자를 관심 대상 후보로 선정
- 도출된 항생제 내성물질 및 유전자 관련 list를 향후 DB화 하기 위해 필요한 사항 검토 및 선진 해외사례 조사

<div>주요 연구내용 (계속)</div>	<div>○ 연구결과의 기대효과 및 파급효과</div> <div> <div>-고속/대량의 빅데이터 기반 염기서열 분석 기술을 활용해서 환경공학 적·생물학적 이해를 넓히고, 부산시가 국내 지자체 중 항생제 내성에 대한 정보를 신속하게 구축하고 관리할 수 있는 기반과 체계를 선제적 으로 마련할 수 있음</div> <div>-본 연구결과는 추후에 부산시 하수처리시설의 위해성 진단을 위한 지속 적인 모니터링과 항생제 내성 관리방안에 활용될 수 있는 정책을 마련 하는데 필요한 과학적인 정보를 제공할 수 있음</div> <div>-본 연구에서 사용되는 방법과 결과는 향후 부산시 도시 하수처리시 설을 개보수하고, 설계 및 운영할 시 항생제 내성을 컨트롤 할 수 있는 과학기술을 개발하는데 기여할 수 있을 뿐만 아니라, 토양/지 하수, 대기, 하천, 해양환경 등에서 항생제 내성 오염여부를 조사하 고 판단하는데 필요한 기술과 배경정보를 제공할 수 있음</div> <div>-본 연구에서 도출된 연구결과는 현재 4차 산업혁명과 함께 각광받 고 있는 바이오 분야 및 생명공학기술과 융합하여 폭넓게 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 넓고 다양한 고부가가치 BT/ET/IT 산업분야 에서 시장 및 일자리 창출의 기회를 높일 수 있을 것으로 기대됨</div> </div>																				
<div>연구성과 활용방안</div>	<div>○ 연구 성과 지표 및 목표</div> <table border="1"> <tr> <th>성과 지표</th><th>성과 목표(정량적 기재)</th></tr> <tr> <td>부산 도시 하수처리시설 항생제 내성 유전자 및 박테리아 list 화</td><td>1</td></tr> <tr> <td>학술대회 발표</td><td>2</td></tr> <tr> <td>등재지 이상 논문 게재</td><td>2</td></tr> </table> <div>○ 연구 성과 활용내용(계획)</div> <table border="1"> <tr> <th>활용내용(계획)</th><th>활용기관</th><th>활용가능 기간/대상</th></tr> <tr> <td>· 향후, 부산시 상하수도 항생제 내성 모니터링 방법으 로 빅데이터 기반의 염기서열 분석 방법을 활용 · 항생제 내성 오염 현황 및 실태 파악과 정책자료 마 련 근거로 활용</td><td>부산 환경공단 부산시</td><td>담당자</td></tr> <tr> <td>· 향후, 국가 항생제 내성 오염 현황 파악하고 전국 전 수조사의 필요성을 도출하기 위한 근거자료로 활용 · 국내 주요 도시 하수처리시설의 항생제 내성으로 인 한 환경보건학적 위해성 정책 마련 기초자료로 활용 · 국가적으로 항생제 내성 오염 관련 정보의 DB화 및 시스템화 작업에 활용</td><td>환경부</td><td>담당자</td></tr> <tr> <td>· 항생제 내성 오염 제거 및 저감 처리 기술 개발의 기 초자료로 활용이 가능하고 향후 사업화 및 특허출 원·등록 · 항생제 내성 오염 제거 기술개발 연구 활성화</td><td>부산 환경공단 기업체 국가연구소</td><td>담당자</td></tr> </table>	성과 지표	성과 목표(정량적 기재)	부산 도시 하수처리시설 항생제 내성 유전자 및 박테리아 list 화	1	학술대회 발표	2	등재지 이상 논문 게재	2	활용내용(계획)	활용기관	활용가능 기간/대상	· 향후, 부산시 상하수도 항생제 내성 모니터링 방법으 로 빅데이터 기반의 염기서열 분석 방법을 활용 · 항생제 내성 오염 현황 및 실태 파악과 정책자료 마 련 근거로 활용	부산 환경공단 부산시	담당자	· 향후, 국가 항생제 내성 오염 현황 파악하고 전국 전 수조사의 필요성을 도출하기 위한 근거자료로 활용 · 국내 주요 도시 하수처리시설의 항생제 내성으로 인 한 환경보건학적 위해성 정책 마련 기초자료로 활용 · 국가적으로 항생제 내성 오염 관련 정보의 DB화 및 시스템화 작업에 활용	환경부	담당자	· 항생제 내성 오염 제거 및 저감 처리 기술 개발의 기 초자료로 활용이 가능하고 향후 사업화 및 특허출 원·등록 · 항생제 내성 오염 제거 기술개발 연구 활성화	부산 환경공단 기업체 국가연구소	담당자
성과 지표	성과 목표(정량적 기재)																				
부산 도시 하수처리시설 항생제 내성 유전자 및 박테리아 list 화	1																				
학술대회 발표	2																				
등재지 이상 논문 게재	2																				
활용내용(계획)	활용기관	활용가능 기간/대상																			
· 향후, 부산시 상하수도 항생제 내성 모니터링 방법으 로 빅데이터 기반의 염기서열 분석 방법을 활용 · 항생제 내성 오염 현황 및 실태 파악과 정책자료 마 련 근거로 활용	부산 환경공단 부산시	담당자																			
· 향후, 국가 항생제 내성 오염 현황 파악하고 전국 전 수조사의 필요성을 도출하기 위한 근거자료로 활용 · 국내 주요 도시 하수처리시설의 항생제 내성으로 인 한 환경보건학적 위해성 정책 마련 기초자료로 활용 · 국가적으로 항생제 내성 오염 관련 정보의 DB화 및 시스템화 작업에 활용	환경부	담당자																			
· 항생제 내성 오염 제거 및 저감 처리 기술 개발의 기 초자료로 활용이 가능하고 향후 사업화 및 특허출 원·등록 · 항생제 내성 오염 제거 기술개발 연구 활성화	부산 환경공단 기업체 국가연구소	담당자																			

<p>연구성과 활용방안 (계속)</p>	<p>○ 참고문헌</p> <p>Guo et al., 2017. Metagenomic analysis reveals wastewater treatment plants as hotspots of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements. <i>Water Res.</i> 123, 468-478.</p> <p>Karkman et al., 2017. Antibiotic-Resistance Genes in Waste Water. <i>Trends Microbiol.</i>12, 1-9</p> <p>Manaia et al., 2018. Antibiotic resistance in wastewater treatment plants: Tackling the black box. <i>Environ. Int.</i> 115, 312-324.</p> <p>Yoo et al., 2017. Molecular approaches for the detection and monitoring of microbial communities in bioaerosols: A review. <i>J. Environ. Sci.</i> 51, 234-247.</p> <p>UNEP, 2017. https://www.unenvironment.org/resources/frontiers-2017-emerging-issues-environmental-concern</p> <p>WHO, 2018. WHO Report on Surveillance of Antibiotic Consumption</p>
---------------------------	---