



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0091890
(43) 공개일자 2022년07월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) C08J 11/10 (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/20 (2021.05)
C08J 11/10 (2021.05)
(21) 출원번호 10-2020-0183088
(22) 출원일자 2020년12월24일
심사청구일자 2020년12월24일

(71) 출원인
경상국립대학교산학협력단
경상남도 진주시 진주대로 501 (가좌동)
(72) 발명자
장유신
경상남도 진주시 가좌길29번길 63, 453동 302호
(가좌동, 경상대학교)
성현정
경상남도 진주시 진성면 진성로276번길 279-23 (구천리)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이처영, 장제환

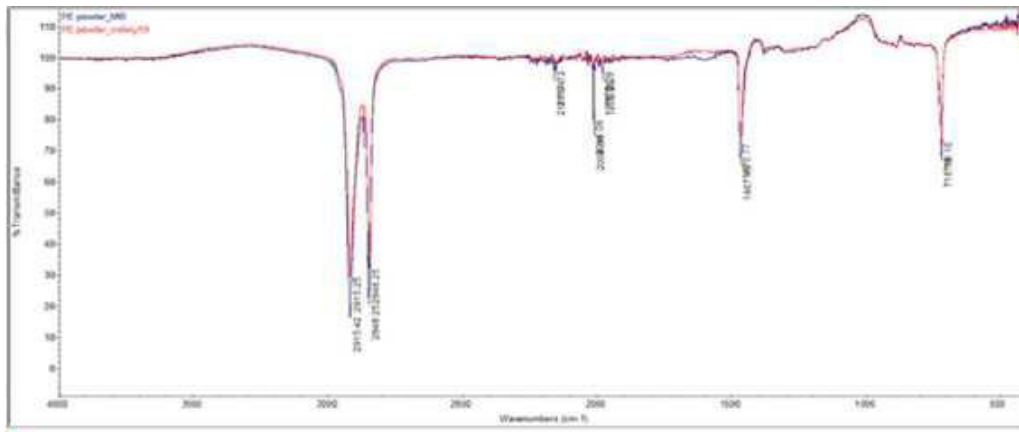
전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 플라스틱 분해 활성을 갖는 신규한 미생물

(57) 요약

본 발명은 플라스틱 분해 활성을 갖는 신규한 미생물에 관한 것으로, 더 상세하게는 폐플라스틱 집적 토양에서 분리된 플라스틱 분해 활성을 갖는 아시네토박터 노소코미알리스 (*Acinetobacter nosocomialis*) (수탁번호: KCTC 18879P)에 관한 것이다. 종래 화학적 공정에 의한 플라스틱 분해방법은 복잡한 전처리 공정이 요구되어 경제성이 적고 전처리 공정을 비롯한 플라스틱 분해 공정에서 유발되는 유해물질을 생성하는데 반해 본 발명에 따른 미생물을 이용하는 경우 간단한 공정으로 유해물질을 생성시키지 않으며 효과적으로 플라스틱을 분해할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류
C12R 2001/01 (2021.05)

(72) 발명자

백지혜

경상남도 진주시 가좌길29번길 63, 453동 302호 (가좌동, 경상대학교)

이행림

경상남도 진주시 가좌길29번길 63, 453동 302호 (가좌동, 경상대학교)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395066019
과제번호	PJ014926012020
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	미생물농업환경문제기술개발(R&D)
연구과제명	시스템대사공학 기반 미생물 효소를 이용한 농업용 폴리에틸렌 분해 기술 개발
기 여 율	1/1
과제수행기관명	경상대학교
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

플라스틱 분해 활성을 가지는 아시네토박터 노소코미알리스 GNU 001 (*Acinetobacter nosocomialis* GNU 001, 수탁번호: KCTC 18879P) 균주.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 균주는 서열번호 1로 표시되는 16S rRNA 서열을 가지는, 아시네토박터 노소코미알리스 균주.

청구항 3

제1항의 균주를 이용한 플라스틱 분해방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 플라스틱 분해 활성을 갖는 신규한 미생물에 관한 것으로, 더 상세하게는 폐플라스틱 집적 토양에서 분리된 플라스틱 분해 활성을 갖는 아시네토박터 노소코미알리스 (*Acinetobacter nosocomialis*) (수탁번호: KCTC 18879P)에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 플라스틱 소재의 포장지 및 용기류는 우수한 기능과 저렴한 가격으로 생활의 편리성을 가져오고 산업 전반에 걸쳐 산업발달에 큰 공헌을 하지만, 플라스틱 폐기물은 현대 사회에서 가장 많이 배출되는 폐기물로 환경오염의 가장 큰 오염원 중 하나로 인식되고 있으나 이를 분해할 수 있는 기술은 현저히 부족한 실정이다.

[0004] 플라스틱 소재로 대표적인 폴리에틸렌은 일반적으로 식품 위생성이 우수하고, 신율이 우수하여 가공성이 우수하고, 가격이 저렴한 등의 이유에 의하여 다양한 식품 용기의 내부에 코팅되어 방수 등의 목적으로 사용되고 있으나 이를 사용한 코팅용기 포장재는 사용 및 폐기과정에서 플라스틱에 첨가된 가소제 등에 의한 환경 호르몬 배출 등의 사회적·환경적 문제를 야기한다 (Bryant et al. MSystems, 1.3 (2016), e00024-16). 또한, 폴리에틸렌 코팅 용기 포장재는 사용 후 재활용을 위해 해리하는 과정에서 물에 해리되지 않는 폴리에틸렌은 선별 과정을 거쳐야 하기 때문에 재활용 비용이 증가하는 단점이 있다.

[0005] 또한, 대량으로 발생하는 각종 페비닐, 스티로폼, 플라스틱 용기 등의 소각이나 매립에 따른 환경 호르몬 누출, 맹독성의 다이옥신 검출 폐기물의 불완전 연소에 의한 대기오염 발생 등과 같은 심각한 환경오염의 원인으로 대두하고 있으며, 이러한 난분해성 플라스틱으로 인하여 전 세계적으로 환경문제가 대두함에 따라 자연 부하를 최소화할 수 있는 소재의 개발이 중요시되고 있으며 자연 순환계로 돌아가 환경오염을 일으키지 않는 폴리에틸렌 등의 플라스틱 분해 방법에 대한 요구가 있다.

[0006] 본 발명자들은 플라스틱 분해를 위하여 미생물을 이용하는 경우, 복잡한 추가 전처리 과정 없이 플라스틱 분해가 가능하여 종래 플라스틱 분해 과정에서 방출되는 유독 물질 방출을 저감시킬 수 있어 자연친화적 방법으로 플라스틱 분해가 가능하다는 점에 착안하여, 플라스틱 분해능이 있는 미생물을 스크리닝 하였고, 그 결과 쓰레기 매립지에서 분리된 아시네토박터 노소코미알리스 (*Acinetobacter nosocomialis*)가 플라스틱 분해능이 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Bryant et al. MSystems, 1.3 (2016), e00024-16

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 플라스틱 분해 활성을 가지는 신규한 미생물 및 이를 이용한 플라스틱 분해방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 플라스틱 분해 활성을 가지는 아시네토박터 노소코미알리스 GNU 001 (*Acinetobacter nosocomialis* GNU 001, 수탁번호: KCTC 18879P) 균주를 제공한다.

[0011] 본 발명은 또한 상기 균주를 이용한 플라스틱 분해방법을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 종래 화학적 공정에 의한 플라스틱 분해방법은 복잡한 전처리 공정이 요구되어 경제성이 적고 전처리 공정을 비롯한 플라스틱 분해 공정에서 유발되는 유해물질을 생성하는데 반해 본 발명에 따른 미생물을 이용하는 경우 간단한 공정으로 유해물질을 생성시키지 않으며 효과적으로 플라스틱을 분해할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 폐플라스틱 집적 토양에서 분리된 미생물로부터 플라스틱 분해 미생물을 플레이트 선별하는 사진이다.

도 2는 선별된 플라스틱 분해 미생물을 이용하여 플라스틱 분해 효과를 적외선 분광기로 확인한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0017] 본 발명에서는 플라스틱 분해를 위하여 미생물을 이용하는 경우, 복잡한 추가 전처리 과정 없이 플라스틱 분해가 가능하여 종래 플라스틱 분해 과정에서 방출되는 유독 물질 방출을 저감시킬 수 있음에 착안하여 쓰레기 매립지 토양으로부터 플라스틱 분해능이 있는 미생물을 분리하고자 하였으며, 상기 분리된 미생물 중 탄소원 미함유 배지에서 특히 성장성이 우수한 미생물을 선별하고 16S rRNA를 분석한 결과, 상기 미생물은 아시네토박터 노소코미알리스 (*Acinetobacter nosocomialis*) 종의 신규균임을 확인하여 이를 아시네토박터 노소코미알리스 GNU 001 (*Acinetobacter nosocomialis* GNU 001)라 명명하고 한국생명공학연구원에 기탁하였다.

[0019] 따라서, 본 발명은 일 관점에서 플라스틱 분해 활성을 가지는 아시네토박터 노소코미알리스 GNU 001 (*Acinetobacter nosocomialis* GNU 001, 수탁번호: KCTC 18879P) 균주에 관한 것이다.

[0021] 본 발명에 있어서, 상기 균주는 서열번호 1로 표시되는 16S rRNA 서열을 가질 수 있으나, 본 발명의 권리범위가 이에 한정되는 것은 아니며, 서열번호 1로 표시되는 16S rRNA 서열에 95% 이상의 상동성을 가지는 균주, 바람직

하계는 서열번호 1로 표시되는 16S rRNA 서열에 97% 이상의 상동성을 가지는 균주 또한 플라스틱 분해능을 가질 수 있으며, 따라서 이들 균주도 본 발명에 따른 권리범위에 속할 수 있음을 본 기술분야에 대해 통상의 지식을 가지는 기술자는 이해할 것이다.

[0023] *Acinetobacter nosocomialis* GNU001 16s rRNA 서열 (서열번호 1)

[0024] CTCCTTGGCCGAACGCAGCTTACACATGCAAGTCGAGCGGGAAAGGTAGCTTGCTACTGATACCTAGCGGCGGACGGGTAGTAATGCTTAGGAATCTGCC
TATTAGTGGGGACAACATCTCGAAAGGATGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGATCTTCGGACCTTGCCTAATAGATGAGCCTAAG
TCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGCCCCAGACT
CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGAATATTGGACAATGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTATGGTTGTAAAGCACTTTAAG
CGAGGAGGAGGCTACTCTAGTTAATACCTAGGATAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGGTAATACAGAGGGT
GCAAGCGTTAATCGATTACTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGCTAATTAAGTCAAATGTGAAATCCCCGAGCTTAAGTTGGGAATTGCATTGATACTG
GTTAGCTAGAGTGTGGGAGAGGATGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCCTAA
CACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCATGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCT
TTAGTGGCGCAGTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATG
TGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATAGTAAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTTACATACAGGTGCTG
CATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTCTTATTTGCCAGCGAGTAATGTCGGGAACCTTAAGG
ATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAGGCGGGACGACGTCAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTTCGGTACAAAGGT
TGCTACACAGCGATGTGTGTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGAT
CAGATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGCCCTTGACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGTCACCAGAAGTAGCTAGCCTAACTGCAAGAGGGG
GTTTATCCACGGTGTCTGACCCCTCCAATCGAAAATTGCGGC

[0026] 한편, 상기 균주를 이용하여 플라스틱 분해활성을 확인하고자, 대조균으로 E.coli와 본 발명에서 동정한 상기 아시네토박터 노소코미알리스 GNU001 균주를 각각 플라스틱이 함유된 배양배지에서 배양하고 플라스틱의 구조 변화를 적외선 분광분석법으로 분석하였다. 그 결과, 약 1600 cm^{-1} 부근의 피크 변화가 관찰되어 본 발명에 따른 아시네토박터 노소코미알리스 균주의 플라스틱 분해활성이 있음을 확인할 수 있었다.

[0028] 따라서 또 다른 관점에서, 본 발명은 상기 균주를 이용한 플라스틱 분해방법에 관한 것이다.

[0030] 본 발명에 있어서, 상기 플라스틱은 폴리에틸렌, 폴리에틸렌테레프탈레이트, 폴리프로필렌, 폴리프탈아마이드, 폴리스티렌, 폴리테트라프루오로에틸렌, 폴리비닐아코올, 폴리염화비닐, 폴리비닐 아세테이트, 폴리우레탄, 스티렌 부다디엔 고무, 염화비닐, 폴리아마이드, 다환 방향족 탄화수소, 폴리카보네이트, 폴리아크릴로니트릴, 폴리부티레이트, 폴리숙시네이트, 폴리부틸렌 테레프탈레이트, 폴리염화비페닐, 폴리카프로락톤, 폴리에틸렌 퓨나노에이트, 폴리에틸렌글리콜, 폴리에틸렌 숙시네이트, 폴리글라이콜산, 폴리하이드록시알카노에이트, 폴리하이드록시부티레이트, 폴리락트산, 메타크릴수지로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 할 수 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

[0032] 이하 본 발명을 실시예 및 실험예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.

[0034] **실시예 1. 폐플라스틱 집적 토양에서의 플라스틱 분해 미생물 분리**

[0035] 30년 이상 폐플라스틱이 집적되어 있는 경상북도 진주시 소재의 쓰레기 매립지 토양으로부터 플라스틱 분해능이 있는 미생물을 분리하고자 하였다. 이를 위하여 상기 쓰레기 매립지로부터 토양 및 폐플라스틱을 수득하여 폐플라스틱은 1 내지 10 ml 크기가 되도록 자르고, 토양과 함께 10 ml의 멸균 증류수가 포함된 코니칼 튜브에 넣어 원심분리하였다 (7000 rpm, 5분). 상등액을 각각 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-6} 으로 희석하고, 약 1g의 PE 파우더 (MJ

POWDER, 한국)가 포함된 100 파이 최소 배지 플레이트 (0.2% ammonium sulfate에 1%의 trace elements(0.1% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.01% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.01% $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.01% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mM phosphate buffer (pH 7.0) 함유) 에 도말하고, 30℃에서 2일 동안 배양하여 멀티 콜로니가 형성된 플레이트를 확보하였다. 본 발명의 배양 공정에서 사용된 배지에는 탄소원이 존재하지 않기 때문에 상기 선별된 미생물은 플라스틱을 분해하여 성장할 것이라 예측하였다.

[0036] 이 중 37종의 콜로니를 수득하고, 이를 추가 선별 배양하여 22종의 콜로니를 수득하고, 이들 다시 추가 선별 배양하여 18종의 단일 콜로니를 수득하였다. 이는 대조군 (야생형 *E. coli* 균주 CGSC, Coli Genetic Stock Center (New Haven, CT, USA)에 비해 2개의 콜로니에서 특히 우수한 성장이 관찰되었다 (도 1, #13, #14 참조).

[0038] 실시예 2. 플라스틱 분해 효과를 지니는 미생물 동정

[0039] 상기 분리된 플라스틱 분해 효능을 지니는 2종의 균주 중에서 특히 우수한 성장을 보이는 #13번의 균주를 동정하고자 16S rRNA 서열 분석을 진행하였다. 각 균주 염색체 DNA는 AccuPrep 염색체 DNA 추출키트 (바이오니아, 한국)를 사용하여 분리하였으며, 분리된 DNA를 주형으로 하기 프라이머를 이용하여 PCR 증폭한 후, 이에 대한 서열 분석한 결과 서열번호 1의 16S rRNA를 확인할 수 있었고, 해당 서열을 기준으로 BLAST 검색을 통해 서열 동일성 균주를 확인해 본 결과, 상기 균주와 동일한 16S rRNA 서열을 갖는 균주는 발견되지 않았다. 다만, 서열 유사성을 통해 상기 균주가 아시네토박터 노소코미알리스 (*Acinetobacter nosocomialis*)임을 알 수 있었고, 해당 균주는 아시네토박터 노소코미알리스 GNU 001 (*Acinetobacter nosocomialis* GNU 001)로 명명하며, 한국생명공학연구원에 2020년 12월 14일자로 기탁 신청하고, 2020년 12월 18일자 수탁번호 KCTC18879P의 기탁번호를 부여받았다.

[0041] 서열번호 2: AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG (27F)

[0042] 서열번호 3: GGT TAC CTT GTT ACG ACT TC (1429R)

[0044] 실시예 3. 적외선 분광기를 이용한 플라스틱 분해 효과 확인

[0045] 상기와 같이 동정된 아시네토박터 노소코미알리스 GNU 001 균주와 *E. coli* 균주를 각각 PE powder 1 g 및 10 ml MB 액체 배지가 들어 있는 테스트 튜브에 넣고 30℃ 및 37℃에서 200 rpm으로 7일간 배양하였다. 이 후, 정적 배양을 통해 2일 ~ 180일간 배양 시켜주었다. 이후 해당 배양물에 포함된 플라스틱의 구조는 적외선 분광분석법으로 분석하여 플라스틱 변화를 확인하고자 하였다. 구체적으로, 배양물로부터 분리된 플라스틱의 표면을 2차례 증류수로 씻어준 후, 2% SDS 용액에 2시간 동안 shaking 해주었다. 그 다음 2% SDS 용액을 제거한 뒤, 새로운 2% SDS 용액을 넣고 overnight 해주었다. 상기 플라스틱을 다시 2 차례 증류수로 씻어준 후, 50% 에탄올, 75% 에탄올, 100% 에탄올로 플라스틱 표면을 씻은 후 이를 적외선분광기(Nicolet IS50, Thermo Fisher, USA)로 플라스틱 분해 효과를 확인하였다. 이는 동일한 배양 조건에서의 균주 무처리 플라스틱과 야생형 대장균을 처리한 플라스틱을 사용하여 적외선 분광분석기로 화학적 구조를 서로 비교하였다. 적외선 스펙트럼은 4,000 내지 400 cm^{-1} 의 파장 영역에서 측정되었다.

[0046] 상기 실험을 통해 확인해 본 결과, 도 2에서와 같이 야생형 *E. coli*에 반응시킨 플라스틱 시료의 적외선 분광 분석 결과와 비교할 때 본 발명에 따른 아시네토박터 노소코미알리스에 반응시킨 플라스틱 시료의 적외선 분광 분석 결과에서 약 1600 cm^{-1} 부근의 피크 변화가 관찰되어 본 발명에 따른 아시네토박터 노소코미알리스 균주의 플라스틱 분해 효능을 검증할 수 있었다.

[0048] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0051] 기탁기관명 : 한국생명공학연구원

[0052] 수탁번호 : KCTC18879P

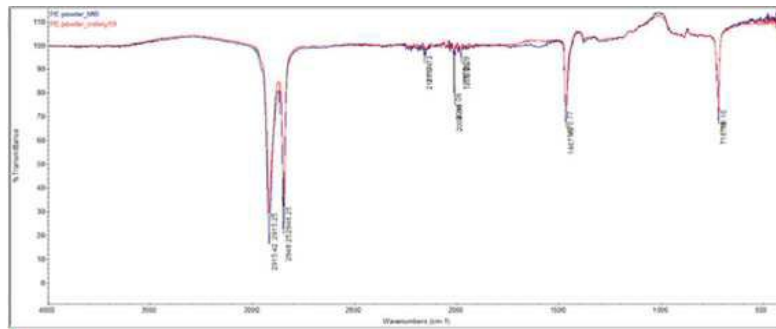
[0053] 수탁일자 : 20201214

도면

도면1



도면2



서열 목록

<110> INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION GYEONGSANG NATIONAL UNIVERSITY

<120> Novel microorganism having the ability to degrade plastic

<130> P20-B315

<160> 3

<170> KoPatent In 3.0

<210> 1

<211> 1470

<212> RNA

<213> Unknown

<220><223> Acinetobacter nosocomialis

<400> 1

ctccttggcc gaacgcagct tacacatgca agtcgagcgg ggaaaggtag cttgctactg	60
ataacctagcg gcggacgggt gagtaatgct taggaatctg cctatttagtg ggggacaaca	120
tctcgaaagg gatgctaata ccgcatacgt cctacgggag aaagcagggg atcttcggac	180
cttgcgctaa tagatgagcc taagtcggat tagctagtgt gtggggtaaa ggcctaccaa	240
ggcgacgatac tgtagcgggt ctgagaggat gatccgccac actgggactg agacacggcc	300
cagactccta cgggaggcag cagtggggaa tattggacaa tgggcgcaag cctgatccag	360
ccatgccgctg tgtgtgaaga aggccttatg gttgtaaagc actttaagcg agggaggaggc	420
tactctagtt aataacctagg gatagtggac gttactcgca gaataagcac cggctaactc	480
tgtgccagca gccgcggtaa tacagagggt gcaagcgta atcggattta ctgggcgtaa	540
agcgcgcgta ggcggttaat taagtcaaat gtgaaatccc cgagcttaac ttgggaattg	600
cattcgatac tggttagcta gagtgtggga gaggatggta gaattccagg ttagcgggtg	660
aaatgcgtag agatctggag gaataccgat ggcaaggca gccatctggc ctaaacactga	720
cgctgaggtg cgaagcatg gggagcaaac aggattagat accctggtag tccatgccgt	780
aaacgatgtc tactagccgt tggggccttt gaggccttag tggcgagct aacgcgataa	840
gtagaccgcc tggggagtac ggtcgcaaga ctaaaactca aatgaattga cgggggccccg	900
cacaacgggt ggagcatgtg gtttaattcg atgcaacgcg aagaacctta cctggccttg	960
acatagtaag aactttccag agatggattg gtgccttcgg gaacttacat acaggtgctg	1020
catggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgaac gagcgcaacc	1080
cttttcctta ttgcccagcg agtaatgtcg ggaactttaa ggatactgcc agtgacaaac	1140
tggaggaagg cggggacgac gtcaagtcac catggccctt acggccaggg ctacacacgt	1200
gctacaatgg tcggtacaaa gggttgctac acagcgatgt gatgctaata tcaaaaagcc	1260
gatcgtagtc cggattggag tctgcaactc gactccatga agtcggaatc gctagtaatc	1320
gcggatcaga atgcccggt gaatacgttc ccgggccttg tacacaccgc ccgtcacacc	1380
atgggagttt gttgcaccag aagtagctag cctaactgca aagagggcgt ttatccacgg	1440
tgctcgaccc ctccaatcga aaattgcggc	1470
<210> 2	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Primer	
<400> 2	

agagtttgat cmtggctcag	20
<210> 3	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Primer	
<400> 3	
ggttaccttg ttacgacttc	20