

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7638005号
(P7638005)

(45)発行日 令和7年3月3日(2025.3.3)

(24)登録日 令和7年2月20日(2025.2.20)

(51)国際特許分類	F I		
C 1 2 P 7/42 (2006.01)	C 1 2 P 7/42	Z N A	
C 1 2 P 17/06 (2006.01)	C 1 2 P 17/06		
C 1 2 N 15/54 (2006.01)	C 1 2 N 15/54		
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19		

請求項の数 7 (全11頁)

(21)出願番号	特願2022-521613(P2022-521613)	(73)特許権者	507421865
(86)(22)出願日	令和2年10月12日(2020.10.12)		ナショナル ユニヴァーシティ オブ シンガポール
(65)公表番号	特表2022-552952(P2022-552952 A)		シンガポール, シンガポール 1 1 9 0 7 7, ローワー ケント リッジ ロード 2 1
(43)公表日	令和4年12月21日(2022.12.21)	(74)代理人	100114775
(86)国際出願番号	PCT/SG2020/050582		弁理士 高岡 亮一
(87)国際公開番号	WO2021/071437	(74)代理人	100121511
(87)国際公開日	令和3年4月15日(2021.4.15)		弁理士 小田 直
審査請求日	令和5年7月25日(2023.7.25)	(74)代理人	100202751
(31)優先権主張番号	62/913,933		弁理士 岩堀 明代
(32)優先日	令和1年10月11日(2019.10.11)	(74)代理人	100208580
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 三好 玲奈
		(74)代理人	100191086

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規芳香族ブレニルトランスフェラーゼを使用したカンナビノイド前駆体の生合成

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

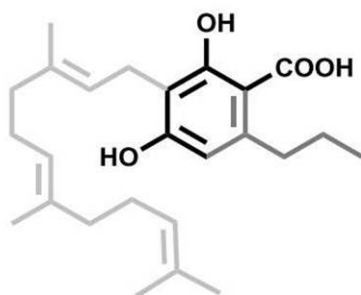
カンナビノイド前駆体を生成するための方法であって、

(a) 2, 4 - ジヒドロキシ - 6 - ペンチル安息香酸およびゲラニルピロリン酸を、N p h B オルソログと接触させて、5 - ゲラニルオリベトール酸、4 - O - ゲラニルオリベトール酸、もしくは2 - O - ゲラニルオリベトール酸を得ること、

(b) 2, 4 - ジヒドロキシ - 6 - プロピル安息香酸およびゲラニルピロリン酸を、N p h B オルソログと接触させて、カンナビゲロバリン酸を得ること、または

(c) 2, 4 - ジヒドロキシ - 6 - ペンチル安息香酸およびファルネシルピロリン酸を、N p h B オルソログと接触させて、

【化 1】



10

の構造を有する化合物を得ること

を含み、

前記 N p h B オルソログが、配列番号 1 ~ 8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する、
方法。

【請求項 2】

前記カンナビノイド前駆体が、LC / MS 分析によって決定した場合に質量電荷比 3 5 9 . 2 2 および 6 . 1 分より長い保持時間を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 N p h B オルソログが、*Streptomyces roseochromogenus* (*S t r e p t o m y c e s r o s e o c h r o m o g e n u s*) 亜種 *oscitans*、*Streptomyces rubidus* (*S t r e p t o m y c e s r u b i d u s*)、*Streptomyces cinnamomensis* (*S t r e p t o m y c e s c i n n a m o n e n s i s*)、*Aspergillus calidoustus* (*A s p e r g i l l u s c a l i d o u s t u s*)、*Aspergillus terreus* (*A s p e r g i l l u s t e r r e u s*)、*Clostridium clariflavum* (*C l o s t r i d i u m c l a r i f l a v u m*)、*Nocardia brasiliensis* (*N o c a r d i a b r a s i l i e n s i s*)、または難培養性細菌 esnapd 16 . 1 由来である、請求項 2 に記載の方法。

20

【請求項 4】

前記 N p h B オルソログが、*Yarrowia lipolytica* (*Y a r r o w i a l i p o l y t i c a*) において生成される組換え酵素である、請求項 3 に記載の方法。

30

【請求項 5】

前記 N p h B オルソログが、*Streptomyces roseochromogenus* (*S t r e p t o m y c e s r o s e o c h r o m o g e n u s*) 亜種 *oscitans*、*Streptomyces rubidus* (*S t r e p t o m y c e s r u b i d u s*)、*Streptomyces cinnamomensis* (*S t r e p t o m y c e s c i n n a m o n e n s i s*)、*Aspergillus calidoustus* (*A s p e r g i l l u s c a l i d o u s t u s*)、*Aspergillus terreus* (*A s p e r g i l l u s t e r r e u s*)、*Clostridium clariflavum* (*C l o s t r i d i u m c l a r i f l a v u m*)、*Nocardia brasiliensis* (*N o c a r d i a b r a s i l i e n s i s*)、または難培養性細菌 esnapd 16 . 1 由来である、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 6】

前記 N p h B オルソログが、*Yarrowia lipolytica* (*Y a r r o w i a l i p o l y t i c a*) において生成される組換え酵素である、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

ヤロウシア・リポリティカの組換え細胞であって、そのゲノム中に N p h B オルソログをコードする核酸を含み、前記 N p h B オルソログが、配列番号 1 ~ 8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を有し、前記 N p h B オルソログが、前記組換え細胞において発現される、組換え細胞。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

ストレプトマイセス属 (*Streptomyces* sp.) 株 CL190 由来の芳香族プレニルトランスフェラーゼ (NphB) の構造および機能は解明されている。Kumanoら、*Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16 (17) : 8117 - 26 を参照されたい。Zirpelら、*J. Biotechnol.* 2017, 259 : 204 - 212 で報告された以前の研究では、NphB が、大麻植物由来の膜結合ゲラニルピロリン酸：オリベトール酸ゲラニルトランスフェラーゼと同じ基質を利用して、カンナビノイド前駆体カンナビゲロール酸 (CBGA) を形成できることを示した。

【0002】

CBGA は、大麻植物に見られるカンナビノイド生合成経路の最初の分岐点として一般に知られており、野生型 NphB は、O プレニル化副産物、すなわち 2-O-ゲラニルオリベトール酸と同様に、CBGA を作ることができる。

【0003】

既知のカンナビノイド前駆体および新規カンナビノイド前駆体を特異性および高収率で合成するためには、さらなる酵素および方法が必要である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

カンナビノイド前駆体を生成するための方法が開示される。この方法は、基質およびゲラニルピロリン酸またはファルネシルピロリン酸を NphB オルソログと接触させるステップを含む。基質は、例えば、2,4-ジヒドロキシ-6-ペンチル安息香酸または 2,4-ジヒドロキシ-6-プロピル安息香酸であり得、NphB オルソログは、カンナビス・サティバ (*Cannabis sativa*) 以外の生物由来である。

【0005】

また、そのゲノム中に NphB オルソログをコードする核酸を保有するヤロウシア・リポリティカ (*Yarrowia lipolytica*) の組換え細胞が提供される。NphB オルソログは、カンナビス・サティバ以外の生物由来であり、組換え細胞中に発現する。

1つ以上の実施形態の詳細は、以下の説明および実施例に記載される。他の特徴、目的、および利点は、詳細な説明、図面、および添付の特許請求の範囲から明らかであろう。

【0006】

以下の発明の説明は、添付の図面を参照する。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1】オリベトール酸およびゲラニルピロリン酸を基質として使用するカンナビノイド生成物の構造を示す図である。すべての可能な生成物の分子式および式重量は、それぞれ $C_{22}H_{31}O_4$ および 359.22 である。黒色：マロニル-CoA の 3 単位に由来するオリベトール酸部分、暗灰色：ヘキサノイル-CoA に由来するオリベトール酸部分、淡灰色：オルソログにより転移するゲラニルピロリン酸部分。

【図2】NphB オルソログをコードする遺伝子をヤロウシア・リポリティカのゲノムに組み込むために用いられる pYLEX1 ベクターの図である。

【図3A】3個の NphB オルソログから生合成された $m/z = 359.22$ を有するカンナビノイド前駆体の LC-MS スペクトルを示す図である。1 段目 = CBGA 標準物質、2 段目 = P3E2、3 段目 = 酵素なしの陰性対照、4 段目 = P3A5、5 段目 = P3E8、6 段目 = NphB 陽性対照、7 段目 = 1BF1、8 段目 = Y1C5。ピークは、保持時間および相対ピーク下面積によって特定される。

【図3B】3個の追加の NphB オルソログから生合成された $m/z = 359.22$ を有するカンナビノイド前駆体の LC-MS スペクトルを示す：1 段目 = $10 \mu g/ml$ の CBGA 標準物質、2 段目 = 酵素なしの陰性対照、3 段目 = NphB 陽性対照、4 段目 = P

10

20

30

40

50

3 F 5、5 段目 = P 3 A 6、6 段目 = 1 B C 2。ピークは、保持時間および相対ピーク下面積によって特定される。

【図 4】オリベトール酸と比較して、2 つ少ない炭素単位を有し、その結果 C B G A よりも短い 2 つの炭素である C B G V A の生成をもたらすジバリン酸（上列）を用いて、またはグラニルピロリン酸の代わりに、新規カンナビノイド前駆体の生成をもたらすファルネシルピロリン酸（下列）を用いて生合成された、潜在的なカンナビノイド生成物の構造を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0008】

特定のピロリン酸塩、例えば、グラニルピロリン酸から芳香族ポリケチド、例えば、2, 4 - ジヒドロキシ - 6 - ペンチル安息香酸、すなわち、オリベトール酸、および 2, 4 - ジヒドロキシ - 6 - プロピル安息香酸にイソブレン単位を転移させることにより、カンナビノイド前駆体の生合成を触媒する酵素を開示する。これらの酵素は、カンナビス・サティバ以外の生物に由来し、大腸菌 (*Escherichia coli*) またはヤロウイア・リポリティカにおいて組換えにより発現させ、その後プレニルトランスフェラーゼ活性のために用いることができる。

10

【0009】

上記に要約されるとおり、カンナビノイド前駆体を製造するための方法が開示される。具体的な例では、基質は、オリベトール酸であり、ピロリン酸塩は、グラニルピロリン酸であり、生成されたカンナビノイド前駆体は、LC/MS 分析により決定した場合に、質量電荷比 359.22 および 6.1 分より長い保持時間を有する。本明細書に記載されるカンナビノイド前駆体もまた、本発明の範囲に含まれる。

20

【0010】

上記の方法において、NphB オルソログの例示的な供給源は、ストレプトマイセス・ロゼオクロモゲナス (*Streptomyces roseochromogenus*) 亜種 *oscitans*、ストレプトマイセス・ルビダス (*Streptomyces rubidus*)、ストレプトマイセス・シンナモネンシス (*Streptomyces cinnamomensis*)、アスペルギルス・カリドウスタス (*Aspergillus calidoustus*)、アスペルギルス・テレウス (*Aspergillus terreus*)、クロストリジウム・クラリフラバム (*Clostridium clariflavum*)、ノカルディア・ブラジリエンシス (*Nocardia brasiliensis*)、および難培養性細菌 *esnabd16.1* であり得るが、これらに限定されない。

30

【0011】

本方法の特定の態様では、NphB オルソログは、配列番号 1 ~ 8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する。あるいは、NphB オルソログは、配列番号 1 ~ 8 のいずれか 1 つと少なくとも 70% 同一（例えば、少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、および 99%）のアミノ酸配列を有することができ、芳香族プレニルトランスフェラーゼ活性を有する。

【0012】

例示的な方法では、NphB オルソログは、組換え酵素である。組換え酵素は、例えば、大腸菌およびヤロウイア・リポリティカにおいて生成され得る。

40

【0013】

また、上記のものは、ヤロウイア・リポリティカの組換え細胞であり、そのゲノムには、NphB オルソログをコードする核酸が含まれる。NphB オルソログは、カンナビス・サティバ以外の生物由来である。

【0014】

NphB オルソログの例示的な供給源は、ストレプトマイセス・ロゼオクロモゲナス (*Streptomyces roseochromogenus*) 亜種 *oscitans*、ストレプトマイセス・ルビダス (*Streptomyces rubidus*)、スト

50

レプトマイセス・シンナモネンシス (*Streptomyces cinnamomensis*)、アスペルギルス・カリドゥスタス (*Aspergillus calidoustus*)、アスペルギルス・テレウス (*Aspergillus terreus*)、クロストリジウム・クラリフラバム (*Clostridium clariflavum*)、ノカルディア・ブラジリエンシス (*Nocardia brasiliensis*)、および難培養性細菌 *esnapd16.1* である。

【0015】

特定の組換え細胞では、NphB オルソログは、配列番号 1 ~ 8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を有する。別の実施例では、NphB オルソログは、配列番号 1 ~ 8 のいずれか 1 つに対して、少なくとも 70 % 同一 (例えば、少なくとも 70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、および 99 %) のアミノ酸配列を有することができ、芳香族プレニルトランスフェラーゼ活性を有する。

10

【0016】

さらなる詳述がなくとも、当業者は、本明細書の開示に基づいて、本開示をその最大限に利用することができると考えられる。したがって、以下の具体的な例は、単なる説明的なものとして解釈されるべきであり、いかなる点においても、本開示の残りの部分を限定するものではない。本明細書に引用されるすべての刊行物は、参照によりその全体が援用される。

【0017】

実施例

利用可能な配列データベースの検索により、NphB に対する 105 の遺伝子オルソログが同定され、これらはまた、UniProt データベースに潜在的芳香族プレニルトランスフェラーゼとしてアノテートされた。遺伝子を合成し、T7 プロモーターおよびターミネーターを含む改変 pES2 ベクターにクローニングした。化学処理を用いて、ベクターを大腸菌 *Acclla* (商標) 細胞に形質転換し、37 °C で LB + ストレプトマイシン選択プレート上で増殖させた。配列を確認したクローンを採取し、OD_{600nm} が 0.8 になるまで LB + ストレプトマイシン培地中で増殖させた。培養物に 0.1 mM IPTG を添加し、25 °C で 24 時間インキュベートすることによりタンパク質発現を誘導した。その後細胞を回収し、タンパク質精製まで -20 °C で保存した。

20

【0018】

ペレット化した細胞を、20 mM の Tris-HCl (pH 7.9)、500 mM の NaCl、および 5 mM のイミダゾールを含有する 100 μL 結合緩衝液に再懸濁させた。その後、細胞を超音波処理により溶解し、細胞片を 4 °C で 30 分間の遠心分離により除去した。His タグ付きタンパク質を含む上清を、Ni²⁺ アフィニティークロマトグラフィを用いて精製し、20 mM Tris-HCl (pH 7.9)、500 mM NaCl、および 100 mM L-ヒスチジンを含有する緩衝液で組換えタンパク質を溶出した。His タグ付きタンパク質の濃度を、ELISA 検出キットを用いて推定し、精製 NphB オルソログを 4 °C で保存した。

30

【0019】

NphB オルソログを、*in vitro* プレニルトランスフェラーゼアッセイを用いて、プレニルトランスフェラーゼについて試験した。反応容量 200 μL 中で、20 μL の 1 M Tris-HCl (pH 7.9)、2 μL の 1 M MgCl₂、4 μL の 50 mM 芳香族ポリケチド基質、例えばオリベトール酸およびジバリン酸、20 μL の 10 mM ゲラニルピロリン酸、ならびに 50 μg の精製 NphB オルソログを組み合わせ、30 °C でインキュベートした。酵素を含まない対照反応物も調製した。

40

【0020】

24 時間後、反応混合物を 6 M HCl で pH 3.0 に酸性化し、酢酸エチルで 3 回抽出した。試料を真空乾燥させ、ネガティブイオンモードを用いる LC-MS 分析のためにメタノールに再溶解した。m/z = 359.22 (オリベトール酸を用いた場合) および m/z = 331.19 (ジバリン酸を用いた場合) の抽出イオンクロマトグラム (EIC

50

)を各試料について作成し、潜在的カンナビノイド前駆体の生合成がN p h B オルソログによって触媒されるか否かを決定した。基質としてオリベトール酸およびゲラニルピロリン酸を用いて生合成できる潜在的カンナビノイド前駆体の構造を図1に示す。

【0021】

N p h Bのある種のオルソログは、野生型N p h Bによって形成されたピークと比較して、LC MS分析において、新しいピークとして同定される新規生成物を生成した。また、特定のオルソログは、CBGAの収率が高いことも実証した。このようなオルソログを、その後のヤロウシア・リポリティカへのクローニングのために選択する。それらを、改変pYLEX1ベクター(Yeastern Biotech; 図2参照)にサブクローニングし、化学処理を用いてY・リポリティカに形質転換する。形質転換体を、ロイシンを含まないYNB寒天上で選択し、その後の収率最適化アッセイに使用する。

10

【0022】

試験した105個のオルソログのうち、8個のオルソログは、良好なタンパク質発現および新規プレニルトランスフェラーゼ活性を示した。8個のオルソログを、対応するUniProt IDおよび供給源生物と共に、以下の表1に列挙する。

20

30

40

50

【表 1】

表1 新規プレニルトランスフェラーゼ活性を有するNphBオルソログ

Uniprot ID	オルソログ	生物	NphB に対する同一性%	配列番号:
Q8GHB2	P3A5	ストレプトマイセス・ロゼオクロモゲナス (<i>Streptomyces roseochromogenus</i>) 亜種 <i>oscitans</i>	14.3	1
AOA1B0UHJ4	Y1C5	アスペルギルス・テレウス (<i>Aspergillus terreus</i>)	11.7	2
AOA1H8R5X4	P3E8	ストレプトマイセス・ルビダス (<i>Streptomyces rubidus</i>)	36.2	3
AOA0U5C5V3	P3E2	アスペルギルス・カリドウス (<i>Aspergillus calidoustus</i>)	14.0	4
S5UCZ5	1BF1	難培養性細菌 <i>esnapped 16.1</i>	33.8	5
A2AXG5	P3A6	ストレプトマイセス・シンナモネンシス (<i>Streptomyces cinnamonensis</i>)	35.7	6
G8LVY5	P3F5	クロストリジウム・クラリフラバム (<i>Clostridium clariflavum</i>)	25.4	7
KOEY8	1BC2	ノカルディア・ブラジリエンシス (<i>Nocardia brasiliensis</i>)	16.1	8

【0023】

P3E8は、野生型NphBと比較して、CBGAの収量が同等であり、8個のオルソログはすべて、LC-MS分析において、少なくとも1つの新しいピークを示し、それは $C_{22}H_{31}O_4$ (FW = 359.22) の分子式も有していた。

【0024】

図3Aおよび図3Bに示すとおり、8つのすべてのオルソログならびに野生型NphBは、CBGAを生成できる(保持時間: 図3Aでは、6.4分、図3Bでは6.1分)。P3A5を除くすべてのオルソログはまた、副産物、すなわち2-O-ゲラニルオリベトール酸も生成した(保持時間: 図3Aでは6.6分、図3Bでは6.3分)。オルソログP3A5、Y1C5、およびP3E2は、野生型NphBを用いた反応では観察されなかった保持時間7.23~7.24分で、 $m/z = 359.2225$ のかなりの量の新しいプレニル化生成物をそれぞれ生成した。

【0025】

10

20

30

40

50

m/z = 359.22を有し、図3Aおよび図3Bで同定された新規生成物を、以下の表2に要約する。これらの生成物は、野生型NphB酵素で生成されたものには見られない保持時間を有する。

【表2】

表2 ゲラニルピロリン酸およびオリベトール酸からのオルソログにより生成された新規生成物

オルソログ	保持時間(分)
P3E2	7.24
P3A5	7.23
P3E8	9.24, 11.08
1BF1	7.62, 9.46
Y1C5	7.22, 7.62
P3F5	7.05
P3A6	5.54, 9.27, 9.47
1BC2	5.56, 9.28, 9.48

10

【0026】

ある研究では、Uniprot ID: C4PWA1およびQ9L9F1に対応する2つのオルソログが、微量の新規プレニル化生成物のみ生成することが示され、これらのオルソログが野生型NphBとは異なる部位で、オリベトール酸をプレニル化したことが示唆された。

20

【0027】

さらに、異なる基質をNphBオルソログと共にインキュベートして、新規カンナビノイド前駆体が生成され得るか否かを決定することができる。図4は、オリベトール酸またはゲラニルピロリン酸のいずれかまたは両方を置換したときに形成され得る生成物を示している。次いで、カンナビノイド化合物ライブラリを多様化するために、新規カンナビノイド前駆体を下流のカンナビノイドシンターゼで試験することができる。

【0028】

他の実施形態

本明細書に開示される特徴はすべて、任意の組み合わせで組み合わせることができる。本明細書に開示される各特徴は、同じ、同等の、または同様の目的を果たす代替的な特徴に置き換えることができる。したがって、明示的に別段の記載がない限り、開示される各特徴は、等価または類似の特徴の一般的な系列の例である。

30

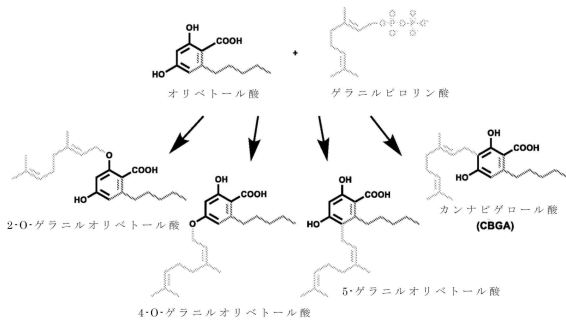
以上の説明から、当業者は、本発明の本質的な特徴を容易に確認することができ、その趣旨および範囲から逸脱することなく、本発明を種々の用途および条件に適合させるために種々の変更および修正を加えることができる。したがって、他の実施形態も、以下の特許請求の範囲の範囲内にある。

40

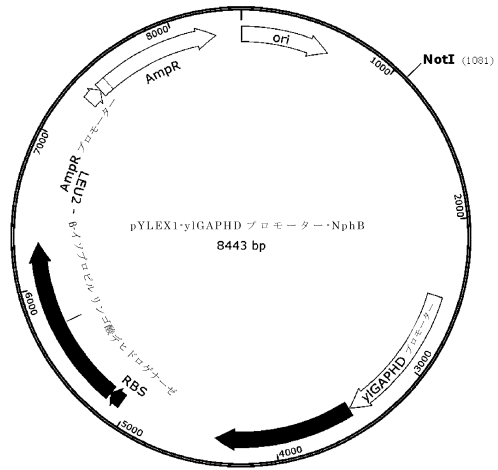
50

【図面】

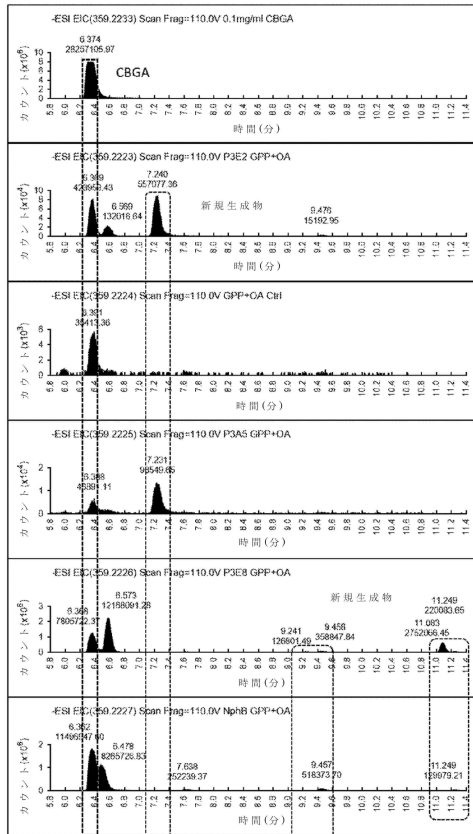
【図 1】



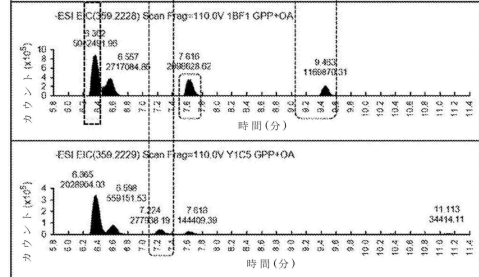
【図 2】



【図 3 A - 1】



【図 3 A - 2】



10

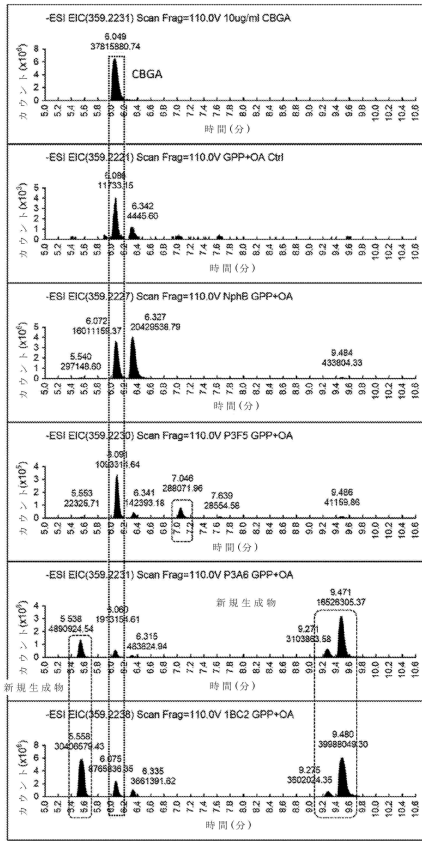
20

30

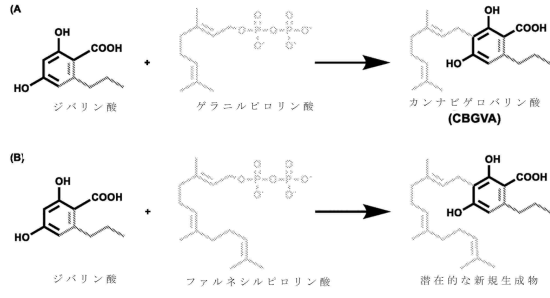
40

50

【 図 3 B 】



【 図 4 】



10

20

【 配列表 】

0007638005000001.app

30

40

50

フロントページの続き

- 弁理士 高橋 香元
- (72)発明者 ゴー,メイベル ダ リーン コー
シンガポール国,シンガポール 119077,21 ローワー ケント リッジ ロード,ナショナル
ユニヴァーシティ オブ シンガポール内
- (72)発明者 リム,ケヴィン ジー ハン
シンガポール国,シンガポール 119077,21 ローワー ケント リッジ ロード,ナショナル
ユニヴァーシティ オブ シンガポール内
- (72)発明者 リム,ヤン ピン
シンガポール国,シンガポール 119077,21 ローワー ケント リッジ ロード,ナショナル
ユニヴァーシティ オブ シンガポール内
- (72)発明者 ユー,ウェン シャン
シンガポール国,シンガポール 119077,21 ローワー ケント リッジ ロード,ナショナル
ユニヴァーシティ オブ シンガポール内
- 審査官 太田 雄三
- (56)参考文献 国際公開第2019/014490(WO,A1)
特表2008-528036(JP,A)
DATABASE GenBnk[online], Accession No. KP893683.1, 2016年07月28日, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KP893683>, 令和6年7月23日検索
Database: UniProt/TrEMBL[online], Accession No. 0A1H8R5X4_9ACTN, 2017年04月12日, https://www.genome.jp/entry/tr:A0A1H8R5X4_9ACTN, 令和6年7月23日検索
DATABASE UniProt[online], Accession No. A0A0U5C5V3, 2016年03月16日, <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A0U5C5V3/entry>, 令和6年7月23日検索
DATABASE UniProt[online], Accession No. S5UCZ5, 2013年10月16日, <https://www.uniprot.org/uniprotkb/S5UCZ5/entry>, 令和6年7月23日検索
DATABASE UniProt[online], 2007年02月20日, Accession No. A2AXG5, <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A2AXG5/entry>, 令和6年7月23日検索
DATABASE UniProt[online], Accession No. G8LVY5, 2012年02月22日, <https://www.uniprot.org/uniprotkb/G8LVY5/entry>, 令和6年7月23日検索
DATABASE UniProt[online], Accession No. K0EWY8, 2012年11月28日, <https://www.uniprot.org/uniprotkb/K0EWY8/entry>, 令和6年7月23日検索
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
C12P 7/00
C12P 17/00
C12N 15/00
C12N 1/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
Caplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq