

Uridylate kinase를 이용한 원핵생물의 분류

이동근¹ · 김철민² · 김상진³ · 하배진¹ · 하종명¹ · 이상현¹ · 이재화^{1*}

¹신라대학교 공과대학 생명공학과

²부산대학교 의과대학 의학과

³한국해양연구원 미생물연구실

Phylogenetic analysis of procaryote by uridylate kinase

Dong-Geun Lee¹, Cheol-Min Kim², Sang-Jin Kim³, Bae Jin Ha¹,
Jong-Myung Ha¹, Sang-Hyeon Lee¹ and Jae-Hwa Lee^{1*}

¹Department of Bioscience and Biotechnology, College of Engineering, Silla University

²School of medicine, College of Medicine, Pusan National University

³Microbiology Laboratory, Korea Ocean Research and Development Institute, Ansan PO Box 29, 425-600, Korea

Abstract

The 16S rRNA gene is the most common gene in the phylogenetic analysis of procaryotes. However very high conservative of 16S rRNA has limitation in the discrimination of highly related organisms, hence other molecule was applied in this study and the result was compared with that of 16S rRNA. Three COGs (Clusters of Orthologous of protein) were only detected in 42 procaryotes ; transcription elongation factor (COG0195), bacterial DNA primase (COG0358) and uridylate kinase (COG0528). Uridylate kinase gene was selected because of the similarity and one single copy number in each genome. Bacteria, belong to same genus, and Archaeobacteria were same position with high bootstrap value in phylogenetic tree like the tree of 16S rRNA. However, alpha and epsilon Proteobacteria showed different position and Spirochaetales of Eubacteria was grouped together with Archaeobacteria unlike the result of 16S rRNA. Uridylate kinase may compensate the problem of very high conservative of 16S rRNA gene and it would help to access more accurate discrimination and phylogenetic analysis of bacteria.

Key words – Uridylate kinase, 16S rRNA, COG (Clusters of Orthologous of protein), phylogeny

서 론

미생물은 형태적으로 매우 단순하여 동·식물에 적용되는 분류기준의 적용이 어려워 동·식물과 달리 주로 생리적, 생화학적 특성에 의존하여 왔다. 한편 미생물 생체내에

존재하는 몇 가지 거대분자들은 진화적인 역사를 담고 있는 것으로 간주되어 이를 이용하여 진화적인 유연관계와 계통적인 다양성을 파악해왔다[1].

진화적인 관계를 나타내는 분자들의 조건은 비교대상 미생물에서 모두 발견될 것, 보존성이 아주 높을 것, 동시에 각 생물이 구분될 수 있는 변이를 나타낼 것, 그리고 크기가 적당할 것 등이다[2]. 이러한 기준에 부합되며 분자생물학적 방법의 발달에 따라 현재는 16S rRNA 유전자 염기

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 051-999-5748, Fax : 051-999-5636

E-mail : jhalee@silla.ac.kr

서열을 이용한 분류법이 널리 사용되고 있다[3].

하지만 16S rRNA 유전자를 이용한 분류의 단점으로는 보존정도가 아주 높아 원핵생물 (prokaryote) 내에서 진화적인 경향을 파악할 때 제한된 해상력을 나타낸다는 점과 각 원핵생물마다 유전자의 수가 다르며 또한 하나의 원핵생물이 갖는 16S rRNA 유전자들의 염기서열이 다른 경우도 있어, 어떤 미생물 집단의 경우에는 진화적 경향을 제시할 때 과대 혹은 과소 평가가 될 수 있다. 이런 단점을 보완하고 세균의 다양성 평가의 다른 척도로서 rRNA 유전자 외에 *recA*[4], *rpo*[5], *dnaG*[6], *elongation factor*[7], *ATPase*[8], *tRNA synthetase*[9] 등이 사용되었다.

아직도 미생물 분류에 있어서 해결할 수 없는 문제로는 적합한 분류기준의 설정과 공통조상에서 어떤 경로로 분화되었고 각 분류그룹들이 어떻게 연관되는 지를 명확히 하는 것 등이 있다[10]. 염기서열에 기초한 방법으로 하나의 유전자에만 국한하지 않는 DNA-DNA hybridization, GC contents, RFLP (restriction fragment length polymorphisms), RAPD (random-amplified polymorphic DNAs) 등을 이용한 각 원핵생물의 유연관계를 밝히려는 시도가 있었다.

한편 생화학적 분류법과 전체게놈의 염기서열에 기초한 분류법의 중간자적 위치에 있는 방법으로 COG (Clusters of Orthologous Groups of protein)를 이용한 분류도 있었다[11]. 강 등[12]은 COG를 이용하여 42종의 원핵생물과 1종의 진핵생물 모두에 분포하는 유전자 72종을 밝혔으며, 이 등[13]은 원핵생물 42종 모두에 분포하는 75종의 유전자를 밝혔다. 두 보고[12,13]에서 차이가 나는 3종류의 유전자 그룹은 원핵생물에서만 발견되는 것으로 이들은 원핵생물의 분류에 이용될 가능성이 높다고 할 것이다.

본 논문에서는 3종류의 유전자 그룹을 이용한 원핵생물의 분류와 그 결과를 16S rRNA 유전자를 이용한 분류와의 비교를 목적으로 한다.

재료 및 방법

재료

Table 1에 표시된 분석에 이용한 42종의 원핵생물 (prokaryote) 유전체 (genome)는 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 공개 서버로부터 추출

하였다[14]. 미생물 유전자의 유사성에 관한 자료는 COGs에서 정리된 자료를 이용하였는데[15] 이들은 2002년 4월 현재 43종의 미생물 유전체를 ortholog 그룹으로 분류하여, 총 77,069개의 유전자들을 3,852개의 단백질 그룹으로 분류해 놓았다. 분석대상 원핵생물은 고세균 (Archaeobacteria)가 9종, 세균 중 *Firmicutes*가 9종, *Proteobacteria*가 16종, 기타 8종 이었다[12]. COGs 데이터베이스의 자료를 종(species)과 orthologs에 따라 2차원으로 재정렬하여 개별 orthologs를 종을 기준으로 분류하였다. 이후 각 그룹별로 보존적 유전자의 항목을 배열화하였다.

원핵생물의 보존적 유전자 선정

보존적 유전자 탐색 과정을 진핵생물인 효모를 포함하여 43종의 미생물에 대하여 수행하여 총 72종의 COG를 얻었다[12]. 보존적 유전자 탐색 과정을 42종의 원핵생물에 대하여 수행하였고[13] 여기서 구한 COG 중 43종의 미생물에서 보존적인 것을 제외한 것들은 원핵생물들이 공통적으로 보유하는 COG로 간주하였다.

아미노산과 염기서열의 확보

원핵생물 42종에 보존적인 COG를 선정한 후에 COG 홈페이지[15]를 경유하여 NCBI에서 각 원핵생물의 COG에 해당하는 핵산염기서열과 아미노산 서열을 구하였다.

16S rDNA 염기서열 추출 및 분석

전체 유전자 염기서열에서 rRNA 그룹을 조사하여 16S rRNA 유전자의 염기서열을 추출하였고, 이것이 불가능한 경우에는 RDP-II (<http://rdp.cme.msu.edu>)의 hierarchy browser를 이용하여 16S rRNA 유전자의 염기서열이 1200 bp 이상인 것만을 추출하였다.

다중서열 정렬 및 유연관계 분석

원핵생물 수준에서 보존적인 COG에 속하는 각 원핵생물 보유의 염기서열과 16S rDNA의 염기서열들은 ClustalX (ver. 1.64b) 프로그램을 이용하여 multiple alignment를 수행하고 manual alignment를 통하여 보정하였다. Neighbor-joining method와 bootstrap method (n=1000)로 상관관계를 분석하였다[16].

Table 1. Organisms and nucleotide length of conserved COGs in all procaryotes tested. Multiple numbers represent the number of paralogs in each organism

	Organisms	Abbreviation	COG0195	COG0358	COG0528
	<i>Aeropyrum pernix</i>	Ape	435	1281	741
	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	Afu	420	1200	660
	<i>Halobacterium sp. NRC-1</i>	Hbs	420	1353	726
	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	Mth	432, 552	1146	675
Ar	<i>Methanococcus jannaschii</i>	Mja	552	1275	723
	<i>Pyrococcus abyssi</i>	Pab	189, 438, 513	1344	678
	<i>Pyrococcus horikoshii</i>	Pho	189, 438, 513	1344	681
	<i>Thermoplasma acidophilum</i>	Tac	429	1305	690
	<i>Thermoplasma volcanium</i>	Tvo	429	1293	684
	<i>Aquifex aeolicus</i>	Aae	1014	1497	723
	<i>Synechocystis</i>	Syn	1377	1908	783
	<i>Bacillus halodurans</i>	Bha	1149	1800	720
	<i>Bacillus subtilis</i>	Bsu	1116	1812	723
	<i>Lactococcus lactis</i>	Lla	1149	1914	717
	<i>Mycobacterium leprae</i>	Mle	1044	1929	840
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Mtu	1044	1920	786
	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Mge	1596	657, 1824	732
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Mpn	1623	639, 1863	708
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Spy	1158	1815	729
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Uur	1377	1926	708
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Cpn	1305	1773	747
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Ctr	1305	1788	738
	<i>Buchnera sp. APS</i>	Buc	1491	1734	729
	<i>Campylobacter jejuni</i>	Cje	1089	1818	720
	<i>Caulobacter crescentus</i>	Ccr	1647	1932	741
Eu	<i>Escherichia coli</i> K12	Eco	1488	1746	726
	<i>Escherichia coli</i> O157	EcZ	1602	1746	726
	<i>Haemophilus influenzae</i>	Hin	1488	1782	714
	<i>Helicobacter pylori</i> 26695	Hpy	1188	1680	723
	<i>Helicobacter pylori</i> J99	jHp	1188	1680	723
	<i>Mesorhizobium loti</i>	Mlo	1596	1959	744
	<i>Neisseria meningitidis</i> MC58	Nme	1503	1773	720
	<i>Neisseria meningitidis</i> Z2491	NmA	1518	1773	720
	<i>Pasteurella multocida</i>	Pmu	1485	1749	729
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pae	1482	1995	738
	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Rpr	1512	1851	729
	<i>Vibrio cholerae</i>	Vch	1488	1764	732
	<i>Xylella fastidiosa</i>	Xfa	1512	1053, 1053, 1734	744
	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Bbu	1449	1572	690
	<i>Treponema pallidum</i>	Tpa	1458	1818	756
	<i>Thermotoga maritima</i>	Tma	1035	1698	696
	<i>Deinococcus radiodurans</i>	Dra	1206	1716	738

Ar = Archaeobacteria, Eu = Eubacteria.

결과 및 토의

원핵생물 한정의 보존적 유전자와 특성

원핵생물에서만 발견되는 3종류의 COG들은 COG0195, COG0358, COG0528로 각각 transcription elongation factor, bacterial DNA primase 그리고 uridylate kinase의 기능을 갖는 것이었다. COG0195와 COG0358은 각각 기능별로 보면 K (transcription)와 L (DNA replication, recombination and repair)에 속하는 것이었다. 유전정보의 저장과 발현에 관계되는 것으로 진핵생물을 포함하는 43종의 미생물이 보유하는 72종의 COG중 translation에 관여하는 COG가 52종 이었고 transcription에 관련되는 COG가 4종 그리고 replication에 관여하는 COG가 3종인 것과 비교하면 [12], 원핵생물이 진핵생물과는 transcription과 translation에서 차이를 보이는 진화적 분기가 있었다고 사료되었다. Uridylate kinase는 COG site의 기능분류상 F (Nucleotide transport and metabolism)에 속하는 것으로 ATP와 UMP를 이용하여 ADP와 UDP를 만들어내는 효소로 pyrimidine ribonucleotide의 *de novo* biosynthesis에 관여하며 cytosol과 membrane 근처에 분포하는 것으로 알려져 있다 [17,18].

보존성 및 유사도 비교

원핵생물에서만 발견되는 유전자는 16S rRNA 등과 함께 원핵생물을 분류하는 분자로서의 기능을 수행할 수 있을 것이다. 분류에 사용되는 분자의 조건은 비교대상생물에서 모두 발견되어야 하고 보존성이 높아야하며 동시에 각 생물이 구분될 수 있는 변이가 있어야 하는 것으로 알려져 왔다. COG0195, COG0358, COG0528은 비교대상 원핵생물에 모두 존재하는 유전자로 각 COG에서 보이는 핵산과 아미노산의 유사도는 Table 2에 나타내었다. 전체적으로 보면 핵산의 유사도보다 아미노산의 유사도가 높은 것을 알 수 있으며, 변이도를 보면 고세균 (Archaeobacteria)에서 COG0195가 진정세균 (Eubacteria)에서는 COG0358이 핵산과 아미노산 모두에서 큰 것을 알 수 있었다. 진화속도의 문제가 있겠지만 수치상으로는 원시조상 고세균에서 COG0195가 아주 오래전부터 존재하여 많은 변이가 있는 것으로 추측할 수 있었다.

Mycobacterium leprae (Mle)와 *Mycobacterium tuberculosis* (Mtu) 그리고 *Escherichia coli* K12 (Eco)와 *Escherichia coli* O157 (EcZ)의 경우 같은 속(genus)에 속하는데 COG0195의 구성원들을 보면 각각 ML1558와 Rv2841 그리고 nusA와 ZnusA 유전자를 보유하였다. 유사도 측면에서 보면 각

Table 2. Similarities (%) in nucleotide and amino acid of three conserved COGs in 42 procaryotes

		COG0195 (Transcription elongation factor)	COG0358 (Bacterial DNA primase)	COG0528 (Uridylate kinase)	
NT	Ar	range	8.72 - 82.88	42.65 - 80.68	37.86 - 73.60
		average	31.52	54.52	48.67
		stdev.	10.62	7.92	7.23
	Eu	range	32.86 - 99.28	23.69 - 100.00	27.69 - 99.84
		average	47.04	43.93	50.65
		stdev.	8.71	9.00	8.84
AA	Ar	range	0.00 - 100.00	76.00 - 100.00	76.67 - 97.30
		average	78.05	87.14	88.79
		stdev.	29.37	5.78	5.53
	Eu	range	62.50 - 100.00	30.00 - 100.00	60.00 - 100.00
		average	80.76	77.31	80.12
		stdev.	7.46	12.53	8.02

NT = sequences of nucleic acids, AA = sequences of amino acids, Ar = 9 Archaeobacteria, Eu = 33 eubacteria, stdev. = standard deviation.

각 핵산에서는 82.78%와 99.40%의 유사도를 보인 반면 아미노산에서는 100%의 유사도를 보였다. 아미노산의 유사도가 핵산의 유사도 보다 높은 것은 redundancy로 설명이 가능할 것이다. 한편 핵산의 유사도가 진화의 정도를 표시하는 것이라고 생각하면 *Mycobacterium leprae* (Mle)와 *Mycobacterium tuberculosis* (Mtu)가 *Escherichia coli* K12 (Eco)와 *Escherichia coli* O157 (EcZ)보다 먼저 분기되었다는 것을 의미하는 것이라고 할 수 있었다. 이러한 경향은 고세균에서 더 심한 것을 알 수 있었다. 같은 *Thermoplasma* 속에 속하는 *Thermoplasma acidophilum* (Tvo)과 *Thermoplasma volcanium* (Tac) 그리고 *Methanobacterium* 속에 속하는 *Methanobacterium thermoautotrophicum* (Mth) 3균주는 각각 TVN117, TA0393m, MTH1217를 COG0195의 구성원으로 보유하고 있는데 핵산에서는 27.31~33.33%의 유사도를 보였지만 아미노산에서는 100%의 유사성을 보였다.

하지만 COG0358과 COG0528의 경우에는 진정세균 서로간의 변이정도가 고세균 서로간의 변이정도보다 범위가 넓고 최소치도 낮아, 하나의 유전자로 생물군의 진화정도를 파악하기에는 오류가 있을 가능성이 높음을 알 수 있었다. 한 유전자가 수평전달 (horizontal gene transfer)이 되면 다른 유전자들의 유사도보다 훨씬 높은 유사도가 발생할 수 있다는 보고도 있었다[19,20].

분류를 위한 새로운 분자

16S rRNA 유전자를 이용한 분류에서는 보존정도가 너무 높아 진화적인 경향을 파악할 때 제한된 해상력을 보인다는 것과 각 미생물마다 유전자의 수가 달라서 어떤 원핵생물들의 경우에는 진화적 경향을 제시할 때 과대 혹은 과소 평가가 될 수 있어 다른 분자들이 보완책으로 이용되어 왔다[4-9]. 이런 유전자 그룹은 세균 각 종에 대해 정량적인 비교와 진화적 관점의 파악이 유리하다고 할 것이다. 그러나 16S rRNA 유전자 이외의 유전자 그룹중 일부는 COG 검색을 해보면, 42종의 원핵생물 모두가 이러한 유전자를 가지고 있지는 않는 것으로 드러나 비교대상 미생물이 한정될 수 밖에 없거나 진핵생물과 공통적으로 존재하여 원핵생물만의 분류를 위한 분자가 아니라는 것을 알 수 있었다. Table 1에 나타난 COG0195, COG0358, COG0528 그룹은 42종의 원핵생물에서만 분포하는 분자들로 원핵생물만의 분류를 위한 새로운 분자(molecular clock)의 후보가

될 수 있다고 추측되었다. 또한 COG0195와 COG0358의 경우는 한 생물내에 중복되는 유전자와 관찰되는 반면 COG0528의 경우 하나의 미생물에 하나의 유전자만 존재하므로 각 미생물은 유전자의 중복성에 의한 문제를 피할 수 있다는 것을 알 수 있었고 세균 각 종에 대해 정량적인 비교와 진화적 관점의 파악이 유리하다고 사료되었다. 한편 고세균의 경우 COG0358 (bacterial primase)을 그리고 진정세균의 경우 COG0195 (transcription elongation factor)를 이용한 분류도 가능할 것으로 사료되었지만 (Table 1) Ilyina 등[6]이 primase를 그리고 Baldauf 등[7]이 elongation factor를 이용한 분류를 시도한 보고가 있어 본 논문에서는 분류의 새로운 분자로서 uridylylate kinase를 적용하였다.

Fig. 1은 42종의 원핵생물을 16S rRNA 유전자를 이용한 분류와 COG0528인 uridylylate kinase의 유전자를 이용한 분류를 나타내고 있다.

16S rRNA 유전자를 이용한 분류에서는 고세균, 진정세균에 속하는 Firmicutes와 Proteobacteria 그리고 기타 진정세균의 4 그룹으로 나누어졌다. 고세균은 진정세균의 Firmicutes와 상관관계가 높은 것을 알 수 있었고 Proteobacteria와 Firmicutes에 속하지 않는 기타 진정세균과의 상관관계도 어느 정도 높은 것을 알 수 있었다 (Fig. 1a).

Helicobacter pylori J99 (jHP)의 경우 1200 bp 이상의 16S rRNA 염기서열을 구할 수 없어 16S rRNA를 이용한 분석에서는 제외하였다.

Fig. 1을 보면 uridylylate kinase 유전자를 이용한 분류에서는 16S rRNA 유전자를 이용한 분류와 공통점과 차이점이 있는 것을 알 수 있었다. 공통점은 첫째 uridylylate kinase를 이용한 분류가 16S rRNA를 이용한 분류처럼 같은 속(genus)에 속하는 세균들은 아주 높은 bootstrap value를 갖고 같은 위치에 분포하는 것으로 드러났다. 둘째 고세균 내부의 응집성이 높은 것을 알 수 있었고 16S rRNA와 같이 Crenarchaeota인 *Aeropyrum pernix* (Ape)가 상대적인 상관관계가 낮게 나왔다. 셋째 고세균 그룹이 진정세균의 Firmicutes 그룹 일부와 상관관계가 상대적으로 높게 나왔다.

하지만 16S rRNA와의 차이점을 보이는 부분도 있었는데 첫째 Firmicutes에 속하는 세균들이 3 군데로 흩어지고 gamma-Proteobacteria에 속하는 일부 세균도 다른 세균들과 그룹을 형성하는 것으로 나타났다. 둘째 Proteobacteria

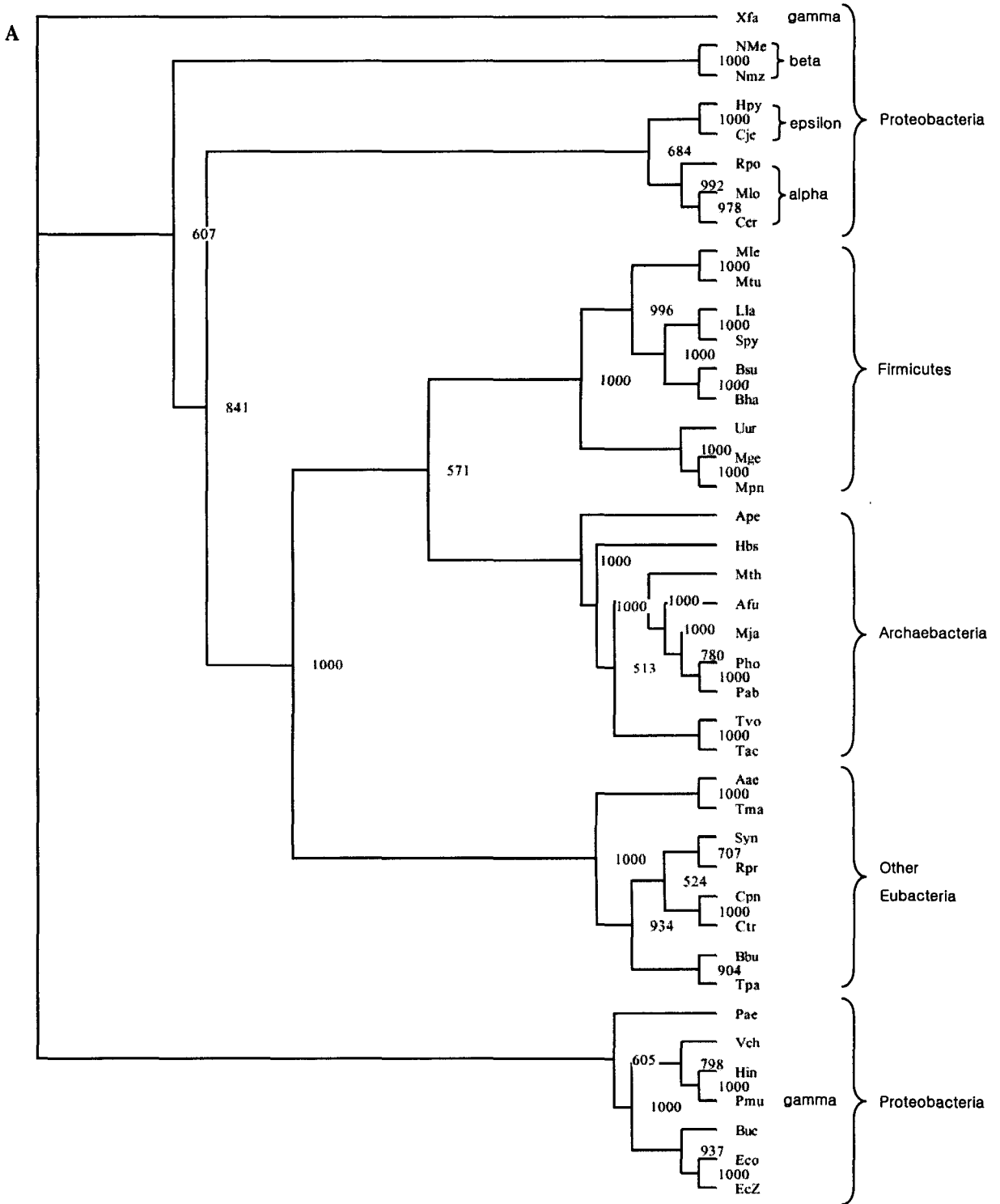


Fig. 1. Comparison of the phylogenetic trees of 42 prokaryotes obtained from neighbor-joining analysis of either 16S rRNA gene sequence (A) and COG0528 gene sequence (B).

Bootstrap values at each node are expressed as a number over 1000 trials. *Helicobacter pylori* J99 (jHp) was omitted in 16S rRNA gene owing to the their short length. Terminal Branches have been extended for clarity and their length is therefore not meaningful.

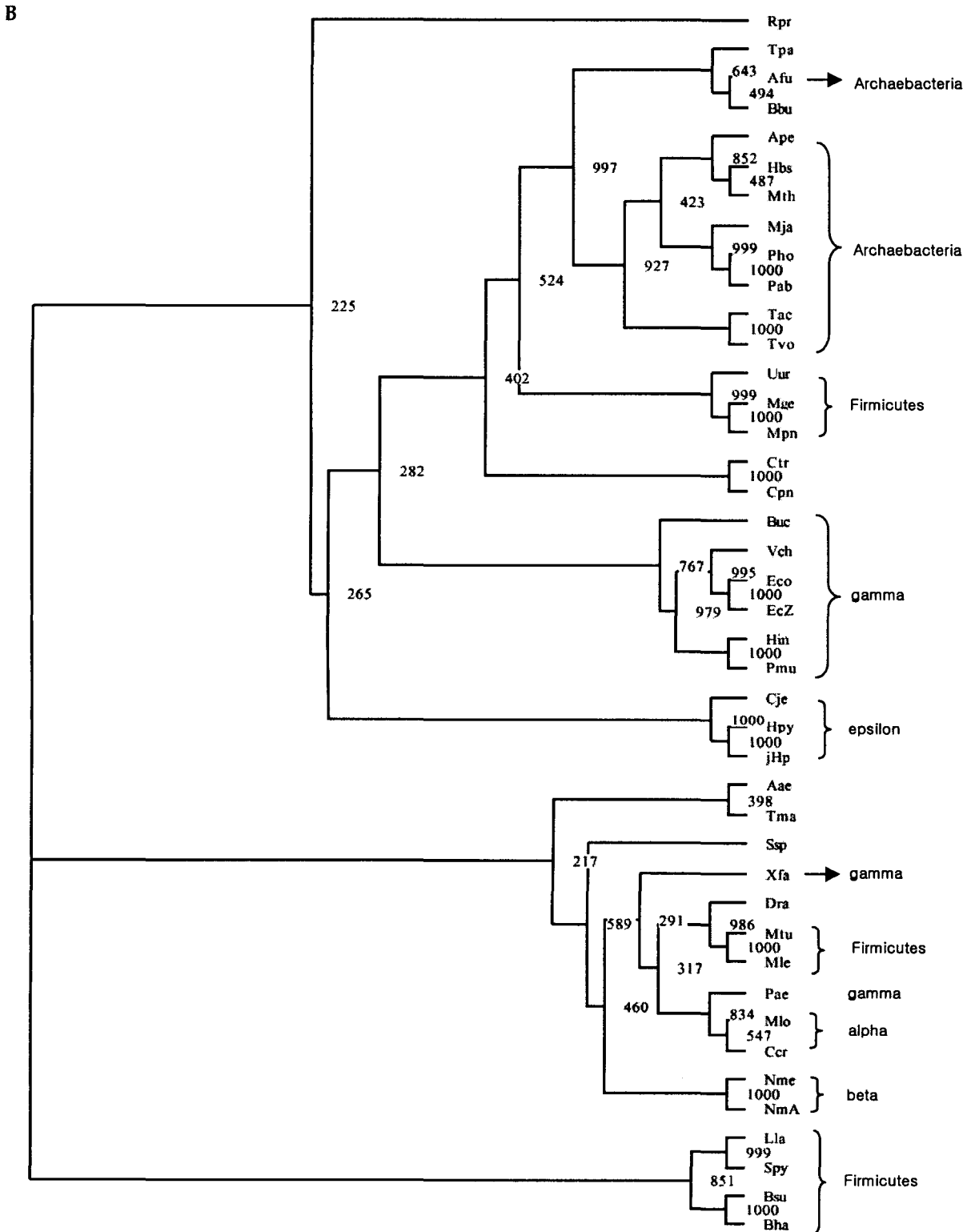


Fig. 1. Continued.

의 alpha와 epsilon 그룹들이 분류도에서 16S rRNA와 다른 결과를 보였다. 셋째 기타 진정세균으로 분류하였던 세균들이 16S rRNA에서 하나의 그룹을 형성했던 것과는 달리 진정세균의 Spirochaetales에 속하는 *Treponema pallidum* (Tpa)와 *Borrelia burgdorferi* (Bbu)가 고세균과 유연관계가 높은 것으로 드러났다. 넷째 16S rRNA를 이용한 분류에서는 gamma-Proteobacteria가 고세균과 유연관계가 먼 것으로 나타났는데 uridylate kinase를 이용한 분류에서는 gamma-Proteobacteria의 일부는 16S rRNA보다 고세균과 유연관계가 높은 것으로 나타났다. 이러한 양상은 최대절약법 (parsimony)을 이용한 결과에서도 유사한 것으로 나타났다. 유전자의 수평전달[19,20]에 의한 영향일 가능성도 있으나 비교대상 모든 세균이 공통적으로 보유하고 있으므로 원시조상세균으로부터 보유하고 있었을 가능성이 더 높을 것으로 사료되었다. 이 등은[11] 유전자 하나를 이용한 분류가 아닌 전체 게놈이 보유하고 있는 유전자중 현재 알려진 3800여개의 ortholog의 보유유무에 따른 분류를 시도하였다. 그 보고에서도 Proteobacteria의 경우 16S rRNA와 일치하는 부분과 일치하지 않는 부분이 있는 것을 알 수 있었다.

COG0528인 uridylate kinase의 경우 16S rRNA 유전자처럼 보존성이 아주 높지는 않았지만 (Table 1) 오히려 이러한 점이 16S rRNA 유전자의 아주 높은 보존성에 의해서 생기는 유연관계의 과소 혹은 과대평가를 줄일 수 있을 것이며 16S rRNA와 상호 보완적인 결과로 원핵생물의 정확한 분류에 기여할 수 있을 것으로 사료되었다[5]. 한편 고세균의 경우 COG0358 (bacterial primase)을 그리고 Eubacteria의 경우 COG0195 (transcription elongation factor)를 이용한 분류까지 첨가된다면 보다 정확한 분류가 가능할 것으로 사료되었다. 본 연구결과는 16S rRNA 유전자만을 이용하여 분류할 때 단점을 보완하는데 이용가능할 것이며, 특히 bootstrap value가 높은 같은 속이나 종에서는 16S rRNA를 이용한 분류와 동등하게 사용될 수 있을 것이다.

요 약

원핵생물 (prokaryote)의 분류에 16S rRNA 유전자가 많이 이용되어 있으나 제한된 해상력과 유전자의 수에 차이

가 있는 등의 문제가 있어 이를 보완할 수 있는 새로운 생체분자를 찾고 그 분류 결과를 16S rRNA의 결과와 비교하였다. COG (Clusters of Orthologous of protein) 방법을 이용하여 43종의 미생물중에서 진핵생물을 제외한 42종의 원핵생물 (prokaryote)에서만 발견되는 3종류의 COG인 Transcription elongation factor인 COG0195과 bacterial DNA primase인 COG0358 그리고 uridylate kinase인 COG0528를 구하였다. 이중 유사도와 유전자 수를 바탕으로 새로운 분류의 키로 uridylate kinase를 설정하여 분석한 결과, 같은 속 (genus)에 속하는 세균들은 아주 높은 bootstrap value를 갖고 분류도에서 같은 위치에 분포하고 고세균 (Archaeobacteria) 내부의 응집성이 높은 등의 유사성을 보였다. 한편 alpha와 epsilon 그룹의 Proteobacteria가 분류도에서 다르게 위치하고 진정세균 (Eubacteria)의 Spirochaetales에 속하는 *Treponema pallidum* (Tpa)와 *Borrelia burgdorferi* (Bbu)가 고세균과 유연관계가 높게 나타나는 등 차이점도 보였다. Uridylate kinase를 이용한 분류는, 아주 높은 보존성에 의해서 생기는 16S rRNA 유전자를 이용한 문제점을 보완하여 원핵생물의 정확한 분류에 기여할 수 있을 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Fox, G., E. Stackebrandt, R. B. Hespell, J. Gibson, J. Maniloff, T. A. Dyer, R. S. Wolfe, W. E. Balch, R. S. Tanner, L. J. Magrum, L. B. ZaBlén, R. Blakemore, R. Gupta, L. Bonen, B. J. Lewis, D. A. Stahl, K. R. Luehrsen, K. N. Chen, C. R. Woese. 1980. The Phylogeny of Prokaryotes. *Science* **209**, 457-463.
2. Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitution through comparative studies of sequence evolution. *Journal of Molecular Evolution* **16**, 111-120.
3. Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution, *Microbiology Review* **51**, 221-271.
4. Mahenthiralingam, E., J. Bischof, S. K. Bryne, C. Radomski, J. E. Davies, Y. Av-Gay, and P. Vandamme. 2000. DNA-Based Diagnostic Approaches for Identification of *Burkholderia cepacia* Complex, *Burkholderia vietnamiensis*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia stabilis*, and *Burkholderia cepacia* Genomvars I and III. *Journal of Clinical Microbiology* **38**, 3165-3173.

5. Wilson, K., M. A. Schembri, P. D. Baker, and C. P. Saint. 2000. Molecular Characterization of the Toxic Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* and Design of a Species-Specific PCR. *Applied and Environmental Microbiology* **66**, 332-338.
6. Ilyina, T. V., Gorbalenya, A. E. and E. V. Koonin. 1992. Organization and evolution of bacterial and bacteriophage primase-helicase systems. *Journal of Molecular Evolution* **34**, 351-357.
7. Baldauf, S. L., J. D. Palmer, and W. F. Doolittle. 1996. The root of the universal tree and the origin of eukaryotes based on elongation factor phylogeny. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 7749-7754.
8. Andersson, S. G., A. Zomorodipour, J. O. Andersson, T. Sicheritz-Ponten, U. C. Alsmark, R. M. Podowski, A. K. Naslund, A. S. Eriksson, H. H. Winkler, and C. G. Kurland. 1998. The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature* **396**, 133-140.
9. Brown, J. R. and W. F. Doolittle. 1995. Root of the universal tree of life based on ancient aminoacyl-tRNA synthetase gene duplications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **92**, 2441-2445.
10. Gupta, R. S. and E. Griffiths. 2002. Critical issues in bacterial phylogeny, *Theoretical Population Biology* **61**, 423-434.
11. Lee, D.-G., H.-Y. Kang, S. Kim, S.-H. Lee, C.-M. Kim, S.-J. Kim and J.-H. Lee. 2003. Classification of Archaeobacteria and Bacteria using a gene content tree approach. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **18**, 39-44.
12. Kang, H.-Y., C.-J. Shin, B.-C. Kang, J.-H. Park, D.-H. Shin, J.-H. Choi, H.-G. Cho, J.-H. Cha, D.-G. Lee, J.-H. Lee, H.-K. Park, and C.-M. Kim, 2002 Investigation of Conserved Gene in Microbial Genomes using *in silico* Analysis, *Korean Journal of Life Science* **5**, 610-621.
13. Lee, D.-G., H.-Y. Kang, J.-H. Lee and C.-M. Kim. 2003. Detection of Conserved Genes in *Proteobacteria* by using a COG Algorithm. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **17**, 560-565.
14. <ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genbank/genomes/Bacteria>
15. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/>
16. Amann, R., W. Ludwig, and K. H. Schleifer. 1994. Identification of uncultured bacteria: a challenging task for molecular taxonomists. *ASM News* **60**, 360-365.
17. Landais, S., P. Gounon, C. Laurent-Winter, J. C. Mazie, A. Danchin, O. Barzu and H. Sakamoto. 1999. Immunochemical analysis of UMP kinase from *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* **181**, 833-840.
18. Serina, L., C. Blondin, E. Krin, O. Sismeiro, A. Danchin, H. Sakamoto, A. M. Gilles and O. Barzu. 1995. *Escherichia coli* UMP-kinase, a member of the aspartokinase family, is a hexamer regulated by guanine nucleotides and UTP. *Biochemistry* **34**, 5066-5074.
19. Lawrence, J. G. and H. Ochman. 1997. Amelioration of bacterial genomes: rates of change and exchange. *Journal of Molecular Evolution* **44**, 383-397.
20. Lawrence, J. G. and H. Ochman. 1998. Molecular archaeology of the *Escherichia coli* genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 9413-9417.
21. Chang, Y., A. D. Peacock, P. E. Long, J. R. Stephen, J. P. McKinley, S. J. Macnaughton, A. K. N. Anwar Hussain, A. M. Saxton, and D. C. White. 2001. Diversity and Characterization of Sulfate-Reducing Bacteria in Groundwater at a Uranium Mill Tailing Site. *Applied and Environmental Microbiology* **67**, 3149-3160.

(Received August 13, 2003; Accepted November 17, 2003)