

극지 미생물로부터 생리활성 물질 확보 및 탐색

Collection and screening of bioactive compounds from the microbial diversity of polar environments

극지 미생물로부터 생리활성 물질 확보 및 탐색

Collection and screening of bioactive compounds from the microbial diversity of polar environments



신라대학교 산학협력단

신라대학교 산학협력단

제 출 문

보고서 초록

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “ 극지적응 고유생물유래 대사체의 상용화 구축사업 ” 과제의 위탁연구 “ 극지 미생물로부터 생리활성 물질 확보 및 탐색 ” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 01. 31

총괄연구책임자 : 임 정 한

위탁연구기관명 : 신라대학교 산학협력단

위탁연구책임자 : 손 재 학

위탁참여연구원 : 이 상 재

“ : 최 유 리

“ : 박 여 정

“ : 정 가 을

“ : 홍 기 섭

위탁연구과제명	극지 미생물로부터 생리활성물질 확보 및 탐색				
위탁연구책임자	손 재 학	해당단계 참여연구원수	7	해당단계 연구비	25,000,000
연구기관명 및 소속부서명	신라대학교 산학협력단 바이오산업학부 식품공학전공		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 : 상대국연구기관명 :				
요 약				보고서 면수	57
<ul style="list-style-type: none"> ○ 극지의 생물자원으로 미생물의 다양성을 확보하고 이를 통하여 생리활성물질의 확보를 위한 검색을 통하여 자원활용성을 높이기 위한 DB를 구축하는 것을 목적으로 수행 ○ 극한 해양미생물의 확보 <ul style="list-style-type: none"> - 극지 생물시료로부터 미생물인 세균(150), 진균(132)로 총 282점을 분리·확보하였다. ○ 극지 미생물로부터 추출물 구축 <ul style="list-style-type: none"> - 132점의 진균은 PDA배지에서 배양하였으며 이후 ethyl acetate를 이용하여 추출물을 확보하였으며(27점 추가 진행중), 확보된 추출물은 신규천연물 및 대사체연구를 위한 공동연구팀에게 제공하였다. ○ 극지 미생물유래 추출물의 생리활성 검색 <ul style="list-style-type: none"> - 항당뇨 및 비만 등을 위한 검색법인 PTP1B 저해활성을 검색한 결과 총 132점의 추출물 시료중 3점의 시료에서 농도 의존적으로 강력한 PTP1B 억제효과를 보였다. ○ 극지 미생물의 특성 및 분류 <ul style="list-style-type: none"> - 세균과 진균의 온도별 성장특성을 조사한 결과, 세균은 132점 중 89점에서 내냉성을 그리고 33점은 저온성 특징을 보였다. 또한 진균은 109점 중 26점에서 내냉성을 그리고 41점은 저온성 특징을 보였다. - 분리된 세균(6점)과 진균(35점)균주는 16S rRNA 및 ITS 영역의 염기서열분석을 통하여 동정하였다. ○ 결과적으로 남극의 시료로부터 확보된 극한 미생물 및 추출물을 DB화하였으며 향후 공동연구 추진을 통하여 자원활용을 극대화하고자 함. 					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	극한 환경, 생물다양성, 극한미생물, PTP1B 저해활성, 곰팡이추출물, 생리활성			
	영 어	Polar environment, Bio-diversity, Polar microorganism, PTP1B inhibitory activity, Fungal extracts, Bio-active compound			

요 약 문

I. 제 목

극지 미생물로부터 생리활성물질 분리 및 탐색

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구의 목적

생리활성물질 탐색의 미개척 자원인 극지생물자원으로부터 극지 미생물의 확보 및 생리활성물질을 발굴을 통한 신규바이오소재개발을 위한 기초자료 제공

2. 필요성

- 신약개발에서 screening을 위한 library 구축에 있어서 보유하고 있는 화합물의 수가 중요한 것이 아니고, 보유하고 있는 화합물의 구조적 특징 및 화학구조를 형성하는 골격의 다양성이 중요하다는 사실을 시사하고 있음.
- 다양한 골격의 화학적 다양성을 천연자원유래 이차대사물질로부터 제공받기 위해서는 이미 상대적으로 활발하게 생리활성물질 탐색연구가 진행된 육상생물에 대한 연구보다는 아직까지 많은 연구가 진행되지 않은 자원에 대한 연구가 최근 관심의 대상이 되고 있다.
- 극지 미생물유래의 천연물은 그 구조가 육상에서 분리되는 물질과 상이한 경우가 많음으로 신약 스크리닝시 중요한 요소로 인식되는 분자구조의 다양성구축면에서 장점을 지니고 있다고 판단된다.
- 극한 지역에 서식하는 육상 및 해양생물은 위에서 언급한 생물자원으로서 가지는 고유의 특징에 추가하여 양극 지역의 독특한 극한환경 및 생태환경

이 이 지역에 서식하는 극한생물의 이차대사물질 생합성 과정에 영향을 유발했을 것으로 예상되므로 매우 독특한 생물자원으로 인식될 수 있다.

- 최근 극지생물로부터 얻어진 활성물질을 극지 미생물에 의해 생산되는 경우가 많고 숙주생물과 공생을 하는 미생물로부터 생리활성물질이 발견되는 기체가 많으며 이는 산업화를 위한 대량생산에 이점을 가지고 있음
- 따라서 본 과제에서는 극지생물자원으로부터 미생물을 분리·보존하고, 미생물배양체로부터 제작된 추출물로부터 질병치료 및 기능성 소재의 유효한 타겟으로 인식되고 있는 효소 등을 이용하여 생리활성 탐색하여 DB하는 데 목적을 두고 있다.

III. 연구개발결과

1. 극한 미생물의 확보

- 남극세종과학기지 및 칠레남부로부터 채취된 33종의 시료로부터 세균(150 균주), 진균(132 균주)을 분리·보존하였다.

2. 극지 해양미생물로부터 추출물 구축

- 132점의 진균은 PDA배지에서 배양하였으며 이후 ethyl acetate를 이용하여 추출물을 확보하였다.
- 확보된 추출물은 신규천연물 및 대사체연구를 위한 공동연구팀에게 제공하였다.

3. 극지 해양미생물유래 추출물의 생리활성 검색

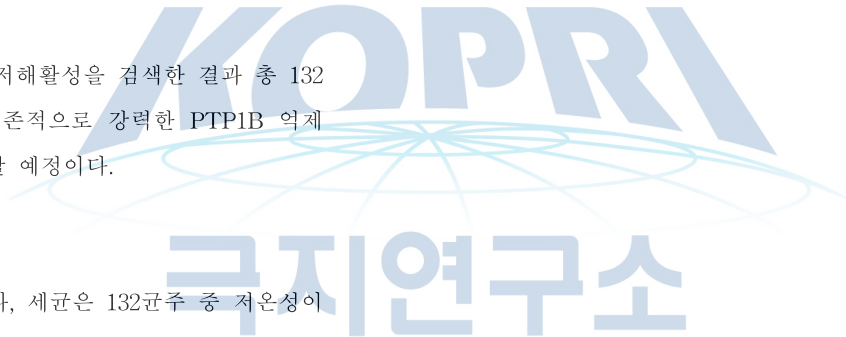
- 항당뇨 및 비만 등을 위한 검색범인 PTP1B 저해활성을 검색한 결과 총 132점의 추출물 시료중 3점의 시료에서 농도 의존적으로 강력한 PTP1B 억제 효과를 보였으며 향후 추가적인 연구를 진행할 예정이다.

4. 극지 해양미생물의 특성 및 분류

- 세균과 진균의 온도별 성장특성을 조사한 결과, 세균은 132균주 중 저온성이 33균주 그리고 내냉성이 89균주로 나타났으며 진균은 109균주 중 저온성이 41균주 그리고 내냉성이 26균주로 나타났다.
- 분리된 미생물의 16S rRNA 및 ITS 영역의 염기서열분석을 통하여 진균 35 균주와 세균 18균주를 동정하였다.

IV. 연구개발결과의 활용계획

- 극지 생물로부터 분리된 극지 미생물, 추출물 및 생리활성검색자료를 바탕으로 신규소재발굴을 위한 원천생명자원으로 활용
- 확보된 극지 미생물 자원으로부터 생리활성소재의 발굴을 통한 논문투고 및 특허를 확보함으로써 신규자원의 우선권확보
- 극지 미생물로부터 얻어진 자료의 DB를 구축하여 국내연구진과 공동연구를 통한 원천기술 및 응용을 통한 산업화 촉진



SUMMARY

Title of project

Study for the establishment of marine microbial diversity and extracts from the polar environments

Goal and necessity of research

1. Goal

To provide new materials for the development bio-functional products through the investigation of new bioactive compounds from unexplored marine and symbiotic microorganisms isolated from polar organisms.

2. Necessity

- It has been recognized that the construction of compounds library with a wide variety of compounds with unique skeletons are for more important than a number of compound in drug discovery program.
- To access a diverse metabolites for druge discovery program, it is necessary to investigated new or rarely studied natural resources rather than reinvestigating traditional bioresources such as plants and soil microbes.
- In a line with the above concept, it could be suggested that marine and symbiotic microorganism from polar environments are potential resources for novel secondary metabolites because of their little expose to this field.
- In addition, it has been suggested that organisms in polar oceans might develop unique biosynthetic pathways to adapt their extreme environments.

- Moreover, the origin of many secondary metabolitrs from marine and symbiotic organisms are now being suggested to be microorganisms, suggesting their potential as new sources of biofunctional materials with easy large production.
- Therefore, this project is aiming to
 - isolate and identify microorganisms from marine and symbiotic organisms of polar environments.
 - prepare solvent extracts from the cultures of microorganisms.
 - carry out the screening of solvent extracts using druggable bioassay system

Results of the project

1. Microorganisms such as bacteria (150 strain) and fungi (132 strain) were isolated from the organisms of Antarctic environments.
2. The ethyl acetate extracts of 132 fungal strain were prepared from the cultures, incubated on potato-dextrose agar plate at 10~15°C.
3. In the screening of the 132 extracts for their inhibitory effects against PTP1B activity, 3 extracts displayed strong inhibitory activity, and these extracts will be subjects of further investigation.
4. From the phylogentic analysis based on 16S rRNA and ITS region gene sequence, 18 bacterial and 35 fungal strain were tentatively identified.

CONTENTS

Chapter 1. Introduction ----- 11

Chapter 2. Technical status of domestic and foreign states ----- 14

Chapter 3. Contents and results of the project ----- 19

Chapter 4. Achievement and contribution of the project ----- 46

Chapter 5. Application plans of the results ----- 49

목 차

제 1 장 서론 ----- 11

제 2 장 국내외 기술개발 현황 ----- 14

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 ----- 19

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도 ----- 46

제 5 장 연구개발결과의 활용계획 ----- 49

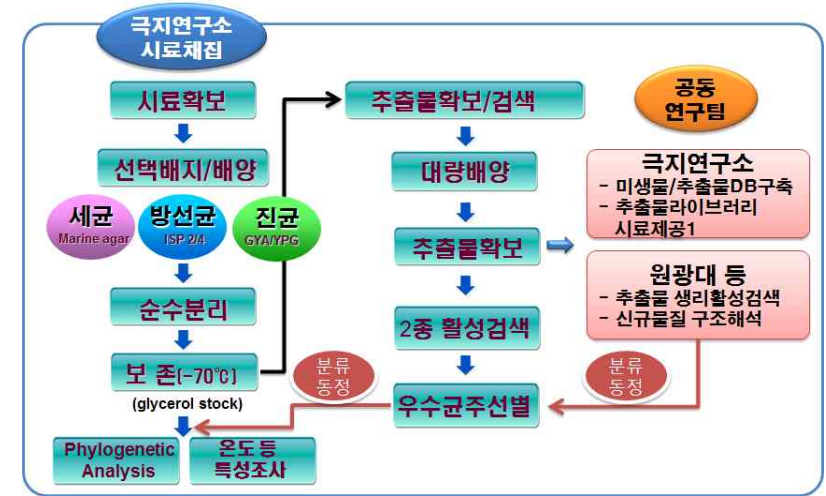
부록 ----- 50



제 1 장 서론

제 1 절 연구개발의 목적

- 극지 미생물의 다양성 확보 및 추출물을 구축하고 대사성 질환을 타겟으로 생리활성을 검증하여 해양자원활용을 위한 DB를 구축하는 것을 목적으로 하고 있음
- 구축된 DB는 본사업의 공동연구기관들에게 추출물 및 생물자원을 제공함으로써 사업의 성과를 확산하도록 지원



제 2 절 연구개발의 필요성 및 범위

- 해양유래의 천연물은 그 구조가 육상에서 분리되는 물질과 상이한 경우가 많으므로 신약 스크리닝시 중요한 요소로 인식되는 분자구조의 다양성 측면에서 장점을 지니고 있음.
- 극지의 독특한 극한환경 및 생태환경이 이 지역에 서식하는 공생 및 해양생물의 이차대사물질 생합성 과정에 영향을 미치고 있으며 특히, 이러한 대사산물은 공생미생물과 밀접한 상관관계가 밝혀짐으로서 공생미생물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 극한미생물은 고등생물보다 생산성 측면에서 높은 산업적인 활용성을 가지고 있음
- 따라서 본 연구에서는 극지의 생물자원로부터 극한 미생물자원의 다양성을 확보하고 배양체로부터 얻어진 추출물을 구축하고 그 활용성을 높이기 위한 생리활성검색을 통한 DB를 구축하는데 그 목적이 있다.

연구개발목표	연구개발내용	연구범위
○ 극지미생물(세균, 방선균, 진균)자원의 분리 및 확보	<ul style="list-style-type: none"> 극지시료로부터 미생물(세균, 방선균, 진균)의 분리 및 확보 -극지시료로부터 5종의 배지를 이용한 극지미생물 분리 및 순수배양체 확보 -미생물 확보목록 (세균, 방선균, 진균) 제시/기탁 	- 200점 이상의 분리/보존균주 확보여부
○ 극지 미생물 유래 추출물 확보	<ul style="list-style-type: none"> 극지미생물유래 생리활성물질탐색을 위한 대량배양 및 추출물확보 -고체배지를 통한 대량배양체 확보 및 ethyl acetate를 이용한 추출 및 농축 -추출물 확보목록(질량등)제시/DB구축 극지미생물유래추출물을 대상으로 생리활성물질탐색(항당뇨)을 통한 DB구축 -추출물을 대상으로 항당뇨(PTP1B) 저해활성탐색 -극지연구소 대사체연구를 위한 시료제공 -원광대 등 천연물연구를 위한 시료제공 	- 120건 이상의 추출물 DB 구축여부
○ 우수균주의 분류 동정	<ul style="list-style-type: none"> 온도에 따른 성장특성 -저온미생물선별(세균/진균) -형태/분자생물학적 방법에 의한 우수균주의 분류동정 	- 10건이상 우수균주의 분류동정여부

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 개요

- 바이오 신의약 산업은 차세대 우리나라의 성장 동력산업이며, 특히 해양생물 산업은 국가 경제의 중추적 역할을 할 미래의 성장산업임.
- 천연자원으로부터 분리된 순수 화합물이나 추출물 혹은 부분 정제된 생리활성 분획물을 이용한 기능성 식품 또는 신약개발은 높은 투자 효율성 및 고부가가치 산업으로 평가되고 있음.
- 육상생물로부터의 생리활성물질 탐색은 활발히 이루어져 많은 부분이 제품화되어 있으나, 극지 미생물자원에 대해서는 깊은 연구가 이루어지지 않아 미지의 개발요소가 많음.
- 기능성 소재나 신약 개발에 있어서 성패는 질적, 양적으로 우수한 화합물 또는 추출물 라이브러리를 확보했는지의 여부에 달려 있으며, 극지 미생물 유래의 추출물이나 화합물구축은 미래 핵심 산업인 신약후보 물질을 제공 할 수 있는 매우 중요한 자원으로 인식되고 있음.
- 극지 미생물 및 그 추출물 그리고 기타 연구정보에 대한 국내 연구자들의 체계적인 접근은 전무한 실정이며 공동 연구자들이 근접할 수 있는 미생물 및 추출물을 구축하고 그 활용성을 극대화하기 위한 system을 구축 할 필요가 있음
- 신약개발의 여러 단계 중 특정 질병에 대한 치료를 위한 분자표적이 정해진 후 분자표적에 작용하는 선도 화합물을 도출하기 위하여 다양한 종류의 화합물 library를 검색 하게 되는 단계 (target selection 및 screening 단계)는 전체적인 신약개발 과정에서 매우 중요한 출발점이라 할 수 있음
- 특히 인간 유전체 연구와 더불어 현대 과학에서는 인간의 질병, 예방 및 진단과 관련된 천~만개 정도의 새로운 표적 단백질이 새로이 규명된 것으로 평가되고 있으며, 고속 혹은 초고속 스크리닝 방법의 발전에 의하여 일회용 수천종의 화합물에 대한 분자표적을 대상으로 한 활성 탐색이 가능 하므로 더 이상 분자 표적을 대상으로 한 탐색 단계 자체는 신약 개발과정에 있어서 많은 시간과 노력이 필요한 속도결정 단계가 아니며 오히려 이러한 스크리닝 시스템에 적용할 화합물 라이브러리의 질 및 양이 신약 개발의 성공에 있어서 중요한 요소로 간주됨
- 다양한 분자표적에 작용하는 생리활성 물질의 창출을 위한 스크리닝 단계에서 필요한

다양한 분자의 확보는 전 세계적으로 관심을 가지고 추구할 분야가 될 것임

- 최근 생명공학기술이 급진적으로 발전하고 생물자원의 활용 방안이 광범위하게 가속화 되면서, 세계 각국은 자국의 생물자원에 대한 network체제 구축을 중요시하고 있음
- 세계 인구의 지속적 증가와 경제수준의 향상으로 건강에 대한 관심이 고조하여 난치병에 대한 치료제 개발 등 의약산업과 건강식품, 기능성 식품산업은 지속적으로 성장할 것으로 예상되며 따라서 극지 해양자원의 활용도 극대화 및 재산권 확보의 측면에서 우리나라도 시급히 구축해야 할 필요가 있다고 판단됨

2. 기술동향

□ 국외기술동향

- 체계적인 해양생물을 대상으로 한 연구는 식물 등 육상 생물계에 대한 연구에 비해 상대적으로 늦은 1970년대 중반에 시작 되었으며 약 2500여종의 새로운 물질 1977-1987년 사이에 이 해양생물로부터 분리된바 있으며 이는 해양생물체가 주요한 신물질의 보고로서 가치고 가지고 있음을 보여주는 증거라 볼 수 있다.
- 해양유래의 천연물은 그 구조가 육상에서 분리되는 물질과 상이한 경우가 많음으로 신약 스크리닝시 중요한 요소로 인식되는 분자구조의 다양성 측면에서 장점을 지니고 있다고 판단된다.
- 특히 극지에 서식하는 해양생물은 위에서 언급한 해양생물자원으로서 가지는 고유의 특징에 추가하여 양극해 지역의 독특한 극한환경 및 생태환경이 이 지역에 서식하는 해양생물의 이차대사물질 생합성 과정에 영향을 유발했을 것으로 예상되므로 매우 독특한 생물자원으로 인식될 수 있다.
- 뉴질랜드의 캔터베리 대학의 연구진은 지난 수년간 남극해양 유래의 해양생물을 대상으로 한 이차대사물질을 지속적으로 수행하고 있으며 대표적으로 강력한 CDK 저해제인 variolins를 발굴한 바 있다.
- 미국 Univ. of South Florida의 연구진은 남극유래의 Tunicate로부터 항암세포 사멸효과를 가지는 palmerolide A라는 신규 macarolide형 대사체를 분리하였다.
- 기타 국가별 극한해양자원/추출물구축 현황

● 미국

- 1958년부터 NCI (국립암연구소, www.nci.nih.gov)를 주축으로 천연물 유래 항암제 개발을 위한 연구 사업을 본격적으로 추진하여 1986년부터 약 5만 여종의 식물 추출물과 만 여종의 해양생물 유래 추출물 은행을 구축하고 분양사업을 실시하고 있음
- 주목으로부터 개발한 "Taxol"은 연간 12억 달러 이상의 매출을 기록하고 있으며 최근에도 AIDS 바이러스에 대한 치료가능성이 있는 화합물을 발굴
- 미국의 국립암연구소(NCI)에서는 항암제를 생산하는 해면과 이끼벌레를 해저에서 대규모로 양식하여 해당물질을 대량으로 확보하는 단계에 돌입
- 미국의 제약회사인 Lilly group, Corey group, Merck사 등에서도 천연물을 이용한 신약개발 프로젝트를 진행하고 있음

● 독일

- 독일은 천연물 분야에 집중적인 투자와 연구를 시작하여 버드나무로부터 아스피린을 개발한바 있으며 은행잎으로부터 ginkoflavone glycoside를 분리 개발한 혈액순환 개선제는 연간 약 20억 달러이상의 매출을 기록하고 있으며 최근 정부주도하에 "Natural Product Pool"을 시작하여 천연물 성분물질과 유도체를 수집하여 대단위생리활성 검색을 통하여 신의약품, 신농약 등의 개발 사업을 시작

● 일본

- 1990년 의약품진흥기금설치, 1991년 Human Science 진흥재단 발족, 1992년 Pharma Dream 계획 개시 등 천연물 분야에 적극적인 연구개발 투자 중임
- 현재는 미생물, 해양생물 등의 천연자원으로부터 활성물질분리, 열대식물로부터 활성물질 분리 등에 적극적인 투자 중임

● 호주

- CSIRO, AIMS, New South Wales Univ. 등 연구기관: 자국 및 아세안 국가 연안의 해양생물로부터 항암제 등 신의약품과 신기능성 유용소재 생산연구를 진행 중임
- 특히 AIMS에서는 세계에서 가장 규모가 큰 해양추출물 library를 보유하고 있음

● 싱가포르

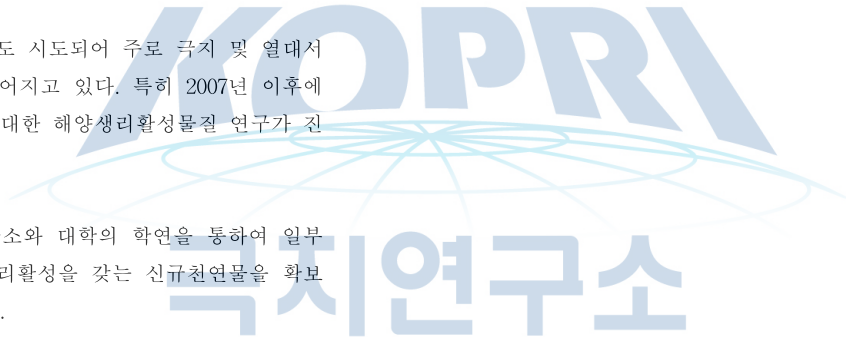
- 싱가포르의 경제개발청 등이 주관(1993년 발족)하여 Centre for Natural Products Resrarch (CNPR)을 설립 84,000점의 추출물 확보하였으며 2002년 영국의 제약회사 등이 투자한 MerLion Pharmaceuticals로 사명 화하여 운영하고 있으며 현재 세계에서 가장 다양한 추출물 Library를 보유한 것으로 평가되고 있음

□ 국내기술동향

- 국내자원을 대상으로 한 신약개발의 소재로서 생리활성 해양천연물에 대한 국내의 연구는 1990년대에 비로소 시작되었다. 출연연구기관인 한국해양연구원을 비롯하여 일부의 대학연구진을 중심으로 이루어진 연구는 우리나라 주변해역의 저서동물과 대형해조류를 주된 연구대상으로 하였으며 1990년대 말부터는 방선균, 진균 등 미생물과 단세포조류도 포함되게 되었다.
- 2004년에 시작된 정부 주도의 장기연구사업인 마린바이오 21사업에서는 국내연안 및 해양을 중심으로 해양생물과 미생물로부터 비만, 당뇨, 골다공증 등 대사성 질환을 주요 대상으로 하여 천연물탐색, 유도체 합성 및 전합성, 동물실험이 망라된 종합적인 천연물신약연구가 진행 중이며 in vivo 수준에서의 우수한 활성물질도 보고되고 있다. 그러나 국내 해양천연물 연구의 대체적인 수준은 신물질의 규명과 생리활성의 일차적인 탐색에 머물러있다.
- 1990년대 말부터는 외국의 해양생물자원에 대한 접근도 시도되어 주로 극지 및 열대서부태평양의 생리활성 천연물 탐색이 제한적으로 이루어지고 있다. 특히 2007년 이후에는 정부 주도로 마이크로네시아 Chuk 섬 인근해역에 대한 해양생리활성물질 연구가 진행 중이다.
- 극지 생물자원을 이용한 천연물기반 연구는 극지연구소와 대학의 학연을 통하여 일부 진행되어 왔으며 특히, 남극의 지의류 등으로부터 생리활성을 갖는 신규천연물을 확보하였으며 일부는 산업화를 위한 연구가 진행되고 있다.

기 위한 추출물의 구축과 다양한 생리활성의 검색을 통하여 DB를 구축할 경우 기초연구를 위한 시간과 경비를 줄이고 자원의 활용 극대화를 꾀할 수 있음

- 특히, 대사체 및 신규천연물연구를 위한 공동연구팀간의 자원연계는 활용성 및 산업화 시기뿐만 아니라 자원/특히 주권확보의 시기를 줄일 수 있음



3. 시사점 및 종합결론

- 극지 생물자원은 극한환경과 생태적 특성으로 인하여 공생미생물 및 2차대사산물에 대한 연구가 아직은 기초단계에 머무르고 있어 집중적인 투자를 경주할 경우 선진국과 대등한 지위를 차지할 수 있음
- 극지생물자원으로부터 신규천연물의 확보는 생물다양성과 성장속도가 낮아 양극해자원의 활용에 있어 산업화측면에서 극히 제한적이며 이에 따라 미생물자원의 확보가 무엇보다 중요함
- 신약, 화장품, 식품 등 산업화 촉진을 위해서는 미생물의 DB구축과 함께 활용성을 높이

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 연구개발수행 내용

1. 시료 확보

- 2017년 1월 세종과학기지 및 칠레남부로부터 채취된 moss, palnt, lichen 등 시료 총 56 점은 냉동상태로 보존된 시료를 확보하였다(표 1).

2. 미생물의 분리

- 당초 시료는 해양시료를 제공받을 것으로 예상하였으나 육상시료를 제공받아 당초계획되었던 해양미생물 분리를 위한 5종의 배지에서 육상유래 미생물의 분리를 위한 배지를 변경하여 수행하였다.
- 사용된 배지는 세균분리를 위해서는 고영양배지인 NA와 빈영양배지인 0.1% NA 그리고 세균과 진균에 효과적인 R2A배지를 이용하였으며 진균분리를 위해 PDA와 YMA배지를 선정하였다.

< 세균분리를 위한 배지 >

NA(Nutrient agar)		0.1% NA		R2A	
Beef extract	3 g	Beef extract	0.3 g	Yeast extract	0.5 g
Peptone	5 g	Peptone	0.5 g	Proteose peptone	0.5 g
agar	2%	agar	2%	casamino acids	0.5 g
DW 또는 Seawater	1 L	DW 또는 Seawater	1 L	Dextrose	0.5 g
				Soluble starch	0.5 g
				Sodium pyruvate	0.3 g
				Dipotassium phosphate	0.3 g
				Magnesium sulfate	0.05 g
				Agar	15 g
				DW	1 L

< 진균분리를 위한 배지 >

PDA(potato dextrose agar)		YMA	
Potato infusion	4 g	Yeast extract	3 g
Dextrose	20 g	Malt extract	3 g
Agar	2%	Peptone A	5 g
DW 또는 Seawater	1 L	Glucose	10 g
		Agar	2%
		DW 또는 Seawater	1 L

- 채취된 시료는 일정량을 무균적으로 채취하여 멸균된 막자사발을 이용하여 균질화하였으며 멸균된 증류수와 해수를 이용하여 연속희석(10 fold dilution method)하여 5종의 고형 배지에 도달하여 10℃에서 10~30일간 배양한다. 배양된 plate는 colony의 형태, 색을 기준으로 순수분리하였으며 이 과정에서 세균 및 진균의 형태별 특성을 구분하기 위하여 세균은 NA배지에 그리고 진균은 PDA배지에 순수분리하여 형태적 중복을 최소화하였다. 이후 순수배양체는 10% glycerol 용액에 부유하여 -80℃ 초저온냉동고에 보존하였다.

3. 해양생물유래 공생미생물의 추출물 제조

- 분리된 미생물중 이차대사산물의 빈도가 높은 진균을 대상으로 대량배양을 진행하였다. 배지는 해수가 첨가된 PDA배지를 이용하여 plate (90mmx15mm) 및 편박플라스크를 이용하여 10℃에서 7~30일 배양하였다(균의 종에 따라 차이가 있음).
- 배양후 ethyl acetate를 이용하여 추출하였으며 이후 여과한 후 진공농축기를 이용하여 용매를 제거하여 조추출물을 확보하였다. 추출과정의 대략적인 흐름은 아래의 그림과 같다.
- 농축된 시료는 계량하여 무게를 기록하였으며 이후 실험에 이용되기 까지 냉장보관하였다.
- 대사체/신규물질연구를 위해 공동연구팀에게 시료를 제공하였으며 대사체 및 신규물질의 가능성이 높은 시료는 대량배양을 통하여 추가적인 추출물을 제작하여 제공하였다.



<추출물제작을 위한 흐름도>

1. PDA배지 제작	- 1L 삼각플라스크에 50ml의 PDA배지를 멸균하여 준비
2. 미생물 접종/배양 (10~15°C, 7~30일 배양)	- 멸균배지 3ml에 stock 균주 150~200ml를 첨가하고 Vortex 후 배지에 첨가, 배양
3. 추출용매인 Ethylacetate 첨가 (배지용량대비 6~7배)	- 포자가 형성된 정치기, Ethylacetate 300ml 을 첨가
4. Sonication(30분, 2회 반복)	- 30분간 sonication 2회 반복한 후 냉장상태에서 overnight한다.
5. 상등액 회수	- Beaker에 상등액을 회수한다. 이후 100ml의 동일용매로 세척하고 Beaker에 모은다(총 500ml)
6. Magnesium Sulfate 첨가 (수분제거)	- Beaker에 Magnesium sulfate(MS) 2스푼 (1g)을 첨가한 후 혼합한다(수분이 MS에 흡착)
7. 여과	- 여과장치에 wattman 여과지를 놓고 상기 용액 일부를 첨가하고 진공펌프를 작동(여과지가 밀착)한다. 이후 나머지 용액을 첨가하여 회수한다(단 MS가 여과되어선 안됨).
8. 농축	- Evaporator 를 이용하여 여과액을 제거하여 추출물을 농축한다(Evaporator 작동방법 숙지)
9. Methanol 첨가/재용해	- 용매를 제거한 후 5~10ml의 Methanol을 이용하여 추출물을 재용해하고 Capillary tube를 이용하여 20ml tube에 옮긴다. (단 20ml의 tube 무게를 용기에 기록)
10. 농축/ weighting	- Evaporator 를 이용하여 용매를 제거한다(아답터 이용). 이후 질소가스로 용매를 완전히 제거하고 무게를 측정한다 후 병 무게를 빼어 회수율을 기록한다.
11. 시료분배	- 9. 과정과 같이 4ml로 재용해 후 3개의 용기(EP tube)로 재분배 (1. Tube 1mg(우리); 2. Tube 1mg(극지연구소); 3. Tube 나머지 (원광대))

4. 조추출물의 생리활성측정

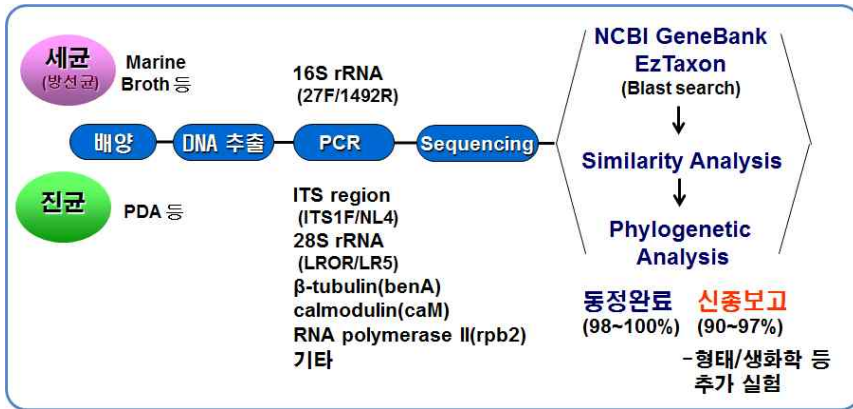
- 생리활성은 각종 질병치료의 분자표적으로 인식되는 탈인산화 효소(PTP1B)를 이용한 항당뇨관련 활성 검색법을 1차 스크리닝의 방법으로 적용하여 각 추출물에 대한 활성을 검토하고 그 결과를 토대로 향후 적용할 생리활성 평가법을 결정 하였다. 또한 얻어진 자료는 추출물과 함께 DB를 구축하였다.
- PTP1B분석: PTP1B는 BIOMOL International LP에서 구입하였다. 효소활성은 p-nitrophenyl phosphate (pNPP)를 사용하여 측정하였다(Na et al., 2007). 각각의 96 well plate에 2 mM pNPP와 50 mM citrate (pH 6.0), 0.1 M NaCl, 1 mM EDTA, and 1 mM dithiothreitol (DTT)를 포함하는 완충용액을 100uL첨가한 후 시료(0.3~30ug/ml)를 첨가하였으며 대조구는 시료대신 시료용해액을 첨가하였다. 이 후 37°C 배양기에서 30분 동안 반응시킨다. 10M NaOH를 넣어 반응을 종결시켰다. 생산된 p-nitrophenol의 양을 405nm의 흡광도에서 측정하였다.

$$\text{Inhibition \%} = \{[(\text{DMSO OD value} - \text{DMSO blank OD value}) - (\text{samples OD value} - \text{samples blank OD value})] / (\text{DMSO OD value} - \text{DMSO blank OD value}) \times 100 \}$$

$$\text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL}) = [(50\% - \text{low percentage}) / (\text{high percentage} - \text{low percentage})] \times (\text{high concentration} - \text{low concentration}) + \text{low concentration}$$

5. 미생물동정을 위한 분자생물학적 분류

- 분리균주를 대상으로 2개의 온도에서 성장특성
분리된 세균과 진균은 각각 2장의 Marine agar와 PDA agar 배지에 도말한후 5, 10, 25°C 배양기에서 배양한 후 일정 기간간격으로 성장여부를 확인하여 기록하였다. 이를 통하여 저온성균주와 내냉성 및 저온균주 여부를 판정하였다.



NL4(5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG)을 사용하여 PCR에 의해 genomic DNA로부터 증폭하였다. PCR 산물은 전기영동 (0.8% agarose)에 의해 DNA가 증폭되었음을 확인하였다. 28S rDNA는 자동염기서열장치를 이용하여 염기서열을 결정하였다(마크로젠에 의뢰). ITS 및 28S rDNA염기서열의 분석은 National Center Biotechnology Information (NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)로부터 얻어진 분류군의 염기서열을 이용하여 서열화하였으며 Phylogenetic Interference Package (PHYLIP) (Felsenstein, 1993)로 서열 데이터를 분석하기 위해 사용되었다. Phylogenetic tree는 neighbour-joining (Saitou & Nei, 1987)방법을 이용하였으며, Evolutionary distances matrices는 Jukes & Cantor (1969)모델에 따라 작성되었다. Neighbour-joining tree topology는 1000 resampling에 기초한 bootstrap analysis (Felsenstein, 1985)에 의해 평가되었다.

○ 세균 (16S rDNA 염기서열분석)

- 16S rDNA는 16S rDNA primer, 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3'; *Escherichia coli* nucleotide 8~27) 와 1518R (5'-AAG GAG GTG ATC CAN CCR CA-3'; *Escherichia coli* nucleotide 1541~1522) (Giovannoni, 1991)을 사용하여 PCR에 의해 genomic DNA로부터 증폭하였다. PCR 산물은 전기영동 (0.8% agarose)에 의해 DNA가 증폭되었음을 확인하였다. 16S rDNA는 자동염기서열장치를 이용하여 염기서열을 결정하였다(마크로젠에 의뢰).
- 16S rDNA염기서열의 분석은 National Center Biotechnology Information (NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)(Altschul et al., 1990)로부터 얻어진 분류군의 염기서열을 이용하여 서열화하였으며 Phylogenetic Interference Package (PHYLIP) (Felsenstein, 1993)로 서열 데이터를 분석하기 위해 사용되었다. Phylogenetic tree는 neighbour-joining (Saitou & Nei, 1987)방법을 이용하였으며, Evolutionary distances matrices는 Jukes & Cantor (1969)모델에 따라 작성되었다. neighbour-joining tree topology는 1000 resampling에 기초한 bootstrap analysis (Felsenstein, 1985)에 의해 평가되었다.

○ 진균 (28S rDNA 염기서열분석)

- 균류는 액체질소를 이용한 gliding 방법을 이용하여 세포를 파쇄한 후 DNA분리키트를 이용하여 genomic DNA를 분리하였으며 partial 28S rDNA 염기서열은 LR0R (ACCGCTGAACTTAAGC; 26~42)과 LR5(TCCTGAGGGAACTTCG; 964~948)을 그리고 ITS(ITS1-5.8S-ITS2)는 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA)과

제2절 연구개발수행 결과

1. 극지미생물유래 미생물의 분리 및 보존

- 극지시료(표 1)로부터 5종의 분리배지에 도달하여 배양하였으며, 이중 균체의 특성에 따라 1차로 세균과 진균을 분리하였고 필요에 따라 2~3차에 걸쳐 순수배양체를 확보하였다.
- 시료별로 순수분리된 세균, 진균은 표 1에 정리하였다. 결과적으로 진균은 132점(표 2, 12 점은 진행중), 세균은 150점(표 3)을 포함하여 총 282점을 확보하였다.

표 1. 세종과학기지 주변 및 칠레 남부로부터 얻어진 시료의 특성 및 미생물분리 요약

	Station No.	Species	채집 날짜	채집 장소	Latitudes	Longitude	진균	세균
1	2017-Ant-015	lichen	17.01.10	바톤반도 기지뒷산	62° 13'30.99"S	58° 46'26.88"W	13	5
2	2017-Ant-016	lichen	17.01.10	바톤반도 기지뒷산	62° 13'37.17"S	58° 46'27.5"W	2	8
3	2017-Ant-017	lichen	17.01.10	바톤반도 기지뒷산	62° 13'37.17"S	58° 46'27.5"W	15	11
4	2017-Ant-021	lichen	17.01.12	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	14	2
5	2017-Ant-022	lichen	17.01.12	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	7	4
6	2017-Ant-023	lichen	17.01.12	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	10	2
7	2017-Ant-026	lichen	17.01.12	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	5	5
8	2017-Ant-029	lichen	17.01.12	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	11	11
9	2017-Ant-031	lichen	17.01.12	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	NG	3
10	2017-Ant-036	lichen	17.01.13	바톤반도 해표마을	62° 14'27.05"S	58° 44'38.27"W	NG	3
11	2017-Ant-041	lichen	17.01.14	바톤반도 팽귄마을 뒷산	62° 14'06.15"S	58° 46'22.68"W	1	NG
12	2017-Ant-044	lichen	17.01.14	바톤반도 팽귄마을 뒷산	62° 14'06.15"S	58° 46'22.68"W	NG	2
13	2017-Ant-045	lichen	17.01.14	바톤반도 팽귄마을 뒷산	62° 14'06.15"S	58° 46'22.68"W	NG	2
14	2017-Ant-047	lichen	17.01.17	바톤반도 기지 뒷산	62° 13'37.17"S	58° 46'27.5"W	NG	2
15	2017-Ant-051	lichen	17.01.18	바톤반도 포터코브	62° 14'12.11"S	58° 43'03.33"W	NG	7
16	2017-Ant-052	lichen	17.01.18	바톤반도 포터코브	62° 14'12.11"S	58° 43'03.33"W	NG	2
17	2017-Ant-054	lichen	17.01.18	바톤반도 포터코브	62° 14'12.11"S	58° 43'03.33"W	NG	4
18	2017-Ant-058	Moss	17.01.19	아들레이섬	62° 12'57.82"S	58° 56'01.87"W	NG	4
19	2017-Ant-059	lichen	17.01.19	아들레이섬	62° 12'57.82"S	58° 56'01.87"W	1	11
20	2017-Ant-061	lichen	17.01.19	아들레이섬	62° 12'57.82"S	58° 56'01.87"W	NG	1
21	2017-Ant-062	lichen	17.01.19	아들레이섬	62° 12'57.82"S	58° 56'01.87"W	NG	8
22	2017-Ant-063	lichen	17.01.19	아들레이섬	62° 12'57.82"S	58° 56'01.87"W	5	10
23	2017-Ant-064	lichen	17.01.19	아들레이섬	62° 12'57.82"S	58° 56'01.87"W	5	4
24	2017-Ant-068	Moss	17.01.22	마리아소만 해안가	62° 13'16.45"S	58° 46'29.6"W	2	2
25	2017-Ant-071	lichen	17.01.22	마리아소만 해안가	62° 12'54.5"S	58° 45'10.94"W	2	2
26	2017-Ant-072	lichen	17.01.22	마리아소만 해안가	62° 12'54.5"S	58° 45'10.94"W	4	7
27	2017-Ant-074	lichen	17.01.22	마리아소만 해안가	62° 13'08.6"S	58° 45'56.26"W	3	1
28	2017-Ant-077	lichen	17.01.22	마리아소만 해안가	62° 13'08.6"S	58° 45'56.26"W	3	4
29	2017-Ant-078	lichen	17.01.24	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	NG	1
30	2017-Ant-079	lichen	17.01.24	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	2	2
31	2017-Ant-080	lichen	17.01.24	위버반도	62° 11'51.56"S	58° 48'05.41"W	6	10
32	2017-Ant-095	lichen	17.01.25	바톤반도 포터코브	62° 14'16.26"S	58° 43'15.32"W	13	7
33	2017-Ant-100	lichen	17.01.30	넬슨섬	62° 18'50.38"S	58° 50'39.8"W	8	3
							132	150

NG : no growth

표 2-1. 세종과학기지 주변 및 칠레 남부의 시료로부터 분리된 진균

순번	Station No. (2017- Ant-)	분리 배지	부여 번호 (SF-)	stock 수	제조일	순번	Station No. (2017- Ant-000)	분리 배지	부여 번호 (SF-)	stock 수	제조일
1	15	0.1%NA	7436	4	18.10.12	41	21	R2A	7476	4	18.11.08
2	15	NA	7437	4	18.10.12	42	22	YMA	7477	4	18.11.13
3	15	PDA	7438	4	19.01.16	43	22	YMA	7478	4	18.10.12
4	15	PDA	7439	4	18.12.27	44	22	YMA	7479	4	18.10.12
5	15	PDA	7440	4	18.12.31	45	22	YMA	7480	4	18.10.12
6	15	0.1%NA	7441	4	18.12.31	46	17	PDA	7481	4	진행중
7	15	NA	7442	4	18.12.03	47	22	PDA	7482	4	18.11.13
8	15	PDA	7443	4	18.12.31	48	22	PDA	7483	4	18.11.08
9	15	R2A	7444	4	18.11.29	49	22	YMA	7484	4	18.11.19
10	68	YMA	7445	4	19.01.28	50	17	PDA	7485	4	19.02.12
11	15	YMA	7446	4	18.12.24	51	23	PDA	7486	4	18.11.13
12	79	R2A	7447	4	19.01.28	52	23	YMA	7487	4	18.10.12
13	16	R2A	7448	4	18.11.29	53	23	YMA	7488	4	18.11.08
14	17	0.1%NA	7449	4	18.10.12	54	23	R2A	7489	4	18.11.29
15	17	NA	7450	4	18.10.12	55	23	NA	7490	4	18.11.08
16	17	YMA	7451	4	18.10.12	56	23	YMA	7491	4	18.11.29
17	17	PDA	7452	4	18.11.08	57	23	YMA	7492	4	18.11.14
18	17	PDA	7453	4	18.11.08	58	26	NA	7493	4	18.10.12
19	17	PDA	7454	4	18.11.29	59	26	R2A	7494	4	18.11.12
20	17	PDA	7455	4	18.12.24	60	26	YMA	7495	4	18.11.29
21	17	YMA	7456	4	19.01.02	61	29	NA	7496	4	18.10.12
22	23	YMA	7457	4	19.01.22	62	29	0.1%NA	7497	4	18.10.12
23	15	PDA	7458	4	19.01.22	63	29	YMA	7498	4	18.10.12
24	15	PDA	7459	4	진행중	64	29	YMA	7499	4	18.10.12
25	17	YMA	7460	4	18.11.13	65	29	NA	7500	4	18.12.28
26	17	0.1NA	7461	4	18.11.08	66	29	0.1NA	7501	4	18.11.12
27	17	PDA	7462	4	18.12.07	67	29	NA	7502	4	18.11.29
28	17	PDA	7463	4	18.11.19	68	29	R2A	7503	4	18.11.14
29	17	YMA	7464	4	19.01.16	69	29	YMA	7504	4	18.11.12
30	21	PDA	7465	4	18.10.12	70	29	YMA	7505	4	18.11.19
31	21	PDA	7466	4	19.01.16	71	41	PDA	7506	4	18.11.29
32	21	NA	7467	4	18.12.27	72	95	PDA	7507	4	19.01.16
33	21	NA	7468	4	18.12.10	73	59	PDA	7508	4	18.11.29
34	21	NA	7469	4	18.12.03	74	95	PDA	7509	4	19.01.15
35	21	R2A	7470	4	18.10.12	75	63	YMA	7510	4	18.11.12
36	21	R2A	7471	4	19.01.16	76	63	YMA	7511	4	18.11.19
37	21	YMA	7472	4	18.11.08	77	63	PDA	7512	4	18.10.12
38	21	PDA	7473	4	18.12.24	78	63	YMA	7513	4	18.11.19
39	21	YMA	7474	4	18.11.29	79	63	PDA	7514	4	18.11.13
40	21	PDA	7475	4	18.11.13	80	100	YMA	7515	4	19.01.04

표 2-2. 세종과학기지 주변 및 칠레 남부의 시료로부터 분리된 진균

순번	Station No. (2017- Ant-)	분리 배지	부여 번호 (SF-)	stock 수	제조일	순번	Station No. (2017- Ant-000)	분리 배지	부여 번호 (SF-)	stock 수	제조일
81	64	YMA	7516	4	18.10.12	121	100	YMA	7556	4	18.10.12
82	64	PDA	7517	4	18.11.29	122	100	YMA	7557	4	18.10.30
83	64	PDA	7518	4	18.10.12	123	100	YMA	7558	4	18.11.12
84	64	PDA	7519	4	18.11.29	124	100	R2A	7559	4	18.12.31
85	64	PDA	7520	4	18.11.19	125	100	0.1%NA	7560	4	18.11.15
86	68	YMA	7521	4	18.11.12	126	100	NA	7561	4	18.11.19
87	71	R2A	7522	4	18.10.12	127	29	NA	7562	4	19.01.20
88	71	YMA	7523	4	18.11.12	128	74	R2A	7563	4	18.10.12
89	72	NA	7524	4	18.11.29	129	23	NA	7564	4	19.02.07
90	72	R2A	7525	4	19.02.11	130	16	PDA	7565	4	진행중
91	72	R2A	7526	4	18.10.12	131	21	PDA	7566	4	19.01.22
92	72	YMA	7527	4	18.11.29	132	27	R2A	7567	4	진행중
93	74	PDA	7528	4	18.10.12						
94	74	PDA	7529	4	18.12.31						
95	77	YMA	7530	4	18.11.14						
96	77	R2A	7531	4	18.12.03						
97	77	R2A	7532	4	18.11.15						
98	79	NA	7533	4	18.11.12						
99	80	PDA	7534	4	18.10.12						
100	80	R2A	7535	4	18.11.29						
101	80	R2A	7536	4	18.10.12						
102	80	R2A	7537	4	18.10.12						
103	80	YMA	7538	4	18.11.19						
104	80	PDA	7539	4	18.12.31						
105	95	PDA	7540	4	18.11.29						
106	95	NA	7541	4	18.10.12						
107	95	NA	7542	4	18.10.12						
108	95	R2A	7543	4	18.10.12						
109	95	R2A	7544	4	18.11.19						
110	95	0.1%NA	7545	4	18.10.12						
111	95	0.1%NA	7546	4	18.10.12						
112	95	YMA	7547	4	18.11.19						
113	15	PDA	7548	4	19.01.30						
114	26	NA	7549	4	18.10.12						
115	21	PDA	7550	4	진행중						
116	95	PDA	7551	4	18.11.15						
117	95	PDA	7552	4	19.02.12						
118	95	PDA	7553	4	18.12.27						
119	23	YMA	7554	4	19.02.11						
120	100	R2A	7555	4	18.11.13						

표 3-1. 세종과학기지 주변 및 칠레 남부의 시료로부터 분리된 세균

순번	Station No. (2017- Ant-)	분리 배지	부여 번호 (SB-)	stock 수	제조일	순번	Station No. (2017- Ant-000)	분리 배지	부여 번호 (SB-)	stock 수	제조일
1	16	0.1% NA	3748	4	18.11.15	41	63	NA	3788	4	18.11.19
2	21	NA	3749	4	18.11.15	42	63	NA	3789	4	18.11.19
3	22	YMA	3750	4	18.11.15	43	77	0.1% NA	3790	4	18.11.19
4	22	YMA	3751	4	18.11.15	44	80	NA	3791	4	18.11.19
5	26	R2A	3752	4	18.11.15	45	80	R2A	3792	4	18.11.19
6	29	0.1% NA	3753	4	18.11.15	46	80	YMA	3793	4	18.11.19
7	31	R2A	3754	4	18.11.15	47	79	0.1% NA	3794	4	18.11.19
8	44	NA	3755	4	18.11.15	48	36	R2A	3795	4	18.11.19
9	51	NA	3756	4	18.11.15	49	45	NA	3796	4	18.11.19
10	51	0.1% NA	3757	4	18.11.15	50	47	R2A	3797	4	18.11.19
11	51	R2A	3758	4	18.11.15	51	58	0.1% NA	3798	4	18.11.19
12	62	NA	3759	4	18.11.15	52	59	NA	3799	4	18.11.19
13	62	NA	3760	4	18.11.15	53	59	NA	3800	4	18.11.19
14	62	0.1% NA	3761	4	18.11.15	54	59	R2A	3801	4	18.11.20
15	63	0.1% NA	3762	4	18.11.15	55	64	R2A	3802	4	18.11.20
16	62	NA	3763	4	18.11.15	56	77	NA	3803	4	18.11.20
17	62	NA	3764	4	18.11.15	57	80	NA	3804	4	18.11.20
18	71	NA	3765	4	18.11.15	58	100	YMA	3805	4	18.11.20
19	68	0.1% NA	3766	4	18.11.15	59	15	R2A	3806	4	18.11.20
20	71	NA	3767	4	18.11.15	60	16	PDA	3807	4	18.11.20
21	74	NA	3768	4	18.11.15	61	17	R2A	3808	4	18.11.20
22	80	NA	3769	4	18.11.15	62	29	0.1% NA	3809	4	18.11.20
23	80	NA	3770	4	18.11.15	63	29	YMA	3810	4	18.11.20
24	95	NA	3771	4	18.11.15	64	36	NA	3811	4	18.11.20
25	95	NA	3772	4	18.11.15	65	51	R2A	3812	4	18.11.20
26	100	NA	3773	4	18.11.15	66	54	R2A	3813	4	18.11.20
27	16	NA	3774	4	18.11.19	67	58	R2A	3814	4	18.11.20
28	22	YMA	3775	4	18.11.19	68	59	NA	3815	4	18.11.20
29	22	YMA	3776	4	18.11.19	69	59	R2A	3816	4	18.11.20
30	26	R2A	3777	4	18.11.19	70	62	0.1% NA	3817	4	18.11.20
31	29	PDA	3778	4	18.11.19	71	63	0.1% NA	3818	4	18.11.20
32	29	YMA	3779	4	18.11.19	72	63	0.1% NA	3819	4	18.11.20
33	47	NA	3780	4	18.11.19	73	64	R2A	3820	4	18.11.20
34	51	R2A	3781	4	18.11.19	74	72	R2A	3821	4	18.11.20
35	54	NA	3782	4	18.11.19	75	80	R2A	3822	4	18.11.20
36	54	PDA	3783	4	18.11.19	76	95	0.1% NA	3823	4	18.11.20
37	59	NA	3784	4	18.11.19	77	79	0.1% NA	3824	4	18.11.20
38	59	NA	3785	4	18.11.19	78	26	R2A	3825	4	18.11.26
39	59	R2A	3786	4	18.11.19	79	31	R2A	3826	4	18.11.26
40	62	0.1% NA	3787	4	18.11.19	80	63	R2A	3827	4	18.11.26

표 3-2. 세종과학기지 주변 및 칠레 남부의 시료로부터 분리된 세균

순번	Station No. (2017- Ant-)	분리 배지	부여 번호 (SB-)	stock 수	제조일	순번	Station No. (2017- Ant-000)	분리 배지	부여 번호 (SB-)	stock 수	제조일
81	63	R2A	3828	4	18.11.26	121	59	R2A	3868	4	18.12.04
82	16	NA	3829	4	18.11.26	122	64	NA	3869	4	18.12.04
83	26	R2A	3830	4	18.11.26	123	17	0.1% NA	3870	4	18.12.04
84	52	NA	3831	4	18.11.26	124	68	0.1% NA	3871	4	18.12.04
85	58	0.1% NA	3832	4	18.11.26	125	72	R2A	3872	4	18.12.06
86	62	NA	3833	4	18.11.26	126	80	R2A	3873	4	18.12.06
87	63	NA	3834	4	18.11.26	127	23	NA	3874	4	18.12.06
88	72	R2A	3835	4	18.11.26	128	29	PDA	3875	4	18.12.06
89	77	R2A	3836	4	18.11.26	129	36	NA	3876	4	18.12.06
90	100	R2A	3837	4	18.11.26	130	51	YMA	3877	4	18.12.10
91	17	R2A	3838	4	18.11.26	131	78	0.1% NA	3878	4	18.12.10
92	29	PDA	3839	4	18.11.29	132	72	R2A	3879	4	18.12.09
93	31	R2A	3840	4	18.11.29	133	72	R2A	3880	4	18.12.10
94	21	NA	3841	4	18.11.29	134	15	R2A	3881	4	18.12.12
95	26	YMA	3842	4	18.11.29	135	17	R2A	3882	4	18.12.13
96	29	0.1% NA	3843	4	18.11.29	136	54	NA	3883	4	18.12.14
97	51	0.1% NA	3844	4	18.11.29	137	80	NA	3884	4	18.12.15
98	63	NA	3845	4	18.11.29	138	95	R2A	3885	4	18.12.16
99	72	R2A	3846	4	18.11.29	139	29	PDA	3886	4	18.12.24
100	58	NA	3847	4	18.11.30	140	61	NA	3887	4	18.12.24
101	52	NA	3848	4	18.11.30	141	16	R2A	3888	4	18.12.24
102	59	R2A	3849	4	18.11.30	142	15	YMA	3889	4	18.12.24
103	77	0.1% NA	3850	4	18.11.30	143	23	R2A	3890	4	18.12.24
104	17	R2A	3851	4	18.12.03	144	17	R2A	3891	4	18.12.26
105	45	R2A	3852	4	18.12.03	145	29	PDA	3892	4	18.12.26
106	63	R2A	3853	4	18.12.03	146	17	PDA	3893	4	19.01.02
107	95	R2A	3854	4	18.12.03	147	15	NA	3894	4	19.01.11
108	29	PDA	3855	4	18.12.03	148	16	PDA	3895	4	19.01.14
109	15	YMA	3856	4	18.12.03	149	17	NA	3896	4	19.02.07
110	72	YMA	3857	4	18.12.03	150	17	NA	3897	4	19.02.07
111	95	YMA	3858	4	18.12.03						
112	95	YMA	3859	4	18.12.03						
113	16	NA	3860	4	18.12.03						
114	16	NA	3861	4	18.12.03						
115	64	R2A	3862	4	18.12.03						
116	59	R2A	3863	4	18.12.03						
117	17	YMA	3864	4	18.12.03						
118	17	R2A	3865	4	18.12.04						
119	80	R2A	3866	4	18.12.04						
120	44	NA	3867	4	18.12.04						

2. 극지생물 유래 미생물의 추출물확보 연구

1) 추출물확보현황

- 분리된 진균은 이차대사산물의 빈도가 높은 진균을 대상으로 대량배양을 진행하였다. 132점의 진균은 PDA배지를 이용하여 제작된 plate (90mmx15mm) 및 편박 플라스크에 접종하여 10℃에서 7~30일 배양하였다(균의 종에 따라 차이가 있음). 배양된 진균은 ethyl acetate 용매추출을 통하여 추출물제조를 완료하였음(표 5).
- 132점은 추출물제작이 완료되었으며 당초계획인 120점보다 초과하여 목표를 달성하였다.

2) 추출물의 활용

- 추출물제조가 완료된 시료는 신규천연물을 연구하는 원광대연구팀에게 일부시료를 지속적으로 제공하였으며
- 일부시료는 극지연구소에서 대사체연구를 위해 시료를 제공하였다.
- 본연구팀이 생리활성검색에 사용된 시료 외에는 자체적으로 DB를 구축하여 보존하고 있음

표 5-1. 극지 미생물 추출물제조 요약

	Stock No.	배양기간		추출물 (mg)		Stock No.	배양기간		추출물 (mg)
		배양시작	배양 끝				배양시작	배양 끝	
1	7436	18.10.12	18.10.31	156.1	41	7476	18.11.08	18.11.19	16.8
2	7437	18.10.12	18.10.31	666.5	42	7477	18.11.13	18.11.22	9.9
3	7438	19.01.16	19.02.12	15.1	43	7478	18.10.12	18.10.31	4.9
4	7439	18.12.27	19.01.17	3.4	44	7479	18.10.12	18.10.31	16.4
5	7440	18.12.31	19.01.15	2.4	45	7480	18.10.12	18.10.31	13.4
6	7441	18.12.31	19.01.07	2.5	46	7481	19.02.11		진행중
7	7442	18.12.03	18.12.24	3.6	47	7482	18.11.13	18.11.22	5.5
8	7443	18.12.31	19.01.14	2	48	7483	18.11.08	18.11.19	20.4
9	7444	18.11.29	18.12.24	2.4	49	7484	18.11.19	18.12.05	4.7
10	7445	19.01.28	19.02.07	7.7	50	7485	19.01.28	19.02.25	9.3
11	7446	18.12.24	19.01.21	3.4	51	7486	18.11.13	18.11.29	5.6
12	7447	19.01.28	19.02.07	80.3	52	7487	18.10.12	18.10.31	3.4
13	7448	18.11.29	18.12.10	5.9	53	7488	18.11.08	18.11.26	44.5
14	7449	18.10.12	18.10.31	365.5	54	7489	18.11.29	18.12.24	2.3
15	7450	18.10.12	18.10.31	333.2	55	7490	18.11.08	18.11.19	29.8
16	7451	18.10.12	18.10.31	69.2	56	7491	18.11.29	18.12.10	3.3
17	7452	18.11.08	18.11.29	20.7	57	7492	18.11.14	18.11.26	36.2
18	7453	18.11.08	18.11.26	12	58	7493	18.10.12	18.10.31	711.4
19	7454	18.11.29	18.12.24	4.3	59	7494	18.11.12	18.11.29	12.8
20	7455	18.12.24	19.01.07	13.2	60	7495	18.11.29	18.12.24	14.6
21	7456	19.01.02	19.01.14	7.2	61	7496	18.10.12	18.10.31	8.2
22	7457	19.01.22	19.01.28	8.2	62	7497	18.10.12	18.10.31	11.7
23	7458	19.01.22	19.02.07	8.2	63	7498	18.10.12	18.10.31	127.2
24	7459	19.02.11		진행중	64	7499	18.10.12	18.10.31	41.3
25	7460	18.11.13	18.11.29	3.2	65	7500	18.12.28	19.01.11	4.7
26	7461	18.11.08	18.11.29	12.4	66	7501	18.11.12	18.11.22	6.8
27	7462	18.12.07	18.12.10	4.6	67	7502	18.11.29	18.11.10	4.2
28	7463	18.11.19	18.12.11	12	68	7503	18.11.14	18.11.26	7.2
29	7464	19.01.16	19.02.12	6.4	69	7504	18.11.12	18.11.22	12.6
30	7465	18.10.12	18.10.31	189	70	7505	18.11.19	18.12.05	56.4
31	7466	19.01.16	19.02.12	15.4	71	7506	18.11.29	18.12.24	4.3
32	7467	18.12.27	19.01.07	16.5	72	7507	19.01.16	19.02.11	8.3
33	7468	18.12.10	18.12.24	4.4	73	7508	18.11.29	18.12.10	1.6
34	7469	18.12.03	18.12.24	7.7	74	7509	19.01.15	19.02.12	9.2
35	7470	18.10.12	18.10.31	4.7	75	7510	18.11.12	18.11.29	5.5
36	7471	19.01.16	19.02.12	10.8	76	7511	18.11.19	18.12.05	2.9
37	7472	18.11.08	18.11.22	8.3	77	7512	18.10.12	18.10.31	120.5
38	7473	18.12.24	19.01.21	8.9	78	7513	18.11.19	18.12.05	4.8
39	7474	18.11.29	18.12.24	29.9	79	7514	18.11.13	18.11.29	4.5
40	7475	18.11.13	18.11.26	10.2	80	7515	19.01.04	19.01.14	2.1

표 5-2. 극지 미생물 추출물제조 요약

	Stock No.	배양기간		추출물 (mg)		Stock No.	배양기간		추출물 (mg)
		배양시작	배양 끝				배양시작	배양 끝	
81	7516	18.10.12	18.10.31	177.3	121	7556	18.10.12	18.10.31	1.4
82	7517	18.11.29	18.12.10	9.2	122	7557	18.10.30	18.11.19	18.8
83	7518	18.10.12	18.10.31	9.8	123	7558	18.11.12	18.11.29	3.5
84	7519	18.11.29	18.12.10	8.5	124	7559	18.12.31	19.01.11	4
85	7520	18.11.19	18.11.26	7.2	125	7560	18.11.15	18.11.19	6.8
86	7521	18.11.12	18.11.19	7.7	126	7561	18.11.19	18.12.10	11.6
87	7522	18.10.12	18.10.31	121.6	127	7562	19.01.22	19.01.30	7.3
88	7523	18.11.12	18.11.19	8.6	128	7563	18.10.12	18.10.31	49.9
89	7524	18.11.29	18.12.24	3.6	129	7564	19.01.28	19.02.07	77.7
90	7525	19.01.16	19.02.11	6.9	130	7565	19.02.11		진행중
91	7526	18.10.12	18.10.31	298.6	131	7566	19.01.22	19.01.28	3.9
92	7527	18.11.29	18.12.24	4	132	7567	19.01.28	19.02.25	53.2
93	7528	18.10.12	18.10.31	36.1					
94	7529	18.12.31	19.01.11	3.9					
95	7530	18.11.14	18.11.29	9.7					
96	7531	18.12.03	18.12.10	4.3					
97	7532	18.11.15	18.11.22	12.9					
98	7533	18.11.12	18.11.26	2.9					
99	7534	18.10.12	18.10.31	15.3					
100	7535	18.11.29	18.12.24	2.8					
101	7536	18.10.12	18.10.31	20					
102	7537	18.10.12	18.10.31	40.3					
103	7538	18.11.19	18.12.05	4.3					
104	7539	18.12.31	19.01.21	3.9					
105	7540	18.11.29	18.12.24	9.4					
106	7541	18.10.12	18.10.31	12.8					
107	7542	18.10.12	18.10.31	147.4					
108	7543	18.10.12	18.10.31	15.2					
109	7544	18.11.19	18.12.11	5.5					
110	7545	18.10.12	18.10.31	36.9					
111	7546	18.10.12	18.10.31	44					
112	7547	18.11.19	18.12.05	4.9					
113	7548	19.01.22	19.01.30	5					
114	7549	18.10.12	18.10.31	264.6					
115	7550	19.02.11		진행중					
116	7551	18.11.15	18.11.26	49.3					
117	7552	19.01.16	19.02.12	12.1					
118	7553	18.12.27	19.01.07	3.2					
119	7554	19.01.23	19.02.11	71.2					
120	7555	18.11.13	18.11.29	2.6					

3. 생리활성검증

○ PTP1B 저해활성에 의한 항당뇨 검색

- 진균추출물을 대상으로 항당뇨 질병의 분자표적으로 인식되는 탈인산화효소인 PTP1B (Protein tyrosine phosphatase 1B)를 저해하는 *in vitro* assay를 수행하였으며 이를 통하여 진균 추출물의 항당뇨 저해능력을 평가하였다.
- 해양미생물인 진균으로부터 얻어진 추출물에 대한 PTP1B 저해활성은 총 0.1점의 시료를 대상으로 조사하였으며 그 중 추출물의 농도를 0.3 ug/ml 수준에서 50%이상 PTP1B 저해활성을 보인 시료는 총 3점으로 나타났다(표 6). 또한 1 ug/ml수준에서 70%이상의 활성을 보인 시료는 46점으로 나타났다.

표 6-1. The summary of PTP1B inhibitory activity(%) against fungal extracts

No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)			No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)		
		0.3	1	3			0.3	1	3
1	7436	2.15	97.21	99.77	41	7438			진행중
2	7437	36.05	98.72	99.25	42	7439	22.69	61.48	99.83
3	7448	35	101.44	100	43	7440	37.4	58.34	99.81
4	7449	1.89	34.56	67.22	44	7441	34.52	78.57	99.93
5	7450	3.58	25.19	44.43	45	7442			진행중
6	7451	42.71	87.83	95.94	46	7443	36.53	54.92	96.3
7	7452	11.99	87.42	99.28	47	7444			진행중
8	7453	41.36	95.21	98.01	48	7445			진행중
9	7454	31.8	86.58	111.34	49	7446	41.01	69.43	100.03
10	7460	65.27	99.88	108.05	50	7447			진행중
11	7461	6.26	99.87	99.71	51	7455	27.66	77.51	100.29
12	7462	22.07	99.37	99.16	52	7456	23.35	47.71	95.64
13	7463	8.1	99.84	99.89	53	7457			진행중
14	7468	12.77	99.56	99.84	54	7458			진행중
15	7469	26.41	99.9	100.02	55	7459			진행중
16	7470	22.13	82.18	100.02	56	7464			진행중
17	7472	7.57	93.5	100	57	7465	14.41	22.73	47.28
18	7474	2.9	99.16	99.82	58	7466			진행중
19	7475	19.32	36.67	99.88	59	7467	40.34	91.92	100.3
20	7476	11.33	37.81	86.33	60	7471			진행중
21	7477	12.57	99.72	99.94	61	7473	28.12	45.02	84
22	7478	39.59	99.8	101.46	62	7481			진행중
23	7479	32.67	99.56	99.86	63	7485			진행중
24	7480	37.77	99.7	99.7	64	7486			진행중
25	7482	26.78	96.55	99.86	65	7487			진행중
26	7483	23.78	75.94	97.46	66	7493			진행중
27	7484	2.17	88.08	99.87	67	7500			진행중
28	7488	15.43	73.3	97.1	68	7503	20.91	57.65	99.73
29	7489	10.16	98.79	100	69	7504	17.62	35.86	99.32
30	7490	21.16	65.94	99.5	70	7505	19.01	40.7	99.77
31	7491	23.26	99.91	100.21	71	7506	42.92	88.77	103.07
32	7492	14.76	72.99	102.89	72	7507			진행중
33	7494	28.19	99.68	100.15	73	7508	8.15	29.7	96.74
34	7495	68.73	99.37	101.12	74	7509			진행중
35	7496	8.68	98.3	99.7	75	7510	14.05	40.88	100.07
36	7497	79.14	100.62	102.17	76	7511	12.53	29.46	98.41
37	7498	6.36	19.24	55.75	77	7512			진행중
38	7499	25.28	98.48	99.26	78	7513	5.1	22.83	98.78
39	7501	3.5	99.89	99.96	79	7514	14.51	42.91	99.94
40	7502	27.31	99.18	100.41	80	7515	14.18	47.38	99.2

표 6-2. The summary of PTP1B inhibitory activity(%) against fungal extracts

No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)			No.	Strain No.	Conc.(ug/ml)		
		0.3	1	3			0.3	1	3
81	7516	21.54	57.64	96.61	121	7556	39.56	98.5	99.66
82	7517	4.34	17.71	57.77	122	7557	1.63	22.97	49.66
83	7518	12.57	33.12	92.09	123	7558	11.05	41.81	92.87
84	7519	18.54	19.01	54.5	124	7559	21.01	44.22	98.68
85	7520	25.18	75.48	99.55	125	7560	4.29	9.56	86.63
86	7521	17.72	37.97	91.99	126	7561	18.36	52.99	99.76
87	7522	17.19	22.96	43.07	127	7562			진행중
88	7523	48.62	94.41	99.2	128	7563	23.25	56.71	99.56
89	7524	21.61	22.01	99.79	129	7564			진행중
90	7525			진행중	130	7565			진행중
91	7526	15.48	21.57	46.59	131	7566			진행중
92	7527	38.82	95.66	98.69	132	7567			진행중
93	7528			진행중					
94	7529	18.07	62.56	100.27					
95	7530	14.19	46.29	100.08					
96	7531	7.85	25.5	95.87					
97	7532	17.19	58.68	99.88					
98	7533	21.45	42.45	97.62					
99	7534	29	51.05	99					
100	7535	24.82	39.44	97.52					
101	7536	40.58	59.17	99.82					
102	7537	19.89	65.33	99.93					
103	7538	0.17	60.73	99.93					
104	7539	16.89	33.96	94.88					
105	7540	21.42	69.94	100					
106	7541	43.03	84.82	100.29					
107	7542	11.02	18.86	25.66					
108	7543	28.51	86.59	99.96					
109	7544	14.09	49.17	99.94					
110	7545	8.15	13.68	46.21					
111	7546	16.21	46.01	97.71					
112	7547	21.23	43.08	99.07					
113	7548			진행중					
114	7549	8.43	21.61	48.8					
115	7550			진행중					
116	7551	8.77	34.21	40.06					
117	7552			진행중					
118	7553	40.28	98.57	99.91					
119	7554			진행중					
120	7555	11.67	19.57	53.83					

4. 미생물동정을 위한 분자생물학적 분류

가. 분리균주를 대상으로 2개의 온도에서 성장특성

- 분리된 세균과 진균은 각각 2장의 NA 배지와 PDA agar 배지에 도말한후 10와 25℃ 배양기에서 배양한후 일정 기간간격으로 성장여부를 확인하여 저온성 또는 내냉성균주 여부를 판정하여 균주의 DB화에 활용할 계획임.
- 세균 149종에 대하여 온도별 성장시험을 진행하였으며(표 7), 이중 저온성균(25℃에서 보다 5, 및 10℃에서 높은 성장을 보인 종)은 33종, 내냉성균이 89종 그리고 중온성균이 27종으로 나타났다. 또한 5℃에서도 왕성하게 성장한 종은 38종으로 저온성뿐만 아니라 내냉성균 중에서도 많은 수가 차지하고 있음을 확인하였다.
- 진균 109종을 대상으로 온도별 성장시험을 진행하였으며(표 8), 이중 저온성균(25℃에서 보다 10℃에서 높은 성장을 보인 종)은 41종이었으며 25℃에서 성장을 하지 않은 종은 27종으로 나타났다. 그리고 내냉성균이 26종 그리고 중온성균이 32종으로 나타났다.

표 7-1. The effect of temperature on the growth of bacterial strains

No.	Strain No.	Incubation temp.			No.	Strain No.	Incubation temp.		
		5℃	10℃	25℃			5℃	10℃	25℃
1	3748	++	+++	-	41	3788	±	++	+++
2	3749	-	+	-	42	3789	+	++	++
3	3750	+++	+++	+++	43	3790	+++	+++	+++
4	3751	+++	+++	+++	44	3791	±	++	+++
5	3752	+++	+++	+++	45	3792	++	+++	+++
6	3753	-	+	+++	46	3793	-	+++	+++
7	3754	++	+++	+++	47	3794	±	+++	+++
8	3755	±	+	+++	48	3795	+	++	-
9	3756	-	±	+	49	3796	-	-	+++
10	3757	+++	+++	+++	50	3797	-	-	+++
11	3758	+++	+++	+++	51	3798	++	+++	+
12	3759	+++	+++	+++	52	3799	++	+++	++
13	3760	+++	+++	+++	53	3800	-	+++	+
14	3761	+++	+++	+++	54	3801	-	+++	++
15	3762	-	-	+	55	3802	-	+++	++
16	3763	+++	+++	+++	56	3803	-	+++	+++
17	3764	+++	+++	+++	57	3804	+++	+++	+++
18	3765	+++	+++	+++	58	3805	+++	+++	+
19	3766	+++	+++	+++	59	3806	++	+++	+++
20	3767	++	+++	+++	60	3807	+	+++	+++
21	3768	++	+++	+++	61	3808	+	+	++
22	3769	±	+++	+++	62	3809	++	+++	+++
23	3770	-	++	+++	63	3810	-	++	++
24	3771	++	+++	+++	64	3811	-	++	++
25	3772	±	+++	+++	65	3812	-	++	++
26	3773	-	+	+++	66	3813	-	+++	+++
27	3774	+	+++	-	67	3814	++	+++	+++
28	3775	±	+	+	68	3815	-	++	+++
29	3776	+++	+++	-	69	3816	-	±	++
30	3777	-	++	+++	70	3817	+++	+++	+++
31	3778	-	±	++	71	3818	++	+++	++
32	3779	+++	+++	+++	72	3819	++	+++	+++
33	3780	-	±	++	73	3820	+	+++	-
34	3781	+++	+++	+++	74	3821	+	++	+
35	3782	±	-	+++	75	3822	-	+	+++
36	3783	+++	+++	+++	76	3823	-	++	+
37	3784	±	++	+ -	77	3824	±	++	+++
38	3785	+	+++	++	78	3825	-	-	++
39	3786	++	++	+	79	3826	-	+	++
40	3787	+++	+++	+++	80	3827	+++	+++	++

표 7-2. The effect of temperature on the growth of bacterial strains

No.	Strain No.	Incubation temp.			No.	Strain No.	Incubation temp.		
		5°C	10°C	25°C			5°C	10°C	25°C
81	3828	+++	+++	++	121	3868	-	±	±
82	3829	++	+++	++	122	3869	+	+++	+++
83	3830	-	+++	+++	123	3870	+++	+++	+++
84	3831	±	+++	+++	124	3871	-	-	+
85	3832	++	+++	++	125	3872	++	+++	±
86	3833	+++	+++	+++	126	3873	-	++	-
87	3834	+	++	++	127	3874	-	±	+++
88	3835	+	++	+	128	3875	±	+	-
89	3836	-	±	-	129	3876	+++	++	±
90	3837	+++	+++	+++	130	3877	-	±	+++
91	3838	-	±	±	131	3878	++	++	+
92	3839	-	-	±	132	3879	+++	+++	+++
93	3840	-	-	±	133	3880	+++	+++	+++
94	3841	±	++	±	134	3881	+	++	++
95	3842	+++	+++	+++	135	3882	+++	+++	+++
96	3843	-	-	++	136	3883	-	-	+++
97	3844	±	++	++	137	3884	-	+++	+++
98	3845	-	+++	+++	138	3885	-	+++	+++
99	3846	±	+++	+++	139	3886	-	±	±
100	3847	+	+++	+++	140	3887	+++	+++	+++
101	3848	±	+++	+++	141	3888	±	±	++
102	3849	±	+++	+++	142	3889	+	+++	+
103	3850	+++	+++	+++	143	3890	-	-	+++
104	3851	+++	+++	+++	144	3891	-	+	+++
105	3852	±	+++	++	145	3892	-	+++	+++
106	3853	+	+++	+++	146	3893	++	+++	+++
107	3854	++	+++	+++	147	3894	+++	+++	+++
108	3855	±	+++	+++	148	3895	-	+	+++
109	3856	++	+++	+++	149	3896	±	+	+++
110	3857	+++	+++	+++	150	3897	±	+	+++
111	3858	+++	+++	+++					
112	3859	+	+++	+++					
113	3860	+++	+++	+++					
114	3861	±	+++	+					
115	3862	-	++	+++					
116	3863	-	++	+++					

표 8-1. The effect of temperature on the growth of fungal strains

No.	Strain No.	Incubation temp.		No.	Strain No.	Incubation temp.	
		10°C	25°C			10°C	25°C
1	7436	++	-	41	7476	-	+++
2	7437	+++	++	42	7477	++	+
3	7438			43	7478	-	+
4	7439	-	-	44	7479	+++	-
5	7440	-	+	45	7480	+++	-
6	7441	++	+++	46	7481		
7	7442	-	-	47	7482	-	+++
8	7443	±	-	48	7483	+++	++
9	7444	-	-	49	7484	-	+++
10	7445			50	7485	+++	+++
11	7446	-	-	51	7486	+++	-
12	7447			52	7487	-	+++
13	7448	+	+	53	7488	+	+++
14	7449	+	+++	54	7489	-	+++
15	7450	++	+++	55	7490	+++	+++
16	7451	-	-	56	7491	-	++
17	7452	+	+++	57	7492	±	+++
18	7453	++	+++	58	7493	+++	-
19	7454	++	-	59	7494	++	+++
20	7455	±	++	60	7495	-	++
21	7456	++	+++	61	7496	+++	±
22	7457	++	+++	62	7497	+++	++
23	7458	±	+++	63	7498	+++	-
24	7459			64	7499	++	++
25	7460	++	+	65	7500	±	-
26	7461	+	++	66	7501	+++	+
27	7462	++	+++	67	7502	++	+++
28	7463	±	++	68	7503	++	-
29	7464			69	7504	++	+
30	7465	+	+++	70	7505	++	+
31	7466	++	+++	71	7506	-	+++
32	7467	+	-	72	7507	++	-
33	7468	+	-	73	7508	++	+++
34	7469	+++	-	74	7509	+	-
35	7470	+++	-	75	7510	+++	-
36	7471	+	-	76	7511	++	-
37	7472	+++	-	77	7512	-	++
38	7473	+	-	78	7513	++	-
39	7474	±	+++	79	7514	+++	-
40	7475	++	±	80	7515	+++	+++

표 8-2. The effect of temperature on the growth of fungal strains

No.	Strain No.	Incubation temp.		No.	Strain No.	Incubation temp.	
		10℃	25℃			10℃	25℃
81	7516	+	+++	121	7556	-	-
82	7517	+	-	122	7557	++	+++
83	7518	-	±	123	7558	+	++
84	7519	+	-	124	7559	-	+
85	7520	+++	+	125	7560	+	+++
86	7521	+++	+++	126	7561	-	-
87	7522	-	+++	127	7562		
88	7523	+++	+++	128	7563	++	-
89	7524	-	+++	129	7564	+++	+++
90	7525			130	7565		
91	7526	++	+++	131	7566	++	+++
92	7527	-	+++	132	7567		
93	7528	++	-				
94	7529	++	-				
95	7530	+	+++				
96	7531	+++	+++				
97	7532	+	+++				
98	7533	+++	+++				
99	7534	+++	+++				
100	7535	-	+				
101	7536	++	+++				
102	7537	++	-				
103	7538	-	+++				
104	7539	-	++				
105	7540	+	±				
106	7541	++	+++				
107	7542	++	+				
108	7543	++	+++				
109	7544	++	-				
110	7545	++	+++				
111	7546	++	+				
112	7547	+	-				
113	7548						
114	7549	+++	+++				
115	7550						
116	7551	+	+++				
117	7552						
118	7553	+	-				
119	7554						
120	7555	-	-				

나. 극지 미생물의 동정

1) 극지세균

- 현재 까지 세균은 6종에 대한 염기서열을 결정하였으며 NCBI BLAST search를 통하여 유사도가 높은 균주들을 대상으로 clustalW alignment를 통하여 유사도를 분석하여 표 9에 정리하였다.
- 동정된 종은 *Arthrobacter aplanus* (1), *A. cryoconiti* (2), *A. psychrochitiniphilus* (1), *A. stackebrandtii* (1), *Pseudomonas orientalis* (1), *Sporosarcina globispora* (10), *S. psychrophila* (2) 로 분류되었다.



표 10-1. List of fungal strain identified by ITS region sequence analysis

No	Strain No. (SF-)	Closest relative	Similarity (%)	Reference*
1	7172	<i>Penicillium</i> sp SF-7172	100	MK300685
2	7181	<i>Penicillium cairnsense</i> SF-7181	100	MK300684
3	7394	<i>Acremonium</i> sp. SF-7394	93.63	MK307778
4	7436	<i>Cladosporium tenuissimum</i>	99.67	LT603045
5	7437	<i>Epicoccum nigrum</i> , <i>Epicoccum layuense</i>	99.79	KR023621, MK100176
6	7443	<i>Helotiales</i> sp.	100	JX852365
7	7460	<i>Pseudogymnoascus destructans</i> , <i>Pseudogymnoascus verrucosus</i>	99.78	MF467856, MF467855
8	7469	<i>Thelebolus microsporus</i> , <i>Thelebolus balaustiformis</i>	100	MF043977
9	7472	<i>Thelebolus microsporus</i> , <i>Thelebolus globosus</i> , <i>Thelebolus balaustiformis</i>	100	MF043977, KM822751, NR_159056
10	7473	<i>Lachnellula fuscocanguinea</i>	95.32	MH858769
11	7575	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	99.42	MH865434
12	7477	<i>Chrysosporium merdarium</i>	99.8	MH859164
13	7479	<i>Cladosporium pini-ponderosae</i> , <i>Cladosporium asperulatum</i> , <i>Cladosporium phyllactinica</i> , <i>Cladosporium perangustum</i>	99.8	MH863371, MH863916, MH863929, MH863940
14	7480	<i>Chrysosporium merdarium</i>	99.8	MH859164
15	7483	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	100	MH865434
16	7493	<i>Thelebolus globosus</i> , <i>Thelebolus balaustiformis</i> , <i>Thelebolus microsporus</i>	100	MF043977, KM822751, NR_159056
17	7496	<i>Cladosporium perangustum</i>	99.8	MH863940
18	7497	<i>Cladosporium perangustum</i>	100	MH863940
19	7498	<i>Thelebolus globosus</i> , <i>Thelebolus balaustiformis</i> , <i>Thelebolus microsporus</i>	100	MF043977, KM822751, NR_159056
20	7501	<i>Chrysosporium merdarium</i>	99.8	MH859164
21	7503	<i>Trametes versicolor</i>	99.48	KJ995921
22	7504	<i>Cladosporium perangustum</i>	99.81	MH863940
23	7505	<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	99.89	MH865434
24	7511	<i>Urceolella carestiana</i>	94.59	JN033443
25	7513	<i>Pseudogymnoascus verrucosus</i>	100	MF467855
26	7514	<i>Pseudogymnoascus destructans</i>	100	MF467856
27	7519	<i>Cosmospora arxii</i>	98.99	MF467860
28	7520	<i>Penicillium fagi</i>	99.62	MH861113
29	7528	<i>Candida davisiana</i>	99.23	KY102044
30	7529	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	98.83	MF467861
31	7537	<i>Candida davisiana</i>	99.79	MF467858
32	7540	<i>Candida davisiana</i>	100.00	KY102044
33	7542	<i>Cleistothelobolus nipigonensis</i>	96.06	KC492060
34	7546	<i>Candida davisiana</i>	99.35	KY102044
35	7547	<i>Sagenomella alba</i>	92.35	MH860843

* GenBank accession number

제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

1. 연구개발 목표의 달성도

목 표	달 성 도 (%)	내 용
○ 극지미생물 자원의 분리 및 확보 (200점 이상)	100	○ 극지시료로부터 세균(150), 진균(132)을 포함하여 총 282점을 순수분리 및 보존완료
○ 극지 미생물 유래 추출물 확보 (120건 이상의 추출물 DB 구축여부)	100	○ 고체배지를 통한 배양체 확보, ethyl acetate를 이용한 추출 및 농축 - 추출물 확보 : 132건 확보(21점은 추가 진행중) ○ 공동연구팀인 극지연구소(대사체 연구) 및 원광대(신규물질 확보)에 추출물을 제공 ○ 생리활성검색 : 132점의 균주로부터 확보된 추출물을 이용하여 항당뇨 기능 검색(31종은 추가진행중)
○ 우수균주의 분류 동정 (10건 이상)	100	○ 우수균주 선정을 위한 온도별 성장 특성조사 - 세균 (132점), 진균(109점)완료 ○ 분자생물학적 동정 완료 - 세균 (18점), 진균 (35점)에 대하여 분자생물학적 분류동정
○ 기타 성과	100	○ 논문투고(1건) ○ 학술대회 발표(2건) ○ 인력양성 (석사 1명) - 석사학위(최유리, 2019.2)

○ 논문투고 : 1건



Anti-neuroinflammatory effect of 6,8,1'-tri-O-methylaverantin, a metabolite from a marine-derived fungal strain *Aspergillus* sp., via upregulation of heme oxygenase-1 in lipopolysaccharide-activated microglia



Kwan-Woo Kim ^{a,1}, Hye Jin Kim ^{a,1}, Jae Hak Sohn ^b, Joung Han Yim ^c, Youn-Chul Kim ^a, Hyuncheol Oh ^{a,*}

^a College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 54538, Republic of Korea
^b College of Medical and Life Sciences, Silla University, Busan 41958, Republic of Korea
^c Korea Polar Research Institute, KORDI, Yeosu-gu, Incheon 21990, Republic of Korea

2. 대외 기여도

- 극지자원은 접근성이 어려워 자원의 확보와 활용성에 극히 제한되어 있어 학계 및 산업계에서 활용성이 제한되어 있음.
- 본 연구를 통하여 극지해생물로부터 극한미생물자원, 추출물제조, 생리활성검색 및 우수활성균주의 분류동정자료의 활용성을 높이기 위해 기초자료(DB구축)를 제공함으로써 학계 및 산업계에서 신규소재의 발굴을 위한 연구활성화 도모
- 공동연구팀과 연계를 통하여 신규천연물 및 대사체 연구를 위한 자원을 제공함으로써 본 과제를 통한 성과활용을 극대화에 기여



○ 학술발표 : 2건

- 학회발표 : 2건 (2018 한국미생물학회 학술대회, 2018, 06월)
 - A048 Diversity and bioprospecting of cold adapted marine fungi isolated from the King George Island and Southern Chile
 - L043 The effect of Cold temperature on the growth and diversity of bacteria isolates from the King George Island and Southern Chile

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 세계적으로 생명자원 확보경쟁이 치열해지는 상황에서 “극지 생명자원의 확보 및 보존
⇒ 가치 발굴 및 정보화 ⇒ 활용 및 산업화의 운영체계 구축”이라는 극지 미생물자원의
선순환 구조를 위한 거시적 구도 하에서 극지유래 생명자원의 가치 발굴 및 정보화 단계
를 촉진시키는 촉매의 역할을 할 것으로 기대된다.
- 극지 미생물자원의 분리 및 보존을 통하여 다양한 국내외 연구팀 및 연구분야의 정보를
제공함으로써 극한미생물연구 활성화제공
- 추출물의 확보 및 생리활성검색의 DB화를 통하여 기초연구 및 산업화 연구개발기간 단
축, 연구비용 절감 등을 위한 극정적인 효과를 제공
- 공동연구팀과의 연계를 통하여 대사체의 생리활성을 기초로 하여 미지의 생명현상 규명
또는 질병현상 규명과 관련된 연구 분야에 chemical probe 으로도 활용이 가능하다.
- 공동연구팀과의 질병현상규명 및 산업화 연계를 진행 중
- 새로운 물질의 제조나 생산에 대한 관련 특허의 확보가 가능하여 물질특허 외에도 이의
활용에 의한 수입도 가능하다.
- 국내에서 최종 상품화에 성공하면 관련 식품의약산업이나 제약산업의 성장과 활성화에
획기적인 전기를 마련할 수 있다.

부록 1. 극지세균의 염기서열

>SB-3776

AGCGGAATTCGGGCCTGCCTTAAACATGCGAGTCAAGACGATGAACCTCACTTGTGGGGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGT
GAGTAACCTGCCCTTAACTCTGGGATAAGCCTTGGAAACGGGGTCTAATACTGGATATTGACTTTACCTCGCATGGGTTTGGTTGAA
AGATTTATTGGTTTGGATGGACTCGCGCCTATCAGCTTGTGGTGGGTAATGGCTCACCAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGA
GAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATGGACAATGGCGGAAAGCT
GATGCGAGCGACGGCGGTGAGGGATGACGGCCTCGGGTGTGAAACCTCTTTCAGTAGGGAACAACCTCTTTCAGTGGGTAAGTGGG
GTAAGTGGGTAAGGAGCGGGTAACTACGTGCCAGCAGCGGGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTATCCGGAAATATTGGCGGTA
AAGAGCTCGTAGCGGTTTGTCCGGTCTGCCGTGAAAGTCCGGGGCTCAACCCGGATCTGGCGTGGTACGGGAGACTAGAGTGTATG
TAGGGGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACCCGATGGCGAAGGCAAGGCTCTGGGCATTA
CTGACGCTGAGGAGCGAAAGCATGGGAGCGAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCATGGCGTAAACCTTGGGCACTAGGTGTGGGG
GACATTCACGTTTCCGCGCGGTAGCTAACGATTAAGTGCCTCCGCTGGGGAGTACGGCGCAAGGCTAAACCTCAAAGGAATTGAC
GGGGCCCGCACAAGCGGGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACGGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGAACCTGGAAACACTT
GGAAACAAGTGCCTGGTTCGGTTCGGTTACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTACGCTCGTGTGAGATGTGGGTTAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCTCGTCTATGTTGCCAGCAGTGTAGTGGGGACTCATAGGAGACTGCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGAGGAGC
ACGTCAAATCATATGCCCTTATGCTTGGGCTTCACGCATGCTACAATGGCCGCTACAATGGGTTGCGATCTGTGAGGTGGAGCT
AATCCCAAAAGCCGCTCAGTTCGGATTGGGGTTCGAACTGACCCCATGAAGTCCGGATCGCTAGTAATCGCAGATCAGCAACGC
TGCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCGCCGCTCAAGTACGAAAGTGTGTAACACCCGAAGCCGTTGGCTAACCCCTTG
TGGGAGGGAGCTTCGAAGGTGGAATGCCAGTTCCA

>SB-3795

CGCCAGTGGGGGATGCTATACATGCGAGTCAAGGAAATGATGAGAGCTTGTCTCTGATTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTG
GGCAACCTGCCCTACAGATGGGGATAACTCCGGAAACCGGGCTAATACCGAATAATCAGTTTGTCCGATGGACAACCTCTGAAAG
ACGGTTTCCGGTGTCACTGTAGGATGGCCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGA
CCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGAA
AGTCTGATGGAGCAATGCCCGGTGAGCGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTGTGAAGGAAGAACACGTACGGGAGTAACTG
CCCGTGCATGACGGTACCTTATTAGAAAGCCAGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGGA
ATTATTGGGGTAAAGCGCGCGGAGCGGTTCTTTAAGTCTGTGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATGGAACTGGA
GAACTTAGTACAGAAGAGGAAAGCGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGGC
TTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGGCGGAAAGCGTGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACCGCTAAACGATGAG
TGCTAAGTGTAGGGGTTCCCGCCCTTAGTGTGACGCTAACGATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGCCCAAGGCTGAAACT
CAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGTCTTGACATCC
CACTGACCGGTGTAGAGATACATCTTCCCTTCGGGACAGTGGTGCAGAGTGGTGCATGGTTGTCGTACGCTCGTGTGAGATGT
TGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTATCTTAGTTCGACGATTCAGTTGGGCACTCAAGTGTACTGCCGGTATAAACCGG
AGGAAGTGGGGATGACGTCAAATCATATGCCCTTATGACCTGGGCTACACAGTGTCAATAATGGATGATACAGAGGGTTGCCAAC
CCGGAGGGGAGCCAATCCATATAAATCATTCAGTTCGGATTGGAGGCTGCAACTCGCTCCATGAAGCCGGAATCGTGTGATTAATC
GTGGATCAGCATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCGCTACACACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCCGGT
GGTAACCTTACGGGAGCCAGCCGCAAGTGCAGAAATTT

>SB-3798

GGCAGTTGGCATGCTATACATGCGAGTCAAGGAAATGATGAGAGCTTGTCTCTGATTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTG
GGCAACCTGCCCTACAGATGGGGATAACTCCGGAAACCGGGCTAATACCGAATAATCAGTTTGTCCGATGGACAACCTCTGAAAG
ACGGTTTCCGGTGTCACTGTAGGATGGCCCGCGGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGA
CCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGAA
AGTCTGATGGAGCAATGCCCGGTGAGCGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTGTGAAGGAAGAACACGTACGGGAGTAACTG
CCCGTGCATGACGGTACCTTATTAGAAAGCCAGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGGA
ATTATTGGGGTAAAGCGCGCGGAGCGGTTCTTTAAGTCTGTGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATGGAACTGGA
GAACTTAGTACAGAAGAGGAAAGCGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGCGGC
TTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGGCGAAGCGTGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACCGCTAAACGATGAG
TGCTAAGTGTAGGGGTTCCCGCCCTTAGTGTGACGCTAACGATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGCCCAAGGCTGAAACT
CAAAGGAATTGACGGGGACCCGCAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGTCTTGACATCC
CACTGACCGGTGTAGAGATACATCTTCCCTTCGGGACAGTGGTGCAGAGTGGTGCATGGTTGTCGTACGCTCGTGTGAGATGT
TGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCTTGTATCTTAGTTCGACGATTCAGTTGGGCACTCAAGTGTACTGCCGGTATAAACCGG
AGGAAGTGGGGATGACGTCAAATCATATGCCCTTATGACCTGGGCTACACAGTGTCAATAATGGATGATACAGAGGGTTGCCAAC
CCGGAGGGGAGCCAATCCATATAAATCATTCAGTTCGGATTGGAGGCTGCAACTCGCTCCATGAAGCCGGAATCGTGTGATTAATC
GTGGATCAGCATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCGCTACACACGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCCGGT
GGTAACCTTACGGGAGCCAGCCGCAAGTGCAGAAATTT

>SB-3805

GGGGCAATGGCGGGCGGGCTAACCTGCGAGTCAAGCGGTAGAGAGAAGCTTGTCTCTTGTAGAGCGGGGACGGGTGAGTAATGCCT
AGGAATCTGCCTGGTGTGGGGATAACGTTCCGAAACGGCAGCTAATACCGCATACGCTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGG
CCTTGGCTATCAGATGAGCCTAGGTGCGATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGCTACCAAGCGGACGATCGCTAATCGTCTGAGAG

GATGATCAGTCCACACTGGAACACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGA
TCCAGCCATGCCCGGTGTGTGAAGAAGGTTCTCCGGATTGTAAGCACTTAAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTTACCTAATACGTTGATTGT
TTTGACGTTACCCGACAGAATAAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGGTAAATACAGAGGGTGAAGCGTTAATCCGAAATTACT
GGGCGTAAAGCGCGGTAGGTGGTTTGTAAAGTTGGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCATTCAAAACCTGACTGACTA
GAGTGTGGTAGAGGGTGGTGAATTTCTGTGTAGCCGTTGAAATGGGTAGATATAGGAAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCCACACTG
GACCAAGTCCGACTGAGGTGGGAAAGCGTGGGAGAAACACAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCACCGCTTAAACGATTGCAAACTAG
CCGTTGGGAGCCTTAGCTCTTAGTGGCCAGCTAACGCATTAAGTTGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAAACCTCAAATG
AATTGACGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGGCTTGACATCCAATGAA
CTTTCTAGAGATAGATTGGTGCCTTCCGGAACATTTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAA
TGCCCGTAAACGAGCGCAACCTTGTCCCTTGGTTAGTACCAGCAGTAAATGGTGGGCACTTAAAGAGACTGCCGGTGAACAACCGGAGGA
GTGGGGATGAGGTCAAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCGCGGAG
GTGGAGCTAATCCCAAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGGGAATC
AGAATGTCGCGGTAATACGTTCCCGGGCTTGTACACACCCCGCTCACACCATGGGAGTGGTGTGACCAGAAGTAGCTAGTCTAAC
CTTCGGGAGGACGGTACCACGGTTGATCCGTCCT

>SB-3820

AGCGAAGGGGGCGCATGCCTAATACATGCAGTCGAGCGGAATGATGAGAGCTTGTCTCTGATTTTAGCGGGCAGCGGGTGGTAAACA
CGTGGGCAACCTGCCCTACAGATGGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAAATACCGAATAATCAGTTTGTCCGATGGACAACCTCTG
AAAGACGGTTTCGGCTGTCACTGTAGGATGGGTCAGCCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGGCTACCAACGCAACGATGCGGTA
GCCGACCTGAGAGGGTGTACGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGG
ACGAAAGTCTGATGGAGCAATGCCCGGTGAGCGAAGAAGGTTTCCGGATCGTAAAGCTCTGTGTAAGGGAAGAACAGCTACGGGAGT
AACTGCCGTGCCATGACGGTACCCTTATTAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCGCGGTAATACGTTAGTGGCAAGCGTGT
CCGGAATATTGGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGTTCTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAA
CTGGAGAACTTGAGTACAGAAGGAAAGCGGAATTCACGCTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACAGTGGCGAAG
CGGGCTTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGAGCAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCGGTAACGA
TGAGTGGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGTGTCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGA
AACTCAAAGGAATTTGACGGGGACCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTTTCAC
ATCCCACTGACCGGTGATAGAGATACATCTTTCCCTTCGGGGACAGTGGTACAGGTTGGTGCATGGTTGTGTCAGCTCGTGTGTCGAGA
TGTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCGCTTGAATCTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCGCGGTGATGATA
CCGGAGGAAGGTGGGGATGACGCTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGATACAGAGGGTTGC
CAACCCCGGAGGGGAGCCAATCCCATAAAATCATTCCAGTTCGGATTGGAGGCTGCAACTCGCTCCATGAAGCCGGAATCGCTAGT
AATCGTGGATCAGCATGCCACGGTGAATAGGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCCGCTCACACCAAGGAGGTTGTAAACCCGAAGTTC
GGTGGGTTAACCTTACGGAGCCAGCCGCAAGGTGACAGAAATTGT

>SB-3876

TGGGACATGGCGGCTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGAATGATGAGAGCTTGTCTCTGATTTTAGCGGGCAGCGGTGAGTAAACAC
GTGGGCAACCTGCCCTACAGATGGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAAATACCGAATAATCAGTTTGTCCGATGGACAACCTCTGA
AAGACGGTTTCGGCTGTCACTGTAGGATGGGCCCGCGCGCATTAGCTAGTTGGTGGGTAATGGGCTACCAAGCAACGATGCGTAGC
CGACTGAGAGGGTGTACGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGAC
GAAAGTCTGATGGAGCAATGCCCGGTGAGCGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTGTGAAGGGAAGAACACGCTACGGGAGTAA
CTGCCGTGCCATGACGGTACCCTTATTAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTTAGTGGCAAGCGTTGTCC
GGAATATTGGGGCTAAAGCGCGCAGCGGCTTCTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATGGAAAAT
GGAGAACTTGAGTACAGAAGGAAAGCGGAAATTCACGCTGTAGCGGTGAAATGGTGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGC
GGCTTCTGTGCTGTAACCTGACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGAGCAACAGGATTAGATACCTTGGTAGTCCACGCGGTAACAGAT
GAGTGTAAAGTGTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGTGTCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAA
ACTCAAAGGAATTTGACGGGGACCCGCAACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAGTCTTGACA
TCCCACTGACCGGTGTAGAGATACATCTTTCCCTTCGGGGACAGTGGTGACAGGTTGGTGCATGGTTGTGTCAGCTCGTGTGTCGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTGAATCTAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCAAGGTGACTGCCGGTGAATAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGCTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGATACAGAGGGTTGCCA
ACCCCGGAGGGGAGCCAAATCCATAAAAATCATTCCAGTTCGGATTGGAGGCTGCAACTCGCTCCATGAAGCCGGAATCGCTAGTAA
TCGTGGATCAGCATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCCCGCTCACACCAAGGAGGTTGTAAACCCGGAAGTCCG
TGGGTTAACCTTACGGAGCCAGCCGCAAGGTGAACAGAAATGTG

부록 2. 극지진균의 염기서열

>SF_7127

AGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGAGTGAAGGGCCCTCTGGTCCAACCTCCAC
CCGFTGTTTATTTGACCTTGTGCTTCCGGTGGCCCGCTCACGGCCCGCGGGGGCTTCTGCCCGGGTCCGCGCCACCGGAGACACC
ATTGAACTCTGTCTGAAGATTGCAGTCTGAGCATAAACTAAAATAAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGCATCGAT
GAAGAACGAGCGAAAATGGGATAACTAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTA
TTCCGGGGGATGCTCCTCCGAGGGTCACTGGCCCTCAAGCAGCGCTTGTGTGGTGGGCTCCGCTCCCGGGGACGGGTCCGAAAG
GCAGCGCGGACCGGAGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCGCGCGCCAGCCGACAACCAATCAT
CCTTTTTTCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATA

>SF_7181

CATTTAGAGGAAGTAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGAGTGAAGGGCCCTCGGGGTCCAA
ACCTCCACCCCGTGTAAACGAACCTTGTGCTTCCGGCGGCCCTCACGGCCCGCGGGGGCATCTGCCCGGGTCCGCGCCCGCCG
AAGCCACCTGTGAACCTGTGCTGAGATGCAAGTCTGAGACAATTAATAATTAATAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGG
GCATCGATGAAGAACCAGCGAAATGGGATAACTAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTCGGCC
CTCTGGTATTCCGGAGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCAATGTGCCCTCCAGCCCGGCTGGTGTGGTGGGTCGCCCGCCCTTCCGGGGG
GGCGGGCCGAAAGCGCGCGGACCGGCTCCGCTCCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTTGTAGGCCCGCGCGCCAGCCGAC
CCGACCCCTCAATCTATTTTTCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGG

>SF_7394

AACAAGTCTCCGTTGGTGAACCAAGCGGAGGGATCATTACAGAGTGTAAAACCTCCCAAAACCCCTGCGAACATACCAGTCTGTGCT
CGGCGGACCGCCCGCGGCCATCGCTGTCGCCGAACAGGCGCCCGCGGGGACTCAAACCTTGTGTTTACCCCAAGTGGCATTAT
CTGAGTGGGCTTAAAGCAACAATAATGAATCAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACCAGCGAAATTC
GATAAGTAATGTGAATTCGAGAAATCGAGTAATCAAGAACTTTGAAGCAGCATTCGGCCCGGATCTTTCGGCGGCGATGCCTGT
CTGAGCGTCAATTCAAACCTCCCGCGGCTTCTGTGTCGGGGGCTGTGGGGATCGACGACCCCAACCGCGGACGTCGTCCTTAAA
GCCAGTGGCAGCTCGCCCGGCTCCTCGCGAGTAAATTAATCTCGCGGGGAGCCAGTGAAGGATCGCGGTAACCCCAACT
CTTCAATGGTTGACCTCAGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCATA

>SF_7436

AATACGGTCTCTGATGACCTGCGGAGGGATCATTACAAGTGACCCCGGTTACCACCGGGATGTTCAACCCTTTGTGTCCGACT
CTGTTGGCTCCGGGACCCCTGCCTTCCGGCGGGGCTCCGGGTGGACACTTCAAACCTTTGGGTAACCTTGCAGTCTGAGTAAACTT
AATTAATAAAATAAAACCTTTAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACCAGCGAAATGGGATAAGTAAATGTGAATT
GCAGAAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGGCCCGTGGTATTCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCAATTCACCA
CTAAAGCCCTCGCTTGGTATTGGGCAACCGGCTCCGCGCGTGCCTCAAATCGACCGGCTGGGCTTCTGTGCCCTAAGCGTTGTGGAAA
CTATTCTGCTAAAGGTTGTTCGGGAGGCTACGCGTAAAACAACCCCAATCTAAGGTGACCTCGGATCAGTAGCATACCCGT

>SF-7437

CGGCGGGATTCAGTATGTGGCTGCGGGAGGATCATTACCTAGAGTTTGTAGACTTCGGTCTGCTACCTCTTACCATGTCTTTTGA
GTACCTTCGTTTCTCGGGGGTCCGCGCGGATGGACAACATTCAAACCCCTTGCAGTTGCAATCAGCGTCTGAAAAACAATAATA
GTTACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACCAGCGAAATGGGATAAGTGAATTCGAGAATTCGA
GTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTTGGTATTCATGGGCGATGCCTGTTCGAGCGTCAATTTGACCTTCAAGCTCT
GCTTGGTGTGGGTTGTGCTCGCTCTGCGTGTAGACTCGCTTAAACAATTTGCGAGCGCGGATTTGATTTCCGAGCGCAGTACA
TCTCGGCTTTGCATCGTAACGACGAGTCAAAAAGTACATTTTACACTCTGACCTCGGCTCAGGTATGGATGCCCAGC

>SF-7443

CAGGCGGGTCTCTGCTGTGGACTGCGGAGGGATCATTACAGAGTTCATGCCCTTACGGGTAGACTTCCACCCCTATGTTATTTAC
TTTGTGCTTTGGCGGGCTCAGGCTCACGCGCGGCTACCGCCCGGCTGCTGCTGTAAGCGCCCGCAGAGACCCAAAACCTGATTATTA
GTGTGGTGTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACCAGCGAAATGGGAT
AAGTAAATGTAATTCAGTGAATTCAGTGAATTCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTTGGTATTCGAGGGGATGCCTGTTCG
AGCTCAATACAACCCCTCAGCCTGGCTGGTATTGGGCTTCGCCACTACCTGGCGGGCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCGTCGAGGC
CCTGAGCGCAGTAAATACCTCGTATAGGACCCCGGGTGTGTGCCATCAACCCCAACTTCTAAGTTTACCTCGGCTCGTCTGGA
GGAATACTGAGG

>SF-7460

CGGGAAGGTTTATCAGGCGGAGGACTGATCGATGGACGTTGGAGCATATCACCCGGGTTGCCGAAAGGCTCTCGGGTAACTACCAC
CTTGTGTTAATTACACTTGTGCTTTGGCAAGCTGCCCTCGGGTGTGCTGCTGTAAGCGCCCGCAGAGACCCAAAACCTGATTATTA
GTGTGGTGTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACCAGCGAAATGGGAT
AAGTAAATGTAATTCAGTGAATTCAGTGAATTCGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCG
CCCCCGGATTCGCGGGGCTGCTGTCGAGCGTCAATACAACCTCAGCTCAGTTGGTATTGGGCCCGGCTTCCGCGGGGCTTCCGCGGGCC
CTAAGTCAAGTGGCGGTGCCCTCGGCTCCGAGCGTAGTAATCTTCTGCTGAGGTTCCGCTGCTGCTCGCCAGCAACCCACCA

ATCGTCGCAGCATGTCAATAACTCGTCGATGGATGCCCTCC

>SF-7469

GTACTGATCGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTAAAGAGACGTTGCCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATTATACCTTTG
TTGCTTTGGCAGACCCGGCTTCGGCCACCGGCTCGGGCTGGTCAGTGTCTGCCAGAGGACCTAAAACCTGTTTGTAAATATTGCTG
AGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT
GAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATT
ACAACCCCTCAAGCTTTGCTTGGTATTGGACATTGCCAGTTCTGGCAGGTCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTGGCTCAAGCGTA
GTAATTTCTTCGCTTTGGAGATCCAAGTGGTTACTTGCCAATAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGGTAGATCCCCAA
GT

>SF-7472

CGTCGGGGTTTCGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTAAAGAGACGTTGCCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATTATACCTT
TGTGCTTTGGCAGACCCGGCTTCGGCCACCGGCTCCGGCTGGTCAAGTGTCTGCCAGAGGACCTAAAACCTGTTTGTAAATATTGTC
TGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCA
TTACAACCCCTCAAGCTTTGCTTGGTATTGGACATTGCCAGTTCTGGCAGGTCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTGGCTCAAGCG
TAGTAATTTCTTCGCTTTGGAGATCCAAGTGGTTACTTGCCAATAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGGTAGATCCCAT

>SF-7473

GGCGTAGCTCCGTAGGTGACCTGCGGAAGGATCATTACAGTGTAGCTGCCCTCACGGGTAGCAAACCTCACCTTGTGATTATATCT
TTGTTGCTTTGGCACCGCGCTTCGGGTACCGGCTTCGGCTGGCTCGCGGTGCCAGAGGACCTTAAAACCTGTAATGTTAGTGTGCT
GAGTACTATCTAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCGATAAGTAATG
TGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTGGTATTCCGCCAGGCATGCCTGTTGAGCGTCA
TTAAACCAATCCAGCCTTGTGCTTGGGTCTTGGGCTTCGCCCTTTGGCGGGCCCTAAAATCAGTGGCGGTGCCCTTCTGGCTCAAGCGT
AGTAATACTCCTCGCTATAGATGTCATATGGTGTCTTGGCAGTAACCCCAATTTTAAAGTTGACCTCGGATCAGGTAGGATGCC
GCTCT

>SF-7475

CGACCGTTTTCGTAAGTGGACCTGCGGAAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTTGCCGAAGGCCCTCCCGGTAACTACCACCTTT
GTTTATTACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCCTGCCCTCGGGTGTGGCTCCGGCCGGCAGCGCTTGGCAGAGGACCTAAAACCTGTTT
GTCTATACTGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAAT
GCGATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCT
GTCCGAGCGTCATTACAACCCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGCCCCCGCCCGGGGGCCCTAAAAGTCAAGTGGCGGTGCCCTCCGGC
TCCGAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCGTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGCTCAGT
AGCATGCCAGT

>SF-7477

CATGCGGTTTTTCGTAAGTGGACCTGCGGAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTTGCCGAAGGCCCTCCCGGTAACTACCACCTTTG
TTTATTACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCCTGCCCTCGGGTGTGGCTCCGGCCGGCAGCGCTTGGCAGAGGACCTAAAACCTGTTT
TCTATACTGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAAT
CGATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGGCCTG
TCCGAGCGTCATTACAACCCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGCCCCCGCCCGGGGGCCCTAAAAGTCAAGTGGCGGTGCCCTCCGGCT
CCGAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCGTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGATCATCTAT
ATGCCCAT

>SF-7479

CGTCGGGTCTCGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTACAAGTGACCCCGGTCTACCACCGGATGTTCATAAACCTTTGTTGTCGACT
CTGTTGCCCTCCGGGGCGACCTGCCCTTCGGGGGGGGCTCCGGTGGACACTTCAAACCTCTGCGTAACTTTGACGTCGAGTAACTT
AATTAATAAATTTAAAACCTTTAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTAAT
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGGCCTGTTGCGGCGTCAATTCACCA
CTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACCGGTCCGCCGGTGCCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTCTGTCCCCTAAGCGTTGTGGAAA
CTATTGCTAAAGGGTGTTCGGGAGGCTACGCCGTAAAACAACCCCATTTCTAAGGTTGACCTCGGCTCAGTATGATGCCCGT

>SF-7480

AGGGAATTCATCAGTCGGGAGGATGCGGAGGATCATTACAGTAGTCGCCCTGGGTGCCGAAGGCCCTCCCGGTAACTACCACCTTT
TGTTTATTACACTTTGTTGCTTTGGCAGGCTGCCCTCGGGTGTGGCTCCGGCCGGCAGCGCTTGGCAGAGGACCTAAAACCTGTTT
TGCTATACTGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAA
TGCGATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCC
TGTCCGAGCGTCATTACAACCCCTCAAGCTCAGTTTGGTATTGGGCCCCCGCCCGGGGGCCCTAAAAGTCAAGTGGCGGGGGCCGTCGG
CTCCGAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCGTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGTAT
TAGATGCCCTTC

>SF-7483

CGACCGATTTCGTAAGTGGACCTGCGGAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTTGCCGAAGGCCCTCCCGGTAACTACCACCTTTGT
TTATTACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCCTGCCCTCGGGTGTGGCTCCGGCCGGCAGCGCTTCCGAGGACCTAAAACCTGTTTGT
CTATACTGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCG
ATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTC
CGAGCGTCATTACAACCCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGCCCCCGCCCGGGGGCCCTAAAAGTCAAGTGGCGGTGCCCTCCGGCTCC
GAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCGTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTCAGGTTGACCTCGGCTCATCTAGG
ATGCCCTG

>SF-7493

CGACGGTTTCGTAAGTGGACCTGCGGAGGATCATTAAAGAGACGTTGCCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATTATACCTT
TGTGCTTTGGCAGACCCGGCTTCGGCCACCGGCTCCGGCTGGTCAAGTGTCTGCCAGAGGACCTAAAACCTGTTTGTAAATATTGTC
TGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
GTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTCTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCA
TTACAACCCCTCAAGCTTTGCTTGGTATTGGACATTGCCAGTTTCTGGCAGGTCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTGGCTCAAGCG
TAGTAATTTCTTCGCTTTGGAGATCCAAGTGGTTACTTGCCAATAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGGTAGCATGCCA
AGT

>SF-7496

CGGCGTTTTTCAGTAGGTGACCTGCGGAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTTGCCGAAGGCCCTCCCGGTAACTACCACCTTT
GTTTATTACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCCTGCCCTCGGGTGTGGCTCCGGCCGGCAGCGCTTGGCAGAGGACCTAAAACCTGTTT
GTCTATACTGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAAT
GCGATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCT
GTCCGAGCGTCATTACAACCCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGCCCCCGCCCGGGGGCCCTAAAAGTCAAGTGGCGGTGCCCTCCGGC
TCCGAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCGTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGCTCAGGT
ATGATGCCCTAGT

>SF-7497

CGACTGACTACGTAGGTGACCTGCGGAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTTGCCGAAGGCCCTCCCGGTAACTACCACCTTTGT
TTATTACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCCTGCCCTCGGGTGTGGCTCCGGCCGGCAGCGCTTGGCAGAGGACCTAAAACCTGTTTGT
CTATACTGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCG
ATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTC
CGAGCGTCATTACAACCCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGCCCCCGCCCGGGGGCCCTAAAAGTCAAGTGGCGGTGCCCTCCGGCTCC
GAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCGTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTCAGGTTGACCTCGGATCATGTAGG
ATGCCAG

>SF-7498

CAGAGGTATTATCCGTAAGTAGAAGTGGGAGGATCATTAAAGAGACGTTGCCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATTTA
TACCTTTGTTGCTTTGGCAGACCCGGCTTCGGCCACCGGCTCCGGTGGTCAAGTGTCTGCCAGAGGACCTAAAACCTGTTTGTAAAT
ATTGCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTCGA
GGCTCATTACAACCCCTCAAGCTTGGTGTGGTATTGGACATTGCCAGTTTCTGGCAGGCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCCTCCGGCTCC
CAAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGATCCAAGTGGTTACTTGCCAATAACCCCCAATTTTTCAGGTTGACCTCGGATCATGTAGT
AGCATGCCCTCG

>SF-7501

GCCAATAGCTTCGTAAGTGGACCTGCGGAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTTGCCGAAGGCCCTCCCGGTAACTACCACCTTTGT
TTATTACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCCTGCCCTCGGGTGTGGCTCCGGCCGGCAGCGCTTGGCAGAGGACCTAAAACCTGTTTGT
CTATACTGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACCGCAGCGAAATGCG
ATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTC
GAGCGTCATTACAACCCCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGCCCCCGCCCGGGGGCCCTAAAAGTCAAGTGGCGGTGCCCTCCGGCTCC
GAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCGTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGGTAGGGA
TCCAGT

>SF-7503

CGAAGCGGTTTTTCGTAAGTGGACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAGTTTGAACGGGTTGTAGCTGCGCTTCCGAGGATGTGCACGC
CCTGCTATCCACTTACCCCTGTGACTTACTGTAGTTGGGTGGGCTCCTTTGGGGAGCATCTGCGCGGCTATGTATACTACAA
ACGCTTTAAAGTATCAGAAATGAACCGGCTAACGCATCTATAATAACAATTTAGCAACGGATCTTGGCTTCGCAATCGATGAA
GAACGAGCGAAATGCGATAAGTAATGTAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCGCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTGTC
CGAAGGATCAGCTGTTGAGTGTCAAGTAATTCCTAATCTTAAATCTTGAATCTATAAGCTTGGACTTAAAGCTTGGAGGCTTGTGTCGGCC
TGGTTGGTGGCTTCTTGAATGCATTAAGCTACGATTCGGTACGGATCGGCTCAGTGTGATAATGTCTACGCTGTGACCGTGAAGTG
TTTTGGCGAGCTTCAACCGTCCATTAGGACAACTTTTTAACATCTGACCTCAACTCATCTAGACTGCCCGCT

>SF-7504
AACGATTCGTAGTGACCTCGGGAAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTTGCCGCAAGGCCCTCCCGGGTAACTACCACCTTTGGTTTA
TTACACTTTGGTTGCTTTGGCAAGCTCGCCCTCGGGCTGGCTCCGGCCGGGAGCGCTTGCCAGAGGACCTAAACTCTGTTTGTCTA
TACTGTCTGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCCCTGGTATTTCCGGGGGGCATGCGCTCGCC
AGCGTCATTAACAACCTCAAGCTCAGCTGGTGGTTGGGCCCGCCGCGCCGGCCCTAAAGTCAGTTGGCGGTGCGCTCGCGCTCGAG
CGTAGTAATTTCTCGCTCTGGAGTCCGGTCTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGGTAGGATG
CCCGT

>SF-7505
GGAGCAATCTTAATGATTTCTCCGTGGCGACACTTATGGAAAGCCTTTGCAGCCCCGCAAGGGGTGGGGAGCAGCACTGTAATAAAGTC
TCCCTTTCATGCAAGTCAGCACCCGCTGGCAACACGATCGAATTTGACGGGGACGCTCAAAGCCTACAACCAACCTACCCTGGGAAACC
GAGGTAGGGGCCCCGTAACTACACGGGGTGGTAAAAGAAATGTATGGATCTCCCTCCGGGAACTATGGATAATCCGACGCGAAGA
CCCTAAGTAGCGCTAGCTATATGGGTAACGTTACAGACTAAGTGGTGTGGGTGGAGCCTAGCTCTGCTTAAAGATATAGTCGGGGCC
TGCGTGAAGCGTGGGGTGGAGTCCGCAAGCTGCAACCGTTCGGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACAGTAGTCGCCCGGGTT
GCCCAAGGCTCCCGGTAACCTACACCCCTTTGTTTATACACTTTGTTGCTTTGGCAACCGTGCCTCGGGCTGCTGGCTCGGGCCG
GCGAGCGCTTGCAGAGGACCTAAACTCTGTTTGTATACTGTCTGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTT
GGTCTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
ATTGGCCCGCTGGTATTCCGGGGGGCATGCGCTTCCGAGCGTCAATTACAACCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGCCCGCCGCGCCCG
CGGGCCCTAAAGTCAGTGGCGGTGCCGTCCGGCTCCGAGCGTAGTAATTTCTTCGCTCTGGAGGTCCGGTCTGTGCTCGCCAGCAAC
CCCAATTTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGGTAG

>SF-7510
AGGGACTTTGGGGTCTACCTGATCCGAGGTCACCTGACAAAATTTGGGGTGTGGCGAGCACACGACCCGACCTCCAGAGCGAGAAGAA
TTACTACGCTCGGAGCCGACCGCACCCGCACTGACTTTAGGGCCCGCAAGCGCGGGGCCAATACCAAGCTGAGCTTGAGGAAATG
TAATGACGCTCGGACAGGCTAGCCCCGGAAATACCAGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATATTCACTGAATTTGCGAATTC
CACATTACTTATCGCAATTTCCGCTCGTTCCTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAAGTTTAACTATTTATATAGTACT
CAGACATTTATAGACAAAAGAGTTTAGTTCCTTGGCAAGCGCTCGCCGGCCGGAGCCAGCAGCCGAGGGCAGGCTTTGCCAAAGCAAC
AAAGTGTAAATAAAACAAAGGGTGTAGGTTACCAGAGAGGCCCTTGGCGCAACCCGGGTGACTACTGTAATGATCTCCGCAAGTCAACC
TAGGAAATCTTTGCCCGC

>SF-7511
CAGTGGGTTATCAGTCGGTGGACTGCGGAGGATCATTACAGAGTTCATGCCCTCAGGGTACACTCCCACCTTGAATATACTACCTT
CGTTGCTTTGGCGAGCCGCTTCGGCTACCGACTTGGTTGGTACCGCTCGCCGGAACAACAACTCTGAATTAATTTGTCGCTGTA
GTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAATGTG
AATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCCCTGGTATTCGGGGGGCATGCTCTGTCGAGCGCTATTT
AAACCTCAAGCTCAGCTTGGTGTGGGGCTGCCACCGGCAGCCCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATCTGGCTCAAGCGTAGTAAT
TTCTCTCGCTATAGGTTCCCGGTGGAGACTTTGCCAAAACCCACCAATTTCTCTATGTTGACCTCGAATCTGTCGAGCGATGCTCTG

>SF-7513
AGGCGCTTCGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTACAGTAGTCACCCGGTTGCCGAAGGCCCTCGGGTAACTACCACCTTTGGTTTA
TTACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCTCGCCCTCGGGCTGTGGCTCCGGCCGGGAGCGCTTGCCAGAGGACCTAAACTCTGTTTGTCTA
TAATGCTGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCCCTGGTATTCGGGGGGCATGCTCTGCG
AGCGTCAATTAACAACCTCAAGCTCAGCTTGGTATTGGGCCCGCCGCTTCGGCGGGCCCTAAAGTCAGTGGCGGTGCCGTCCGGCTCCGA
GGTAGTAATTTCTCTCGCTCTGGAGTCCGGTCTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTTCAGGTGACCTCGGCTCAGGTAGATGC
CCCAT

>SF-7514
CTCGCTTCGTAGGTGACCTGCGGAGGATCATTACAGTAGTCACCCGGTTGCCGAAGGCCCTCGGGTAACTACCACCTTTGGTTTA
ACACTTTGTTGCTTTGGCAAGCTCGCCCTCGGGCTGTGGCTCCGGCCGGGAGCGCTTGCCAGAGGACCTAAACTCTGTTTGTCTATA
ATGCTCTGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAA
GTAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCCCTGGTATTCGGGGGGCATGCTCTGCGAG
CGTCAATTAACAACCTCAAGCTCAGCTTGGTATTGGGCCCGCCGCTTCGGCGGGCCCTAAAGTCAGTGGCGGTGCCGTCCGGCTCCGA
GTAGTAATTTCTCTCGCTCTGGAGGTCCGGTCTGTGCTCGCCAGCAACCCCCAATTTTTTCAGGTGACCTCGGCTCAGGTAGCATGCC
CT

>SF-7519
CGACGGGGTCTCGTTGGTGACAGCGGAGGGATCATTACCAGTATCAACTCCCAACCCCTGTGAACATACCTCATCGTTGCTTCGG
CGGGACCCGCCCCGCGCTCACCGGCCCGGAACAGCGCCCGCCGGAGGACCCCAACTCTGTTTAAATTTAGTGGCATATTTCTGAGT
CTCACAAAACAAAATGAATCAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA
ATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCCCGCAGTATTCGGCGGGCATGCTGTTTCGAGCGT
CATTTCAACCCCTCAAGCCCAACTTTCGGGGGACGGCTTGGTGTGGGGAGCGCCGCGCTTCCGGGCCCGCCCGAAATGCAGTGGCGA

CCTCGCCGAGCCTCCCTCGGAGTAGCACAACTCGACCCGGAGCGCGGAGACGGTACGCGCTAAAACGCCAACTTCTTAGAGTACG
TCGGCTCAGTAGTATGCCCT

>SF-7520
CGTCCGTTTCAGTAGGTGACCTGCGGAGGATCATTACCGAGTGGAGGCCCTTGGGTCCAACCTCCCACCATGTTTATTGTACCTTGT
TGCTTTCCGGGGGGCCGCTCACGGCCCGCCGGGGGCTTCTGCCCTCTGGCCCGCCGCGCGCAAGACACCAATGAACAACCTGTTGAAGAT
TGCAGTCTGAGCAATFAGCTAAATCAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCGGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG
ATACGTAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTCGCCCCCTTGGTATTCCGGGGGGCATGCGCTGC
CGAGCGTCAATGCTGCCCTCAAGCAGCGCTTGTGTGTGGGCCCGCTCTCTTCCCGGGGACGGGCCGAAAGGCAGCGCGCGCACCG
CGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCGCGCGGCTTCCGCAACCAATCAATCTGGATGCAGCGAG
ACATCAGATCATCTAGCAGCCCG

>SF-7528
CGCGAGTTTCGTAGTGACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAGAGCTTGCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATACATACCTT
TGTGTCTTTGGCAGGCCGCTTCGGCCACCGGCTCCGGCTGGTCCGGCTTGCAGAGGAAACCCAACTCTGTTTGTAAATATTGT
CTGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCTCCCTGGTATTCCGGGGAGCATGCTCTGTCGAGCGT
ATTACAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGCCGGTTCGGCGGGCCCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTCCGGCTCAAGCGT
AGTAATTTCTCTCGCTTCGGAGACCCGGGTGGTGTCTGCCAGCAACCCCAATTTTTTCAGGTGACCTCGGCTCAGGTAGGATGCCCG
T

>SF-7529
TCCATCTCTTCTTGTCCATTTAGAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTTGGTGAACAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTAT
CAACTCCCAACCCCTGTGAACATACCTCATCGTTGCTTCGGCGGGACCCGCCCGGCCCTCACCGCCCGGAACAGCGCCCGCCCGGA
GGACCCAAACTCTGTTTAAATTTAGTGGCATATTCGAGTCTCAAAAACAAAATGAATCAAACTTCAACAACGGATCTCTTGG
TCTTCCCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAATGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACA
TTGGCCCGCCAGTATTTCGGCGGCATGCTGTTTCGAGCGTCAATTCACCCCTCAAGCCCAACCTTCGGGGAGCAGCGTGGTGTGGG
GGACCCCGCCGCTTCCGGCCCGCCCGAAATGCAGTGGCGACCTCGCCGAGCCTCCCTCGCTAGTAGCACAACCTGCACCCGGAGC
CGGAGAGCGTCAACCGCTCAAAACCGCCCAACTTTCTTAGAGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATAACCCGCTGAATTAAGCATATCTA
AGAGCGGGAAGGAAAAGAGCAGGCACAAAATATTTTCAGTCTGTCCAGTAAGCGGTGGTGTGTGTTCTGTTTGGCTTTGGAG

>SF-7537
CAGCGGTTTTCGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTAAAGAGAGCTTGCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATACATACCTT
TGTGCTTTGGCAGGCCCGGCTTCGGCCACCGGCTCCGGCTGGTCCGGCTTGCAGAGGAAACCCAACTCTGTTTGTAAATATTGT
CTGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCTCCCTGGTATTCCGGGGAGCATGCTCTGTCGAGCGT
ATTACAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGCCGGTTCGGCGGGCCCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTCCGGCTCAAGCGT
AGTAATTTCTCTCGCTTCGGAGACCCGGGTGGTGTCTGCCAGCAACCCCAATTTTTTCAGGTGACCTCGGCTCAGTACGTGCCCC
AAGT

>SF-7540
CTACGGCTTCGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTAAAGAGAGCTTGCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATACATACCATG
TTGCTTTGGCAGGCCCGGCTTCGGCCACCGGCTCCGGCTGGTCCGGCTTGCAGAGGAAACCCAACTCTGTTTGTAAATATTGCT
GAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
TGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCTCCCTGGTATTCCGGGGAGCATGCTGTTTCGAGCGTCA
TACAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGCCGGTTCGGCGGGCCCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTCCGGCTCAAGCGT
TAAATTTCTCTCGCTTCGGAGACCCGGGTGGTGTCTGCCAGCAACCCCAATTTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGTATGATGCCCGT

>SF-7542
ACGGATTTTCGTAGTGACCTGCGGAGGATCATTAAAGAGAGCTTGCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATACATACCTTT
GTTGCTTTGGCAGGCCCGGCTTCGGCCACCGGCTCCGGCTGGTCCGGCTTGCAGAGGAAACCCAACTCTGTTTGTAAATATTGCT
TGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
GTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCTCCCTGGTATTCCGGGGAGCATGCTGTTTCGAGCGT
TACAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGCCGGTTCGGCGGGCCCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTCCGGCTCAAGCGT
GTAATTTCTCTCGCTTCGGAGACCCGGGTGGTGTCTGCCAGCAACCCCAATTTTTTCAGGTGACCTCGGATCAGTATGATGCCCGT

>SF-7546
CAAGGTTTTCCGGTATGTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAAGAGAGCTTGCCTTCGGGGTATACCTCCCACCTTTGTTTATACATAC
CATGTTGCTTTGGCAGGCCCGGCTTCGGCCACCGGCTCCGGCTGGTCCGGCTTGCAGAGGAAACCCAACTCTGTTTGTAAATATTGCT
TGAGTACTATATAAATAGTTAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
GTGAATTCGAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTCGCCCTCCCTGGTATTCCGGGGAGCATGCTGTTTCGAGCGT
TACAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGCCGGTTCGGCGGGCCCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTCCGGCTCAAGCGT
GCTCAATTAACAACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTATTGGGCTTCGCCGGTTCGGCGGGCCCTTAAAATCAGTGGCGGTGCCATTCCGGCTCAA
GCGTAGTAATTTCTCTCGCTTCGGAGACCCGGGTGGTGTCTGCCAGCAACCCCACTTTTGTACAGGTTCCTGATACCGTATGGGAA

ACCCCCCCCCA

>SF-7547

GGACGCATACAGTAGGTGTCCGCGGGGAGCATTACAGTGTCCCTGCCCTCACGGGTAGAAACGCCACCCTTGTATATTATATCTT
TGTGCTTCGGCAGGCCGCCTTCGGGACCCGGCTCCGGCTGGATCGTGCCGCAAAGGAAACCCAACTCTGAATGTTAGTGTGCTCT
GAGTACTATCTAATAGTTAAAACTTCAACAACGGATCTCTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATG
TGAATTGCAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGTGGTATTCCGCGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCAT
TTAAACCAATCCAGCTTGCTGGGTCTTGGGCTTTCGCCTCAGGCGGGCCTTAAATCAGTGGCGGGCCACCCGGCTCTGAGCGTAGT
AATTCTTCTCGCTACAGAGTTCCAGGTGGAGGCTTGCCAACCAACCCCTAATTTCAAAGGTTGACCTCGGATCCCGGATACAGGTTG
CATGCCTTCT



주 의

1. 이 보고서는 극지연구소 위탁연구기관에서 수행한 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 수행한 위탁연구의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.