

보도자료



서울대학교
SEOUL NATIONAL UNIVERSITY

보도일시	2024. 9. 4.(수) 배포 즉시 보도
문의	연구단장/연구책임자 김영훈 교수(02-880-4808) / 교신저자
	연구단/연구진 박정국 박사과정(02-880-5212) / 제1저자

■ 제목

- 농업생명과학대학 김영훈 교수팀, 프로바이오틱스와 바이오차의 혼합 급여에 따른 반추위 메탄저감 가능성 제시 -

■ 요약

연구 필요성	<p>기후 변화가 심화됨에 따라 이제는 “기후 위기”라는 용어가 사용되고 있으며 온실 가스 배출을 줄이는 것이 모든 산업에서 중요한 과제로 떠오르고 있음. 대표적인 온실가스로는 이산화탄소와 메탄이 있는데 메탄은 이산화탄소에 비해 배출량은 적지만 온실 효과는 이산화탄소에 비해 25배 강력하여 기후 변화에 크게 기여하는 온실가스임. 반추동물의 소화 과정에서 발생하는 메탄으로 인해 축산업이 기후 변화에 큰 영향을 미치는 것으로 여겨지고 있으며 따라서 반추위에서의 메탄 생산을 줄이는 것이 중요한 과제로 간주됨. 반추위 내 메탄 생산은 다양한 미생물 간의 복잡한 상호작용의 결과로 소에서 생산되는 메탄의 양은 유전적 특성, 사육 환경 조건, 제공되는 사료의 종류와 상태 등 여러 요인에 따라 달라질 수 있음. 메탄 생산을 직접적으로 줄이는 대표적인 방법은 다양한 첨가제를 사용하는 것으로 반추위 메탄 생성을 줄이기 위한 천연물질이나 인공 화합물, 미생물 등 다양한 사료 첨가제에 대한 연구가 이뤄지고 있으나 많은 첨가제가 효과 면에서 한계점들을 가지고 있으며 작용 메커니즘에 대한 연구도 부족한 경우가 많음. 따라서 새로운 첨가제를 발견하고 그 작용 메커니즘을 연구하는 것은 반추위 메탄 저감제 연구 분야를 확장하는 데 있어 필수적임.</p>
연구성과/ 기대효과	<p>본 연구에서는 프로바이오틱스균주인 <i>Escherichia coli</i> strain Nissle 1917 (EcN)과 biochar를 함께 처리하는 것이 반추위액 <i>in vitro</i> fermentation에서 메탄 생성을 저감할 수 있음을 규명함. EcN에 biochar가 처리되었을 때 EcN의 수소 및 acetate 생성량이 증가하며 관련 enzyme의 활성이 증가하는 것을 확인함. 반추위액에 EcN</p>

을 처리하였을 때 methane 생성량이 감소시키며 이 메탄 저감능력은 biochar를 함께 처리하였을 때 더욱 증가하는 것을 확인함. EcN과 biochar 혼합물을 처리한 결과 반추위에서는 methane 생성량과 함께 methane 생성 고세균의 양이 감소한 반면 acetate와 propionate 및 두 fatty acid 생성균의 양은 증가하는 것을 확인함. Biochar의 첨가로 EcN의 메탄 저감 능력이 향상하는 것은 먼저 관찰된 acetate 생산량이 증가와 관련이 있으며 EcN의 반추위 메탄 저감 능력이 acetate 생성 능력, 특히 반추위에 존재하는 특징적인 acetogen에 의해 기인한다고 가정함. 이를 검증하기 위해 CRISPR/Cas9 system을 사용해 EcN의 acetate 생성 능력을 억제했을 때 EcN의 반추위 메탄 저감능력이 사라지는 것을 확인함으로써 EcN의 반추위 메탄 저감 능력의 작용 메커니즘을 제안함. **향후 메탄저감 효능을 가진 신규 프로바이오틱스 균주 발굴과 함께 가축분뇨 유래의 축분 바이오차에 적용하여 축산분야의 환경문제와 기후변화 대응에 적극적으로 대응할 수 있는 동물생명공학 신기술로 활용이 가능할 것으로 판단됨.**

SNU CALS team led by Prof Younghoon Kim demonstrated that combining the probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 with biochar can reduce methane production when applied to rumen fluid and provided insights into the underlying mechanism.

SNU Lab. of Animal Microbiology (SLAM); <http://calslab.snu.ac.kr/animicrobiol/>

[ARTICLE ABSTRACT]

Abstract

In response to climate change, there have been various trials to reduce methane emissions from ruminant animals in the livestock industry, and one of the typical candidates is probiotics used as feed additives. We employed *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN) as a promising probiotic for the reduction of methane emissions and investigated the molecular mechanism of methane-reducing effects using CRISPR/Cas9. The anaerobic culture of EcN with biochar (BC) could significantly increase acetate and hydrogen production. Additionally, RNA-seq analysis revealed an upregulation in the expression of acetate synthesis genes, namely, *pta*, *poxB*, and *ackA*. Subsequently, treatment of rumen fluid with EcN significantly decreased methane and increased acetate and propionate production, as observed through the analysis of short-chain fatty acids, and these effects could accelerate with additional supplementation of BC. The observation of changes in the microbial composition of rumen fluid following treatment with EcN and BC was made through rumen metagenomic

	<p>analysis and RT-qPCR. The results revealed an increase in acetogen and propionate producing bacteria abundance and a decrease in methanogen abundance. Based on these findings, the CRISPR/Cas9 system was employed to elucidate the molecular mechanism of the methane-reducing capability of EcN. Gene deletion was performed targeting the genes <i>poxB</i>, <i>ackA</i>, and <i>pta</i> as key factors in acetate pathway in <i>E. coli</i>. The knockout of <i>poxB</i>, <i>ackA</i>, and <i>pta</i> could lead to the elimination of the methane-reduction of EcN as well as acetate-producing abilities. Collectively, the methane reduction ability of EcN in rumen fluid is associated with its acetate production capability, and the addition of BC significantly enhances methane mitigation capability of EcN.</p>
Journal Link	https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.113977

■ 본문

□ 문단 1

○ 지구온난화는 점차 심각해지고 있으며 그 속도는 점점 가속화되고 있다. 이제는 기후 변화를 넘어 '기후 위기', '기후 재앙'이라는 용어가 사용되고 있다. 태양으로부터 지구에 들어와 다시 나가는 태양 복사 에너지를 대기중 온실가스가 흡수하여 지표면을 보온하게 되는데, 지구 온난화는 이러한 온실가스의 양이 과도하게 증가하게 됨으로써 발생한다. 지구 온난화를 완화시키기 위한 가장 직접적인 방법은 온실가스의 양을 줄이는 것이다. 2023년 전 세계 온실가스 배출량에서 이산화탄소가 74%로 가장 많은 양을 차지하고 다음으로 메탄이 17%의 비율을 차지한다. 단순 배출량으로만 보았을 때 메탄의 배출량은 이산화탄소에 비해 적지만 **메탄은 이산화탄소에 비해 25배 강한 온실 효과를 갖기에 메탄은 온실 가스 저감에 있어 중요한 요소로** 여겨진다.

□ 문단 2

○ 세계 인구가 증가함에 따라 육류 소비의 수요 역시 증가하고 있다. 반추 동물의 소화 과정에서는 메탄이 생성된다. 따라서 소를 기르는 축산분야에서는 소에서 발생하는 메탄 생성을 줄이는 것에 대한 요구가 정책적, 시장적으로 증가하고 있다. 반추위에서 발생하는 메탄은 다양한 미생물 간의 복잡한 상호작용에 의해 발생하기 때문에 반추위 메탄 생성을 억제하기 위해 다양한 사료 첨가제에 대한 연구가 진행되고 있다. 많은 반추위 메탄 생성 억제 사료 첨가제들에 대한 연구 결과가 있지만 반추위 내의 미생물 복잡성으로 인해 대부분의 첨가물이 그 효과가 한계가 있거나 그 억제 작용 메커니즘에 대한 연구가 부족한 상황이다. 따라서 새로운 메탄 생성 억제 첨가제를 찾는 것과 함께 그 작용 메커니즘을 밝히는 것이 필요하다.

□ 문단 3

○ 본 연구에서는 *Escherichia coli* 프로바이오틱 균주인 Nissle 1917 (EcN)을 새로운 메탄 저감 사료 첨가제로 활용하고 미생물의 활성을 증가시키는 성질을 가진 biochar를 함께 적용하여 메탄 저감 능력을 향상시키고자 했다. *Escherichia coli*는 유전자 변형이 용이하여 특정 생물학적 기능을 강화시키거나 약화시키는 등의 조작이 가능하기 때문에 반추위 미생물 균총에서 원하는 역할을 하도록 유도할 수 있다는 장점이 있다. Biochar는 활성탄의 일종으로 다양한 biomass를 열분해하여 유기물은 증발시키고 무기물만 남기는 방식으로 만들 수 있다. Biochar는 다공성 구조를 가지고 있으며 제작에 사용되는 biomass의 종류에 따라 다양한 무기물을 포함한다. 본 연구에서는 반추위액에 EcN과 biochar를 함께 처리하였을 때의 변화를 다양한 분석법을 활용하여 관찰하고 CRISPR/Cas9 system을 사용하여 EcN의 메탄 저감 능력에 관여하는 핵심 기능을 제거하였을 때의 변화를 통해 EcN의 반추위액 내에서의 적용 메커니즘을 확인했다.

□ 연구결과

○ 본 연구에서는 EcN에 biochar가 처리되었을 때 수소와 acetate생성이 증가하며 특히 acetate 생성 관련 유전자인 *ackA*, *pta*, *poxB*의 활성이 크게 증가하는 것을 확인하였다.

○ EcN을 반추위액에 처리하였을 때 메탄 생성량과 메탄 생성 고세균의 양은 감소하고 acetate와 propionate의 양 및 두 지방산 생성균의 양은 증가하는 것을 확인하였다. 이러한 효과는 EcN을 biochar와 함께 처리하였을 때 더욱 강화되었다. Acetate와 propionate 생성균은 메탄 생성 고세균이 메탄 생성을 위해 사용하는 수소를 경쟁적으로 사용하기에 이 두 균의 활성화는 메탄 생성의 억제를 유도한다.

○ Biochar가 함께 처리되었을 때 EcN의 반추위 메탄 생성 억제 능력이 증가하는 것으로 biochar에 의해 증가하는 acetate 생성 관련 유전자 *ackA*, *pta*, *poxB*의 작용이 중요한 것으로 가정하였다. CRISPR/Cas9 system을 이용하여 해당 유전자를 억제하였을 때 EcN의 메탄 생성 억제 능력이 감소하는 것을 확인하였다.

○ 이러한 연구 결과를 통해 EcN과 biochar의 혼합물이 반추위 메탄 저감을 위한 새로운 사료 첨가제로서 사용될 수 있으며 그 작용 메커니즘이 EcN의 acetate 생성능력과 관련이 있음을 확인하였다.

○ 이번 연구성과는 환경 공학 분야의 최고 국제 학술지 중 하나인 Journal of Environmental Chemical Engineering (IF=7.4, JCR 상위 10% [Q1, 18/170])에 2024년 8월 31일자 게재되었다. 본 연구는 과학기술정보통신부의 중견연구자지원사업과 농촌진흥청의 지원을 받아 수행되었다.

○ 본 연구는 향후 메탄저감 효능을 가진 신규 프로바이오틱스 균주 발굴과 함께 가축분뇨 유래의 축분 바이오차에 적용하여 축산분야의 환경문제와 기후변화 대응에 적극적으로 대응할 수 있는 동물생명공학 신기술로 활용이 가능할 것으로 판단됨.

* 논문명: Metabolic-methane mitigation by combination of probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 and biochar in rumen fluid *in vitro* fermentation of dairy cow

* 주저자: 박정국 (제1저자, 서울대), 김영훈 (교신저자, 서울대)