# 신종 해양미생물 Planococcus sp. 107-1<sup>-1</sup>의 분류학적 특성 분석

김동균 · 정현경 · 김영옥 · 공희정 · 남보혜 · 김주원 · 김영삼\*

국립수산과학원 양식산업연구부 생명공학과

## Characterization of the Novel Marine Bacterium *Planococcus* sp. 107-1<sup>T</sup>

Dong-Gvun Kim, Hvun-Kvoung Jung, Young-Ok Kim, Hee Jeong Kong, Bo-Hve Nam, Ju-Won Kim and Young-Sam Kim\*

Biotechnology Research Division, National Institute of Fisheries and Science, Busan 46083, Republic of Korea

A novel Gram-positive, motile, non-spore forming aerobic marine bacterium, designated 107-1<sup>T</sup> was isolated from tidal mud collected in Gyehwa-do, South Korea. Cells of strain 107-1<sup>T</sup> were short rod or coccoid, oxidase negative, catalase positive and grew at 10-40°C (with optimum growth at 25-30°C). It utilized menaquinones MK-7 and 8 as its respiratory quinones and its major fatty acids were anteiso- $C_{15:0}$  (37.9%), iso- $C_{16:0}$  (14.9%), and iso- $C_{14:0}$  (10.8%). Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequences revealed a distinct clade containing strain 107-1<sup>T</sup> and close species Planococcus ruber CW1<sup>T</sup>(98.52% sequence similarity), P. faecalis KCTC 33580<sup>T</sup>(97.67%), P. kocurii ATCC 43650<sup>T</sup>(97.48%), P. donghaensis DSM 22276<sup>T</sup>(97.47%), and P. halocryophilus DSM 24743<sup>T</sup>(97.37%). Strain 107-1<sup>T</sup> contains one circular chromosome (3,513,248bp in length) with G+C content of 44.6 mol%. Estimated ranges for genome to genome distance, average nucleotide identity, and average amino acid identity comparing strain  $107-1^{T}$ with close taxa were 20.3–34.8%, 77.9–86.9%, and 73.6–92.8%, respectively. Based on polyphasic analysis, strain 107-1<sup>T</sup> represents a novel species belonging to the genus *Planococcus*.

Keywords: Novel marine bacterium, Planococcus sp.

#### 서 로

해양환경은 생물자원의 보고로 현재까지 탐사되지 않은 영역 이 큰 부분을 차지하고 있으며, 해양환경에 서식하는 생물자원 으로부터 다양한 천연화합물이 지속적으로 분리, 보고되고 있 다(Montaser and Luesch, 2011; Jiménez, 2018). 해양 생물자 원의 중요한 부분을 차지하는 미생물은 그 특성이 매우 특이 하며 새로운 천연물질의 주요 생산자로써 지속적 연구대상이 되고 있다. 단적인 예를 들어 향료와 의약품의 원료인 테르페 노이드(이소프레노이드)는 주로 해양 진핵생물로부터 유래하 였지만, 지난 20년간 지속된 연구를 통해 Actinomycetes와 같 은 미생물이 새로운 테르페노이드 생산자로 알려지고 있으며 (Helfrich et al., 2019; Moghaddam et al., 2021), 또 다른 유용 물질 미사키놀라이드와 노카파이론은 바다 해면과 해양 연체동 물로부터 유래된 것으로 생각되었지만, 연구를 통해 해면과 연

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 720. 2453 Fax: +82. 51. 720. 2456

E-mail address: kim032@korea.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

체동물 내부 공생미생물들에 의해 생성되는 것으로 밝혀져 유 용물질을 생산하는 해양생물 내부 공생미생물확보와 관련연구 또한 활발히 진행되고 있다(Bhushan et al., 2017; Moghaddam et al., 2021). 또한 2014년 나고야 의정서 결의로 생물자원의 확 보만으로도 간접적 이익을 얻을 수 있으며, 타 국가 생물자원 이 용으로 발생한 이익을 공유하게 되어 탐사되지 않은 해양환경 으로부터 잠재적 신규 생물자원을 확보하기 위한 경쟁이 더욱 치열해 질것으로 예상된다.

본 연구에서는 다양한 유용 활성이 보고된 Planococcus속에 속한 새로운 종 단위 균주 107-1<sup>T</sup>을 해양 환경으로부터 순수 분 리하였다. 연구 대상 균주가 속한 Planococcus속은 1894년 처 음으로 보고된 이래 현재까지 토양(See-Too et al., 2017), 해수 (Yoon et al., 2003), 영구 동토층(Mykytczuk et al., 2012), 펭귄 분변(Kim et al., 2015), 염전(Yoon et al., 2010) 등 다양한 환경 에서 분리된 총 32개 종 단위 분류군들을 포함하고 있다. Pla-

### https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0612

Korean J Fish Aquat Sci 55(5), 612-624, October 2022 Received 4 August 2022; Revised 31 August 2022; Accepted 17 October 2022 저자 직위: 김동균(연구사), 정현경(연구원), 김영옥(연구관), 공희정(연구관), 남보혜(연구관), 김주원(연구사), 김영삼(연구사)

nococcus 속 분류군들은 대체로 내냉성, 호염성 그람양성 균주 로 알려져 있으며(Kocur et al., 1970), 프로바이오틱스 균주로 써 병원성 세균에 대한 저항성 향상(Li et al., 2021), 새로운 카 로티노이드 색소 생성(Moyo et al., 2022)과 오염수 정화(Majumdar et al., 2019), 탄화수소 분해(Engelhardt et al., 2001), 그 리고 생물계면활성제(Ebrahimipour et al., 2014) 생성과 같은 유용 특성들을 가지는 것으로 보고되었다. 또한 현재까지 보고 된 *Planococcus* 속 균주 중 영하의 온도에서도 생장이 가능한 종들(Mykytczuk et al., 2012, 2013; Kim et al., 2015)이 보고 되어 저온 환경에 적용 가능한 미생물 제제, 효소 등의 연구 개 발 가능성 또한 존재한다.

본 연구에서는 과거 서해안 갯벌 미생물 생태조사 수행 중 확 보, 보존된 다양한 균주들 가운데 16S rRNA 유전자 서열 분석 을 통해 색소 생성 신종 균주 107-1<sup>T</sup>을 분리하였다. 본 연구는 균주 107-1<sup>T</sup>을 계통학적으로 동정하여 기존 *Planococcus* 분류 군들과의 분류학적 차이를 비교, 입증하여, 균주 107-1<sup>T</sup>이 *Planococcus* 속 내 근연 분류군들과 구분되는 새로운 미생물 분류 군임을 구명함과 신종 미생물 자원 확보를 위해 형태, 생리, 생 화학, 계통, 유전학적 시험 등 다면적 분석을 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 균주 순수분리

균주의 분리를 위해 전라북도 부안군 계화도 간척지에서 채집 한 갯벌 시료 0.1 g을 phosphate buffered saline (PBS; Gibson, Scotland, UK)용액을 이용하여 10<sup>5</sup>의 농도로 희석하였고, 희 석액 100 μL를 marine agar (MA; Difco, Franklin, NJ, USA) 배지에 도말 접종 후 20°C에서 3일간 배양하였다. 배양 과정을 통해 증식한 다양한 균주 집락 중 색소를 생성하는 집락은 동일 한 배지 및 조건을 적용하여 두 차례 반복 분리를 수행하여 순 수분리 하였고, 순수 분리된 균체는 차후 염기서열분석을 위해 20% glycerol-PBS (v/v) 용액에 현탁 후 -80°C에 보존하였다.

### 유전자 서열 및 계통학적 분석

순수 분리된 균주들의 16S rRNA 유전자 서열 확보를 위해 DNA 추출 및 16S rRNA 유전자 증폭을 수행하였다. DNA 추 출에는 20°C에서 3일간 순수배양된 균주의 균체와 MiniBest bacterial DNA extraction kit (TaKaRa, Kusatsu, Japan)를 이 용하였고, 유전자 증폭을 위해 유전자 양끝 말단 서열과 상보 적인 8F (5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492R (5'-GGYTACCTTGTTACGACTT-3') 프라이머를 이용하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 수행하 였다(Weisburg et al., 1991). PCR은 pre-denaturation 95°C 3 분, 35 cycle의 denaturation 95°C 30초, annealing 52°C 30초, extension 72°C 1분 30초, 그리고 final extension 72°C 3분의 조건 하에 20 μL 스케일로 AccuPower<sup>®</sup> PCR premix (K-2016; Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하여 수행하였다. 유전자 증 폭 여부는 1% 아가로즈겔 전기영동을 통해 확인하였고, 증폭이 확인된 PCR 산물은 QIAquick PCR purification kit (QIGEN, Germantown, MD, USA)를 이용하여 정제 후, sanger 서열 분석 장비(3730XL; Applied Bioscience, Beverly Hills, CA, USA)를 이용한 서열 분석의 주형으로 사용하였다.

서열 분석 결과 확보된 균주들의 16S rRNA 유전자 서열은 Bioedit 프로그램(Hall, 1999)을 이용한 품질 평가 후 EZBiocloud 웹 데이터베이스(https://www.ezbiocloud.net/; Yoon et al., 2017) 상에서 기존 분류군에 대한 유사도 비교에 사용하였 으며, 확보된 서열 중 기존 분류군 대비 가장 낮은 서열 유사도 를 나타낸 균주 107-1<sup>T</sup>이 확인되었다. 이 후 계통학적 분석을 위 해 균주 107-1<sup>T</sup>과 높은 유사도는 나타내는 *Planococcus* 속과 *Sporosarcina* 속 분류군들의 16S rRNA 서열, 그리고 계통학적 분석에 아웃 그룹으로 사용할 *Bacillus subtilis* NCIB 3610<sup>T</sup> 균 주의 서열을 포함하여 총 40<sup>TH</sup> 서열을 수집하였다. 수집한 서열 은 MEGA 7 프로그램(Kumar et al., 2016)의 MUSCLE (Edgar, 2004) 서열 분석도구를 이용하여 상보적 서열을 정렬하 였으며, 이어서 동일 프로그램의 neighbor-joining, maximum likelihood, 그리고 maximum parsimony 알고리즘을 이용한계 통학적 분석을 수행하였다.

#### 형태 및 생리학적 분석

균주 107-1<sup>T</sup>의 성장 온도 범위는 균주를 MA 배지에 획선 접종 하여 4-45°C 구간 5°C 간격 배양온도별 균집락 형성 양상을 확 인하여 판단하였다. 형태학적 특성 조사를 위해 성장 온도 범위 실험 중 확인된 최적온도 30°C에서 MA 배지상 2일간 배양된 균집락으로부터 균체를 확보하여 그람염색, 포자염색, 편모염 색을 각각 Remel gram stain kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), Schaeffer and Fulton spore stain kit (Millipore, Brulington, MA, USA), 그리고 Leifson flagella stain kit (Fisher Science, Waltham, MA, USA)를 이용하여 수행하였고, 운 동성 관찰을 위해 hanging drop (Bernardet et al., 2002)을 이 용하여 광학현미경(BX40; Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하 여 균체 형태, 크기 및 염색 여부, 그리고 운동성을 관찰하였다. 다양한 기질에 대한 이용능력을 관찰하기 위해 API 20NE, 20E, 50CH, 그리고 ZYM (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) 키트를 활용하였다. 키트 접종을 위해 MA 배지상 30°C, 2일간 배양된 균체를 접종액에 혼탁하였고, Mcfarland standard와 혼탁도 비교 후 접종, 배양하였다. 접종된 API 20NE, 20E, 50CH는 2일, 그리고 ZYM은 1일 배양 후 각각 지 시약을 이용하여 반응 여부를 관찰하였다. 접종에 사용된 균체 일부는 1% (w/v) tetramethyl p-phenylenediamine (bioMérieux)를 이용한 oxidase 활성 테스트와 3% (v/v) 과산화수소수 를 이용한 catalase 활성 테스트에 사용하였고, 각각의 반응은 용액의 발색과 기포 생성여부를 관찰하여 판별하였다.

#### 생화학적 분석

균체 지방산 조성비 분석을 위해 MA 배지상 30℃, 2일간 배양된 규체로부터 microbial identification protocol (MIDI; Sasser, 1990)에 따라 지방산을 분리, 정제하였으며, 분리된 지 방산은 gas chromatography (GC; Hewlett Packard 6890; HP, Palo Alto, CA, USA)와 Sherlock 프로그램(버전 6.3)을 이용하 여 정성, 정량 분석하였다. 균체 퀴논 조성 분석에는 동일한 배 지, 조건하에서 배양한 균체로부터 기존에 보고된 퀴논 정제법 (Minnikin et al., 1984; Komagata and Suzuki, 1988)에 따라 퀴 논을 분리, 정제하였으며, 정제 퀴논은 highperformance liquid chromatography (HPLC; e2695; Waters, Milford, MA, USA) 와 역상 컬럼(C18, 5 µm, 4.6×250 mm; SunFire, Ireland), 그 리고 이동상(methanol-heptane 혼합액, 90:10, v/v)을 이용하여 0.2 mL/분의 전개 속도로 분리하였다. 정제된 퀴논의 타입은 동 일한 조건하에 전개된 표준물질 menaguinone MK-7 (vitamin K2; Merck, Rahway, NJ, USA), 그리고 Jeotgalibacillus alimentarius (KCCM 41826)의 MK-8과 비교 분석을 통해 확인 하였다(Reddy et al., 2007).

#### 유전체 분석

균주 107-1<sup>T</sup>의 전장 유전체 확보와 분석을 위해 MA 배지 상 30°C, 2일간 배양된 균체로부터 MiniBest bacterial DNA extraction kit (TaKaRa)를 이용하여 genomic DNA를 추출 및 정제하였다. 정제된 DNA의 정량과 순도는 분광광도계 (ND-1000; Thermo Scientific)를 사용하여 각각 230 nm, 260 nm, 그리고 280 nm 파장대의 흡광도를 측정하여 판단하였고, 260/230 nm, 260/280 nm 값이 각각 1.8 이상인 정제 DNA 약 10 μg을 차세대염기서열분석장치(Next-generation sequencing, NGS; Nanopore Flongle, Oxford, UK)를 이용한 서열분 석에 사용하였다. Nanopore 플랫폼을 이용한 염기서열 분석 시 Flongle flow cell에서 생산된 전기신호는 GUPPY basecaller (버전 3.4.3)를 이용하여 염기서열 정보로 전환되었고, basecalling 과정을 통해 확보된 서열 단편(sequence read)들 로부터 Porechop 소프트웨어(버전 0.2.4)를 이용한 어뎁터 및 키메라 서열 제거가 수행되었다. 이어서 CANU assembler (버 전 2.0)를 이용하여 서열단편들의 통합(assembly)과 Medaka 소프트웨어(버전 1.2.0)를 이용한 유전체 서열 완성도 향상 과 정(polishing)을 거처 최종적으로 전장 유전체(whole genome sequence, WGS)를 확보하였다. NGS 분석을 통해 확보된 전 장 유전체로부터 prokaryotic genome annotation pipeline (PGAP) (Tatusova et al., 2016)과 rapid annotations using subsystems technology (RAST; https://rast.nmpdr.org/rast.cgi; Aziz et al., 2008) 유전자 annotation도구를 활용하여 암호화 된 유전자를 탐색하였고, 추가로 파지바이러스 서열 탐색 도구 (PHASTER; https://phaster.ca/; Arndt et al., 2016)와 2차 대사 산물 관련 유전자 탐색 도구(antiSMASH 6.0; Blin et al., 2021) 를 사용하여 유전체 특성을 조사하였다.

유전체 기반 유사도 비교분석을 위해 참조균주 5종 Planococcus ruber CW1<sup>T</sup> (NCBI accession 번호, GCA 022819085.1), Planococcus faecalis KCTC 33580<sup>T</sup> (GCA 002009235.1), Planococcus kocurii ATCC 43650<sup>T</sup> (GCA 001465835.2), Planococcus donghaensis DSM 22276<sup>T</sup> (GCA 001687665.2), 그리고 Planococcus halocryophilus DSM24743<sup>T</sup> (GCA 001687585.2) 의 유전체, 유전자(coding sequence, CDS), 그리고 아미노산 서 열을 National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank database로부터 수집하였다. 이어서 균주 107-1<sup>T</sup>과 근 연 분류군들의 유전체 유사도 분석을 위해 genome to genome distance calculator (GGDC 2.1, formula2; http://ggdc.dsmz.de/; Auch et al., 2010; Meier-Kolthoff et al., 2013)를, CDS 서열유 사도 분석에 average nucleotide identity calculator (ANI; www. ezbiocloud.net/tools/ani; Lee et al., 2016; Yoon et al., 2017) 를, 그리고 아미노산 서열 유사도 분석에 average amino acid identity calculator (two-way AAI; http://enve-omics.ce.gatech. edu/aai; Rodriguez-R and Konstantinidis, 2014)를 각각 활용하 였다. 균주 107-1<sup>T</sup>을 포함한 모든 균주의 단백질 암호화 유전자 중 공통적(core), 특이적(unique) 유전자 탐색에는 pan-genome analysis pipeline (PGAP; Zhao et al., 2012) 분석 도구를 활용하 였고, 도구 내 GeneFamily 모델, 단백질 서열 비교에 30% identity, E-value 10<sup>5</sup>이하 기준치를 적용하였다.

#### 결과 및 고찰

#### 계통학적 분석

균주 107-1<sup>T</sup>의 16S rRNA 유전자 서열 비교 결과 Planococcus, Metaplanococcus, Sporosarcina, Chryseomicrobium, 그리고 Psychrobacillus 속에 포함된 39개 균주들과 98.52-94.75%의 유사도를 나타내었다. 높은 유사도를 나타낸 상기 분 류군들과의 계통학적 분석 결과 균주 107-1<sup>T</sup>은 Planococcus 속 분류군 Planococcus ruber CW1<sup>T</sup> (서열 유사도 98.52%; Wang et al., 2017), P. faecalis KCTC 33580<sup>T</sup> (97.67%; Kim et al., 2015), P. kocurii ATCC 43650T (97.48%; van Hao and Komagata, 1985), P. donghaensis DSM 22276<sup>T</sup> (97.47%; Choi et al., 2007), 그리고 P. halocryophilus DSM 24743<sup>T</sup> (97.37%; Mykytczuk et al., 2012)와 함께 독립된 클레이드(clade)를 형 성하여 계통학적 근연 관계를 이루고, 이 중 P. ruber CW1<sup>T</sup>과 계통학적으로 가장 밀접하게 위치하였다(Fig. 1). 따라서 본 연 구에서는 계통학적 근연 분류군인 P. ruber CW1<sup>T</sup>을 포함 상기 한 5개 Planococcus 종을 참조균주로 선정하여 균주 107-1<sup>T</sup>과 다면적 비교분석을 수행하였다.

#### 형태 및 생리학적 분석

균주 107-1<sup>T</sup>은 MA 배지상 온도 범위 10-40°C에서 균집락을



Fig. 1. Neighbour-joining tree showing the phylogenetic position of strain  $107-1^{T}$  and close species within the genus *Planococcus*. The filled circles indicate that the nodes also formed in the maximum-likelihood and maximum-parsimony trees. The unfilled circles indicate that the nodes also formed in the maximum-likelihood tree. Bar, 0.01 substitutions per nucleotide site.

형성하며, 동일 배지상 최적온도인 30°C에서 약 2 mm 직경의 노란색 원형 집락을 형성하였다. 현미경을 이용한 형태관찰 결 과 균주 107-1<sup>T</sup>의 균체는 약 1-2 μm 직경의 그람 양성 단간 균 또는 구균으로, 운동성을 나타나며, 포자는 관찰되지 않았다 (Fig. 2). 이는 일반적인 *Planococcus* 속 분류군, 특히 균주 107-1<sup>T</sup>과 계통학적으로 가까운 참조균주들에게서도 관찰되는 형태 적 특징인 0.6-1.2 μm 직경의 운동성을 가지는 그람 양성 구형 균체와 비포자성 특성과 유사하다(Table 1).

균주 107-1<sup>™</sup>과 참조균주들의 생장온도 범위 비교결과 모든 균 주들이 최고 온도 범위 30-40°C, 최적 온도 25-30°C의 유사 한 범위 내에서 생장하는 것으로 확인되었다. 반면 최저 온도 범위에 있어 균주들간 큰 차이를 보였는데, 특히 균주 107-1<sup>™</sup> 과 *P. ruber* CW1<sup>™</sup>의 최저 생장 온도는 10-15°C로 *P. faecalis* KCTC 33580<sup>™</sup>, *P. kocurii* ATCC 43650<sup>™</sup>, *P. donghaensis* DSM 22276<sup>™</sup>, 그리고 *P. halocryophilus* DSM 24743<sup>™</sup>의 최저 생장 온 도 -20-5°C와 큰 차이를 보였다. 이는 각 균주들이 분리된 환경 과도 밀접한 관련이 있는 것으로 추측되며, 균주 107-1<sup>™</sup>의 경



Fig. 2. Gram stained cells of strain 107-1<sup>T</sup>. Scale bar 10 µm.

Characteristics	1	2	3	4	5	6
Phenotypic features						
Temperature range/Optimum (°C)	10-40/25-30	15-37/25-30	-20-30/25	5-30/25-30	4-37/25-30	-10-37/25
Cell shape	Coccus or short rod	Coccus	Coccus	Coccus	Coccus	Coccus
Cell size (um)	1.0–2.0	ND	0.6–1.0	1.0–1.2	0.8–1.2	0.8–1.2
Catalase	+	+	+	+	_	+
Oxidase	_	+	_	_	+	+
Hydrolysis of gelatin	+	ND	+	_	_	+
Indole production	_	_	_	_	_	+
H <sub>s</sub> S production	_	_	+	_	_	+
Acetoin production	+	_	_	_	+	ND
Citrate utilization	_	w	_	ND	+	+
Activity of						
Urease	_	w	_	_	_	_
Lysine decarboxylase	_	_	_	_	_	+
Arginine dihvdrolase	_	ND	_	ND	_	+
$N$ –Acetyl– $\beta$ –qlucosaminidase	_	+	ND	ND	ND	+
Utilization of						
D–Glucose	+	+	_	v	_	+
Mannitol	+	+	+	_	+	+
Sucrose	_	+	_	_	+	+
Melibiose	_	w	_	_	_	_
L–Arabinose	_	+	_	_	_	+
Inositol	_	_	+	_	_	_
Sorbitol	_	w	+	_	_	_
Gelatin	+	ND	+	v	_	+
Maltose	_	+	ND	_	+	+
Rhamnose	-	ND	_	-	_	+
Starch	_	+	_	_	+	ND
Mannose	-	+	ND	-	_	+
Cellobiose	+	_	ND	_	ND	+
D–Xylose	+	+	ND	_	ND	ND
Ribose	-	+	ND	ND	+	+
Lactose	-	_	ND	-	ND	+
Trehalose	-	+	ND	_	ND	+
D–Mannose	-	+	ND	_	ND	+
D-Fucose	-	w	ND	ND	ND	+
Genomic features						
Genome size (bp)	3,513,248	3,371,367	3,495,892	3,472,056	3,305,371	3,424,893
Contig count	1	13	1	1	1	1
Number of CDS/rRNA/tRNA	3,552/27/72	3,334/12/59	3,362/27/72	3,323/27/72	3,137/33/79	3,276/30/72
dDDH value (%)	100	34.8	20.3	20.3	20.6	20.5
ANI value (%)	100	86.9	77.96	77.9	77.87	78.16
AAI value (%)	100	92.75	73.67	73.95	73.68	73.61
G+C content (mol%)	44.6	48.6	40	40-42.6	47	40.5

Table 1. Characteristics of strain 107-1<sup>T</sup> and related species in the genus *Planococcus* 

Taxa: 1, Strain 107-1<sup>T</sup> (data from this study); 2, *P. ruber* CW1<sup>T</sup>(data from Wang et al., 2017); 3, *P. faecalis* KCTC 33580<sup>T</sup>(Kim et al., 2015); 4, *P. kocurii* ATCC 43650<sup>T</sup>(Van Hao and Komagata, 1985); 5, *P. donghaensis* DSM 22276<sup>T</sup>(Choi et al., 2007); 6, *P. halocryophilus* DSM 24743<sup>T</sup>(Mykytczuk et al., 2012). +, Positive; –, Negative; w, Weakly positive; ND, No data available; v, Variable reaction.

우 갯벌; *P. ruber* CW1<sup>T</sup>, 토양(Wang et al., 2017); *P. faecalis* KCTC 33580<sup>T</sup>, 남극 펭귄 분변(97.67%; Kim et al., 2015); *P. kocurii* ATCC 43650<sup>T</sup>, 북해(북대서양) 대구 표피(van Hao and Komagata, 1985); *P. donghaensis* DSM 22276<sup>T</sup>, 동해 심층 저 니(Choi et al., 2007); *P. halocryophilus* DSM 24743<sup>T</sup>, 북극 영 구 동토층(Mykytczuk et al., 2012)에서 각각 분리되었다는 점 에서 *Planococcus* 속 미생물들이 지구상 극지역 토양과 해양 의 주로 저온 환경에 광범위하게 분포하고, 상기한 서식환경에 서 생존을 위한 특성을 가지기까지 오랜 기간 해당 환경에 적 응, 진화해 왔음을 간접적으로 보여주는 특성으로 생각할 수 있 다(Table 1).

균주 107-1<sup>T</sup>의 catalase, oxidase활성, 다양한 기질 이용능 력 및 효소활성 관찰결과 catalase 활성, acetoin 생성, gelatin, glycerol, D-xylose, D-glucose, D-fructose, D-mannitol, N-acetyl glucosamine, esculine, cellobiose, 이용능, 그리고 alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase,  $\alpha$ -chymotrypsin, acid phosphatase, naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, β-glucosidase, α-glucosidase와 같은 효소활성을 보 유하는 것으로 관찰되었다. 균주 107-1 과 참조균주들의 특이 적 기질 이용능 비교결과 확인 가능한 특성 중 30여 항목의 효 소활성 및 기질 이용능이 상이하였고(Table 1), 계통학적으로 가장 가까운 균주 107-1<sup>T</sup>과 P. ruber CW1<sup>T</sup>이 17개 항목(ND 제 외)에 대한 차이를 나타낸 반면 하위 클레이드에 속한 P. donghaensis DSM 22276<sup>T</sup>이 5개 항목(ND, variable 제외)에 대한 차이를 나타내어 계통학적 거리와 별개로 균주간 다양한 동화 및 에너지 대사능을 나타내었다(Table 1). 본 연구에서는 최적 배양 조건 하에서 관찰된 총 70여종의 효소활성 및 기질 이용능 을 비교하였지만, 참조균주들의 서식환경을 고려하여 보다 다 양한 조건하에서 특성을 시험한다면 더욱 다양한 활성을 관찰 할 수 있을 것으로 사료된다.

#### 생화학적 분석

교주 107-1<sup>T</sup>의 균체를 구성하는 총 지방산 조성 분석결과 총 16종(summed feature 포함, Table 2)의 지방산이 검출되었고, 이중 10% 이상 비율을 차지하는 3종의 주요 지방산 anteiso-C<sub>15:0</sub> (37.9%), iso-C<sub>16:0</sub> (14.9%), 그리고 iso-C<sub>14:0</sub> (10.8%)가 전 체 비율의 63%를 구성하였다. 균주 107-1<sup>T</sup>를 포함한 모든 참 조균주들의 주요 지방산으로써 anteiso-C<sub>15:0</sub>가 가장 높은 비율 (37.9–65%)을 나타내었는데, 지방산 anteiso-C<sub>15:0</sub>의 미생물 저 온 환경 적응과 관련하여, 저온에서 *Listeria monocytogenes* 세 포 유지(Annou et al., 1997), *Bacillus*속 미생물들의 휴면기 세 포 유지와 포자 형성(Diomande et al., 2015)에 대한 그 중요성 이 보고된 바 있다. 본 연구에서 선정한 참조균주 중 *P. faeca-lis* KCTC 33580<sup>T</sup> (Kim et al., 2015)의 최저 생장 온도가 영하 20°C에 이르는 점과 anteiso-C<sub>15:0</sub>의 비율이 균주들 중 가장 높

은 65%에 달하는 점, 그리고 모든 균주들의 공통 주요 지방산 으로써 anteiso-C<sub>150</sub>가 가장 높은 비율을 차지한다는 점은 *Planococcus* 균주들의 세포를 구성하는 주요 지방산 anteiso-C<sub>150</sub> 가 저온 적응과 밀접한 연관이 있음을 보여주는 특성이라 여겨 진다.

지방산 이외 균체 구성요소 중 하나인 퀴논은 세균의 에너지 생성에 필수적인 전자전달체이다. *Planococcus* 속 분류군으로 써 균주 107-1<sup>T</sup>과 모든 참조균주들은 *Planococcus* 속 분류군들 이 공통적으로 메나퀴논 MK-7과 MK-8 (Ludwig et al., 2011) 을 주요 전자전달체로 보유하는 것으로 확인되었다.

Table 2. Fatty acid profiles of strain 107-1<sup>T</sup> and related species

Fatty acid	1	2	3	4	5	6
C <sub>12:0</sub>	1.0	-	-	-	-	-
C <sub>14:0</sub>	TR	-	2.9	-	-	TR
C <sub>15:0</sub>	-	-	-	6.0	1.7	-
C <sub>15:1</sub>	-	-	-	7.0	-	-
C <sub>16:0</sub>	1.8	8.2	2.9	1.0	6.3	7.0
C <sub>16:1</sub>	-	-	-	1.0	-	-
C <sub>17:0</sub>	1.3	-	-	-	1.3	-
C <sub>18:0</sub>	TR	5.0	-	-	-	2.9
С <sub>16:1</sub> <i>w</i> 9с	-	-	2.5	-	-	-
C <sub>16:1</sub> ω11c	1.5	TR	1.8	-	1.3	4.8
C <sub>17:1</sub> ω9c	1.3	-	-	-	-	-
$C_{16:1}\omega$ 7c alcohol	9.0	TR	-	-	1.6	2.1
anteiso-C <sub>12:0</sub>	-	-	-	3.0	-	-
iso-C <sub>14:0</sub>	10.8	2.4	1.2	6.0	3.4	1.7
iso-C <sub>15:0</sub>	4.6	5.9	2.4	6.0	4.7	1.7
anteiso-C <sub>15:0</sub>	37.9	42.8	65.0	46.0	43.8	46.2
iso-C <sub>16:0</sub>	14.9	7.5	4.5	10.0	9.4	2.9
iso-C <sub>17:0</sub>	1.3	-	2.1	3.0	6.4	2.3
anteiso-C <sub>17:0</sub>	5.6	10.4	-	2.0	15.5	18.3
iso-C <sub>18:0</sub>	1.2	-	1.9	-	TR	1.2
iso-C <sub>17:1</sub>	-	-	-	1.0	-	-
Summed feature 4*	2.5	-	4.4	-	-	5.2
Summed feature 5*	-	-	-	-	1.9	-

Taxa: 1, Strain 107-1<sup>T</sup> (data from this study); 2, *P. ruber* CW1<sup>T</sup> (data from Wang et al., 2017); 3, *P. faecalis* KCTC 33580<sup>T</sup> (Kim et al., 2015); 4, *P. kocurii* ATCC 43650<sup>T</sup> (Van Hao and Komagata, 1985); 5, *P. donghaensis* DSM 22276<sup>T</sup> (Choi et al., 2007); 6, *P. halocryophilus* DSM 24743<sup>T</sup> (Mykytczuk et al., 2012). –, Not detected; TR, trace amount (< 1.0%). Fatty acids representing < 1% in all rows were excluded. Values accounting for > 10% are marked in bold. \*Summed feature 4, anteiso-C<sub>17:1</sub> B and/or iso-C<sub>17:1</sub> I; Summed features 5, iso-C<sub>17:1</sub> I and/or anteiso-C<sub>17:1</sub>.



Fig. 3. Complete genome of *Planococcus* sp. 107-1<sup>T</sup>. ORF, Open reading frame; CDS, Coding sequence.

Table 3. Genome feat	ures of strain $107-1^{T}$	
	Genome features	
	Read count	105,122
Raw data	Total base	271,508,355
	N50 (Q>7)	3,799
Assembled contig	Contig count	1
	Number of A	975,312
	Number of T	972,705
	Number of G	786,238
	Number of C	778,993
	Genome size (bp)	3,513,248
	GC ratio (%)	44.6
	CDS	3,552
Annotated gene (PGAP annotation)	rRNA	27
	tRNA	72

#### 유전체 분석

교주 107-1<sup>T</sup>의 유전체 염기서열 분석을 통해 총 105,122개 의 서열단편(sequence read)이 산출되었고, 통합(assembly)과 정을 거쳐 G+C 함량 44.6 mol%인 3,513,248 bp길이의 환형 전장 유전체 서열을 확보하였다(Fig. 3, Table 3). 확보된 균주 107-1<sup>T</sup>의 유전체는 참조균주들의 유전체와 비교하여 가장 큰 것으로, PGAP annotation결과 CDS (coding sequence) 3,552 개, rRNA 서열 27개, tRNA 서열 72개가 탐색되어 3,137개에 서 3,362개의 CDS가 탐색된 참조균주의 유전체 보다 많은 유 전자를 포함하였다(Table 1). RAST annotation분석결과 균주 107-1<sup>T</sup>의 유전체는 총 1,707개 subsystem 관련 유전자를 포함 하여 PGAP annotation결과와 마찬가지로 참조균주를 포함한 비교대상 중 가장 많은 subsystem 관련 유전자를 보유하였고, 특히 단백질, 아미노산, 탄수화물 대사관련 유전자의 수는 참조 균주들과 비교하여 각각 최대 69%, 17.9%, 그리고 39.7% 가량 더 많은 것으로 나타났다(Table 4). 이러한 결과는 균주 107-1<sup>T</sup> 이 근연(참조) 분류군들 중 잠재적으로 보다 많은 특성을 보유 하고 있을 가능성을 보여주는 결과로, 균주 107-1<sup>T</sup>이 분리된 환 경(갯벌)이 참조균주들이 분리된 환경보다 더욱 많은 기능을 요 구하는 환경임을 간접적으로 예상할 수 있는 결과라 생각된다. 형태 관찰결과 편모를 관찰할 수 없었지만 RAST annotation 을 통해 균주 107-1<sup>T</sup>과 모든 근연 분류군의 유전체로부터 편 모 구성과 관련된 subsystem을 확인할 수 있었다(Table 4). 균 주 107-1<sup>T</sup>은 근연 분류군과 동일한 편모 구성요소 관련 유전자 인 flaA (flagellin protein A), flgB와 C (Flagellar basal-body rod protein B, C), FliE (Flagellar hook-basal body complex protein E), 그리고 FtsI (Peptidoglycan synthetase)를 보유하고 있는 것으로 확인되었고, *P. donghaensis* DSM 22276<sup>T</sup> (관찰하 지 않음)을 제외한 모든 근연균주들의 극성 편모가 전자현미경 을 통해 관찰되어 107-1<sup>T</sup>의 편모 존재 가능성이 높은 것으로 예 상되지만, 본 연구에서 사용한 실험 수단의 한계로 인해 편모 관 찰이 어려운 것으로 사료된다.

PHASTER tool (Arndt et al., 2016)을 이용한 균주 107-1<sup>T</sup>의 유전체 내 프로파지(prophage) 서열 탐색결과 phage integrase 와 관련된 바이러스 단백질 서열이 탐색 되었지만, 그 외 프로파 지 서열에서 빈번히 확인되는 핵산 중합효소나 캡시드(capsid) 단백질 또는 polymerase와 tail과 같은 온전한 바이러스를 이 루는 유전자 서열은 추가로 탐색되지 않아 균주 107-1<sup>T</sup>의 유 전체는 감염능력이 없는 불완전한 프로파지 서열만을 포함하 는 것으로 확인되었다. 추가로 동일한 분석도구를 이용하여 근 연 분류군들의 유전체에 포함된 프로파지 서열을 탐색한 결과 모든 분류군에게서 각기 다른 수의 불완전 또는 완전한 프로파 지 서열이 확인되었다(Table S1). 프로파지는 자신들의 생존과

Table 4. RAST subsystem features and counts of strain 107-1<sup>T</sup> and related species

	1					
RAST subsystem features	1	2	3	4	5	6
Cofactors, vitamins, prosthetic groups, pigments	136	106	126	127	130	133
Cell wall and capsule	47	39	41	37	47	59
Virulence, disease and defense	59	45	46	42	41	43
Potassium metabolism	2	2	7	8	5	6
Miscellaneous	28	22	24	23	30	26
Phages, prophages, transposable elements, plasmids	1	0	4	0	0	5
Membrane transport	64	58	65	65	62	65
Iron acquisition and metabolism	17	14	24	22	15	12
RNA metabolism	61	53	49	49	44	46
Nucleosides and nucleotides	113	98	108	108	88	93
Protein metabolism	245	145	170	164	164	170
Cell division and cell cycle	3	3	3	3	3	3
Motility and chemotaxis	7	6	6	6	5	6
Regulation and cell signaling	22	19	18	20	18	18
DNA metabolism	79	57	58	62	56	54
Fatty acids, lipids, and Isoprenoids	82	88	81	75	60	60
Nitrogen metabolism	9	9	9	9	10	10
Dormancy and sporulation	11	9	9	9	9	9
Respiration	57	38	45	41	39	39
Stress response	56	53	55	56	55	70
Metabolism of aromatic compounds	7	5	5	5	5	9
Amino acids and derivatives	310	267	263	267	268	266
Sulfur metabolism	9	9	7	7	6	6
Phosphorus metabolism	11	8	25	27	24	24
Carbohydrates	271	194	202	196	201	199
Total subsystems	1707	1347	1450	1428	1385	1431

Taxa: 1, Strain 107-1<sup>T</sup>; 2, *P. ruber* CW1<sup>T</sup>; 3, *P. faecalis* KCTC 33580<sup>T</sup>; 4, *P. kocurii* ATCC 43650<sup>T</sup>; 5, *P. donghaensis* DSM 22276<sup>T</sup>; 6, *P. halocryophilus* DSM 24743<sup>T</sup>.



Fig. 4. Core, accessory, and unique gene cluster count of strain  $107-1^{T}$  and related species.

번식을 위해 숙주 세포내에서 용균성(lytic cycle) 또는 용원성 (lysogeny cycle) 생활사를 가지는 흔히 기생적 존재로 알려져 있는데, 현재는 이에 더하여 숙주의 병원성과 생존성에 영향을 미치며(Fortier and Sekulovic, 2013), 나아가 숙주가 새로운 특 성을 획득하는데 중요한 역할을 하여 숙주와 함께 주어진 환경 에 적응, 진화해 나가는 공동진화적(co-evolve)존재로도 인식 되고 있다(Menouni et al., 2015). 이러한 측면에서 균주 107-1<sup>T</sup> 과 모든 근연 분류군들의 유전체에서 탐색된 불완전한 프로파 지 서열들은 단순히 과거 파지바이러스들의 감염흔적만이 아닌 오랜 기간 동안 해당 균주들과 함께 진화해온 프로파지들의 흔 적으로 해석할 수 있으며, 현재로선 그 흔적의 의미를 완전히 이 해하는 것은 불가능하지만, 이로부터 숙주 세균이 감염되었을 당시 존재했던 파지바이러스들의 자취와 서식환경에서 숙주에 게 진화학적 도움이 되었을 것 등을 짐작해볼 수 있을 것이다.

antiSMASH를 이용한 균주 107-1<sup>T</sup>의 2차 대사산물 관련 유 전자 클러스터 탐색 결과 Minimum Information about a Biosynthetic Gene cluster (MIBiG database; Satria et al., 2020) 데 이터베이스 대비 83% 유사도를 가지는 온전한 카로티노이드 색소 합성 유전자 클러스터와 클러스터를 구성하는 하위 유전 자들 CrtNa (4,4'-diapophytoene desaturase, 59% of identity), CrtM (4,4'-diapophytoene synthase, 50%), CrtNb (hydroxydiaponeurosporene desaturase, 54%), 그리고 GT (putative glycosyl transferase, 48%) 등이 확인되었다. 균주 107-1<sup>T</sup>과 참조 균주들의 유전체, 단백질 암호화 서열, 그리고 아미노산 서열 의 유사도를 비교하기 위하여 DDGC, ANI, AAI 값을 산출한 결과, 각각 20.3–34.8%, 77.87–86.9%, 그리고 73.61–92.75% 의 범위를 나타내었다(Table 1). 이러한 수치는 종 단위 분류군 을 구분하는 dDDH, ANI, AAI 유사도, 각각 70%, 95%, 95% (Konstantinidis and Tiedje, 2005) 이하의 수치로, 균주 107-1<sup>T</sup> 이 참조균주들과 구분되는 새로운 종 단위 분류군임을 뒷받침 한다.

판게놈 분석을 통해 균주 107-1<sup>T</sup>와 근연 분류군들이 공통 (core), 일부(accessory), 특이적(unique)으로 가지는 단백질 서 열을 탐색한 결과 모든 균주들이 공통적으로 보유한 core 단백 질 서열 클러스터 1,769개, 일부 균주들이 보유한 accessory 단 백질 서열 클러스터 1,435개, 그리고 각 균주가 특이적으로 보 유한 unique 단백질 서열 클러스터가 최소 115개에서 최대 208 개로 확인되었다(Fig. 4). 균주 107-1<sup>T</sup>의 유전체에서 특이적으 로 확인된 unique 단백질은 212개로, hypothetical protein, 또는 기능이 명확히 알려지지 않은 단백질들이 상당수를 차지하였으 며, 이들 이외 다양한 기질의 산화, 환원반응을 촉매하는 산화 환원 효소 그룹 Gfo/Idh/MocA family oxidoreductase (Taberman et al., 2016), macrolide계 항생제를 무력화하는 macrolide 2'-phosphotransferase (Taniguchi et al., 2004) 등 다양한 수송, 촉매 관련 단백질들이 확인되었다(Table S2).

본 연구에서는 다면적 실험을 통해 균주 107-1<sup>T</sup>의 분류학적 특성을 조사하여, 균주 107-1<sup>T</sup>과 계통학적으로 가까운 근연 분 류군들의 특성을 비교 분석하였으며, 이를 통해 확인된 균주들 간공통점과 특이적 특성에 기반하여 균주 107-1<sup>T</sup>이 *Planococcus* 속에 속하는 종(species)단위 신종 분류군임을 확인하였다. 본 연구에서 동정된 균주 107-1<sup>T</sup>은 한국생물자원센터(Korean Collection of Type Cultures, KCTC)에 기탁(기탁번호 KCTC 43422) 보존하였고, 전장 유전체와 16S rRNA 유전자 서열 은 각각 유전체 번호 CP090977과 유전자 번호 OM319629로 NCBI GenBank database에 등록하였다.

### 사 사

본 연구는 국립수산과학원 수산과학연구사업 유용 미생물 활용 넙치 건강도 향상 기술 개발(R2022029)의 지원을 받아 수 행됨.

#### References

- Annous BA, Becker LA, Bayles DO, Labeda DP and Wilkinson BJ. 1997. Critical role of anteiso-c15:0 fatty acid in the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures. Appl Environ Microbiol 63, 3887-3894. https://doi.org/10.1128/ aem.63.10.3887-3894.1997.
- Arndt D, Grant JR, Marcu A, Sajed T, Pon A, Liang Y and Wishart DS. 2016. Phaster: A better, faster version of the phast phage search tool. Nucleic Acids Res 44, W16-W21. https://doi.org/10.1093/nar/gkw387.
- Auch AF, von Jan M, Klenk HP and Göker M. 2010. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delinea-

tion by means of genome-to-genome sequence comparison. Stand Genomic Sci 2, 117-134. https://doi.org/10.4056/ sigs.531120.

- Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA, Formsma K, Gerdes S, Glass EM and Kubal M. 2008. The RAST server: Rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics 9, 75. https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75.
- Bernardet JF, Nakagawa Y, Holmes B and for the Subcommittee on the taxonomy of *Flavobacterium* and Cytophagalike bacteria of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. 2002. Proposed minimal standards for describing new taxa of the family *flavobacteriaceae* and emended description of the family. Int J Syst Evol Microbiol 52, 1049-1070. https://doi.org/10.1099/00207713-52-3-1049.
- Bhushan A, Peters EE and Piel J. 2017. *Entotheonella* bacteria as source of sponge-derived natural products: Opportunities for biotechnological production. Prog Mol Subcell Biol 55, 291-314. https://doi.org/10.1007/978-3-319-51284-6\_9.
- Blin K, Shaw S, Kloosterman AM, Charlop-Powers Z, Van Wezel GP, Medema MH and Weber T. 2021. AntiS-MASH 6.0: Improving cluster detection and comparison capabilities. Nucleic Acids Res 49, W29-W35. https://doi. org/10.1093/nar/gkab335.
- Choi JH, Im WT, Liu QM, Yoo JS, Shin JH, Rhee SK and Roh DH. 2007. *Planococcus donghaensis* sp. Nov., a starchdegrading bacterium isolated from the East Sea, South Korea. Int J Syst Evol Microbiol 57, 2645-2650. https://doi. org/10.1099/ijs.0.65036-0.
- Diomande SE, Nguyen-The C, Guinebretiere MH, Broussolle V and Brillard J. 2015. Role of fatty acids in *Bacillus* environmental adaptation. Front Microbiol 6, 813. https://doi. org/10.3389/fmicb.2015.00813.
- Ebrahimipour G, Gilavand F, Karkhane M, Kavyanifard A, Teymouri M and Marzban A. 2014. Bioemulsification activity assessment of an indigenous strain of halotolerant *Planococcus* and partial characterization of produced biosurfactants. Int J Envioron Sci Technol 11, 1379-1386. https://doi. org/10.1007/s13762-014-0548-5.
- Edgar RC. 2004. Muscle: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Res 32, 1792-1797. https://doi.org/10.1093/nar/gkh340.
- Engelhardt M, Daly K, Swannell R and Head IM. 2001. Isolation and characterization of a novel hydrocarbon-degrading, Gram-positive bacterium, isolated from intertidal beach sediment, and description of *Planococcus alkanoclasticus* sp. Nov. J Appl Microbiol 90, 237-247. https://doi.org/10.1046/ j.1365-2672.2001.01241.x.
- Fortier LC and Sekulovic O. 2013. Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. Virulence 4, 354-365. https://doi.org/10.4161/viru.24498.

Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence

alignment editor and analysis program for windows 95/97/ NT. Nucleic Acids Symp Ser 41, 95-98.

- Helfrich EJ, Lin GM, Voigt CA and Clardy J. 2019. Bacterial terpene biosynthesis: Challenges and opportunities for pathway engineering.Beilstein J Org Chem 15, 2889-2906. https://doi.org/10.3762/bjoc.15.283.
- Jiménez C. 2018. Marine natural products in medicinal chemistry. ACS Med Chem Lett 9, 959-961. https://doi. org/10.1021/acsmedchemlett.8b00368.
- Kautsar SA, Blin K, Shaw S, Navarro-Muñoz JC, Terlouw BR, Hooft van der JJJ, Santen vna JA, Tracanna V, Duran HGS, Andreu VP, Selem-Mojica N, Alanjary M, Robinson SL, Lund G, Epstein SC, Sisto AC, Charkoudian LK, Collemare J, Linington RG, Weber T and Medema MH. 2020. MIBiG 2.0: a repository for biosynthetic gene clusters of known function, Nucleic Acids Res 48, 454-458. https://doi. org/10.1093/nar/gkz882.
- Kim JH, Kang HJ, Yu BJ, Kim SC and Lee PC. 2015. *Planococcus faecalis* sp. Nov., a carotenoid-producing species isolated from stools of antarctic penguins. Int J Syst Evol Microbiol 65, 3373-3378. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000423.
- Kocur M, Zdena P, Hodgkiss W and Martinec T. 1970. The taxonomic status of the genus *Planococcus* Migula 1894. Int J Syst Evol Microbiol 20, 241-248. https://doi. org/10.1099/00207713-20-3-241.
- Komagata K and Suzuki KI. 1988. 4 lipid and cell-wall analysis in bacterial systematics. Methods Microbiol 19, 161-207. https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70410-0.
- Konstantinidis KT and Tiedje JM. 2005. Towards a genomebased taxonomy for prokaryotes. J Bacteriol 187, 6258-6264. https://doi.org/10.1128/JB.187.18.6258-6264.2005.
- Kumar S, Stecher G and Tamura K. 2016. Mega7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol Biol Evol 33, 1870-1874. https://doi.org/10.1093/ molbev/msw054.
- Lee I, Kim YO, Park SC and Chun J. 2016. Orthoani: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity. Int J Syst Evol Microbiol 66, 1100-1103. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000760.
- Li YX, Wang NN, Zhou YX, Lin CG, Wu JS, Chen XQ, Chen GJ and Du Z. 2021. *Planococcus maritimus* ml1206 isolated from wild oysters enhances the survival of *Caenorhabditis elegans* against *Vibrio anguillarum*. Mar Drugs 19, 150. https://doi.org/10.3390/md19030150.
- Ludwig W, Schleifer KH and Whitman WB. 2011. Bergey's manual of systematic bacteriology: The firmicutes. Springer, New York, NY, U.S.A.
- Majumdar S, Priyadarshinee R, Kumar A, Mandal T and Mandal DD. 2019. Exploring *Planococcus* sp. TRC1, a bacterial isolate, for carotenoid pigment production and detoxification of paper mill effluent in immobilized fluidized bed reactor. J Clean Prod 211, 1389-1402. https://doi.org/10.1016/j.

jclepro.2018.11.157.

- Meier-Kolthoff JP, Auch AF, Klenk HP and Göker M. 2013. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions. BMC Bioinform 14, 60. https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-60.
- Menouni R, Hutinet G, Petit MA and Ansaldi M. 2015. Bacterial genome remodeling through bacteriophage recombination. FEMS Microbiol Lett 362, 1-10. https://doi.org/10.1093/ femsle/fnu022.
- Minnikin D, O'donnell A, Goodfellow M, Alderson G, Athalye M, Schaal A and Parlett J. 1984. An integrated procedure for the extraction of bacterial isoprenoid quinones and polar lipids. J Microbiol Methods 2, 233-241. https://doi. org/10.1016/0167-7012(84)90018-6.
- Moghaddam JA, Jautzus T, Alanjary M and Beemelmanns C. 2021. Recent highlights of biosynthetic studies on marine natural products. Org Biomol Chem 19, 123-140. https:// doi.org/10.1039/D0OB01677B.
- Montaser R and Luesch H. 2011. Marine natural products: A new wave of drugs?. Future Med Chem 3, 1475-1489. https://doi.org/10.4155/fmc.11.118.
- Moyo AC, Dufossé L, Giuffrida D, van Zyl LJ and Trindade M. 2022. Structure and biosynthesis of carotenoids produced by a novel *Planococcus* sp. isolated from south africa. Microb Cell Fact 21, 43. https://doi.org/10.1186/s12934-022-01752-1.
- Mykytczuk N, Foote SJ, Omelon CR, Southam G, Greer CW and Whyte LG. 2013. Bacterial growth at -15°C; molecular insights from the permafrost bacterium *Planococcus halocryophilus* Or1. ISME J 7, 1211-1226. https://doi. org/10.1038/ismej.2013.8.
- Mykytczuk NC, Wilhelm RC and Whyte LG. 2012. *Planococ-cus halocryophilus* sp. Nov., an extreme sub-zero species from high arctic permafrost. Int J Syst Evol Microbiol 62, 1937-1944. https://doi.org/10.1099/ijs.0.035782-0.
- Reddy C, Beveridge TJ, Breznak JA and Marzluf G. 2007. Methods for General and Molecular Microbiology, 3rd Edition. American Society for Microbiology Press, Washington D.C., U.S.A., 364-365.
- Rodriguez-R LM and Konstantinidis KT. 2014. Bypassing cultivation to identify bacterial species. Microbe Magazine 9, 111-118. https://doi.org/10.1128/MICROBE.9.111.1.
- Sasser M. 1990. Identification of Bacteria by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids. MIDI technical note 101. Newark, MIDI inc., Newark, DE, U.S.A.
- See-Too WS, Ee R, Madhaiyan M, Kwon SW, Tan JY, Lim YL, Convey P, Pearce D, Yin WF and Chan KG. 2017. *Planococcus versutus* sp. Nov., isolated from soil. Int J Syst Evol Microbiol 67, 944-950. https://doi.org/10.1099/ ijsem.0.001721.
- Taberman H, Parkkinen T and Rouvinen J. 2016. Structural and functional features of the NAD(p) dependent Gfo/Idh/

MocA protein family oxidoreductases. Protein Sci 25, 778-786. https://doi.org/10.1002/pro.2877.

- Taniguchi K, Nakamura A, Tsurubuchi K, O'Hara K and Sawai T. 2004. The role of histidine residues conserved in the putative ATP-binding region of macrolide 2'-phosphotransferase II. FEMS Microbiol Lett 232, 123-126. https://doi. org/10.1016/S0378-1097(03)00961-3.
- Tatusova T, DiCuccio M, Badretdin A, Chetvernin V, Nawrocki EP, Zaslavsky L, Lomsadze A, Pruitt KD, Borodovsky M and Ostell J. 2016. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline. Nucleic Acids Res 44, 6614-6624. https://doi. org/10.1093/nar/gkw569.
- van Hao M and Komagata K. 1985. A new species of *Plano-coccus*, *P. kocurii* isolated from fish, frozen foods, and fish curing brine. J Gen Appl Microbiol 31, 441-455. https://doi.org/10.2323/jgam.31.441.
- Wang X, Wang Z, Zhao X, Huang X, Zhou Y and Li WJ. 2017. *Planococcus ruber* sp. Nov., isolated from a polluted farmland soil sample. Int J Syst Evol Microbiol 67, 2549-2554. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001960.
- Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA and Lane DJ. 1991. 16s ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. J Bacteriol 173, 697-703. https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991.
- Yoon JH, Kang SJ, Lee SY, Oh KH and Oh TK. 2010. *Plano-coccus salinarum* sp. Nov., isolated from a marine solar saltern, and emended description of the genus *Planococcus*. Int J Syst Evol Microbiol 60, 754-758. https://doi.org/10.1099/ijs.0.013136-0.
- Yoon JH, Weiss N, Kang KH, Oh TK, Park YH. 2003. *Planococcus maritimus* sp. Nov., isolated from sea water of a tidal flat in Korea. Int J Sys Evol Microbiol 53, 2013-2017. https://doi.org/10.1099/ijs.0.02557-0.
- Yoon SH, Ha SM, Kwon S, Lim J, Kim Y, Seo H and Chun J. 2017. Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16s rma gene sequences and whole-genome assemblies. Int J Syst Evol Microbiol 67, 1613-1617. https:// doi.org/10.1099/ijsem.0.001755.
- Zhao Y, Wu J, Yang J, Sun S, Xiao J and Yu J. 2012. PGAP: Pan-genomes analysis pipeline. Bioinformatics 28, 416-418. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr655.

## 부 록

Table S1. Detected prophages of *Planococcus* sp.  $107-1^{T}$  and related species

Taxon name	Regio	n Length (Kb	) Completenes	s Proteins	Most Common Phage
Planococcus sp. 107-1 <sup>⊤</sup>	1	31	incomplete	9	PHAGE_Brevib_Jimmer2_NC_041976
	1	6.8	incomplete	8	PHAGE_Bacill_SP_15_NC_031245
P. ruber CW1 <sup>⊤</sup>	2	7.6	incomplete	9	PHAGE_Bacill_G_NC_023719
	3	9.7	incomplete	9	PHAGE_Synech_S_SKS1_NC_020851
	1	39.3	incomplete	25	PHAGE_Thermu_OH2_NC_021784
D facestic KCTC 22590	2	5.9	incomplete	9	PHAGE_Bacill_G_NC_023719
F. Idecalis NCTC 33360	3	40.3	intact	72	PHAGE_Bacill_PM1_NC_020883
	4	5.6	incomplete	8	PHAGE_Synech_ACG_2014f_NC_047713
<i>P. kocurii</i> ATCC 43650 <sup>⊤</sup>	1	9.7	incomplete	9	PHAGE_ProchI_P_SSM2_NC_006883
	2	6.9	incomplete	8	PHAGE_Staphy_PH15_NC_008723
	3	7.6	incomplete	9	PHAGE_Bacill_G_NC_023719
	4	7.9	incomplete	8	PHAGE_Mycoba_Sheen_NC_028914
	5	8.2	incomplete	9	PHAGE_Lactob_Semele_NC_047926
	1	7.4	incomplete	10	PHAGE_Entero_vB_EcoM_VR20_NC_028894
<i>P. donghaensis</i> DSM 22276 <sup>⊤</sup>	2	7.8	incomplete	7	PHAGE_Mycoba_Sheen_NC_028914
	3	7.6	incomplete	9	PHAGE_Bacill_G_NC_023719
	4	9.7	incomplete	9	PHAGE_ProchI_P_SSM2_NC_006883
	5	8.2	incomplete	9	PHAGE_Gordon_Monty_NC_030924
	6	10	incomplete	9	PHAGE_Plankt_PaV_LD_NC_016564
D balaan (aphilus DSM 24742	. 1	56.4	intact	69	PHAGE_Bacill_PM1_NC_020883
P. naiocryophilus DSM 24743	2	12.1	incomplete	14	PHAGE_Escher_vB_EcoM_Schickermooser_NC_048196

Table S2. Unique proteins of *Planococcus* sp. 107-1<sup>T</sup>

Protein Name	Count	Protein Name	Count
hypothetical protein	106	Beta-lactamase family protein	1
Multispecies: hypothetical protein	4	TIR domain-containing protein	1
Gfo/Idh/MocA family oxidoreductase	2	UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase (non-hydrolyzing	) 1
Site-specific integrase	2	Multispecies: site-specific integrase	1
Macrolide 2'-phosphotransferase	2	DUF3883 domain-containing protein	1
PhzF family phenazine biosynthesis protein	2	Regulatory YrvL family protein	1
Glycosyltransferase family 4 protein	2	Multispecies: EcsC family protein	1
CPBP family intramembrane metalloprotease	2	DUF5516 domain-containing protein	1
Restriction endonuclease subunit S	2	CadD family cadmium resistance transporter	1
Glycosyltransferase	2	DUF2000 domain-containing protein	1
S-layer homology domain-containing protein	2	TatD family hydrolase	1
P-loop NTPase fold protein	1	TetR/AcrR family transcriptional regulator	1
Ycil family protein	1	TIM barrel protein	1
DUF4065 domain-containing protein	1	BatA and WFA domain-containing protein	1
Multispecies: YesK-like family protein	1	Type A chloramphenicol O-acetyltransferase	1
DUF3732 domain-containing protein	1	Multispecies: DUF2188 domain-containing protein	1
Alpha/beta hydrolase	1	I -fuculose-phosphate aldolase	1
type I restriction-modification system subunit M	1	Thiamine pyrophosphate-binding protein	1
Multispecies: DI JE6262 family protein	1	DLIF927 domain-containing protein	1
YafY family transcriptional regulator	1	DUF3953 domain-containing protein	1
UPE0158 family protein	1	ABC transporter permease	1
PAS domain-containing protein	1	Helix-turn-helix domain-containing protein	1
Extracellular solute-binding protein	1	XRE family transcriptional regulator	1
Sigma-70 family RNA polymerase sigma factor	1	PIN-like domain-containing protein	1
Sigma factor regulator N-terminal domain-containing protein	1	EVE domain-containing protein	1
Multispecies: DI JE3592 domain_containing protein	1	KAP family NTPase	1
MES transporter	1	CNAT family N1 acetyltransferase	1
Pight handed parallel beta belix repeat containing protein	1	DLE2071 domain containing protoin	1
Amidobydrolaco family protein	1	Carbohydrato ABC transportor pormoaso	1
	1	Calbonyulate ABC transporter permease	1
DiaD family protoin	1		1
Dirib family protein	1	DOF2337 domain-containing protein	1
m20/m25/m40 family metallo-hydrolase	1	Deg I/Drij/Eryc I/StrS family aminotransierase	1
21-HC2 domain-containing protein	1		1
Nucleotidyitransferase domain-containing protein	1	DEAD/DEAH box nelicase	1
DNA-DINGING protein	1	DUF 1232 domain-containing protein	1
Specificity protein McrC	1	SMI1/KNR4 family protein	1
Helix-turn-helix transcriptional regulator	1	Iron chaperone	1
ATP-binding protein	1	LysE family transporter	1
DUF4230 domain-containing protein	1	VOC family protein	1
Anti-sigma factor C-terminal domain-containing protein	1	Capsular polysaccharide biosynthesis protein CapF	1
Aminoglycoside 6-adenylyltransferase	1	Monooxygenase	1
Sodium:solute symporter family protein	1	3-hexulose-6-phosphate synthase	1
DUF6521 family protein	1	FtsX-like permease family protein	1
PrpR N-terminal domain-containing protein	1	Aminotransferase class V-fold PLP-dependent enzyme	1
Multispecies: lincosamide nucleotidvltransferase Lnu(G)	1	Glucose starvation-inducible protein B	1
SRPBCC family protein	1	Multispecies: Imo0937 family membrane protein	1
BolG family transcription antiterminator	1	Multispecies: stressosome-associated protein Prli42	1
DUF3278 domain-containing protein	1	,	