(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0034623
(43) 공개일자 2023년03월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G16B 15/20 (2019.01) *G16B 20/20* (2019.01)
G16B 30/10 (2019.01) *G16B 5/00* (2019.01)
(52) CPC특허분류
G16B 15/20 (2019.02)
G16B 20/20 (2019.02)
(21) 출원번호 10-2021-0117601
(22) 출원일자 2021년09월03일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
김윤중
서울특별시 강남구 압구정로 151 신현대아파트 109동 1006호
최현성
서울특별시 강동구 구천면로14길 22, 2층 (천호동)
나성수
서울특별시 영등포구 당산로42길 13, 106동 802호(당산동5가, 당산동1차 효성아파트)
(74) 대리인
특허법인 천지

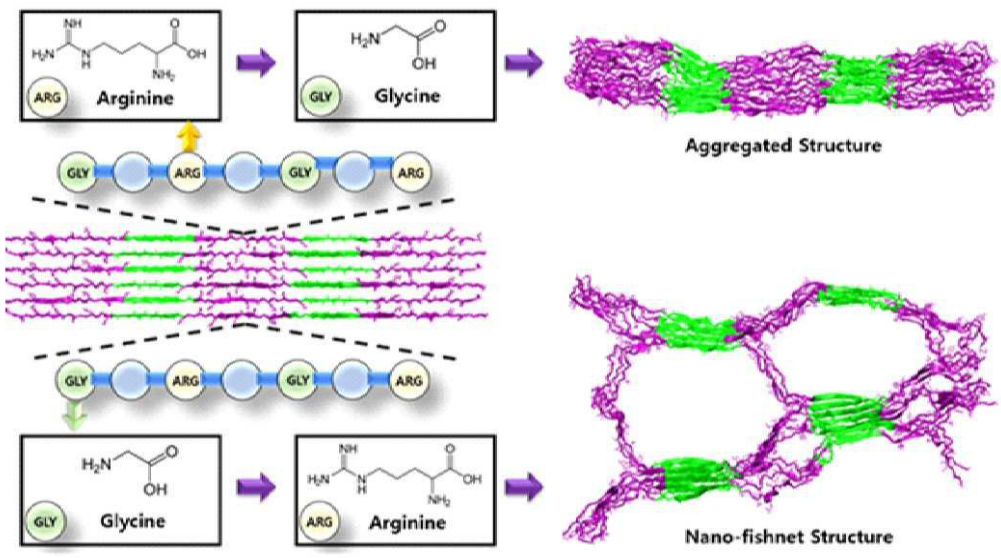
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법 및 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법**

(57) 요 약

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법이 제공된다. 본 발명에 따른 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법은 비정질 영역 및 결정질 영역을 포함하는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조(nano-fishnet structure)의 제어방법으로, 상기 비정질 영역에서 제1 아미노산의 함량을 조절하는 단계를 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G16B 30/10 (2019.02)
G16B 5/00 (2019.02)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711110980
과제번호 2019R1A2C1086103
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 인공 지능 모델링 및 다중 스케일 시뮬레이션을 통한 실크 소재의 자동 최적 설계 플랫폼 개발
기 여 율 1/1
과제수행기관명 고려대학교
연구기간 2020.03.01 ~ 2021.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

비정질 영역 및 결정질 영역을 포함하는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조(nano-fishnet structure)의 제어방법으로,

상기 비정질 영역에서 제1 아미노산의 함량을 조절하는 단계; 를 포함하는

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 단백질 섬유는,

천연섬유, 인조섬유 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 천연섬유는,

동물성 섬유를 포함하는

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 동물성 섬유는,

실크(silk), 양모, 모피 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 인조섬유는,

재생 단백질 섬유(regenerated protein fiber)를 포함하는

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 재생 단백질 섬유는,

카제인(casein) 섬유, 제인(zein) 섬유, 아라킨(arachin) 섬유, 글리시닌 섬유 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 제1 아미노산은,

전하를 갖는 아미노산 또는 중성 전하의 아미노산인

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 전하를 갖는 아미노산은,

아르기닌, 라이신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 중성 전하의 아미노산은

글라이신, 티로신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 메티오닌 및 트립토판으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 단백질 섬유의 나노 그물망 구조는

20 내지 30℃ 기준, 및 상대습도(Relative Humidity; RH) 0 내지 100% 하에서 조절되는

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 비정질 영역 및 상기 결정질 영역은 서로 교대로 위치하는

단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법.

청구항 12

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조(nano-fishnet structure)를 제어하는 방법에 있어서,

상기 단백질 섬유는,

제1 비정질 영역 및 제1 결정질 영역이 교대로 위치하는 제1 스트랜드(strand) 및

제2 비정질 영역 및 제2 결정질 영역이 교대로 위치하는 제2 스트랜드(strand)를 포함하고,

상기 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법은,

(S1) 상기 전자장치가 상기 제1 스트랜드 및 상기 제2 스트랜드와 대응되는 가상의 전산 모델을 설정하는 단계;

(S2) 상기 전자장치가 상기 전산 모델의 습도를 설정하는 단계; 및

(S3) 상기 (S2) 단계 이후에, 상기 전자장치가 상기 제1 비정질 영역 및 상기 제2 비정질 영역 중 적어도 어느 하나의 제2 아미노산의 함량을 조절하는 단계;

를 포함하고,

상기 제1 스트랜드는 상기 제2 스트랜드와 역평행(anti-parallel) 관계인

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법.

청구항 13

제12항에 있어서,

상기 제2 아미노산은,

전하를 갖는 아미노산 또는 중성 전하의 아미노산인

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 전하를 갖는 아미노산은,

아르기닌, 라이신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 중성 전하의 아미노산은

글라이신, 티로신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 메티오닌 및 트립토판으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법.

청구항 16

제13항에 있어서,

상기 (S3) 단계는,

상기 전자장치가 상기 전하를 갖는 아미노산을 상기 중성 전하의 아미노산으로 변이시키는 단계인,

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법.

청구항 17

제13항에 있어서,

상기 (S3) 단계는,

상기 전자장치가 상기 중성 전하의 아미노산을 상기 전하를 갖는 아미노산으로 변이시키는 단계인,

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법.

청구항 18

제12항에 있어서,

상기 (S2) 단계는,

상기 전자장치가 물을 이용하여 습도를 조절하는 단계인

전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법 및 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로 비정질 영역에서 아미노산의 함량을 변화시켜 단백질 섬유의 구조를 제어할 수 있는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법 및 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 단백질 섬유의 아미노산 서열 변이 기술에서 기본적인 기법 중 하나는 Expression cloning으로, 목표 단백질의 아미노산 서열에 해당하는 DNA를 플라스미드에 복제하고, 이를 piggyBac vector 등을 통하여 아미노산 서열을 조작하여 박테리아 또는 동물에 도입하는 기법이다. 이를 통해 지속적으로 변이된 서열의 단백질 섬유를 생산할 수 있다.

[0003] 한편, 단백질 섬유의 나노 그물망 구조는 단백질 섬유의 인성을 1.8배 이상 강화시키는 것으로 알려진 나노 구조로서, 섬유 내부를 서로 유기적으로 연결시켜 섬유가 외력을 효과적으로 분산시킬 뿐만 아니라, 손상 부위에 가해지는 외력을 우회시켜 섬유가 더 큰 외력에도 견딜 수 있게 해준다.

[0004] 하기 비특허문헌 1은 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 효과를 단순히 개시하고 있을 뿐, 단백질 섬유의 나노 그물망 구조가 어떻게 발현되는지에 관한 발현 원리나 이를 제어할 수 있는 방법에 관한 사항은 일절 개시하지 못하는 한계점이 있었다. 본 발명자는 이러한 한계점을 극복하기 위해 거듭된 연구 끝에, 전자장치를 이용하여 나노 그물망 구조의 단백질 섬유를 제어하는 방법에 관한 초석을 마련하였다.

[0005] 또한, 단백질 섬유는 일반적으로 친환경성 등의 장점이 크지만 산업용 섬유를 대체하기에는 물성이 떨어지는 문제점이 있었다. 따라서, 보편적으로 적용할 수 있는 단백질 섬유의 물성을 개선하는 방법에 관한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) Nano-Fishnet Structure Making Silk Fibers Tougher Adv. Funct. Mater. 2016,

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 상기 한계점 또는 문제점을 해결하기 위해, 단백질 섬유의 구조를 제어하여 물성을 개선할 수 있는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명의 다른 목적은, 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법을 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명의 목적들은 이상에서 언급한 목적으로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 본 발명의 다른 목적 및 장점들은 하기의 설명에 의해서 이해될 수 있고, 본 발명의 실시예에 의해 보다 분명하게 이해될 것이다. 또한, 본 발명의 목적 및 장점들은 청구범위에 나타낸 수단 및 그 조합에 의해 실현될 수 있음을 쉽게 알 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예는 비정질 영역 및 결정질 영역을 포함하는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조(nano-fishnet structure)의 제어방법으로, 상기 비정질 영역에서 제1 아미노산의 함량을 조절하는 단계를 포함하는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법이다.

[0011] 상기 단백질 섬유는, 천연섬유, 인조섬유 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이다.

[0012] 상기 천연섬유는, 동물성 섬유를 포함한다. 상기 동물성 섬유는, 실크(silk), 양모, 모피 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이다.

[0013] 상기 인조섬유는, 재생 단백질 섬유(regenerated protein fiber)를 포함한다. 상기 상기 재생 단백질 섬유는, 카제인(casein) 섬유, 제인(zein) 섬유, 아라킨(arachin) 섬유, 글리시닌 섬유 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이다.

[0014] 상기 제1 아미노산은, 전하를 갖는 아미노산 또는 중성 전하의 아미노산이다.

[0015] 상기 전하를 갖는 아미노산은, 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이다.

[0016] 상기 중성 전하의 아미노산은, 글라이신, 티로신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 메티오닌 및 트립토판으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이다.

[0017] 상기 단백질 섬유의 나노 그물망 구조는 20 내지 30℃ 기준, 및 상대습도(Relative Humidity; RH) 0 내지 100% 하에서 조절되고, 바람직하게는 27℃ 기준 상대습도 0 내지 66%에서 조절된다.

[0018] 상기 비정질 영역 및 상기 결정질 영역은 서로 교대로 위치한다.

[0019] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 다른 실시예는, 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조(nano-fishnet structure)를 제어하는 방법이다.

[0020] 상기 단백질 섬유는, 제1 비정질 영역 및 제1 결정질 영역이 교대로 위치하는 제1 스트랜드(strand) 및 제2 비정질 영역 및 제2 결정질 영역이 교대로 위치하는 제2 스트랜드(strand)를 포함한다.

[0021] 상기 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법은, (S1) 상기 전자장치가 상기 제1 스트랜드 및 상기 제2 스트랜드와 대응되는 가상의 전산 모델을 설정하는 단계, (S2) 상기 전자장치가 상기 전산 모델의 습도를 설정하는 단계 및 (S3) 상기 (S2) 단계 이후에, 상기 전자장치가 상기 제1 비정질 영역 및 상기 제2 비정질 영역 중 적어도 어느 하나의 제2 아미노산의 함량을 조절하는 단계를 포함한다. 상기 제1 스트랜드는 상기 제2 스트랜드와 역평행(anti-parallel) 관계이다.

[0022] 상기 제2 아미노산은, 전하를 갖는 아미노산 또는 중성 전하의 아미노산이다. 상기 전하를 갖는 아미노산은, 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이다. 상기 중성 전하의 아미노산은 글라이신, 티로신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 메티오닌 및 트립토판으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나이다.

[0023] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 (S3) 단계는, 상기 전자장치가 상기 전하를 갖는 아미노산을 상기 중성 전하의 아미노산으로 변이시키는 단계이다.

[0024] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 상기 (S3) 단계는, 상기 전자장치가 상기 중성 전하의 아미노산을 상기 전하를 갖는 아미노산으로 변이시키는 단계이다.

[0025] 상기 (S2) 단계는, 상기 전자장치가 물을 이용하여 습도를 조절하는 단계이다.

발명의 효과

[0026] 본 발명에 따르면, 기계적 물성이 개선된 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 발현을 제어할 수 있다. 이를 통해, 한번 서열이 변이된 단백질 섬유를 생산하는 생물이 준비될 경우, 단백질 섬유의 생산 과정에 있어서, 추가적인 후처리 과정 및 추가 비용이 필요하지 않고 지속적으로 단백질 섬유의 생산을 유도할 수 있다.

[0027] 상술한 효과와 더불어 본 발명의 구체적인 효과는 이하 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용을 설명하면서 함께 기술한다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법을 설명하기 위한 모식도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법을 설명하기 위한 모식도이다.

도 3은 단백질 섬유의 각 영역에 따른 결합 에너지 및 팽창율을 측정한 것이다.

도 4는, 상기 제조예에 따른 단백질 섬유에서 야생형 모델의 스트랜드 사이의 상대적 거리와 각도를 나타낸 것이다.

도 5는 상기 제조예에 따른 실크 전산 모델에서 각각의 결정질 영역(orange-line), 비정질 영역(green-line) 및 전체 영역(blue-line)의 결합 에너지(a)와, 상기 각각의 영역들의 팽창율(b)을 나타낸 것이다.

도 6은 상기 0% 아르기닌 모델의 결합 에너지(a), 상기 더블 아르기닌 함량 모델의 결합 에너지(b), 상기 0% 아르기닌 모델 및 더블 아르기닌 함량 모델의 아미노산 서열 변이에 따른 결합 에너지(c) 및 팽창율(d)을 나타낸 것이다.

도 7은 상기 제조예에 따른 야생형 모델의 나노 그물망 구조 및 응집된 구조 각각의 인장 시뮬레이션을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 각 구성을 보다 상세히 설명하나, 이는 하나의 예시에 불과할 뿐, 본 발명의 권리범위가 다음 내용에 의해 제한되지 아니한다.

[0030] 본 발명의 일 실시예는, 비정질 영역 및 결정질 영역을 포함하는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조(nano-fishnet structure)의 제어방법으로, 상기 비정질 영역에서 제1 아미노산의 함량을 조절하는 단계를 포함하는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법이다.

[0031] 이하, 본 발명의 구성을 보다 상세히 설명한다.

[0033] 1. 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법

[0034] 본 발명에 따른 단백질 섬유는, 천연섬유, 인조섬유 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0035] 상기 천연섬유는, 동물성 섬유를 포함할 수 있다. 상기 동물성 섬유는, 실크(silk), 양모, 모피 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0036] 상기 인조섬유는, 재생 단백질 섬유(regenerated protein fiber)를 포함할 수 있다. 상기 재생 단백질 섬유는 예를 들어, 카제인(casein) 섬유, 제인(zein) 섬유, 아라킨(arachin) 섬유, 글리시닌 섬유 및 이들의 조합으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0037] 본 발명에 따른 제1 아미노산은, 전하를 갖는 아미노산 또는 중성 전하의 아미노산일 수 있다. 본 명세서에서 '전하를 갖는 아미노산'은 양전하 또는 음전하를 갖는 아미노산으로 정의되고, '중성 전하의 아미노산'은 양전하 또는 음전하를 갖지 않는 아미노산으로 정의된다.

[0038] 상기 전하를 갖는 아미노산은 예를 들어, 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0039] 상기 중성 전하의 아미노산은, 예를 들어 글라이신, 티로신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 메티오닌 및 트립토판으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0040] 상기 단백질 섬유의 나노 그물망 구조는 20 내지 30℃ 기준, 및 상대습도(Relative Humidity; RH) 0 내지 100% 하에서 조절될 수 있고, 바람직하게는 27℃ 기준, 상대습도 0 내지 66%에서 조절될 수 있다.

[0041] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 비정질 영역(amorphous region) 및 상기 결정질 영역(crystalline region)은 서로 교대로 위치할 수 있다. 상기 비정질 영역은 단백질 섬유의 신율 성능에 기여하는 반면에, 상기 결정질 영역은 단백질 섬유의 높은 강도(strength)에 기여할 수 있다. 이에 따라, 높은 강도를 갖는 결정질 영역과 높은 신율 성능을 보이는 비정질 영역을 포함하는 단백질 섬유는 높은 인성(toughness)을 보일 수 있다.

[0043] 2. 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법

[0044] 본 발명의 다른 실시예는, 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조(nano-fishnet structure)를 제

어하는 방법이다. 전술한 부분과 반복된 설명은 간단히 설명하거나 생략한다.

[0045] 본 발명에 따른 단백질 섬유는, 제1 비정질 영역 및 제1 결정질 영역이 교대로 위치하는 제1 스트랜드(strand) 및 제2 비정질 영역 및 제2 결정질 영역이 교대로 위치하는 제2 스트랜드(strand)를 포함할 수 있다. 상기 제1 스트랜드는 상기 제2 스트랜드와 역평행(anti-parallel) 관계일 수 있다. 상기 역평행 관계는 서로 평행하지만 방향성은 반대인 상태를 의미한다.

[0046] 본 발명에 따른 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법은, (S1) 상기 전자장치가 상기 제1 스트랜드 및 상기 제2 스트랜드와 대응되는 가상의 전산 모델을 설정하는 단계, (S2) 상기 전자장치가 상기 전산 모델의 습도를 설정하는 단계 및 (S3) 상기 (S2) 단계 이후에, 상기 전자장치가 상기 제1 비정질 영역 및 상기 제2 비정질 영역 중 적어도 어느 하나의 제2 아미노산의 함량을 조절하는 단계를 포함한다.

[0047] 상기 제2 아미노산은, 전하를 갖는 아미노산 또는 중성 전하의 아미노산일 수 있다. 상기 전하를 갖는 아미노산은 아르기닌, 라이신, 히스티딘, 아스파르트산, 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다. 상기 중성 전하의 아미노산은 글라이신, 티로신, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 메티오닌 및 트립토판으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0048] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 상기 (S3) 단계는, 상기 전자장치가 상기 전하를 갖는 아미노산을 상기 중성 전하의 아미노산으로 변이시키는 단계일 수 있다. 상기 전하를 갖는 아미노산을 상기 중성 전하의 아미노산으로 변이시킴으로써, 단백질 섬유는 응집된 구조를 형성할 수 있다.

[0049] 본 발명의 다른 실시예에 따르면, 상기 (S3) 단계는, 상기 전자장치가 상기 중성 전하의 아미노산을 상기 전하를 갖는 아미노산으로 변이시키는 단계일 수 있다. 상기 중성 전하의 아미노산을 상기 전하를 갖는 아미노산으로 변이시킴으로써, 단백질 섬유는 각 스트랜드 간에 서로 벌어지는 구조 또는 나노 그물망 구조를 형성할 수 있다.

[0050] 종래에는 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 효과를 단순히 개시하고 있을 뿐, 단백질 섬유의 나노 그물망 구조가 어떻게 발현되는지에 관한 발현 원리나 이를 제어할 수 있는 방법에 관한 사항은 일절 개시하지 못하는 한계점이 있었다. 본 발명에 따르면, 상기 (S3) 단계처럼 비정질 영역의 아미노산을 변이시켜 아미노산의 함량을 조절함으로써, 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어할 수 있다.

[0051] 상기 (S2) 단계는 상기 전자장치가 물을 이용하여 습도를 조절하는 단계일 수 있다. 습도가 높게 설정될 경우, 단백질 섬유는 응집된 구조를 형성할 수 있고, 습도가 낮게 설정될 경우, 단백질 섬유는 나노 그물망 구조를 형성하거나 서로 역평행 관계에 있는 스트랜드 사이의 거리가 멀어지는 구조를 가질 수 있다. 이 때, 단백질 섬유의 구조를 제어하는 방법에 있어서, 비정질 영역에 있는 아미노산의 함량의 변이 요인은 습도 요인보다 우세할 수 있다. 즉, 습도가 매우 높아 응집된 구조를 보이는 단백질 섬유가 있더라도, 비정질 영역의 아미노산을 중성 전하의 아미노산에서 전하를 띄는 아미노산으로 변경할 경우, 정전기적 인력이 단백질 섬유의 결합력보다 우세하여 매우 높은 습도 조건으로 인해 응집된 단백질 섬유의 구조를 나노 그물망 구조로 변화시킬 수 있다.

[0052] 상기 전자장치는 예를 들어, 컴퓨터일 수 있다. 다만 본 발명의 기술사상이 이에 제한되는 것은 아니고, 가상의 단백질 섬유의 전산 모델을 이용하는 모듈(module)을 포함할 수 있는 전자장치면 모두 이용될 수 있다.

[0053] 이하에서는, 도면을 참고하여 본 발명의 구성을 보다 상세히 설명한다.

[0054] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법을 설명하기 위한 모식도이다.

[0055] 도 1을 참고하면, 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 발현시키고 발현 정도를 제어하기 위해서는 단백질 섬유 내부의 결합 에너지에 대해 전하를 띄는 아미노산의 정전기적 인력으로 상쇄를 일으켜야 한다. 상기 정전기적 인력과 같은 전기 에너지는 단백질 섬유의 구조 및 아미노산의 서열에 따라 결정되며, 분자 동역학 시뮬레이션을 통하여 측정될 수 있다.

[0056] 아미노산의 서열 변이를 통한 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 형성하는데 있어, 핵심적인 요인은 단백질 섬유의 결합 에너지와 전하를 띄는 아미노산으로부터의 정전기적 인력 간의 적절한 균형이다. 상기 단백질 섬유의 결합 에너지가 너무 강할 경우, 단백질 섬유의 내부가 적절히 벌어지지 않아 나노 그물망 구조가 형성되지 않을 것이고, 정전기적 인력이 너무 강할 경우, 단백질 섬유의 내부가 너무 벌어져 역효과가 나타난다. 분자동역학 시뮬레이션을 이용하면 단백질 섬유의 아미노산 서열에 따른 결합 에너지, 정전기적 인력 등 각종 에너지와 그에 따른 구조의 변화 및 나노 그물망 구조의 형성을 분석할 수 있다.

[0057] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 단백질 섬유의 나노 그물망 구조의 제어방법을 설명하기 위한 모식도이다.

[0058] 도 2를 참고하면, 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하기 위해서는 습도 요인보다 아미노산의 서열 변이 요인이 더 우세함을 알 수 있다.

[0059] 구체적으로, 초기 실크 섬유가 과한 습도 조건에 있을 경우, 단백질 섬유는 응집된 구조를 형성함으로써 단백질 섬유의 내부 공간이 좁아지게 된다. 구체적으로, 단백질 섬유를 구성하는 제1 스트랜드와 상기 제1 스트랜드와 역평행 관계인 제2 스트랜드 간의 거리가 짧아짐을 유추할 수 있다. 이 때, 아미노산 서열 변이를 통해, 전하를 띄는 아미노산의 함량을 증가시킬 경우 과한 습도 조건임에도 불구하고 단백질 섬유는 나노 그물망 구조를 형성한다.

[0060] 반면에, 단백질 섬유가 적당한 습한 조건에 있을 경우, 단백질 섬유는 나노 그물망 구조를 형성한다. 이 때, 아미노산 서열 변이를 통해 단백질 섬유에서 전하를 띄는 아미노산을 전하를 띄지 않는 중성 전하의 아미노산으로 변이시킬 경우, 단백질 섬유는 적당히 습한 조건임에도 불구하고, 응집된 구조를 형성할 수 있다. 상기 적당한 습한 조건은 예를 들어, 상대 습도 44% 내지 80% 사이의 습도, 더욱 구체적으로 63.5%일 수 있다.

[0062] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시예에 대하여 상세히 설명하나, 이는 하나의 예시에 불과할 뿐, 본 발명의 권리범위가 다음 내용에 의해 제한되지 아니한다.

[0064] **[제조예: 전자장치를 이용하여 단백질 섬유의 나노 그물망 구조를 제어하는 방법]**

[0065] 실크 전산 모델은 무당거미속(golden silk orb-weaver, *Nephila clavipes*)의 MaSp1 아미노산 서열에 기초하여 설계되었다. 상기 MaSp1 실크는 비정질 영역과 결정질 영역이 위치한 실크로, 구체적으로 비정질 영역(GGAGQGGYGGLGSQGAGRGGLGGQ)과 결정질 영역(GAGAAAAAAGGAG)이 교대로 위치하고 있다.

[0066] 컴퓨터를 이용하여 상기 비정질 영역-결정질 영역-비정질 영역-결정질 영역-비정질 영역으로 이루어진 2.5개의 반복단위로 이루어진 실크 모델을 설계하였다. 각각의 스트랜드(strand)와 대응되는 실크 전산 모델이 형성되도록 매트랩을 통하여 3 x 6에 배치되었다.

[0067] 아르기닌의 함량이 0%인 실크 전산 모델(이하, 0% 아르기닌 모델) 및 아르기닌의 함량이 2배인 실크 전산 모델(이하, 더블-아르기닌-함량 모델(double-arginine-density model)) 각각은 UCSF Chimera를 통해 야생형 모델(wild type model)을 변이시켜 설정되었다.

[0068] 상기 야생형 모델(wild type model)의 서열은 하기 표 1의 서열번호 1로 표시되는 서열이다.

[0069] 상기 야생형 모델의 아르기닌 함량을 기준으로 아르기닌의 함량이 절반인 실크 모델(이하, 하프-아르기닌-함량 모델(half-arginine-density model))의 서열은 하기 표 1의 서열번호 2로 표시되는 서열이다.

[0070] 상기 더블-아르기닌-함량 모델의 서열은 하기 표 1의 서열번호 3로 표시되는 서열이다.

[0071] 상기 0% 아르기닌 모델의 서열은 하기 표 1의 서열번호 4로 표시되는 서열이다.

표 1

[0072]

서열번호 (SEQ No.)	실크 전산 모델	아미노산 서열
1	야생형 모델	GGAGQGGYGGLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQ GGYGGLGSQGAGRGGLGGQ GGAGQGGYGGLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQ GGYGGLGSQGAGRGGLGGQ
2	하프-아르기닌 함량 모델	GGAGQGGYGGLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQ GGYGGLGSQGAGRGGLGGQ GGAGQGGYGGLGSQGAGGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQ GGYGGLGSQGAGGGGLGGQ
3	더블-아르기닌 함량 모델	GGAGQGGYGRLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGRYGGLGSQGAGRGGLGGQ GAGAAAAAAGGAGQRGYGGLGSQGAGRGGLGGQ GGAGQGGYGRLGSQGAGRGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGRYGGLGSQGAGRGGLGGQ GAGAAAAAAGGAGQRGYGGLGSQGAGRGGLGGQ

4	0% 아르기닌 모델	GGAGQGGYGGLGSQGAGGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQ GGYGGLGSQGAGGGGLGGQ GGAGQGGYGGLGSQGAGGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQ GGYGGLGSQGAGGGGLGGQ

[0074] **[측정방법 1: 시뮬레이션 방법]**

[0075] 상기 제조예에 따른 실크 섬유의 모든 시뮬레이션은 분자동역학 시뮬레이션, 구체적으로 AMBER99sb-ildn force field 및 TIP3P 물 모델(water model)로 구성된 Gromacs 2019.3 시뮬레이션 패키지로 실행되었다. 모든 시스템은 주기적인 경계가 적용된 300K 온도에서 특정 용매 및 바른틀 앙상블(canonical ensemble) 조건 하에 계산이 수행되었다. 상기 바른틀 앙상블은 원자수, 체적, 온도가 일정한 앙상블을 의미한다.

[0076] 100%의 습도 시스템은 실크가 물로 완전히 덮일 때까지 물을 모으는 실크의 수분 흡수 능력을 기초로, 얇은 물 껍질(water shell)에 의해 덮인 실크로 설계되었고, 6.6%와 66%의 습도 시스템은 각각 100%의 습도 시스템의 물 분자 수를 기준으로 대응되는 물 분자의 수를 첨가하여 설계되었다. 모든 시스템에 대해 1kJ/mol/nm의 허용 오차로 가장 가파른 하강법(descent method)을 사용하여 에너지 최소화가 수행되었고, 타임 스텝(time step)은 0.002ps이고 평형 시뮬레이션은 모든 방향으로 5Å 패딩이 있는 실크 모델에 맞게 설정된 상자 크기로 20ns 동안 실행되었다. 이 때, 나노 그물망 구조의 모델은 습도가 6.6%로 설정되었고, 응집된 모델(aggregated model)은 습도가 100%로 설정되었다.

[0077] 인장 시뮬레이션의 경우, 실크 모델의 완전한 파손이 발생하여 실제 인장 테스트를 모방할 때까지 각각의 레이어(layer)를 반대 방향으로 잡아당겨 실험을 진행하였다.

[0078] 단거리 정전기력 및 반데르발스 인력의 상호작용은, 12Å의 컷-오프 거리(cut-off distance of 12Å)를 사용하여 계산되었고 장거리 정전기력의 상호작용은 particle mesh Ewald 방법을 사용하여 계산되었다. 모든 시스템은 VMD 1.9.3. package에 의해 시각화되었고, RMSD는 Gromacs 2019.3의 gmx rmsd 플러그인으로 계산되었다. 실크 섬유에서 각 영역의 팽창율은 각 잔사의 중심과 전체 실크 섬유의 중심 사이의 거리를 Y축으로 측정하고 평균화하여 팽창 또는 응집이 발생함에 따라 분포의 변화로 측정되었다.

[0080] **[측정방법 2: 통계학적 방법]**

[0081] 6.6% 습도, 66% 습도 및 100% 습도에 대한 스트랜드 사이의 평균 거리, 스트랜드 사이의 평균 각도에 대한 오차 막대는 각각 3번의 시행 사이에 각 값의 표준편차를 계산하여 얻었다. 나노 그물망 구조의 실크와 응집된 실크의 최대 힘과 파괴에너지에 대한 오차 막대는 각각 3회 시도 사이의 각 시스템의 표준 편차를 계산하여 구하였다.

[0083] **[실험예 1: 단백질 섬유의 각 영역에 따른 결합 에너지 및 팽창율의 측정]**

[0084] 도 3은 단백질 섬유의 각 영역에 따른 결합 에너지 및 팽창율을 측정한 것이다.

[0085] 도 3을 참고하면, 상기 제조예에 따른 단백질 섬유에서 야생형 모델의 습도를 6.6%, 66%, 및 100%으로 각각 설정하여 각 영역에 따른 결합 에너지(a) 및 팽창율(b)을 나타낸 것이다. 구체적으로, 단백질 섬유의 전체 영역(blue-line)은 비정질 영역(green-line) 및 결정질 영역(orange-line)으로 구분된다.

[0086] 도 3을 참고하면, 6.6% 습도에서 비정질 영역의 팽창하는 힘(expanding force)은 결정질 영역의 응집되는 힘(aggregating force)의 2.56배였으며, 결과적으로 비정질 영역과 결정질 영역의 팽창으로 인해 나노 그물망 구조가 형성되었다. 분자 역학(molecular mechanics; MM) 에너지는 팽창하는 힘의 유일한 기여자이지만, 응집에 기여하는 다른 모든 에너지를 합친 것보다 더 강력하였다. 이는 낮은 습도 때문인 것으로 추정된다.

[0087] 66%의 습도에서 용매화 에너지(solvation energy)는 6.6%의 습도에서 용매화 에너지보다 명백히 높기 때문에, 비정질 영역 및 결정질 영역 모두에서 응집되는 힘에 크게 기여함을 알 수 있다. 이 때, 비정질 영역은 팽창하는 에너지로 유일하게 분자 역학 에너지와, 응집에 기여하는 나머지 에너지들을 갖고 있기 때문에, 결정질 영역의 응집되는 힘이 비정질 영역에서의 팽창하는 힘보다 커지게 된다.

[0088] 100%의 습도에서 비정질 영역 및 결정질 영역 모두는 응집되는 힘에 기여하는 용매화 에너지에 기여한다. 상기 결정질 영역의 응집되는 힘은 비정질 영역에서의 팽창하는 힘보다 상대적으로 더 높아 상기 비정질 영역 및 결정질 영역 모두에서 명백히 응집된 구조를 형성함을 알 수 있다.

[0090] **[실험예 2: 스트랜드 사이의 상대적인 거리와 각도 평가 실험]**

[0091] 도 4는, 상기 제조예에 따른 단백질 섬유에서 야생형 모델의 스트랜드 사이의 상대적 거리와 각도를 나타낸 것이다.

[0092] 구체적으로, 도 4(a)는 상기 제조예에 따른 단백질 섬유에서 습도를 달리하였을 때, 각각의 스트랜드 사이의 상대적인 평균 거리 및 베타-시트 사이의 거리를 기준으로 초기 위치에서의 거리를 나타낸 것이고, 도 4(b)는 습도를 달리하였을 때, 스트랜드 사이의 거리와 각도를 막대그래프로 나타낸 것이다.

[0093] 도 4(a)를 참고하면, 상기 야생형 모델의 습도가 증가할수록, 초기 위치(initial placement)를 기준으로 스트랜드 사이의 평균 거리와 각도가 모두 감소함을 알 수 있다. 즉, 상대적인 분포(relative distribution)가 최대일 때를 기준으로 그래프를 분석하면, 습도(6.6%, red-line)일 때, 서로 역평행 관계에 있는 스트랜드 사이의 거리가 가장 멀고, 초기 위치(initial placement, black-line), 습도(66%, green-line) 및 습도(100%, blue-line) 순으로 갈수록 상기 스트랜드 사이의 거리가 짧아짐을 알 수 있다. 이를 통해, 습도가 높아질수록 따라 단백질 섬유의 구조가 응집됨을 알 수 있고, 습도가 낮아질수록 나노 그물망 구조로 변화되는 점을 유추할 수 있다.

[0094] 도 4(b)를 참고하면, 도 4(a)에서 분석한 결과와 마찬가지로 단백질 섬유의습도가 증가할수록 서로 역평행 관계에 있는 스트랜드 사이의 거리가 짧아지고, 스트랜드 사이의 각도가 작아짐을 알 수 있다.

[0096] **[실험예 3-1: 아르기닌의 함량에 따른 단백질 섬유의 구조 제어 확인 실험]**

[0097] 도 5는 상기 제조예에 따른 실크 전산 모델에서 각각의 결정질 영역(orange-line), 비정질 영역(green-line) 및 전체 영역(blue-line)의 결합 에너지(a)와, 상기 각각의 영역들의 팽창율(b)을 나타낸 것이다.

[0098] 도 5를 참고하면, 상기 야생형 모델(6.6% 습도), 상기 0% 아르기닌 모델(6.6% 습도) 및 상기 더블-아르기닌 함량 모델(100% 습도) 각각의 결합 에너지(KJ/mol)와 팽창율(ratio of expansion)의 변화를 알 수 있다.

[0099] 먼저, 6.6% 습도에서 상기 야생형 모델은 전체 영역에서의 결합 에너지가 0KJ/mol에 근사함을 알 수 있다. 이를 통해, 6.6%의 습도에서 상기 야생형 모델은 서로 역평행 관계에 있는 스트랜드 사이의 거리가 좁은 나노 그물망 구조를 형성함을 유추할 수 있다. 또한, 단백질 섬유의 팽창율이 결정질 영역보다 비정질 영역에서 더 큼을 알 수 있다.

[0100] 다음으로, 6.6% 습도에서 상기 0% 아르기닌 모델의 결합 에너지는 0KJ/mol에 근사함을 알 수 있고, 비정질 영역, 결정질 영역 및 전체 영역 모두의 팽창율이 1보다 작음을 알 수 있다. 이를 통해, 상기 0% 아르기닌 모델은 6.6%의 습도에서 응집된 구조를 형성함을 알 수 있다.

[0101] 마지막으로, 100% 습도의 상기 더블 아르기닌 함량 모델에서, 비정질 영역 및 전체 영역에서의 결합 에너지는 다른 실크 전산 모델에 비하여 상대적으로 높음을 알 수 있다. 또한, 결정질 영역, 비정질 영역 및 전체 영역 모두에서의 팽창율은 모든 프레임에서 1보다 큼을 알 수 있다. 이를 통해, 글라이신에서 아르기닌으로 아미노산 서열을 변이시키는 요인이 습도 요인보다 더 우세한 요인임을 유추할 수 있다.

[0103] **[실험예 3-2: 아미노산 서열의 변이에 따른 결합 에너지 측정 테스트]**

[0104] 도 6은 상기 0% 아르기닌 모델의 결합 에너지(a), 상기 더블 아르기닌 함량 모델의 결합 에너지(b), 상기 0% 아르기닌 모델 및 더블 아르기닌 함량 모델의 아미노산 서열 변이에 따른 결합 에너지(c) 및 팽창율(d)을 나타낸 것이다.

[0105] 상기 0% 아르기닌 실크의 총 결합 에너지(KJ/mol)는 음의 값을 나타내어 각각의 스트랜드가 수축하는 것을 알 수 있는 반면, 상기 더블 아르기닌 실크의 총 결합 에너지는 양의 값을 나타내어 각각의 스트랜드가 팽창하여 나노 그물망 구조를 형성함을 유추할 수 있다. 상기 총 결합 에너지는 정전기력 및 반데르발스의 인력의 합, 극

성 용매화 에너지(polar solvation energy) 및 무극성 용매화 에너지(apolar solvation energy)의 총 합으로 계산된다.

[0106] 이를 종합하여 해석하면, 아르기닌의 함량에 따라 실크 섬유의 구조를 제어할 수 있다.

[0108] **[실험예 4: 상기 제조예에 따른 단백질 섬유의 물성 테스트]**

[0109] 도 7은 상기 제조예에 따른 야생형 모델의 나노 그물망 구조 및 응집된 구조 각각의 인장 시뮬레이션을 나타낸 것이다. 구체적으로, 인장 시뮬레이션은 서로 반대 방향으로 각각의 상기 야생형 모델을 당겼을 때의 시뮬레이션이다.

[0110] 도 7(a)는 나노 그물망 구조의 야생형 모델(blue-line) 및 응집된 야생형 모델(red-line)에서 스트랜드 사이의 거리(nm)에 따른 힘(nN)을 나타낸 것이다.

[0111] 도 7(b)는 나노 그물망 구조의 단백질 섬유와 응집된 단백질 섬유 각각의 피크 힘(peak force)와 인성(toughness)를 막대그래프로 나타낸 것이다.

[0112] 도 7(a) 및 7(b)를 참고하면, 나노 그물망 구조의 야생형 모델이 응집된 야생형 모델보다 더 큰 피크 힘과 인성을 나타냄을 알 수 있다.

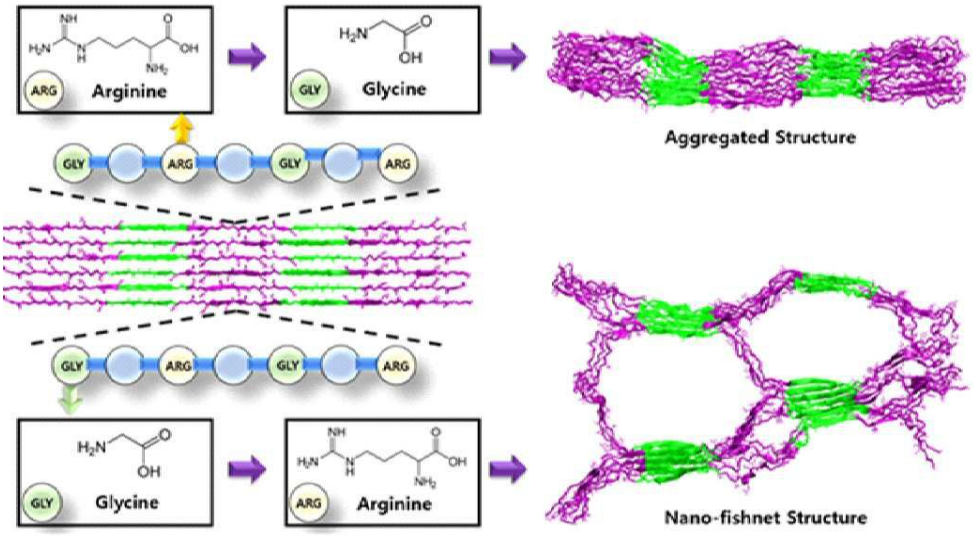
[0113] 도 7(c)는 상기 제조예에 따른 야생형 모델의 구조에 따라 인장 특성이 달라짐을 나타낸 모식도이다.

[0114] 도 7(c)를 참고하면, 전술한 실험결과와 마찬가지로, 나노 그물망 구조의 야생형 모델이 응집된 야생형 모델보다 기계적 물성이 우수함을 알 수 있다.

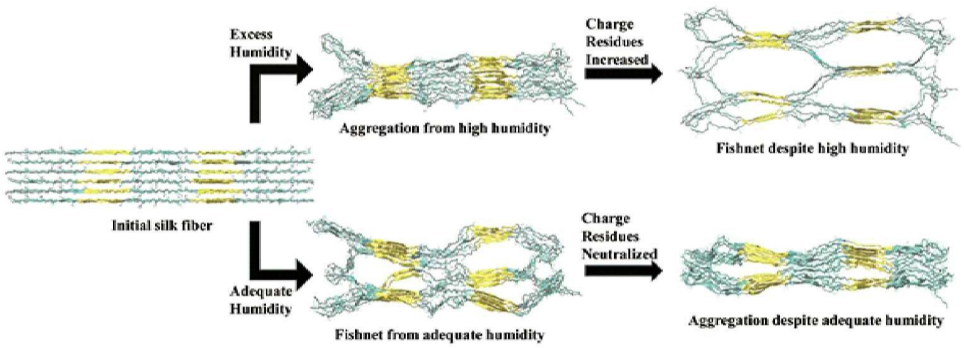
[0115] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예들에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리 범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

도면

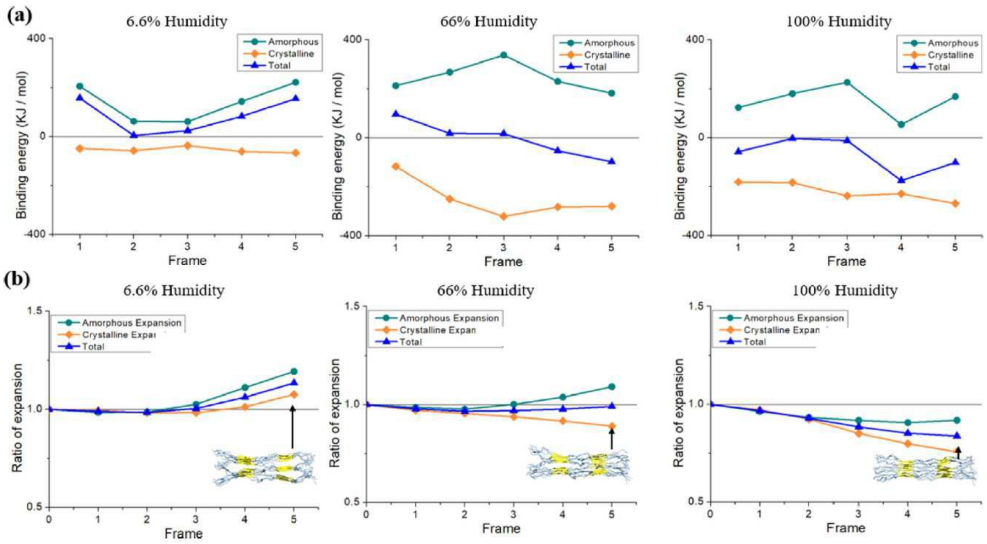
도면1



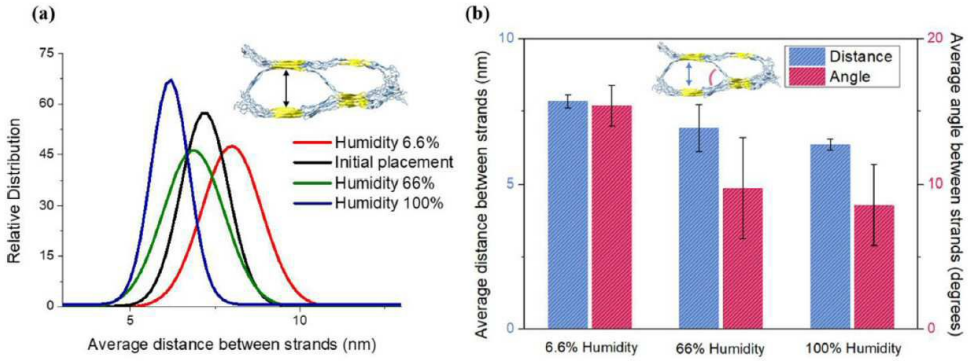
도면2


Excess Humidity
Aggregation from high humidity
Charge Residues Increased
Fishnet despite high humidity
Initial silk fiber
Adequate Humidity
Fishnet from adequate humidity
Charge Residues Neutralized
Aggregation despite adequate humidity

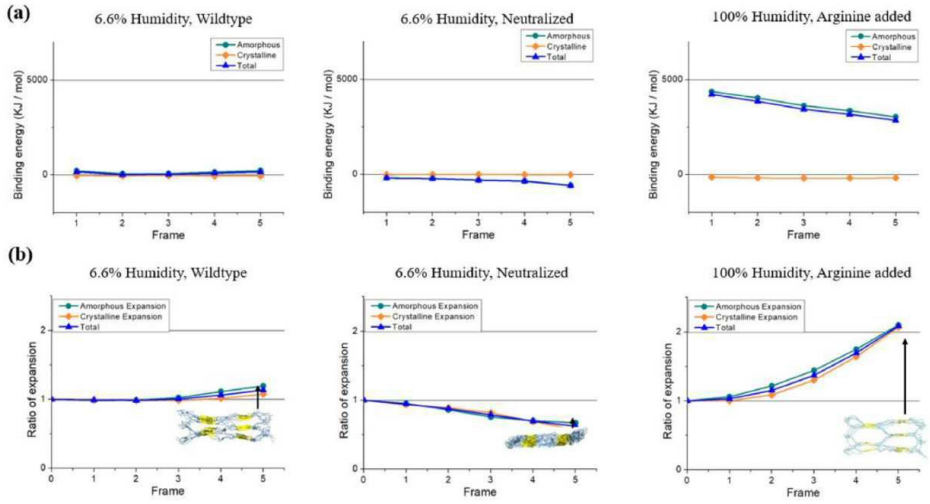
도면3


(a)
6.6% Humidity
66% Humidity
100% Humidity
Amorphous
Crystalline
Total
Binding energy (KJ / mol)
Frame
(b)
Amorphous Expansion
Crystalline Expan
Ratio of expansion

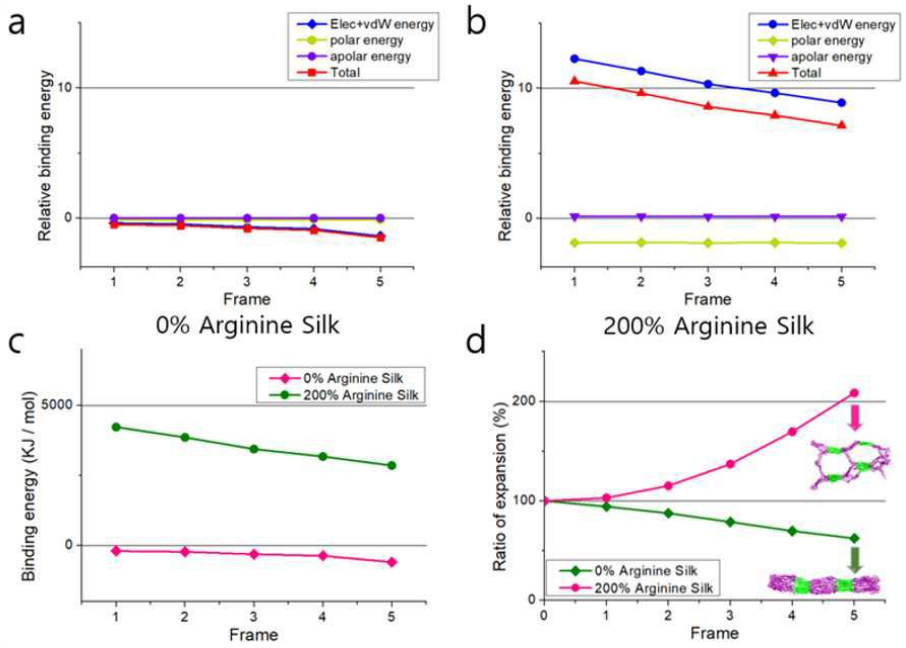
도면4


(a)
Relative Distribution
Humidity 6.6%
Initial placement
Humidity 66%
Humidity 100%
Average distance between strands (nm)
(b)
Distance
Angle
Average distance between strands (nm)
Average angle between strands (degrees)
6.6% Humidity
66% Humidity
100% Humidity

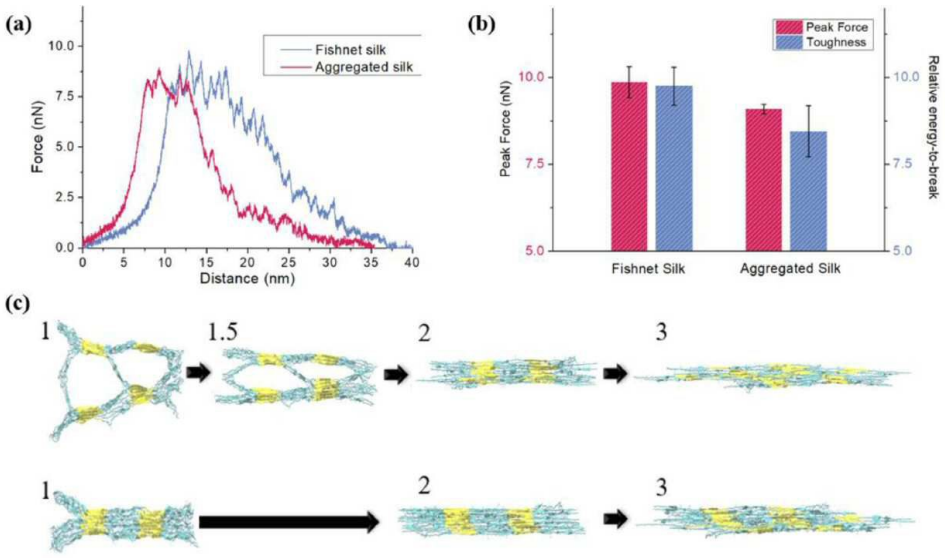
도면5


(a)
6.6% Humidity, Wildtype
6.6% Humidity, Neutralized
100% Humidity, Arginine added
Amorphous
Crystalline
Total
Binding energy (KJ / mol)
Frame
(b)
Amorphous Expansion
Crystalline Expansion
Ratio of expansion

도면6


a
b
Elec+vdW energy
polar energy
apolar energy
Total
Relative binding energy
Frame
c
0% Arginine Silk
d
200% Arginine Silk
0% Arginine Silk
200% Arginine Silk
Binding energy (KJ / mol)
Ratio of expansion (%)

도면7



서 열 목 록

<110> Korea University Research and Business Foundation

<120> A METHOD FOR CONTROLLING NANO-FISHNET STRUCTURE OF PROTEIN FIBER AND A METHOD FOR CONTROLLING NANO-FISHNET STRUCTURE OF PROTEIN FIBER USING AN ELECTRONIC DEVICE

<130> CDP2021-0535

<160> 4

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 180

<212> PRT

<213> Nephila clavipes

<400> 1

Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
1 5 10 15

Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
20 25 30

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
35 40 45

Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
50 55 60

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln

65 70 75 80

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Gly Ala Gly Gln Gly

85 90 95

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly

100 105 110

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln

115 120 125

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu

130 135 140

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly

145 150 155 160

Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly

165 170 175

Leu Gly Gly Gln

180

<210> 2

<211> 180

<212> PRT

<213> Nephila clavipes

<400> 2

Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala

1 5 10 15

Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala

20 25 30

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly

35 40 45

Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala

50 55 60

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln

65 70 75 80

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Gly Ala Gly Gln Gly

85 90 95

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Gly Gly Gly Leu Gly
100 105 110

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
115 120 125
Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Gly Gly Gly Leu
130 135 140
Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly
145 150 155 160
Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Gly Gly Gly
165 170 175
Leu Gly Gly Gln

180

<210> 3
<211> 180
<212> PRT
<213> Nephila clavipes
<400> 3
Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Arg Leu Gly Ser Gln Gly Ala
1 5 10 15
Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
20 25 30
Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Arg Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
35 40 45
Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala

50 55 60
Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Arg Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
65 70 75 80
Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Gly Ala Gly Gln Gly
85 90 95
Gly Tyr Gly Arg Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly
100 105 110
Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln

115 120 125

Gly Arg Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu
130 135 140
Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly
145 150 155 160
Gln Arg Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly
165 170 175
Leu Gly Gly Gln
180

<210> 4
<211> 180
<212> PRT
<213> Nephila clavipes
<400> 4

Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
1 5 10 15
Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
20 25 30
Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
35 40 45
Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
50 55 60
Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
65 70 75 80

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Gly Ala Gly Gln Gly
85 90 95
Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly
100 105 110
Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
115 120 125
Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu
130 135 140

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly

145 150 155 160

Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly

165 170 175

Leu Gly Gly Gln

180