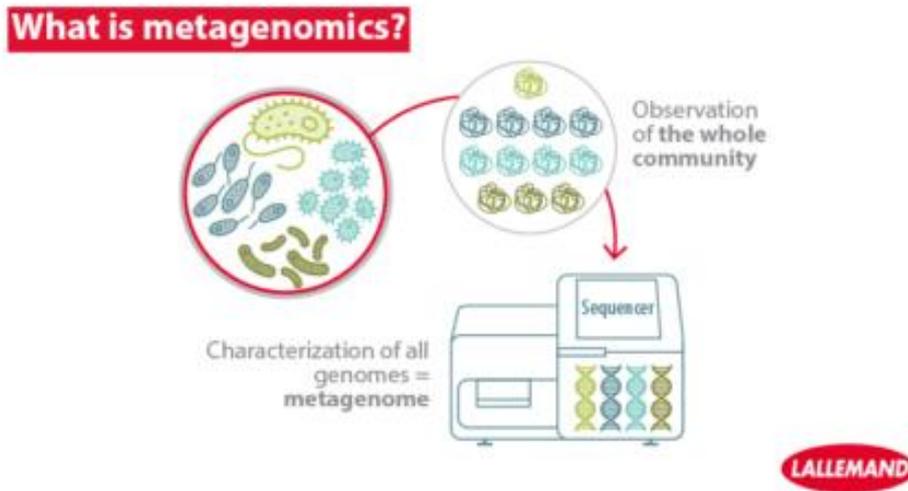


## Metagenomics(균유전체학) 소개

균유전체학(Metagenomics)는 “Meta” 와 “Genomics” 두 단어로 이루어져 있다. Meta는 많은 유기체를 의미하고 Genomics는 유전자를 총체적으로 연구하는 학문을 의미한다. 즉 균유전체학(Metagenomics)는 다양한 환경 (공기, 물, 토양, 인체 등)에 존재하는 미생물전체의 genome을 한꺼번에 유기적으로 연구하는 유전체학의 한 분야를 말한다.



<https://lallemandanimalnutrition.com/en/new-zealand/whats-new/>

미생물학자들은 미생물을 동정하기 위해서 현미경이나 배양기술을 이용하였다. 그러나 이러한 방법은 시간이 많이 소요되고 미생물집단에 대해 제한된 결과를 얻게 되는데 최근에는 NGS 분석기술의 발전으로 Metagenomics 분야가 비약적으로 발전하게 되었다.

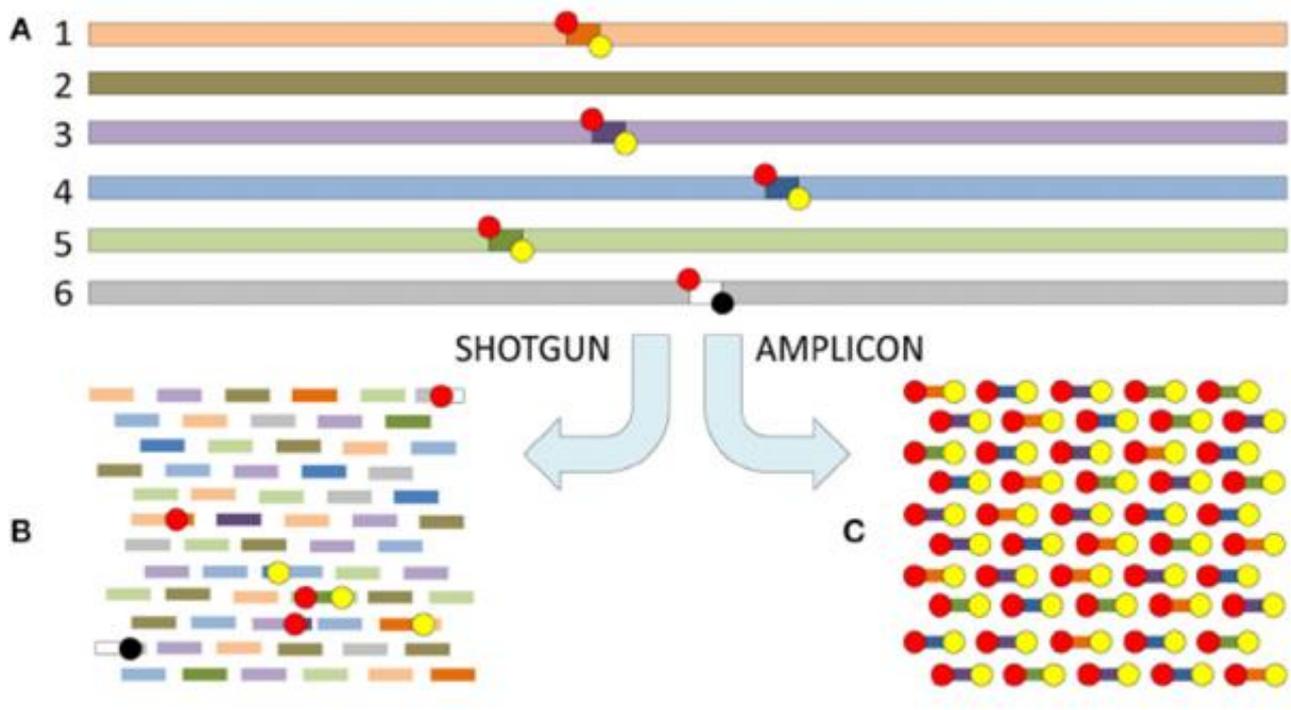
### Metagenomics 기술의 특징

- 희귀한 미생물종이나 배양이 어려운 미생물종에 대한 분석이 가능하다
- 다량의 미생물을 동시에 분석할 수 있다.
- 표본샘플을 통해서 환경에 존재하는 미생물의 다양성을 분석할 수 있다.

### < Shotgun Metagenomic Sequencing >

Shotgun Metagenomic sequencing 방법은 무작위로 많은 조각으로 DNA를 단편화 한다. 단편화된 DNA 조각들은 샘플에 존재하는 종과 유전자를 식별하기 위해 bioinformatics를 이용하여 DNA 염기 서열을 이어 붙인다. 16s rRNA sequencing 분석과 달리 Shotgun metagenome sequencing 방법은 특정영역(16S, 18S, ITS1/2) 뿐만 아니라 샘플의 모든 genome DNA를 읽을 수 있다. Metagenome 연구의 경우 shotgun metagenome sequencing 분석은

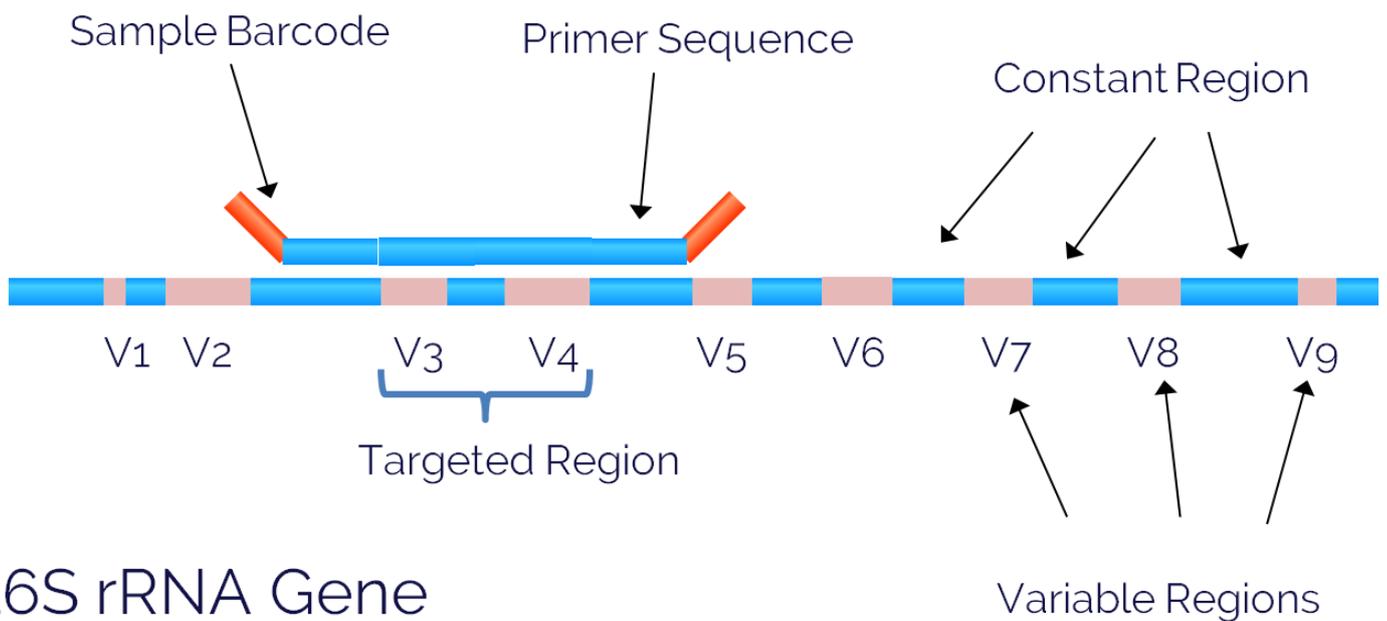
박테리아, 곰팡이, 바이러스 등 많은 종류의 미생물을 동시에 식별하고 프로파일링 할 수 있다는 것을 의미한다. 전체 genome DNA를 분석한다는 것은 샘플에 존재하는 미생물 유전자를 식별하고 프로파일링 하는 것도 가능하며, 추가적으로 미생물의 잠재적 기능에 대한 연구도 가능하다는 것을 의미한다.



Sekse C; et al. High throughput sequencing for detection of foodborne pathogens. *Frontiers in microbiology*. 2017, 8:2029.

< Amplicon-Based Next Generation Sequencing >

Metagenomics 연구는 일반적으로 미생물의 16S 리보솜을 분석하여 수행한다. 16S rRNA의 길이가 약 1500bp이고 9개의 가변영역이 보존영역 사이에 존재한다. 이러한 가변영역은 다양한 미생물의 속(genus) 혹은 종(species)과 같이 계통발생학적 분류를 나누는데 사용된다.



16S rRNA Gene

<https://www.nicepng.com/maxp/u2e6a9y3a9w7r5y3/>

Amplicon sequencing의 종류인 16s rRNA sequencing은 박테리아(Bacteria)와 고균(Archaea)에서 발견되는 16s rRNA gene 영역을 target으로 분석한다. 다른 유형의 Amplicon sequencing으로는 곰팡이에서 발견되는 ITS 영역을, 원생생물(Protist)은 18S rRNA 영역을 분석하여 분석이 가능하다.

16s rRNA sequencing은 target 영역을 증폭 후 대량으로 병렬적으로 서열을 분석한다. 장점으로 미생물의 분류가 가능하고, 빠르고 정량적이며 경제적인 가격으로 분석이 가능하다는 것이다.

< 16S rRNA amplicon sequencing vs Shotgun Metagenome Sequencing >

Shotgun Metagenome sequencing 방법은 전체 genome 정보를 획득 할 수 있기 때문에 종(species)정보 뿐만 아니라 strain 정보까지 분류학적 정보를 획득 할 수 있다. 하나의 샘플에서 다양한 미생물, plasmid, phages, viruses, 곰팡이와 같이 다양한 종류의 분석이 가능하며, 유전자의 유무나 기능에 대한 분석도 가능하다. 다만 host DNA를 제거하여 분석해야 불필요한 sequencing 비용을 줄일 수 있다. 즉 Shotgun Metagenome sequencing은 많은 분류학적 정보를 얻을 수 있으나, 분석하는데 비용과 시간이 많이 소요된다.

16s rRNA sequencing의 경우 분류학적으로 의미 있는 16s rRNA 영역을 선택적으로 증폭하여 분석하기 때문에 분류학적으로는 속(genus) 단계까지 분석이 가능하며 알려져 있는 reference 정보를 이용하여 기능을 예측하기도 한다. 또한 미생물의 16s rRNA 유전자영역만을 선택적으로 분석하기 때문에 host DNA의 오염을 피할 수 있다. Shotgun Metagenome sequencing에 비해 빠르고 합리적인 비용으로 분석이 가능하다.

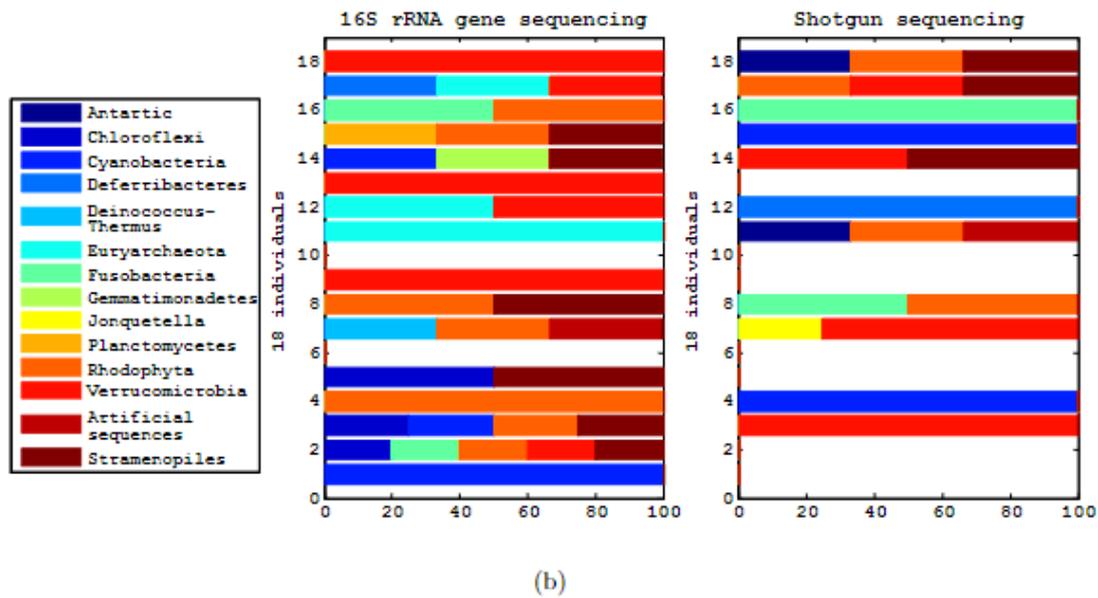
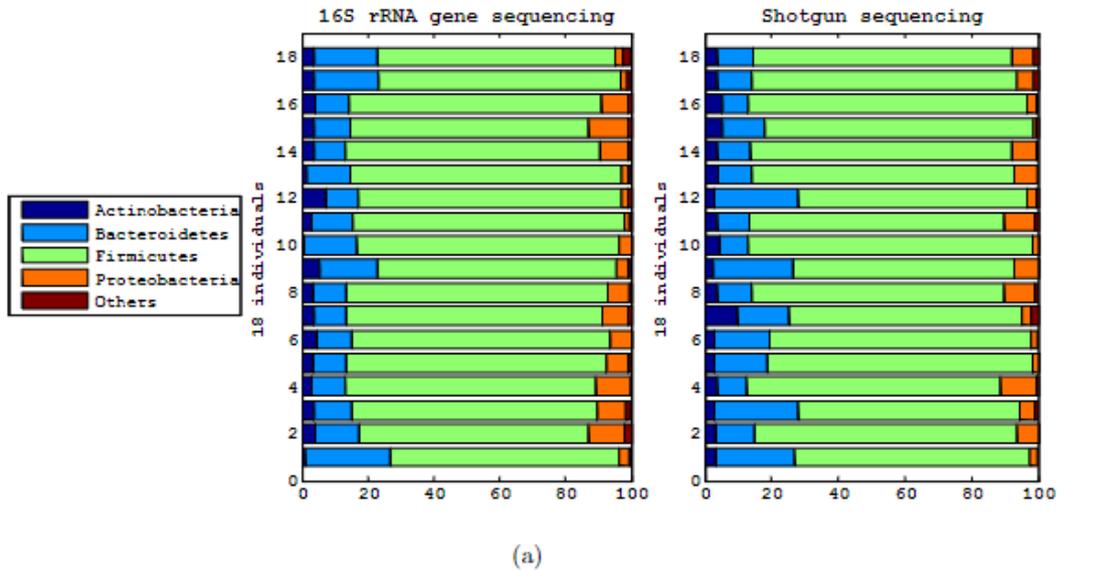
아래의 표에서 16s rRNA sequencing과 Shotgun Metagenome sequencing의 차이점을 확인할 수 있다.

|                          | 16S rRNA sequencing                                 | Shotgun Metagenomic sequencing  |
|--------------------------|---|---|
| Costs                    | inexpensive   | high sequencing & computational costs   |
| Taxonomic resolution     | resolution is limited at genus level<br>→ 16S tools | high taxonomic resolution at species and strain level<br>→ Strain-level tools |
| Gene/functional analysis | assumptions based on known references               | exact estimation of present and absent genes/functions, novel gene detection  |
| Plasmids/Phages/Viruses  | not detectable                                      | at a certain level detectable, based on current databases and pipelines       |
| Computational tools      | many well developed tool available                  | high variation of tools available or under development                        |
| Host contamination       | applicable to high host DNA contamination           | host DNA should be removed to avoid unnecessary sequencing costs              |

<https://www.metagenomics.wiki/pdf/definition/16s/16s-vs-shotgun>

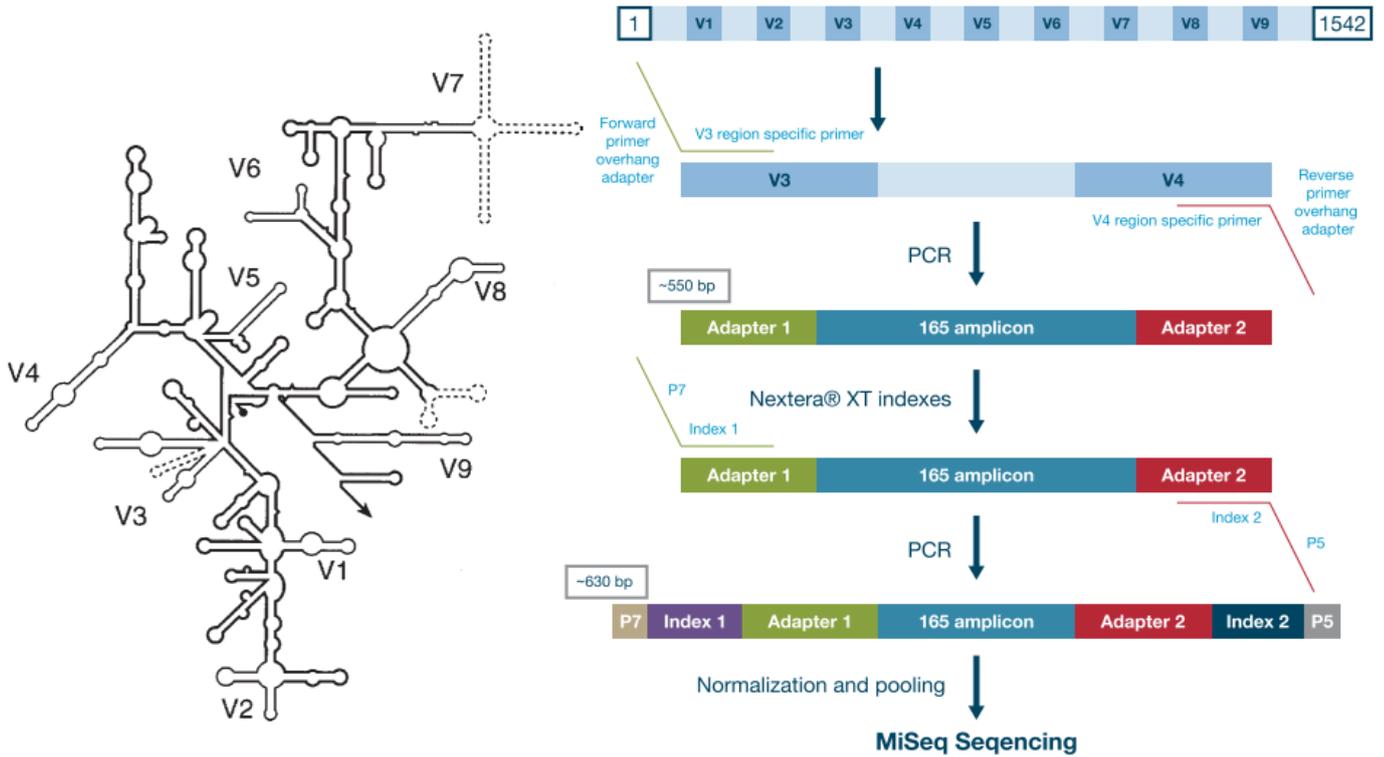
2011년에 Biocomputing에 장내미생물을 16s rRNA gene sequencing과 Shotgun Metagenomics로 비교하여 분

석한 논문에 따르면 16s rRNA sequencing과 Shotgun Metagenome에서 문(phylum) 단계에서 4개의 major 장내 미생물 균집(a)을 볼 수 있고, 그 외 문(phylum)은 (b)에서 볼 수 있다. 분석에는 NCBI Taxonomy를 사용했으며, x 축은 백분율을 의미하고 각각의 수평막대는 각 개인의 문(phylum) 분포를 의미한다. 주요 문(phylum)에서는 16s rRNA sequencing과 Shotgun metagenome 방식에서 비슷한 경향을 보였으며, 오히려 Shotgun metagenome 분석법에서 minor한 문(phylum)에서 read값이 검출되지 않았다.



Neethu S et al, COMPARING BACTERIAL COMMUNITIES INFERRED FROM 16S rRNA GENE SEQUENCING AND SHOTGUN METAGENOMICS. 2011, Biocomputing 2011, pp. 165-176 (2010)

이바이오젠에서는 토양, 공기, 물, 인체시료 등의 다양한 환경에서 채취되는 시료내에 어떠한 미생물(Bacteria, Fungi 등)들이 얼마나 존재하는지를 NGS 기술을 적용한 16s rRNA sequencing 또는 ITS Sequencing을 통해 Metagenome (Microbiome) 수행해 드리고 있으니, 많은 관심 부탁드립니다.



Ebiogen's 2021-2022 Catalog

### < 16s rRNA Sequencing Service INFO >

|                    |   |
|--------------------|---|
| Sample requirement | >0.1 ng/ul gDNA                           |
| Library method     | 16S rRNA Amplicon Library for illumina    |
| NGS run format     | Illumina MiSeq, PE300bp(Paired End 300bp) |
| Data yield         | ~50,000 reads/sample                      |
| Turnaround time    | ~4 weeks after Library QC                 |
| Sample type        | gDNA                                      |

### < 참고 문헌 >

1. <https://allemandanimalnutrition.com/en/new-zealand/whats-new/>
2. Sekse C; et al. High throughput sequencing for detection of foodborne pathogens. *Frontiers in microbiology*. 2017, 8:2029.
3. Neethu S et al, COMPARING BACTERIAL COMMUNITIES INFERRED FROM 16S rRNA GENE SEQUENCING AND SHOTGUN METAGENOMICS. 2011, *Biocomputing 2011*, pp. 165-176 (2010)
4. <https://www.nicepng.com/maxp/u2e6a9y3a9w7r5y3/>
5. <https://www.metagenomics.wiki/pdf/definition/16s/16s-vs-shotgun>
6. Ebiogen's 2021-2022 Catalog