(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0118787
(43) 공개일자 2012년10월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/81 (2006.01) *C12N 15/31* (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01) *C12P 7/06* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0036386
(22) 출원일자 2011년04월19일
심사청구일자 2011년04월19일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울 성북구 안암동5가 1
(72) 발명자
김승욱
서울특별시 노원구 공릉동 737, 삼익아파트 104동 905호
장은지
서울특별시 마포구 만리재옛4길 15, 1층 (공덕동)
신현용
서울특별시 관악구 조원로 119-1 (신림동)
(74) 대리인
특허법인이지

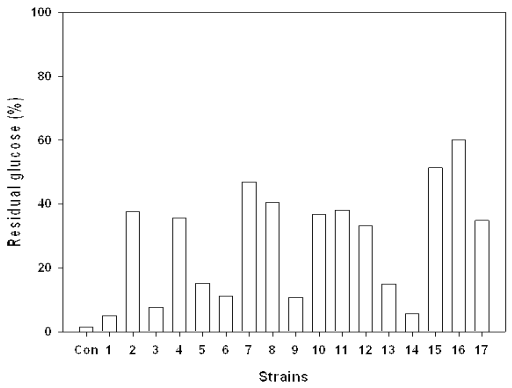
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 **글루코스 수용체가 저해된 피키아 스티피티스 균주 및 이를 이용한 바이오에탄올 생산방법**

(57) 요 약

본 발명은 글루코스 수용체가 저해된 피키아 스티피티스 균주 및 이를 이용한 바이오에탄올 생산방법에 관한 것이며, 보다 상세하게는 안티센스를 이용하여 피키아 스티피티스의 고친화성 글루코스 수용체 유전자의 기능을 저해하는 것을 포함하는 바이오에탄올의 생산방법에 관한 것이다. 본 발명의 개량된 피키아 스티피티스는 글루코스의 소비가 60% 억제된 것을 확인하였다. 상기 피키아 스티피티스에 의해 자일로스로부터 바이오에탄올로의 전환이 효율적으로 일어나게 되며, 이후 공정에서 상기 생성된 여분의 글루코스를 이용하여 고농도의 바이오에탄올을 매우 효율적으로 생산할 수 있다.

대 표 도 - 도2



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2E21600-10-026

부처명 한국과학기술연구원

연구사업명 목질계 바이오연료 생산 핵심원천기술 개발

연구과제명 목질계 바이오매스 유래 혼합당을 이용한 고효율 에탄올 생산공정 개발

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2008.01.01 ~ 2008.12.31이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20100027563

부처명 한국연구재단

연구사업명 중견연구자지원_핵심연구(공동)

연구과제명 고활성 당화효소 생산 에탄올 발효균주 개발과 다양한 배양시스템의 공정최적화를 통한 고효율 수송용 바이오 에탄올 생산공정에 관한 연구

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2010.09.01 ~ 2011.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 1로 기재되는 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)의 고친화성 글루코스 수용체에 대한 안티센스 뉴클레오타이드를 발현하는 재조합 벡터.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 재조합 벡터는 유도성(Inducible) 프로모터와 이에 작동가능하도록 연결된 고친화성 글루코스 수용체 유전자로 이루어지는 것을 특징으로 하는 재조합 벡터.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 유도성 프로모터는 메탄올의 존재에 의해 발현이 유도되는 프로모터인 것을 특징으로 하는 재조합 벡터.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 재조합 벡터를 포함하는 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*).

청구항 5

당질계, 전분질계 및 목질계로 이루어진 군에서 선택되는 한 가지 이상의 바이오매스를 제공하는 단계;

상기 바이오매스에 제2항의 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)를 처리하는 단계를 포함하는 바이오에탄올의 생산방법.

청구항 6

당질계, 전분질계 및 목질계로 이루어진 군에서 선택되는 한 가지 이상의 바이오매스를 제공하는 단계; 및

상기 바이오매스에 제2항의 상기 피키아 스티피티스와 사카로마이세스 세리비지에 혼합균주를 처리하는 단계를 포함하는 바이오에탄올의 생산방법.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 바이오매스는 목질계인 것을 특징으로 하는 바이오에탄올의 생산방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 글루코스 수용체가 저해된 피키아 스티피티스 균주 및 이를 이용한 바이오에탄올 생산방법에 관한 것이며, 보다 상세하게는 안티센스를 이용하여 피키아 스티피티스의 고친화성 글루코스 수용체 유전자의 기능을 저해하는 것을 포함하는 바이오에탄올의 생산방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 현재 바이오에탄올은 당질계, 전분질계 바이오매스 (사탕수수, 옥수수, 콩 등)가 사용되고 있으나, 이러한 바이오매스는 사람의 식량으로도 이용되고 있어, 바이오에탄올의 생산을 위해서는 경제적, 환경적 측면에서 바람직하지 않은 측면이 대두되고 있다. 따라서, 이를 대체할 수 있는 바이오매스가 요구되고 있는 실정이다.

[0003] 최근 목질계바이오매스를 이용한 바이오에탄올 생산에 관련된 연구가 활발히 진행되고 있다. 목질계바이오매스는 리그닌 15-25%, 셀룰로오스 38-50% (6탄당; 글루코스 등), 헤미셀룰로오스 23-32% (5탄당; 자일로스 등) 등으로 이루어진 리그닌 및 탄수화물 복합체이다. 현재 에탄올 생산을 위해 사용되는 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*)는 글루코스를 이용한 바이오에탄올의 생산성은 높으나, 자일로스를 이용하여 에탄올 생산이 불가능한 단점을 가지고 있고, 이로 인해 목질계바이오매스로부터 에탄올 생산시 생산성이 낮다. 반면에 피키아 스티피티스는 글루코스과 자일로스를 모두 이용하여 에탄올 생산을 할 수 있지만, 에탄올 내성이 낮아서 고농도 에탄올 생산은 불가능하다는 단점을 안고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 이에, 본 발명자들은 바이오에탄올 생산시 사카로마이세스 세레비지에(*Sacchromyces cerevisiae*) 및 피키아 스티피티스의 단점을 보완하기 위해 글루코스과 자일로스를 동시에 이용하는 피키아 스티피티스의 글루코스 수송체의 발현을 저해하여 글루코스 소비를 억제할 수 있는 균주 및 이를 이용한 바이오에탄올 생산방법을 개발하기에 이르렀다.

[0005] 결국, 본 발명의 목적은 고친화성 글루코스 수용체 유전자의 기능이 저해된 피키아 스티피티스 균주를 제공하는 데 있다.

[0006] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 균주를 이용하여 보다 효율적으로 바이오에탄올을 생성할 수 있는 생산방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 서열번호 1로 기재되는 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)의 고친화성 글루코스 수용체에 대한 안티센스 뉴클레오타이드를 발현하는 재조합 벡터가 제공될 수 있다.

[0008] 일 실시예에 따르면, 상기 재조합 벡터는 유도성(Inducible) 프로모터와 이에 작동가능하도록 연결된 고친화성 글루코스 수용체 유전자로 이루어지는 것일 수 있다.

[0009] 일 실시예에 따르면, 상기 유도성 프로모터는 메탄올의 존재에 의해 발현이 유도되는 프로모터일 수 있다.

[0010] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 어느 한 항의 재조합 벡터를 포함하는 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)가 제공될 수 있다.

[0011] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 당질계, 전분질계 및 목질계로 이루어진 군에서 선택되는 한 가지 이상의 바이오매스를 제공하는 단계; 상기 바이오매스에 제2항의 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)를 처리하는 단계를 포함하는 바이오에탄올의 생산방법이 제공될 수 있다.

[0012] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 당질계, 전분질계 및 목질계로 이루어진 군에서 선택되는 한 가지 이상의 바이오매스를 제공하는 단계; 상기 바이오매스에 제2항의 상기 피키아 스티피티스와 사카로마이세스 세리비지에 혼합균주를 처리하는 단계를 포함하는 바이오에탄올의 생산방법이 제공될 수 있다.

[0013] 일 실시예에 따르면, 상기 바이오매스는 목질계일 수 있다.

발명의 효과

[0014] 본 발명의 개량된 피키아 스티피티스는 글루코스의 소비가 60% 억제된 것을 확인하였다. 상기 피키아 스티피티스에 의해 자일로스로부터 바이오에탄올로의 전환이 효율적으로 일어나게 되며, 이후 공정에서 상기 생성된 여분의 글루코스를 이용하여 고농도의 바이오에탄올을 매우 효율적으로 생산할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 고친화성 글루코스 수용체 유전자를 저해하기 위한 안티센스 발현 벡터의 구조를 나타낸다.

도 2는 피키아 스티피티스에서 글루코스 수송체의 안티센스의 작용에 의한 글루코스 소비 억제 효과를 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

[0017] 본 발명에 따르면, 서열번호 1로 기재되는 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)의 고친화성 글루코스 수용체에 대한 안티센스 뉴클레오타이드를 발현하는 재조합 벡터가 제공될 수 있다.

[0018] 상기 고친화성 글루코스 수용체는 피키아 스티피티스 CBS 6054(*Pichia stipitis CBS 6054*)의 SNF3 고친화성 글루코스 수용체(SNF3 High-affinity glucose transporter)를 의미하며, 이는 유전자 식별번호(GeneID, Genbank)가 4841041이다. 이때, 상기 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)는 스케레로소마이세스 스티피티스(*Schefferesomyces stipitis*)의 구 학명(old name)이다.

[0019] 상기 고친화성 글루코스 수용체 유전자는 XM_001386379 좌위에 위치하고, 2244bp의 mRNA를 생성하는 것으로 알려져 있다. 서열목록 1은 상기 유전자의 시작코돈으로부터 종결코돈까지의 정방향(sense)을 나타내고 있으며, 본 발명에 첨부된 서열번호 1의 염기서열을 확인하지 않더라도 Genbank를 통해 상기 유전자의 다양한 정보를 얻을 수 있다.

[0020] 본 발명에서 안티센스 뉴클레오타이드라 함은 자연상태의 유전자의 발현방향과는 반대의 방향으로 전사된 뉴클레오타이드를 의미한다. 안티센스 뉴클레오티드는 상기 고친화성 글루코스 수용체유전자에 특이성을 나타낼 수 있는 정도이면 그 크기에는 제한이 없으며, 통상의 안티센스 기법은 공지의 기술로 잘 알려져 있다. 상기 안티센스 뉴클레오타이드의 발현을 위해서는 상기 고친화성 글루코스 수용체 유전자 단편의 최소 10bp 이상의 크기가 상기 재조합 벡터에 역방향으로 재조합되는 것이 필요하다. 따라서, 본 발명에 따른 안티센스의 목표 유전자인 SNF3 이외에도, 진화적으로 잘 보존된 다른 유전자 패밀리에 대한 저해도 가능하며, 상기 최소 단편의 서열은 게놈서열에 대한 탐색을 통해 적절하게 선택될 수 있다.

[0021] 일 실시예에 따르면, 상기 재조합 벡터는 유도성(Inducible) 프로모터와 이에 작동가능하도록 연결된 고친화성 글루코스 수용체 유전자로 이루어지는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0022] 이 때, 유도성 프로모터란, 특정 조건에 반응하여 발현을 유발하는 프로모터를 의미하며, 항상적으로 발현되는 프로모터(Constitutive)와는 구별된다. 상기 유도성 프로모터는 온도, 농도, 기타 물리적/화학적 변화에 반응할 수 있으며, 그 발현양의 측면에 있어서도 다양한 측면을 나타낼 수 있으나, 본 발명에서는 상기 재조합 벡터를 포함하는 피키아 스티피티스 균주가 사멸하지 않을 정도로 고친화성 글루코스 수용체의 안티센스 뉴클레오타이드를 발현할 수 있는 활성 정도이면 족하다. 본 발명의 일 실시예에서는 메탄올에 반응하는 유도성 프로모터(AOX1)를 이용하고 있으나, 바이오에탄올의 제조공정에 부정적인 영향을 미치지 않는 것으로서 숙주에서 작동할 수 있는 것이면, 어느 것이든 무방하다.

[0023] 도 1을 참조하면, 상기 프로모터와 연결되어 고친화성 글루코스 수용체 유전자의 안티센스 뉴클레오타이드를 제공할 수 있는 벡터의 모식도가 나타나 있다. 도1에 나타난바와 같이, 본 발명에 따른 벡터로 형질전환된 숙주세포는 제오신 등의 마커를 이용하여 선별할 수 있으며, 통상의 유전자 재조합에 사용될 수 있는 마커이면 특별한 제한은 없다.

[0024] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 상기 재조합 벡터를 포함하는 피키아 스티피티스가 제공될 수 있다. 여기서, 상기 재조합 벡터는 피키아 스티피티스의 게놈에 인입(integration)되어 항상적으로 작용할 수도 있고, 형질전환 방법을 통해 일시적으로(transiently) 작용할 수도 있으나, 공정상 상기 균주의 글루코스의 대사를 억제하고 이를 통해 자일로스의 대사를 증가시킬 수 있는 정도이면 어떠한 양태의 형질전환도 허용될 수 있다.

[0025] 여기서, 상기 피키아 스티피티스는 여러 균주가 사용될 수 있으나, 본 발명의 일 실시예에서는 CBS 6054를 이용하였다.

[0026] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 당질계, 전분질계 및 목질계로 이루어진 군에서 선택되는 한 가지 이상의 바이오매스를 제공하는 단계; 상기 바이오매스에 제2항의 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)를 처리하여 자일로

스를 바이오에탄올로 전환시키는 단계를 포함하는 바이오에탄올의 생산방법이 제공될 수 있다.

[0027] 상기 피키아 균주이외에 다른 균주를 더 사용할 경우, 상기 자일로스의 바이오에탄올로의 전환과 잔여 글루코스의 바이오에탄올로의 전환은 각기 다른 시간, 공간에서 이루어질 수도 있으며, 동시에 하나의 반응기 속에서 진행될 수도 있다. 후자의 경우 상기 2개의 반응은 연속공정의 일환으로 진행되는 것일 수 있으며, 이를 통해 보다 높은 수율을 나타낼 수 있다.

[0028] 일 실시예에 따르면, 상기 바이오매스는 목질계일 수 있으며, 목질계바이오매스는 리그닌 15-25%, 셀룰로오스 38-50% (6탄당; 글루코스 등), 헤미셀룰로오스 23-32% (5탄당; 자일로스 등) 등으로 이루어진 리그닌 및 탄수화물 복합체를 의미한다.

[0029] 일 실시예에 따르면, 상기 글루코스를 바이오에탄올로 전환시키는 단계는 사카로마이세스 세리비지에를 처리하여 수행될 수 있다.

[0030] 본 발명의 특징은 상기와 같이 피키아 스티피티스의 고친화성 글루코스 수용체 유전자를 안티센스로 저해함으로써, 피키아 스티피티스가 글루코스를 기질로하여 대사를 진행하는 것을 억제하여, 결과적으로 자일로스를 바이오에탄올로 전환시키는 효율을 증가시키는데 있다. 도 2에는 도 1에 따른 재조합 벡터를 도입한 피키아 스티피티스를 YPD 배지 (5 g/L peptone, 5 g/L yeast extract, 1 g/L $MgSO47H_2O$, 1g/L K_2HPO_4 and 50 g/L glucose)에서 배양한 다음 0.5%의 메탄올을 첨가하여 안티센스 뉴클레오타이드를 발현시킨 후 글루코스의 소비를 측정한 결과가 나타나 있다.

[0031] 도 2를 참조하면, 잔여 글루코스의 양이 대조군에 비해 최대 60%까지 나타나고 있어, 글루코스의 소비가 현저하게 줄어드는 것을 알 수 있다.

[0032] 따라서, 상기와 같이 본 발명의 따른 피키아 스티피티스는 글루코스 대신 자일로스에 대한 대사율을 높임으로써, 목질계 바이오매스 등에 다량 함유된 자일로스의 분해율을 보다 높일 수 있게 된다. 상기 피키아 스티피티스는 기타의 균주 등을 혼합하여 혼합균주로 사용할 경우 자일로스에 대한 보다 높은 처리를 통해 높은 수율로 바이오에탄올을 제조할 수 있게 된다. 상기 혼합균주로 사용될 수 있는 기타의 균주로는 사카로마이세스 세레비지에 또는 자이모모나스 모빌리스 등을 들 수 있으며, 상기 피키아 스티피티스와 혼합배양이 가능하며 에탄올 발효가 가능한 균주이면 무엇이든 무방하다.

[0033] 이하에서는 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 다만, 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다 할 것이다.

[0034] **재료 및 방법**

[0035] 본 발명에서 사용된 씨드배지는 YM broth medium (3 g/L yeast extract, 3 g/L peptone, 5 g/L malt extract, 10 g/L xylose) 을 이용하였고, 글루코스 수송체의 안티센스 뉴클레오타이드의 생성을 위해 메탄올 0.5%를 첨가하여 24시간 배양하였다. 에탄올 생산배지는 YPD 배지 (5 g/L peptone, 5 g/L yeast extract, 1 g/L $MgSO47H_2O$, 1g/L K_2HPO_4 and 50 g/L glucose) 를 사용하였으며, 글루코스 수송체의 안티센스 뉴클레오타이드의 생성을 위해 메탄올 0.5%를 첨가하여 배양하여 글루코스 소비의 억제를 확인하였다.

[0036] **실시예 1**

[0037] 씨드배지는 YM broth medium (3 g/L yeast extract, 3 g/L peptone, 5 g/L malt extract, 10 g/L xylose) 을 이용하였고, 글루코스 수송체의 안티센스 뉴클레오타이드의 생성을 위해 메탄올 0.5%를 첨가하여 24시간 배양하였다. 에탄올 생산배지는 YPD 배지 (5 g/L peptone, 5 g/L yeast extract, 1 g/L $MgSO47H_2O$, 1g/L K_2HPO_4 and 50 g/L glucose) 를 사용하였으며, 글루코스 수송체의 안티센스 뉴클레오타이드의 생성을 위해 메탄올 0.5%를 첨가하여 배양하여 글루코스 소비의 억제를 확인하였다.

[0038] 그 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2의 대조군은 상기 벡터가 도입되지 않은 피키아 스티피티스를 의미하며, 실

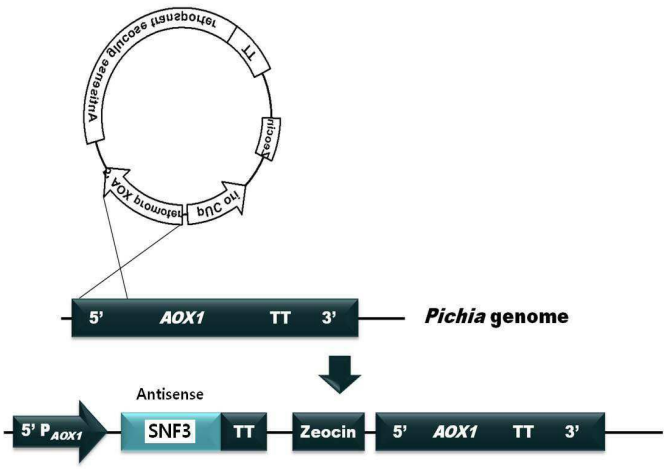
험군의 각 일련번호는 단일 콜로니로부터 파생된 피키아 스티피티스 각 균주를 의미한다.

[0039] 결론적으로, 도 1과 도 2의 실험 결과를 바탕으로 피키아 스티피티스(*Pichia stipitis*)에서 글루코스 수송체의 안티센스 뉴클레오타이드의 발현으로 인한 글루코스의 소비를 확인하였다. 이를 통해 바이오에탄올의 생성에 적용하게 될 경우, 목질계 바이오매스로부터 제공되는 자일로스를 보다 효율적으로 바이오에탄올로 전환시킬 수 있으며, 이후 공정에서 여분의 글루코스를 이용하여 바이오에탄올로 제조함으로써, 전체 공정의 부산물을 감소시키고 바이오에탄올 수율을 향상시킬 수 있게 된다.

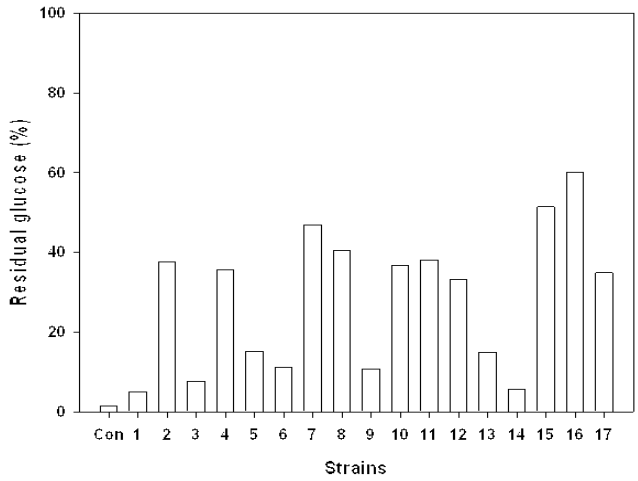
[0040] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항 들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



도면2



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Korea University Research and Business Foundation

<120> Pichia stipitis for ethanol production from lignocellulosic biomass using antisense glucose transporter

<130> NPF19454

<160> 1

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 2244

<212> DNA

<213> Pichia stipitis

<400> 1

atgtggaaat ttctagaagc tctactttac gacaacacca tcgaagaaga atactacagg 60

aaaatccgtc aaaagtcctc ctccaagtcg gctgtaatcg taggtcttgt agctgccgtg 120

ggaggctttt tgtatgggta cgatacggga ctcatcaacg acttgctaga aatgagatac 180

gtctacgaaa actttccaga aaatctgcat tcgttcacat cacatgaacg agcgttgatt 240

acggctgtgt tatcgctcgg aacattcata ggagctctca tagcgcctct tatctccgac 300

aactatggcc ggaagttttc catcattgtc tcttccggtc tcattttcaa cgcaggcaac 360

attttgcaaa tcgcatcaac aaacgtagca ttgctttgcg ttggtagagc gatctcgggt 420

gtatctgtag gcattctttc ggccattgta cccttgtacc aagctgaagc ttctcccaaa 480

tgggtcagag gttccgtcgt tttcacatat caatgggcca ttacttgggg cttgttgata 540

gcgagtgccg tctgtcaagg cactcgaaaa atgaccaatt ctggctcata tcggatcccc 600

gtgggcctcc agtttctctg ggctcttatc ttgtacacgg ggatgctttt cttgcccgaa 660

agtccccgtt attatgttca aaaagacgat cttcagaaag ctctagatag tttgtcgaag 720

ttgcgaaagt tgcccccaga cgacgctgat ttgatagagg agttggtgga aatcaaggct 780

aactacgact acgagttgtc gtatggtaag accaactatc ttgattgctt ccgtagtgga 840

ggaggaagac acaagcaggt gttgcgaatg ttcactggaa tcggtgctca actctttcag 900

cagtgttcag gcatcaactt catcttctac tatggtgtca acttcttctc cagcaccggc 960

atccagaact tttacatcat gtccttcgtg acgtatttgg tcaacactat cttcacaatc 1020

cccggaataa ttctagtgga tacgataggc aggcgacagt tgctcctatg gggtggcgta 1080

ggcatgtcta ccgcgaactt cataattgcg attacgggag tcagtatctc cagtaaggaa 1140

accagttcga ttctaagcgt ctgtttttcg tgtgtgttca tagcgttttt cgccagttcg 1200

tggggtggat gtgtatgggc actcacttct gatatatacg gtattagtat cagacagaga 1260

gccatatcca tcactacagc cacgaactgg ttggtcaact tcatctttgc ctacataaca 1320

ccgtatctca tcgatacggg acaccatact gcagctatag gaaacaaaat cttctttatc 1380

tggggaggtt gtaacgctgc cggtgtcgtt ttcgtctact tcactgtcta cgaaacaaag 1440

ggattgaagt tggaggaaat tgattatatg tacgctcatt gtgacaatgc gagaaagtcc 1500

accgagttca agtcgaccaa aatcgattac actagattgg acgagaacta caacgctgta 1560

ccctgggatc ctccttatcc atcaacaacg agctcatcgc ctccttctaa catcaacgag 1620

aaggaccttt catcttctga tcccaaccaa gacgtcaatg tacatagtga caacaacgag 1680

tttgttccat tgtacaacaa caaaaaactt ccaaataatc ctacaaacac caacaaaaac 1740

gacatcacca tcattcccta caacaatatc attctgccgt cgttatcatc gaactccgag 1800

ccctcttctg ctgcttcgtc aattctcaac aacagattcc accacaactc tgtctcgact 1860

acaaacaacg tctctgtatc tacatctaac cctggccaat cttctggtca aggtacagct 1920

tccaacgact acttgctgta tttggatagt ttgaagtctg agtacggaag tccacctcac 1980

tacaataacg acacactaca ccagcagcac accaaccaat cgaactccaa gggttctgct 2040

acagacagaa acagcagcat cactgctagc aacattcacc atactcatag caacatcacc 2100

agcaacatta ataaccataa tagtaataac attaataaca gtataaccaa caattcgacc 2160

acgattattg ccacgccata cttcaaccag cctccaccag actcttccga tgaagaagac 2220

gaagacgagg acgaagaaga atag 2244