



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년05월14일
(11) 등록번호 10-1857717
(24) 등록일자 2018년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 1/20 (2006.01) C12P 17/12 (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 1/20 (2013.01)
C12P 17/12 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0172607
(22) 출원일자 2016년12월16일
심사청구일자 2016년12월16일
(56) 선행기술조사문헌
W02015108777 A1
JP2010193807 A
Journal of Biotechnology, Vol.240,
pp.43-47(Epub..2016.10.21.)*
Genbank Accession No.KX602664(2016.07.31.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
이진원
서울특별시 송파구 양재대로 1218 (방이동, 올림
픽선수기자촌아파트) 201동 1601호
김상우
전라북도 익산시 선화로 209 (남중동)
(74) 대리인
(뒷면에 계속)
윤대웅, 공병욱

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 김지연

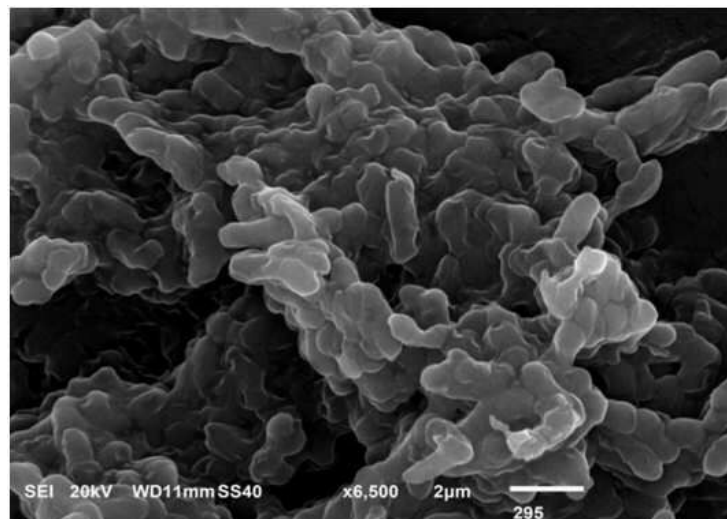
(54) 발명의 명칭 메틸로박테리움 속 WJ4 균주 및 이를 이용한 우라실 생산 방법

(57) 요약

본 발명은 메틸로박테리움 속 균주 및 이를 이용한 우라실 생산 방법에 관한 것으로서, 우라실을 생산하는 메틸로박테리움 속 WJ4 균주 및 이를 이용한 우라실 생산 방법을 포함한다.

상기와 같은 본 발명에 따르면, 메틸로박테리움 속 WJ4 균주를 이용하면 메탄올을 탄소원으로 하여 우라실을 생산할 수 있으므로 이를 효과적으로 핵산 및 핵산 관련 물질의 생산에 이용할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12R 1/01 (2013.01)

(72) 발명자

권유현

경기도 수원시 팔달구 권선로 477 124동 1003호 (매산로2가, 대한대우아파트)

이왕준

경기도 수원시 장안구 천천로22번길 34 522동 504호 (정자동, 백설마을삼환나우빌아파트)

조재훈

서울특별시 동작구 동작대로 29길 119 사당동 극동아파트 101동 1806호

오병근

서울특별시 마포구 모래내로9길 3, 106동 1506호

오한빈

경기도 고양시 일산동구 산두로175번길 26-6

송인수

서울특별시 구로구 오류로8길 96

박수현

서울특별시 구로구 구로중앙로 134 신구로자이나인스에비뉴 2607호

조숙형

경기도 고양시 덕양구 백양로 126, 1108동 901호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015M3D3A1A01064929

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 (재)한국연구재단

연구사업명 C1 가스 리파이너리 사업

연구과제명 C1 가스 전환 기술 공통시험 연구

기 여 율 1/1

주관기관 서강대학교

연구기간 2016.03.01 ~ 2017.02.28

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

메틸로박테리움 속(Methylobacterium sp.) 균주를 포함하는, 메탄올로부터의 우라실(uracil) 생산용 조성물에 있어서,

상기 균주의 16S rRNA(16S ribosomal RNA)를 코딩하는 핵산 서열은 서열번호 1로 표시되는 핵산 서열인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 균주는 수탁번호 KFCC11686P로 기탁된 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

다음 단계를 포함하는 우라실의 생산 방법:

- (a) 수탁번호 KFCC11686P로 기탁된 메틸로박테리움 속 균주를 메탄올을 첨가한 배지에서 배양하는 단계; 및
- (b) 상기 배양에 의해 생산된 우라실을 획득하는 단계.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 배지는 NMS(Nitrate Mineral Salts) 배지인 것을 특징으로 하는 생산 방법.

청구항 5

삭제

청구항 6

제 3 항에 있어서, 상기 메탄올의 농도는 0.5 내지 10(v/v)%인 것을 특징으로 하는 생산 방법.

청구항 7

수탁번호 KFCC11686P로 기탁된 메탄올로부터의 우라실 생산용 메틸로박테리움 속 균주.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 메틸로박테리움 속 WJ4 균주 및 이를 이용한 우라실 생산 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 토양에서 분리된 메틸로박테리움 속 균주를 메탄올을 탄소원으로 하는 배지에서 배양하여 우라실을 생산하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 동두천 환경사업소 내 토양으로부터 분리한 메틸로박테리움 속(Methylobacterium sp.) WJ4 균주는 그람-음성균에 속하는 메틸영양체이다. 메틸영양체는 메탄올과 같은 환원성 일원자 탄소분자를 유일한 탄소원 및 에너지원

으로 사용하는 세균으로, 메탄올을 공급 원료로 이용한 메탄을 기반 산업에 적용할 수 있는 가능성이 있기 때문에 관심을 받아오고 있다.

[0003] 핵산 및 핵산관련 물질의 생산 방법은 크게 천연물 추출법, 화학적 합성법, 미생물을 이용한 생산법이 있다. 미생물을 이용한 핵산 관련 물질의 생산에는 미생물이 가지고 있는 RNA, DNA를 분해하는 효소를 이용해 핵산을 분해하여 얻는 방법, 변이주에 의해 축적된 핵산 관련 물질을 얻는 방법, 배양액 중에 분비된 핵산 관련 물질을 얻는 방법이 있다. 본 연구실에서 분리한 메틸로박테리움 균주는 메탄올을 탄소원으로 이용하여 우라실을 분비하는 것으로 밝혀졌다. 핵산 관련 물질은 조미료와 같은 물질의 산업적 생산에 유용한 물질이다.

[0004] 기존에 당(sugar)을 이용한 핵산 관련 물질의 생산 연구는 보고된 바가 있으나, 메틸영양세균을 이용하여 메탄올으로부터 우라실을 생산하는 것에 대해서는 현재까지 보고된 바가 없다.

[0005] 메탄올은 화학적 공정을 이용해 메탄으로부터 만들어진다. 메탄은 천연가스와 셰일가스의 주성분으로 매장량이 풍부하고, 가격이 저렴한 가스이다. 메탄으로부터 만들어진 메탄올을 미생물을 통한 발효에 이용할 경우, 계절에 따른 가격 변동이 없고, 당과 같은 물질을 이용한 발효에서 생길 수 있는 문제점을 피할 수 있으며, 메탄올의 독성으로 인해 대용량 발효시 오염의 위험을 줄일 수 있다는 점 등의 장점이 있다. 본 발명에서는 메틸영양세균을 이용하여 별도의 유전자 조작 없이도 메탄으로부터 우라실을 생산할 수 있음을 증명하였다. 이를 이용하면 메탄올 자원의 고부가가치화가 가능할 것이다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0006] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2015-0125912호(2015.11.10)
(특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-1195899호(2012.10.24)
(특허문헌 0003) 한국등록특허 제10-0956019호(2010.04.27)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명자들은 핵산 및 핵산 관련 물질을 생산하는 방법을 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과 토양으로부터 분리한 메틸로박테리움 속 WJ4 균주가 메탄올을 탄소원으로 하여 우라실을 생산함을 규명함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0008] 따라서 본 발명의 목적은, 우라실을 생산하는 메틸로박테리움 속 WJ4 균주를 제공함에 있다.

[0009] 본 발명의 또 다른 목적은, 상기 메틸로박테리움 속 WJ4 균주를 이용하여 메탄올로부터 우라실을 생산하는 방법을 제공함에 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 메틸로박테리움 속(Methylobacterium sp.) 균주를 포함하는, 메탄올로부터의 우라실(uracil) 생산용 조성물을 제공한다. 본 발명의 메틸로박테리움 속 WJ4 균주는 그람-음성균에 속하는 메틸영양체로 세포 길이와 너비는 각각 2.5 μm , 0.8 μm 이다(도 1). 메틸영양체는 메탄올과 같은 환원성 일원자 탄소분자를 유일한 탄소원 및 에너지원으로 사용하는 세균이다.

[0011] 본 발명자들은 핵산 및 핵산 관련 물질을 생산하는 방법을 개발하고자 예의 연구 노력하였다. 그 결과 토양으로부터 분리한 메틸로박테리움 속 WJ4 균주가 메탄올을 탄소원으로 하여 우라실을 생산함을 규명하였다.

[0012] 본 명세서 상의 용어 "메탄올로부터의 우라실 생산"은 배양 배지에 첨가한 메탄올을 이용하여 균주가 우라실을 생산함을 의미한다.

[0013] 본 발명의 조성물은 메틸로박테리움 속 균주 외에 메틸로박테리움 속 균주의 배양을 위해 종래 알려진 배양 배지를 제한 없이 포함하는 것이 가능하다. 본 발명에서 이용 가능한 배지는 구체적으로 예를 들면, NMS(Nitrate Mineral Salts) 배지, AMS(Ammonium Mineral Salts) 배지, 최(Choi) 배지, LB(Lubria-Bertani

agar) 배지, MM-1 배지, PBY(Proskauer-Beck-Youmans) 배지 및 SA(Standard agar) 배지이다.

- [0014] MM-1 배지의 조성(L^{-1})은 다음과 같다: Na_2HPO_4 , 2.5 g; KH_2PO_4 , 1.0 g; yeast extract, 0.5 g; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.1 g; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 0.02 g; H_3BO_3 , 300 μg ; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 30 μg ; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 100 μg ; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 3 μg ; Na_2MoO_4 , 30 μg ; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, 20 μg ; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 10 μg . pH 7.
- [0015] 상기 조성물에 메탄올을 첨가하여 배양함으로써, 상기 조성물에 포함된 메틸로박테리움 속 균주가 우라실을 생산할 수 있다. 메틸로박테리움 속 균주는 세린(Serine) 사이클을 주요 메탄올 동화 경로로 사용한다. 메탄올은 메탄올 탈수소효소(MDH)에 의해 포름알데히드로 전환되고, 포름알데히드는 메틸렌-테트라하이드로폴산(Methylene-tetrahydrofolate, $CH_2=H_4F$)로 전환된다. 이는 글라이신(Glycine)과 반응하여 세린으로 합성된 후 세린 사이클로 들어가 2-포스포글리세린산(2-Phosphoglycerate)로 전환되고, 이것은 일련의 과정(도 2A)을 거쳐 과당-6-인산염(Fructose-6-phosphate)으로 전환된다. 이것은 다시 일련의 과정(도 2B)을 거쳐 5-포스포라이보실-1-파이로인산염(5-phosphorybosil-1-pyrophosphate, PRPP)으로 전환되고, 최종적으로 피리미딘 대사경로(도 2C)로 들어가 우라실로 전환된다.
- [0016] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 상기 균주의 16S rRNA(16S ribosomal RNA)를 코딩하는 핵산 서열은 서열목록 제 1서열로 표시되는 핵산 서열이다.
- [0017] 본 발명의 명세서상의 용어 "16S rRNA"는 원핵생물 리보솜의 30S 소단위체를 구성하고 있는 rRNA로, 1,500 뉴클레오타이드 정도의 길이를 갖는다. 원핵생물은 16S 리보솜 RNA의 서열을 비교함으로써 동정할 수 있다. 이 RNA의 서열은 대부분 상당히 보존되어 있는 한편 일부 구간에서는 높은 염기서열 다양성이 나타난다. 동종간에는 다양성이 거의 없는 반면에 타종간에는 다양성이 나타나므로 특히 생물동정에 사용된다. 특히 배양이 불가능하거나 어려운 생물, 또는 보고된 적이 없는 생물의 동정 및 분류에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 다음 단계를 포함하는 우라실의 생산 방법을 제공한다: (a) 메틸로박테리움 속 균주를 탄소원을 첨가한 배지에서 배양하는 단계; 및 (b) 상기 배양에 의해 생산된 우라실을 획득하는 단계.
- [0019] 본 발명의 방법을 단계별로 이하 자세히 설명한다:
- [0020] 단계 (a): 메틸로박테리움 속 균주를 탄소원을 첨가한 배지에서 배양하는 단계
- [0021] 본 발명인 우라실의 생산 방법은 메틸로박테리움 속 균주가 탄소원을 우라실로 전환 생산하는 능력을 이용한다. 본 발명의 방법에서 이용할 수 있는 배지는 NMS(Nitrate Mineral Salts) 배지, AMS(Ammonium Mineral Salts) 배지, 최(Choi) 배지, LB(Lubria-Bertani agar) 배지, MM-1 배지, PBY(Proskauer-Beck-Youmans) 배지, SA(Standard agar) 배지가 있다.
- [0022] 본 발명의 방법 중 단계 (a)에서의 메틸로박테리움 속 균주의 배양은 종래 알려진 동속 균주의 일반적인 배양 방법에 따라 행해질 수 있고, 구체적으로 예를 들면, 배치(batch)식, 유동배치식, 연속배양, 리액터형식 등 통상의 미생물의 배양에 사용하는 어떠한 방법도 사용할 수 있다.
- [0023] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 배지는 NMS 배지이다.
- [0024] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 본 발명의 탄소원은 메탄올이다.
- [0025] 본 발명의 일 구현예에 있어서, 메탄올의 농도는 0.5 내지 10(v/v)%이다. 다른 구현예에 있어서, 메탄올의 농도는 0.5 내지 8(v/v)%, 또 다른 구현예에 있어서 0.5 내지 6(v/v)%, 또 다른 구현예에 있어서 0.5 내지 5(v/v)%, 또 다른 구현예에 있어서 0.5 내지 4(v/v)%, 또 다른 구현예에 있어서 0.5 내지 3(v/v)%이다.
- [0026] 단계 (b): 상기 배양에 의해 생산된 우라실을 획득하는 단계
- [0027] 본 발명의 단계 (b)에서의 우라실의 획득은, 메틸로박테리움 속 균주의 고유 대사 경로에 따라 메탄올로부터 변환된 우라실을 균주 내 또는 균주를 배양한 배양액에 축적시켜 분석할 수 있고, 특별히 이에 제한되지 않는다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 메탄올로부터의 우라실 생산용 메틸로박테리움 속 균주(수탁번호 KFCC11686P)를 제공한다. 상기 메틸로박테리움 속 균주는 WJ4 균주이며, 토양으로부터 분리된 것이다.

발명의 효과

- [0029] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:
- [0030] 본 발명은 우라실을 생산하는 메틸로박테리움 속 WJ4 균주 및 이를 이용한 우라실 생산 방법을 제공한다.
- [0031] 본 발명의 메틸로박테리움 속 WJ4 균주를 이용하면 메탄올을 탄소원으로 하여 우라실을 생산할 수 있으므로 이를 효과적으로 핵산 및 핵산 관련 물질의 생산에 이용할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0032] 도 1은 메틸로박테리움 속 WJ4 균주의 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope) 사진을 나타낸다.
- 도 2는 세린 사이클과 피리미딘 대사경로를 통한 메틸로박테리움 균주의 우라실 합성경로를 나타낸다.
- 도 3은 메틸로박테리움 속 WJ4 균주와 다른 메틸영양체들과의 관계를 보여주는 계통수를 나타낸다.
- 도 4는 최적 배지 및 기본 배지에서의 시간에 따른 메틸로박테리움 속 WJ4 균주의 성장 그래프를 나타낸다.
- 도 5는 메틸로박테리움 속 WJ4 균주 배양액 내의 시간에 따른 우라실 농도를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0033] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.
- [0034] 실시예 1. 메틸로박테리움 속 WJ4 균주의 16S rRNA 유전자 시퀀스 분석
- [0035] 메틸로박테리움 속 WJ4 균주의 16S rRNA 유전자 시퀀스 분석은 바이오팩트에 의뢰하여 27F, 1492R 프라이머를 이용하여 진행하였다. 두 프라이머를 통해 분석한 시퀀스들을 정렬한 결과는 하기 표 1의 서열목록 제 1 서열과 같다.

표 1

[0036]	서열목록 제 1 서열
	ACCCTAAGGCCTTCATCACTACGCGGCATGGCTGGATCAGGCTTGCGCCATTGTCCAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGG GCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCTGATCCTCTCAGACCAGCTACTGATCGTCGCCTTGGTAGGCCGTTACCCACCAACAAGCTAATCA GACGCGGGCCGATCCTTCGGCAGTAAACCTTTCCCCAAAAGGGCGTATCCGGTATTAGCTCAAGTTTCCCTGAGTTATTCGGAACCGAAGGGC ACGTTCCACGTGTTACTACCCGCTCTGCCACTGACTTCCGAAGAAGCCCGTTCGACTTGCATGGTAAGC

- [0037] NCBI의 16S rRNA 유전자 시퀀스 데이터베이스를 이용하여 메틸로박테리움 속 WJ4 균주와 관련 메틸영양체들과의 유전자 시퀀스를 분석한 결과, 메틸로박테리움 로데시아눔(Methylobacterium rhodesianum) 균주가 메틸로박테리움 속 WJ4 균주와 99.6%의 유전자 시퀀스 일치율을 보여 가장 가까운 균주임을 확인하였다. 그 밖의 메틸로박테리움 균주인 메틸로박테리움 포푸리(M. populi), 메틸로박테리움 싸이오사이아나툼(M. thiocyanatum), 메틸로박테리움 로디눔(M. rhodinum), 메틸로박테리움 오르가노필룸(M. organophilum)과는 각각 99.4%, 99.2%, 97.6%, 96.5%의 유전자 시퀀스 일치율을 보였다. 계통 분석 결과 메틸로박테리움 속 WJ4 균주는 메틸로박테리움 속에 속하는 균주임을 확인하였다(도 3).
- [0038] 실시예 2. 메틸로박테리움 속 WJ4 균주의 성장배지 최적화
- [0039] 메틸로박테리움 속 WJ4 균주를 이용해 메탄올로부터 우라실을 생산하기 위해서 균주 세포를 많이 얻는 것이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 통계적 방법인 플래킷-버만 디자인과 중심 합성 계획법을 이용한 반응 표면 방법론을 적용하여 균주 성장을 위한 변형 NMS(Nitrate Mineral Salts) 배지 조성의 최적화를 진행하였다. NMS 배지는 메탄영양체균을 메탄올 유일 탄소원으로 이용해 배양할 때 주로 이용되는 배지이다. NMS 배지 조성 중에는 탄소원이 존재하지 않기 때문에 본 발명에서는 NMS 배지에 메탄올이 탄소원으로 첨가된 변형 NMS 배지를 이용하였다. 이를 통해 얻어진 배지 조성은 하기 표 2와 같다.

표 2

[0040]	최적 배지 조성	
	조성	합량(리터 당)

Methanol (% v/v)	1.8
MgSO ₄ *7H ₂ O (g)	1
KNO ₃ (g)	1.8
CaCl ₂ *H ₂ O (g)	0.2
0.1% (w/v) NaMo*4H ₂ O (ml)	0.5
3.8% (w/v) solution Fe-EDTA (ml)	0.1
Trace element solution (ml)	3.96
Vitamin stock (ml)	4.1
Phosphate buffer (ml)	10
CuCl ₂ *2H ₂ O (mg)	1.4

[0041] 상기 표 2 중 밑줄로 표시한 조성의 상세한 기재를 추가적으로 하기 표 3 내지 5에 나타내었다.

표 3

[0042]

Trace element solution	
조성	함량(리터 당)
FeSO ₄ *7H ₂ O (mg)	500
ZnSO ₄ *7H ₂ O (mg)	400
MnCl ₂ *7H ₂ O (mg)	20
CoCl ₂ *6H ₂ O (mg)	50
NiCl ₂ *6H ₂ O (mg)	10
H ₃ BO ₃ (mg)	15
EDTA (mg)	250

표 4

[0043]

Vitamin stock	
조성	함량(리터 당)
Biotin (mg)	2.0
Folic acid (mg)	2.0
Thiamine HCl (mg)	5.0
Ca pantothenate (mg)	5.0
Vitamin B ₁₂ (mg)	0.1
Riboflavin (mg)	5.0
Nicotinamide (mg)	5.0

표 5

[0044]

Phosphate buffer	
조성	함량(리터 당)
KH ₂ PO ₄ (g)	26
Na ₂ HPO ₄ *7(H ₂ O) (g)	62

[0045] 실시예 3. 최적 배지와 기본 배지에서의 메틸로박테리움 속 WJ4 균주의 성장 및 우라실 농도 비교

[0046] 통계적 방법으로 최적화한 최적 배지(optimal medium)와 기본 배지(basal medium)를 이용해 메틸로박테리움 속 WJ4 균주를 30℃에서 72 시간 배양하며 성장 정도를 관찰하고(도 4) 배양액 내 우라실 농도를 확인하였다.

[0047] 배양액 속의 우라실 농도는 최적 배지와 기본 배지 모두에서 세포가 지수증식기(log phase)가 지나 정상기

(stationary phase)에 도달하는 시점부터 증가하기 시작한다. 최적 배지의 경우 48시간 이후부터 우라실 농도가 증가하기 시작하여 72시간에 1.8 mg/L의 농도까지 증가하는 것을 확인하였다. 반면에 기본 배지에서는 36시간 이후에 우라실이 0.6 mg/L의 농도까지 증가하였다가 다시 감소하는 것을 확인하였다(도 5).

[0048]

이상, 본 발명내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 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 의해 정의된다고 할 것이다.

수탁번호

[0049]

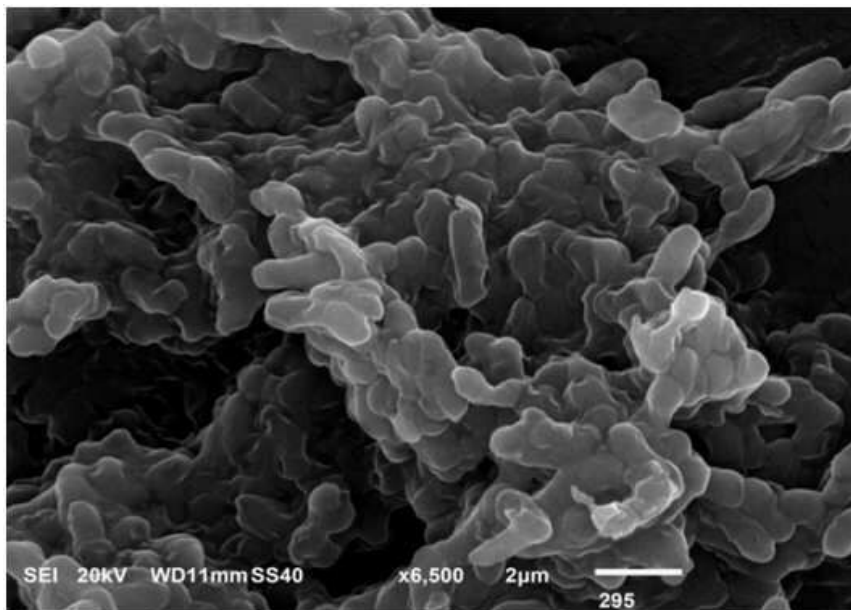
기탁기관명 : 한국미생물보존센터

수탁번호 : KFCC11686P

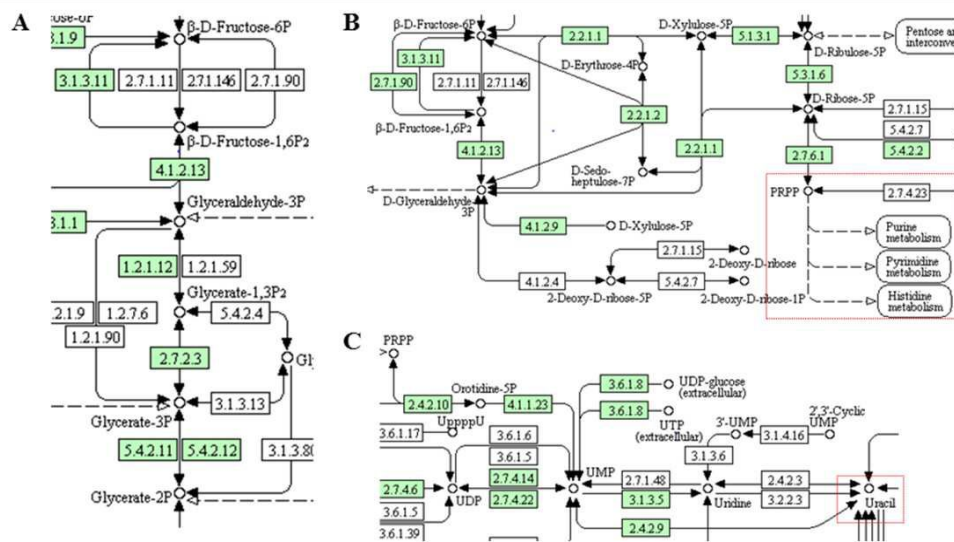
수탁일자 : 20160823

도면

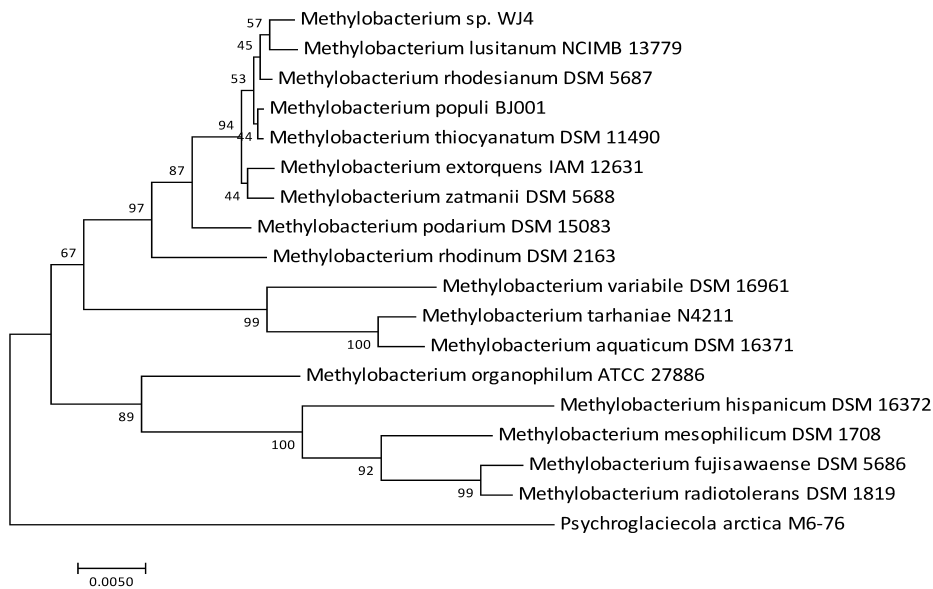
도면1



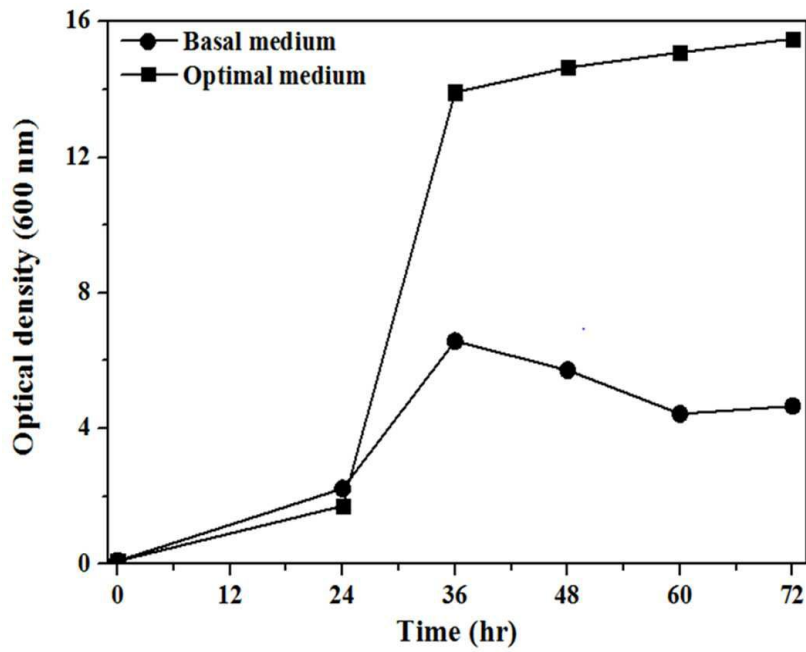
도면2



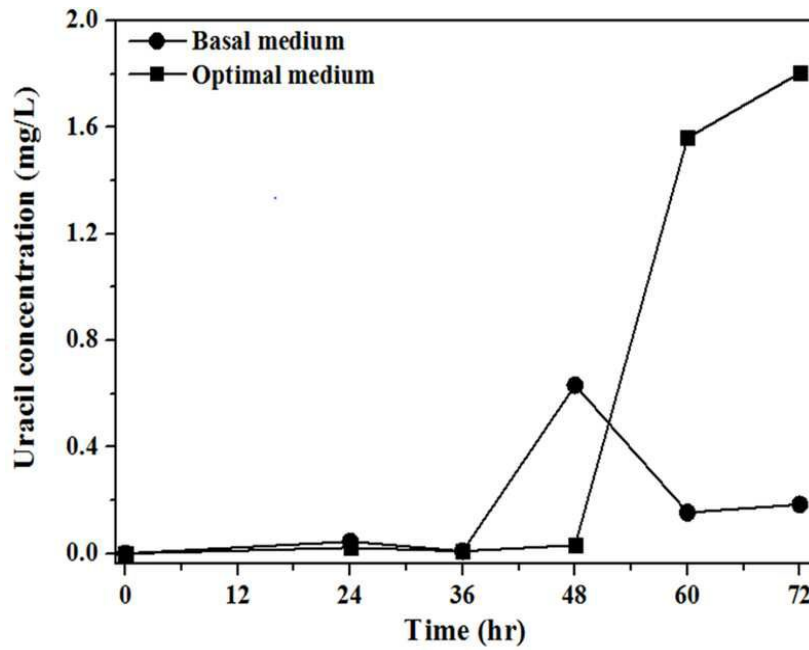
도면3



도면4



도면5



서열 목록

- <110> Industry-University Cooperation Foundation Sogang University
- <120> Methylobacterium sp. WJ4 strain and method for producing uracil using the same
- <130> PN160272
- <160> 1
- <170> Kopatent In 2.0

<210> 1
 <211> 1374
 <212> DNA
 <213> Methylobacterium sp.
 <400> 1

tctgactacg tggtcgcctg cctccttgcg gttggcgag cgccgtcggg taagaccaac 60
 tcccatggtg tgacgggcgg tgtgtacaag gcccggaac gtattcacg tggcgtgctg 120
 atccacgatt actagcgatt ccgccttcat gcacccgagt tgcagagtgc aatccgaact 180

gagacggctt ttggggattt gctcaacctc gcggtttcgc gtcctctgt caccgccatt 240
 gtagcacgtg ttagcccat cccgtaaggg ccatgaggac ttgacgtcat ccacaccttc 300
 ctgcggctt atcacggca gtctccctag agtgcacaac tgaatgatgg caactaagga 360
 cgtgggttgc gctcgttgcg ggacttaacc caacatctca cgacacgagc tgacgacagc 420
 catgcagcac ctgtgtgac gcctccgaag aggacaccg atctctcgag ctaacatgcc 480
 atgtcaaggg atggttaagg tctgcgcgtt gcttcgaatt aaaccacatg ctccaccgct 540
 tgtgcgggcc cccgtcaatt cctttgagtt ttaatcttgc gaccgtactc cccaggcgga 600

atgcttaatg cgtagcggc gccactgacc tgcaagcagg ccaacggctg gcattcatcg 660
 ttacggcgt ggactaccag ggtatctaata cctgtttgct cccacgctt tcgcgcctca 720
 gcgtcagaac cggaccagac agccgccttc gccactggtg ttcttgcgaa tatctacgaa 780
 ttacacctct acactcgag ttccgctgtc ctcttccggt ctcaagccaa ccagtatcga 840
 aggcaattct gtggttgagc cacaggcttt caccgccgac ttaatcgcc gcctacgcgc 900
 cctttacgcc cagtattcc gagcaacgct agcccccctc gtattaccgc ggctgctggc 960
 acgaagttag cgggggctta ttcttccggt accgtcatta tcgtcccga caaaagagct 1020

ttacaacctt aaggccttca tcaactcacg gccatggctg gatcaggctt gcgccattg 1080
 tccaatattc ccactgctg cctcccgtag gactctgggc cgtgtctcag tcccagtgtg 1140
 gctgatcatc ctctcagacc agctactgat cgtcgccttg gtaggccgtt accccacca 1200
 caagctaate agacggggc cgatccttcg gcagtaaacc ttccccaaa agggcgatc 1260
 cggattatgc tcaagtttcc ctgagttatt ccgaaccgaa gggcacgttc ccacgtgtta 1320
 ctacccgctc tgccactgac ttccgaagaa gcccgttcga cttgcatggt aagc 1374