



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년06월05일

(11) 등록번호 10-2817176

(24) 등록일자 2025년05월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G11C 13/04 (2006.01) G11C 11/54 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G11C 13/041 (2013.01)

G11C 11/54 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2020-0006084

(22) 출원일자 2020년01월16일

심사청구일자 2023년01월04일

(65) 공개번호 10-2021-0092554

(43) 공개일자 2021년07월26일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020180131198 A*

(뒷면에 계속)

(73) 특허권자

홍익대학교 산학협력단

서울특별시 마포구 와우산로 94 (상수동)

명지대학교 산학협력단

경기도 용인시 처인구 명지로 116 (남동, 명지대학교)

(72) 발명자

정민섭

서울특별시 마포구 와우산로 94, 518호 (상수동, 제2공학관)

이상민

서울특별시 마포구 와우산로 94, 606호 (상수동, 과학관)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

팬코리아특허법인

전체 청구항 수 : 총 19 항

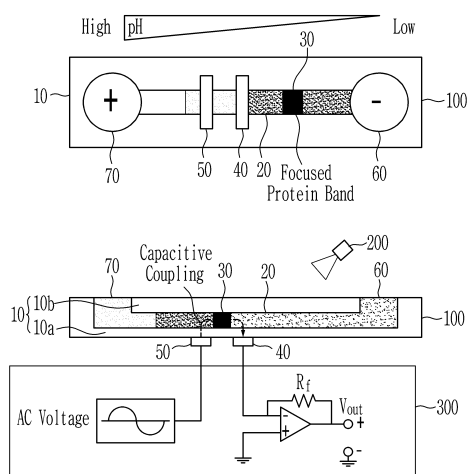
심사관 : 신우열

(54) 발명의 명칭 단백질 메모리 셀 및 단백질 메모리 시스템

(57) 요약

단백질 메모리 셀 및 단백질 메모리 시스템이 제공된다. 단백질 메모리 셀은, 마이크로 채널 상에 서로 이격되도록 배치된 제1 전극 및 제2 전극; 마이크로 채널 상에, 제1 전극과 제2 전극 사이에 정의되는 갭 영역; 마이크로 채널 상에, 제1 전극 또는 제2 전극을 기준으로 갭 영역의 반대편에 정의되는 외측 영역; 및 발색단의 구조 전환에 따라 갭 영역과 외측 영역 사이를 이동하면서 제1 전극과 제2 전극 사이의 전기 전도도를 변화시키는 광 감응성 단백질을 포함할 수 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

이화진

서울특별시 마포구 와우산로 94, 606호 (상수동, 과학관)

트란 응옌 앤 닝

서울특별시 마포구 와우산로 94, 606호 (상수동, 과학관)

김도현

경기도 용인시 처인구 명지로 116, 237호(남동, 기계공학과 제1공학관)

네비유 아래가 게타츄

경기도 용인시 처인구 명지로 116, 237호(남동, 기계공학과 제1공학관)

민강차우

경기도 용인시 처인구 명지로 116, 237호(남동, 기계공학과 제1공학관)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020150123373 A

WO2019133892 A1

WO2011107994 A1

US20090268511 A1

US20060187795 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 SRFC-IT1401-52

부처명 삼성전자(주)

과제관리(전문)기관명 삼성전자 미래기술육성센터

연구사업명 ICT 창의과제

연구과제명 생체정보저장을 위한 단백질 기반 플래시 메모리

기 여 율 1/1

과제수행기관명 홍익대학교

연구기간 2016.12.01~2019.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

마이크로 채널 상에 서로 이격되도록 배치된 제1 전극 및 제2 전극;

상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이에 정의되는 갭 영역;

상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극 또는 상기 제2 전극을 기준으로 상기 갭 영역의 반대편에 정의되는 외측 영역; 및

발색단의 구조 전환에 따라 상기 갭 영역과 상기 외측 영역 사이를 이동하면서 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도를 변화시키는 광 감응성 단백질을 포함하고,

상기 광 감응성 단백질은,

wtGFP(wild-type Green Fluorescent Protein)의 아미노산 서열에서, 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌을 류신, 아이소류신, 발린 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP를 포함하는 단백질 메모리 셀.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 발색단이 제1 구조에서 제2 구조로 전환되면, 상기 광 감응성 단백질은 상기 외측 영역에서 상기 갭 영역으로 이동하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 발색단이 제1 구조에서 제2 구조로 전환되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 감소하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 발색단이 제1 구조에서 제2 구조로 전환되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제1 논리 값에서 제2 논리 값으로 변경되는, 단백질 메모리 셀.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 발색단이 제2 구조에서 제1 구조로 전환되면, 상기 광 감응성 단백질은 상기 갭 영역에서 상기 외측 영역으로 이동하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 발색단이 제2 구조에서 제1 구조로 전환되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 증가하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 발색단이 제2 구조에서 제1 구조로 전환되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제2 논리 값에서 제1 논

리 값으로 변경되는, 단백질 메모리 셀.

청구항 8

삭제

청구항 9

마이크로 채널 상에 서로 이격되도록 배치된 제1 전극 및 제2 전극;

상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이에 정의되는 갭 영역;

상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극 또는 상기 제2 전극을 기준으로 상기 갭 영역의 반대편에 정의되는 외측 영역; 및

wtGFP의 아미노산 서열에서, 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌을 류신, 아이소류신, 밸린 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP를 포함하고,

상기 GFP는 광원으로부터 조사되는 광에 따라 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이를 이동하는 단백질 메모리 셀.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 광원으로부터 제1 광이 조사되면, 상기 GFP는 상기 외측 영역에서 상기 갭 영역으로 이동하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 광원으로부터 제1 광이 조사되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 감소하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 광원으로부터 제1 광이 조사되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제1 논리 값에서 제2 논리 값으로 변경되는, 단백질 메모리 셀.

청구항 13

제9항에 있어서,

상기 광원으로부터 제2 광이 조사되면, 상기 GFP는 상기 갭 영역에서 상기 외측 영역으로 이동하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 광원으로부터 제2 광이 조사되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 증가하는, 단백질 메모리 셀.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 광원으로부터 제2 광이 조사되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제2 논리 값에서 제1 논리 값으로 변경되는, 단백질 메모리 셀.

청구항 16

마이크로 채널 상에 서로 이격되도록 배치된 제1 전극 및 제2 전극,
 상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이에 정의되는 갭 영역,
 상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극 또는 상기 제2 전극을 기준으로 상기 갭 영역의 반대편에 정의되는 외측 영역 및
 wtGFP의 아미노산 서열에서, 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌을 류신, 아이소류신, 밸린 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP를 포함하는 단백질 메모리 셀;
 상기 단백질 메모리 셀에 쓰기 동작을 수행하는 광원; 및
 상기 제1 전극과 상기 제2 전극에 전기적으로 접속되어, 상기 단백질 메모리 셀에 대한 읽기 동작을 수행하는 독출 회로를 포함하는
 단백질 메모리 시스템.

청구항 17

제16항에 있어서,
 상기 광원은 제1 광을 상기 단백질 메모리 셀에 조사하여 상기 단백질 메모리 셀에 제2 논리 값을 기록하는, 단백질 메모리 시스템.

청구항 18

제16항에 있어서,
 상기 광원은 제2 광을 상기 단백질 메모리 셀에 조사하여 상기 단백질 메모리 셀에 제1 논리 값을 기록하는, 단백질 메모리 시스템.

청구항 19

제17항에 있어서,
 상기 독출 회로는, 상기 GFP가 상기 갭 영역에 위치한 상태를 상기 제2 논리 값으로 판단하는, 단백질 메모리 시스템.

청구항 20

제18항에 있어서,
 상기 독출 회로는, 상기 GFP가 상기 외측 영역에 위치한 상태를 상기 제1 논리 값으로 판단하는, 단백질 메모리 시스템.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 단백질 메모리 셀 및 단백질 메모리 시스템에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 반도체 소자의 장점과 생물 유래 물질이 가진 장점을 결합한 바이오 전자(bioelectronics)는 빠른 정보 전달 속도, 높은 에너지 효율, 고밀도의 집적 가능성, 낮은 발열, 병렬 정보처리 가능성, 생체 친화성으로 인해 기존의 실리콘 기반 반도체를 상호 보완할 수 있는 기술로 대두되고 있다. 일례로, 단백질 기반 메모리 기술은 단백질의 상태의 변환에 따라 논리 값을 나타낼 수 있는 바이오 전자 기술로서, 이에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다. 이와 관련하여, 단백질 기반 메모리의 쓰기/읽기 동작의 성능과 안정성을 높이기 위한 방안이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 쓰기/읽기 동작의 성능과 안정성을 높일 수 있는 단백질 메모리 셀 및 단백질 메모리 시스템을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0004] 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 셀은, 마이크로 채널 상에 서로 이격되도록 배치된 제1 전극 및 제2 전극; 상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이에 정의되는 갭 영역; 상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극 또는 상기 제2 전극을 기준으로 상기 갭 영역의 반대편에 정의되는 외측 영역; 및 발색단의 구조 전환에 따라 상기 갭 영역과 상기 외측 영역 사이를 이동하면서 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도를 변화시키는 광 감응성 단백질을 포함할 수 있다.

[0005] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 발색단이 제1 구조에서 제2 구조로 전환되면, 상기 광 감응성 단백질은 상기 외측 영역에서 상기 갭 영역으로 이동할 수 있다.

[0006] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 발색단이 제1 구조에서 제2 구조로 전환되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 감소할 수 있다.

[0007] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 발색단이 제1 구조에서 제2 구조로 전환되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제1 논리 값에서 제2 논리 값으로 변경될 수 있다.

[0008] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 발색단이 제2 구조에서 제1 구조로 전환되면, 상기 광 감응성 단백질은 상기 갭 영역에서 상기 외측 영역으로 이동할 수 있다.

[0009] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 발색단이 제2 구조에서 제1 구조로 전환되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 증가할 수 있다.

[0010] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 발색단이 제2 구조에서 제1 구조로 전환되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제2 논리 값에서 제1 논리 값으로 변경될 수 있다.

[0011] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광 감응성 단백질은, wtGFP(wild-type Green Fluorescent Protein)의 아미노산 서열에서, 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌을 류신, 아이소류신, 밸린 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP 변이체를 1종 이상 포함하는 것일 수 있다.

[0012] 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 셀은, 마이크로 채널 상에 서로 이격되도록 배치된 제1 전극 및 제2 전극; 상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이에 정의되는 갭 영역; 상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극 또는 상기 제2 전극을 기준으로 상기 갭 영역의 반대편에 정의되는 외측 영역; 및 wtGFP의 아미노산 서열에서, 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌을 류신, 아이소류신, 밸린 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP를 포함하고, 상기 GFP는 광원으로부터 조사되는 광에 따라 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이를 이동할 수 있다.

[0013] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원으로부터 제1 광이 조사되면, 상기 GFP는 상기 외측 영역에서 상기 갭 영역으로 이동할 수 있다.

[0014] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원으로부터 제1 광이 조사되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 감소할 수 있다.

[0015] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원으로부터 제1 광이 조사되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제1 논리 값에서 제2 논리 값으로 변경될 수 있다.

[0016] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원으로부터 제2 광이 조사되면, 상기 GFP는 상기 갭 영역에서 상기 외측 영역으로 이동할 수 있다.

[0017] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원으로부터 제2 광이 조사되면, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이의 전기 전도도가 증가할 수 있다.

[0018] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원으로부터 제2 광이 조사되면, 상기 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제2 논리 값에서 제1 논리 값으로 변경될 수 있다.

[0019] 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 시스템은, 마이크로 채널 상에 서로 이격되도록 배치된 제1 전극 및 제2 전극, 상기 마이크로 채널 상에, 상기 제1 전극과 상기 제2 전극 사이에 정의되는 갭 영역, 상기 마이크

로 채널 상에, 상기 제1 전극 또는 상기 제2 전극을 기준으로 상기 갭 영역의 반대편에 정의되는 외측 영역 및 wtGFP의 아미노산 서열에서, 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌을 류신, 아이소류신, 밸린 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP를 포함하는 단백질 메모리 셀; 상기 단백질 메모리 셀에 쓰기 동작을 수행하는 광원; 및 상기 제1 전극과 상기 제2 전극에 전기적으로 접속되어, 상기 단백질 메모리 셀에 대한 읽기 동작을 수행하는 독출 회로를 포함할 수 있다.

- [0020] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원은 제1 광을 상기 단백질 메모리 셀에 조사하여 상기 단백질 메모리 셀에 제2 논리 값을 기록할 수 있다.
- [0021] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 광원은 제2 광을 상기 단백질 메모리 셀에 조사하여 상기 단백질 메모리 셀에 제1 논리 값을 기록할 수 있다.
- [0022] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 독출 회로는, 상기 GFP가 상기 갭 영역에 위치한 상태를 상기 제2 논리 값으로 판단할 수 있다.
- [0023] 본 발명의 몇몇의 실시 예에 따르면, 상기 독출 회로는, 상기 GFP가 상기 외측 영역에 위치한 상태를 상기 제1 논리 값으로 판단할 수 있다.

발명의 효과

- [0024] 본 발명의 다양한 실시 예에 따르면, 광 감응성 단백질의 온 오프 간 상태의 전환율이 약 99%로 현저히 높기 때문에, 단백질 메모리 셀의 정보 표현에 관한 신호 대 잡음 비(signal-to-noise ratio)가 획기적으로 향상될 수 있고, 이에 따라 단백질 메모리 셀의 쓰기/읽기 동작의 성능과 안정성 역시 크게 향상될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0025] 도 1은 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 시스템을 설명하기 위한 도면이다.
- 도 2 내지 4는 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 셀을 설명하기 위한 도면이다.
- 도 5는 본 발명의 일 실시 예에 따른 광 감응성 단백질을 설명하기 위한 도면이다.
- 도 6은 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 시스템을 생체에 응용하는 예를 설명하기 위한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 첨부한 도면을 참고로 하여 본 발명의 실시 예에 대해 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다.
- [0027] 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시 예에 한정되지 않는다. 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 동일 또는 유사한 구성요소에 대해서는 동일한 도면부호가 사용되었다. 또한 널리 알려져 있는 공지기술의 경우 그 구체적인 설명은 생략한다.
- [0028] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0029] 본 명세서에서, 설명의 편의를 위해, 단백질 메모리 셀 및 단백질 메모리 시스템은 주로 비휘발성 메모리 셀 및 비휘발성 메모리 시스템으로 구현되는 것으로 설명하지만, 본 발명의 범위가 이에 제한되는 것은 아니고, 구체적인 구현 목적에 따라 휘발성 메모리 셀 및 휘발성 메모리 시스템으로 구현될 수도 있음을 이해할 수 있다.
- [0030] 도 1은 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 시스템을 설명하기 위한 도면이다.
- [0031] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 시스템은 단백질 메모리 셀(100), 광원(200) 및 독출 회로(300)를 포함할 수 있다.
- [0032] 단백질 메모리 셀(100)은 기관(10), 마이크로 채널(micro channel)(20), 광 감응성 단백질(30), 전극(40, 50)을 포함할 수 있다.
- [0033] 기관(10)은 마이크로 채널(20)을 형성하기에 적합한 물성을 가지고 있는 소재라면 무엇이든 적용 가능하다. 다만, 비휘발성 단백질 메모리 시스템이 추후 생체 생화학 정보를 기록하는 메모리 시스템으로 사용되기 위해,

기관(10)은 생체 적합성이 있는 물질로 형성되는 것이 바람직할 수 있다. 또한, 단백질 메모리 셀(100)에 데이터를 쓰고 지우기 위한 광원(200)으로부터 조사되는 광을 양호하게 투과시키기 위해, 기관(10)은 광 투과성 물질로 형성될 수도 있다.

- [0034] 본 실시 예에서, 기관(10)은 COC(Cyclic olefin co-polymer), PDMS(Polydimethylsiloxane), PMMA(Polymethyl methacrylate), PC(Polycarbonate) 등으로 형성될 수 있으나, 본 발명의 범위가 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0035] 마이크로 채널(20)은 광 감응성 단백질(30)을 고정할 수 있다. 구체적으로, 마이크로 채널(20)은 광 감응성 단백질(30)이 이동 가능하도록 고정할 수 있다.
- [0036] 본 실시 예에서, 광 감응성 단백질(30)을 초기 상태, 즉, 초기 디지털 상태(예를 들어, 로직 로우(L))로 위치시키는 것은 등전점 전기영동(IsoElectric Focusing, IEF)을 이용하여 구현할 수 있다.
- [0037] IEF로는 CA(담체 양성전해질, carrier ampholyte)-IEF를 사용하거나, 폴리아크릴아미드 젤에 pH 구배를 공중합시켜 고정화한 IPG(Immobilized pH gradient)-IEF를 적용할 수 있다.
- [0038] 또한 초기 디지털 상태로 위치시키는 것은 광 감응성 단백질(30)을 등전점으로 분리하는 포커싱 단계와 포커싱된 단백질을 분석 지점으로 이동시키는 가동화(mobilization) 단계를 추가로 거쳐서 진행할 수도 있다. 이 때 가동화는 화학적 가동화, 전기 삼투 유동 가동화, 압력 차에 의한 가동화 등을 사용할 수 있다.
- [0039] 전극(40, 50)은 마이크로 채널(20) 상에 서로 이격되도록 배치될 수 있다. 전극(40, 50) 형성면(10a)은 전극(40, 50)과의 사이에 축전 결합(capacitive coupling)이 되어야 하기 때문에, 그 두께를 수 백 μm 이하, 바람직하기로는 100 μm 이하로 형성할 수 있다. 한편, 전극(40, 50) 형성면(10a)은 COC, PDMS, PMMA, PC 등의 생체 친화적이고 투명한 플라스틱으로 형성될 수 있다.
- [0040] 마이크로 채널(20) 상에는 갭(gap) 영역 및 외측 영역이 정의될 수 있다. 갭 영역은, 마이크로 채널(20) 상에, 제1 전극(50)과 상기 제2 전극(40) 사이에 정의될 수 있다. 예를 들어, 갭 영역은, 도 1을 기준으로 제1 전극(50)의 우측 및 제2 전극(40)의 좌측에 정의될 수 있다.
- [0041] 그리고 외측 영역은, 마이크로 채널(20) 상에, 제1 전극(50) 또는 제2 전극(40)을 기준으로 갭 영역의 반대편에 정의될 수 있다. 예를 들어, 외측 영역은, 도 1을 기준으로, 제1 전극(50)의 좌측에 정의될 수 있거나, 제2 전극(40)의 우측에 정의될 수 있다.
- [0042] 광 감응성 단백질(30)은 광스위칭(photoswitching) 특성을 이용하여 단백질 메모리 셀(100)에 정보를 기록하거나 기록된 정보를 읽을 수 있도록 한다. 예를 들어, 광원(300)이 조사하는 빛이 단백질 메모리 셀(100)의 입력 신호가 되어, 이에 따른 광 감응성 단백질(30)의 전기적 상태의 변화, 즉 등전점의 변화가 곧 정보를 나타낼 수 있다. 따라서 단백질 메모리 셀(100)의 성능 및 안정성을 향상시키기 위해, 광 감응성 단백질(30)의 전기적 상태의 변화, 즉 등전점의 변화가 명확하게 나타나는 단백질을 채택할 필요가 있다.
- [0043] 광 감응성 단백질(30)은 녹색 형광 단백질(Green Fluorescent Protein, GFP)일 수 있다. GFP는 생물 연구에 있어서 표지자로 활용되는 단백질로서, 가장 널리 사용되는 GFP 중 하나인 wtGFP(wild-type Green Fluorescent Protein)는 다음과 같은 아미노산 서열을 가질 수 있다.
- [0044] MSKGEELFTGVVPIVELDGDVNGHKFSVSGEGDATYGLTLKFICTGKLPVPWPTLVTTFSYGVQCFSRYPDHMKQHDFKSSAMPEGYVQERTIFFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNNSHNVYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALSKDPNEKRDMVLLEFVTAAGITHGMDELYK (서열번호 1)
- [0045] 본 명세서에서 광 감응성 단백질로서 기재된 녹색 형광 단백질(GFP)은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 야생형(wtGFP)뿐 아니라 표지자로서의 기능 (예컨대, 광 감응성)이 증진된 변이체도 포괄하기 위한 것일 수 있다.
- [0046] 일 실시 예에서, 광 감응성 단백질(30)로서 사용 가능한 GFP 변이체는 wtGFP의 아미노산 서열(서열번호 1)에서, 밑줄로 표시한 발색단 아미노산 서열(SYG) 앞에 위치한, 즉 상기 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌(F)을 류신(L)으로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP (GFP-F64L)를 포함할 수 있다. 다른 실시 예에서, 광 감응성 단백질(30)로서 사용 가능한 GFP 변이체는 wtGFP의 아미노산 서열(서열번호 1)에서, 밑줄로 표시한 발색단 아미노산 서열(SYG)의 N-말단쪽에 인접하여 위치하는 페닐알라닌(F)을 아이소류신(I), 발린(V) 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP를 1종 이상 포함할 수도 있다. 본 명세서에서 단백질의 아미노산 서열과 관련된 기재에 있어서, 소정의 아미노산 서열을 "갖는 (having), 포함하는 (comprising),

필수적으로 이루어지는 (consisting essentially of), 이루어지는 (consisting of), 및 표현되는 (represented by)"이라 함은 단백질을 구성하는 아미노산 서열을 명시하기 위한 목적으로 등가적 의미로 상호 호환 가능하며, 상기 단백질의 아미노산 서열에 단백질의 유의미한 기능적 및/또는 구조적 변화를 유도하지 않는 아미노산의 일부 부가, 치환, 및/또는 결실 등의 변이가 도입되는 것을 배제하지 않는 것으로 해석될 수 있다.

- [0047] 광 감응성 단백질(30)로 GFP-F64L을 채택한 경우, 단백질 메모리 셀(100)의 동작 성능과 안정성이 크게 향상될 수 있다. 예를 들어, GFP-F64L의 광 감응성 단백질(30)은 340~390 nm 범위의 파장을 가지는 자외선을 조사함으로써 오프 상태(off state)로 전환되는데, 그 전환율이 wtGFP에 비해 현저히 높은 99%에 달하는 것을 형광 현미경을 통해 측정할 수 있다. 페닐알라닌(F)을 아이소류신(I), 발린(V) 중 하나로 치환한 아미노산 서열을 갖는 GFP 역시 이와 비슷한 높은 동작 성능 및 안정성을 나타낼 수 있다.
- [0048] 광원(200)은 데이터의 쓰기 동작, 읽기 동작, 삭제(erase) 동작 등을 수행하기 위한 광을 단백질 메모리 셀(100)에 조사할 수 있다. 이를 위해, 광원(200)은 LED(Light Emitting Diode)와 같은 특정 파장의 빛을 가진 소자나 광학 필터를 이용하여 구현할 수 있다.
- [0049] 광원(200)은 예를 들어 UV 광, 청색 광 등의 소정의 파장을 갖는 광을 조사할 수 있다. 구체적으로, 광원(200)은 제1 광(예를 들어, UV)을 단백질 메모리 셀(100)에 조사하여, 단백질 메모리 셀(100)에 제2 논리 값, 예컨대 로직 로우(L)를 기록할 수 있다. 또한, 광원(200)은 제2 광(예를 들어, 청색광)을 단백질 메모리 셀(100)에 조사하여, 단백질 메모리 셀(100)에 제1 논리 값, 예컨대 로직 하이(H)를 기록할 수 있다.
- [0050] 이와 같이, 광원(200)은 데이터의 쓰기 동작, 읽기 동작 등을 구현하기 위해, UV-청색광 조합의 광을 조사할 수 있으나, 본 발명의 범위는 이에 제한되지 않고, 녹색광-적색광, UV-녹색광 조합 등 다양한 조합을 사용할 수도 있다.
- [0051] 한편, 생체 내장형으로의 적용을 고려할 때, 광원(200)에서 조사되는 광은 피부 투과성을 갖는 광일 수 있다.
- [0052] 독출 회로(300)는 전극(40, 50)에 전기적으로 접속되어, 단백질 메모리 셀(100)에 대한 읽기 동작을 수행할 수 있다.
- [0053] 독출 회로(300)는 광 감응성 단백질(30)의 위치 변화 또는 위치 상태에 기초하여, 단백질 메모리 셀(100)에 저장된 정보를 읽어낼 수 있는 회로라면 광학적, 전기적, 질량적 방법으로 읽어낼 수 있는 회로가 모두 적용 가능하다. 그 중에서도 전기적 방법으로는 전압법, 전류법, 전도도법, 비접촉식 전도도법 등을 적용할 수 있다. 비접촉식 전도도법을 적용하면 전극을 채널 내에 삽입할 필요가 없으므로 공정이 단순화되고 전기 분해 등의 부작용을 최소화할 수 있으므로 바람직한 독출 회로로 고려할 수 있다. 고주파를 사용하기 때문에 비접촉식으로 구현이 가능하며, 비접촉식 전도도법은 커플링 전극(40, 50)과 임피던스 측정회로로 구성할 수 있다. 임피던스 측정회로는 CMOS 집적 회로 기술로 구현할 수 있기 때문에 소형화 및 구현이 용이하다. 하지만 본 발명의 범위가 이에 제한되는 것은 아니고, 비접촉식 전도도법을 구현할 수 있는 다양한 임피던스 측정 방식의 독출 회로(300)가 적용될 수 있음은 물론이다.
- [0054] 도 2 내지 4는 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 셀을 설명하기 위한 도면이다.
- [0055] 도 2를 참조하면, 단백질 메모리 셀(100)이, 광원(200)으로부터 조사되는 UV 및 청색광을 입력 신호로 하여, 광 감응성 단백질(30)의 광스위칭을 발생시켜 정보를 기록하는 예를 나타낸다.
- [0056] 광 감응성 단백질(30)은, 광원(200)로부터 조사되는 광에 따라 제1 전극(50)과 제2 전극(40) 사이를 이동할 수 있다.
- [0057] 구체적으로, 광원(200)으로부터 제1 광(예컨대, UV)이 조사되면, 광 감응성 단백질(30)은 외측 영역에서 갭 영역으로 이동할 수 있다. 이 때, 제1 전극(50)과 제2 전극(40) 사이의 전기 전도도가 감소될 수 있고, 단백질 메모리 셀(100)의 논리 값은 제1 논리 값(H 또는 1)에서 제2 논리 값(L 또는 0)으로 변경될 수 있다.
- [0058] 이와 다르게, 광원(200)으로부터 제2 광(예컨대, 청색광)이 조사되면, 광 감응성 단백질(30)은 갭 영역에서 외측 영역으로 이동할 수 있다. 이 때, 제1 전극(50)과 제2 전극(40) 사이의 전기 전도도가 증가할 수 있고, 단백질 메모리 셀(100)의 논리 값은 제2 논리 값(L 또는 0)에서 제1 논리 값(H 또는 1)으로 변경될 수 있다.
- [0059] 이어서 도 3 및 도 4를 함께 참조하면, 단백질 메모리 셀(100)에 제1 광(예컨대, UV)이 약 9 분간 조사된 경우, 제2 전극(40) 쪽으로 갭 영역 외부에 있던 광 감응성 단백질(30)은 점점 갭 영역 쪽으로 이동하게 된다. 이후, 단백질 메모리 셀(100)에 제2 광(예컨대, 청색광)이 약 8 분간 조사된 경우, 갭 영역에 있던 광 감응성 단백질

(30)은 점점 제2 전극(40) 쪽 외부 영역으로 이동하게 된다.

- [0060] 도4의 상부에 있는 그래프는, 단백질 메모리 셀(100)에 대해 제1 광(예컨대, UV) 및 제2 광(예컨대, 청색광)이 조사된 경우, 시간에 따라 변화하는 전기 전도도를 나타낸 것이고, 도 4의 하부에 있는 그래프는, 대조군을 나타낸 그래프이다.
- [0061] 도 3 및 도 4로부터 알 수 있는 바와 같이, (I) 지점에서 단백질 메모리 셀(100)에 제1 광(예컨대, UV)이 약 9 분간 조사되는 동안 (II) 지점까지는 전기 전도도에 큰 변화가 없으나, (II) 지점부터 (III) 지점의 구간에 전기 전도도가 현저히 낮아짐을 알 수 있다. 그 이유는, 예를 들어, GFP-F64L의 광 감응성 단백질(30)이 UV 광을 조사받는 동안 온 상태(on state)에서 오프 상태로 전환되는 비율이 약 99%에 달하기 때문이다.
- [0062] 이어서, (III) 지점부터 (IV) 지점을 지나 (V) 지점까지의 구간에서는 전기 전도도가 다시 현저하게 높아져서, (I) 지점과 유사한 수준의 값까지 접근하는 것을 알 수 있으며, 그 이유는 GFP-F64L의 광 감응성 단백질(30)이 청색광을 조사받는 동안 오프 상태에서 온 상태로 전환되는 비율 역시 약 99%에 달하기 때문이다.
- [0063] 본 실시 예에 따르면, 광 감응성 단백질(30)의 온 오프 간 상태의 전환율이 약 99%로 현저히 높기 때문에, 단백질 메모리 셀(100)의 정보 표현에 관한 신호 대 잡음 비(signal-to-noise ratio)가 획기적으로 향상될 수 있고, 이에 따라 단백질 메모리 셀(100)의 쓰기/읽기 동작의 성능과 안정성 역시 크게 향상될 수 있다.
- [0064] 도 5는 본 발명의 일 실시 예에 따른 광 감응성 단백질을 설명하기 위한 도면이다.
- [0065] 도5를 참조하면, 본 발명의 일 실시 예에 따른 광 감응성 단백질(30)은 높은 광전환율을 갖는다. 광전환 메커니즘은 여러 가지가 있을 수 있으나, 일례로 광 감응성 단백질(30) 발색단의 구조 전환, 즉, 시스(cis)-트랜스(trans) 전환에 의할 수 있다.
- [0066] 발색단의 양성자 부가(protonation)에 따라 시스-트랜스 이성질화(cis-trans isomerization)가 일어날 수 있다. 본 발명의 일 실시 예에 따른 광 감응성 단백질(30)을 비롯한 대부분의 형광 단백질의 발색단은 2 개의 고리가 이중 결합으로 연결된 형태를 가지고 있다. 온 상태(bright isoform)에서, 발색단은 두 고리가 한 평면에 존재해 가장 낮은 에너지를 나타내는 시스 입체구조를 가질 수 있고, 오프 상태(dark isoform)에서, 발색단은 트랜스 입체구조를 가질 수 있다. GFP에 자외선을 조사하면 발색단의 에너지가 높아져 시스 형태가 트랜스 형태로 전환되는 것이다.
- [0067] 먼저 구조적으로 F64가 어떤 잔기와 상호작용하는지 분석한 결과 46번째 잔기 페닐알라닌과 벤젠고리가 위 아래로 인접해 있음을 알 수 있다. 이는 pi-pi 스택킹(stacking)을 야기한다. 여기서 pi-pi 스택킹은 pi 오비탈의 HOMO와 LUMO가 서로 겹쳐지면서 하이퍼콘จู게이션을 통한 안정화를 의미한다. 이러한 작용으로 두 잔기 사이 강한 인력이 생기고, 이로 인해 안정화된 잔기들이 고정될 수 있는 것이다. 하지만 이를 류신으로 치환시킴과 동시에 강한 인력이 사라지고, 그 부분에 있어 구조적으로 변화가 생길 수 있고, 이에 따라 F64L돌연변이의 등전점 광스위칭 결과 wtGFP보다 월등히 오프 상태(dark isoform)의 비율이 증가했다.
- [0068] 온 상태에서 오프 상태로 전환될 때 발색단은 시스 구조에서 트랜스 구조로 이성질화가 된다. 이 때 발색단의 육각고리(Y66)의 회전이 일어나는데, 오각고리와 연결되어있는 F64의 F46과의 인력이 없어지면서 발색단의 오각고리를 고정하던 힘이 줄어들 수 있고, 이로 인해 발색단의 두 고리가 회전하는 것이 비교적 자유로워질 수 있다. 이에 따라 양성화된(protonated) 시스 형태에서 탈양자화된(deprotonated) 트랜스 형태로 전환되는 에너지 장벽을 낮춰주는 효과를 나타냈다고 볼 수 있다. 이러한 구조 변화의 효과가 99%의 높은 전환율에 기여할 수 있다.
- [0069] 도 2 내지 도 4를 다시 함께 참조하면, 광 감응성 단백질(30)은 발색단의 구조 전환에 따라, 갭 영역과 외측 영역 사이를 이동하면서 제1 전극(50)과 제2 전극(40) 사이의 전기 전도도를 변화시킬 수 있다.
- [0070] 구체적으로, 발색단이 제1 구조(cis)에서 제2 구조(trans)로 전환되면, 광 감응성 단백질은 외측 영역에서 갭 영역으로 이동할 수 있다. 이 때, 제1 전극(50)과 제2 전극(40) 사이의 전기 전도도가 감소할 수 있고, 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제1 논리 값(H)에서 제2 논리 값(L)으로 변경될 수 있다.
- [0071] 한편, 발색단이 제2 구조(trans)에서 제1 구조(cis)로 전환되면, 광 감응성 단백질은 갭 영역에서 외측 영역으로 이동할 수 있다. 이 때, 발색단이 제2 구조(trans)에서 제1 구조(cis)로 전환되면, 제1 전극(50)과 제2 전극(40) 사이의 전기 전도도가 증가할 수 있고, 발색단이 제2 구조(trans)에서 제1 구조(cis)로 전환되면, 단백질 메모리 셀의 논리 값은 제2 논리 값(L)에서 제1 논리 값(H)으로 변경될 수 있다.

- [0072] 도 6은 본 발명의 일 실시 예에 따른 단백질 메모리 시스템을 생체에 응용하는 예를 설명하기 위한 도면이다.
- [0073] 도 6에 예시되어 있는 바와 같이 단백질 메모리 셀(100)은 생체 내에, 그리고 광원(200) 및 독출 회로(300)는 생체 외에 설치하여 생체 내장형 ID 카드 또는 생체 내장형 신용 카드 등으로 구현될 수 있다.
- [0075] **실험 예**
- [0076] 1. 돌연변이 유발(Mutagenesis)
- [0077] His-tag이 연결된 GFP(서열번호 1)을 암호화하는 유전자 단편이 클로닝된 플라스미드(Plasmid, pET-15b, Clontech, USA) 에 Pfu DNA Polymerase(Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용해 PCR을 통해 부위 특이적 돌연변이 유발(site directed mutagenesis)을 수행하였고, 그 결과물은 Dpn I(Takara, Shiga, Japan)처리하였다.
- [0078] 상기 PCR은 다음과 같이 수행하였다: Pre-denaturation(94℃, 5min) 진행, denaturation (94℃ 1min) 진행, Annealing(primer Tm, 1min) 진행, extension (72℃ 1min/Kb) 진행. Denaturation, annealing, extension은 20-25 cycle 진행한다. 마지막으로 final extension (72℃ 5min) 진행 후 4℃에서 보관한다.
- [0079] 상기 PCR에 사용된 프라이머 서열은 다음과 같다:
- [0080] 사용된 프라이머 서열
- [0081] F64L forward CACTACTCTCTCTTATGGTGTCAATGCTTTTCA (서열번호 2) Tm 66.5℃
- [0082] F64L reverse TAAGAGAGAGTAGTGACAAGTGTGGCCA (서열번호 3) Tm 66.8℃
- [0083] F64V forward CTTGTCCTACTGCTCTTATGGTGT (서열번호 4) Tm 65.3℃
- [0084] F64V reverse AACACCATAAGAGACAGTAGTGACAAG (서열번호 5) Tm 65.3℃
- [0085] F64I forward CTTGTCCTACTATCTCTTATGGTGT (서열번호 6) Tm 63.7℃
- [0086] F64I reverse AACACCATAAGAGATAGTAGTGACAAG (서열번호 7) Tm 63.7℃
- [0087] 그 후, 상기 얻어진 돌연변이가 유발된 GFP 유전자 단편을 포함하는 플라스미드를 열충격을 통하여 Escherichia coli BL21(DE3)에 형질전환시켰다. 암피실린 항생제가 첨가된 LuriaBertani(LB) 한천배지 위에 상기와 같이 형질전환 된 E. coli를 37℃의 환경에서 하룻밤(16시간~20시간) 동안 배양하였다. 그 후 접종을 통해 5 ml 스케일 업(scale-up) 후 플라스미드 제제(plasmid preparation)를 통해 DNA만을 추출하여 염기서열을 분석 하였다. 그 결과, 상기 DNA가 코딩하는 GFP에 F64L (코돈 변이: TTC → CTC), F64I (코돈 변이: TTC → ATC), F64V (코돈 변이: TTC → GTC) 변이가 유발된 것을 확인하였다.
- [0088]
- [0089] 2. 단백질 제조
- [0090] 야생형 GFP(서열번호 1)를 암호화하는 DNA가 도입된 E.coli와 상기 실시예 1에서 준비된 GFP 변이체를 암호화하는 DNA가 도입된 E.coli를 각각 암피실린이 포함된 15mL LB배지에서 하룻밤(16시간~20시간) 동안 배양하고, 같은 조건의 400mL 배지로 스케일 업(scale-up) 되었다. OD600 0.4~0.6에 도달하면 웨이킹 인큐베이터의 온도를 22℃로 냉각시켜 20시간 동안 발현했다. GFP에 연결되어 함께 발현된 His-tag와 친화력이 있는 HF Nickel Affinity Gel(Sigma)를 채운 컬럼을 사용하여 GFP를 정제했다. 니켈 정제 후 His-tag를 GFP에서 분리시키기 위해 Thrombin(GE Healthcare)처리하고, fast protein liquid chromatography(FPLC, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)를 이용해 25mM Tris + 150mM NaCl pH 7.4 buffer 환경에서 Hitrap Q HP column(GE Healthcare)을 이용한 음이온 교환으로 정제하였다. 이렇게 정제된 단백질은 Vivaspin(GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)을 이용하여 한외여과를 통해 25mM Tris pH 7.4 buffer로 교환되었다.
- [0093] 3. 등전점전기영동(IEF)를 통한 광전환성 관찰
- [0094] Gel buffer를 마이크로 채널에 로딩한 후 10분 동안 방치해 채널 전체에 코팅시켰다. 그 후 왼쪽 hole에 GFP를 포함하는 loading buffer를 주입하고 1분간 오른쪽 hole로 도치시켰다. 채널 양쪽 hole에 피켓 팁으로 제작한 well을 뚫고 왼쪽 well에 loading buffer를, 오른쪽 well에는 GFP가 없는 gel buffer를 넣어주었다.
- [0095] 양쪽 well에 전극을 넣어주고 150V의 전압을 걸어 3분간 안정시켜주면서 전류가 15uA 이하에 도달할 때까지 두

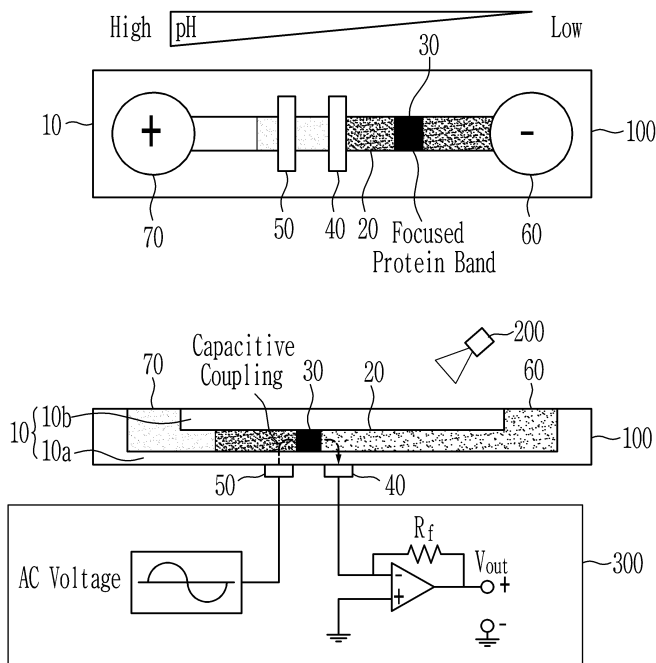
었다. 왼쪽 well의 buffer를 2X cathode buffer(10X cathode buffer: novex LC5310, 200mM lysine, 200mM arginine, pH 10.1)으로 교환하고, 오른쪽 well의 buffer를 20X anode buffer(bio-rad 161-0761, 140mM H₃PO₄)로 교환하였다. 그 후 왼쪽에서 오른쪽 방향으로 150V의 전압을 인가하였다. 채널이 GFP로 포커싱(focusing)됨과 동시에 전류가 감소하여 안정화되는 것을 관찰하였다.

[0096] 포커싱(focusing) 되면 현미경의 램프를 UV 필터로 바꾼 후 60초 동안 채널의 GFP에 조사한다. 램프를 청색(blue) 필터로 전환한 후 등전점 변화를 1초 단위 타임랩스(timelapse)로 관찰하였다. 상기 얻어진 결과를 도 3에 나타내었다.

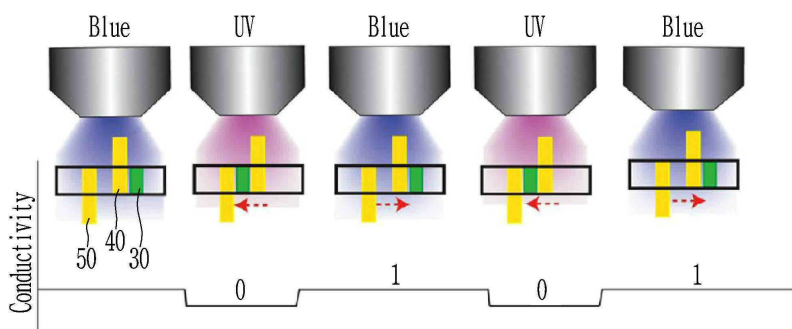
[0098] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시 예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

도면

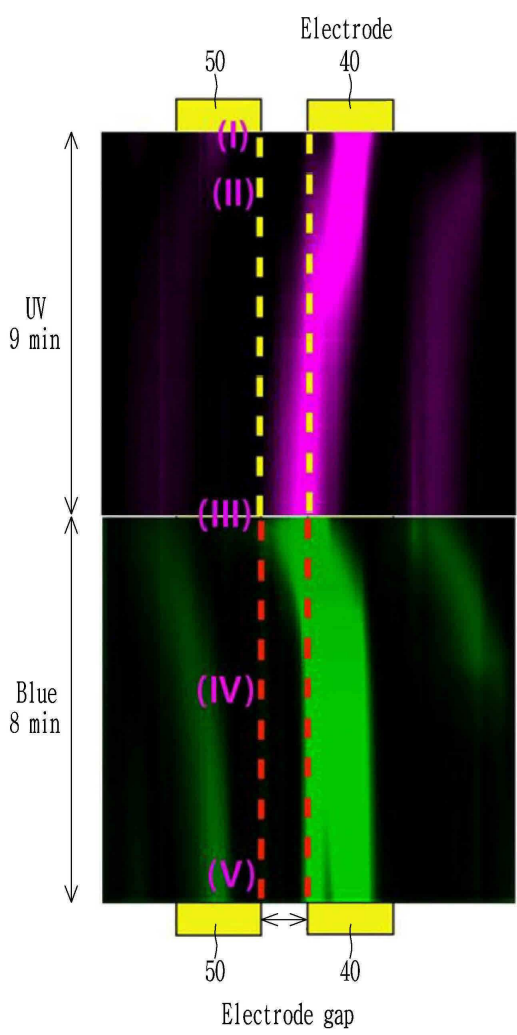
도면1



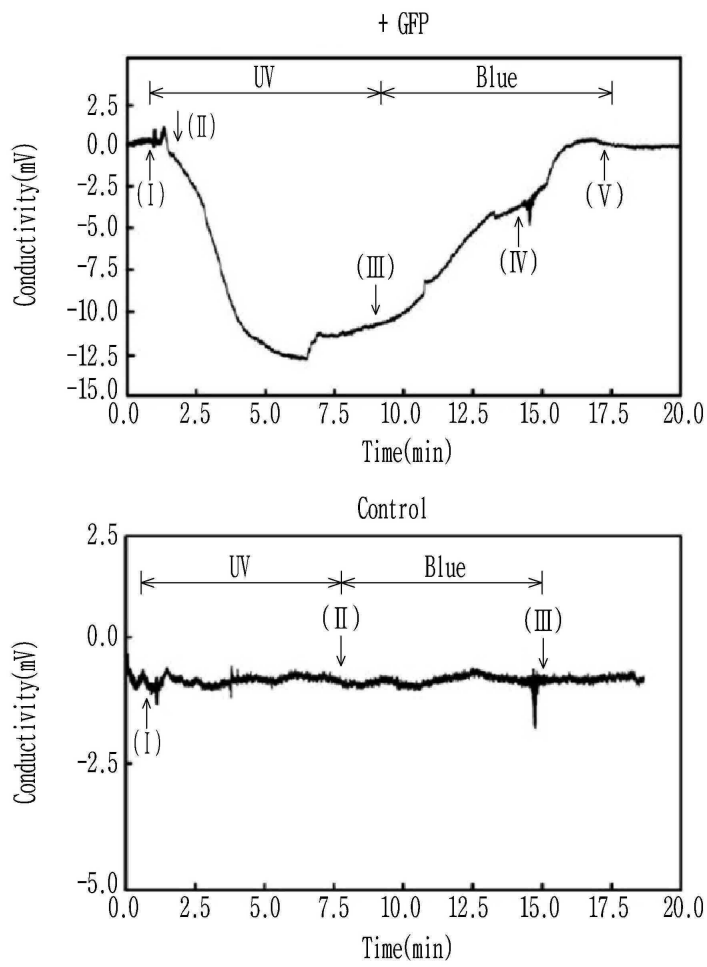
도면2



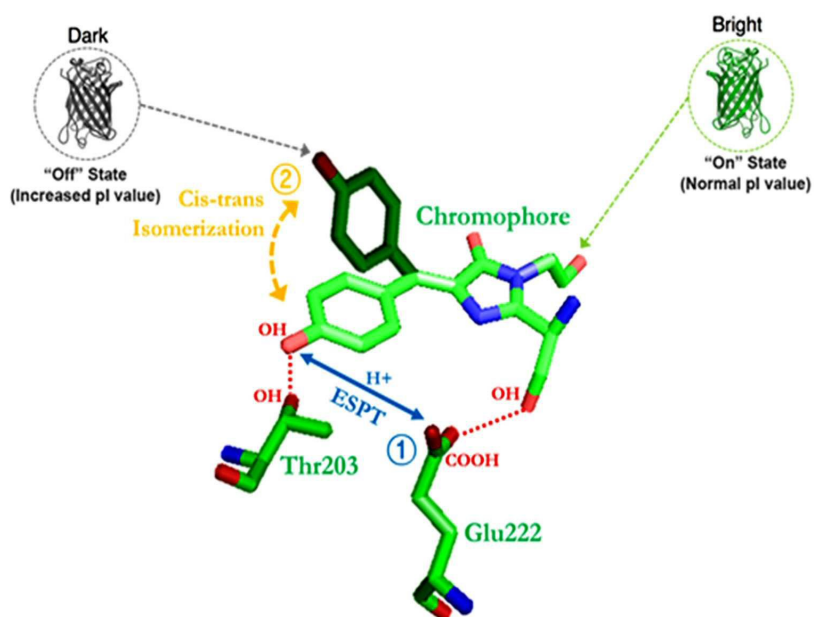
도면3



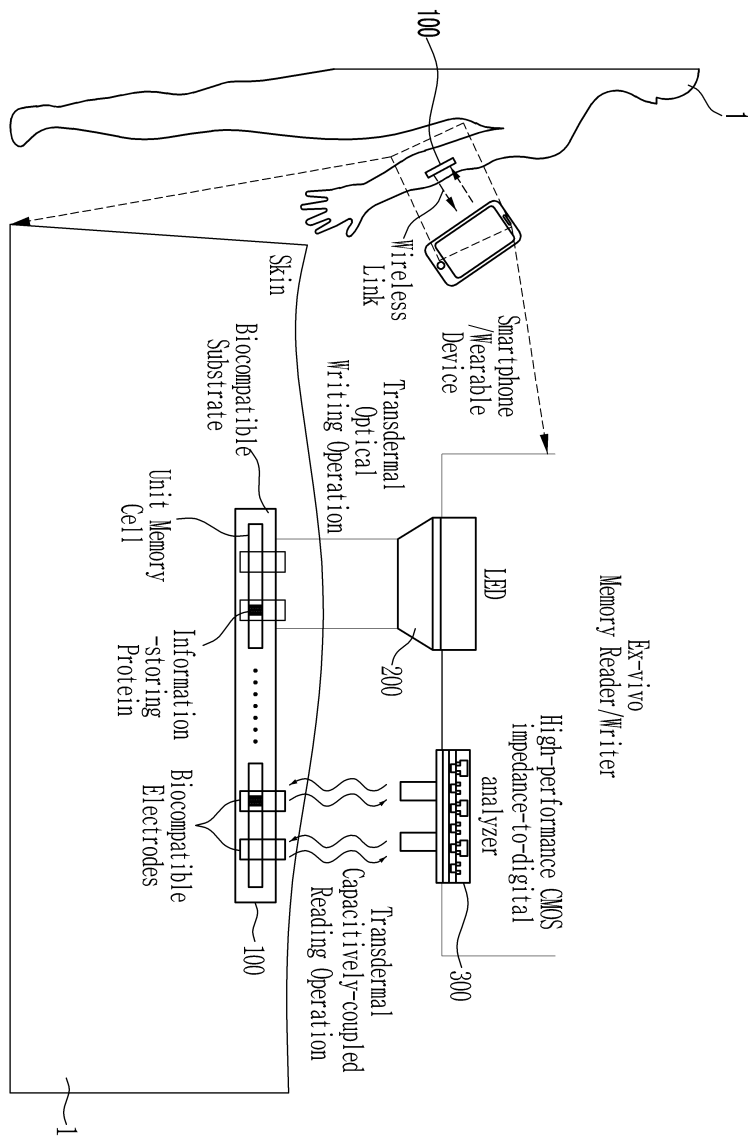
도면4



도면5



도면6



서열 목록

- <110> Hongik University Industry-Academia Cooperation Foundation
Myongji University Industry and Academia Cooperation Foundation
- <120> PROTEIN MEMORY CELL AND PROTEIN MEMORY SYSTEM
- <130> DPP20194204KR
- <160> 7
- <170> koPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 238
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> wtGFP(wild-type Green Fluorescent Protein)

<400> 1

Met Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu Val

1 5 10 15

Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly Glu

20 25 30

Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile Cys

35 40 45

Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr Phe

50 55 60

Ser Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys Gln

65 70 75 80

His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu Arg

85 90 95

Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu Val

100 105 110

Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly Ile

115 120 125

Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr Asn

130 135 140

Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn Gly

145 150 155 160

Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser Val

165 170 175

Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly Pro

180 185 190

Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu Ser

195 200 205

Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe Val

210 215 220

Thr Ala Ala Gly Ile Thr His Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys

225 230 235

<210> 2
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> F64L forward primer
 <400> 2
 cactactctc tcttatgggtg ttcaatgctt ttca 34
 <210> 3
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> F64L reverse primer
 <400> 3
 taagagagag tagtgacaag tggtggcca 29
 <210> 4
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> F64V forward primer
 <400> 4
 ctgtgcacta ctgtctctta tgggtgtt 27
 <210> 5
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> F64V reverse primer
 <400> 5
 aacaccataa gagacagtag tgacaag 27
 <210> 6
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> F64I forward primer
 <400> 6

cttgtcacta ctatctctta tgggtgtt

27

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> F64I reverse primer

<400> 7

aacaccataa gagatagtag tgacaag

27