



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0046060
(43) 공개일자 2018년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/04 (2006.01) C12N 15/82 (2006.01)
C12N 9/10 (2006.01) C12N 9/96 (2006.01)
C12P 23/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C12N 9/0006 (2013.01)
C12N 15/8205 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-0140839

(22) 출원일자 2016년10월27일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

경희대학교 산학협력단

경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)

(72) 발명자

하선화

경기도 수원시 장안구 정자천로133번길 26, 554동 1402호 (정자동, 백설마을 동양고속아파트)

유민경

경기도 용인시 기흥구 고매로34번길 31, 205동 1003호 (고매동, 매화마을우림힐인원아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 테페노이드의 고효율 생산을 위한 폴리뉴클레오티드 및 이를 이용한 형질전환식물체

(57) 요약

본 발명은 테페노이드의 고효율 생산을 위한 폴리뉴클레오티드 및 이를 이용한 형질전환 식물체에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 MEP(methylerythritol 4-phosphate) 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터, 상기 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 형질전환 세포 및 상기 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 형질전환 식물체에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C12N 15/825 (2013.01)

C12N 9/1022 (2013.01)

C12N 9/96 (2013.01)

C12P 23/00 (2013.01)

C12Y 101/01267 (2013.01)

C12Y 202/01007 (2013.01)

(72) 발명자

이여진

경기도 성남시 수정구 희망로 472, 1동 1304호 (단
대동, 미도아파트)

정예솔

경기도 수원시 영통구 신원로 118, 702호 (신동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ0110942016

부처명 농촌진흥청

연구관리전문기관 농촌진흥청

연구사업명 (단위사업_세부사업_내역사업) 차세대바이오그린21_차세대바이오그린21(R&D)_시스템합성
농생명공학사업

연구과제명 식물 기능성 물질대사 생성기작의 모듈링 연구

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교

연구기간 2015.01.15 ~ 2017.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

MEP(methylerythritol 4-phosphate) 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 MEP 생산에 관여하는 효소는 DXS(1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase) 또는 DXR(DXP reductase)인 것을 특징으로 하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 테페노이드는 모노테펜(monoterpenes), 세스퀴테펜(sesquiterpenes), 디테펜(diterpenes), 트리테펜(triterperpene) 또는 카로티노이드(carotenoids)인 것을 특징으로 하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 4

프로모터, 및 이와 작동가능하게 연결된 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 5

제4항에 따른 재조합 벡터로 형질전환된 형질전환 세포.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 형질전환 세포는 아그로박테리움 투메파시엔스(Agrobacterium tumefaciens) 또는 아그로박테리움 라이조게네스(Agrobacterium rhizogene)인 것을 특징으로 하는 것인, 형질전환 세포.

청구항 7

제4항에 따른 재조합 벡터가 도입되어, 베타카로틴(β -carotene)을 합성하는 형질전환 식물 세포.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 형질전환 식물은 벼, 밀, 보리, 죽순, 옥수수, 토란, 아스파라거스, 양파, 마늘, 파, 부추, 달래, 마, 생강, 애기장대, 가지, 담배, 고추, 토마토, 우엉, 쑥갓, 상추, 도라지, 시금치, 근대, 고구마, 샐러리, 당근, 미나리, 파슬리, 배추, 양배추, 갯무, 수박, 참외, 오이 호박, 박, 딸기, 대두, 녹두, 강낭콩, 버즈풋 트레포일,

감자, 개구리밥, 들깨, 비둘기콩 및 완두로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 것인, 형질전환 식물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 테페노이드의 고효율 생산을 위한 폴리뉴클레오티드 및 이를 이용한 형질전환 식물체에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 MEP(methylerythritol 4-phosphate) 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터, 상기 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 형질전환 세포 및 상기 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 형질전환 식물체에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 자연계에 존재하는 다양한 생물종들은 특유의 기능을 가지는 유용 생리활성 물질을 생성하여 농업, 의학, 산업적으로 활용되고 있다. 특히 미생물식물의 주요 2차 대사산물로서 다양한 생리활성 작용을 가지고 있는 테페노이드는 다양한 구조와 물성을 가지고 있고 약 30만종 이상이 발견될 정도로 자연계에서 가장 방대한 신기능 유용 천연물의 보고이다. 이들 중 다양한 기능성(항암, 항염, 항산화 성분)을 지니는 수 만종의 파이토케미컬(phytochemical)에 대한 면역강화, 항암치료 등의 효과가 꾸준히 보도되고 있어 그 생합성 기작을 조절하여 고부가 기능성 물질을 생산하는 고부가 GMO 개발은 큰 잠재력을 가진 분야이다. 이소프레노이드(isoprenoids)라고도 불리는 테페노이드(terpenoids)는 IPP(isopentenyl pyrophosphate, C₅)의 중합체로 다양한 구조와 생리활성 기능을 갖고 있음에도 불구하고 IPP라는 building block으로만 구성되어 있다. IPP가 중합되면서 GPP(Geranyl pyrophosphate), FPP(Farnesyl pyrophosphate), GGPP(Geranylgeranyl pyrophosphate)가 생합성 되고, 이들로부터 수 십 만종 이상의 다양한 테페노이드(monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, triterpene, carotenoids 등)가 만들어진다. 이 들 대부분이 생리활성기능을 가지고 있어서 의약분야에서 항암, 소염, 진통, 항생제 등으로 이용되고, 농업분야에서는 친환경 살충제, 제초제 등으로 사용되고 있으며 이들 중 일부는 수요가 안정적이며 가격 경쟁력이 높은 의약품(항암제인 Taxol, \$10,000/g; 혈액순환개선제인 Ginkgolide, \$4,000/g)이나 기능성첨가물(carotenoid, coenzyme Q10 등)로 현재 사용되고 있으나 복잡한 구조로 화학합성이 힘들고 자연계에 미량 존재해서 극소량 추출되는 어려움이 있다. 특히, 식물에서의 테페노이드는 생합성 경로가 길고 복잡할 뿐만 아니라 엄격한 대사조절을 받고 있어서 생산성 향상을 위한 대사체 설계가 용이하지 않아 현재까진 관련 대사공학 기술 개발이 미흡한 편이다. 따라서 미생물에서 개발된 대사공학 기술을 식물에 접목해서 고부가 테페노이드 생산을 위한 식물 대사공학 플랫폼 기술을 개발하는 것이 필요한 실정이다.

[0005] 선행기술

[0006] 특허문헌 1: KR 10-1229887

발명의 내용

[0008] MEP(methylerythritol 4-phosphate) 경로는 이소프레노이드 대사산물의 building block(C₅)으로서 IPP(isopentenyl pyrophosphate)와 DMAPP(dimethylallyl pyrophosphate)를 생산한다. MEP 경로는 7단계로 구성되며, 1단계에서 DXS(1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase)는 파이루베이트와 글리세르알데하이드-3-포스페이트를 이용하여 DXP(1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate)를 생산하고, DXR(DXP reductase)는 MEP를 생합성한다. 그 다음, 4 종의 구조적 효소(IspD, IspE, IspF, 및 IspG)가 순차적으로 HMBPP((E)-4-Hydroxy-3-methylbut-2-enyl Diphosphate)의 생합성에 작용하여, 마지막 단계에서 IPP/DMAPP가 IspH(HMBPP reductase)에 의해 생합성되는 것이다.

[0010] 본 발명자들은 식물에서 테페노이드의 고효율 생산을 위하여 MEP 생산에 관여하는 효소를 평가한 결과, DXS(1-

Deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase) 및 DXR(DXP reductase)가 테페노이드를 과발현시킴을 확인하고 본 발명을 완성하였다. 보다 구체적으로, 본 발명자들은 MEP 생산에 관여하는 유전자 중, OsDXS 및 OsDXR를 선택하고, 전신발현 프로모터를 이용하여 PGD1-OsDXS 및 PGD1-OsDXR 형질전환체를 제조하였다. 또한, 종자 특이적으로 베타카로틴 생성 할 수 있는 유전자 카세트인 stPAC 및, OsDXS 또는 OsDXR 전신발현 유전자 카세트가 함께 발현 되도록 구축된 OsDXS-stPAC 및 OsDXR-stPAC 형질전환체를 제조하고, 상기 형질전환체들 각각에 대하여 카로테노이드 함량을 측정하였다. 그 결과, OsDXS 유전자가 과발현된 PGD1-OsDXS 및 OsDXS-stPAC의 종자에서의 카로테노이드 함량을 일반 재배벼와 비교해 보면, PGD1-OsDXS의 경우에는 약 1.5배, OsDXS-stPAC의 경우에는 약 100배정도 증진되었으며, stPAC 만 발현되는 베타카로틴 생성 벼 형질전환체에 비해서도 종자 카로테노이드 함량은 OsDXS-stPAC에서 약 2배에서 6배 정도 증진됨을 확인하였다. OsDXR의 경우에는 OsDXS에 비해 카로테노이드 함량을 크게 증진시키는 기능을 보이지는 않았지만 OsDXR의 과발현시 터펜물질에 주요 기질을 공급하는 MEP 기작 관련 주요 유전자들(OsDXS, OsIspH, OsPSYs)의 발현이 OsDXR-stPAC 형질전환체에서 증가되는 양상을 나타냈으며, 이러한 주요 유전자들의 발현이 증진되는 효과는 OsDXS-stPAC 형질전환에서도 확인되었다. 한편, 이러한 유전자들의 발현 증진 효과는 stPAC 만 발현되는 형질전환체 에서는 관찰되지 않았다. 하지만, 특정 터펜 물질인 베타카로틴 생성을 유도하는 stPAC 유전자 없이 OsDXS와 OsDXR 유전자만 과발현되는 형질전환체 PGD1-OsDXS 및 PGD1-OsDXR에서는 MEP 기작 관련 주요 유전자와 카로테노이드 관련 주요 유전자들의 발현 양상에 큰 변화가 없음이 확인되었다.

[0011] 따라서, MEP 기작의 주요 유전자인 OsDXS와 OsDXR 유전자의 과발현은 stPAC 처럼 특정 터펜 물질 생성 관련 유전자의 과발현시에 한하여 기질 공급을 증진시키는 기능을 하지만, OsDXS와 OsDXR 유전자의 과발현 만으로는 식물의 내제 터펜 물질 생성 관련 기작에는 큰 영향을 주지 않음이 확인되었다.

[0013] 본 발명은 MEP(methylerythritol 4-phosphate) 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터, 상기 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 형질전환 세포 및 상기 폴리뉴클레오티드로 형질전환된 형질전환 식물체를 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0014] 본 명세서에서 사용된 용어 “테페노이드(terpenoid)”, “테펜 화합물(terpene compound)”, “테페노이드 화합물(terpenoid compound)”, “이소프레노이드(isoprenoid)” 및 “이소프레노이드 화합물(isoprenoid compound)” 은 서로 교환가능하게 사용되며, IPP로부터 유래될 수 있는 임의의 화합물을 의미한다.

[0016] 제1구현예에 따르면,

[0017] 본 발명은 MEP(methylerythritol 4-phosphate) 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 개시한다.

[0018] 본 명세서에서 사용된 용어 “폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드”는 폴리펩티드를 암호화하는 폴리뉴클레오티드, 또는 부가적인 코딩 및/또는 비-코딩 서열을 더 포함하는 폴리뉴클레오티드를 말한다. 또한, 본 발명은 본원에 기재된 것과 동일한 아미노산 서열, 또는 이의 단편, 유사체 및 유도체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 상기 폴리뉴클레오티드의 변이체에 관한 것이다. 폴리뉴클레오티드 변이체는 자연적으로 발생하는 대립유전자 변이체 또는 비자연적으로 발생하는 변이체일 수 있다. 상기 뉴클레오티드 변이체는 치환 변이체, 결실 변이체, 및 삽입 변이체를 포함한다. 당업계에 공지된 바와 같이, 대립유전자 변이체는 폴리뉴클레오티드의 대안(alternative)이며, 이는 하나 이상의 치환, 결실 또는 삽입된 뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 변이체에 의해 암호화된 폴리펩티드에서 실질적인 기능 변화를 초래하지는 않는다.

[0019] 본 발명에 따른 폴리뉴클레오티드에 있어서, 상기 MEP 생산에 관여하는 효소는 DXS(1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase) 또는 DXR(DXP reductase)일 수 있다.

[0020] 본 발명에 따른 폴리뉴클레오티드에 있어서, 상기 테페노이드는 모노테펜(monoterpenes), 세스퀴테펜(sesquiterpenes), 디테펜(diterpenes), 트리테펜(triterpene) 또는 카로티노이드(carotenoids)를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0022] 제2구현예에 따르면,

- [0023] 본 발명은 프로모터, 및 이와 작동가능하게 연결된 상기 제1구현예에 따른 MEP 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터를 개시한다.
- [0024] 본 명세서에서 사용된 용어 "프로모터"는 특정한 숙주 세포에서 작동 가능하게 연결된 핵산 서열의 발현을 조절하는 DNA 서열을 의미하며, "작동 가능하게 연결된다(operably linked)"는 것은 하나의 핵산 단편이 다른 핵산 단편과 결합되어 그의 기능 또는 발현이 다른 핵산 단편에 의해 영향을 받는 것을 말한다. 아울러, 전사를 조절하기 위한 임의의 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보솜 결합 부위를 코딩하는 서열 및 전사 및 해독의 종결을 조절하는 서열을 추가로 포함할 수 있다.
- [0025] 본 명세서에서 사용된 용어 "재조합"은 세포가 이종의 핵산을 복제하거나, 상기 핵산을 발현하거나 또는 펩티드, 이종의 펩티드 또는 이종의 핵산에 의해 암호된 단백질을 발현하는 세포를 의미한다. 재조합 세포는 상기 세포의 천연 형태에서는 발견되지 않는 유전자 또는 유전자 절편을, 센스 또는 안티센스 형태 중 하나로 발현할 수 있다. 또한 재조합 세포는 천연 상태의 세포에서 발견되는 유전자를 발현할 수 있으며, 그러나 상기 유전자는 변형된 것으로서 인위적인 수단에 의해 세포 내 재도입된 것이다.
- [0026] 본 명세서에서 사용된 용어 "재조합 벡터"는 세균 플라스미드, 파아지, 효모 플라스미드, 식물 세포 바이러스, 포유동물 세포 바이러스, 또는 다른 벡터를 의미한다. 대체로, 임의의 플라스미드 및 벡터는 숙주 내에서 복제 및 안정화할 수 있다면 사용될 수 있다. 상기 발현 벡터의 중요한 특성은 복제 원점, 프로모터, 마커 유전자 및 번역 조절 요소(translation control element)를 가지는 것이다.
- [0027] 본 발명에 따른 재조합 벡터에 있어서, 상기 프로모터는 벼 배유특이발현 글로불린(globulin, G1b) 프로모터, 칼리플라워 모자이크 바이러스(CaMV) 35S 프로모터, 피그윌트 모자이크 바이러스 35S 프로모터, 슈가케인 바실리폼 바이러스 프로모터, 코메리나 옐로우 모틀 바이러스 프로모터, 리볼로스-1,5-비스-포스페이트 카르복실라아제의 소단위(ssRUBISCO)로부터의 빛-유도성 프로모터, 쌀 사이토졸릭 트리오포스페이트 이소머라아제(TPI) 프로모터, 아라비도시스(Arabidopsis)로부터의 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라아제(APRT) 프로모터, 쌀 액틴 1 유전자 프로모터 및 만노핀 신타아제 및 옥토판 신타아제 프로모터로부터 선택될 수 있다.
- [0028] 본 발명에 따른 재조합 벡터에 있어서, 상기 재조합 벡터는 마커 유전자를 추가로 포함할 수 있다. 상기 마커 유전자는 항생제 저항성 유전자, 제초제 저항성 유전자, 대사관련 유전자, 발광 유전자, GFP(green fluorescence protein) 유전자, GUS(β -glucuronidase) 유전자 및 GAL(β -galactosidase) 유전자로부터 선택될 수 있다. 예를 들면, 제초제 저항성 Bar 유전자, 네오마이신 포스포트랜스퍼라제 (NPT II) 유전자, 하이그로마이신 포스포트랜스퍼라제 유전자, 포스포노트리신 아세틸트랜스퍼라제 유전자 및 다이하이드로폴레이트 환원효소 유전자를 포함할 수 있다.
- [0030] 제3구현예에 따르면,
- [0031] 본 발명은 상기 제2구현예에 따른 프로모터, 및 이와 작동가능하게 연결된 MEP 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터로 형질전환된 형질전환 세포를 개시한다.
- [0032] 본 발명에 따른 형질전환 세포에 있어서, 상기 형질전환 세포는 아그로박테리움속 미생물(Agrobacterium spp.), 대장균(Escherichia coli), 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis), 스트렙토마이세스(Streptomyces), 슈도모나스(Pseudomonas), 프로테우스 미라빌리스(Proteus mirabilis), 아스퍼질러스(Aspergillus), 피키아 패스토리스(Pichia pastoris), 사카로마이세스 세르비시아(Saccharomyces cerevisiae), 쉬조사카로마세스(Schizosaccharomyces) 또는 뉴로스포라 크라사(Neurospora crassa)를 포함할 수 있다. 상기 아그로박테리움속 미생물은 아그로박테리움 투메파시엔스 (Agrobacterium tumefaciens) 또는 아그로박테리움 라이조게네스 (Agrobacterium rhizogenes) 일 수 있다.
- [0034] 제4구현예에 따르면,
- [0035] 본 발명은 상기 제2구현예에 따른 프로모터, 및 이와 작동가능하게 연결된 MEP 생산에 관여하는 효소 및 테페노이드를 암호화하는 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터가 도입되어 베타카로틴(β -carotene)을 합성하는 형질전환 식물 세포를 개시한다.

- [0036] 본 발명에 따른 형질전환 식물 세포에 있어서, 상기 식물은 단자엽 또는 쌍자엽 식물일 수 있다.
- [0037] 본 발명에 따른 형질전환 식물 세포에 있어서, 상기 식물은 벼, 밀, 보리, 죽순, 옥수수, 토란, 아스파라거스, 양파, 마늘, 파, 부추, 달래, 마, 생강, 애기장대, 가지, 담배, 고추, 토마토, 우엉, 쑥갓, 상추, 도라지, 시금치, 근대, 고구마, 샐러리, 당근, 미나리, 파슬리, 배추, 양배추, 갯무, 수박, 참외, 오이 호박, 박, 딸기, 대두, 녹두, 강낭콩, 버즈풋 트레포일, 감자, 개구리밥, 들깨, 비둘기콩 및 완두로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0038] 본 발명에 따른 형질전환 식물 세포의 제조는 벡터를 식물에 도입하는 당분야에 공지된 형질전환 방법을 사용할 수 있다. 예를 들면, 아그로박테리움 속(Agrobacterium spp.) 미생물을 이용한 형질전환, 입자 총 충격법 (particle gun bombardment), 실리콘 탄화물 위스커(Silicon carbide whiskers), 초음파 처리(sonication), 전기천공법(electroporation) 및 PEG(Polyethylenglycol)에 의한 침전법을 포함할 수 있다.
- [0039] 본 발명에 따른 상기 식물세포는 통상적인 방법에 따라 배양되어 액체 배양물, 캘러스, 원형질 배양물이 될 수 있으며, 분화되어 식물의 조직 또는 식물이 될 수 있다. 즉, 본 발명의 재조합 벡터가 도입된 형질전환 세포들은 당업계에 공지된 표준 기술을 사용하여 캘러스 유도, 발근 및 토양 순화와 같은 과정을 거쳐 식물체로 재분화시킬 수 있으며, 꺾꽂이, 접붙이기 등과 같은 무성번식방법 및 종자를 이용하여 유성번식방법에 의해 생산할 수 있다. 상기 식물세포의 배양은 식물의 일부를 모체로부터 분리하여 적당한 조건 아래에서 무균적으로 배양하여 생육시키는 것으로 조직 절편의 액체 배양, 조직 절편의 캘러스 배양, 원형질체 배양 등 당업자에게 공지된 어떠한 방식의 것에 의할 수 있으며, 그 배양 조건 및 방법은 당업자에게 공지된 조건 및 방법에 의해 수행될 수 있다. 상기 배양된 식물세포를 식물로 분화시키는 것은 캘러스, 원형질체 형태의 배양된 식물세포를 적당한 조건아래에서 분화를 유도하여 식물의 조직 또는 식물로 분화시키는 것으로 그 분화 조건 및 방법은 당업자에게 공지된 조건 및 방법에 의해 수행될 수 있다.
- [0041] 본 발명에 따른 MEP 생산에 관여하는 효소 중, OsDXS 및 OsDXR 유전자의 과발현은 식물 생장에 크게 영향을 주지 않으면서 목적 물질 생성에 관한 조건이 주어 졌을 때에만 기질 증진의 효과를 주기 때문에 벼 테페노이드 대사공학을 위한 기질 증진용 플랫폼 식물체 구축시에 활용도다 높을 것으로 예상된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0043] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.