

※이 자료는 보고서 원본이 아니라 외부 공개를 위하여 편집한 것입니다.

유럽미생물학회연합 학술대회 참가기
(FEMS 2017: 7th Congress of European
Microbiologists)

2017. 7. 26.

한국생명공학연구원

책임연구원

정해영

제 1 장 서론

1. 여행의 배경

유럽 36개 국가의 51개 회원 학술단체로 구성된 FEMS(Federation of European Microbiological Societies)는 미생물학 분야의 학문 발전과 혁신을 추구하는 국제적 학술 단체로서 1968년 7개 국가를 중심으로 설립된 North-West European Microbiology Group을 전신으로 하여 1974년 공식적으로 출범하였다. 연구비 지원(매년 25만~50만 유로)과 학술 교류, 학술상 시상 및 행사 개최 외에도 FEMS Microbiology Letters, FEMS Microbiology Reviews, FEMS Microbial Ecology, FEMS Yeast Research 및 FEMS Pathogens and Disease 등 5종의 전문 학술지를 출간하고 있다. 특히 FEMS Microbiology Letters는 올해 발간 40주년을 맞이하였다. FEMS가 다루는 연구 영역은 항생물질 내성과 감염, 식품 미생물학, 지속가능성, 기후 변화 및 미생물학 기초 분야 등을 전부 포괄하고 있다.

2003년 처음 개최된 FEMS 학술대회(FEMS Congress of European Microbiologists)는 현재 매 2년마다 열리는 것으로 자리잡았는데, 2015년 네덜란드 마스트리히트에서 열렸던 6회 대회에 이어 올해의 7회 대회(7/9~7/13, 2017)는 스페인 동부의 주요 도시 발렌시아의 컨벤션 및 전시 센터인 Feria Valencia에서 열렸다. 스페인에서 FEMS 학술대회가 열린 것은 2006년 마드리드에 이어서 두 번째이다. 이번 행사는 주관 단체인 스페인 미생물학회(Spanish Society for Microbiology, SEM)의 26회 학술대회와 같이 개최되었다. 발렌시아는 마드리드 및 바르셀로나에 이어서 스페인에서 3번째로 큰 도시로서 유명 관광지이기도 하다.

- FEMS 공식 홈페이지: <https://fems-microbiology.org>
- FEMS 2017 홈페이지: <http://www.fems-microbiology2017.kenes.com>
- FEMS 2017 app: <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.eventpilot.fems17>
- Feria Valencia 홈페이지: <http://feriavalencia.com>

금번의 국외 출장은 일반 용도의 클로닝 호스트 균주로서 널리 쓰이는 대장균 RR1(HB101 RecA⁺) 균주의 유전체를 NGS 기법으로 해독하여 분석한 연구성과 (“Unveiling the hybrid genome structure of *Escherichia coli* RR1(HB101 RecA⁺)”, 포스터 번호 7/11-#042)를 포스터로 발표하고, 미생물학 분야의 세계적인 연구 동향을 파악하며 국내외 연구자와 교류하기 위한 목적으로 이루어졌다. 특히 보고자가 소속된 감염병 연구센터의 주요 연구 주제인 항생제 내성(antimicrobial resistance, AMR)

의 원인과 대처법, resistome 탐색 방법 및 새로운 항생물질 개발 연구의 최신 성과를 탐색하는 것도 출장 목적의 하나였다.

보고자가 직접 발표한 포스터 외에도 한국생명공학연구원에서 근무하다 2017년 3월 중앙대학교로 이직한 이상준 교수와 공동 수행한 연구 성과인 숙신산 최소 배지에서 대장균의 적응 변이("The lag phase of *E. coli* BL21(DE3) in succinate minimal medium shortened by mutational adaptation", 포스터 번호 7/11-#054)와 중금속 검출용 바이오센서 개발("Development of whole cell heavy metal biosensors by recombining T7 transcriptional modules and CadC bioparts", 포스터 번호 7/11-#317)도 같은 날 동시에 전시되었다.

학술행사의 구성은 총 6회의 plenary lecture를 비롯하여 20회의 심포지엄, SEM 심포지엄/워크샵, 각 전문분야별 심포지엄 등 다양한 세션과 네트워킹으로 이루어졌다(상세한 목록은 2장 참고). 공식 심포지엄 외에도 각 회원단체 및 후원기업이 주관하는 다채로운 심포지엄이 열렸다.

FEMS 2017 공식 앱에서는 초록을 포함한 모든 학술 프로그램은 물론 개인 일정의 커스터마이징, 세션 주제와 관련된 사전 읽기 자료 및 각 연사의 경력정보를 제공해 주었으며 학회 기간 중은 물론이거니와 종료 후에도 계속하여 업데이트되었다. 사전 읽기 자료는 FEMS 저널지에서 관련된 주제로 만들어진 특별판 혹은 이미 출판된 논문을 묶은 virtual issue 중심으로 제공되어서 관련 지식을 심도 있게 음미하기에 매우 좋은 자료가 되었다.

한국에서는 약 190명이 참가하여 개최국인 스페인 다음으로 가장 참가자가 많은 국가였다. FEMS가 유럽 국가들의 미생물학회 연합인 것을 감안하면 이는 매우 이례적인 현상으로 볼 수 있다. 이러한 참가자 규모에도 불구하고 공식적으로 초청을 받아 심포지엄에서 구두발표를 하는 한국인 과학자가 없었다는 것은 큰 아쉬움으로 남는다. 전시 부스를 개설한 단체 및 기업은 총 17곳으로서 한국에서는 생명정보분석 서비스 전문기업인 천랩과 자동 현미경 시편 처리 장치를 제조하는 Korea Standard가 참여하였다.



Welcome to FEMS 2017

Welcome to FEMS 2017!

The Federation of European Microbiological Societies (FEMS) and the Spanish Society for Microbiology (SEM) have joined forces to give you the best of microbiology. Come to the modern and friendly Mediterranean city Valencia, meet fellow microbiologists and update your knowledge with the state of the art on antimicrobial resistance and infections, food microbiology, sustainability, climate change and many more topics.

Key disciplines including molecular approaches, biodiversity, bioremediation, eukaryotic microbes, virology and others will be examined in order to advance our understanding of current and future challenges.

In Association with  | 26th Congress of the Spanish Society for Microbiology

그림 1. FEMS 2017 공식 웹사이트(<http://www.fems-microbiology2017.kenes.com>).

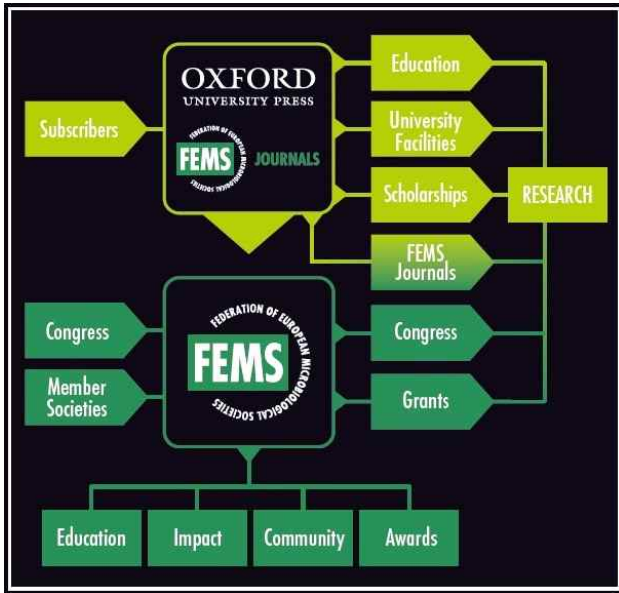
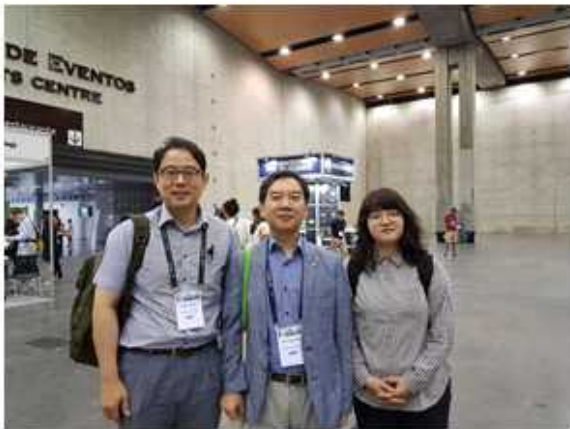


그림 2. FEMS의 구성과 활동 범위. (출처: <http://www.fems-microbiology2017.kenes.com>)

그림 3. 그림으로 보는 FEMS Microbiology Letters 40년사 (<http://bit.ly/FEMSLE40>)



발렌시아 시내의 오래된 건축물



중앙대학교 이상준 교수와 김현주 박사



발렌시아의 대표적인 전통음식 빠에야



행사가 열린 Feria Valencia의 외부 전경

그림 4. FEMS 2017의 이모저모(1)



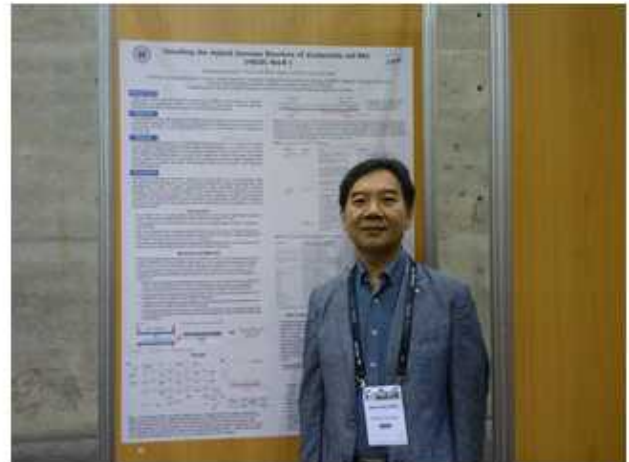
행사장 내 안내판 앞에서



국가별 참석자 명단



전시장(1층)



포스터 보드 앞에서



포스터 전시장의 모습



자유로운 분위기의 점심시간

그림 5. FEMS 2017의 이모저모(2)

CERTIFICATE OF ATTENDANCE

This is to certify that

HAEYOUNG JEONG

Participated in the



7th Congress of European Microbiologists (FEMS),
held in Valencia, Spain, 9-13 July 2017

A handwritten signature in green ink, appearing to read 'Bauke Oudega'.

Bauke Oudega
Chair of the Programme Committee
FEMS Congress – Valencia 2017

A handwritten signature in green ink, appearing to read 'Antonio Ventosa'.

Antonio Ventosa
Chair of the Organizing Committee
FEMS Congress – Valencia 2017

In Association with  SEM



그림 6. 참석 확인증. 등록 데스크에 마련된 바코드 스캐너에 이름표를 갖다 대면 자동으로 발급된다.

제 2 장 본론

1. 주요업무 수행사항

○ 2017년 7월 8일(토)

오후에 바르셀로나 Catalunya 역에서 지하철 3호선을 타고 국영 철도 Renfe가 연결되는 Santz Estació 역으로 이동하였다. Renfe로 Valencia Joaquin Sorolla 역까지 가는 데에는 약 3시간 10분 정도가 소요되었다. 학회 기간 동안 머문 발렌시아 소재 숙소는 Ayre Hotel Astoria Palace(Plaza Rodrigo Botet 5, 46002 Valencia)였다.

○ 2017년 7월 9일(일) - 학술대회 제1일

숙소로부터 학회가 열리는 Feria Valencia(Convention & Exhibition Centre)까지는 호텔에서 알려준 대로 근처 정류장에서 62번 버스(EMT, Empresa Municipal de Transportes)를 이용하려 하였으나, 노선이 일시적으로 바뀌었는지 호텔에서 알려준 정류장에는 학회장으로 가는 버스가 오지 않아서 한참 시간을 허비하다가 결국은 택시를 타고 기조강연이 시작하기 직전에 가까스로 도착하였다. 다음날부터는 발렌시아 북역(Estació del Nord, 지하철역으로는 Valencia Xàtiva) 건너편의 EMT 정류장에서 62번 버스를 이용하여 학회장을 오갈 수 있게 되었다. 소요 시간은 30분을 조금 넘는 수준이었다. 첫날에는 두 건의 기조 강연과 환영 리셉션이 있었다.

항목(7/9 일요일)	주제
Plenary Lecture	Transformative CRISPR-Cas genome engineering technologies: lessons learned from bacteria - E. Charpentier (Germany)
Plenary lecture: Lwoff-award lecture	Cell wall deficient (L-form) bacteria: from chronic infections to the origin of life - B. Oudega (The Netherlands)

표 3. 7월 9일 발표 주제.

첫 번째 강연에서는 최근 유전자 교정 도구로서 뜨거운 관심을 받는 기술인 CRISPR-Cas 시스템에 관한 기본적인 이론과 최신 동향을 잘 정리하여 발표하였다. 두

번째 발표는 노벨상 수상자이자 초대 FEMS 회장(1974-1976)이기도 했던 André M. Lwoff의 업적을 기리기 위해 제정한 상인 Lwoff-award의 수상 강연을 겸하였다. 대부분의 세균에게 세포벽과 FtsZ에 의한 세포 분열 기구는 필수적인 것이지만 세포벽이 없는 L-form 박테리아에게는 예외이다. 세포 배양 중 비교적 단순한 방법으로 L-form을 유도할 수 있는데, 이는 세포벽 생합성, 세포 분열 및 염색체 분리의 연구를 위한 모델 시스템으로서 유용하고 특히 반복적이거나 persistent한 감염의 연구에 중요한 모델이 된다. L-form은 항생제를 처리할 경우 일종의 persister 역할을 할 수 있는데, dormant persister와는 달리 항생제 존재 하에서도 증식 가능하며 다시 세포벽이 있는 상태로 전환되면 virulence를 갖게 된다는 내용이었다.

기조 강연 뒤에는 환영 리셉션이 열렸다. 음료수와 손으로 집어먹을 수 있는 간단한 음식을 늘어놓고 격식 없이 서서 진행하는 형식의 시간이었다. 월요일부터 수요일 저녁에는 포스터 발표자와 함께 교류의 시간을 갖는 네트워킹 시간이 있었다.

○ 2017년 7월 10일(월) - 학술대회 제2일

7월 10일부터는 8개의 강연용 홀과 전시장(기업용 부스 및 포스터 전시장)에서 본격적인 학술 일정이 시작되었다. 매일 아침 9시에 열리는 plenary lecture를 시작으로 오전에는 각 주제별 심포지엄(10:00~12:30), 오후에는 워크샵(15:00~17:30)과 특별 강연이 이어졌다. 등록된 포스터 중 선별된 것에 대하여 짧은 별도의 구두 발표 기회를 제공하는 poster presentation은 점심시간 직후 1시부터 3시까지 열렸다. 점심시간에는 빵과 과일, 음료수가 든 런치 박스를 주최 측에서 제공하여 행사장 안팎에서 격식 없이 먹으면서 공간적 이동 없이 학술 행사에 계속 몰입할 수 있는 분위기를 제공하였다.

Plenary lecture를 제외한 나머지 학술 세션들은 총 8개의 강연장에서 동시에 진행되므로 소속 부서인 감염병 연구센터의 미션에 맞는 연구 주제와 개인적인 흥미에 잘 맞는 일정을 최대한 선별하여 청취하였다. 주로 선택된 주제는 antimicrobial resistance(AMR), persistence 및 virome과 관련된 것이었다.

이틀째 날의 일정은 KRIBB 바이오합성연구센터와도 협력한 바 있었던 V. De Lorenzo의 기조 강연으로 시작되었다('Innovators and imitators: how environmental bacteria conquest the chemical space'). Central dogma에서는 항상 DNA가 중심이 되는 단방향적 정보의 흐름만이 존재하는 것으로 여겨지지만, 대사물의 일종인 ROS(reactive oxygen species)가 DNA에 화학적 손상을 주어 돌연변이('innovation')을 유발함으로써 원래는 불가능하던 대사를 가능하게 만든다. 따라서 기존의 central dogma는 DNA → RNA → 단백질(효소) → 대사 → ROS → DNA로 이어지는 redox metabolism innovation cycle이라는 순환 구조 바뀌어야 한다고 주장하였다. 대사 스트레스 및 ROS에 의하여 유발되는 변이가 NAD(P)H에 의해 경감되는 것도

항목(7/10 월요일)	주제
Plenary lecture	Innovators and imitators: how environmental bacteria conquest the chemical space★ - V. De. Lorenzo (Spain)
Symposia	- Biofilms, formation and persistence - Resistome★(오전) - Synthetic microbiology - Yeast in action - Evolution and genome plasticity★(오후)
SEM-symposia	- Epigenetics of bacterial infections - Marine microbiology
EAM symoisium	- Emerging infectious diseases and how to cope wth them
Poster presentation	- Bacterial RNA secretome★(오후) - Microbial Ecology - Pathogenicity
Workshop	- EAM workshop: survival and persistence - Bacterial cell imaging - Modeling microbial systems - One health initiative - The viral world revisited: from viroids to giant viruses
SEM workshop	- Food microbiology-production - Vaccines
ERC (the European Research Council) session	Funding opportunities in Europe for creative minds from anywhere in the world
FEMSRE-symposium	Cell-cell communication, signalling and quorum sensing
PAD-symposium	Microbiome pathogens-host: triangular host-pathogen interaction in microbial infections
Special/sponsored events	- Bergey's manual trust: "Higher taxonomy of uncultivated microorganisms" - Scientific publication explained: how to increase (or decrease) your chances of rejection

표 4. 7월 10일 발표 주제. 제목 뒤의 별표(★)는 실제로 참석했던 것을 표시한 것임. 이러한 주장을 뒷받침한다. 발표자는 미생물에 의한 2,4-dinitrotoluene(DNP)와 1,3-dichlorophenol(DCP) 분해 경로에 대한 연구 사례를 예로 들어서 설명하였다.

기조 강연 다음으로는 4층 규모의 행사장에 마련된 8곳의 강연장에서 심포지엄이 동시에 개최되었다. 오후에는 poster presentation과 workshop 등이 추가로 열렸다. 첫 번째로 택한 심포지엄은 resistome에 관한 것이었다. Resistome이란 용어는 2007년 Gerard D. Wright가 처음 제안한 것으로 병원성 및 비병원성 박테리아가 보유한 항생물질 내성 유전자 및 전구체의 총합을 의미한다. 그 어떤 신규 항생제라 하더라도 임상에 적용하게 되면 이에 대한 내성을 갖는 병원체가 얼마 지나지 않아 발견되

는 것이 현실이다. 이는 환경에 폭넓게 존재하는 resistome이 병원성 미생물로 전달되어 벌어지는 것으로 이해되고 있다. 그렇다면 환경에 존재하는 resistome은 얼마나 다양하며, 이것이 원래 존재하는 것인지 혹은 인간의 활동에 의해 진화된 것인지를 구별할 수 있을까? 학술대회 측에서는 이 resistome 심포지엄 세션에 대한 사전 읽기 자료로서 FEMS Microbiology Ecology의 thematic issue인 Environmental dimension of antibiotic resistance¹⁾를 소개하였다.

- The soil resistome - P. Simonet (France)

토양에 서식하는 부생성 박테리아가 많은 항생제 내성 유전자(antibiotic resistance gene, ARG)를 갖고 있다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. 공개된 72종의 metagenome data(ocean, soil, human feces 등)을 ARDB²⁾ 및 CARD³⁾ 등 잘 알려진 항생제 내성 유전자 서열 데이터베이스에 대해 검색한 결과 항생제 내성(antimicrobial resistance, AMR)은 어디에나 존재하며 특히 토양의 경우 그 다양성이 가장 높음을 발견하였다(Nesme J 등, 2014). French Guiana의 한 지역(Trois-Sauts)를 택하여 인간이 정착한 곳과 이로부터 멀어지는 곳까지를 나누어서 토양의 ARGD(antibiotic resistance gene determinant)를 조사한 결과 인간이 정착한 지역에 가까운 정도와 ARGD abundance와는 관계가 없었고, ARGD의 다양성 역시 토양의 항생제 노출 정도와는 상관 없었다. 두 번째 연구에서는 동물용 항생제(tylosin, chlortetracycline, sulfonamides)를 15년 동안 처리한 토양의 ARGD를 측정하였다(Rothamsted soil microcosm). 항생제를 처리한 동물의 분뇨로부터 만들어진 퇴비에 존재하는 양과 같은 수준으로 토양에 항생제만을 처리한 결과 비처리군에 비하여 ARG abundance가 유의한 수준으로 증가하지 않았다. 항생제를 투여한 동물의 분뇨를 이용하여 만든 퇴비가 장기간 뿌려진 토양에서는 세균의 resistance gene abundance는 과연 증가했을까? 흥미롭게도 토양에 축산 폐수가 직접 더해지면 ARG abundance가 상당히 증가하였다. ARG와 이를 다른 미생물 lineage에 수평적으로 전파할 수 있는 mobile genetic element 사이의 co-abundance 역시 관찰되었다. 그러나 실제 내성 유전자의 전달 가능성을 추정하려면 두 유전자가 동일 DNA 분자에 위치하는지의 여부('co-occurrence')를 검출할 수 있는 보다 진보된 염기서열 분석 방법이 필요하다.

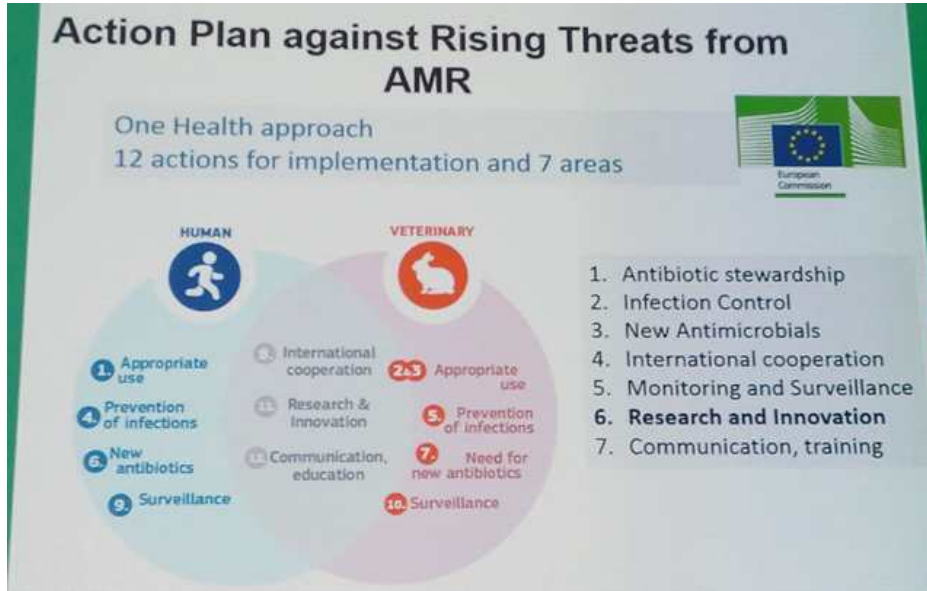
- Dynamics and revolution of core and pangenomes of antibiotic resistant bacterial pathogens - T. Coque (Spain)

항생제 내성 문제는 전 지구적 이슈이므로 온 인류가 나서서 대처해야 한다. EU

1) https://academic.oup.com/femsec/pages/environmental_dimension_of_antibiotic_resistance

2) <https://ardb.cbcb.umd.edu/> (2009년판 버전 1.1을 이후로 더 이상 업데이트되지 않음)

3) <https://card.mcmaster.ca/>



에서는 ‘One Health’ 개념에 입각한 12가지의 행동 계획을 다음 그림과 같이 발표하였다.

초창기의 항생제 내성 연구가 단일 유전자/균주에 대한 배양 중심의 연구(병원 중심)였다면 새로운 시대에는 환경 metagenomics에 입각한 resistome 연구를 거쳐서 미래에는 앞으로 다가올 위협을 미리 예측하고 전파 위험성의 측면에서 AMR을 다루어야 한다고 제안하였다. 내성 표현형을 갖고 있어서 병원에서 직접 확인되는 유전자 이외에도 environmental pan-genome에 숨겨진 잠재적인 내성 유전자의 위험성을 인식해야 한다는 것이 발표자의 주장이었다. T. Coque는 resistome의 위험성 순위를 부여하는 체계적인 방법을 발표한 일도 있다(Martínez JL 등, 2015). 발표자 연구그룹에서는 Roche의 SeqCap EZ system에 기반하여 resistome 관련 유전자를 포착하는 새로운 방법인 ResCap을 개발하였다⁴⁾. 또한 발표자는 sequence similarity network(SSN)을 이용하여 서로 다른 위치의 환경에서 채취한 메타게놈의 네트워크를 구성한 연구(Fondi M 등, 2016) 및 현재의 네트워크 분석 방법을 개선하여 계통발생학 정보와 기능 정보를 병합함으로써 다수의 미생물 유전체를 질과 양 모든 레벨에서 분석하게 해 주는 AcCNET(Accessory Genome Constellation Network)(Lanza VF 등, 2017)을 소개하였다.

- Novel technologies to study resistome - W. van Schaik (UK)

배양에 의존하지 않는 resistome 연구 기법으로는 metagenomic shotgun sequencing, functional metagenomics 및 high-throughput quantitative PCR 방법이 있다. 발표자는 병원에 입원하여 집중적인 항생제요법을 받았던 환자들의 장내

4) <http://www.biorxiv.org/content/early/2017/01/30/104224>
doi: <https://doi.org/10.1101/104224>

resistome을 각각 다른 방법으로 연구하였다. 결론적으로 말하자면 항생제를 투여하는 동안 resistome은 매우 다이내믹하게 변화하였으며 특히 장내 commensal bacterium인 *Bacteroidetes*와 *Clostridium*이 resistome의 저장소 역할을 함을 발견하였다. Resistome 연구 방법은 저마다의 장점과 단점이 있다. 예를 들어 metagenomic shotgun sequencing은 비용이 많이 들고 resistance gene의 주변에 어떤 다른 유전자가 있는지, 그리고 이 유전자가 어느 미생물에서 왔는지를 알기 어렵다. Long insert library를 이용하는 functional metagenomics에서는 gene context에 대한 정보를 얻는 것이 가능하다. 반면 나노리터 수준의 qPCR 플레이트(Fluidigm Biomark)를 사용하는 방법은 장내 resistome을 동시에 검출하는 기법으로서 임상에서 진단 목적으로 사용할 수 있는 가능성을 모색하는 중이다. 발표 후반부에는 Oxford Nanopore long read 기법을 이용한 resistome mapping 사례를 소개하였다(van der Helm E 등, 2017). 발표자인 Willem van Schaik은 자신의 발표 슬라이드를 SlideShare에 공개하였다⁵⁾.

- Metagenomics and culturomics - E. Wellington (UK)

원래 항생물질을 생산하는 균주만이 갖는 내성 유전자가 어떻게 하여 병원성 미생물로 전파되어 항생제 내성을 갖게 되는지의 구체적인 기작 제안과 실험적 입증은 아직 뚜렷한 성공을 보이지 못한 실정이다. 최근 연구 결과에 의하면 접합에 의해 방선균으로 인체 감염균의 DNA가 들어간 뒤 내성 유전자 양쪽에 삽입되고, 방선균이 죽어서 세포가 터지면 내성 유전자와 감염균의 DNA 복합체가 흘러나와서 감염균의 염색체에 재삽입된다는 carry-back mechanism이 보고되었다(Jiang X 등, 2017). 발표자는 incP 플라스미드와 integron이 항생제 내성 유전자의 전파에 관여함을 집중적으로 조사하였다.

오후에는 Evolution and genome plasticity 주제의 심포지엄에 참석하였다.

- Killing for new genes - How *Vibrio cholerae* steals DNA from neighboring bacteria - M. Blokesch (Switzerland)

*Vibrio cholerae*는 인간에게 콜레라를 일으키는 중대한 병원체이나 기본 서식지인 바다에서 실제로 어떤 생활사를 갖는지는 잘 알려져 있지 않다. 콜레라균의 비교유전체학 연구에 따르면 유전자의 수평적 전이(HGT)가 매우 활발한 것으로 여겨지는데, chitin(바다에 서식하는 갑각류의 외피를 구성함) 존재 시 type VI secretion system(T6SS)과 *comEA* 유전자가 공발현된다. 즉 T6SS에 의해 고의로 prey lysis를 유도한 뒤 natural competence에 의해 그로부터 유래한 DNA를 HGT로 가져온다는 것이다. 즉 환경에 존재하는 DNA 단편을 흡수할 것이라는 지금까지의 통념과는 달

5) <https://www.slideshare.net/Willemvanschaik1>

리 능동적으로 다른 세포를 공격하여 이로부터 intact DNA를 적극적으로 가져온다는 가설을 제안하였다.

- Control and organization of horizontal gene transfer - E. Rocha (France)

Integrative and conjugative element (ICE)는 염색체에 삽입된 형태로 세포분열과 더불어 수직적 전파가 됨은 물론 excision이 일어나서 수평적으로도 전달되는 mobile DNA를 말한다(Delavat F 등, 2017). 발표자는 ICE의 전파 모드 간 전환은 ICE-host partnership 내에서 벌어지는 bistable decision의 결과라는 모델을 제시하였다. 대부분의 세포 안에서 ICE는 염색체에 삽입된 silent 형태로 존재하지만 집단 내에서 매우 낮은 빈도로 존재하는 specialized cell은 ICE의 수평적 전달을 개시한다는 것이다. 이러한 bistable process는 host cell의 분화를 촉진한다. 흥미로운 것은 HGT가 일어나는 hotspot이 있다는 점이다. 즉, 전체 유전체의 단 2%에서 50%의 HGT가 발생한다.

- Evolution of bacteria colonizing the intestinal tract: mutation versus horizontal gene transfer events as driver of adaptation - I. Gordo (Portugal)

장내 미생물의 진화 과정에서 돌연변이와 HGT가 각각 어느 정도나 기여하는지는 아직 알려지지 않은 상태이다. 본 연구에서는 SPF 마우스의 장내 미생물에 대한 실험 진화, NGS, phenotypic assay, 그리고 현미경 관찰을 통해 strain diversity가 어떻게 출현하는지를 알아보았다. 항생제가 존재하지 않는 상황에서 대장균의 적응은 다음의 두 가지 방법의 의한 것으로 결론을 내리게 되었다. 첫 번째는 resident *E. coli*(phylogenetic group B1)로부터 invader *E. coli*(phylogenetic group A)로 박테리오파지에 의한 HGT가 높은 빈도로 일어나고, 두 번째로는 2~4개월 뒤 대사 기능과 연관된 적응 돌연변이가 축적된다. 후자에 속하는 돌연변이는 시간 의존적 선별을 보이는 *fliR* 변이와 antagonistic pleiotropy를 보이는 *psuK* 변이이다.

- Signature of recent emergence in bacterial pathogens - J. Parkhill (UK)

마지막 순서로는 영국 Sanger Institute에서 병원성 미생물의 유전체학 연구를 총괄하는 Julian Parkhill이 발표를 하였다. 원내감염을 유발하는 병원체(nosocomial pathogen)의 정확한 전파 경로를 밝히는 것은 병원 내 감염의 사전 관리를 위해 대단히 중요한 일이다. 발표자는 영국과 아일랜드 병원에 입원된 환자에서 혈류 감염을 유발하는 MDR(multi-drug resistance) 병원체를 대상으로 하는 대규모의 체계적인 종단 연구(longitudinal study)를 실시하여 감염체 집단의 구조와 역사를 이해하고자 하였다. Whole-genome sequencing과 phylogenetic reconstruction을 감염체 집단은 다음의 두 가지 전파 방법을 따른다는 것을 알게 되었다. 첫 번째는 병원 내 혹은 병원 간에서 나타나는 최근의 급속한 clonal spread, 두 번째로는 좀 더 오래되고 다양한 집단에 의한 것으로 넓은 집단 내의 commensal spread로 여겨지는 것에 의한 것이다. 집중적인 연구 대상이 된 병원체는 혈류 감염을 유발하는 대장균,

원래 비병원성으로 간주되던 *Serratia marcescens*, 그리고 cystic fibrosis 환자에서 분리된 *Mycobacterium abscessus*였다.

포스터 발표는 각 주제별로 월-수 3일로 나누어 진행되었다. 전시된 포스터는 자료집 기준으로 2,335건이나 되어 지난번 대회를 훨씬 상회하였다. 포스터의 주제는 다음과 같다.

- Physiology / biochemistry / molecular microbiology
- Food microbiology
- Biotechnology / synthetic biology / systems biology
- Pathogens / pathogenicity
- Environmental microbiology / microbial ecology / microbial communities
- Virology
- Taxonomy / systematics
- New methods and techniques
- Education / professional development / policies
- From research to start-up creation
- 기타

직접 둘러본 포스터 중 흥미로웠던 것을 몇 개 선정해 보았다.

- [7/10 #408] Reactive oxygen species drive the evolution of pro-biofilm variants in pathogens by modulating cyclic-di-GMP levels
- [7/10 #485] Wet wipes which is sold in markets evaluation for the microbiological respect
- [7/10 #497] *In vivo* shift of microbial community compositions in dental biofilm following frequent sucrose consumption
- [7/10 #006] Horizontal transmission factors spreading antibiotic resistance
- [7/12 #119] Host factors involved in integron integrase-mediated recombination

○ 2017년 7월 11일(화) - 학술대회 제3일

삼일 쟀의 기조 강연에서는 프랑스의 T. Bouchez가 환경 생물공학 기술의 발전 역사를 소개하는 것으로 시작되었다. 폐수 처리나 anaerobic digester 등의 생물 공정에서 활용되는 미생물 집합체는 분류학적으로 다양한 미생물군으로 구성된 open system이지만 선택압을 가함으로써 특정 기능을 재현성 있게 수행할 수 있도록

항목(7/11 화요일)	주제
Plenary lecture	In search of thermodynamic principles for managing microbial communities in environmental biotechnology processes★ - T. Bouchez (France)
Symposia	- Antibiotics, novel approaches★(오전) - Bacterial persistence and toxin - antitoxins - Fungal cell biology - Mosquito-borne viruses - Systems microbiology - The human microbiome: education, communication, collaboration
SEM-symposia	- Role of microorganisms in the degradation of materials - The pangenome of prokaryotic populations - Fermented beverages: an interesting side of microbial abilities
Poster presentation	- Food microbiology, omics driven molecular physiology - Molecular taxonomy, genomics and physiology - One health and human pathogenicity
Workshop	- Bioactive metabolites - Cell surface and signal transduction - Communicating microbial science to society: from viral to hands-on strategies - Future diagnostic approaches★(오후) - Plant-bacteria interactions under omics spotlights - Profiling the functional landscape of bacterial cells
SEM workshop	- FEM-ALAM-SEM workshop: crosstalk between biofilm formation and applied microbiology
Industry supported symposium	Supported symposium
Special/sponsored events	Special event: Education: Engage your public! - #scicomm session and competition for young researchers

표 5. 7월 11일 발표 주제.

functional convergence가 일어난다는 것이 특징이다. 이러한 환경 생물공학은 90년대에 기술적 발전을 이루었으며 2000년대에 들어서는 ^{13}C 로 표지된 셀룰로스가 중온 혐기성 분해 과정에서 어느 미생물의 DNA로 들어가는지를 추적하여 *Acetovibrio*와 *Clostridia*가 관여함을 밝히게 되었다. 2010년부터는 meta-omics 시대가 시작되면서 shotgun metaproteomics를 이용한 연구가 비로소 가능해졌다. 발표자는 복잡한 미생물 군집의 metaproteomics 연구를 통해 셀룰로스의 고온 혐기성 분해 과정에서 관여하는 미생물과 효소들의 새로운 상호작용을 밝혔으며 *Coprothermobacter proteolyticus*가 매우 강력한 단백질 분해 및 발효 기능을 수행함을 알아내었다(Lü F 등, 2014). 또한

이 연구 그룹에서는 열역학과 미생물의 성장 동력학을 연결하여 적은 파라미터를 가지고도 미생물의 성장을 예측하는 새로운 모델인 microbial transition state theory(MTS)를 고안하였다. 이 이론을 사용하여 미생물의 isotopic fractionation 현상을 해석할 수 있었고, 최소 배지 조건 하에서의 pure culture의 성장을 해석하기도 하였다.

이어지는 심포지엄 세션에서는 새로운 항생제 개발을 위한 기발한 방법에 대한 발표가 이어졌다. 사전 읽기 자료로서 FEMS Microbiology Review의 antimicrobial therapy 리뷰 특별판⁶⁾이 소개되었다.

- Developing novel antimicrobials against gram-negative pathogens - O. Kuipers (The Netherlands)

새로운 항생제 개발이 시급한 세균은 주로 그람 음성 세균이다. 본 발표에서는 란티바이오틱을 응용하여 그람 음성 세균을 퇴치하는 새로운 방법을 소개하였다. 란티바이오틱은 리보솜에서 생합성되므로 유전적 조작이 용이한 장점이 있으나 크기가 비교적 크고 proteolysis에 취약하며 대량 생산이 어렵다는 단점도 있다. 란티바이오틱은 주로 그람 양성 세균에 작용하므로, outer membrane을 통과할 수 있는 꼬리를 달아서 그람 음성 세균에 대한 효과를 높일 수 있다(Hasper HE 등, 2006). 실험 결과에 따르면 란티바이오틱의 효과가 약 12배 정도 증가하였다고 한다. 또 다른 방법으로는 outer membrane-perturbing peptide를 처리하여 그람 음성 세균을 반코마이신이나 nisin에 대한 감수성을 갖게 만드는 것이다. 이 방법으로는 MIC를 40배나 낮추는 효과가 있었다.

- Antibiotics for killing persister cells - K. Lewis (USA)

Jame J. Collins 등은 bacteriocidal antibiotics가 ROS의 생성이라는 공통된 작용 기전으로 수렴한다는 주장을 하여(Dwyer DJ 등, 2009) 한때 폭넓은 지지를 얻었으나 Kim Lewis는 이를 적극적으로 반박하는 논문을 발표한 일이 있다(Keren I 등, 2013). 이는 항생제의 작용 및 내성 기작을 이해하는데 도움이 되는 사항이므로 검토해 볼만하다. 미생물 집단에는 항상 적은 비율로 존재하는 dormant persister는 항생제에 의해 죽지 않기 때문에 만성 감염의 치료에 어려움을 초래하게 된다. 내성은 항생제를 무력화시키거나 항생제 작용 대상을 바꾸어버리는 등의 유전자 변이에 의한 것이라고 한다면, persister가 항생제를 견디는 것은 일반적으로 돌연변이에 의하지 아니한 가역적 과정으로서 tolerance라고 일컫는 것이 적당하다. 가역적 과정이라 함은 다시 정상 상태로 복귀하여 항생제 감수성을 갖게 됨을 의미한다.

연구팀은 일찍이 대장균에서 toxin/antitoxin 모듈의 stochastic expression이 persister 형성에 관여함을 밝혔고(Dörr T 등, 2010) 황색포도알균에서 ATP 수준이

6) https://academic.oup.com/femsre/pages/antimicrobial_therapy

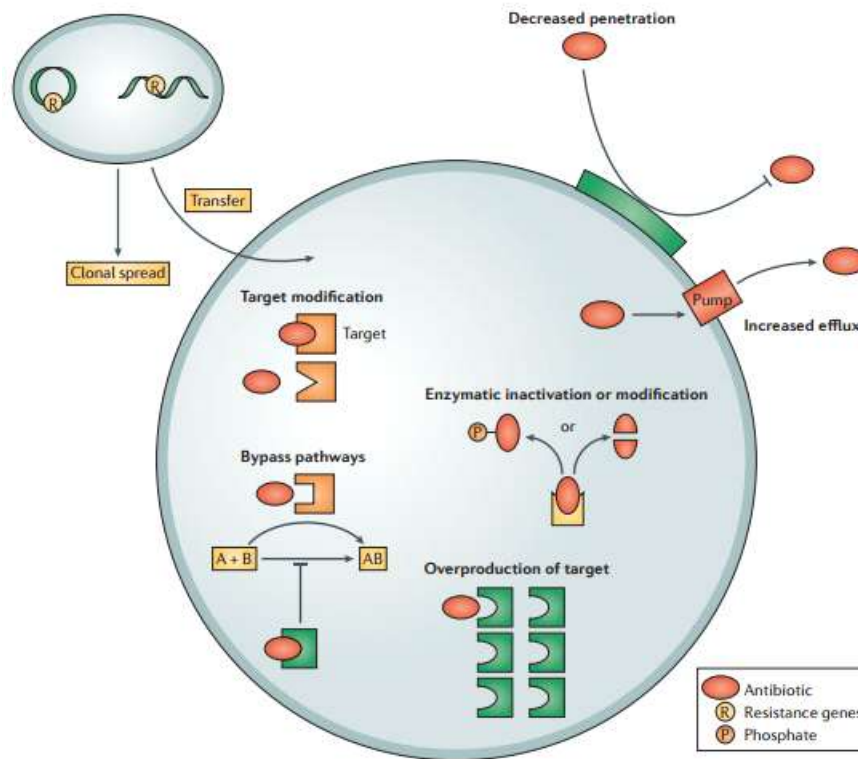


그림 8. 항생제 내성의 원리. 출처: Lewis K, 2013.

낮은 세포가 persister임을 발견하여 이것이 bacterial persistence의 주된 원인이 될 수 있음을 주장하였다. Persister는 많은 측면에서 stationary phase의 세포와 유사하다. 성장 중인 세포 집단에는 항상 stationary persister가 존재하고, 이들의 세포 내 ATP level 역시 낮다. 실험적으로 ATP level을 낮추면 persister와 유사한 행동을 보인다. 또한 Krebs cycle 내 효소를 변동시켜 대장균에서 persister를 생성할 수 있음을 별도의 포스터 로 발표하였다(Yeva Shan, #061 'ATP dependent persister formation in *Escherichia coli*', #062 'Investigation of *Escherichia coli* persisters tolerant to β -lactams using Tn-seq'). 세포내 ATP level이 낮다는 것은 대부분의 항생제의 표적(aminoglycosides: protein synthesis, fluoroquinolones: DNA synthesis, β -lactams: peptidoglycan synthesis)이 inactive함을 의미하므로 persister가 항생제에 대해 내성을 갖게 된다는 새로운 모델을 수립할 수 있다(Conlon BP 등, 2016; Shan Y 등, 2017). 일반적인 항생제로 persister cell을 퇴치하려면 이들을 다시 정상적인 생리 상태로 만들어야 한다. 즉 ATP 수준을 다시 올려야 함을 뜻하는데, 연구팀에서는 ATP를 필요로 하지 않으면서 persister를 퇴치할 수 있는 두 가지의 신개념 항생물질을 개발하였다. 첫 번째는 ClpC1 protease의 dysregulator인 lassomycin으로 배양불가 미생물에서 발견되었는데, 결핵균의 persister를 사멸시키는 효과가 있다. 두 번째는 Betaproteobacteria의 일종인 *Eleftheria terrae*에서 발견된 teixobactin이다(Ling LL 등, 2015). 이 물질은 peptidoglycan을 표적으로 하므로 내성이 생기지 않는다.

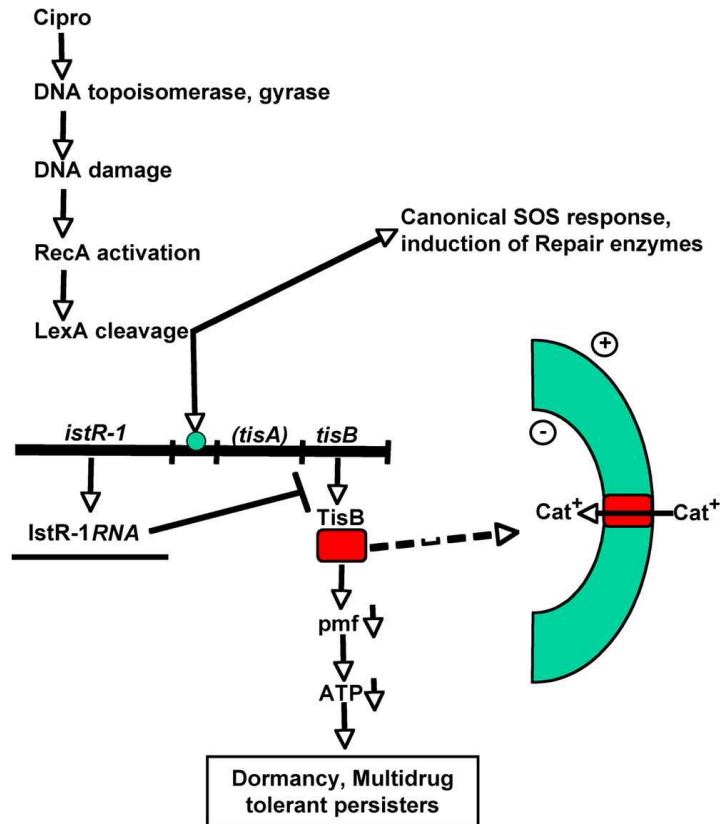


그림 9. Model of ciprofloxacin-induced persister formation. DNA 손상에 의해 촉발된 SOS 반응 과정에서 일부 세포는 TisB toxin을 과다 발현하여 pmf와 ATP가 줄어들게 된다. 출처: Dörr T 등, 2010.

- Engineering antibody-antibiotic conjugate to direct bacterial infections - M. W. Tan (USA)

Genentech의 M. W. Tan은 antibody-antibiotic conjugate(AAC)를 이용한 신개념 감염 치료 기술을 소개하였다. Phagocytic cell에 의해 포식된 황색포도알균은 반코마이신에 의해 죽지 않으므로 오히려 전신으로 감염을 퍼뜨리는 원인이 된다. AAC는 감염균에 특이적인 단일클론항체에 두 분자의 항생물질(rifallog as prodrug)을 링커로 연결한 것인데, 이때 사용한 링커는 lysosome 내에서 끊어진다. 따라서 항체와 병원체가 결합한 상태로 opsonization을 거쳐 phagocyte에 의해 먹히면 보다 효율적으로 병원체를 죽일 수 있는 것이다. 항원으로 선택한 cell wall teichoic acid 구조 내에서 가장 효율적인 부분을 찾은 결과 β -WTA가 선택되었다. 그러나 항생제를 연결하지 않은 단일클론항체 단독으로는 효과가 없었다 현재 이 기술은 임상 1a 단계를 성공적으로 완수하였고 bacteremia 환자를 대상으로 하는 임상 1b 시험을 진행 중이다. 이 기술을 적용할 다음 대상은 결핵균이 될 것이다.

- Innovative antibiotics from microbes: identification, mode of action and resistance mechanism - R. Muller (Germany)

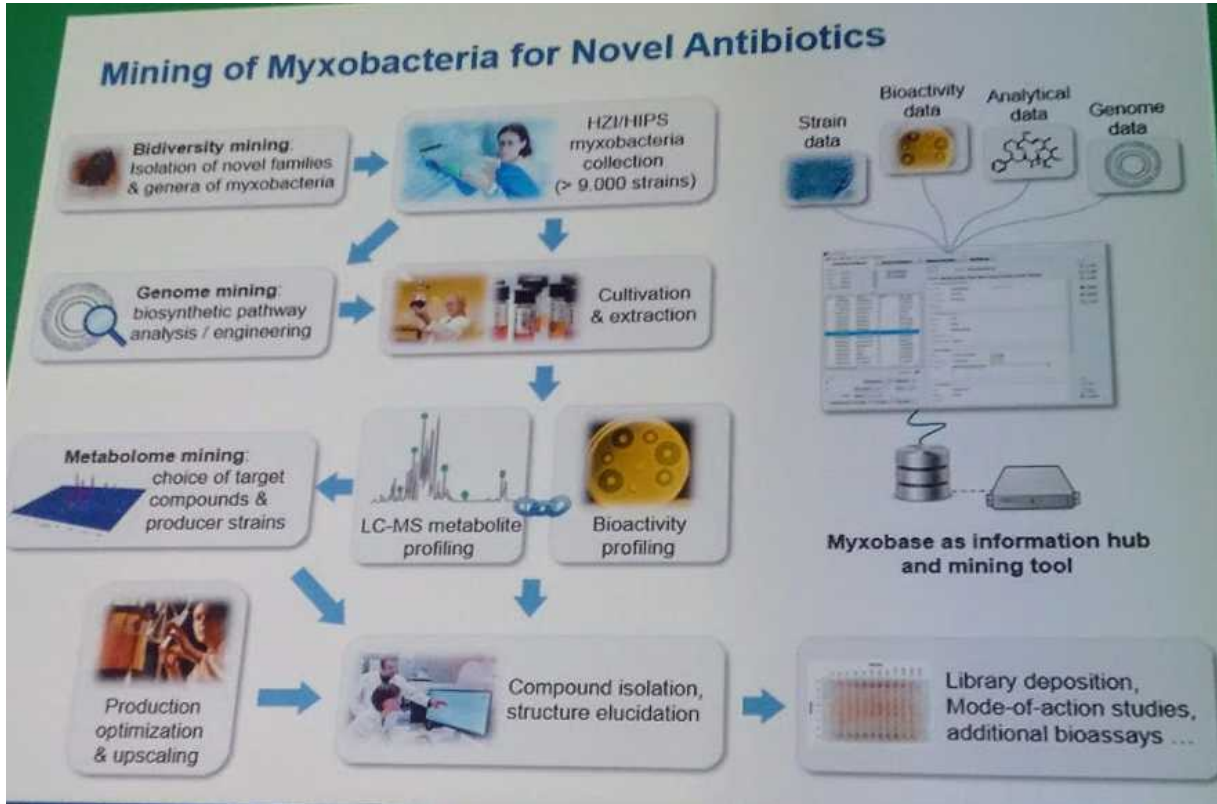


그림 10. 신규 항생물질 발굴을 위한 점액세균의 마이닝 체계.

점액세균의 유전체에는 균주 당 최대 50개의 신규 천연물 생합성 유전자를 갖고 있으나 최종 산물의 정확한 구조와 활성을 알기는 매우 어렵다. 독일의 Helmholtz Institute for Pharmaceutical Research에서는 9천 종을 넘는 점액세균 컬렉션으로부터 genome data와 대규모의 질량분석 연구 및 활성 프로파일링 테스트를 수반하는 종합 분석 시스템을 구축하여 신규 항생물질의 발굴 연구에 주력하고 있다.

오후에는 미생물 검출 방법에 관한 워크숍에 참석하였다. 6건의 발표 중 특별히 관심을 갖고 들었던 강연을 요약해 본다.

- Current and developing technologies for monitoring airborne bacterial pathogens - I. P. Beletsky (Russia)

공기 중의 병원성 미생물을 검출하려면 연속적인 모니터링이 매우 중요하다. 광학적 방법, 질량분석법, 라만 스펙트럼 등 다양한 방법이 있으며, 바이오센서에 의한 검출 방법의 검출 한계는 10^3 - 10^4 cfu/ml 수준이다.

- The gut microbiome in health and disease: from complex diversity to model ecosystems - T. Clavel (Germany)

장내 microbiome의 연구가 발전하면서 정확히 어떤 미생물이 존재하는지를 평가하는 방법에도 이제는 표준화가 필요하다. 현재 배양 위주의 방법과 NGS에 의한 방법이 공존하고 있으나 아직도 정확한 estimation은 어려운 실정이다. 널리 활용되

는 16S rRNA gene amplicon data analysis pipeline으로는 Qiime, mothur, Rhea, Phylo-seq 등의 방법이 있으며, 새롭게 개발된 웹 기반의 분석 도구인 INMGS(integrated microbial NGS platform⁷⁾를 소개하였다. 최근 장 질환의 신개념 치료 방법으로서 fecal microbiota transplantation에 관한 관심이 집중되고 있다. 연구 결과에 의하면 이식 후 donor와 recipient의 상관관계가 유지됨을 입증할 수 있는데, 결국 인간 장내 microbiota를 구성하는 모든 미생물의 배양이 가능할 것으로 본다. 독일의 DSMZ에서는 이미 마우스에 대하여 이 작업을 수행하고 있다. 2016년 독일 연구팀에서는 15종의 미생물 콘소시엄이 생쥐에서 살모넬라의 감염을 막는 효과가 있음을 입증하기도 하였다(Brugiroux S 등, 2016).

- Absolutely quantification and characterization of viable gut microbiota - S. Tamburini (USA)

SYBR Green I과 propidium iodide로 염료를 사용하면 생존한 세포와 사멸한 세포를 구별할 수 있다. 염색 후 FACS-seq을 거쳐서 생존한 미생물 세포만을 선별, 분류학적 분석을 실시하는 방법을 소개하였다.

- Functional analysis of the gut microbiota using single cell isotope probing - D. Berry (Austria)
- Noninvasive colorimetric detection of foodborne pathogenes based on the trapping of volatile metabolites - P. R. Marcoux (France)
- Cyto-Water: a new platform for *Leigoneilla* and *E. coli* rapid detection and quantification in environmental waters - E. Soria-Soria (Spain)

○ 2017년 7월 12일(수) - 학술대회 제4일

수요일 오전의 기초 강연에서는 소장 of crypt(선와腺窩)에서 일어나는 미생물과 상피세포의 상호작용에 관한 발표를 하였다. Crypt의 기저부에서는 줄기세포가 위치하여 상피세포의 재분화가 이루어지는데, crypt의 내부에서 호기성 비발효성 미생물인 *Acinetobacter*, *Delftia* 및 *Stenotrophomonas*가 서식하는 것이 알려지면서(crypt-specific core microbiota, CSCM) 기주 조직의 재생/수리 및 미생물간의 직접적인 접촉을 통한 상호작용을 연구하는 좋은 모델이 되고 있다. 생쥐를 대상으로 16S rRNA 분석 실험에서 *Acinetobacter*는 CSCM의 60%를 차지하며 다음으로 많은 것은 *Delftia*인데, 이상의 단 두 종의 세균이 CSCM의 70% 이상을 점유한다는 것이 밝혀졌다. Germ-free mouse에 *Acinetobacter*를 공급하면 이들이 crypt로 이동하여 colonization을 하는 것도 확인되었다. 발표자는 X-ray 조사나 세포 독성 약물(doxorubicin)에 대하여 stem cell을 보호하는 MDP-Nod2 신호 경로를 발견하였으며, crypt의 보호와 항상성 유지에

7) <http://www.imngs.org>

CSCM이 기여함을 주장하였다. 좀 더 구체적으로는 CSCM에서 유래한 muramyl-dipeptide와 LPS가 중요한 역할을 하며, 반면 미생물이 생성하는 butyrate는 colon stem cell의 증식을 억제하는 효과가 있다고 하였다(Kaiko GE 등, 2016).

- Priorities in our combat of antimicrobial resistance - J. W. M. Van Der Meer (The Netherlands)

최근 병원 내 감염을 중심으로 항생제 내성이 급증하고 있다. 내성을 부추기는

항목(7/12 수요일)	주제
Plenary lecture	Decrypting microbe-cell cross-talks in the intestinal crypt: microbiome and epithelial regenerations★ - P. Sansonetti (France)
Symposia	- AMR (antimicrobial resistance), public awareness, politics★(오전) - Extreme environments, archaea, and bacteria - Microbiota-host interactions - Protein folding and protein secretion pathways
SEM-symposia	- SEM-SEV: viral pathogenesis mediated by small RNAs and RNA silencing suppressors - Structural nanomicrobiology - Bacterial lifestyle associated with olive trees and other woody plants - Yeast as eukaryotic models and cell factories
Poster presentation	- Environmental microbiology - Host-microbe interaction, gut microbiome and health - White biotechnology
Workshop	- Anaerobic communities - FEMS-ESCMID★(오후) - Food microbiology-safety - Genomics, evolution, phylogeny - Global metabolic cycles - Surprises in microbial metabolism
FEMSLE-symposium	Biotransformation
FEMSYR-symposium	Pathogenic yeast
Special/sponsored events	- European Culture Collections Organization (ECCO): mBRCs: the new vision for culture collections - From research to startup creation - ICSP session: role of genome sequence analysis in polyphasic taxonomy and prokaryotic systematics - SEM-FEMS-ASM: omics impact and perspectives on the microbial taxonomy, diversity, and ecology

표 6. 7월 12일 발표 주제.

driving force는 바로 항생제의 남용이다. 그러나 1987년 이후 새로운 항생제의 발견

및 개발 파이프라인은 거의 중단된 상태로 이를 되살리는 것이 급선무이다. 유럽 연합의 여러 기구에서는 항생제 내성에 대처하기 위한 권고사항을 제정하였기에 이를 소개한다. EASCA(European Academies Science Advisory Council)에서는 2014년 독일 하노버에서 회합을 갖고 다음과 같은 권고사항을 의결하였다(van der Meer JW 등, 2014). 중요한 것은 연구개발 이외의 분야에서도 행동할 것이 많다는 점이다.

<Recommendations of the EASCA meeting>

1. Support basic research
2. Install EU platforms for compound identification, lead optimization and characterization
3. Address bottlenecks in pre-clinical and early clinical development
4. Optimise EU partnerships for research and strategy
5. Rethink regulatory frameworks
6. Raise public awareness

<Recommendations from EASAC and FEAM(Federation of European Academies of Medicine) for EU priority action (2016)>

1. Enhance public awareness
2. Promote the development of new drug, take away the obstacles (including those for market entry), and promote the development of new vaccines
3. Reduce unnecessary agricultural use of antimicrobials and prohibit prophylactic use of antibiotics in agriculture
4. Invest in antibiotic stewardship and antibiotic team, train students and physicians, and increase the workforce for infectious disease and microbiology
5. Stimulate the development of rapid diagnostics and implement these
6. Make hygiene a priority and implement strict rules of hand hygiene for health-care workers
7. Stop over the counter selling of antibiotics in Europe and regulate internet sales. Stop sales promotion of antibiotics.
8. Intensify the surveillance activities (antimicrobial resistance and antibiotic use) of the European Centre for Disease Prevention and Control

여기서 흥미로운 것은 ‘antibiotic (or antimicrobial) stewardship’이라는 개념이다. 이는 환자의 건강 상태를 증진시키고 항생제 내성을 줄이며 동시에 불필요한 비용을 줄이기 위해 항생제 사용법을 개선하는 조직적인 전략을 뜻한다. 항생제 내



그림 11. 발표장의 모습

성에 관한 최근의 종합적인 리뷰는 이른바 O'Neill report로 알려진 'Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendation (2016)⁸⁾에 상세히 수록되었다. 마지막으로 발표자는 AMR에 대처하는 One Health Action Plan(2017년)⁹⁾을 소개하였다. 이 문서에서는 EU를 항생제 내성 문제에 관한 한 best practice region으로 만들겠다는 의지가 담겨있다.

- Antibacterial drug R&D in response to antibiotic resistance - U. Theuretzbacher (Austria)

항생제 내성 감염균 중에서도 특히 그람 음성 carbapenem 내성(CR) 세균 (*Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*)의 위협이 심각한 연실이다. 발표자는 2008년부터 2014년까지 SMART Global Surveillance Program에 의해 진행된 carbapenem 분해 *Enterobacteriaceae* isolate의 연구를 소개하면서 내성의 원인이 지역에 따라 다를 수 있음을 강조하였다(Karlowsky JA, 2017). 현재 CR 감염균 치료를 위한 30종 이상의 약물이 임상 시험 중이며 세계보건기구에서는 병원균의 우선 순위를 조정하기 위한 몇 가지 옵션을 갖고 있다. 내성 대응에 대한 R&D로는 아직 불충분하며, 교차 내성이 없는 신약(novel chemical structure, novel binding site, novel mode of action)이 필요한 시점이다.

8) https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

9) https://ec.europa.eu/health/amr/sites/amr/files/amr_action_plan_2017_en.pdf

One Health: is a term used to describe a principle which recognises that human and animal health are interconnected, that diseases are transmitted from humans to animals and vice versa and must therefore be tackled in both. The One Health approach also encompasses the environment, another link between humans and animals and likewise a potential source of new resistant microorganisms. This term is globally recognised, having been widely used in the EU and in the 2016 United Nations Political Declaration on AMR.

그림 12. One Health의 정의. (출처: A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance (AMR))

- Fighting AMR by responsive use of antibiotics: the veterinary approach - R. van Dobbenburgh (The Netherlands)

동물성 단백질에 대한 수요가 급증함에 따라 축산업도 그 규모가 커지고 있다. 따라서 건강한 동물을 사육하기 위해 축산업에 항생제를 사용하는 것이 당연히 여겨지고 있지만 여기에는 잘못된 편견이 분명히 존재한다. 예를 들어 ‘동물을 아무 의약품을 투여해도 된다’ ‘동물은 평생 내내 항생제가 첨가된 사료를 먹는다’ ‘동물 유래 식품을 먹는다는 것은 항생제를 먹는 것이다’ 등이다. 그러나 이는 모두 잘못된 생각이다. 예를 들어 EU에서는 항생제가 포함된 성장 촉진제는 철저히 금지되고 있기 때문이다. 사람과 동물은 많은 것을 공유하는 생태계의 한 일원으로서 항생제 내성 문제는 가축에게도 똑같이 일어나며, 인간 못지않게 동물의 건강과 복지도 중요하다. ‘항생제는 가능하면 적게 써야 한다. 그러나 필요한 만큼 써야한다’는 역설적인 표현으로 이 문제의 어려움을 나타낼 수 있다. 항생제의 제한적이고 책임 있는 사용만이 올바른 나아갈 길로서 현재 유럽에서 항생제 판매 실적을 엄격하게 보고하도록 만듦에 따라서 전반적인 항생제 사용량이 감소하였으며 항생제 내성도 줄어 들었다는 긍정적인 성과를 얻었다.

- AMD strategy - Future challenges for policymaking - E. Smith (UK)

2016년 UN에서도 항생제 내성 문제에 관한 고위급 회담¹⁰⁾을 소집하고 선언서(‘Political declaration on AMR¹¹⁾’를 채택할 정도로 항생제 내성 문제는 전 세계적인 관심사가 되고 있다. 이를 여러 레벨에서 다루어야 할 문제이므로, 다양한 정책 맥락에서 어떤 해결책을 제시해야 하는지를 논의하였다.

오후에 참석한 FEMS-ESCMID workshop의 주제는 ‘antimicrobial resistance and environment’였다.

- Antimicrobial peptides and the evolution of resistance - B. Papp (Hungary)

10) <http://www.un.org/pga/71/event-latest/high-level-meeting-on-antimicrobial-resistance/>

11) <http://www.un.org/pga/71/wp-content/uploads/sites/40/2016/09/Draft-AMR-Declaration.pdf>

Antimicrobial peptide는 양전하를 띠는 cation으로서 대단히 다양한 기능을 수반한다. 이번 발표에서는 일반 항생제에 대한 내성을 갖는 미생물이 오히려 antimicrobial peptide에 감수성을 갖는, 즉 collateral sensitivity를 띠게 되는 현상을 활용하여 감염균의 제어 방법을 마련하려는 연구를 소개하였다. 60개 집단의 대장균에 12가지의 항생제를 처리하여 장기실험진화를 수행한 결과 모두 30일 이내에 높은 내성을 획득하였다. 더군다나 하나의 항생제만을 제공했음에도 불구하고 multiple resistance를 얻는다는 것이 놀라웠다. 그러나 다른 collateral sensitivity가 발생하는 것은 유전자 발현 변화의 부산물로 볼 수 있는데, LPS 생합성의 변화가 그 원인이 되기도 한다. 초기 실험에서는 antimicrobial peptide인 PGLA를 adjuvant로 같이 주었을 때 내성 박테리아에 대한 항생물질의 효과를 회복하는 것을 발견하였다.

- Can we predict the evolution of antimicrobial resistance? - R. Kishony (Israel)
항생제 처리는 장기적으로 내성 진화를 유발한다는 근본적인 문제점을 안고 있다. 최근에는 selection inversion을 통하여 내성을 갖는 세균을 먼저 퇴치한 후 감수성 박테리아를 나중에 항생제로 죽이는 새로운 시도가 제안되고 있다(Baym M 등, 2016a). 이를 위해서는 유전체 정보를 이용하여 내성 특성을 사전에 내다보는 해안과, 내성과 관계된 생체 회로를 재편하는 처리 기술('resistance-rewinding treatment')가 필요하다. 이스라엘의 R. Kishony는 하바드 의대와 공동으로 단계적으로 농도가 높아지는 항생제가 포함된 대형 사각 평판 배지(MEGA-plate; 2x4 피트 크기)에서 대장균이 내성을 발전시키며 자라나는 모습을 동영상¹²⁾으로 촬영하여 parallel한 항생제 내성의 진화 궤적을 시각적으로 모니터링한 연구로 주목을 받은 바 있다(Baym M 등, 2016b). 각 변이주에 대한 유전체 염기서열을 해독한 결과 positive selection 하에 놓인 유전자를 발견하였다. 다음 연구에서는 동일한 사람으로부터 *Burkholderia dolosa*를 수년 동안 계속 분리하여 유전체 분석을 하였더니 평균적으로 1년에 2개의 SNP를 생성하는데, 항생제 내성 유전자의 변이는 parallel 및 multiple stage로 진화하는 것을 발견하였다. 그러나 여러 환자로부터 반복적으로 나타나는 변이는 강한 positive selection하에 놓인 유전자의 것으로 확인되었다. 말하자면 단일 계통이 살아남아서 후대에 이어지는 것이 아니라 다양한 community로서 존재한다는 것이다. 다음으로는 한 환자 폐조직의 서로 다른 위치에서 분리된 병원체의 유전체를 분석해보니 다양한 항생제 내성을 갖는 여 lineage가 공존함을 알 수 있었다. 이는 한 기관이라 해도 위치에 따라서 선택압이 다르므로 이에 따라 parallel mutation이 생기는 것으로 해석할 수 있다.
- Low cost, high throughput, in vivo screening of novel antimicrobials for

12) <https://youtu.be/pIVk4NVIUh8>

<http://news.harvard.edu/gazette/story/2016/09/a-cinematic-approach-to-drug-resistance/>

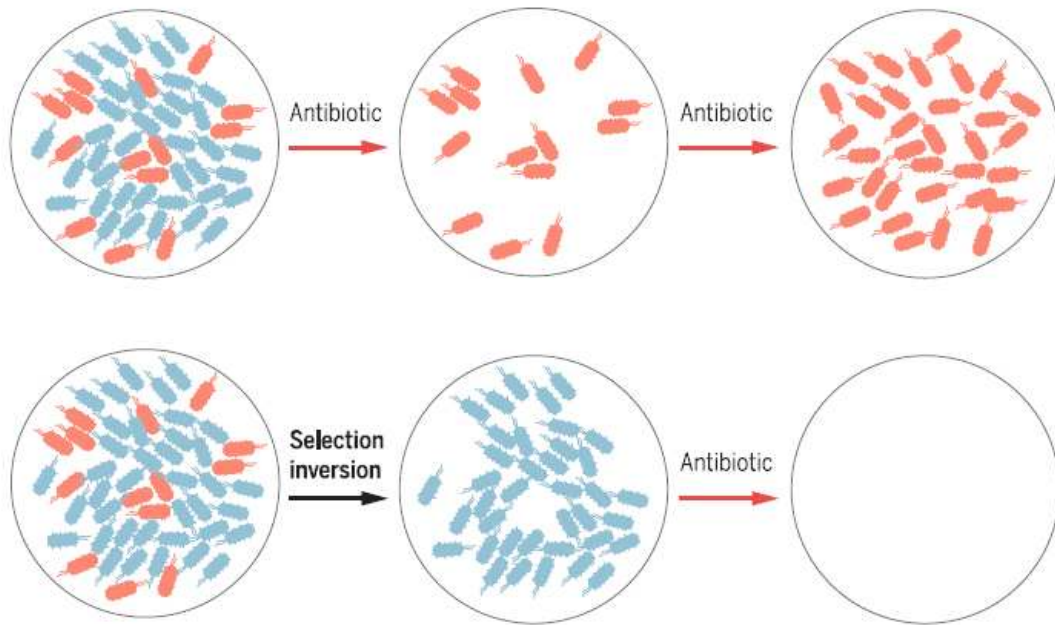


그림 13. Countering antibiotics resistance through selection inversion
(출처: Baym M 등, 2016a)

efficacy and toxicity using TruLarv™ *Galleria mellonella* - O. Champion (UK)

포유동물을 미생물 감염 모델로 쓰는 것은 동물 실험 윤리와 비용 등의 문제로 점점 어려움을 겪는 것이 현실이다. 이에 대한 대안으로 주목을 받는 것이 곤충인 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*)의 유충이다. 이 동물은 사람과 유사한 innate system이 있으며 진균을 포함한 다양한 인간 감염균이 병을 일으킨다. 낚시용 미끼 상점에서 파는 꿀벌부채명나방의 유충은 표준화가 되어있지 않고 사료에 항생제와 호르몬이 섞여있어 문제가 된다. 발표자가 소속된 영국의 BioSystems Technology TruLarv™라는 표준화된 유충을 제공하고 있으며, 현재 actinomyces에서 신규 항생제용 선도물질을 발굴하는 연구 등에 쓰인다. 이 동물은 crude extract를 이용한 신속한 스크리닝에 매우 유용하다.

- A long-term epigenetic memory switch controls bacterial virulence bimodality - I. Ronin (Israel)

유전적으로 균일한 병원체의 clonal population도 감염 효율을 높이기 위해 다양하게 형질을 스위치하는 현상이 종종 관찰된다. 감염체가 host에 진입한 뒤 환경으로부터 신호를 받아서 virulence gene들을 발현하는 현상은 많이 연구되어 있지만, 세포가 비활성 상태로 전이되는 것에 대해서는 아직 이해가 부족한 현실이다. 이 연구에서는 ScanLag 기법을 사용하여 enteropathogenic *E. coli*(EPEC O127:H6) 집단이 배양 중에 biomodal growth rate를 보이는 것을 관찰하였고 이를 수학적으로 모델링하여(long-term hysteretic memory-switch), non-virulent 집단과 hyper-virulent 집단이 안정적으로 공존함을 밝혔다. 즉 virulence factor를 발현하는

것이 호의적이지 않은 조건에 진입했을지라도 major virulence factor는 지속적으로 발현되며, 여기에 *perA/perB* 유전자가 관여한다는 것이다.

- Antibiotic resistance genes in bacteriophages DNA fraction of human fecal samples and bacteria isolated from feces - M. Muniesa (Spain)

인간의 분변에서는 막대한 양의 박테리오파지가 존재한다. 이들이 항생제 내성 유전자의 전달자 역할을 실제로 하는지 알아보기 위하여 139명의 건강한 사람의 분변에서 82종의 대장균 및 *Klebsiella pneumoniae* 균주를 분리한 뒤 mitomycin C 처리를 하여 유도된 박테리오파지의 항생제 내성 유전자(AGR)를 qPCR로 정량하였다. 그 결과 72%의 샘플은 최소한 1개 이상의 AGR을 갖고 있었다. *bla*_{TEM}이 가장 많았으며 다음은 *qnrA*, *sul1*, *bla*_{CTX-M-G} group과 *armA*의 순이었다. 이들 AGR은 아마도 장내 세균에서 유래했을 것으로 보인다. 박테리오파지의 유도 여부는 TEM으로 확인을 하였다. 그러나 마지막 날인 7월 13일 오전의 심포지엄에서 E. Francois가 발표한 'Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for viromology'에서는 박테리오파지가 ARG의 매개체 역할을 하리라는 믿음은 과장된 것이라고 하였다.

- Bacteriophages and antibiotic resistance in cystic fibrosis - M. Brown-Jaque (Spain)

Cystic fibrosis 환자의 객담에서 추출한 박테리오파지 입자를 가지고 위의 연구와 유사한 실험을 실시한 결과를 발표하였다.

○ 2017년 7월 13일(목)

마지막 날인 7월 13일에는 기초 강연과 심포지엄 및 폐회식과 시상식을 끝으로 정오 무렵에 일정이 종료되었다. 직접적인 전공 분야가 아니어서 늘 부족함을 느꼈던 바이러스학 분야의 이해를 넓히기 위해 마지막 날에는 중일 바이러스 주제의 강연을 듣는 것으로 마무리하였다. 바이러스는 인체에 감염하여 병을 일으키기도 하지만 박테리오파지가 항생제 내성 유전자를 병원성 세균으로부터 다른 세균으로 옮기는 매개체 역할을 할 가능성이 요즘 널리 종종 보고되고 있기 때문이다. 기초 강연에서는 전 세계적인 보건 문제로 대두된 인플루엔자 바이러스의 RNA-dependent RNA polymerase(RdRP)의 작용 메커니즘에 관한 내용을 공부할 수 있었다. Heterotrimer 구조의 이 효소는 viral genome의 복제뿐만 아니라 유전자 발현을 위한 전사까지도 담당하게 되는데, host의 capped mRNA를 잡아채서 cap 이하의 8-14 nt를 잘라버린 뒤 자신의 mRNA 전사 개시용 primer로 사용하는 'cap-snatching' 과정을 수행하는 것이 특징이다. RdRP의 구조와 작동 원리를 밝히는 것은 그 자체로도 매우 흥미롭지만 조류에 감염되던 바이러스가 인간에게 퍼지는 interspecies transmission의 이해와

새로운 항바이러스제의 개발을 위해 대단히 중요하다.

항목(7/13 목요일)	주제
Plenary lecture	Virology, new viruses, RNA polymerase★ - S. Cusack (France)
Symposia	- Global microbiome - Insect-microbe interactions - Microbial communities - Microbial macromolecular assemblies - The environmental virome★
SEM-symposia	- CRISPR as it is - SEM-SEIMC: antimicrobial stewardship: from the lab to the patients
FEMSEC-symposium	Climate change

표 7. 7월 13일 발표 주제.

다음으로는 마지막으로 참석한 심포지엄인 ‘The environmental virome’에서 청취한 내용을 요약하였다.

- Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for viromology - E. Francois (France)

장내에서 얻은 viral metagenome(virome)에 대한 최근의 분석 결과에 의하면 박테리오파지가 항생제 내성 유전자(ARG)를 옮기는 매개체 역할을 할 것으로 제안하고 있으나 이는 상당히 과장된 주장이라는 것이 발표자의 연구 결과이다(Enault F 등 2016). 즉 좀더 보수적인 threshold를 가지고 분석을 하면 ARG는 virome이 아니라 세균 유래 contig에 존재하며, ARG로 여겨지는 유전자 4개를 대장균에 도입하여 실험을 하였더니 전혀 항생제 내성을 유발하지 않았다. 따라서 파지 계놈에는 실제 ARG가 거의 존재하지 않는다는 것이다.

- Viral communities from polar environment - A. Alcamí (Spain)

스페인인 Spanish Polar Programme의 지원을 통하여 극지의 바이러스 연구를 선도해온 국가이다. 극한 환경인 극지는 인간의 개입이 거의 없고 단순한 생태계이므로 환경 내 바이러스의 역할을 연구하기에 적합한 좋은 지역이다. 남극에서 최초로 바이러스를 발견한 것도 이 연구팀의 업적이었다. 극지에는 예상외로 다양한 ssDNA 바이러스가 존재하며 계절에 따른 shift가 관찰되는데, 남극과 북극에 분포하는 바이러스 사이에서는 큰 관련성은 없었다. 남극에서 우점하는 RNA 바이러스는 picornavirales(quasispecies)에 해당하였으며, 일부 ssDNA virus에서는 매우 높은 서열 다양성을 관찰할 수 있었다.

- Comparative genomics of the giant Pandoraviruses - M. Legendre (France)

*Bradford coccus*라는 이름으로 알려졌던 세균이 실제로는 1.18 Mb라는 거대한 유전체를 갖는 바이러스(Mimivirus)라는 것이 2003년 처음 밝혀지면서 본격적인 거대

바이러스의 연구 시대가 열리게 되어 현재까지 Mimivirus, Pithovirus 및 Pandoravirus의 3가지 lineage가 발견되었다. 메타게놈 데이터에서 거대 바이러스의 흔적을 확인하는 방법 외에도 flow cytometry나 cultivation-based method 등을 통해서 다양한 환경 - 심지어는 인간의 각막염이나 BC 34-37세기에 형성된 시베리아의 영구동토 샘플에서도 - 에서 그 존재를 확인할 수 있다. 바이러스의 게놈은 database match가 극히 적어서 주석화가 어려우므로 RNA-seq이나 proteomics와 같은 최신 연구 기법을 동원하기도 한다. 거대 바이러스의 유전자는 인트론이 존재하며 long UTR 및 lncRNA를 갖는 특성이 있다.

- Viruses from hypersaline environments - J. Antonio (Spain)

NaCl이 거의 포화상태로 존재하는 고염분 수생생태계에서는 진핵생물과 세균의 수와 다양성은 현저히 줄어들지만 고세균과 바이러스는 수는 오히려 증가한다. 따라서 이 환경은 박테리오파지와 고세균의 상호작용을 연구하기에 매우 적합하다. 이 연구그룹은 이미 극한 호염성 환경의 metatranscriptome 분석(Santos F 등, 2011)과 *Salinibacter ruber*의 비교유전체 분석(Peña A 등, 2010)을 통하여 세균과 파지 간의 상호작용에 관한 연구 성과를 발표한 바 있으며, 인공 환경에서의 실험을 이용하여 현재 통용되는 kill the winner 모델에 미칠 영향을 도출하기도 하였다.

모든 공식행사를 모두 마친 뒤 발렌시아 북역(Estació del Nord) 서쪽에 위치한 차이나 타운에서 점심 식사를 하고 호텔에 맡긴 짐을 찾아 택시를 이용하여 Sorolla 역까지 이동하였다. 다시 Renfe를 이용하여 바르셀로나에 도착, 지하철로 카탈루냐 역으로 온 다음 같은 호텔에 투숙하였다.

2. 관련 정보자료의 분석 내용

학술대회 프로그램을 통해 접한 주요 강연의 요약과 배경 지식 및 중요성은 본문 중에 상세히 기재하였으며 참고문헌으로도 인용하였다. 각 전문 분야의 최신 학술적 동향 못지않게 관심을 끌었던 것은 7월 12일 오전의 'AMR: public awareness, policies' 심포지엄이었다. 다양한 역사적 배경을 갖고 있지만 하나의 공동체라는 대전제 하에서 유럽을 AMR 문제 해결과 관련한 모범 사례지역으로 만들겠다는 의지가 단연 돋보였다. AMR을 과학기술로만 해결하려는 것이 아니라 범 국가수준의 정책을 동원함과 동시에 대중 계몽을 통해서도 접근하려는 점을 매우 높게 평가하고 싶다.

제 3 장 결론

1. 주요내용 요지

- 스페인 발렌시아에서 열린 FEMS 2017(7th Congress of European Microbiologists)에 참여하여 대장균 RR1(HB101 RecA⁺)의 유전체 해독 및 분석을 포함한 총 세 편의 포스터를 발표하였다.
- 소속 부서인 감염병 연구센터의 중점 연구분야와 부합하는 resistome, 항생제 내성 극복을 위한 신개념 기술 및 관련 정책에 관한 최신 동향을 파악하였다.
- Metagenomics 기술과 최근의 long read sequencing platform을 이용한 resistome 분석 방법을 알아보았다.

2. 제도개선에 관한 건의사항

항생제 내성 극복 문제는 신규 항생물질의 개발이라는 R&D 영역에서 그 책무를 다하는 것만으로 해결될 성질의 것이 아니다. 일상생활을 하면서 겪는 부주의한 항생제 오남용이나 축산 농가에서 예방용으로 사료에 첨가하는 항생제 등이 결국은 우리를 둘러싼 환경으로부터 resistome을 발전시키는 원동력이 될 수 있다. 따라서 철저한 과학적 사실에 입각하여 일반인이 쉽게 지킬 수 있는 국민행동요령 등의 지침을 작성하여 배포하는 것이 필요하다고 본다. 일반적인 자연재해나 재난·사고에 대응하는 요령은 어느 수준 갖추어져 있다고 판단하지만, 일반 국민들에게 항생제 내성 문제란 아직 심각한 재난으로 인식되지 않았다고 생각된다.

3. 유사목적으로 여행하게 될 여행자를 위한 조언

스페인 발렌시아는 우리나라에서 항공편으로 한 번에 갈 수 없으므로 유럽 내 다른 도시 혹은 마드리드에서 환승을 하거나 올해부터 새롭게 취항하는 인천-바르셀로나 간 직항(대한항공)을 이용하여 바르셀로나에 도착한 다음 국영철도를 이용하여 바르셀로나로 이동하는 방법이 있다. 발렌시아는 스페인 제3의 도시로서 다른 대도시와 마찬가지로 버스 또는 지하철 등의 대중 교통이 잘 갖추어진 편이라 최종 목적지까지 도달하는 데에는 특별한 불편함이 없다. 스페인은 나아졌다고는 하나 2017년 현재 경제상황이 좋지 않은 편이고 실업률도 매우 높다. 그러나 외국인 여행자가 피부로 느끼는 물가, 특히 식료품과 음식 가격은 전통적인 농업 대국민만큼 매우 저렴하다. 특히 7-8월 동안은 Rebajas라 불리는 패션업계의 국가적인 바겐세일 기간이기도 하다.

경유지인 바르셀로나는 스페인에서 두 번째로 큰 도시이며 세계적인 관광도시이기도 하다. 관광객이 몰리는 곳에는 소매치기가 많기로 악명이 높는데, 특별히 신체에 위해를 가하지는 않으므로 가방을 앞으로 매는 등 소지품에 주의하는 것으로 충분하다. 스페인은 다른 유럽 국가만큼 영어가 잘 소통되는 곳이 아니다. 바르셀로나는 세계 각지에서 관광객이 모이는 곳이라서 약간 나은 편이지만 발렌시아는 그렇지 못함에 유의하는 것이 좋을 것이다. 대신 팁 문화가 없어서 관광객에게는 유리하다.

발렌시아와 바르셀로나가 속한 카탈루냐 지방은 스페인의 통일 이전부터 독자적인 왕국을 형성해왔고 카탈루냐어를 지금도 스페인어와 더불어 공용어로 사용하고 있으며, 지금도 꾸준히 분리독립을 주장하는 등 중앙정부와 다소간의 긴장상태를 유지하고 있다는 사실을 기억하는 것이 현지인의 정서를 이해하는데 도움이 될 것이다.

4. 기타 국가발전에 기여할 수 있는 사항

해당 사항 없음.

제 4 장 수집자료 및 참고 문헌

1. 수집 자료

행사 안내용 소책자(출장자 소장)와 참가 확인서를 제외한 공식적인 인쇄물 자료는 제공하지 않았으며, 인터넷에 존재하는 기타 자료의 링크는 제1장(서론) 1. 여행의 배경에 수록하였음.

2. 참고 문헌

1. Baym M, Stone LK, Kishony R. Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance. *Science*. 2016 Jan 1;351(6268):aad3292.
2. Baym M, Lieberman TD, Kelsic ED, Chait R, Gross R, Yelin I, Kishony R. Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes. *Science*. 2016 Sep 9;353(6304):1147-51.
3. Brugiroux S, Beutler M, Pfann C, Garzetti D, Ruscheweyh HJ, Ring D, Diehl M, Herp S, Lötscher Y, Hussain S, Bunk B, Pukall R, Huson DH, Münch PC, McHardy AC, McCoy KD, Macpherson AJ, Loy A, Clavel T, Berry D, Stecher B. Genome-guided design of a defined mouse microbiota that confers colonization resistance against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Nat Microbiol*. 2016 Nov 21;2:16215.
4. Conlon BP, Rowe SE, Gandt AB, Nuxoll AS, Donegan NP, Zalis EA, Clair G, Adkins JN, Cheung AL, Lewis K. Persister formation in *Staphylococcus aureus* is associated with ATP depletion. *Nat Microbiol*. 2016 Apr 18;1:16051.
5. Delavat F, Miyazaki R, Carraro N, Pradervand N, van der Meer JR. The hidden life of integrative and conjugative elements. *FEMS Microbiol Rev*. 2017 Mar 25. [Epub ahead of print]
6. Dörr T, Vulić M, Lewis K. Ciprofloxacin causes persister formation by inducing the TisB toxin in *Escherichia coli*. *PLoS Biol*. 2010 Feb 23;8(2):e1000317.
7. Dwyer DJ, Kohanski MA, Collins JJ. Role of reactive oxygen species in antibiotic action and resistance. *Curr Opin Microbiol*. 2009 Oct;12(5):482-9.
8. Enault F, Briet A, Bouteille L, Roux S, Sullivan MB, Petit MA. Phages rarely encode antibiotic resistance genes: a cautionary tale for virome analyses. *ISME J*. 2017 Jan;11(1):237-247. doi: 10.1038/ismej.2016.90. Epub 2016 Jun 21.
9. Fondi M, Karkman A, Tamminen MV, Bosi E, Virta M, Fani R, Alm E, McInerney JO. "Every Gene Is Everywhere but the Environment Selects": Global Geolocalization of Gene Sharing in Environmental Samples through Network Analysis. *Genome Biol Evol*. 2016 May 13;8(5):1388-400.
10. Hasper HE, Kramer NE, Smith JL, Hillman JD, Zachariah C, Kuipers OP, de Kruijff B, Breukink E. An alternative bactericidal mechanism of action for lantibiotic peptides that target lipid II. *Science*. 2006 Sep 15;313(5793):1636-7.
11. Jiang X, Ellabaan MMH, Charusanti P, Munck C, Blin K, Tong Y, Weber T, Sommer

- MOA, Lee SY. Dissemination of antibiotic resistance genes from antibiotic producers to pathogens. *Nat Commun.* 2017 Jun 7;8:15784.
12. Kaiko GE, Ryu SH, Koues OI, Collins PL, Solnica-Krezel L, Pearce EJ, Pearce EL, Oltz EM, Stappenbeck TS. The Colonic Crypt Protects Stem Cells from Microbiota-Derived Metabolites. *Cell.* 2016 Jun 16;165(7):1708-20.
 13. Karlowsky JA, Lob SH, Kazmierczak KM, Badal RE, Young K, Motyl MR, Sahm DF. *In Vitro* Activity of Imipenem against Carbapenemase-Positive *Enterobacteriaceae* Isolates Collected by the SMART Global Surveillance Program from 2008 to 2014. *J Clin Microbiol.* 2017 Jun;55(6):1638-1649.
 14. Keren I, Wu Y, Inocencio J, Mulcahy LR, Lewis K. Killing by bactericidal antibiotics does not depend on reactive oxygen species. *Science* 2013 Mar 8;339(6124):1213-6.
 15. Lanza VF, Baquero F, de la Cruz F, Coque TM. AcCNET (Accessory Genome Constellation Network): comparative genomics software for accessory genome analysis using bipartite networks. *Bioinformatics.* 2017 Jan 15;33(2):283-285.
 16. Lewis K. Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2013 May;12(5):371-87.
 17. Ling LL, Schneider T, Peoples AJ, Spoering AL, Engels I, Conlon BP, Mueller A, Schäberle TF, Hughes DE, Epstein S, Jones M, Lazarides L, Steadman VA, Cohen DR, Felix CR, Fetterman KA, Millett WP, Nitti AG, Zullo AM, Chen C, Lewis K. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 2015 Jan 22;517(7535):455-9.
 18. Lü F, Bize A, Guillot A, Monnet V, Madigou C, Chapleur O, Mazéas L, He P, Bouchez T. Metaproteomics of cellulose methanisation under thermophilic conditions reveals a surprisingly high proteolytic activity. *ISME J.* 2014 Jan;8(1):88-102.
 19. Martínez JL, Coque TM, Baquero F. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. *Nat Rev Microbiol.* 2015 Feb;13(2):116-23.
 20. Nesme J, Cécillon S, Delmont TO, Monier JM, Vogel TM, Simonet P. Large-scale metagenomic-based study of antibiotic resistance in the environment. *Curr Biol.* 2014 May 19;24(10):1096-100.
 21. Peña A, Teeling H, Huerta-Cepas J, Santos F, Yarza P, Brito-Echeverría J, Lucio M, Schmitt-Kopplin P, Meseguer I, Schenowitz C, Dossat C, Barbe V, Dopazo J, Rosselló-Mora R, Schüler M, Glöckner FO, Amann R, Gabaldón T, Antón J. Fine-scale evolution: genomic, phenotypic and ecological differentiation in two coexisting *Salinibacter ruber* strains. *ISME J.* 2010 Jul;4(7):882-95.
 22. Santos F, Moreno-Paz M, Meseguer I, López C, Rosselló-Mora R, Parro V, Antón J. Metatranscriptomic analysis of extremely halophilic viral communities. *ISME J.* 2011 Oct;5(10):1621-33.
 23. Shan Y, Brown Gandt A, Rowe SE, Deisinger JP, Conlon BP, Lewis K. ATP-Dependent Persister Formation in *Escherichia coli*. *MBio.* 2017 Feb 7;8(1). pii: e02267-16.
 24. van der Helm E, Imamovic L, Hashim Ellabaan MM, van Schaik W, Koza A, Sommer MOA. Rapid resistome mapping using nanopore sequencing. *Nucleic Acids Res.* 2017 May 5;45(8):e61.
 25. van der Meer JW, Fears R, Davies SC, ter Meulen V. Antimicrobial innovation: combining commitment, creativity and coherence. *Nat Rev Drug Discov.* 2014 Oct;13(10):709-10.