(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201438582 A
(43)公開日： 中華民國 103 (2014) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：102136778 (22)申請日： 中華民國 102 (2013) 年 10 月 11 日

(51)Int. Cl.： *A01N63/02 (2006.01)* *C12N1/21 (2006.01)*
C12N15/31 (2006.01) *A01P3/00 (2006.01)*
A01P7/00 (2006.01) *C12R1/465 (2006.01)*

(30)優先權：2012/10/11 美國 61/712,626
2012/10/16 美國 61/714,267
2012/10/25 美國 61/718,674
2012/12/07 美國 61/734,541
2013/02/01 美國 61/759,955
2013/02/01 美國 61/759,977
2013/02/07 歐洲專利局 13154355.5
2013/09/18 美國 61/879,601

(71)申請人：拜耳農業科學有限合夥事業 (美國) BAYER CROPSCIENCE LP (US)
美國

(72)發明人：坎貝爾 布萊恩 CAMPBELL, BRIAN (US)；克提斯 丹米恩 CURTIS, DAMIAN (US)；關 少華 GUAN, SHAOHUA (CA)；吉哈伯特砍亞 梅格麗 GUILHABERT-GOYA, MAGALIE R. (FR)；朱聖喆 JOO, DANIEL M. (US)；盧泰拉 LU, TARA (US)；瑪葛利斯 強那森 MARGOLIS, JONATHAN (US)；羅依堤 理德 ROYALTY, REED NATHAN (US)；沙略加 傑拉多 SALAZAR, GERARDO BUENO (MX)；塞森 大衛 SESIN, DAVID (US)；史密斯 費里斯畢 SMITH, FRISBY DAVIS (US)；泰勒 高林 TAYLOR, COLLEEN (US)；朱宏 ZHU, HONG (CA)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：80 項 圖式數：12 共 205 頁

(54)名稱

細黃鏈黴菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｍｉｃｒｏｆｌａｖｕｓ）株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法

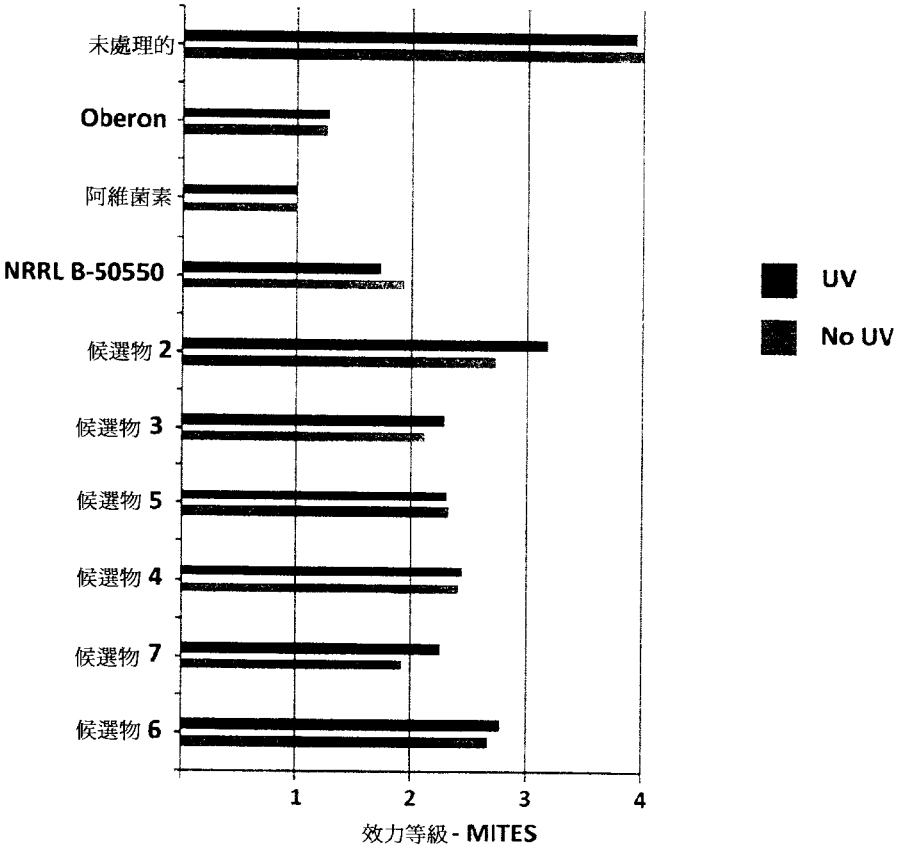
STREPTOMYCES MICROFLAVUS STRAINS AND METHODS OF THEIR USE TO CONTROL PLANT DISEASES AND PESTS

(57)摘要

本發明關於新穎之細黃鏈黴菌(Streptomyces microflavus)株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法。本發明亦關於藉由培養產製谷氏菌素(gougerotin)之鏈黴菌株所獲得的醱酵基質，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素。本發明亦關於製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素，該方法包含在有氧條件下，在含有可消化之碳源及可消化之氮源的培養基中培養鏈黴菌株，其中該培養基含有能有效達成至少 1 克/升之谷氏菌素濃度的胺基酸濃度。本揭露內容亦關於從細黃鏈黴菌進行谷氏菌素生物合成基因簇之分子選

殖，及鑑定該基因簇中之個別基因和由其編碼之蛋白質。包含 13 個開放閱讀框(ORFs)之谷氏菌素基因簇係位在細黃鏈黴菌之基因位點內。

第 1 圖



(19)中華民國智慧財產局
(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201438582 A
(43)公開日： 中華民國 103 (2014) 年 10 月 16 日

(21)申請案號：102136778 (22)申請日： 中華民國 102 (2013) 年 10 月 11 日

(51)Int. Cl.： *A01N63/02 (2006.01)* *C12N1/21 (2006.01)*
C12N15/31 (2006.01) *A01P3/00 (2006.01)*
A01P7/00 (2006.01) *C12R1/465 (2006.01)*

(30)優先權：2012/10/11 美國 61/712,626
2012/10/16 美國 61/714,267
2012/10/25 美國 61/718,674
2012/12/07 美國 61/734,541
2013/02/01 美國 61/759,955
2013/02/01 美國 61/759,977
2013/02/07 歐洲專利局 13154355.5
2013/09/18 美國 61/879,601

(71)申請人：拜耳農業科學有限合夥事業 (美國) BAYER CROPSCIENCE LP (US)
美國

(72)發明人：坎貝爾 布萊恩 CAMPBELL, BRIAN (US)；克提斯 丹米恩 CURTIS, DAMIAN (US)；關 少華 GUAN, SHAOHUA (CA)；吉哈伯特砍亞 梅格麗 GUILHABERT-GOYA, MAGALIE R. (FR)；朱聖喆 JOO, DANIEL M. (US)；盧泰拉 LU, TARA (US)；瑪葛利斯 強那森 MARGOLIS, JONATHAN (US)；羅依堤 理德 ROYALTY, REED NATHAN (US)；沙略加 傑拉多 SALAZAR, GERARDO BUENO (MX)；塞森 大衛 SESIN, DAVID (US)；史密斯 費里斯畢 SMITH, FRISBY DAVIS (US)；泰勒 高林 TAYLOR, COLLEEN (US)；朱宏 ZHU, HONG (CA)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：80 項 圖式數：12 共 205 頁

(54)名稱

細黃鏈黴菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｍｉｃｒｏｆｌａｖｕｓ）株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法

STREPTOMYCES MICROFLAVUS STRAINS AND METHODS OF THEIR USE TO CONTROL PLANT DISEASES AND PESTS

(57)摘要

本發明關於新穎之細黃鏈黴菌(Streptomyces microflavus)株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法。本發明亦關於藉由培養產製谷氏菌素(gougerotin)之鏈黴菌株所獲得的醱酵基質，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素。本發明亦關於製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素，該方法包含在有氧條件下，在含有可消化之碳源及可消化之氮源的培養基中培養鏈黴菌株，其中該培養基含有能有效達成至少 1 克/升之谷氏菌素濃度的胺基酸濃度。本揭露內容亦關於從細黃鏈黴菌進行谷氏菌素生物合成基因簇之分子選

201438582

發明摘要

A01N 63/02 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
C12N 15/31 (2006.01)
A01P 3/00 (2006.01)
A01P 7/00 (2006.01)
C12R 1/465 (2006.01)

※申請案號：102136778

※申請日：102 年 10 月 11 日　　※IPC 分類：

【發明名稱】(中文/英文)

細黃鏈黴菌(Streptomyces microflavus)株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法

Streptomyces microflavus strains and methods of their use to control plant diseases and pests

【中文】

本發明關於新穎之細黃鏈黴菌(Streptomyces microflavus)株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法。本發明亦關於藉由培養產製谷氏菌素(gougerotin)之鏈黴菌株所獲得的醱酵基質，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素。本發明亦關於製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素，該方法包含在有氧條件下，在含有可消化之碳源及可消化之氮源的培養基中培養鏈黴菌株，其中該培養基含有能有效達成至少 1 克/升之谷氏菌素濃度的胺基酸濃度。本揭露內容亦關於從細黃鏈黴菌進行谷氏菌素生物合成基因簇之分子選殖，及鑑定該基因簇中之個別基因和由其編碼之蛋白質。包含 13 個開放閱讀框(ORFs)之谷氏菌素基因簇係位在細黃鏈黴菌之基因位點內。

【英文】

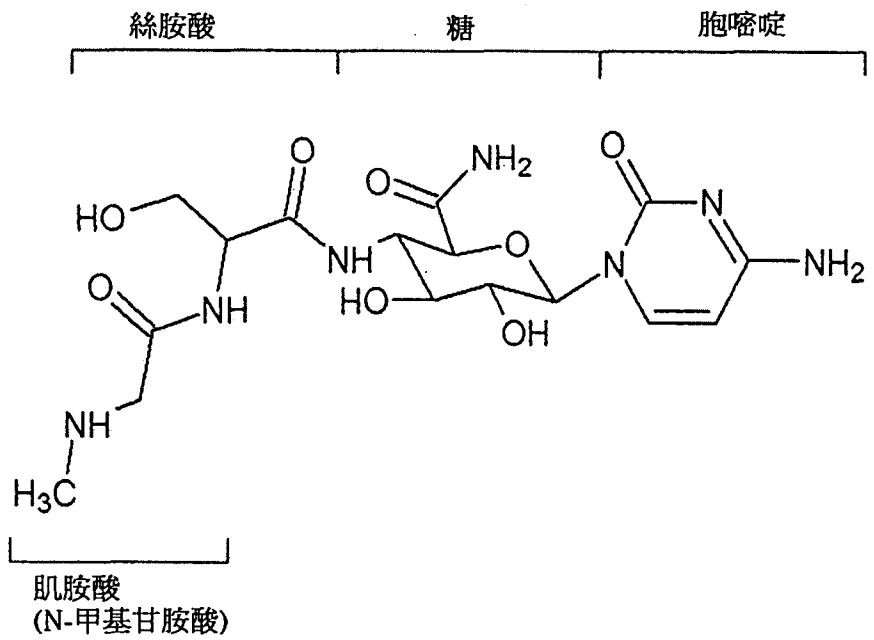
The present invention relates to novel strains of *Streptomyces microflavus* and methods of their use for controlling diseases or pests of a plant. The invention also relates to a fermentation broth obtained by cultivating a gougerotin producing *Streptomyces* strain, wherein the fermentation broth contains at least about 1 g/L gougerotin. The invention also relates to a method of producing a fermentation broth of a gougerotin producing *Streptomyces* strain, wherein the fermentation broth contains at least about 1 g/L gougerotin, the method comprising cultivating the *Streptomyces* strain in a culture medium containing a digestible carbon source and a digestible nitrogen source under aerobic conditions, wherein the culture medium contains an amino acid at a concentration effective to achieve a gougerotin concentration of at least 1 g/L. The present disclosure also relates to the molecular cloning of a gougerotin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces microflavus*, and identification of individual genes in the gene cluster as well as the proteins encoded thereby. A gougerotin gene cluster comprising 13 open reading frames (ORFs) is located within a genetic locus of *Streptomyces microflavus*.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(１)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

細黃鏈黴菌(Streptomyces microflavus)株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法

Streptomyces microflavus strains and methods of their use to control plant diseases and pests

【技術領域】

[0001] 本發明關於細菌菌株及彼等於控制植物疾病和害蟲之能力的領域。

關於以電子方式提交之序列表

[0002] 該序列表之正式複本係經由 EFS 網路以電子方式提交，其係在 2013 年 10 月 10 日以 ASCII 格式之序列表形式創建，檔案名稱爲“250-US_ST25.txt”，檔案大小爲 175 KB，且與專利說明書同時提交。包含在此 ASCII 格式之文檔中的序列表爲該專利說明書的一部分，其全部內容以引用方式被納入本文。

【先前技術】

[0003] 植食性蟎類，尤其是蛛蟎，爲果園、溫室及許多蔬菜和水果作物，包括辣椒、番茄、馬鈴薯、南瓜、茄子、黃瓜和草莓之主要農業害蟲。蟎類使用其尖銳的口

器損害葉和/或水果表面。除了直接損壞植物部分(稱爲繪斑(stippling))，蟎蟲以此爲食亦造成對植物疾病的感受性增加。

[0004] 蟎蟲爲蜱蟎類(acari)，而非昆蟲，一些廣譜殺蟲劑對蟎類亦有效。蟎蟲的特性及可用之殺蟎劑的特性爲控制蟎蟲帶來挑戰。例如，蛛蟎(最具經濟重要性的蟎族之一)一般係生活在植物葉子下方，從而使其難以處理。此外，已知蟎類在二至四年內會對目前可用之殺蟎劑(其中多種具單一作用模式)發展出抗藥性。可用之殺蟎劑中對蟎卵具有活性的很少，因而必須要重複施用。因此，除了具有良好的擊倒活性外，還具有透層、殺卵及強大之殘留活性的新殺蟎劑是有需要的。

【發明內容】

[0005] 本發明提供細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突變體(菌株)。於一實施例中，該植食性殺蟎和/或殺真菌突變株爲細黃鏈黴菌株 M。本發明亦提供紫紅鏈黴菌(*Streptomyces puniceus*)菌株 A 或由其衍生之植食性殺蟎和/或殺真菌突變體(菌株)。

[0006] 本發明亦提供含有細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎和/或殺真菌突變體(菌株)之組成物。於一觀點中，該組成物爲細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎和/或殺真菌突變株的醱酵產物。本發明亦提供含有紫紅鏈黴菌株 A 或由其衍生之

植食性殺蠕和/或殺真菌突變體(菌株)之組成物。於一觀點中，該組成物爲紫紅鏈黴菌株 A 或由其衍生之植食性殺蠕和/或殺真菌突變株的醱酵產物。

[0007] 本發明亦提供藉由培養產製谷氏菌素(gougerotin)之鏈黴菌株取得的醱酵產物，其中該醱酵產物含有至少約 1 克/升之谷氏菌素。

[0008] 本發明亦提供含有至少約 1 克/升谷氏菌素之醱酵基質。於一實施例中，該醱酵基質未經過任何下游加工。於一特殊實施例中，該醱酵基質係來自鏈黴菌株。適合用於本發明之鏈黴菌株的類型詳細描述於本文中。

[0009] 本發明亦提供產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵產物，其中該醱酵產物包含至少約 1 克/升之谷氏菌素。於一實施例中，該醱酵產物爲醱酵基質。本發明亦提供含有至少約 1 克/升、至少約 2 克/升、至少約 3 克/升、至少約 4 克/升、至少約 5 克/升、至少約 6 克/升、至少約 7 克/升、或至少約 8 克/升之谷氏菌素的醱酵基質。於一實施例中，該醱酵基質含有濃度爲約 1 克/升至約 15 克/升的谷氏菌素。於一實施例中，該產製谷氏菌素之鏈黴菌株爲細黃鏈黴菌、灰色鏈黴菌(*S. griseus*)、環圈鏈黴菌(*S. anulatus*)、糞生鏈黴菌(*S. fimicarius*)、小鏈黴菌(*S. parvus*)、淡紫灰鏈黴菌(*S.lavendulae*)、白綠鏈黴菌(*S. alboviridis*)、紫紅鏈黴菌或禾粟鏈黴菌(*S. graminearus*)。於另一實施例中，該產製谷氏菌素之鏈黴菌株包含編碼與選自以下群組之至少一種胺基酸序列具有至少約 80%之序列同一性、至

少約 85%之序列同一性、至少約 90%之序列同一性、或至少約 95%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 和 SEQ ID NO：42。於另一實施例中，該產製谷氏菌素之鏈黴菌株包含編碼與選自以下群組之至少一種胺基酸序列具有至少約 80%之序列同一性、至少約 85%之序列同一性、至少約 90%之序列同一性、或至少約 95%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：77、SEQ ID NO：78、SEQ ID NO：79、SEQ ID NO：80、SEQ ID NO：81、SEQ ID NO：82、SEQ ID NO：83、SEQ ID NO：84、SEQ ID NO：85、SEQ ID NO：86、SEQ ID NO：87 及 SEQ ID NO：88。再於另一實施例中，該產製谷氏菌素之鏈黴菌株爲細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎和/或殺真菌突變株。於另一實施例中，其爲紫紅鏈黴菌株 A 或由其衍生之植食性殺蟎突變株。再於另一實施例中，其爲細黃鏈黴菌株 M。

[0010] 本發明亦提供製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法(其中該醱酵基質含有至少約 0.5 克/升之谷氏菌素)，該方法包含：在有氧條件下，將鏈黴菌株培養在含有可消化之碳源和可消化之氮源的培養基中，其中該培養基含有之胺基酸濃度能有效取得濃度爲至少 0.5

克/升之谷氏菌素。本發明亦提供製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法(其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素)，該方法包含：在有氧條件下，將鏈黴菌株培養在含有可消化之碳源和可消化之氮源的培養基中，其中該培養基含有之胺基酸濃度能有效取得濃度爲至少 1 克/升之谷氏菌素。本發明亦提供處理植物以控制植物疾病或害蟲的方法，其中該方法包含將細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突變株施用在植物、植物之一部分和/或植物的位點。於一實施例中，該菌株之醱酵產物或由其衍生之突變體的醱酵產物係施用在植物和/或植物的位點。

[0011] 本發明亦提供處理植物以控制植物疾病或害蟲的方法，其中該方法包含將細黃鏈黴菌株，包括細黃鏈黴菌株 NRRL-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突變株施用在植物、植物之一部分和/或植物的位點。於一實施例中係將該菌株之醱酵產物或由其衍生之突變體的醱酵產物施用在植物和/或植物的位點。

[0012] 本發明亦提供控制植食性蜱蟎或昆蟲的方法，其包含將細黃鏈黴菌株，包括細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎菌株施用在植物或植物周圍之土壤。於一實施例中係將該菌株之醱酵產物或由其衍生之突變體的醱酵產物施用在植物和/或植物的位點。

[0013] 本發明亦提供製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升

之谷氏菌素，該方法包含在有氧條件下，將鏈黴菌株培養在含有可消化之碳源和可消化之氮源的培養基中，其中該培養基含有之胺基酸濃度能有效取得濃度爲至少 1 克/升之谷氏菌素。於一實施例中係將鏈黴菌株培養在培養基中，直到培養基中含有之谷氏菌素濃度爲至少約 2 克/升之谷氏菌素、至少約 3 克/升之谷氏菌素、至少約 4 克/升之谷氏菌素、至少約 5 克/升之谷氏菌素、至少約 6 克/升、至少約 7 克/升、或至少約 8 克/升之谷氏菌素。於另一實施例中係將鏈黴菌株培養在培養基中，直到培養基中含有之谷氏菌素濃度爲約 1 克/升至約 15 克/升之谷氏菌素。

[0014] 於該製造醱酵基質之方法的一種實施例中，該胺基酸係選自下列群組：甘胺酸、麩胺酸、麩胺醯胺、絲胺酸及彼等之混合物。於一種情況中，該培養基中所含有之胺基酸的初始濃度爲至少約 2 克/升。於一特定之情況中，該培養基中所含有之甘胺酸的初始濃度和/或麩胺酸的初始濃度爲至少約 5 克/升至約 15 克/升之甘胺酸。

[0015] 於一實施例中，如上述之培養基中含有葡萄糖和寡聚醣之混合物作爲碳源。於一種情況中，該寡醣爲麥芽糖糊精或糊精。於一特殊之情況中，該培養基中之初始麥芽糖糊精的濃度爲約 50 克/升至約 100 克/升。在另一種情況中，該初始麥芽糖糊精濃度爲約 60 克/升至約 80 克/升。

[0016] 於一實施例中，該培養基中之初始葡萄糖的濃度爲約 20 克/升至 60 克/升或約 30 克/升至約 50 克/升。

[0017] 於一實施例中，該培養基中所含有之碳酸鈣的初始濃度爲約 1 克/升至 3 克/升。

[0018] 於一實施例中，該氮源係至少部分選自下列群組：大豆蛋白胨、大豆酸水解產物、大豆粉水解產物、酪蛋白水解產物、酵母萃取物，及彼等之混合物。

[0019] 上述之任何產製谷氏菌素之鏈黴菌株均可用於實行此方法。

[0020] 本發明亦提供增進產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質中之谷氏菌素水準的方法，其包含在有氧條件下，將鏈黴菌株培養在含有可消化之碳源和可消化之氮源的培養基中，其中該培養基含有之胺基酸濃度能有效取得濃度至少兩倍高於在含有少於約 1 克/升、約 2 克/升、約 3 克/升、約 4 克/升、約 5 克/升、約 6 克/升、約 7 克/升、約 8 克/升、約 9 克/升、或約 10 克/升之一或多種胺基酸的培養基中所取得之谷氏菌素濃度。於一實施例中，用於培養基中之胺基酸爲麩胺酸、絲胺酸和/或甘胺酸。於一實施例中，用於培養基中以取得增進水準之谷氏菌素(即，增強之培養基)的胺基酸濃度爲約 2 克/升至約 15 克/升，且所取得之谷氏菌素濃度爲在起始培養基中所取得者的至少兩倍，其中，於一實施例中，該起始培養基含有不超過該增強之培養基中所含有者的約 1/2 胺基酸濃度。

[0021] 上述之任何產製谷氏菌素之鏈黴菌株可用於實行本方法。

[0022] 本發明亦提供來自細黃鏈黴菌株(具體而言，來自細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550)之谷氏菌素生物合成基因簇、在該基因簇中之個別基因的特徵及由其編碼之蛋白質。來自細黃鏈黴菌株之谷氏菌素基因簇被揭露，該基因簇所包含之 14 個開放閱讀框(ORFs)分別稱爲 ORFs 4251 至 4253、4255 至 4259、4261 至 4265，和 4271(分別爲 SEQ ID NO：1、3、5、9、11、13、15、17、21、23、25、27、29 和 41)，且在此分別稱爲 GouA、GouB、GouC、GouD、GouE、GouF、GouG、GouH、GouI、GouJ、GouK、GouL、GouM 及 GouN。該對應之蛋白質分別提供在 SEQ ID NO：2、4、6、10、12、14、16、18、22、24、26、28、30 和 42 中。包含該來自細黃鏈黴菌株之谷氏菌素生物合成基因簇及一些側翼區之基因組 DNA 序列係提供於 SEQ ID NO：43，且描述該基因 GouA 至 GouN 之位置。

[0023] 本發明亦提供來自紫紅鏈黴菌(具體地說，來自紫紅鏈黴菌株 A)之部分谷氏菌素生物合成基因簇、該基因簇中之個別基因的特徵及由其編碼之蛋白質。一種來自紫紅鏈黴菌之部分谷氏菌素基因簇被揭露，該基因簇包含 12 個開放閱讀框(ORFs)(分別爲 SEQ ID NO：89-100)，且在此分別稱爲 GouB、GouC、GouD、GouE、GouF、GouG、GouH、GouI、GouJ、GouK、GouL、GouM。這些

爲分別提供於 SEQ ID NO：3、5、9、11、13、15、17、21、23、25、27 及 29 中之基因的直系同源物，且在此分別稱爲 GouB、GouC、GouD、GouE、GouF、GouG、GouH、GouI、GouJ、GouK、GouL 及 GouM。對應之蛋白質分別提供在 SEQ ID NO：77-88 中。包含該來自紫紅鏈黴菌株之谷氏菌素生物合成基因簇之基因組 DNA 序列提供於 SEQ ID NO：76 中。

[0024] 本發明亦提供與 SEQ ID NO：43 之核苷酸序列具有至少 70%之序列同一性的核酸序列，其係可操作地連接至少一種用於指導該序列表現之外源性和/或異源性調控元件。該核酸序列可進一步包含 SEQ ID NO：43 之位置 10820 至位置 12013 的核苷酸序列，和/或可進一步包含 SEQ ID NO：43 之位置 13219 至位置 14334 的核苷酸序列。該核酸序列可從細黃鏈黴菌、灰色鏈黴菌、環圈鏈黴菌、糞生鏈黴菌、小鏈黴菌、淡紫灰鏈黴菌、白綠鏈黴菌、紫紅鏈黴菌或禾粟鏈黴菌分離出。

[0025] 本發明亦提供包含本文所描述之任一核酸序列(包括在該緊接在前之段落中所描述者)的宿主細胞。本發明亦提供包含任一該核酸序列之表現載體，以及包含該載體之宿主細胞。

[0026] 本發明提供用於產製谷氏菌素或谷氏菌素類似物的方法，其包含：在培養基中培養谷氏菌素或產製谷氏菌素的鏈黴菌屬細菌以製造並將該谷氏菌素或谷氏菌素類似物分泌入培養基中，並從培養基中收集該谷氏

菌素或谷氏菌素類似物，其中該細菌已經過修改以增加與 SEQ ID NO：43 之核苷酸序列具有至少 70%之序列同一性的核酸序列之表現。該細菌可能選自下列群組：細黃鏈黴菌、灰色鏈黴菌、環圈鏈黴菌、糞生鏈黴菌、小鏈黴菌、淡紫灰鏈黴菌、白綠鏈黴菌、紫紅鏈黴菌及禾粟鏈黴菌。

[0027] 本發明提供用於製備谷氏菌素或谷氏菌素類似物的方法，其包含以下步驟：a)構建含有 SEQ ID NO：43 之核酸序列，進一步含有 SEQ ID NO：43 之位置 10820 至位置 12013 的核苷酸序列，和/或進一步含有 SEQ ID NO：43 之位置 13219 至位置 14334 的核苷酸序列之重組表現載體；b)以含有步驟 a)之核酸序列的表現載體將宿主細胞轉化以製造轉化株；c)培養該步驟 b)之轉化株；及 d)將該谷氏菌素或谷氏菌素類似物從步驟 c)之轉化株的培養產物中分離出並純化。

[0028] 本發明提供一種轉基因之原核細胞，其包含編碼與選自以下群組之至少一種胺基酸序列具有至少 70%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 和 SEQ ID NO：42。於另一實施例中係提供一種轉基因之原核細胞，其包含編碼與選自以下群組之至少一種胺基酸序

列具有至少 75%之序列同一性、至少 80%之序列同一性、至少 85%之序列同一性、至少 90%之序列同一性、至少 95%之序列同一性、或至少 99%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 和 SEQ ID NO：42。

[0029] 本發明亦提供一種轉基因之原核細胞，其包含編碼與選自以下群組之至少一種胺基酸序列具有至少 70%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：77、SEQ ID NO：78、SEQ ID NO：79、SEQ ID NO：80、SEQ ID NO：81、SEQ ID NO：82、SEQ ID NO：83、SEQ ID NO：84、SEQ ID NO：85、SEQ ID NO：86、SEQ ID NO：87、SEQ ID NO：88。於另一實施例中係提供一種轉基因之原核細胞，其包含編碼與選自以下群組之至少一種胺基酸序列具有至少 70%之序列同一性、至少 80%之序列同一性、至少 85%之序列同一性、至少 90%之序列同一性、至少 95%之序列同一性、或至少 99%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：77、SEQ ID NO：78、SEQ ID NO：79、SEQ ID NO：80、SEQ ID NO：81、SEQ ID NO：82、SEQ ID NO：83、SEQ ID NO：84、SEQ ID NO：85、SEQ ID NO：86、SEQ ID NO：87、SEQ ID NO：88。

[0030] 本發明亦提供與選自以下群組之核酸序列具有至少 70%之序列同一性的核酸序列：SEQ ID NO：1、SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：5、SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：11、SEQ ID NO：13、SEQ ID NO：15、SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：21、SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：25、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：29 及 SEQ ID NO：41，還包含含有外源性限制性內切酶裂解部位之核酸序列。

序列表

表 1

SEQ ID NO:	描述
1	ORF 4251 (GouA); SEQ ID NO: 43 之核苷酸4455 至4880 的反向補體
2	ORF 4251 (SEQ ID NO: 1) 之胺基酸序列
3	ORF 4252 (GouB); SEQ ID NO: 43 之核苷酸 6340 至 6801
4	ORF 4252 (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列
5	ORF 4253 (GouC); SEQ ID NO: 43 之核苷酸7197至7712
6	ORF 4253 (SEQ ID NO: 5) 之胺基酸序列
7	ORF 4254; SEQ ID NO: 43 之核苷酸8130至8486 的反向補體
8	ORF 4254 (SEQ ID NO: 7) 之胺基酸序列
9	ORF 4255 (GouD); SEQ ID NO: 43之核苷酸8589至8729
10	ORF 4255 (SEQ ID NO: 9) 之胺基酸序列
11	ORF 4256 (GouE); SEQ ID NO: 43之核苷酸8912至9826
12	ORF 4256 (SEQ ID NO: 11) 之胺基酸序列
13	ORF 4257 (GouF); SEQ ID NO: 43之核苷酸9827至10823
14	ORF 4257 (SEQ ID NO: 13) 之胺基酸序列
15	ORF 4258 (GouG); SEQ ID NO: 43 之核苷酸10820至12013
16	ORF 4258 (SEQ ID NO: 15) 之胺基酸序列
17	ORF 4259 (GouH); SEQ ID NO: 43 之核苷酸12020至13145
18	ORF 4259 (SEQ ID NO: 17) 之胺基酸序列
19	ORF 4260; SEQ ID NO: 43 之核苷酸13146至13265的反向補體
20	ORF 4260 (SEQ ID NO: 19) 之胺基酸序列
21	ORF 4261 (GouI); SEQ ID NO: 43之核苷酸13219至14334
22	ORF 4261 (SEQ ID NO: 21) 之胺基酸序列
23	ORF 4262 (GouJ); SEQ ID NO: 43 之核苷酸14350至15063
24	ORF 4262 (SEQ ID NO: 23) 之胺基酸序列
25	ORF 4263 (GouK); SEQ ID NO: 43 之核苷酸15411至16046
26	ORF 4263 (SEQ ID NO: 25) 之胺基酸序列
27	ORF 4264 (GouL); SEQ ID NO: 43之核苷酸16142至17482
28	ORF 4264 (SEQ ID NO: 27) 之胺基酸序列
29	ORF 4265 (GouM); SEQ ID NO: 43 之核苷酸17549至19312
30	ORF 4265 (SEQ ID NO: 29) 之胺基酸序列
31	ORF 4266; SEQ ID NO: 43 之核苷酸19461至19574
32	ORF 4266 (SEQ ID NO: 31) 之胺基酸序列
33	ORF 4267; SEQ ID NO: 43 之核苷酸20147至20551
34	ORF 4267 (SEQ ID NO: 33) 之胺基酸序列
35	ORF 4268

SEQ ID NO:	描述
36	ORF 4268 (SEQ ID NO: 35) 之胺基酸序列
37	ORF 4269
38	ORF 4269 (SEQ ID NO: 37) 之胺基酸序列
39	ORF 4270
40	ORF 4270 (SEQ ID NO: 39) 之胺基酸序列
41	ORF 4271
42	ORF 4271 (SEQ ID NO: 41) 之胺基酸序列
43	包含谷氏菌素基因簇(來自細黃鏈黴菌) 之基因位點的核酸序列
44	引物1F
45	引物1R
46	引物2F
47	引物2R
48	引物3F
49	引物3R
50	引物4F
51	引物4R
52	引物5F
53	引物5R
54	引物6F
55	引物6R
56	引物7F
57	引物7R
58	Kan-F 引物
59	Kan-R 引物
60	gouL-1-F(-2056) 引物
61	gouL-1-R(-880) 引物
62	gouL-2-F(+522) 引物
63	gouL-2-R(+2364) 引物
64	gouH-1-F(-1827): 引物
65	gouH-1-R(-845): 引物
66	gouH-2-F(+1184): 引物
67	gouH-2-R(+2985): 引物
68	gouF-1-F(-1831): 引物
69	gouF-1-R(-41): 引物
70	gouF-2-F(+1126): 引物
71	gouF-2-R(+2919): 引物

SEQ ID NO:	描述
72	gouWcluster-F(+4)引物
73	gouWcluster-R(+1897)引物
74	gouWcluster-F(-1373end)引物
75	gouWcluster-R(-92end)引物
76	包含谷氏菌素基因簇(來自紫紅鏈黴菌)之基因位點的核酸序列
77	ORF 4075 (GouB)之胺基酸序列
78	ORF 4076 (GouC)之胺基酸序列
79	ORF 4077 (GouD)之胺基酸序列
80	ORF 4078 (GouE)之胺基酸序列
81	ORF4079 (GouF)之胺基酸序列
82	ORF 4080 (GouG)之胺基酸序列
83	ORF 4081 (GouH)之胺基酸序列
84	ORF 4082 (GouI)之胺基酸序列
85	ORF4083 (GouJ)之胺基酸序列
86	ORF4084 (GouK)之胺基酸序列
87	ORF 4085 (GouL)之胺基酸序列
88	ORF4086 (GouM)之胺基酸序列
89	ORF 4075 (GouB)
90	ORF4076 (GouC)
91	ORF4077 (GouD)
92	ORF 4078 (GouE)
93	ORF 4079 (GouF)
94	ORF 4080 (GouG)
95	ORF 4081 (GouH)
96	ORF 4082 (GouI)
97	ORF 4083 (GouJ)
98	ORF 4084 (GouK)
99	ORF4085 (GouL)
100	ORF 4086 (GouM)

發明之詳細說明

[0031] 本文中之所有出版物、專利及專利申請案，包括任何附圖及附錄在此以引用方式被納入本文中，其程

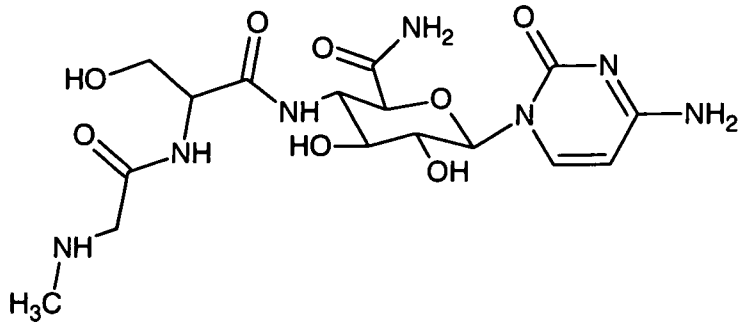
度如同各個別出版物、專利及專利申請案被具體指定且個別指明以引用方式被納入本文中。

[0032] 下列描述包括可用來理解本發明之信息。其並非承認本文中所提供之任何信息爲先前技藝或與目前聲稱之發明有所相關、或任何具體指明或隱含引用之出版物爲先前技藝。

[0033] 本發明提供細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突變株。現已發現，菌株 NRRL B-50550 具有各種有利性能。菌株 NRRL B-50550(或其醱酵產物)不僅具有這類殺蟎活性，亦顯示出，例如高紫外線穩定性、良好的透層活性、良好的殺卵活性、長殘留活性、浸液活性以及對抗範圍廣泛之蟎蟲的活性(見實例部分)，因此，符合有效殺蟎劑之要求。此外，菌株 NRRL B-50550(或其醱酵產物)具有殺昆蟲活性及對抗各種真菌性植物病原(諸如葉銹病和霜黴病)之活性。此種獨特的活性組合使菌株 NRRL B-50550 爲高度通用之候選菌株，並使該菌株適合被廣泛用於處理植物以控制植物疾病和/或植物害蟲的方法中。已知之鏈黴菌株未曾被報導過具有這類廣範圍活性及在農業中之可能應用。關於可能的農業用途，鏈黴菌株曾被大幅描述於 1960 年代末及 1970 年代初之出版物。參見，例如英國專利號 GB 1 507 193 中，其描述產製抗微生物化合物 B-98891 之龜裂鏈黴菌(*Streptomyces rimofaciens*)菌株 B-98891 號(保藏編號爲 ATCC 31120)。根據 1975 年 3 月提交之 GB 1 507 193，抗

微生物化合物 B-98891 爲提供龜裂鏈黴菌株 B-98891 抗真菌活性對抗白粉病的活性成分。1972 年 8 月 2 日提交之美國專利第 3,849,398 號描述菌株豐加鏈黴菌無刺黴素變種(*Streptomyces toyocaensis var.* aspiculamyceticus)產製抗微生物化合物無刺黴素(aspiculamycin)，亦稱爲谷氏菌素(參見，Toru Ikeuchi et al., 25 J. Antibiotics 548(1972 年 9 月))。根據美國專利第 3,849,398 號，谷氏菌素具有對抗動物身上之寄生蟲(諸如蟯蟲，等)的殺寄生蟲作用，雖然谷氏菌素被認爲顯示出弱的對抗革蘭氏陽性菌、革蘭氏陰性菌及結核桿菌的抗菌活性。類似地，1978 年出版之日本專利申請案第 JP 53109998(A)號報告菌株豐加鏈黴菌(LA-681)及其產製谷氏菌素作爲殺蟎劑之能力。然而，需注意的是，目前並無以這類鏈黴菌株爲基礎的殺蟎醱酵產物的市售商品。因此，細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 憑藉其廣泛之對抗蟎(基於產製谷氏菌素)、真菌和昆蟲的效力，及其在作用模式方面之有利性質(如透層活性及殘留活性)而成爲在生物和有利性質方面之重要且出人意表的進步代表，已知之鏈黴菌株仍未曾有這類生物和有利性質之報導。本申請者已解決製造含有高濃度谷氏菌素之醱酵基質的問題，而使該醱酵基質成爲商業殺蟲劑或作爲用於商業殺蟲劑之谷氏菌素來源的終極用途可行。因此，本發明包含含有濃度爲至少約 0.5 克/升之谷氏菌素的醱酵基質。此外，本發明包含含有濃度爲至少約 1 克/升、至少約 2 克/升、至少約 3 克/升、至少約 4 克/升、至少約 5 克

/升、至少約 6 克/升、至少約 7 克/升、或至少約 8 克/升之谷氏菌素的醱酵基質。於其它實施例中，該醱酵基質含有濃度在約 2 克/升至約 15 克/升範圍內之谷氏菌素，包括約 3 克/升、約 4 克/升、約 5 克/升、約 6 克/升、約 7 克/升、約 8 克/升、約 9 克/升、約 10 克/升、約 11 克/升、約 12 克/升、約 13 克/升，及約 14 克/升之濃度。於一些實施例中，該醱酵基質係來自鏈黴菌種。於特定之實施例中，該醱酵基質係來自細黃鏈黴菌。再於其他特定之實施例中，該醱酵基質係來自細黃鏈黴菌 NRRL-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突變體。此外，本申請者鑑定和操縱負責產製谷氏菌素之細黃鏈黴菌基因簇。參見下圖及第 5 圖中之谷氏菌素的結構。



[0034] 除非另外具體註明，本文所描述之微生物和特殊菌株均從自然界中分離出(即，隔離出)且生長在人工條件下，諸如在搖瓶培養中或透過規模擴增之製造過程，諸如在生物反應器中(諸如本文所描述者)。於一實施例中係提供細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 之植食性殺蟎突變株。細黃鏈黴菌爲屬於鏈黴菌屬的嗜溫、腐生細菌，常在土壤

和腐爛之植物中找到。NRRL B-50550 爲從美國大陸之土壤中分離出的細黃鏈黴菌株。細黃鏈黴菌爲好氧之革蘭氏陽性絲狀菌，其產生發育良好之絲狀營養菌絲(～1.0 微米寬及 10-100 微米長)，且能產生分生孢子(conidia)-無性孢子。菌絲係由長、直絲所組成，其以多多少少有點規律之間隔，以旋渦狀之排列(環生體)方式攜帶米色、光滑的孢子。每個生體的分支在其頂點產生帶有二至數個孢子鏈的繖形花序。

[0035] 術語“突變體” 係指從細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 衍生的遺傳變異體。於一實施例中，該突變體具有細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之一或多種或全部的識別(功能性)特性。於一特殊之情況中，該突變體或其醱酵產物至少如親代細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 般良好地控制(爲一種識別的功能特性)蠕蟲。此外，該突變體或其醱酵產物可能具有一、二、三、四或全部五種以下特點：與殺蠕活性相關之透層活性、與殺蠕活性相關之殘留活性、殺卵活性、殺蟲(尤其是對抗葉甲) 活性、或是對抗真菌植物病原之活性(尤其是對抗霜黴病及銹病)。這類突變體可能爲其基因組序列與細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 具有超過約 85%、超過約 90%、超過約 95%、超過約 98%、或超過約 99%之序列同一性的遺傳變異體。突變體可經由以下方式取得：以化學物質或輻射處理細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 細胞或從 NRRL B-50550 細胞之群體選擇自發性突變體(諸如具噬菌體抗性或抗生素抗性之突變體)，或藉由

本技藝中之技術人士所熟知的其他方式取得。

[0036] 用於使細黃鏈黴菌產生突變的合適化學品包括(僅舉幾個例子)：鹽酸羥胺、甲磺酸甲酯(MMS)、甲磺酸乙酯(EMS)、4-硝基喹啉 1-氧化物(NQO)、絲裂黴素 C 或 N-甲基-N'-硝基-N-亞硝基胍(NTG)(參照，例如 Stonesifer & Baltz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA，第 82 冊，1180-1183 頁，1985 年 2 月)。使用各別鏈黴菌株之孢子溶液，藉由，例如 NTG 來引起鏈黴菌株突變已爲熟習本技藝之人士所周知。見，例如 Delic et al, Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Volume 9, Issue 2, 1970 年 2 月，167-182 頁，或 Chen et al., J Antibiot(Tokyo)，2001 年 11 月；54(11)，967-972 頁)。更詳細地說，可使用 Kieser, T., et al., 2000, supra. *Practical Streptomyces Genetics*, Ch. 5 John Innes Centre, Norwich Research Park, England(2000), 99-107 頁中描述的方案，藉由 NTG 使細黃鏈黴菌發生突變。藉由紫外線(UV)使細黃鏈黴菌孢子發生突變可使用標準方案來進行。例如，可將鏈黴菌株之孢子懸浮液(新鮮配製的或冷凍在 20%甘油中的)懸浮在波長 254nm 下，不吸收 UV 光的培養基中(例如水或 20%甘油是合適的)。然後，將孢子懸浮液置於玻璃培養皿中，以低壓汞蒸汽燈照射(該低壓汞蒸汽燈在 254 nm 發射出其大部分能源)，並在 30℃下持續攪拌一段合適的時間(最合適之照射時間可經由先繪製劑量存活曲線來測定)。然後，例如可在非選

擇性斜面培養基或培養盤上接種密集之經照射的孢子懸浮液，由此取得之突變株可依下文中之解釋評估其性質。見 Kieser, T.，等人，2000，同上文。

[0037] 該突變株可爲任何具有細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之一或多種或全部特性的突變株，尤其是相當於或優於細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 之殺蟎活性。該殺蟎活性可，例如依實例 2 中之說明針對二斑蛛蟎(“TSSM”)測定，意指可將細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 之突變株的培養貯存液生長在 20-30℃，實例 2 之 1 升搖瓶的培養基 1 或培養基 2 中 3-5 天，然後可將稀釋之醱酵產物施用在兩株植物之利馬豆葉的頂部和底部，經過此處理後，可在同一天以 50-100 TSSM 侵染植物並將植物留在溫室中五天。

[0038] 實例 16 提供用於產生細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 之突變株的方法之具體實例。藉由此方法產生之一種突變株爲細黃鏈黴菌株 M(其將更充分地描述於實例中)。該細黃鏈黴菌 M 之谷氏菌素生物合成基因簇與細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之谷氏菌素生物合成基因簇(即，SEQ ID NO：43)具有約 99%之序列同一性。

[0039] 於本發明之一種觀點中，該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎的突變株具有透層活性。本文所使用之術語“透層活性”爲其在本技藝中的習知含義，因此，“透層活性”意指化合物或組成物(此處之組成物爲諸如含有細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其突變株之醱酵產物)移動通過欲處理之植物的葉組織之能力。透

層化合物/組成物滲透葉組織並在葉內形成活性成分之貯集庫。因此，此透層活性亦提供對抗進食葉子之昆蟲和蟎蟲的殘留活性。由於該組成物(或其一或多種活性成分)可以移動通過葉片，徹底的噴灑覆蓋對控制蜱蟎，諸如蟎(其通常在葉子下方進食)較不重要。單獨之突變株的透層活性或與細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 的比較可，例如依本文中實例 6 之說明，對二斑蛛蟎(“TSSM”)進行測定。在實例 6 的條件下數天(例如約 5 天)後仍然可以觀察到透層活性。於本發明之一種觀點中，可在處理後至少約 1、2、3、4、5、6、7、8、9 和/或 10 天觀察(存在)到透層活性。

[0040] 於本發明之另一觀點中，該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株具有殘留活性。本文所使用之術語“殘留活性”爲其在本技藝中的習知含義，因此，“殘留活性”意指化合物或組成物(此處之組成物爲諸如含有細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其突變株之醱酵產物)在施用後之一段延長的時間內保持有效(即，對比於未施用該化合物或組成物之條件，造成較高之蟎蟲死亡率或導致蟎蟲之總數減少)的能力。時間的長度可能取決於該調和物(粉塵、液體，等)、植物之類型或施用含有細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其突變株之組成物的位置及該植物表面或土壤表面之條件(濕、乾，等)。單獨之突變株的殘留活性或與細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 的比較可，例如依本文實例 2 或 7 中之說明，對二斑蛛蟎

(“TSSM”)進行測定，且在殺蠕作用方面意指在實例 5 的條件下數天(例如約 12 天)後仍然可以觀察到抗蠕效果。於本發明之一種觀點中，可在處理後至少約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39 和/或 40 天後觀察(存在)到殘留活性。

[0041] 於本發明之另一觀點中，該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蠕突變株具有殺卵活性。本文所使用之術語“殺卵活性”爲其在本技藝中的習知含義，意指“造成卵子破壞或死亡的能力”，且在本文中係關於蠕蜱(諸如蠕)之卵。單獨之細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 突變株的殺卵活性或與細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 之比較可使用如實例 7 中所描述之方法測定。在實例 7 的條件下幾天(例如約 5 天)後仍然可以觀察到殺卵活性。於本發明之一種觀點中，在處理後至少約 1、2、3、4、5、6、7、8、9 和/或 10 天仍能觀察(存在)到殺卵活性。

[0042] 於本發明之另一觀點中，該細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蠕突變株可能具有浸液活性。本文所使用之術語“浸液活性”爲其在本技藝中的習知含義，意指從土壤或其它生長培養基經由木質部，向上通過植物之殺蟲活性。該單獨之細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 突變株的“浸液活性”或與細黃鏈黴菌 NRRL B-5055 之比較可使用如實例 8 中所描述之方法測定。於本發明之一種

觀點中，在實例 8 的條件下幾天(例如約 2、3、4、5、6、7、8、9、10、或 11 天)後仍然可以觀察(存在)到浸液活性。

[0043] 於本發明之另一觀點中，細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株具有對抗各種蟎種的殺蟎活性，包括如實例中所說明(但不限於)之對抗二斑蛛蟎之活性、對抗柑桔銹蟎(柑橘銹癭蟎(*Phyllocoptruta oleivora*))、癭蟎(枯葉色)和廣明蟎的活性。

[0044] 因此，該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株可能具有對抗選自下列群組之蟎的活性：三葉蟎(clover mite)、棕色蟎(brown mite)、榛子蛛蟎(hazelnut spider mite)、蘆筍蛛蟎(asparagus spider mite)、棕色小麥蟎(brown wheat mite)、豆蟎(legume mite)、酢漿草蟎(oxalis mite)、黃楊木蟎(boxwood mite)、德州柑橘蟎(Texas citrus mite)、東方紅蟎(Oriental red mite)、柑桔紅蟎(citrus red mite)、歐洲紅蟎(European red mite)、黃蛛蟎(yellow spider mite)、無花果蛛蟎(fig spider mite)、劉易斯蛛蟎(Lewis spider mite)、六斑蛛蟎(six-spotted spider mite)、威拉米特蟎(Willamette mite)、尤馬蛛蟎(Yuma spider mite)、紡網絡蟎(web-spinning mite)、菠蘿蟎(pineapple mite)、柑橘綠蟎(citrus green mite)、美洲皂莢蛛蟎(honey-locust spider mite)、茶紅蛛蟎(tea red spider mite)、南方紅蟎(southern red mite)、鱷梨棕蟎(avocado brown mite)、雲杉蛛蟎(spruce spider mite)、鱷梨紅蟎(avocado red mite)、

草地小爪蟎(Banks grass mite)、硃砂蛛蟎(carmine spider mite)、沙漠蛛蟎(desert spider mite)、蔬菜蜘蟎(vegetable spider mite)、隆突蛛蟎(tumid spider mite)、草莓蛛蟎(strawberry spider mite)、二斑蛛蟎(two-spotted spider mite)、丹尼爾蟎(McDaniel mite)、太平洋蛛蟎(Pacific spider mite)、山楂蛛蟎(hawthorn spider mite)、四斑蛛蟎(four-spotted spider mite)、肖氏蛛蟎(Schoenei spider mite)、智利假蛛蟎(Chilean false spider mite)、柑橘平蟎(citrus flat mite)、女貞蟎(privet mite)、平猩紅蟎(flat scarlet mite)、白尾蟎(white-tailed mite)、菠蘿跗線蟎(pineapple tarsonemid mite)、西印度甘蔗蟎(West Indian sugar cane mite)、鱗莖鱗蟎(bulb scale mite)、仙客來蟎(cyclamen mite)、廣明蟎(broad mite)、麥圓葉爪蟎(winter grain mite)、紅足泥蟎(red-legged earth mite)、榛小植刺癭蟎(filbert big-bud mite)、葡萄癭蟎(grape erineum mite)、梨腫葉蟎(pear blister leaf mite)、蘋果捲葉緣蟎(apple leaf edgeroller mite)、桃植羽癭蟎(peach mosaic vector mite)、赤楊珠癭蟎(alder bead gall mite)、佩里安核桃葉癭蟎(Perian walnut leaf gall mite)、胡桃葉捲緣蟎(pecan leaf edgeroll mite)、無花果癭蟎(fig bud mite)、橄欖油癭蟎(olive bud mite)、柑橘癭蟎(citrus bud mite)、荔枝癭蟎(litchi erineum mite)、小麥曲蟎(wheat curl mite)、椰子花核癭蟎(coconut flower and nut mite)、甘蔗腫癭蟎(sugar cane blister mite)、野牛草癭蟎(buffalo grass mite)、百慕達草癭蟎(bermuda

grass mite)、胡蘿蔔癭蟎(carrot bud mite)、紅薯葉癭蟎(sweet potato leaf gall mite)、石榴葉曲蟎(pomegranate leaf curl mite)、ash sprangle癭蟎(ash sprangle gall mite)、槭斜背瘤癭蟎(maple bladder gall mite)、alder erineum蟎(alder erineum mite)、紅莓蟎(redberry mite)、棉花腫蟎(cotton blister mite)、藍莓癭蟎(blueberry bud mite)、粉紅茶銹蟎(pink tea rust mite)、茶紫癭蟎(ribbed tea mite)、灰色柑橘蟎(grey citrus mite)、紅薯銹蟎(sweet potato rust mite)、七葉樹銹蟎(horse chestnut rust mite)、柑桔銹蟎(citrus rust mite)、蘋果銹蟎(apple rust mite)、葡萄銹蟎(grape rust mite)、梨銹蟎(pear rust mite)、扁針鞘松蟎(flat needle sheath pine mite)、野玫瑰芽果蟎(wild rose bud and fruit mite)、乾莓癭蟎(dryberry mite)、芒果銹蟎(mango rust mite)、杜鵑銹蟎(azalea rust mite)、梅銹蟎(plum rust mite)、桃銀色刺癭蟎(peach silver mite)、蘋果銹蟎(apple rust mite)、番茄葉赤皮癭蟎(tomato russet mite)、粉紅柑桔銹蟎(pink citrus rust mite)、穀物銹蟎(cereal rust mite)、水稻銹蟎(rice rust mite)及彼等之組合。此外，該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株具有對抗那些對其他蟎控制劑具抗性之蟎蟲的活性。於一實施例中，該菌株具有對抗具阿維菌素(abamectin)抗性之蟎蟲的活性。

[0045] 於本發明之另一觀點中，該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株可能亦具有殺蟲活

性。該靶的昆蟲可能爲葉甲(diabrotica)。該葉甲可能爲帶狀黃瓜甲蟲(banded cucumber beetle)(食蚜蠅葉甲(*Diabrotica balteata*))、西斑黃瓜甲蟲(Western spotted cucumber beetle)(黃瓜十一星葉甲(*Diabrotica undecimpunctata undecimpunctata*))、或玉米根蟲，諸如北方玉米根蟲(Northern corn rootworm)(巴氏根葉甲(*Diabrotica barberi*))、南方玉米根蟲(Southern corn rootworm)(黃瓜十一星葉甲食根亞種(*Diabrotica undecimpunctata howardi*))、西黃瓜甲蟲(Western cucumber beetle)(黃瓜十一星葉甲(*Diabrotica undecimpunctata tenella*))、西玉米根蟲(Western corn rootworm)(玉米根螢葉甲(*Diabrotica virgifera virgifera*))、墨西哥玉米根蟲(Mexican corn rootworm)(墨西哥玉米根葉甲(*Diabrotica virgifera zeae*))及這類葉甲之組合。單獨之細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 的突變株之殺蟲活性或與細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 的比較可使用實例 10 中所描述之方法對玉米根蟲測定。

[0046] 於本發明之另一觀點中，該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株具有殺真菌劑活性，意指對抗由真菌引起之植物疾病的活性。該植物疾病可爲霜黴病或銹病。可以細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株處理之霜黴病的實例包括，但不限於白粉病，諸如由黃瓜白粉病菌(*Sphaerotheca fuliginea*)引起的黃瓜白粉病，或霜霉病，諸如由寄生霜黴菌(*Peronospora parasitica*) 引起的甘藍型油菜霜霉病。可以細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突

變株處理之銹病的實例包括，但不限於由小麥葉銹菌(Puccinia triticina)(亦稱爲 P. recondita)引起之小麥葉銹病、由麥稈銹菌(Puccinia grammis)引起之麥稈銹病、由條銹病菌(Puccinia striiformis)引起之小麥條銹病、由大麥柄銹菌(Puccinia hordei)引起之大麥葉銹病、由隱匿柄銹菌(Puccinia recondita)引起之裸麥葉銹病、棕葉銹病、冠銹病及稈銹病。單獨之細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 突變株的殺真菌活性或與細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 之比較可使用如實例 9 中所描述之方法對黃瓜白粉病進行測定。在實例 9 的條件下幾天(例如約 7 天)後仍然可觀察到殺真菌活性。於本發明之一種觀點中，可在處理後約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 和/或 15 天觀察(存在)到殺真菌活性。

[0047] 本發明亦提供紫紅鏈黴菌株 A 或由其衍生之植食性殺蟎和/或殺真菌的突變株。紫紅鏈黴菌爲鏈黴菌屬細菌之灰色鏈黴菌(*S. griseus*)分化枝的成員。紫紅鏈黴菌爲需氧革蘭氏陽性、絲狀菌。其產生每鏈具有 10 至多於 50 個孢子的中等長度之成熟孢子鏈。當生長在以燕麥爲底質的瓊脂上時，該孢子質地光滑且菌落之顏色爲淡黃色至淡紅色。紫紅鏈黴菌株 A 係自美國大陸採集之土壤樣本中分離出。如實例 18 中之描述，菌株 A 之醱酵產物具有殺蟎性能。於一實施例中係提供紫紅鏈黴菌株 A 之植食性殺蟎和/或殺真菌突變株。術語“突變體”係指衍生自紫紅鏈黴菌株 A 之遺傳變異體。於一實施例中，該突變體

具有紫紅鏈黴菌株 A 之一或多種或全部的識別(功能性)特性。於一特殊之情況中，該突變體或其醱酵產物至少如親代紫紅鏈黴菌株 A 般良好地控制(爲一種識別的功能特性)蟎。這類突變體可能爲其基因組序列與紫紅鏈黴菌株 A 具有超過約 85%、超過約 90%、超過約 95%、超過約 98%、或超過約 99%之序列同一性的遺傳變異體。突變體可經由以下方式取得：以化學物質或輻射處理紫紅鏈黴菌株 A 細胞或從 A 細胞之群體選擇自發性突變體(諸如具噬菌體抗性或抗生素抗性之突變體)，或藉由本技藝中之技術人士所熟知的其他方式選擇，包括上文及實例 16 中所描述之關於細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 的方式。紫紅鏈黴菌株 A 含有編碼蛋白質 GouB-GouM 之谷氏菌素基因簇，且被預期含有 GouA。紫紅鏈黴菌株 A 之蛋白質 GouB-GouM 與來自細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之直系同源蛋白質具有至少 90%之序列同一性。

[0048] 本發明亦包含處理植物以控制植物害蟲和疾病的方法，其係經由將一或多種含有谷氏菌素之鏈黴菌、細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550、或由其衍生之植食性殺蟎或殺真菌突變株、或其無細胞製劑、或其代謝物、或紫紅鏈黴菌株 A 或由其衍生之植食性殺蟎突變株、或其無細胞製劑、或其代謝物的醱酵基質投予植物或植物部分(諸如葉、莖、花、果實、根、或種子)，或施用在植物或植物部分生長的位點，諸如土壤。適合用於本發明之方法的其他產製谷氏菌素的菌株和醱酵產物描述於本文中。

[0049] 本文所使用之術語“植物”係指屬於植物界之任何生物體(即，植物界中之任何屬/種)。這包括熟悉之生物體，諸如，但不限於樹木、草本植物、灌木、草、藤本植物、蕨類植物、苔蘚及綠藻。此術語係指單子葉植物(monocotyledonous plants 亦稱爲 monocots)和雙子葉植物(dicotyledonous plants 亦稱爲 dicots)兩者。於一些實施例中，植物具經濟重要性。於一些實施例中，該植物爲人工種植之植物，例如栽培之植物，其可能爲農業、造林或園藝用植物。舉些例子，特殊植物之實例包括，但不限於玉米、馬鈴薯、玫瑰、蘋果樹、向日葵、小麥、水稻、香蕉、番茄、opo、南瓜、西葫蘆、豆類(例如，利馬豆)生菜、白菜、橡樹、擎天鳳梨(guzmania)、天竺葵、扶桑、威靈仙(clematis)、一品紅(poinsettias)、甘蔗、芋頭、鴨雜草、松樹、肯塔基藍草、結縷草、椰子樹、芸苔屬葉菜類蔬菜(例如西蘭花、球花甘藍、布魯塞爾豆芽、白菜、中國白菜(Bok Choy 和 Napa)、菜花、cavalo、芥蘭菜、羽衣甘藍、大頭菜、芥菜、油菜及其他芸苔屬葉菜類蔬菜作物)、鱗莖類蔬菜(例如大蒜、韭菜、洋蔥(洋蔥乾鱗莖、大葱、長葱)、蔥及其他鱗莖蔬菜作物)、柑橘類果實(例如葡萄柚、檸檬、萊姆、柳橙、桔子、柑桔雜交種、柚子及其他柑橘類果實作物)、瓜類蔬菜(例如小黃瓜、枸櫞西瓜、食用葫蘆、西印度黃瓜、甜瓜(包括黃瓜瓜類之雜交種和/或栽培變種)、西瓜、哈密瓜及其他瓜類蔬菜作物)、果類蔬菜(包括茄子、鵝莓、人參果、辣椒、番茄、樹蕃茄及

果類蔬菜作物)、葡萄、葉菜類蔬菜(例如萵苣)、根/塊莖和球莖蔬菜(例如馬鈴薯)、扁豆、苜蓿芽、三葉草及樹堅果(杏仁、胡桃、開心果及核桃)、漿果(例如番茄、伏牛花、葡萄乾、接骨木果、醋栗、金銀花、鬼臼根、莢迷、奧勒岡葡萄、沙棘、朴樹果、熊果、越橘、草莓、海葡萄、黑莓、黃梅、楊莓、覆盆子、美莓、糙莓及酒莓)、禾穀類作物(例如玉米、水稻、小麥、大麥、高粱、小米、燕麥、黑麥、黑小麥、蕎麥、非洲小米(fonio)及藜麥)、梨果類果實(例如蘋果、梨)、核果(例如咖啡、棗、芒果、橄欖、椰子、油棕、開心果、杏仁、杏、櫻桃、西洋李子、油桃、桃子及李子)、藤(例如食用葡萄、釀酒葡萄)、麻類作物(例如麻、棉)、觀賞植物。於一些實施例中,該植物可能爲住宅/家內植物、溫室植物、農業植物或園藝植物。如上文所指出者,於一些實施例中,該植物可能爲硬木,諸如合歡、桉樹、角樹、櫸木、紅木、胡桃木、橡木、栲樹、柳、胡桃木、樺木、板栗、楊樹、檀木、楓樹、梧桐、銀杏、棕櫚樹和楓香。於一些實施例中,該植物可能爲針葉樹,諸如柏樹、道格拉斯冷杉、樅、紅杉、鐵杉、雪松、刺柏、落葉松、松樹、紅木、雲杉及紅豆杉。於一些實施例中,該植物可能爲產果實之木本植物,諸如蘋果、李子、梨、香蕉、橙、奇異果、檸檬、櫻桃、葡萄、木瓜、花生及無花果。於一些實施例中,該植物可能爲木本植物,諸如棉、竹及橡膠植物。於一些實施例中,該植物可能爲農業、造林和/或觀賞用植

物，即，常用於園藝(例如在公園、花園和陽台)之植物。在大量之觀賞植物間可舉出之一些例子有草皮、天竺葵(geranium)、天竺葵(pelargonia)、矮牽牛、秋海棠及燈籠海棠。術語“植物”亦意欲包括任何植物繁殖體。

[0050] 術語“植物”一般包括已藉由一或多次育種、誘變和基因工程修改之植物。基因工程係指使用重組DNA技術。重組DNA技術令那些無法輕易地經由在自然環境下交叉育種、基因突變或自然重組取得之修改成爲可行。於一些實施例中，藉由基因工程取得之植物可能爲轉基因植物。

[0051] 如本文所使用之術語“植物部分”係指植物之任何部分，包括，但不限於幼芽、根、莖、種子、托葉、葉、花瓣、花、胚珠、苞、枝條、葉柄、節間、樹皮、木材、塊莖、軟毛、分蘖、根莖、藻體、葉片、花粉、雄蕊、孢子、果實和種子。生長在本技藝所使用之典型基質(諸如土壤)中的兩種植物之主要部分通常被稱爲“地上”部分(亦常被稱爲“新枝”)及“地下”部分(亦常被稱爲“根”)。

[0052] 於根據本發明之方法中可將含有細黃鏈黴菌NRRL B-50550或其植食性殺蟎突變株之組成物施用於生長在長成植物所使用之任何類型的基質(例如土壤、蛭石、碎紙板及水)中之任何植物或任何植物之任何部分，或施用於架空種植的植物或植物部分，諸如蘭花或鹿角蕨上。該組成物可，例如藉由噴灑、噴霧、蒸發、撒、噴

粉、澆水、噴、灑、澆注、或熏蒸施用。如上文已經指出，施用程序可在所欲植物放置之任何需要的地點進行，諸如農業、園藝、森林、農園、果園、苗圃、有機種植之作物、草皮及城市環境。

[0053] 本發明之組成物可經由使用傳統之大規模微生物醱酵過程培養細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或由其衍生之突變體取得，該醱酵過程爲，諸如深層醱酵、固態醱酵或液體表面培養，包括，例如美國專利第 3,849,398 號；英國專利 GB 1 507 193 號；Toshiko Kanzaki，等人，Journal of Antibiotics, Ser. A, Vol. 15, No.2, 1961 年 6 月，93 至 97 頁；或 Toru Ikeuchi，等人，Journal of Antibiotics(1972 年 9 月)，548 至 550 頁中所描述的方法。設置醱酵，以在醱酵容器中取得高水準之活生物量(包括孢子)及理想之二次代謝產物。適合用於本發明之菌株，以取得高水準之孢子形成、cfu(菌落形成單位)及二次代謝產物的特定醱酵方法描述於實例部分中。

[0054] 從醱酵產生之培養基質(“全基質”或“醱酵基質”)中的細菌細胞、孢子和代謝產物可直接使用或藉由習知之工業方法，諸如離心、過濾及蒸發濃縮，或藉由，例如噴霧乾燥、滾筒乾燥及冷凍乾燥加工成乾燥粉末和顆粒。

[0055] 如本文所使用之術語“全基質”和“醱酵基質”係指在任何下游處理之前從醱酵(包括製造含有濃度爲至少約 1 克/升之谷氏菌素的培養基質)產生之培養基

質。該全基質包含微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)及其組成部分、未使用之原料基質及在醱酵過程中由微生物產生之代謝產物。如本文所使用之術語“基質濃縮物”係指已藉由如上述之習知工業方法濃縮，但仍爲液體形式之全基質(醱酵基質)。如本文所使用之術語“醱酵固體”係指乾燥的醱酵基質。如本文所使用之術語“醱酵產物”係指全基質、基質濃縮物、和/或醱酵固體。本發明之組成物包括醱酵產物。於一些實施例中，濃縮之醱酵基質係，例如經由滲濾過程洗滌，以除去殘留的醱酵基質和代謝產物。

[0056] 於一實施例中，該醱酵基質之每毫升基質中含有至少約 1×10^5 個菌落形成單位(CFU)之微生物(例如，細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)。於另一實施例中，該醱酵基質之每毫升基質中含有至少約 1×10^6 個菌落形成單位(CFU)之微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)。再於另一實施例中，該醱酵基質之每毫升基質中含有至少約 1×10^7 個菌落形成單位(CFU)之微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)。於另一實施例中，該醱酵基質之每毫升基質中含有至少約 1×10^8 個菌落形成單位(CFU)之微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)。於另一實施例中，該醱酵基質之每毫升基質中含有至少約 1×10^9 個菌落形成單位(CFU)之微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)。於另一

實施例中，該醱酵基質之每毫升基質中含有至少約 $1x10^{10}$ 個菌落形成單位(CFU)之微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)。於另一實施例中，該醱酵基質之每毫升基質中含有至少約 $1x10^{11}$ 個菌落形成單位(CFU)之微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)。熟習本技藝之人士將理解上述濃度與醱酵完成後不久所測量之 CFU 有關，但該 CFU 水準將根據儲存條件而隨著時間降低。當將產物保持在冷藏(例如，約 4℃)下，本文所描述的微生物之未經配製的醱酵產物之 CFU 水準是穩定的，但在室溫下會下降。

[0057] 於一實施例中，該醱酵基質或基質濃縮物可在添加穩定劑、防腐劑、佐劑、和/或著色劑下配製成液態懸浮液、液態濃縮物、乳劑濃縮物、或可濕性粉末。

[0058] 於另一實施例中，該醱酵基質或基質濃縮物可在添加或不添加載體、惰性劑、或添加劑下使用習知之乾燥過程或方法(諸如噴霧乾燥、冷凍乾燥、托盤乾燥、流化床乾燥、滾筒乾燥或蒸發)進行乾燥。

[0059] 於一些實施例中，該醱酵基質、基質濃縮物或醱酵固體係經處理，以殺死微生物，產生由被殺死之微生物、其代謝產物和殘留之醱酵培養基所組成的醱酵產物。完成此目的之合適的處理方法爲熟習本技藝之人士所已知且包括熱處理。

[0060] 於其中該醱酵基質或基質濃縮物被冷凍乾燥的實施例中，一加侖之醱酵基質產生約 0.2 磅至約 1 磅的

凍乾粉末。於特定之情況中，一加侖之醱酵基質產生約0.4磅至約0.6磅的凍乾粉末。於另一情況中，一加侖之醱酵基質產生約0.5磅的凍乾粉末。

[0061] 於進一步之實施例中，可在添加或不添加惰性劑之情況下將所得之乾燥產物進一步加工，諸如藉由研磨或粒化來取得用於農業施用所需之特定顆粒尺寸、或物理格式、或物理性質。

[0062] 除了使用全基質或濃縮基質外，可藉由本技藝中已知之任何方式(諸如萃取、離心和/或過濾醱酵基質)取得本發明之鏈黴菌的新穎變體和菌株之醱酵基質的無細胞製劑。熟習本技藝之人士將會理解所謂的無細胞製劑可能不會完全喪失細胞，但大部分爲無細胞或基本上無細胞，這取決於用來除去細胞所使用之技術(例如，離心速度)。所得到之無細胞製劑可與協助其施用之組分一起乾燥和/或配製。上文中所描述之用於醱酵基質的濃縮方法和乾燥技術亦適用於無細胞製劑。

[0063] 本發明之組成物可包括添加在包含細胞、無細胞製劑或代謝物之組成物中的配製成分，以提高效力、穩定性和物理性能、可用性和/或便於加工、包裝和最終施用。這類配製成分可包括載體、惰性劑、穩定劑、防腐劑、營養素或物理性能改質劑，其可以單獨添加或組合加入。於一些實施例中，該載體可包括液態物質，諸如水、油和其他有機或無機溶劑，以及固態物質，諸如礦物質、聚合物或從生物衍生或藉由化學合成之聚合物複合物。於

一些實施例中，該成分爲促進該組成物黏附至植物部分(諸如葉、種子或根)的結合劑、佐劑，或黏合劑。見，例如 Taylor, A.G., et al., "Concepts and Technologies of Selected Seed Treatments" Annu. Rev. Phytopathol. 28: 321-339(1990)。該穩定劑可包括防結塊劑、抗氧化劑、乾燥劑、保護劑或防腐劑。該營養素可包括碳、氮及磷源，諸如糖、多醣、油、蛋白質、胺基酸、脂肪酸和磷酸鹽。該物理性能改質劑可包括填充劑、潤濕劑、增稠劑、pH 改質劑、流變改質劑、分散劑、佐劑、表面活性劑、抗凍劑或著色劑。於一些實施例中，該藉由醱酵產生之包含細胞、無細胞製劑或代謝物的組成物可在無任何其他配製劑，有或無作爲稀釋劑之水的存在下直接使用。於一特定之實施例中係在醱酵固體(諸如冷凍乾燥或噴霧乾燥粉末)中添加潤濕劑。當將潤濕劑施用至活性成分之表面時，其可增加該活性成分之擴散和滲透性能(一旦稀釋時)。示例性之潤濕劑爲熟習本技藝之人士所已知且包括磺基琥珀酸酯和衍生物，諸如 MONAWET MO-70(Croda 公司，紐澤西州 Edison)；trsiloxanes，諸如 BREAKTHRU(德國 Evonik)；非離子性化合物，諸如 ALTOX 4894(Croda 公司，紐澤西州 Edison)；烷基多糖苷，諸如 TERWET 3001(Huntsman 國際有限責任公司，德州，The Woodlands)；C12-C14 二級醇乙氧基化物，諸如 TERGITOL 15-s-15(道氏化學公司，密西根州 Midland)；磷酸酯，諸如 RHODAFAC BG-510 (Rhodia 公司)；和烷基醚羧酸酯，諸如 EMULSOGEN-LS

(Clariant 公司，北卡羅萊納州)。

[0064] 於一些實施例中，該配製惰性劑係在濃縮醱酵基質後，及乾燥期間和/或乾燥後加入。

[0065] 本發明包含含有濃度爲至少約 1 克/升之谷氏菌素的醱酵基質。於一些實施例中，這類全基質培養來自產製谷氏菌素之鏈黴菌株。於特殊之實施例中，這類產製谷氏菌素之菌株爲細黃鏈黴菌、紫紅鏈黴菌、或禾粟鏈黴菌。於另一實施例中，該產製谷氏菌素之菌株爲灰色鏈黴菌、環圈鏈黴菌、糞生鏈黴菌、小鏈黴菌、淡紫灰鏈黴菌、白綠鏈黴菌、或紫紅鏈黴菌。再於另一特殊實施例中，這類產製谷氏菌素之菌株爲禾粟鏈黴菌 CGMCC 4.506，其存放於中國普通微生物菌種保藏中心 CGMCC。

[00668] 本發明亦提供來自細黃鏈黴菌之谷氏菌素生物合成基因簇、該基因簇中之個別基因的表徵及由其編碼之蛋白質。谷氏菌素基因簇被揭露，該基因簇包含 14 個開放閱讀框(ORFs)，分別稱爲 ORFs 4251 至 4253、4255 至 4259、4261 至 4265，和 4271(分別爲 SEQ ID NO：1、3、5、9、11、13、15、17、21、23、25、27、29 和 41)，且在此分別稱爲 GouA、GouB、GouC、GouD、GouE、GouF、GouG、GouH、GouI、GouJ、GouK、GouL、GouM 及 GouN。對應之蛋白質分別提供在 SEQ ID NO：2、4、6、10、12、14、16、18、22、24、26、28、30 和 42 中。包含該谷氏菌素生物合成基因簇及一些側翼區之基因組 DNA 序列提供於 SEQ ID NO：43 中，且描述

基因 GouA 至 GouN 之位置。本揭露內容提供位於遺傳位點內之谷氏菌素基因簇的核酸序列、其中所含之 ORFs 及由其編碼之蛋白質。此信息可使，例如編碼谷氏菌素基因簇及對應之 ORFs 之同源物的相關核酸分子(諸如在其他鏈黴菌屬中)分離出成爲可行。

[0067] 從細黃鏈黴菌株鑑定出之包含在 SEQ ID NO：43(核苷酸殘基 1-21933)內的谷氏菌素基因簇包括 24 個 ORFs，稱爲 ORFs 4248 至 4271。ORFs 4251、4252、4253、4255、4256、4257、4258、4259、4261、4262、4263、4264、4265 和 4271 分別爲 13 個基因 *gouA*、*gouB*、*gouC*、*gouD*、*gouE*、*gouF*、*gouG*、*gouH*、*gouI*、*gouJ*、*gouK*、*gouL*、*gouM* 及 *gouN*。需注意的是 SEQ ID NO：89-100(從紫紅鏈黴菌株鑑定出)分別提供直系同源基因 *gouB*、*gouC*、*gouD*、*gouE*、*gouF*、*gouG*、*gouH*、*gouI*、*gouJ*、*gouK*、*gouL*、*gouM*。這些基因在谷氏菌素合成反應中之潛在功能及其可能的角色提供於表 2 中。

表 2：谷氏菌素生物合成基因之可能的角色

ORF	# of a.a.	潛在功能	股	在生物合成谷氏菌素中可能的角色
4248	58	假設蛋白質	+	
4249	568	內-1,4-β-木聚醣酶A先質	-	
4250	99	轉位酶	-	
4251	141	甲基轉移酶	-	可能涉及從甘胺酸合成肌胺酸
4252	153	激酶	+	轉移磷酸基團
4253	171	脫氫酶	+	可能涉及製造UDP-葡糖醛酸
4254	118	假設蛋白質	-	
4255	46	假設蛋白質	+	
4256	304	假設蛋白質	+	
4257	326	胺基轉移酶	+	轉移一個胺基團至糖骨架或涉及合成絲胺酸或肌胺酸；與包括StsC之DegT/DnrJ/EryC1/StrS胺基轉移酶家族具相似性，該胺基轉移酶催化生物合成鏈黴等之鏈黴胍次單位中的第1個胺基轉移
4258	397	類似於胞啶嘌合成酶	+	用於創建胞啶嘌樣分子之可能的酶，與DegT/DnrJ/EryC1/StrS胺基轉移酶家族具相似性
4259	378	磷酸酶	+	可能移除UDP-葡糖醛酸中之磷酸基團以創建CGA之先質
4260	39	假設蛋白質	-	
4261	371	CGA合成酶	+	用於合成cytosyl葡糖醛酸之可能的酶，谷氏菌素中可能的中間體
4262	237	核苷酸結合	+	
4263	211	糖基轉移酶	+	用於將糖基連接至胞嘧啶以創造CGA之可能的另一酶
4264	446	未知	+	
4265	587	天門冬醯胺合成酶	+	類似於其他屬之革蘭氏陽性菌的天門冬醯胺合成酶；可能合成谷氏菌素中之胺基酸之一
4266	37	假設蛋白質	+	
4267	134	假設蛋白質	+	
4268	414	轉位酶	+	
4269	378	轉位酶	-	
4270	187	轉錄調節子	-	
4271	368	單加氧酶	+	可能轉移一個羥基團至糖骨架

[0068] 因此，再於另一實施例中，本發明之醱酵產物(包括具有至少約 0.5 克/升之谷氏菌素或至少約 1 克/升之谷氏菌素的醱酵基質)係來自產製谷氏菌素之鏈黴菌株，該鏈黴菌株具有編碼與選自以下群組之胺基酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、或至少約 99%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 及 SEQ ID NO：42。再於另一實施例中，該醱酵產物(包括具有至少約 0.5 克/升之谷氏菌素或至少約 1 克/升之谷氏菌素的醱酵基質)係來自產製谷氏菌素之鏈黴菌株，該鏈黴菌株具有與 SEQ ID NO：43 之核酸序列具有至少約 75%、至少約 80%、至少約 85%、至少約 90%、至少約 95%、至少約 96%、至少約 97%、至少約 98%、或至少約 99%之序列同一性的核苷酸序列。

[0069] 於特殊之實施例中，具有上述核酸序列之這類產製谷氏菌素的菌株爲細黃鏈黴菌或紫紅鏈黴菌。一種特殊之實例爲細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變體。於一種情況中，其這類植食性殺蟎突變體爲細黃鏈黴菌株 M。於另一實例中，這類產製谷氏菌素的菌株爲紫紅鏈黴菌株 A 或其植食性殺蟎突變體。

[0070] 含有至少約 1 克/升之谷氏菌素的醱酵基質可

以數種方式取得，諸如醱酵優化和/或使產製谷氏菌素之親代菌株發生突變以取得產製較親代菌株所產生者更高水準之谷氏菌素的突變株。

[0071] 因此，本發明亦包含製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法，其中該醱酵基質含有至少約0.5 克/升之谷氏菌素。該方法包含將鏈黴菌株在有氧條件下，培養在含有可消化之碳源和可消化之氮源的培養基中培養，其中該培養基中含有谷氏菌素之先質，諸如胞嘧啶；核酸鹼基；和/或其濃度可有效取得至少 0.5 克/升之谷氏菌素濃度的胺基酸。

[0072] 於一些實施例中係將該鏈黴菌株培養在培養基中，直到該培養基中含有之谷氏菌素的濃度爲至少約0.5 克/升、至少約 1 克/升、至少約 2 克/升、至少約 3 克/升、至少約 4 克/升、至少約 5 克/升、至少約 6 克/升、至少約 7 克/升、或至少約 8 克/升之谷氏菌素。

[0073] 於其它實施例中係將該鏈黴菌株培養在培養基中，直到該培養基中含有之谷氏菌素的濃度爲約 0.5 克/升至約 25 克/升之谷氏菌素，意指在醱酵完成後，該醱酵基質中所含有之谷氏菌素的濃度通常係在約 0.5 克/升至約15 克/升之谷氏菌素的範圍內。

[0074] 在此背景下，應注意的是該胺基酸(其添加濃度爲可有效取得至少約 0.5 克/升或至少約 1 克/升之谷氏菌素濃度)係以限定之濃度，以分開之個別組分形式提供，而非組成物之一部分，諸如酵母萃取物或蛋白質水解

產物(例如，僅舉幾例，酪蛋白水解產物、大豆粉水解產物，大豆蛋白胨，大豆酸水解產物))，其中胺基酸可存在於與其它化合物(諸如寡肽和經部分水解之蛋白質)之混合物中。因此，在醱酵基質中，“有效取得至少 1 克/升之谷氏菌素濃度的濃度”係指經特別選擇以在培養基中提供這類谷氏菌素濃度之胺基酸濃度。於一些實施例中，在培養基中用於取得所需之谷氏菌素濃度的有效胺基酸濃度爲至少約 1 克/升。因此，此“有效濃度”可爲高於 2 克/升且可能在，例如約 2 克/升至約 15 克/升之範圍內。該濃度可爲約 3 克/升、約 4 克/升、約 5 克/升、約 6 克/升、約 7 克/升、約 8 克/升、約 9 克/升、約 10 克/升、約 11 克/升、約 12 克/升、約 13 克/升、或約 14 克/升。

[0075] 該胺基酸可爲任何能提供至少約 0.5 克/升或更高之谷氏菌素濃度(諸如至少爲約 1 克/升、至少約 2 克/升、至少約 3 克/升、至少約 4 克/升、至少約 5 克/升、至少約 6 克/升) 的胺基酸。於一些實施例中，該胺基酸爲甘胺酸、L-麩胺酸、L-麩胺醯胺，L-天門冬胺酸、L-絲胺酸，或彼等之混合物。於一些實施例中，該培養基含有濃度爲約 5 克/升至約 15 克/升之甘胺酸，而於其它實施例中，該培養基含有初始濃度爲約 5 克/升至約 15 克/升之麩胺酸。亦可能爲該培養基同時含有濃度爲約 5 克/升至約 15 克/升之甘胺酸和麩胺酸(或 L-麩胺醯胺)。

[0076] 對鏈黴菌株而言爲可消化(從而可利用)之任何碳源均可用於製造如本文所描述之醱酵基質的方法(或醱

酵法)中。合適之碳源的實例(僅舉幾例)包括葡萄糖、果糖、甘露糖、半乳糖、蔗糖、麥芽糖、乳糖、糖蜜、澱粉(爲多醣的一種實例)、糊精、麥芽糊精(爲寡醣的一種實例)或甘油。該碳源之總初始濃度可爲能提供合適之鏈黴菌生長並產製所需濃度之谷氏菌素的任何濃度，且可藉由實驗測定(測定醱酵基質中之谷氏菌素的最終濃度係取決於所用之碳源的濃度)。總初始碳源濃度可爲，例如在約10克/升至約150克/升之範圍內，例如約10克/升、約20克/升、約30克/升、約40克/升、約50克/升、約60克/升、約70克/升、約80克/升、約90克/升、100克/升、約110克/升或約120克/升。於一些實施例中，該碳源可爲二或多種碳源之混合物，例如葡萄糖與多醣(諸如澱粉)之混合物、葡萄糖和寡醣(諸如糊精或麥芽糖糊精)之混合物、或葡萄糖、澱粉和糊精的混合物。於一些實施例中，該培養基含有葡萄糖和寡醣之混合物作爲碳源。該寡醣可爲麥芽糊精或糊精。於這類實施例中，培養基中之初始麥芽糊精濃度可爲約50克/升至約100克/升，或約60克/升至約80克/升。培養基中之初始葡萄糖濃度可爲約20克/升至約80克/升，例如約30克/升、約40克/升、約50克/升、約60克/升或約70克/升。於其它其中使用葡萄糖與麥芽糖糊精或糊精作爲碳源之實施例中，該葡萄糖濃度可爲約20克/升至60克/升、或約30克/升至約50克/升。

[0077] 任何可消化之氮源均可用於本文所描述之醱酵過程中。該氮源可爲單獨之來源或來源之混合物。於說

明性實施例中，該氮源(至少部分地)係選自下列群組：大豆蛋白胨、大豆酸水解產物、大豆粉水解產物、酪蛋白水解產物、酵母萃取物、及彼等之混合物。該氮源之總初始濃度可爲能提供合適之鏈黴菌生長並產製所需濃度之谷氏菌素的任何濃度，且可藉由實驗測定。例如，培養基中之合適的總濃度可在約 10 克/升至約 60 克/升之範圍內，例如約 20 克/升、約 30 克/升、約 40 克/升、約 50 克/升。於說明性實施例中，該氮源可能爲酪蛋白水解產物與大豆粉水合物之混合物、或酵母萃取物與大豆酸水解產物之混合物，其中，例如培養基中所使用之酵母萃取物的濃度(或量)爲 10 克/升，且所使用之大豆酸水解產物的濃度/量爲 20 克/升。

[0078] 該培養基可進一步含有鈣源，諸如氯化鈣或碳酸鈣。若存在時，該培養基中可含有鈣源，諸如初始濃度爲約 1 克/升至 3 克/升之碳酸鈣。

[0079] 需注意的是，在此背景下，除非另有說明，所給予之該培養基中的所有成分之濃度爲醱酵開始時的濃度(初始濃度)。該濃度係依據用於醱酵之接種後體積。此處所給予之初始濃度可經由在醱酵過程中連續餵入營養素來保持，或者，僅在醱酵開始時添加成分(碳源、氮源、胺基酸)。然而，該培養基/醱酵基質之 pH 值通常係經由添加合適之酸(諸如硫酸或檸檬酸)和/或合適之鹼(諸如氫氧化鈉或氨溶液或氫氧化鉀)來連續監測和控制。適當之 pH 值可以根據經驗來確定。於典型之實施例中，該

培養基/醱酵基質之 pH 值係在 6.5 至 7.5 之範圍內，例如 6.8 至 7.0。處理參數，諸如溫度及通氣量通常在醱酵過程之整個過程中均受到控制。由於鏈黴菌株之培養係在有氧條件下進行，該醱酵基質通常係以空氣、富含氧之空氣，或者，若需要時，純氧通氣。所選擇之溫度通常係在 20℃至 30℃的範圍內，然而，此處亦考慮更高之溫度。亦可持續添加標準的醱酵試劑，諸如消泡劑。醱酵基質可使用習知之大規模微生物醱酵過程製造，諸如深層醱酵、固態醱酵或液體表面培養，包括，例如美國專利第 3,849,398 號；英國專利第 GB 1 507 193 號；Toshiko Kanzaki et al., Journal of Antibiotics, Ser. A, Vol. 15, No.2, 1961 年 6 月，93 至 97 頁；或 Toru Ikeuchi et al., Journal of Antibiotics, (1972 年 9 月)，548 至 550 頁中所描述之方法。

[0080] 任何產製谷氏菌素之鏈黴菌株均可用於製造本文所揭露之含有谷氏菌素的醱酵基質。於說明性實施例中，該鏈黴菌株爲細黃鏈黴菌株、紫紅鏈黴菌株、或禾粟鏈黴菌株。該細黃鏈黴菌株可爲，例如細黃鏈黴菌菌株 NRRL B-50550，或由其衍生之植食性殺蟎突變株。此外，能夠產製谷氏菌素(即使在低水準下)的親代菌株，諸如各種鏈黴菌(包括，但不限於細黃鏈黴菌、紫紅鏈黴菌及禾粟鏈黴菌)和芽孢桿菌可經過誘變以增進谷氏菌素之產製。實例 14 中描述一種用來製造這類突變體並產生含有至少 1 克/升之谷氏菌素的醱酵基質之方法。

[0081] 在醱酵期間選擇特定之碳源和氮源，及其他營養素可用來優化谷氏菌素之產製。用於增進谷氏菌素之產製的合適碳源爲澱粉、麥芽糖糊精、糊精、糖和葡萄糖。於一特定之實施例中係使用葡萄糖與寡醣之組合物作爲碳源和/或先質。用於增進谷氏菌素之產製的合適氮源爲大豆蛋白水解產物、酪蛋白水解產物、大豆蛋白腺、酵母萃取物，及其他營養素較不豐富之氮源。其它合適之氮源包括胺基羧酸和/或谷氏菌素先質，諸如甘胺酸、麩胺酸，包括 L-麩胺酸、天門冬胺酸(包括 L-天門冬胺酸)、絲胺酸(包括 L-絲胺酸)及胞嘧啶。胞嘧啶可以具有高濃度之胞嘧啶的基質組分(諸如具有高核鹼基含量之酵母萃取物)之一部分的形式添加。能夠製造具有提高之谷氏菌素水準的醱酵基質之醱酵培養基的實例提供於實例 11、12 和 13 中。

[0082] 於另一實施例中，本發明之醱酵產物(例如醱酵基質或醱酵固體)具有至少 40%、至少 50%、或至少 60%之效價，其中該效價係依下述方法測定。將醱酵產物在水表面活性劑溶液中稀釋(使用表面活性劑產品標籤上建議之表面活性劑的量)以取得 5%之全基質(或者，若處理衍生自全基質之醱酵固體時，則爲如下述之全基質同等物)。將該稀釋之溶液施用在葉子(諸如利馬豆之葉子)頂部和底部表面直到兩個表面均濕潤，但不要施用至流掉。讓植物乾燥，然後以 10-20 隻二斑蛛蟎(Tetranychus urticae Koch)侵染之。處理後四天，檢查處理過之葉子並計算葉

子上之存活及死亡的成年雌蜱和二期若蟲。使用 Sun-Shepard 公式計算效價(即，經校正之死亡率)。校正%=100(經處理之小塊地區中減少之%±未經處理之族群中的變化%)/(100±未經處理之族群中的變化%)。在此施用中，藉由上述方法計算之效價將稱爲“蛛蟎效價”。

[0083] 於一些實施例中係使用本發明之組成物處理各種各樣之農業和/或園藝作物，包括那些長成以供結籽、生產、園林綠化者，以及那些長成以供生產種子者。可使用本發明之組成物處理的代表性植物，包括，但不限於下列者：芸苔屬蔬菜、鱗莖類蔬菜、穀物、柑橘、棉花、葫蘆科植物、果菜類、葉菜類、豆類、油籽作物、花生、梨果、根類蔬菜、塊莖類蔬菜、球莖類蔬菜、核果、煙草、草莓和其他漿果，及各種觀賞植物。

[0084] 本發明之組成物可以葉面噴霧、土壤處理劑、和/或種子處理劑/敷料之形式投予。於一實施例中，當作爲葉面處理劑時係每英畝施用約 1/16 至約 5 加侖之全基質。於一實施例中，當作爲土壤處理劑時係每英畝施用約 1 至約 15 加侖，或約 1 至約 5 加侖之全基質，或根據欲處理之種子大小和該醱酵產物(諸如凍乾產物)中之菌落形成單位的濃度爲約 0.1 毫克至約 14 毫克、或約 0.2 毫克至約 10 毫克、或約 0.2 毫克至約 8 毫克。當作爲種子劑時係每英畝施用約 1/32 至約 1/4 加侖之全基質。爲了處理種子，該最終調和物每克含有至少 1×10^8 個菌落形成單位。

[0085] 於一些實施例中，將本發明之組成物施用在植物、植物部分或植物位點之前先鑑定需要處理的位點。

[0086] 將微生物(例如細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 或其植食性殺蟎突變株)之醱酵產物，諸如全基質培養或醱酵固體(包括凍乾粉末)/毫升稀釋施用於植物葉面。施用率係以每英畝之加侖數或磅數來提供，且可按比例調整爲較小量之施用(諸如實例中所描述之微小區試驗)。如實例中所描述者，在較大量之施用方面，該醱酵產物係在施用前在 100 加侖的水中先稀釋。於一實施例中係將每英畝約 0.5 加侖至約 15 加侖、約 1 加侖至約 12 加侖、或約 1.25 加侖至約 10 加侖之全基質培養物(在水中稀釋及，可選擇地，表面活性劑)施用在植物葉面。於另一實施例中係將凍乾粉末(在水中稀釋及，可選擇地，表面活性劑)以每英畝約 0.2 磅至約 8 磅、約 0.4 磅至約 7 磅、或約 0.4 磅至約 6 磅之比率施用於植物葉面。於一特定之情況中，該醱酵產物具有至少約 40%、至少約 50%、或至少約 60%之“蛛蟎效價”。於另一情況中，該醱酵產物爲具有約 0.5%至約 15%之谷氏菌素、約 1%至約 12%之谷氏菌素、或約 2%至約 10%之谷氏菌素的醱酵粉末(包括噴霧乾燥或冷凍乾燥之粉末)，其中所有百分比爲重量比。於另一另一情況中，該醱酵產物爲具有約 0.01%至約 0.5%(重量/重量)之谷氏菌素的醱酵基質。

[0087] 於特殊之實施例中係將每英畝 1.25 磅之醱酵產物，諸如凍乾粉末或噴霧乾燥粉末(在水中稀釋及，可

選擇地，表面活性劑)施用在植物葉面。於這些實施例中，該最終用途之調和物係以每毫升含有至少約 1×10^6 之菌落形成單位、每毫升含有至少約 1×10^7 之菌落形成單位、每毫升含有至少約 1×10^8 之菌落形成單位、每毫升含有至少約 1×10^9 之菌落形成單位、或每毫升含有至少約 1×10^{10} 之菌落形成單位的起始醱酵基質爲底質。於另一實例中，該醱酵產物含有至少約 1 重量%之谷氏菌素、至少約 2 重量%之谷氏菌素、至少約 3 重量%之谷氏菌素、至少約 4 重量%之谷氏菌素、至少約 5 重量%之谷氏菌素、至少約 6 重量%之谷氏菌素、至少約 7 重量%之谷氏菌素、或至少約 8 重量%之谷氏菌素。

谷氏菌素基因簇、ORFs 及由此編碼之蛋白質

[0088] 本揭露內容提供位於基因位點內之谷氏菌素基因簇的核酸序列、其中所含之 ORFs 及由其編碼之蛋白質。此信息使，例如分離出，諸如在其他鏈黴菌屬中之編碼谷氏菌素基因簇之同系物的相關核酸分子及對應之 ORFs 成爲可行。本揭露內容進一步使製造由谷氏菌素基因簇或其部分編碼之蛋白質(包括，但不限於 GouA、GouB、GouC、GouD、GouE、GouF、GouG、GouH、GouI、GouJ、GouK、GouL、GouM 和/或 GouN)的變異體，及編碼這些變異體的核酸分子成爲可行。

[0089] 包含在從細黃鏈黴菌株鑑定出的 SEQ ID NO：43 內之谷氏菌素基因簇(核苷酸殘基 1-21933)包括

24 個 ORFs，稱爲 ORFs 4248 至 4271。ORFs 4251、4252、4253、4255、4256、4257、4258、4259、4261、4262、4263、4264、4265 和 4271 分別爲 13 個基因 gouA、gouB、gouC、gouD、gouE、gouF、gouG、gouH、gouI、gouJ、gouK、gouL、gouM 及 gouN。需注意的是 SEQ ID NOs：89-100(從紫紅鏈黴菌株鑑定出)分別提供直系同源基因 gouB、gouC、gouD、gouE、gouF、gouG、gouH、gouI、gouJ、gouK、gouL、gouM。這些基因在谷氏菌素合成反應中之潛在功能及其可能的角色提供於表 2 中。

[0090] 藉由本文所提供之所揭露的基因位點之序列(SEQ ID NO：43)及其中所含之 ORF，可採用體外核酸擴增(包括，但不限於 PCR)作爲用於製造編碼一或多種上述表 1 中所列之谷氏菌素生物合成蛋白質的核酸序列之簡單方法。下文中提供用於以此方式製備編碼蛋白質之核酸分子的代表性技術。

[0091] 藉由本技藝之一般技術人士所熟知之各種方法中的任一著從細胞中萃取 RNA 或 DNA。Sambrook，等人(在 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989 中)及 Ausubel，等人(在 Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publ. Assoc. and Wiley-Intersciences, 1992 中)提供用於分離 RNA 或 DNA 之方法的代表性描述。谷氏菌素生物合成酶係表現在(至少在)細黃鏈黴菌中。因此，於

一些實例中，可從細黃鏈黴菌細胞萃取 RNA 或 DNA。萃取出之 RNA 可用於，例如作爲用於進行逆轉錄(RT)-PCR 擴增之模板以製造 cDNA。用於 RT-PCR 之代表性方法和條件描述於 Kawasaki，等人(在 PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Innis et al. (eds.)21-27 Academic Press, Inc., San Diego, Calif., 1990 中)。

[0092] 擴增引物可根據欲擴增之 DNA 部分選擇。於一實施例中，引物可經過選擇以擴增 DNA 片段(例如特定 ORF 或一組相鄰的 ORFs)，或者，於另一實施例中，整個 DNA 分子。爲了適應具不同長度之引物和擴增子以及組成物，可能需要改變擴增條件。這類考量爲本技藝所熟知且討論於，例如在 Innis，等人(PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc., San Diego, Calif., 1990))中。舉例而言，編碼經過選擇之谷氏菌素生物合成蛋白質的核酸分子(諸如 gouA 至 gouN 的其中任一，或其組合)可使用針對原型細黃鏈黴菌 gouA、gouB、gouC、gouD、gouE、gouF、gouG、gouH、gouI、gouJ、gouK、gouL、gouM 和/或 gouN 序列之 5'-及 3'-端的擴增引物。可理解的是，從所提供之核酸序列可衍生出許多不同之引物。建議將藉由任何擴增程序擴增之產物重新定序，以加速確認該經擴增之序列，並提供谷氏菌素與經擴增之序列之間的自然變異的信息。從任一谷氏菌素序列衍生之寡核苷酸可用於決定，例如該對應之谷氏菌素(或谷氏菌素相關的)擴增子的序列。

[0093] 此外，可採用習知之雜交和 PCR 擴增程序二者來選殖編碼該谷氏菌素基因簇或谷氏菌素 ORFs(例如一或多種之 SEQ ID NO：1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27，29、31、33、35、37、39 及 41)之直系同源物。此兩種技術之共通點爲衍生自具有或不具有上游和下游側翼區的谷氏菌素基因簇或谷氏菌素 ORF 核酸序列之探針或引物的雜交作用。此外，雜交可能會發生在北方印跡、南方印跡或 PCR 之背景下。

[0094] 直接 PCR 擴增可在從所討論之細菌菌種製備的 DNA 集合庫上進行，或者可採用標準方法，使用從細菌細胞萃取之 RNA 進行 RT-PCR。PCR 引物將包含至少 10 個帶有或不帶有上游和下游側翼區之谷氏菌素基因簇或谷氏菌素 ORF 核酸序列的連續核苷酸。熟習本技藝之人士將會理解介於谷氏菌素基因簇或谷氏菌素 ORF 核酸序列與欲擴增之靶的核酸序列之間的序列差異可能會導致擴增效率較低。爲了彌補此點，可在擴增循環期間使用較長之 PCR 引物或較低的黏合溫度(annealing temperature)。每當使用較低之黏合溫度時，使用巢式引物對之擴增順序循環對增進擴增特異性可能有用。

[0095] 所揭露之谷氏菌素生物合成蛋白質之直系同源基因可能存在於一些其他鏈黴菌屬的成員中、細黃鏈黴菌種的其他菌株中，及其他產製谷氏菌素之生物體中。藉由提供該揭露之谷氏菌素基因簇和其 ORFs 4251-4253、4255-4259、4261-4265 和 4271，以及鄰接和插入之 ORFs

4248-4250 和 4266-4270 的核酸序列，藉由標準方法將編碼蛋白質之 DNA(諸如 ORFs)和編碼谷氏菌素生物合成酶直系同源物的基因簇選殖在這些其他生物體中已成爲可行。該揭露之谷氏菌素生物合成酶和蛋白質的直系同源物具有如本文所揭露之生物活性或功能，包括，例如胞嘧啶合成酶(ORF 4258；gouG；SEQ ID NO：15 和 16)或 CGA 合成酶(ORF 4261；gouI；SEQ ID NO：21 和 22)。

[0096] 直系同源物通常與編碼所揭露之谷氏菌素生物合成蛋白質之核酸序列(例如一或多種之 SEQ ID NO：1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39 和 41)共享至少 65%的序列同一性。於特定之實施例中，當適用時，直系同源之谷氏菌素基因簇或谷氏菌素 ORFs 可能與該揭露之細黃鏈黴菌或紫紅鏈黴菌核苷酸或胺基酸序列共享至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%，至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、或至少 99%之序列同一性。

[0097] 在習知之雜交技術方面，較佳地，將雜交探針與可檢測之標記(諸如放射性標記)結合，且該探針之長度較佳爲至少 10 個核苷酸。如本技藝中眾所周知的，增加雜交探針之長度傾向增進特異性。使用本技藝中已知之方法可將自谷氏菌素基因簇或自谷氏菌素 ORF 核酸序列衍生之經標示的探針與細菌 DNA 集合庫雜交，並偵測雜交信號。該雜交之株落或噬斑(取決於所使用之集合庫的

類型)可經過純化，而包含在該菌落或噬斑中之選殖的序列可被分離出及決定其特徵。

[0098] 於特定之實例中可使用各種市售(例如 Stratagene、Epicentre)之柯斯質粒(cosmid)或福斯質粒(fosmid)系統迅速構建基因組集合庫。有利的是，這些系統將該經選殖之 DNA 的不穩定性降至最低。在這類實例中，篩選基因組集合庫後，再接著分離出柯斯質粒或福斯質粒，將其分組成具有重疊之選殖株的族群，並分析之以建立群簇特性。柯斯質粒末端定序可用於依據從天然產物結構及其經推測之生物合成來源預測之預期的通路特徵取得關於特殊選殖株之相關性的初步信息。

[0099] 或者，可藉由免疫篩選表現集合庫來取得谷氏菌素基因簇(+/-上游或下游側翼區)或谷氏菌素 ORF 核酸序列之直系同源物。藉由本文中提供之揭露的基因位點(SEQ ID NO：43)，可在異源表現系統(例如大腸桿菌)中表現並純化對應之蛋白質，並使用其產生特異於谷氏菌素生物合成酶或蛋白質(諸如 GouA、GouB、GouC、GouD、GouE、GouF、GouG、GouH、GouI、GouJ、GouK、GouL、GouM 和/或 GouN)之抗體(單株或多株抗體)。亦可能產生針對從本文呈現之谷氏菌素胺基酸序列(SEQ ID NO：2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、和 42、和/或 SEQ ID NO：77-88)所衍生的合成肽之抗體。產生抗體之方法爲本技藝所周知，且大致描述於 Harlow and Lane, Antibodies,

A Laboratory Manual, Cold Springs Harbor, 1988 中。這類抗體可用於篩檢從細菌製造之表現集合庫。例如，此篩檢將可鑑定谷氏菌素直系同源物。所選定之 DNA 可藉由定序和酶活性分析確認。

[0100] 衍生自谷氏菌素基因簇(SEQ ID NO：43)或編碼該基因簇之 ORFs 的核酸序列(SEQ ID NO：1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、和 41)、或這些核酸序列之片段的寡核苷酸亦包含在本揭露內容之範圍內。這類寡核苷酸可作爲，例如探針或引物。於一實施例中，寡核苷酸可包含具有至少 10 個谷氏菌素基因簇(+/-上游和下游側翼區)或谷氏菌素 ORF 核酸序列之連續核苷酸的序列。若將這些寡核苷酸與體外擴增程序(諸如 PCR)一起使用可在延長寡核苷酸時增進擴增特異性。因此，於其他實施例中可使用包含至少 15、20、25、30、35、40、45、50、或更多個這些序列的連續寡核苷酸之寡核苷酸引物。於其他實例中，包含 30 個編碼谷氏菌素生物合成酶之核酸分子(諸如，例如 SEQ ID NO：15 或 21)的連續核苷酸之引物將以高於僅具有 15 個核苷酸之對應引物的特異性黏合至靶的序列，諸如谷氏菌素基因簇(+/-上游和下游側翼區)或存在於來自另一鏈黴菌種(或其他產製谷氏菌素之物種)之 DNA 集合庫中的谷氏菌素同源物。爲了取得較高之特異性，可選擇包含至少 17、20、23、25、30、35、40、45、50 或更多個谷氏菌素基因簇(+/-上游和下游側翼區)或谷氏菌素 ORF

核苷酸序列之探針和引物。於特殊之實例中，探針或引物可具有至少 100、250、500、600 或 1000 個所揭露之谷氏菌素基因簇(+/-上游和下游側翼區)或谷氏菌素 ORF 序列的連續核苷酸。

[0101] 寡核苷酸(諸如引物或探針)可從所揭露之谷氏菌素基因簇(+/-上游和下游側翼區)或谷氏菌素 ORF 核酸序列的任何區取得。舉例而言，谷氏菌素基因簇(+/-上游和下游側翼區)或谷氏菌素 ORF 序列可根據序列長度被分配成約二等分、三等分、或四等分，且該分離出之核酸分子(例如寡核苷酸)可衍生自該分子之第一或第二半、該三個三等分之任一者、或該四個四等分之任一者。所欲之核酸序列亦可被分到爲具類似效果之較小區域，例如約八等分、十六等分、二十等分、五十等分，等。或者，其可被分割成編碼保存結構域之數個區域。

[0102] 藉由本文提供之谷氏菌素生物合成蛋白質及對應之核酸序列可使創建這些序列之變異體成爲可行。變異型谷氏菌素生物合成酶包括其胺基酸序列與所揭露之原型酶不同，但仍然保留如表 1 中所列之原型蛋白的生物活性/功能之蛋白質。變異型酶亦可能被剝奪其製造谷氏菌素之生物合成先質或新穎類似物的活性/功能。

[0103] 於一實施例中，變異型谷氏菌素生物合成蛋白質包括其胺基酸序列與所揭露之谷氏菌素生物合成蛋白質序列(例如 SEQ ID NO：2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、

40、及 42、和/或 SEQ ID NO：77-88)不同，但與這類酶序列共享至少 65%胺基酸序列同一性之蛋白質。於其它實施例中，其他變異體將共享至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、或至少 99%之胺基酸序列同一性。使用標準程序(例如定點誘變或 PCR)操縱所揭露之谷氏菌素基因簇(+/-上游和下游側翼區)及谷氏菌素 ORF 核苷酸序列可以用來製造這類變異體。最簡單之修改涉及以一或多個胺基酸取代具有類似之生化性質的胺基酸。這些所謂的保存取代對所產生之蛋白質的活性可能具有最小的影響。

谷氏菌素之生物合成製造方法

[0104] 用於創建谷氏菌素之生物合成方法由於能有效製造谷氏菌素且可同樣用於製造谷氏菌素及其類似物因而很有用。因此，在異源宿主，諸如大腸桿菌或其它鏈黴菌屬中選殖和表現谷氏菌素生物合成基因簇或由此而來之 ORF 可用來增加谷氏菌素、谷氏菌素先質、谷氏菌素中間體、或包含在該基因簇中之酶或蛋白質的產製。此外，基因重組和結構域交換之構造物可允許創建使用習知合成方法將很難製造的谷氏菌素結構。

[0105] 於一實施例中，重組表現系統係選自原核宿主。細菌細胞可從許多來源取得，包括熟習本技藝之人士已知的公共來源，諸如美國典型培養物保藏中心(ATCC；

維吉尼亞州 Manassas)。用於重組蛋白表現之細胞的商業來源亦提供這類細胞用途之說明。

[0106] 一種用於在鏈黴菌屬中表現谷氏菌素基因簇之代表性異源宿主系統。於特定之實例中，鏈黴菌屬已被用來作爲表現非常大尺寸之天然產物生物合成基因簇的人工宿主(見，例如 Stutzman-Engwall and Hutchinson Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 3135-3139, 1989; Motamedi and Hutchinson Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 4445-4449, 1987; Grim et al. Gene 151: 1-10 1994; Kao et al. Science 265: 509-512, 1994: 及 Hopwood et al. Meth. Enzymol. 153: 116-166, 1987)。鏈黴菌屬爲有用之異源宿主系統，因爲其容易生長，用於表現和/或整合生物合成基因簇之質粒和柯斯質粒已被完善表徵且其庇有許多產生功能性途徑所需之修飾酶和輔酶(Donadio et al. J. Biotechnol. 99: 187-198, 2002)。具有分段菌絲體之宿主細胞可能表現出保持低黏度之優點；宿主細胞之其他有利特點(除了表現大量谷氏菌素之能力外)包括快速生長及在簡單基質上生長。

[0107] 另一用於表現谷氏菌素基因簇(或一或多個其ORFs)之代表性異源宿主系統爲大腸桿菌。大腸桿菌爲具有吸引力之人工表現系統，因爲其生長快速且易於以遺傳工程方式操縱。以大腸桿菌爲基礎之表現系統的最新進展對在單一宿主生物體中同時表現多個基因具有很大的助力。來自複雜之生物合成系統的多個 ORFs 現在可以同時

在大腸桿菌中表現。

[0108] 然而，表現系統之選擇將取決於表現之多肽所需的特性。用任何可轉導之選殖載體均可作爲目前揭露之核酸構造物的選殖載體。若欲表現大的基因簇，較佳地，使用噬菌粒、柯斯質粒、福斯質粒、P1s、YACs、BACs、PACs、HACs、或類似之選殖載體來將核苷酸序列選殖入宿主細胞中。與 M13 噬菌體及 λ 噬菌體分別比較，這些載體之利處係由於能夠插入較大之 DNA 片段並穩定地增殖。

[0109] 於一實施例中可使用那些熟習本技藝之人士已知的方法將一或多種揭露之 ORFs 和/或其變異體插入一或多個表現載體中。使用載體將谷氏菌素生物合成基因或谷氏菌素基因簇引入宿主細胞中。原核宿主細胞或其它具有堅固細胞壁之宿主細胞可使用本技藝中已知之任何方法轉形，包括，例如磷酸鈣沉澱法或電穿孔。代表性原核轉形技術描述於，例如 Dower(Genetic Engineering, Principles and Methods 12:275-296, Plenum Publishing Corp., 1990)及 Hanahan，等人(Meth. Enzymol. 204:63, 1991)中。載體包括一或多個可操作地連接至所需之 ORF 的控制序列。然而，表現匣之選擇可能取決於所選擇之宿主系統及表現多肽或天然產物所需的特性。通常，該表現匣包括在選定之宿主系統中具有功能之啓動子且可爲構造性或可誘導的。於一實施例中，除了所需之 DNA 分子和終止密碼子外，該表現匣包括啓動子、核糖體結合位置、起始密碼子

(若需要時)，及可選擇地，編碼前導肽之區域。另外，3'端區(轉譯和/或轉錄終止子)可被包含在該表現匣內。構造在 DNA 分子中之 ORF 可能僅受啓動子控制，從而使轉錄和翻譯發生在宿主細胞中。熟習本技藝之人士熟知且可取得啓動子編碼區。啓動子之實例可包括細菌啓動子(諸如那些衍生自糖代謝酶者，諸如半乳糖、乳糖、麥芽糖)、衍生自生物合成酶之啓動子序列，諸如色胺酸、β-內醯胺酶啓動子系統、噬菌體 λ PL，及 TF 和病毒啓動子。

[0110] 表現匣內存在額外之調控序列可能有利於調控一或多個與宿主細胞生長相關之 ORFs 的表現。這些調控序列爲本技藝所熟知。調控序列之實例包括回應化學或物理刺激，以及增強子序列而開啓或關閉基因表現的序列。除了調控序列外，可包含可選擇之標記以協助選擇轉形之細胞。例如，賦予質粒抗生素抗性或敏感性之基因可用來作爲可選擇的標記。

[0111] 可設想的是，可將谷氏菌素基因簇或一或多個所欲之谷氏菌素 ORF 以個別匣之形式，藉由不同之控制元件，或受單一控制元件(例如啓動子)之控制選殖入一或多個重組載體中。於一實施例中，該 ORFs 包括二或多個限制性酶切位點以允許容易地刪除和插入其他開放閱讀框，從而可產生雜交合成途徑。這類限制性酶切位點之設計和用途爲熟習本技藝之人士所熟知，且可經由使用上述技術，諸如 PCR 或定點誘變進行。由轉形細胞表現之蛋白質可根據熟習本技藝之人士所熟知之標準方法回收。例

如，可加上習知之標籤來表現蛋白質以促進分離。此外，可使用結合多肽之配體，藉由親和性色層析法來純化所產生之多肽。

[0112] 進一步考慮的爲藉由前述之產製谷氏菌素的醱酵條件來製造各種谷氏菌素 ORFs、基因簇、或所欲之谷氏菌素蛋白質。製造後，可藉由熟習本技藝之人士所熟知之方法(例如高壓液相色層分析法(HPLC))純化和/或分析該化合物。

[0113] 本發明亦包含經由以下步驟用於識別和/或製造殺蟎和/或殺真菌之細菌產物的方法：(i)篩選鏈黴菌種之菌株，(ii)選擇具有編碼胺基酸序列之與 SEQ ID NO：43 具有至少約 65%、至少約 66%、至少約 67%、至少約 68%、至少約 69%、至少約 70%之序列同一性、至少約 80%之序列同一性、至少約 90%之序列同一性、至少約 95%之序列同一性、至少約 96%之序列同一性、至少約 97%之序列同一性、至少約 98%之序列同一性、或至少約 99%之序列同一性的核苷酸序列之菌株，及(iii)從所選擇之菌株製造殺蟎醱酵產物。於一些其它實施例中，該選擇步驟涉及選擇那些具有編碼與至少一種選自以下群組之胺基酸序列具有至少 70%之序列同一性的胺基酸序列之核苷酸序列的菌株：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、

SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30及SEQ ID NO：42。於一些實施例中係篩選下列鏈黴菌種之菌株：細黃鏈黴菌、灰色鏈黴菌、環圈鏈黴菌、糞生鏈黴菌、小鏈黴菌、淡紫灰鏈黴菌、白綠鏈黴菌、紫紅鏈黴菌或禾粟鏈黴菌。於一些實施例中，篩選之鏈黴菌種爲親代鏈黴菌株之突變體。於一觀點中，這類突變體係以本申請案中描述的方式，或藉由本技藝中已知之其它方法，包括實例 16 中所描述之方法產生。於一些實施例中，篩選步驟前先進行產生親代鏈黴菌株之突變體的步驟。本文中描述用於產生突變體之方法。於一些實施例中，該篩選步驟亦涉及製備菌株之醱酵基質及選擇亦具有至少約 60%之蛛蟎效價的菌株。這類選擇步驟可在依據序列同一性之百分比的選擇步驟之前或之後發生。本文中列舉用於製造醱酵產物及用於測試殺蟎活性之方法。於一實施例中，該製造步驟(步驟(iii))之醱酵產物具有濃度爲至少約 1 克/升、至少約 2 克/升、至少約 3 克/升、至少約 4 克/升、至少約 5 克/升、至少約 6 克/升、至少約 7 克/升、至少約 8 克/升、至少約 9 克/升、或至少約 10 克/升之谷氏菌素。用於測量谷氏菌素濃度之方法爲熟習本技藝之人士所已知。

保藏信息

[0114] 本發明之細黃鏈黴菌株樣本已根據布達佩斯條約的規定在 2011 年 8 月 19 日保藏在位於 61604 美國伊利諾州皮奧里亞市北大學街 1815 號，美國農業部農業研

究服務，全國農業利用研究中心之農業研究服務培養物保藏中心，且已指派以下保藏編號：NRRL B-50550 。

[0115] 細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之突變體(本文命名爲細黃鏈黴菌株 M，亦稱爲 AQ6121.002)的樣本已根據布達佩斯條約的規定在 2013 年 9 月 27 日保藏在位於 61604 美國伊利諾州皮奧里亞市北大學街 1815 號，美國農業部農業研究服務，全國農業利用研究中心之農業研究服務培養物保藏中心。此菌株亦根據布達佩斯條約的規定在 2013 年 10 月 8 日保藏在位於 20110 美國維吉尼亞州馬納薩斯大學大道 10801 號，美國典型培養物保藏中心。此菌株亦在 2013 年 10 月 9 日保藏在位於 R3E 3R2 加拿大曼尼托巴省溫尼伯阿靈頓街 1015 號之加拿大國際保藏管理局且已被指派編號 091013-02。

[0116] 本文中稱爲紫紅鏈黴菌株 A(亦稱爲 AQ7439)之紫紅鏈黴菌株樣本已根據布達佩斯條約的規定在 2013 年 10 月 8 日保藏在位於 20110 美國維吉尼亞州馬納薩斯大學大道 10801 號，美國典型培養物保藏中心。此菌株亦在 2013 年 10 月 9 日保藏在位於 R3E 3R2 加拿大曼尼托巴省溫尼伯阿靈頓街 1015 號之加拿大國際保藏管理局且已被指派編號 091013-01。

【圖式簡單說明】

[0117] 第 1 圖顯示當將稀釋後之菌株的醱酵產物噴灑在被二斑蛛蟎(two spotted spider mites)侵染之利馬豆植

物葉子上時，以細菌候選菌株進行之 UV 穩定性試驗結果。淺灰色之柱條(各菌株之較低柱條)代表無 UV 光照射時之抗殺蟎活性，深灰色之柱條(每一菌株之較高柱條)代表以 UV 光照射 24 小時後之抗殺蟎活性。第五天，按 1 至 4 之級別評估存在於植物上的蟎蟲和卵。

[0118] 第 2 圖顯示當將稀釋後之菌株的醱酵產物噴灑在被二斑蛛蟎侵染之利馬豆植物葉子上時，以測試之細菌候選菌株進行的透層活性試驗之結果。淺灰色之柱條(各菌株之較低柱條)代表透層(抗殺蟎)活性，深灰色之柱條(各菌株之較高柱條)代表總體抗殺蟎活性。第六天，按 1 至 4 之級別評估存在於植物上的蟎蟲和卵。

[0119] 第 3 圖顯示相對於親代菌株，生長在 1 升搖瓶中之細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 突變體所增加之谷氏菌素產製。

[0120] 第 4 圖顯示相對於親代菌株，生長在 5 升生物反應器中之細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 突變體所增加之谷氏菌素產製。

[0121] 第 5 圖顯示谷氏菌素之化學結構，及其絲胺酸、糖、胞嘧啶和肌胺酸次結構域。

[0122] 第 6 圖顯示谷氏菌素之可能的生物合成途徑。

[0123] 第 7 圖顯示谷氏菌素之化學結構，標註出可能涉及和/或負責谷氏菌素之特殊次結構域結構的開放閱讀框(ORF)編號。

[0124] 第 8 圖顯示谷氏菌素生物合成基因簇之組織。

[0125] 第 9 圖顯示經由瓊脂糖凝膠電泳解析之經命名的引物對之 PCR 產物(見引物對名稱之序列表)。MW=1kDa 分子量階梯。C=16S 陽性對照組。gouC1 係來自 SEQ ID NO：44 和 45 之引物。gouC2 係來自 SEQ ID NO：46 和 47 之引物。gouD 係來自 SEQ ID NO：48 和 49 之引物。gouG1 係來自 SEQ ID NO：50 和 51 之引物。gouG2 係來自 SEQ ID NO：52 和 53 之引物。gouI1 係來自 54 和 55 之引物。gouF2 係來自 SEQ ID NO：56 和 57 之引物。

[0126] 第 10 圖顯示 pUC118 載體之示意圖。

[0127] 第 11 圖顯示 pKC1139 轉運載體(shuttle vector)之示意圖。

[0128] 第 12 圖顯示來自使用不同引物對之 PCR 的 PCR 產物，經由瓊脂糖凝膠電泳解析之結果。I=gouI 引物；G=gouG 引物；Ia=具有安普黴素(Apramycin)抗性之單次交換；IKI(具 GouIup 及 gouldown)，CKW(具 gouCup 及 gouwholeclusterdown)，及 CKI(具 gouCup 及 gouIdown)均為卡那黴素抗性雙重交換。

【實施方式】

[0129] 下列實例僅用於說明，而非用於限制本發明。

實例 1-選擇細黃鏈黴菌 NRRL B-50550

[0130] 菌株係取自內部菌株收集處，並進行初步篩

選試驗以測定潛在候選菌株對抗二斑蛛蟎(“TSSM”)(此爲常用來篩選一般殺蟎活性之典型生物體)的效力。先選擇具有有利於實驗室或人工培養的性質之微生物，諸如在瓊脂盤上生長迅速之變異體。將選定之菌株的培養貯存物生長在適合各別菌株之培養基中，諸如實例 2 中描述之培養基 1 和培養基 2。使用水和 0.03%之表面活性劑 BREAK-THRU FIRST CHOICE®聚醚-聚甲基矽氧烷共聚物將由此產生之醱酵產物(全基質)稀釋成 25%溶液。然後，將 8 毫升稀釋後之醱酵產物施用於兩株植物之利馬豆葉(該利馬豆植物爲 1 至 1.5 週齡)的頂部和底部直至滴落。經過這類處理後，在同一天，以 50-100 隻 TSSM 侵染植物並留置在溫室中五天。在第五天以 1 至 4 之級別評估存在於植物上之蟎蟲和卵。使用殺蟎劑 AVID®(阿維菌素，Syngenta)作爲陽性對照組。在蟎和卵方面，1 表示 100%死亡率，1.5 表示 90%至 95%死亡率，2.0 代表 75%至 90%死亡率；2.5 代表 40%至 55%死亡率；3.0 代表 20%至 35%死亡率且 4.0 代表 0%至 10%死亡率。除了 NRRL B-50550 之外，其他鏈黴菌株及一些芽孢桿菌株被發現具有對抗蟎類之活性。

[0131] 爲了進一步選擇，在其他活性中，檢查篩選出之菌株的 UV 穩定性和透層活性，因爲殺蹣劑應該對 UV 光穩定且擁有透層活性，以有效施用於田野。

[0132] 爲了評估 UV 穩定性，將上述之醱酵產物的 25%稀釋液噴灑在利馬豆植物之上表面上。經過這類處理

後，在同一天，以 50-100 隻 TSSM 侵染植物並暴露在紫外線下 24 小時，再留置在溫室中五天。藉由施放在葉片之凡士林環將蟎蟲限制在葉子之近軸(上方)表面並作爲不讓蟎逾越之界限。依上述，在第五天以 1 至 4 之級別評估存在於植物上之蟎蟲和卵。使用殺蟎劑 AVID®(阿維菌素，Syngenta)及 OBERON®(螺甲蟎酯(spiromesifen)，Bayer CropScience AG)作爲對照組。結果顯示於第 1 圖中。菌株 NRRL B-50550 之醱酵產物顯示出所有測試菌株中最佳之紫外線穩定性。

[0133] 爲了評估透層活性，依上述培養菌株，並使用水和 0.35%表面活性劑將所得之全基質稀釋且施用於兩株植物之利馬豆葉的下表面直至滴落。處理後一天，將 50-100 隻 TSSM 放置在葉子的上表面上並依上述使用凡士林環/物理屏障將其包含在內，以侵染處理過之葉子的上表面。在第六天依上述之 1 至 4 之級別評估存在於植物上之蟎蟲和卵。使用殺蟎劑 AVID®(阿維菌素，Syngenta)及 OBERON®(螺甲蟎酯，Bayer CropScience AG)作爲對照組。結果顯示於第 2 圖中。菌株 NRRL B-50550 之醱酵產物顯示出所有測試菌株中最佳之透層活性。

實例 2-抗蛛蟎活性

[0134] 進行進一步測試以更嚴密地測定細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 對抗二斑蛛蟎(“TSSM”)之效力。將細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之培養貯存液生長在 28℃，1

升搖瓶中之培養基 1 和培養基 2 中 5 天。培養基 1 係由 2.0%澱粉、1.0%右旋糖、0.5%酵母萃取物、0.5%酪蛋白水解產物及 0.1%碳酸鈣所組成。培養基 2 係由 2%ProFlo 棉籽餅、2%麥芽萃取物、0.6%磷酸二氫鉀及 0.48%磷酸氫二鉀所組成。使用水和 0.03%表面活性劑 BREAK-THRU FIRST CHOICE®(聚醚-聚甲基矽氧烷共聚物)將由此產生之醱酵產物稀釋成 25%溶液，取 6 毫升施用於兩株植物之利馬豆葉的頂部和底部直至滴落。經過這類處理後，在同一天，以 50-100 隻 TSSM 侵染植物並留置在溫室中五天。在第六天，以 1 至 4 之級別評估存在於植物上之蟎蟲和卵。使用殺蟎劑 AVID®(阿維菌素，Syngenta)作爲陽性對照組。在蟎蟲和卵方面，1 表示 100%死亡率，1.5 表示 90%至 95%死亡率，2.0 代表 75%至 90%死亡率；2.5 代表 40%至 55%死亡率；3.0 代表 20%至 35%死亡率且 4.0 代表 0%至 10%死亡率。結果顯示於下列表 3 中。細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 之兩種醱酵產物造成蟎蟲 90%或更高之死亡率。

表 3

醱酵產物	蟎	卵
NRRL B-50550 培養基 1	1.25	1.00
NRRL B-50550 培養基 2	1.50	1.50
陽性對照組(AVID® 阿維菌素，EC – 5.7 ppm)	1.00	1.00
未經處理的對照組	3.75	4.00

[0135] 針對杏仁中之太平洋蛛蟎、葡萄中之太平洋

蛛蟎及草莓中之二斑蛛蟎進行的田野試驗確認了上述之溫室結果。針對杏仁中之太平洋蛛蟎的田野試驗結果報告於下列表 4-6 中。使用殺蟎劑 AGRI-MEK®(阿維菌素，Syngenta)作爲陽性對照組。在含有培養基 1 之搖瓶中接種 NRRL B-50550 之冷凍培養並在 28-30℃下生長 1-2 天。使用所產生之醱酵產物接種含有以下培養基之 20 升生物反應器：6.0%澱粉、3.0%右旋糖、1.5%酵母萃取物和 1.5%酪蛋白水解產物，及 0.3%碳酸鈣。將此培養基在 28℃之間醱酵 7 天。將所產生之全基質與佐劑，0.03%之 BREAK-THRU FIRST CHOICE®(聚醚-聚甲基矽氧烷共聚物)混合後建立凍乾粉末(“FDP”)，然後用於試驗中。

表 4：對抗成蟎之活性

成蟎之數目/葉子	0 DAT	3 DAT	7 DAT	14 DAT
未經處理的	9.3	8.8	10.5	5.8
NRRL B-50550 FDP 0.63 磅/英畝	15.0	0.8	0.0	0.0
NRRL B-50550 FDP1.25 磅/英畝	13.5	1.3	0.8	0.3
NRRL B-50550 FDP 2.5 磅/英畝	15.0	0.8	0.0	0.0
NRRL B-50550 FDP 5 磅/英畝	16.8	0.0	0.3	0.0
標準 (AGRI-MEK®阿維菌素0.15EC 以16液盎司/英畝之比例)	7.0	0.0	0.0	0.0

表 5：對抗幼蟎之活性

幼蟎之數目/葉子	0 DAT	3 DAT	7 DAT	14 DAT
未經處理的	23.8	24.3	29.8	12.5
NRRL B-50550 FDP 0.63 磅/英畝	43.0	3.0	1.8	0.0
NRRL B-50550 FDP 1.25 磅/英畝	31.5	2.0	1.3	0.0
NRRL B-50550 FDP 2.5 磅/英畝	41.8	2.0	0.8	0.0
NRRL B-50550 FDP 5 磅/英畝	39.3	0.8	0.3	0.0
標準 (AGRI-MEK® 阿維菌素0.15EC 以16液盎司/英畝之比例)	37.5	0.5	1.0	0.3

表 6：對抗蟎卵之活性

蟎卵之數目/葉子	0 DAT	3 DAT	7 DAT	14 DAT
未經處理的	26.8	21.0	19.8	9.5
NRRL B-50550 FDP 0.63 磅/英畝	23.5	4.8	5.5	0.0
NRRL B-50550 FDP 1.25 磅/英畝	16.3	3.0	2.3	0.5
NRRL B-50550 FDP 2.5 磅/英畝	29.0	3.3	2.8	0.0
NRRL B-50550 FDP 5 磅/英畝	33.8	5.0	3.3	0.8
標準 (AGRI-MEK® 阿維菌素0.15EC 以16液盎司/英畝之比例)	22.3	5.8	1.3	0.3

實例 3 -對抗柑橘蟎蟲之田野活性

[0136] 進行田野試驗以測定 NRRL B-50550 對抗巴倫西亞橙上之柑桔銹蟎(柑橘銹癭蟎(*Phyllocoptruta oleivora*))的效力。在含有培養基 1(見實例 2)之搖瓶中接種 NRRL B-50550 之冷凍培養並在 20-30℃下生長 1-2 天。重複此過程。使用所產生之醱酵產物接種含有以下培養基之 20 升生物反應器中：6.0%澱粉、3.0%右旋糖、1.5%酵母萃取物、2.0%大豆水解產物、0.6%甘胺酸，及 0.2%碳酸鈣。將此培養基在 28℃之間醱酵 8 天。使用所產生之全基質

創建凍乾粉末(“FDP”)，然後用於下列試驗中。將凍乾粉末在水中稀釋，並依下表 7 中所顯示之比率，以 100 加侖/英畝施用。使用殺蟎劑 ENVIDOR®(螺甲蟎酯，Bayer CropScience，德國)作爲陽性對照。在處理 1-3 中，以 0.66%體積/體積之比率添加 BREAK-THRU FIRST CHOICE® 佐劑(聚醚-聚甲基矽氧烷共聚物，見上文)。以 0.625 磅/英畝之比率施用的醱酵產物顯示出較以 16 液盎司/英畝之比率施用的 ENVIDOR®螺甲蟎酯更佳之殺蟎活性。

表 7

	處理	比率	蟎的數目/厘米^{2}水果
1.	NRRL B-50550 FDP	0.625 磅/英畝	0.29
2.	NRRL B-50550 FDP	1.25 磅/英畝	1.43
3.	NRRL B-50550 FDP	2.5 磅/英畝	0.78
4.	NRRL B-50550 + 435 Oil	2.5 磅/英畝+5 加侖/英畝	0.76
5.	ENVIDOR® 2SC (螺甲蟎酯)	16 液盎司/英畝	0.41
6.	未處理的檢查標準	--	13.09

實例 4 -對抗其他蟎蟲之活性

[0137] 研究顯示出 NRRL B-50550 具有對抗各種其他蟎蟲，包括癭蟎(eriophyid)(赤褐色)及廣明蟎之活性。依實例 2 中所描述之用於田野試驗的方法製備醱酵基質。使用水和 0.35%表面活性劑將所產生之醱酵基質稀釋成各種濃度，再將 10 毫升之稀釋基質施用於兩株植物之利馬豆葉的頂部和底部直至滴落。在處理的同一天以赤褐色蟎侵染植物，並在處理後六天依上述之級別評估赤褐色蟎之存在情形。積分爲 4 表示沒有控制且在評估時存在至少 100

隻赤褐色蟎。使用殺蟎劑 AVID®(阿維菌素)作爲陽性對照組。

表 8

處理	分級-新葉	分級-老葉
NRRL B-50550 WB 12.50%	1.58	1.50
NRRL B-50550 WB 6.25%	1.75	1.92
NRRL B-50550 WB 3.12%	2.42	2.67
NRRL B-50550 WB 1.56%	2.75	3.17
未處理的	4.00	4.00
AVID® (EC) 1% (阿維菌素)	1.00	1.00

實例 5-殘留活性

[0138] 其他研究透露出 NRRL B-50550 具有殘留活性。在含有實例 2 之培養基 1 的搖瓶中接種以 Luria 基質爲底質之 NRRL B-50550 培養物(其已接種 NRRL B-50550 之冷凍培養)並在 28℃下生長 1-2 天。使用所產生之醱酵產物接種含有以下培養基之 20 升的生物反應器中：8.0%右旋糖、1.5%酵母萃取物、1.5%酪蛋白水解產物及 0.1%碳酸鈣。將培養基在 28℃之間醱酵 7-8 天。使用水和 0.35%表面活性劑將所產生之醱酵產物稀釋成 3.13%溶液，再將 8 毫升稀釋後之基質施用於兩株植物之利馬豆葉的頂部和底部直至滴落。在這類處理後六天，以 50-100 隻 TSSM 侵染植物，並在處理後 12 天依上述之級別評估存在之蟎蟲和卵。使用殺蟎劑 AVID®(阿維菌素)作爲陽性對照組。結果顯示於下表 9 中。

表9

醱酵產物	蟎	卵
NRRL B-50550 WB 3.13%	1.12	1.31
陽性對照組(AVID® –阿維菌素0.4微升/10毫升)	1.00	1.00
未處理之對照組	4.00	4.00

[0139] 除了對初次接觸經過處理之植物的蟎蟲之作用外，亦評估對那些可能在稍後之時間點遷移至處理過之葉子上的蟎蟲之效果。在第 0 天，以依類似於實例 13 中描述之方式製造的 6.25%或 1.56%全基質處理全部植物。然後，在處理後一週之時間間隔下將蟎蟲加入植物群體中。此處理組包括用於比較之其他殺蟎劑。處理後，每週添加一次蟎蟲，共 5 週。活性在該 5 週之期間內持續維持著且活性降低之速率類似 OBERON®(螺甲蟎酯)產品，並略快於 AVID®產品。此研究亦顯示出當處理利馬豆植物之初生葉時，稍後冒出之葉子不受保護。

實例 6 -透層活性

[0140] 進行研究以測定 NRRL B-50550 是否具有透層活性。依實例 5 中之描述製備全基質。使用水和 0.35%表面活性劑將所得之全基質稀釋且將 10 毫升之稀釋基質施用於兩株植物之利馬豆葉的下表面直至滴落。處理後一天，將 50-100 隻 TSSM 放置在葉子的上表面上並使用放置在該葉片之上表面的凡士林環/物理屏障將其包含在內以侵染該經過處理之葉子的上表面。處理後五天依上述之級別評估存在於植物上之蟎蟲和卵。結果顯示於下列表

10 中。

表 10

處理	蟎	卵
NRRL B-50550 WB 12.5%	1.00	1.19
NRRL B-50550 WB 6.25%	1.51	1.73
NRRL B-50550 WB 3.12%	2.50	2.44
NRRL B-50550 WB 1.56%	2.12	2.19
陽性對照組 AVID® 阿維菌素0.8微升/10毫升)	1.46	1.30
未處理之對照組	3.50	3.62

實例 7-殺卵活性

[0141] 依下述測試 NRRL B-50550 之殺卵活性。依實例 5 中之描述製備全基質。在處理前 48 小時，允許成年雌蟎在葉片表面上產卵，以 TSSM 卵預侵染兩株利馬豆植物。然後，以 8 毫升全基質之各種稀釋液處理植物。處理後 5 天評估植物。存在於各處理組和對照組中之存活和死亡的卵之數目顯示於下列表 11 中。

表 11

處理	存活的卵	死亡的卵
NRRL B-50550 (6.25%)	1.00	32.75
NRRL B-50550 (3.12%)	0.50	18.25
NRRL B-50550 (1.56%)	1.00	20.50
陽性對照組 (OBERON® SC – 螺甲蟎酯4液盎司/100加侖)	1.50	75.00
未處理之對照組	24.00	2.00

實例 8-浸液活性

[0142] 使用生長在泥沙中之利馬豆研究 NRRL B-50550 之浸液活性。依實例 3 中之描述製備全基質。將每次 10 毫升之 12.5%全基質稀釋液施用在泥沙二次。小心爲植物澆水，以防止全基質從盆底濾出。全基質係在種植後四天和種植後五天施用。在第 2 次處理後三天以能動的 TSSM 侵染較下方之葉片。下方之葉片被侵染後 9 天，侵染上方之葉片。在侵染後 4、5、8 及 11 天評估下方之葉片。在侵染後 2 天評估上方之葉片。依據實例 2 中描述之評分系統所得之結果顯示於下列表 12 中。

表 12

	蟎	卵	表面有斑點之上方葉片%
NRRL B-50550 – 1st 評估[下方葉片]	1.83	1.43	7.00
NRRL B-50550 – 2nd 評估[下方葉片]	1.33	1.5	5.00
NRRL B-50550 – 3rd 評估[下方葉片]	1.05	1.05	2.75
NRRL B-50550 – 4th 評估[下方葉片]	1.83	1.38	4.5
NRRL B-50550 – 1st 評估[上方葉片]	1.93	1.43	4.25
未處理之對照組 – 1st 評估[下方葉片]	3.63	3.45	23.8
未處理之對照組 -2nd 評估[下方葉片]	3.88	4	25
未處理之對照組 – 3rd 評估[下方葉片]	4	4	52.5
未處理之對照組 – 4th 評估[下方葉片]	4	4	80
未處理之對照組 - 1st 評估[上方葉片]	4	4	77.5

實例 9-對抗真菌性植物病原的活性

[0143] 測試 NRRL B-50550 對抗各種植物真菌性病原之活性。其被發現對小麥葉銹病和黃瓜白粉病均具有活

性。在含有培養基 1 之搖瓶中接種 NRRL B-50550 之冷凍培養物並在 20-30℃下生長 1-2 天。將所得之醱酵產物接種在含有類似之培養基的 20 升生物反應器中，並在 28℃下生長 1-2 天。接著，使用所得之醱酵產物接種含有以下培養基之 200 升醱酵器：7.0%澱粉、3.0%右旋糖、1.5%酵母萃取物、2.0%大豆酸水解產物、0.8%甘胺酸及 0.2%碳酸鈣。將此培養基在 26℃之間醱酵 8 天。以顯示於下列表 13 中之在具有 0.03%佐劑(BREAK-THRU FIRST CHOICE® 聚醚-聚甲基矽氧烷共聚物)的蒸餾水中製備的各種 NRRL-50550 全基質稀釋液處理六天大之麥苗，這是以全基質覆蓋葉子的上、下表面並使其乾燥。在這類處理後一天將小麥葉銹病的懸浮液接種在籽苗。處理後約一週，使用下列級別將植物以 0-100%控制分級，其中 0%爲無控制，而 100%爲完全控制。

表 13

處理	比率	控制
NRRL B-50550 WB	20%	98.7
NRRL B-50550 WB	5%	95.0
NRRL B-50550 WB	1.25%	50.0
NRRL B-50550 WB	0.3125%	0.0
NRRL B-50550 上清液	20%	95.0
NRRL B-50550 上清液	5%	66.7
NRRL B-50550 上清液	1.25%	0.0
NRRL B-50550 上清液	0.3125%	0.0
NRRL B -50550 細胞萃取物	20%	50.0
NRRL B-50550 細胞萃取物	5%	50.0
NRRL B-50550細胞萃取物	1.25%	0.0
NRRL B-50550 細胞萃取物	0.3125%	0.0
未處理之檢查標準		0.0
佐劑之檢查標準		0.0

[0144] 另外，當將全基質施用在下方葉片之表面，而病原體施放在上方葉片之表面時，NRRL B-50550 顯示出對抗黃瓜白粉病之活性。

[0145] 在治病試驗中 NRRL B-50550 亦顯示出對抗黃瓜白粉病之活性。當植物已在微小區上形成茂密之樹冠，而自然白粉病才剛剛在相鄰之地基開始發展之時點，在黃瓜微小區上接種黃瓜白粉病。感染後六天，沒有來自接種之疾病的可見證據。從依類似於實例 13 中所描述的方式製備之醱酵基質取得 NRRL B-50550 之凍乾粉末。然後，將凍乾粉末與惰性成分(潤濕劑、穩定劑、載體、助流劑和分散劑)一起配製，以製造可濕性粉末。該配製之產品

包含 75 重量%之凍乾粉末。將可濕性粉末在水中稀釋，並以下列表 14 中所示之比率，以 100 加侖/英畝之比率施用。(注意，每英畝 100 加侖換算爲每一微小區 200 毫升之噴霧量)。依據上述之相同級別分級。

表 14

地基	處理	等級
NRRL B-50550 75 WP	3.34 磅/英畝/100加侖	95%
NRRL B-50550 75 WP	1.67 磅/英畝/100加侖	80%
NRRL B-50550 75 WP	1.25 磅/英畝/100加侖	80%
NRRL B-50550 75 WP	0.83 磅/英畝/100加侖	75%
嘧菌酯(Azoxystrobin),QUADRIS	11 液盎司/英畝/100加侖	80%
水檢查標準		0%

實例 10-玉米根蟲活性

[0146] 進行測試，以測定 NRRL B-50550 對抗玉米根蟲之效力。依實例 2 中之描述在培養基 1 或培養基 2 中製備 NRRL B-50550 全基質。將 NRRL B-50550 全基質稀釋並餵予西斑黃瓜甲蟲(黃瓜十一星葉甲)，以在微量滴定盤中進行以飲食爲基礎之分析。依實例 2 中之描述評估活性並在 1 至 4 之級別上評定等級。使用殺白蟻劑/殺蟲劑 TERMIDOR® SC(5-胺基-1-(2,6-二氯-4(三氟甲基)苯基)-4-((1,R,S)-(三氟甲基)亞磺醯基)-1-H-吡唑-3-甲腈，俗稱氟蟲腈(fipronil)BASF)作爲陽性對照組。結果顯示於表 15 中。NRRL B-50550 顯示出與殺蟲劑 TERMIDOR® SC(其包含活性成分氟蟲腈)相同的殺蟲活性。

表 15

處理	劑量	等級
NRRL B-50550 培養基1	100%	1.0
NRRL B-50550 培養基1	25%	1.0
NRRL B-50550 培養基1	6.25%	1.0
NRRL B-50550 培養基1	1.56%	3.75
NRRL B-50550 培養基2	100%	1.0
NRRL B-50550 培養基2	25%	1.0
NRRL B-50550 培養基2	6.25%	1.0
NRRL B-50550 培養基2	1.56%	4.0
TERMIDOR® SC 8.3 毫克/毫升	100.0%	1.0
TERMIDOR® SC	25.0%	1.0
TERMIDOR® SC	1.56%	3.75
未經處理的		4.0

實例 11-劑量/反應實驗室分析

[0147] 進行研究以測定 TSSM 對不同劑量之 NRRL B-50550 的反應。依實例 5 中之描述製備全基質。使用水和 0.35%表面活性劑將所產生之全基質稀釋成如下表 13 中所示之百分比。使用水和 0.35%表面活性劑作爲對照處理組。在兩個分開的試驗中，將全基質溶液和對照處理組施用於利馬豆葉之下表面直至滴落，每一劑量重複四次。經過這類處理後，以 50-100 隻 TSSM 侵染植物，並在處理後五天以上述之級別評估蟎蟲和卵之存在情形。結果顯示於下列表 16 中。

表 16

%全基質	蟎等級	死亡率
0.20	3.55	15%
0.39	3.17	25%
0.78	2.11	70%
1.57	1.52	90%
3.13	1.22	95%

[0148] 依據處理之誤差線，與對照處理組相比較時，在測試之最低濃度(0.20%全基質)下可觀察到明顯之死亡率。據觀察，與施用 NRRL B-50550 相關之部分效果爲其造成蟎蟲離開植物。因此，即使在亞致死劑量下，NRRL B-50550 可能減少植物上之蟎蟲族群。

實例 12-對抗具阿維菌素抗性之蛛蟎的活性

[0149] 進行研究以測定與野生型蛛蟎(二點葉蟎(*Tetranychus urticae*)RW 品種)相比較時，NRRL B-50550 對抗具阿維菌素抗性之蛛蟎(二點葉蟎 NL 品種)的活性。以依實例 9 之最後一段製備的 NRRL B-50550 醱酵產物之可濕性粉末處理法國豆植物，稀釋後依下列表 17 中所示之比率施用。處理前一天，以 50-100 隻品種 NL 或 RW 侵染植物，並在處理後 7 至 14 天評估蟎蟲之存在。結果顯示出下列表 17 中。

表 17

處理	劑量 (ppm)	7天 抗性蟎 (%控制)	14天 抗性蟎 (%控制)	7天 野生型蟎 (%控制)	14天 野生型蟎 (%控制)
NRRL B-50550 75 WP	100	95	95	80	90
NRRL B-50550 75 WP	20	50	50	30	30
NRRL B-50550 75 WP	4	0	0	0	0
阿維菌素	20	99	99	100	100
阿維菌素	4	99	80	100	100
阿維菌素	0.8	80	0	100	100
阿維菌素	0.16	0	0	99	100
水		0	0	0	0

實例 13 -含有提高之谷氏菌素水準的醱酵產物-使用甘胺酸

[0150] 進行醱酵以優化谷氏菌素之產製和 NRRL B-50550 之殺蟎活性。在 2 升搖瓶中，使用由 10.0 克/升澱粉、15.0 克/升葡萄糖、10.0 克/升酵母萃取物、10.0 克/升酪蛋白水解產物(或 10.0 克/升大豆蛋白腖)和 2.0 克/升碳酸鈣所組成之培養基，在 20-30℃下依實例 1 中之描述製備初級種子培養物。約 1-2 天後，當搖瓶中長出大量菌絲後，將內容物轉移到 400 升醱酵器中之新鮮培養基(與上述者相同，具 0.1%之消泡劑)中並在 20-30℃下在生長。約 20-30 小時後，當搖瓶中長出大量菌絲後，將內容物轉移到 3000 升醱酵器中，並在由 80.0 克/升(8.0%)之麥芽糊

精、30.0 克/升(3.0%)之葡萄糖、15.0 克/升(1.5%)之酵母萃取物、20.0 克/升(2.0%)之大豆酸水解產物、10.0 克/升(1.0%)之甘胺酸和 2.0 克/升(0.2%)之碳酸鈣和 2.0 毫升/升之消泡劑所組成之培養基中，在 20-30℃下生長 160-200 小時。

表 18 -產量和標準化之谷氏菌素生產力

	收獲力價(毫克/克)	收獲重量(公斤)	全部谷氏菌素(公斤)	目標體積(升)	正常化之容積式力價(克/升)
第1批3000升發酵	1.7	3397	5.78	3000	**1.9**
第2批3000升發酵	1.8	3511	6.33	3000	**2.1**

[0151] 使用第一批 3000 升發酵作爲實例，依下述計算發酵器中谷氏菌素之產量。3397 公斤×1.7 毫克/克發酵基質=5774.90 克谷氏菌素=5.78 公斤。在發酵器中之初始重量爲 3496 公斤(3256 公斤培養基+240 公斤種子)，這造成最終體積多於目標體積 3000 升。由於目標體積 3000 升爲用於計算生產培養基中的所有成分之量的基礎，該標準化之體積生產率爲：5774.9 克/3000 升=1.9 克/升。此谷氏菌素濃度類似於使用如上述之相同培養基，及最後之發酵步驟和含甘胺酸(作爲胺基酸)之培養基進行 20 升發酵時所取得之 1.8 克/升。

在本申請案之全文中，依下列實例 17 和 19 中之描使用分析型 HPLC 色層分析法檢測谷氏菌素水準。

實例 14 -含有提高之谷氏菌素水準的醱酵產物-使用麩胺酸

[0152] 進行醱酵以優化谷氏菌素之產製和 NRRL B-50550 之殺蟎活性。在 1 升搖瓶中，使用由 10.0 克/升澱粉、15.0 克/升葡萄糖、10.0 克/升酵母萃取物、10.0 克/升酪蛋白水解產物(或 10.0 克/升大豆蛋白胨)和 2.0 克/升碳酸鈣所組成之培養基，在 20-30℃下依實例 1 中之描述製備初級種子培養物。約 1-2 天後，當搖瓶中長出大量菌絲後，將內容物轉移到 1 升醱酵器中之新鮮培養基(與上述者相同，具 0.1%之消泡劑)中並在 20-30℃下在生長。約 20-30 小時後，當搖瓶中長出大量菌絲後，將內容物轉移到 20 升醱酵器中，在由 60.0 克/升(8.0%)之澱粉、30.0 克/升(3.0%)之右旋糖、15.0 克/升(1.5%)之酵母萃取物、20.0 克/升(2.0%)之大豆酸水解產物、12.0 克/升(1.0%)之 L-麩胺酸和 2.0 克/升(0.2%)之碳酸鈣，及 2.0 毫升/升之消泡劑所組成之培養基中，在 20-30℃下生長 160-200 小時。

[0153] 使用 L-麩胺酸作爲胺基酸之本醱酵中的谷氏菌素濃度爲 1.1 克/升。

實例 15-含有提高之谷氏菌素水準的醱酵產物-使用核苷酸

[0154] 不欲受限於學理，如第 6 圖之假設的合成途徑所示，本申請者假設胞嘧啶之可用性對產製谷氏菌素具關鍵性。因此，藉由在培養基中提供提高之胞嘧啶水準，所得之谷氏菌素的量也應增加。本申請者測試在添加胞嘧啶、胸腺嘧啶和/或尿嘧啶之培養基中由細黃鏈黴菌 B-

50550 產製之谷氏菌素。具體地說，將細黃鏈黴菌 B-50550 在 2 升搖瓶中，生長在由 20.0 克/升之麥芽糊精、10.0 克/升之葡萄糖、5.0 克/升之酵母萃取物、6.0 克/升大豆酸水解產物、2.0 克/升之甘胺酸、1.0 克/升之碳酸鈣和濃度各爲 0 或 0.50 克/升之胞嘧啶、尿嘧啶和/或胸腺嘧啶所組成的培養基中，在 20-30℃下生長 6 天。結果顯示於下列表 19 中。

表 19

運作輪	胞嘧啶 (克/升)	尿嘧啶 (克/升)	胸腺嘧啶 (克/升)	在第4天之谷氏菌素(克/升)	在第6天之谷氏菌素(克/升)
1	0.50	0.50	0	0.5	0.7
2	0.50	0	0.50	0.4	0.6
3	0.50	0.50	0.50	0.4	0.6
4	0	0.50	0.50	0.4	0.5
5	0.50	0	0	0.5	0.7
6	0	0.50	0	0.4	0.6
7	0	0	0.50	0.3	0.4
8	0	0	0	0.4	0.4

實例 16-谷氏菌素-過量產製突變體

[0155] 以增加谷氏菌素產製和生物活性爲目標，透過具抗生素抗性突變體篩選計劃(其中產生對個別抗生素(慶大黴素、利福平、鏈黴素、巴龍黴素或妥布黴素)具抗性之突變體集合庫)從親代菌株細黃鏈黴菌 NRRL B-50550 創建突變體。見，Okamoto-Hosoya, Y.，等人，The Journal of Antibiotics 43(12)2000 年 12 月。使用 N-

甲基-N'-硝基-N-亞硝基胍(“NTG”)令親代菌株發生突變，再選擇和篩選所產生之具抗生素抗性的突變體。用來選擇供進一步研發之過量產製谷氏菌素之菌株的突變體集合庫之創建和篩選方法詳細說明於下。

[0156] 從含有生長約 14 天或將形成孢子之 B-50550 的大豆粉麥芽糖(SFM)瓊脂盤製備細黃鏈黴菌 B-50550 之孢子懸浮液並儲存在-80℃，20%甘油中。將溶解在合適之緩衝液中的合適量之 NTG 加入孢子懸浮液中，以取得 50%滅殺(在 37℃下，0.5 毫克/毫升，pH 爲 8.5，慢慢地搖動 1 小時)。然後，將經 NTG 處理之孢子懸浮液平皿接種在輔以下列濃度之抗生素的 GYM(4 克/升之葡萄糖、4 克/升之酵母萃取物、10 克/升之麥芽萃取物及 12 克/升之瓊脂)上。見，下列表 20。

表 20

抗生素	1x	2x	5x	10x	20x
硫酸鏈黴素	10毫克/升	20毫克/升	50毫克/升	100毫克/升	200毫克/升
利福平 (Rifampicin)(新鮮)	3.5毫克/升	7毫克/升	17.5毫克/升	35毫克/升	70毫克/升
硫酸巴龍黴素 (Paromomycin SO_4)	1毫克/升	2毫克/升	5毫克/升	10毫克/升	20毫克/升
硫酸妥布黴素 (Tobramycin SO_4)	4.5毫克/升	9毫克/升	22.5毫克/升	45毫克/升	90毫克/升
硫酸慶大黴素 (Gentamycin SO_4)	5.5毫克/升	11毫克/升	27.5毫克/升	55毫克/升	110毫克/升

見 Kieser, T., et al., *Practical Streptomyces Genetics*，第 5 章 John Ines Centre Norwich Research Park，英國(2000)，第 99-107 頁。依下述分離、純化並篩選約 350 可具抗生素抗性之個別菌落。

[0157] 將從 GYM 抗生素盤移出之各分離菌落重新平皿接種在 SFM 瓊脂盤上。使用含有具抗生素抗性之細菌的瓊脂塞接種含有 2.5 毫升種子培養基之 24 孔積木。讓在這些經接種的積木中之細菌生長 3 天並使用所產生之培養基質接種含有生產培養基的 24 孔積木。讓在生產積木中之細菌在 28℃下生長七天。在種子積木中之每個孔中含有胰蛋白腺大豆基質(TSB)(每升之 DI H_2O：17 克 Bacto Tryptone(酪蛋白胰酶消化物)、3 克 Bacto Soytone(豆粕胰酶消化物)、2.5 克右旋糖、5 克氯化鈉、2.5 克磷酸氫二鉀)，而在生產積木中之每個孔中含有實例 2 之培養基 2(Proflo 20 克/升、麥芽萃取物 20 克/升、KH_2PO_4 一鹼價 6 克/升、K_2HPO_4 二鹼價 4.8 克/升)。

[0158] 依下述使用分析性 HPLC 色層分析法測試來自生產積木之每個孔之全基質的谷氏菌素產量。在生產積木之每個孔中加入 2.4 毫升水。將積木震盪混合並離心。將 0.8 毫升上清液轉移入每孔含有 4 毫升水之萃取積木中。將 3.2 毫升水加入生產積木之各孔中的細胞沉澱小丸中，再次將積木震盪混合並離心。然後，將此 3.2 毫升之洗滌水加入各萃取積木之適當的孔中。然後，使用分析性 HPLC 色層分析法分析萃取積木中之水性萃取物的谷氏菌素含量。具體而言，將樣本注入安裝 Diamond 氫化物保護柱之 Cogent Diamond 氫化物柱(100A，4 微米，150x4.6 毫米)上。以乙腈/NH_4OAC 梯度(見下文)洗提該柱 30 分鐘。流速爲 1 毫升/分鐘。在 254 nm 檢測谷氏菌素。谷氏

菌素洗提液爲單一尖峰，近似保留時間爲 19 分鐘。經由重新生長在 24 孔積木和 250 毫升培養瓶中來確認谷氏菌素水準，以確認頂尖之過量產製突變體。一旦確認後，將經確認之一些分離株再進行至少一輪以上之誘變和抗生素抗性篩選。使用在前一輪中衍生之分離株尙未對其發展出抗性之剩餘抗生素來進行接下去之各輪誘變加抗生素篩選。在單輪篩選後發現谷氏菌素之產製有小量(1.2 倍)增加，而隨後的幾輪導致從相同之原始低水準過交生產者產生的分離株所產製之谷氏菌素大爲增加。見第 3 圖。

[0159] 令所選出之具有較高之谷氏菌素產量及在 SFM 瓊脂盤上形成孢子之能力的突變體生長在 1 升之帶檔板的搖瓶中，隨後在含有培養劑 2 之 5 升 Sartorius B-plus 生物反應器和/或 20 升生物反應器中擴增規模。見第 4 圖。

[0160] 選擇在第 3 圖和第 4 圖中被定名爲第 3 輪第 4 分離株之菌株來根據實例 13 中描述的過程擴增規模。此菌株製造含有 3.8 毫克/克之谷氏菌素的醱酵基質。

實例 17- 轉換率：全基質至凍乾粉末

[0161] 表 21 顯示出依實例 13 中之描述製備的數批 B-50550 的全基質從全基質轉換成凍乾粉末的轉換率。這些計算假設全基質完全被轉換成凍乾粉末且全基質之密度爲 1 克/毫升。“平均%”爲從某一批全基質取得之凍乾粉末的平均重量百分比。

表 21

全基質之批號("WB")	平均%	每加侖之以公斤計的乾燥重量	每加侖之以磅計的乾燥重量凍乾粉末("FDP")	谷氏菌素(毫克/克)WB	谷氏菌素(毫克/克)FDP
A	5.93%	224.47422	0.49488135	1.7	28.7
B	7.08%	268.00632	0.59085328	1.5	21.2

實例 18-其他鏈黴菌株-醱酵和用於控制蟎之方法

[0162] 使用類似於實例 13 中所描述之那些條件培養數種鏈黴菌株。所有菌株具有編碼與細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之 GouA-M 或 GouB-M 蛋白質(例如 SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28 及 SEQ ID NO：30)具有至少約 90%之序列同一性的胺基酸序列之生物合成基因簇。菌株之命名和谷氏菌素濃度顯示於下列表 22 中。

表 22

菌株	谷氏菌素濃度(毫克/克)
細黃鏈黴菌株 B	0.1
紫紅鏈黴菌株 A	1.0
紫紅鏈黴菌株 B	0.3

將甘胺酸添加到醱酵培養基中，當將上述之紫紅鏈黴菌株 A 生長在該醱酵培養基中時可取得 2 倍之谷氏菌素產量，但此醱酵培養基對生長在其中之細黃鏈黴菌株 B 或紫

紅鏈黴菌株 B 之谷氏菌素產量僅有很小的影響。

[0163] 使用上述之二斑蛛蟎(TSSM)實驗室分析，採用如實例 2 中之以水和表面活性劑稀釋之全基質篩選用於紫紅鏈黴菌株 A 之生物反應器材料。紫紅鏈黴菌株 A 及細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 之結果顯示於下列表 23 中。

表 23

菌株	全基質百分比	蟎等級
紫紅鏈黴菌株 A	6.25	1.16
紫紅鏈黴菌株 A	3.125	1.32
紫紅鏈黴菌株 A	1.5625	1.49
NRRL B-50550	2.84	1.12
NRRL B-50550	1.42	1.42
NRRL B-50550	0.71	1.40
未處理之對照組		3.65

實例 19-剔除 NRRL B-50550 中之谷氏菌素基因簇以確認其功能

[0164] 進行研究以確認該推測之基因簇負責谷氏菌素的表現。從 NRRL B-50550 基因組 DNA 產生三個構造物，其含有類似於殺稻瘟菌素之胞啶嘧(cytosinine)合成酶的胺基轉移酶基因(ORF 4258)、胞嘧啶葡糖醛酸合成酶基因(ORF 4261)及脫氫酶/異丁酸羥基酯(ORF 4253)(其可能涉及製造 UDP -葡糖醛酸)加上編碼區上游之 300 個核苷酸。不希望受限於學理，本申請者假設胺基轉移酶基因

(ORF 4258)及胞嘧啶葡糖醛酸合成酶基因(ORF 4261)在谷氏菌素生物合成途徑中之相當早期是必要的。因爲 ORF 4258 和 ORF 4261 在基因組中靠近彼此，亦因爲它們位於基因簇的中間，該脫氫酶基因(ORF 4253)可能涉及製造 UDP-葡糖醛酸。本申請者假設在該途徑之早期亦應需要此酶。

[0165] 所使用之細菌菌株和載體顯示於表 24 中。用於將 DNA 片段分殖到質粒載體中之含有限制性內切酶位點的引物提供於 SEQ ID NO：44-75 中。

表 24：細菌菌株和載體

	用途
DH5α	質體擴增
ET12356/pUZ8002	共軛結合協助子菌株
鏈黴菌 AQ6121	欲剔除之宿主
PUC118	用於選殖之載體
pKC1139	用於建立基因匣之轉運載體

[0166] 爲了確認該谷氏菌素基因簇序列正確，設計 7 對用於 PCR 及序列確認之引物(SEQ ID NO：44-57)。依照 Qiagen 基因組 DNA 萃取套組議訂計劃進行 PCR 產物之 DNA 萃取。用於基因組 DNA 和不同引物對之熱循環參數爲：95℃下 15 分鐘，接著爲 35 個循環之 95℃下 1 分鐘、58℃下 1 分鐘及 72℃下 1 分鐘，然後爲 72℃下 10 分鐘，再儲存在 4℃。藉由在瓊脂糖凝膠上電泳來解析 PCR 產物(見第 9 圖)，並將 PCR 產物送去進行序列確認。PCR

產物之大小和序列結果確認該谷氏菌素基因簇序列正確，因此，設計引物以進行剔除實驗。

構建用於交換之基因匣

[0167] 爲了剔除特定基因，設計含有特定限制性內切酶位點之上游和下游引物(見 SEQ ID NO：60-75)。在基因上游方面，正向引物使用 EcoRI 位點(GAATTC)，而反向引物使用 KpnI 位點(GGTACC)。在基因下游方面，正向引物使用 XbaI 位點(TCTAGA)，而反向引物使用 HindIII 位點(AAGCTT)網站。將卡那黴素抗性基因加在中間以作爲選擇標記。將所有構建體選殖入 pUC 118 載體(第 10 圖)。經由測定上游和下游序列來確認含有卡那黴素抗性和剔除基因，上游及下游的基因匣。以 HindIII 和 EcoRI 分解基因匣，以卡那黴素作爲選擇標記，選殖入 pKC1139 轉運載體中 pKC1139：：$C_{up}KI_{down}$；pKC1139：$C_{up}KW_{down}$；pKC1139：$I_{up}KI_{down}$，pKC1139$W_{up}KW_{down}$(第 11 圖)。在限制性內切酶分析、PCR 和序列驗證後，將基因簇電穿孔入大腸桿菌 ET12567(pUZ8002)中。經由在安普黴素(apramycin)和卡那黴素之存在下選擇來選擇轉化株並藉由 PCR 確認選擇上游和下游引物。

[0168] 爲了確保基因之破壞，設計實驗以執行單次交換同源重組。從基因組 DNA 擴增約 1kb 之 HindIII/EcoRI 片段並插入 pKC1139 之 HindIII/EcoRI 位點，以產生 pKC1139：C、pKC1139：G 及 pKC1139：I。

接合作用

[0169] 用於本實驗之供體爲含有在該 pKC1139 轉運載體上之剔除盒的大腸桿菌株(ET12567/pUZ8002)。依循用於透過細菌接合轉移質粒之經過修改的實驗計劃(解釋於下文中)，該基因匣被成功地引入 NRRL B-50550 中。

[0170] 將含有質粒 pUZ8002 w/pkc1139：：$I_{up}KI_{down}$ 的大腸桿菌(菌株 ET12567)劃線接種在盧里亞(Luria)基質(LB)瓊脂盤上，並在 30℃或 37℃下培育一整夜以取得單一菌落。在至少兩根含有 10 毫升其中輔以 25 微克/毫升氯黴素 Cm、25 微克/毫升卡那黴素及 100 微克/毫升安普黴素之 LB($LB_{Cm25k-Kan25-Apr100}$)的 50 毫升試管中接種單一菌落。令菌落在 37℃，搖動培育箱中生長一整夜(20-24 小時)。將隔夜培養物在 50 毫升 LB_{Apr100} 中稀釋 100 倍，再在 37℃之搖動培育箱中生長至 OD_{600} 爲 0.4-0.6，通常需要 4-5 個小時。然後，令細胞在約 5000RCF 和 4℃下形成小丸 15-20 分鐘。將所得之上清液傾析並丟棄。將細胞小丸盡力重新懸浮並以 LB 洗滌兩次，以除去殘留的抗生素。雖然形成小丸之大腸桿菌細胞被洗滌，將足量之甘油貯存孢子準備管解凍以提供細胞予欲測試之各受體菌株/條件。由於鏈黴菌孢子很小且非常難以計數，使用視覺密度製品。此外，當洗滌細胞時，在層流罩中選擇瓊脂盤並放置乾燥。在每一次接合時，將 500 微升孢子製品與 500 微升 2xYT 基質在無菌 2.0 毫升微量離心管中混合，然後

在 50℃下進行熱休克約 20 分鐘(實驗上，熱休克時間在 10 分鐘至 1 小時之範圍內生存能力並無可檢測到之差異)。YT 基質爲較盧里亞基質更豐富之培養基(含有兩倍於 LB 之酵母萃取物且較 LB 多出 60%蛋白胨)。然後，將混合物冷卻至室溫，再將 500 微升形成小丸之大腸桿菌細胞加入每個試管中，再充分混合。將細胞在 5000RCF 和室溫下離心 5 分鐘。傾空上清液。將形成沈澱小丸之細胞重新懸浮並平皿接種在瓊脂盤上。使用 4-10 個 12 毫米之玻璃珠或 Lazy L 塗佈器將細胞塗佈開。將瓊脂盤在 30℃下培育一整夜(16-20 小時)。在 1 毫升水中製備用於每一瓊脂盤之 5 毫克的卡那黴素和 0.5 毫克之萘啶酸(來自氫氧化鈉貯存物)，然後以 Lazy L 塗佈器加至瓊脂盤上以將溶液分佈均勻，這需要反復塗佈幾分鐘並風乾。然後，將瓊脂盤進一步培育在 30℃下。培育 4-6 天後，選擇白色卡那黴素抗性之菌落以進行 PCR 確認和谷氏菌素產製分析。

PCR 確認

[0171] 將選出之用於進行 PCR 確認之卡那黴素抗性菌落培養在具有卡那黴素抗生素之胰蛋白酶大豆基質(TSB)培養基中，依照製造商之議定計劃，使用 ZYGEM 套組(來自 ZyGEM 股份有限公司(NZ))，使用 88 微升之培養、10 微升之 10x 綠緩衝劑、1 微升之 prepGEM 及 1 微升之溶菌酶來萃取 DNA，在 37℃下培育 15 分鐘，75℃下培育 15 分鐘，及 95℃下培育 5 分鐘。然後，以合適之引

物及下列循環參數來進行 PCR：95℃下 15 分鐘，再進行 35 個循環之 95℃下 1 分鐘，58℃下 1 分鐘，及 72℃下 1 分鐘，然後在 72℃下 10 分鐘，再儲存於 4℃。經由在 1% 瓊脂糖凝膠上進行電泳來解析 PCR 產物(第 12 圖)。

[0172] pKC1139：I 爲插入 pKC1139 轉運載體之 gouI 片段，其再經由單次同源交換被整合入染色體中。此方法產生側面鄰接兩個突變型等位基因之整合載體複本。PCR 結果仍顯示出 gouI 及 gouG 帶(第 12 圖)。雙重交換之 pKC1139：IKI PCR 未顯示 gouI 之 PCR 產物(第 12 圖)。雖然 pKC1139：CKW，gouG 之 PCR 產物顯示出較小之分子量帶，這可能是由於該基因的部分缺失。

谷氏菌素產製

[0173] 使用分析性 HPLC 色層分析法測量谷氏菌素產量。簡單地說，將試驗樣品(1.0 克)移入離心管中，並以 3 毫升水萃取。藉由震盪混合及超音波處理將組分混合，然後使用離心分離。將上清液傾析到乾淨之燒瓶中。額外重複此程序一次，將上清液與先前分離之上清液合併。使水性萃取液之最終體積成爲 10 毫升，並使用分析型 HPLC 色層分析法分析谷氏菌素之含量。

[0174] 將稀釋之樣本過濾並使用安裝了 Diamond 氫化物保護柱之 Cogent Diamond 氫化物柱(100A，4 微米，150x4.6 毫米)藉由 HPLC 進行分析。以乙腈/NH_4OAC 梯度洗提該柱 30 分鐘(見下文)。流速爲 1 毫升/分鐘。在 254

nm 檢測所需之代謝產物。谷氏菌素洗提液爲單一尖峰之形式，其近似保留時間爲 17-19 分鐘。野生型 NRRL B-50550 可製造 0.5 毫克/克之谷氏菌素，而若 gouI 基因被去活化，則不產製谷氏菌素(見表 25)。單次交換去活化之 gouI 及 gouG 亦顯示出未產製谷氏菌素。將整個谷氏菌素基因簇去活化亦導致不產製谷氏菌素。

表 25：谷氏菌素產製

樣本	谷氏菌素(毫克/克)
LKW2	0
FKFa	0
FKF1	0
FKF2	0
FKF7	0
Fb	0
H4	0
B-50550	0.5

[0175] 除非另有定義，本文中所有技術和科學術語具有與本發明所屬之技藝領域中之一般技術人士所通常理解者相同的含義。雖然可使用類似或等同於本文所描述者之任何方法和材料來實行或測試本發明，本文所描述者爲較佳之方法和材料。本文所列舉之所有出版物、專利及專利出版物的全部內容以引用方式併入本文以用於所有目的。

[0176] 本文所討論的出版物僅提供其在本申請案提交日之前的揭露內容。本文中之任何信息均不應被解釋爲

承認本發明無權憑藉以往的發明而早於這類出版物。

[0177] 雖然本發明已結合其特定實施例描述，須理解的是，本發明能夠進一步修改，且本申請案意在涵蓋依循，一般而言，本發明之原則的任何變化、用途或改編，且包括偏離本揭露內容，但在本發明所屬之技藝內的公知或習慣做法內者，且可能適用於前文所載之基本特徵及以下所附之申請專利範圍。

序列表

<110> Bayer CropScience LP
CAMPBELL, Brian
CURTIS, Damian
GUAN, Shaohua
GUILHABERT-GOYA, Magalie
JOO, Daniel M.
LU, Tara
MARGOLIS, Jonathan
ROYALTY, Reed N.
SALAZAR, Gerardo B.
SESIN, David
SMITH, Frisby D.
TAYLOR, Colleen
ZHU, Hong

<120> 細黃鏈黴菌株及使用彼等來控制植物疾病和害蟲之方法

<130> 250-US

<150> US 61/712,626
<151> 2012-10-11

<150> US 61/714,267
<151> 2012-10-16

<150> US 61/718,674
<151> 2012-10-25

<150> US 61/734,541
<151> 2012-12-07

<150> US 61/759,955
<151> 2013-02-01

<150> US 61/759,977
<151> 2013-02-01

<150> EP 13154355.5
<151> 2013-02-07

<150> US 61/879,601
<151> 2013-09-18

<160> 100

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 426
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(426)
<223> orf4251;甲基轉移酶結構域家族；GouA

<400> 1
gtgatcccct actccacgtt ccagttactc cggaccgtcg aggaccggga gcgagcactg 60

acggaagccg tacgcgccat gaggccaggt gccacagtcc acatcgatgt cagcagcaac 120

ttcgacctgc gggagagcag cgactggcag cgggtactgt ccgccccctg cgaagaagtg 180

agcaggcagc ccgtcgagga atgggaacga acaaggtccc acccagacca catcctcatc 240

gacaaaacct tccgaacaga cagaagcgtt ctcctccggt tcacggagca ttggacccac 300

ctgcgggcac tcgatctcga agccgctcta ctgcgtgccg ggttgattct ggaacaggtc 360

gaccacggct acggcggggg cgcatcaccc caccgccgga tctaccacgc ccgccgacct 420

ctctga 426

<210> 2
<211> 141
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(141)
<223> orf4251;甲基轉移酶結構域家族；GouA

<400> 2

Met Ile Pro Tyr Ser Thr Phe Gln Leu Leu Arg Thr Val Glu Asp Arg
1 5 10 15

Glu Arg Ala Leu Thr Glu Ala Val Arg Ala Met Arg Pro Gly Ala Thr
20 25 30

Val His Ile Asp Val Ser Ser Asn Phe Asp Leu Arg Glu Ser Ser Asp
35 40 45

Trp Gln Arg Val Leu Ser Ala Pro Cys Glu Glu Val Ser Arg Gln Pro
50 55 60

Val Glu Glu Trp Glu Arg Thr Arg Ser His Pro Asp His Ile Leu Ile
65 70 75 80

Asp Lys Thr Phe Arg Thr Asp Arg Ser Val Leu Leu Arg Phe Thr Glu
85 90 95

His Trp Thr His Leu Arg Ala Leu Asp Leu Glu Ala Ala Leu Leu Arg
100 105 110

Ala Gly Leu Ile Leu Glu Gln Val Asp His Gly Tyr Gly Gly Gly Ala
115 120 125

Ser Pro His Arg Arg Ile Tyr His Ala Arg Arg Pro Leu
130 135 140

<210> 3
<211> 462
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(462)
<223> orf4252; 主要協助轉運子;GouB

<400> 3
gtggcgggcc tggccaacgc gtgtttcgcc ctggcggcga tcggcagtgg agtgctcgtc 60

tccggaggat cgctgggcaa ctgggtgcgc agccacacac caggagtcct catcgccggt 120

ttcgctgtgc agacggtgtt cggacttacc gcgagtcaga ccgtcttagc cgttgccctc 180

tacacgctgg tcggtgtgct cagcggcggg gacaccgtgc tgcagagcga ggtgcaggat 240

cgctggcgaa gtgtcgggtc ctcccaggcg ttcgccattt tcggtgcggt gtccggacct 300

tcccaactgg tcggctcctt ggtcatcgct tttctgctcc tgcacttctc gatcaccgct 360

gtctacgtcg gaacgattgt gattctggga ttcggttcgg cgctccttct ggtcatggcg 420

agagcgaagt cgatcaatcc cgtggaagaa gtcgtcccgt aa 462

<210> 4
<211> 153
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(153)
<223> orf4252; 主要協助轉運子;GouB

<400> 4

Met Ala Gly Leu Ala Asn Ala Cys Phe Ala Leu Ala Ala Ile Gly Ser
1 5 10 15

Gly Val Leu Val Ser Gly Gly Ser Leu Gly Asn Trp Val Arg Ser His
20 25 30

Thr Pro Gly Val Leu Ile Ala Gly Phe Ala Val Gln Thr Val Phe Gly
35 40 45

Leu Thr Ala Ser Gln Thr Val Leu Ala Val Ala Leu Tyr Thr Leu Val
50 55 60

Gly Val Leu Ser Gly Gly Asp Thr Val Leu Gln Ser Glu Val Gln Asp
65 70 75 80

Arg Trp Arg Ser Val Gly Ser Ser Gln Ala Phe Ala Ile Phe Gly Ala
85 90 95

Val Ser Gly Pro Ser Gln Leu Val Gly Ser Leu Val Ile Ala Phe Leu
100 105 110

Leu Leu His Phe Ser Ile Thr Ala Val Tyr Val Gly Thr Ile Val Ile
115 120 125

Leu Gly Phe Gly Ser Ala Leu Leu Leu Val Met Ala Arg Ala Lys Ser
130 135 140

Ile Asn Pro Val Glu Glu Val Val Pro
145 150

<210> 5
<211> 516
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(516)
<223> orf4253;3-羥基異丁酸脫氫酶;GouC

<400> 5
gtgcgggacc tgcacacccg gatgcgggac acccacggac acacgctggt ggatgccgcg 60

ctcagccgcc gcggcggtgt tgtgcgcgag ggttcgctgt ccctgttcgt cggggcagga 120

gacgaggcct tcgccgtagc ccggccggtc ttcgaccgct acgccgacaa cgtcgtccac 180

gccggagacg tcggtgccgg catgacggtc aagctttgca acaactggct gctctacgcg 240

aaccggcact ccgcactcca ggccatccga acgggccgtc agctcggcgt ggatccggct 300

gtgctcacgg acgcgctcgc ctcttccacc ggatccagct gggcactgtc ccactactcc 360

gacctggacg aagccatcgt caccgggcgg ggcgcaccag cggtcatccg ggacaggaca 420

gcttcggagc ttggcatggc gaagcagatg gcggcacagg acggtgaggt gcccaccagc 480

ctccaggaga ccttcgccct tctggacgtg atgtag 516

<210> 6
<211> 171
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(171)
<223> orf4253; 3-羥基異丁酸脫氫酶;GouC

<400> 6

Met Arg Asp Leu His Thr Arg Met Arg Asp Thr His Gly His Thr Leu
1 5 10 15

Val Asp Ala Ala Leu Ser Arg Arg Gly Gly Val Val Arg Glu Gly Ser
20 25 30

Leu Ser Leu Phe Val Gly Ala Gly Asp Glu Ala Phe Ala Val Ala Arg
35 40 45

Pro Val Phe Asp Arg Tyr Ala Asp Asn Val Val His Ala Gly Asp Val
50 55 60

Gly Ala Gly Met Thr Val Lys Leu Cys Asn Asn Trp Leu Leu Tyr Ala
65 70 75 80

Asn Arg His Ser Ala Leu Gln Ala Ile Arg Thr Gly Arg Gln Leu Gly
85 90 95

Val Asp Pro Ala Val Leu Thr Asp Ala Leu Ala Ser Ser Thr Gly Ser
100 105 110

Ser Trp Ala Leu Ser His Tyr Ser Asp Leu Asp Glu Ala Ile Val Thr
115 120 125

Gly Arg Gly Ala Pro Ala Val Ile Arg Asp Arg Thr Ala Ser Glu Leu
130 135 140

Gly Met Ala Lys Gln Met Ala Ala Gln Asp Gly Glu Val Pro Thr Ser
145 150 155 160

Leu Gln Glu Thr Phe Ala Leu Leu Asp Val Met
165 170

<210> 7
<211> 357

<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(357)
<223> orf4254;假定蛋白

<400> 7
gtgacggtcc cgcaggacga acgcctgtcc gcgcaggacg ccttcggcgt ccaccgccgc 60

gagacagcgg accgcccctt cagagcggcg gaggcgcagt ccggcggctc tccgttccgc 120

cacagccgcc tcggactggc caacgacggc gcgagcgaag tcgaactcac acggatctgc 180

ggcctccaca cgcagagcgc gccccgcagc ccgcagatgg ttgcggacgg tggggctgta 240

acccccctcgg gggtcacagc cctcacgtat gtccagcatg cgggtgtgtc ggcacgccac 300

gtctccaccc acctcagcga gtgcagctac ttcgccgaaa cacggatcca tgggtaa 357

<210> 8
<211> 118
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(118)
<223> orf4254;假定蛋白

<400> 8

Met Thr Val Pro Gln Asp Glu Arg Leu Ser Ala Gln Asp Ala Phe Gly
1 5 10 15

Val His Arg Arg Glu Thr Ala Asp Arg Pro Phe Arg Ala Ala Glu Ala
20 25 30

Gln Ser Gly Gly Ser Pro Phe Arg His Ser Arg Leu Gly Leu Ala Asn
35 40 45

Asp Gly Ala Ser Glu Val Glu Leu Thr Arg Ile Cys Gly Leu His Thr
50 55 60

Gln Ser Ala Pro Arg Ser Pro Gln Met Val Ala Asp Gly Gly Ala Val
65 70 75 80

Thr Pro Ser Gly Val Thr Ala Leu Thr Tyr Val Gln His Ala Gly Val
85 90 95

Ser Ala Arg His Val Ser Thr His Leu Ser Glu Cys Ser Tyr Phe Ala
100 105 110

Glu Thr Arg Ile His Gly
115

<210> 9
<211> 141
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>

<221> misc_特性
<222> (1)..(141)
<223> orf4255;含有CoA-結合域蛋白質;GouD

<400> 9
gtgaactctt tcgattttga aggaagtgtc gttccgggca tcgaccgctt catggctggc 60

ttcggcgctc aggccgtcgg ttacgggcag ttccgctggc aacaggattg gcgggaagac 120

cctgccggga ggttcgggtg a 141

<210> 10
<211> 46
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(46)
<223> orf4255; 含有CoA-結合域蛋白質;GouD

<400> 10

Met Asn Ser Phe Asp Phe Glu Gly Ser Val Val Pro Gly Ile Asp Arg
1 5 10 15

Phe Met Ala Gly Phe Gly Ala Gln Ala Val Gly Tyr Gly Gln Phe Arg
20 25 30

Trp Gln Gln Asp Trp Arg Glu Asp Pro Ala Gly Arg Phe Gly
35 40 45

<210> 11
<211> 915
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(915)
<223> orf4256;假定蛋白;GouE

<400> 11
gtgcagcagt cgcccgcgta cgcccgtgcg gtcggcgagt cggggcggta cgtccttgtg 60

gtgatgggcc accgggggggt gttcccgctg cagctcggct cggacgtgtg cacagcgctc 120

ggcggcgacc ggccgctcct cgcggacggc accggccccc tgcccctggt tcctctggtg 180

gccgcggccg cagaggccac cgggctcccc gtctacctcc ctctggtgga cgcttcgctc 240

gccgaggcag gagttgtgga ggcgttcagc gtgtgggagc ggccacccaa ttcactgatc 300

gactggtcgc tcgacggcgc cgacctatgg gatcgcgtaa ccgagcgcgg tggttcacag 360

tggagcagga aacagcggct catcgagcgg gacggcctga ttctgtcctt cggccggtcg 420

ggcgaggcgg ccgccgagga ggtcctgcgg atcgatgacc gctcgtggaa gtctgcccac 480

aggcagaaca tgcgtgcgcg agagggccag gacaagttgt acgccgggct gatcgggtca 540

ggggtgctca cggctacgtt cctgcgggac ggcgaccgct ctgtcgcctt ccggcttgac 600

tcccgcgtca aaggccgcct gacctgcttg aagtggtcgt atgacgagtc ttaccggcga 660

tactcacccg gtgtccattt gctcacgcag gggctgcgcc aggagtggtg cgggcgcggc 720

atagaggtgg tcgatctgca cgggagtccc gactcactga aggacctgct gtgcaccgac 780

cgggtgagcc gcgtggacct ctggtacggc gacccgctgg ccggcgcgcg ccgtgcggcc 840

gagcggaccg gcttcgacag gcggatgagg gcggtccgtg acggtgggaa ggggttacgc 900

catgccttcg agtga 915

<210> 12
<211> 304
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(304)
<223> orf4256; 假定蛋白;GouE

<400> 12

Met Gln Gln Ser Pro Ala Tyr Ala Arg Ala Val Gly Glu Ser Gly Arg
1 5 10 15

Tyr Val Leu Val Val Met Gly His Arg Gly Val Phe Pro Leu Gln Leu
20 25 30

Gly Ser Asp Val Cys Thr Ala Leu Gly Gly Asp Arg Pro Leu Leu Ala
35 40 45

Asp Gly Thr Gly Pro Leu Pro Leu Val Pro Leu Val Ala Ala Ala Ala
50 55 60

Glu Ala Thr Gly Leu Pro Val Tyr Leu Pro Leu Val Asp Ala Ser Leu
65 70 75 80

Ala Glu Ala Gly Val Val Glu Ala Phe Ser Val Trp Glu Arg Pro Pro
85 90 95

Asn Ser Leu Ile Asp Trp Ser Leu Asp Gly Ala Asp Leu Trp Asp Arg
100 105 110

Val Thr Glu Arg Gly Gly Ser Gln Trp Ser Arg Lys Gln Arg Leu Ile
115 120 125

Glu Arg Asp Gly Leu Ile Leu Ser Phe Gly Arg Ser Gly Glu Ala Ala
130 135 140

Ala Glu Glu Val Leu Arg Ile Asp Asp Arg Ser Trp Lys Ser Ala His
145 150 155 160

Arg Gln Asn Met Arg Ala Arg Glu Gly Gln Asp Lys Leu Tyr Ala Gly
165 170 175

Leu Ile Gly Ser Gly Val Leu Thr Ala Thr Phe Leu Arg Asp Gly Asp
180 185 190

Arg Ser Val Ala Phe Arg Leu Asp Ser Arg Val Lys Gly Arg Leu Thr
195 200 205

Cys Leu Lys Trp Ser Tyr Asp Glu Ser Tyr Arg Arg Tyr Ser Pro Gly
210 215 220

Val His Leu Leu Thr Gln Gly Leu Arg Gln Glu Trp Cys Gly Arg Gly
225 230 235 240

Ile Glu Val Val Asp Leu His Gly Ser Pro Asp Ser Leu Lys Asp Leu
245 250 255

Leu Cys Thr Asp Arg Val Ser Arg Val Asp Leu Trp Tyr Gly Asp Pro
260 265 270

Leu Ala Gly Ala Arg Arg Ala Ala Glu Arg Thr Gly Phe Asp Arg Arg
275 280 285

Met Arg Ala Val Arg Asp Gly Gly Lys Gly Leu Arg His Ala Phe Glu
290 295 300

<210> 13
<211> 981
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(981)
<223> orf4257; DegT/DnrJ/EryCl/StrS胺基轉移酶; GouF

<400> 13
gtggaacggc ccgacagagg tgccacgggc ttcgccggtc ccgccgggta cgtcaccgtc 60

ggtgaagccg tcgcggaact gacccgtcgc atggcccagc ccgcggtcga gttcaccgcc 120

tccggtaccg ccgctctcga agcggcactg gaggtgctgg gcatcggacg gggcgatgaa 180

gtggttgtgc ctgacgtggg atgtcactcg gtggccgccg ccgtcgtgcg acggggagcg 240

atcccggtgt tcacgggagt gggggaggcc ctgacgctcg atccccgggg ggtttccctg 300

gcctgcggcc cacgcacccg cgctgtcgtt gccgtgcatc agtacggact gccctgtgat 360

gtgcccggca tcatggaggc ggtggggccg gacatcccgg tgatcgagga tgtcgcccag 420

acgtgggggt cggcggtggg cggtgccccg gcggggtcgc tcgggaccat cgccgtcatt 480

tctttcggtt cgaccaagcc ggtggcgctc ggcgcgggcg gggcgctctt cgggccggcc 540

tcactgatcg gcggagcggt ctcccgcggc gatggagcgg accggcagct gcttcgccct 600

cccagcgccg ctcggttccc cgccccctg ctcgcccatc ttcccaaagc cttggaaagg 660

gctgaccggc tgctggcctt gcgtcgggca gcggtggaaa cctttctccg tgggccgctg 720

gcccaggagt tacgtctgcc tccgacgcca cccggctcct cctccggatg gacccgcacc 780

cctctgtatc cgatcgcccc cgcgacctcg gtcacggccg aacacatgga gcggctggag 840

gcgtgtcacg gcccggttca gcgcatgcac gcgacgccgc cgtcggcgct gccgatgttc 900

cgcggaagca caacgcgtgt gacaggcggc ggccgtcggc tcaccgaacc cctactcgtg 960

aagatgggat caccacgatg a 981

<210> 14
<211> 326
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>

<221> MISC_特性
<222> (1)..(326)
<223> orf4257; DegT/DnrJ/EryC1/StrS 胺基轉移酶 ; GouF

<400> 14

Met Glu Arg Pro Asp Arg Gly Ala Thr Gly Phe Ala Gly Pro Ala Gly
1 5 10 15

Tyr Val Thr Val Gly Glu Ala Val Ala Glu Leu Thr Arg Arg Met Ala
20 25 30

Gln Pro Ala Val Glu Phe Thr Ala Ser Gly Thr Ala Ala Leu Glu Ala
35 40 45

Ala Leu Glu Val Leu Gly Ile Gly Arg Gly Asp Glu Val Val Val Pro
50 55 60

Asp Val Gly Cys His Ser Val Ala Ala Ala Val Val Arg Arg Gly Ala
65 70 75 80

Ile Pro Val Phe Thr Gly Val Gly Glu Ala Leu Thr Leu Asp Pro Arg
85 90 95

Gly Val Ser Leu Ala Cys Gly Pro Arg Thr Arg Ala Val Val Ala Val
100 105 110

His Gln Tyr Gly Leu Pro Cys Asp Val Pro Gly Ile Met Glu Ala Val
115 120 125

Gly Pro Asp Ile Pro Val Ile Glu Asp Val Ala Gln Thr Trp Gly Ser
130 135 140

Ala Val Gly Gly Ala Pro Ala Gly Ser Leu Gly Thr Ile Ala Val Ile
145 150 155 160

Ser Phe Gly Ser Thr Lys Pro Val Ala Leu Gly Ala Gly Gly Ala Leu
165 170 175

Phe Gly Pro Ala Ser Leu Ile Gly Gly Ala Val Ser Arg Gly Asp Gly
180 185 190

Ala Asp Arg Gln Leu Leu Arg Pro Pro Ser Ala Ala Arg Phe Pro Ala
195 200 205

Pro Leu Leu Ala His Leu Pro Lys Ala Leu Glu Arg Ala Asp Arg Leu
210 215 220

Leu Ala Leu Arg Arg Ala Ala Val Glu Thr Phe Leu Arg Gly Pro Leu
225 230 235 240

Ala Gln Glu Leu Arg Leu Pro Pro Thr Pro Pro Gly Ser Ser Ser Gly
245 250 255

Trp Thr Arg Thr Pro Leu Tyr Pro Ile Ala Pro Ala Thr Ser Val Thr
260 265 270

Ala Glu His Met Glu Arg Leu Glu Ala Cys His Gly Pro Val Gln Arg

275 280 285

Met His Ala Thr Pro Pro Ser Ala Leu Pro Met Phe Arg Gly Ser Thr
290 295 300

Thr Arg Val Thr Gly Gly Gly Arg Arg Leu Thr Glu Pro Leu Leu Val
305 310 315 320

Lys Met Gly Ser Pro Arg
325

<210> 15
<211> 1194
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(1194)
<223> orf4258; DegT/DnrJ/EryC1/StrS 胺基轉移酶,胞啶嘧樣合成酶; GouG

<400> 15
atgactgcaa ggaacctgac gacccgagcg ggcgtcatca accctcacca gctcttcgac 60
ctttctcagg aggacatcga ctccttcagc cacctgaaga gcgtgctcgc cgacggacag 120
ctcttccgct acgtcgagag cgaccgggaa tcggcgaaca ccttggtcga acggcacttc 180
gccgagcact tccgcaagga gagggcagtg gccgtggcca acggcaccgt aggcctgcgc 240
ctggccctgc gtgcgctggg catcggcccc ggtcaccgag tggcggtcaa tgcctacgct 300
ttcatcgcat gtgccatggc gatatcagcg accggcgccg agccggtgcc ggtcgacatg 360
ggcggatccg tcctgagcat ggacgccgac gctctggaga agggcgtggg ccacctcgat 420
gcggtcctcc tggtgcacgt ccagggccac gccgtcgcgg ccggtccgat acgtgccgtc 480
tgcgaccggc tcggcatacc gatgatcgag gacgtgtgcc aggcgctggg agctggttcg 540
tcagaggcgg gcgccggcgg cgtaggtgac gtcgctgtga cgagtttcca acaggccaag 600
cagatctcct cgggtgaagg cggactcgtc gccgggcccg aggaggtgat cgaacgggtc 660
taccgcctgt cggatctggg cgccgtgcgc caggagaacg gtctgccgga ctgggaccac 720
gaggatgccc tgatcggtga caacctgcgg atgactgagc ttcaggccgc ccttgtcatg 780
gatcaggcag tgcggctgga gaacacgctt gcccggcaac gggaccagcg gtcacggctg 840
cgggccgggc tcagtgatat ccccgttatc gagagcgaga acccggccga ggacaccgga 900
tcgcacacgc ttgtcctggc ccgggacacc acggcggcgg aggagttccg cgttgagctc 960
gcacgccgcg gggtgctggc ccgaccggtc tggaagaaga gctgggtgga atacggtttg 1020
taccgacggg agttcgcgag cggcgccccc gccggcccgt ggcccgggaa ggctgtcggc 1080
ctcgcctcgc ggattctgag tattcccact tcgaaatatg tgacggactc cgccgtcgcc 1140
caagtggccc aggccatcgc ggcgggccgc caccacctca cacaggacag gtga 1194

<210> 16
<211> 397
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(397)
<223> orf4258; DegT/DnrJ/EryC1/StrS胺基轉移酶,胞啶嘧樣合成酶; GouG

<400> 16

Met Thr Ala Arg Asn Leu Thr Thr Arg Ala Gly Val Ile Asn Pro His
1 5 10 15

Gln Leu Phe Asp Leu Ser Gln Glu Asp Ile Asp Ser Phe Ser His Leu
20 25 30

Lys Ser Val Leu Ala Asp Gly Gln Leu Phe Arg Tyr Val Glu Ser Asp
35 40 45

Arg Glu Ser Ala Asn Thr Leu Val Glu Arg His Phe Ala Glu His Phe
50 55 60

Arg Lys Glu Arg Ala Val Ala Val Ala Asn Gly Thr Val Gly Leu Arg
65 70 75 80

Leu Ala Leu Arg Ala Leu Gly Ile Gly Pro Gly His Arg Val Ala Val
85 90 95

Asn Ala Tyr Ala Phe Ile Ala Cys Ala Met Ala Ile Ser Ala Thr Gly
100 105 110

Ala Glu Pro Val Pro Val Asp Met Gly Gly Ser Val Leu Ser Met Asp
115 120 125

Ala Asp Ala Leu Glu Lys Gly Val Gly His Leu Asp Ala Val Leu Leu
130 135 140

Val His Val Gln Gly His Ala Val Ala Ala Gly Pro Ile Arg Ala Val
145 150 155 160

Cys Asp Arg Leu Gly Ile Pro Met Ile Glu Asp Val Cys Gln Ala Leu
165 170 175

Gly Ala Gly Ser Ser Glu Ala Gly Ala Gly Gly Val Gly Asp Val Ala
180 185 190

Val Thr Ser Phe Gln Gln Ala Lys Gln Ile Ser Ser Gly Glu Gly Gly
195 200 205

Leu Val Ala Gly Pro Glu Glu Val Ile Glu Arg Val Tyr Arg Leu Ser
210 215 220

Asp Leu Gly Ala Val Arg Gln Glu Asn Gly Leu Pro Asp Trp Asp His
225 230 235 240

Glu Asp Ala Leu Ile Gly Asp Asn Leu Arg Met Thr Glu Leu Gln Ala
245 250 255

Ala Leu Val Met Asp Gln Ala Val Arg Leu Glu Asn Thr Leu Ala Arg
260 265 270

Gln Arg Asp Gln Arg Ser Arg Leu Arg Ala Gly Leu Ser Asp Ile Pro
275 280 285

Val Ile Glu Ser Glu Asn Pro Ala Glu Asp Thr Gly Ser His Thr Leu
290 295 300

Val Leu Ala Arg Asp Thr Thr Ala Ala Glu Glu Phe Arg Val Glu Leu
305 310 315 320

Ala Arg Arg Gly Val Leu Ala Arg Pro Val Trp Lys Lys Ser Trp Val
325 330 335

Glu Tyr Gly Leu Tyr Arg Arg Glu Phe Ala Ser Gly Ala Pro Ala Gly
340 345 350

Pro Trp Pro Gly Lys Ala Val Gly Leu Ala Ser Arg Ile Leu Ser Ile
355 360 365

Pro Thr Ser Lys Tyr Val Thr Asp Ser Ala Val Ala Gln Val Ala Gln
370 375 380

Ala Ile Ala Ala Gly Arg His His Leu Thr Gln Asp Arg
385 390 395

<210> 17
<211> 1137
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(1137)
<223> orf4259;磷酸甘油酸變位酶；GouH

<400> 17
atgtcatcct tcgcgctcct gctccgcggc ctgccgaact ccggcaagac gaccactgcc 60

gcgctgcttc gcaacgcctt gaagccgtcc gttcggatct ccaacgactc ggtgcgctac 120

atggcacagc cccgggattt cagcgacttc actctcgtcg cctccgagct cggctgcctg 180

gatctcgcct cttcatacct ggagagcggc ttcgtacccg tgatcgacgg cgtgttcgag 240

gacatcgact tcctgtccgc gcagaagttg cgcttccaca ggaaaggtat gcggctgatc 300

gtcatcaccc tggagggaag tctttccgat ctgctcgacc gaaacgcctc ccgcgatccg 360

ctggcccgga tggaggagga ccggatgcga gagctccacg cccagttccg gccgagcgga 420

ctcgtcctgt ccctcgacgg gaaacagccc gaagaggtgg cggacgacgt attggacctc 480

ctggaattgc agcccccgta ccaggccgag gcagctgacc cgggagcggc cgacattctc 540

ttcctgcgcc acggtgctcc cgagtacccc agtgacgtct accccgatcc ctatgcgatg 600

gggctgtccg agcaaggctt tgacgaggcc cgcgtggcgc gtgccgctgt ggagcggttc 660

gcgcccgaga tcgtctacac gtccgacttc cgtcgtgcgg agcaaactgc ctcgctggtg 720

accgccacga tcgatgtcac gccccagccc gaacaccgtc tgcgggagcg agtcttccat 780

cagctcgccg gcgtagagct cgaagaggtc cgctcacagc tgggggctga ggcggatgcg 840

gtcctcgggg gcaacagcga tctgtgcgag cgtgaggagg aggaatccta cgaggctgca 900

agagcccggg tgctcgcctt tttcgatgag atggccgagc ggcacgccgg ccggcgggtc 960

ctggtcgtcg gccacggcgg acctcacgca tggctggtgg agcgggcgct tggcgccgag 1020

atgcgaggag tgcgccgcat gcgctgggac acgggtcact tctcgcggtt caaggtgacg 1080

cccaaccagg tctcactgga ctacctcaac aggtcaccgg aagacgtcac cccatga 1137

<210> 18
<211> 378
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(378)
<223> orf4259; 磷酸甘油酸變位酶; GouH

<400> 18

Met Ser Ser Phe Ala Leu Leu Leu Arg Gly Leu Pro Asn Ser Gly Lys
1 5 10 15

Thr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Arg Asn Ala Leu Lys Pro Ser Val Arg
20 25 30

Ile Ser Asn Asp Ser Val Arg Tyr Met Ala Gln Pro Arg Asp Phe Ser
35 40 45

Asp Phe Thr Leu Val Ala Ser Glu Leu Gly Cys Leu Asp Leu Ala Ser
50 55 60

Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Phe Val Pro Val Ile Asp Gly Val Phe Glu
65 70 75 80

Asp Ile Asp Phe Leu Ser Ala Gln Lys Leu Arg Phe His Arg Lys Gly
85 90 95

Met Arg Leu Ile Val Ile Thr Leu Glu Gly Ser Leu Ser Asp Leu Leu
100 105 110

Asp Arg Asn Ala Ser Arg Asp Pro Leu Ala Arg Met Glu Glu Asp Arg
115 120 125

Met Arg Glu Leu His Ala Gln Phe Arg Pro Ser Gly Leu Val Leu Ser
130 135 140

Leu Asp Gly Lys Gln Pro Glu Glu Val Ala Asp Asp Val Leu Asp Leu
145 150 155 160

Leu Glu Leu Gln Pro Pro Tyr Gln Ala Glu Ala Ala Asp Pro Gly Ala
165 170 175

Ala Asp Ile Leu Phe Leu Arg His Gly Ala Pro Glu Tyr Pro Ser Asp
180 185 190

Val Tyr Pro Asp Pro Tyr Ala Met Gly Leu Ser Glu Gln Gly Phe Asp
195 200 205

Glu Ala Arg Val Ala Arg Ala Ala Val Glu Arg Phe Ala Pro Glu Ile

210 215 220

Val Tyr Thr Ser Asp Phe Arg Arg Ala Glu Gln Thr Ala Ser Leu Val
225 230 235 240

Thr Ala Thr Ile Asp Val Thr Pro Gln Pro Glu His Arg Leu Arg Glu
245 250 255

Arg Val Phe His Gln Leu Ala Gly Val Glu Leu Glu Glu Val Arg Ser
260 265 270

Gln Leu Gly Ala Glu Ala Asp Ala Val Leu Gly Gly Asn Ser Asp Leu
275 280 285

Cys Glu Arg Glu Glu Glu Glu Ser Tyr Glu Ala Ala Arg Ala Arg Val
290 295 300

Leu Ala Phe Phe Asp Glu Met Ala Glu Arg His Ala Gly Arg Arg Val
305 310 315 320

Leu Val Val Gly His Gly Gly Pro His Ala Trp Leu Val Glu Arg Ala
325 330 335

Leu Gly Ala Glu Met Arg Gly Val Arg Arg Met Arg Trp Asp Thr Gly
340 345 350

His Phe Ser Arg Phe Lys Val Thr Pro Asn Gln Val Ser Leu Asp Tyr
355 360 365

Leu Asn Arg Ser Pro Glu Asp Val Thr Pro
370 375

<210> 19
<211> 120
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(120)
<223> orf4260;假定蛋白

<400> 19
atgctgtacg ccttcgaggc aggaccgaag ccgaaggggg tggccaccac ggcgacccgt 60

ggccgtcgtc gtggatccga agcggtcgtg gtcgcgtcct ttgcgttagt catggggtga 120

<210> 20
<211> 39
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(39)
<223> orf4260;假定蛋白

<400> 20

Met Leu Tyr Ala Phe Glu Ala Gly Pro Lys Pro Lys Gly Val Ala Thr
1 5 10 15

Thr Ala Thr Arg Gly Arg Arg Arg Gly Ser Glu Ala Val Val Val Ala
20 25 30

Ser Phe Ala Leu Val Met Gly
35

<210> 21
<211> 1116
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(1116)
<223> orf4261;胞嘧啶葡糖醛酸合成酶;GouI

<400> 21
gtggccaccc ccttcggctt cggtcctgcc tcgaaggcgt acagcatcgg cgaagtcctg 60

cacacccatt ggggtgtgga cgtccagtac tacggaacgg actccgcccg cgacttcttc 120

tccgcgcagc ccgatgtgag gcccctggcg ccggaggcag tcggtgacac cggagcgatc 180

gacgccgtac tgaacgtgct ggctccggat ctgatccgaa gttccgagga ggcagcccgg 240

acgtactacg tcgacagcct cggcttcatg tggcagccct cggacattcc ggacggcagt 300

ctgctcaaaa gggtgcaccg gtacttcgcc caggacatct ttggcagcgc tgaccatctc 360

actgcgctgg ggatcaccgg agtgaccccc gtctcgggaa tcgtcgccga aacagcgccg 420

accgacatgt caccgcggcc acgctccgtg aaacggctgc tcgtccaact cggtggtctg 480

agtaacccgg ccggccggtc gtccggagag gtttatctcg cactcgccgc gagactactc 540

acggcactgc agcaggaccc gtacgaactg agcattgcca tgaaccgcgc aggcggcacg 600

ttctccctgg gatcgctcga ccaggcccgc caattgtccg gccgcgactt ccacgttgaa 660

ctggccacct gcgccggtgt cctcagctca cccggtatga ccacgctcat tgaggtgtcg 720

cgtgccaagt gcccctatgt tccattaccg cctcagaact ggagccaggt agtcatatca 780

cgctatatgg cgcgaaattc acgcttgggg atatgggact ttctgatcgg tccgtacgcc 840

acggtggacg ctcatgtccc cgaggctcag aaggccgccc aggtgggggа gatcaaccag 900

ctgctggcaa ggaacgccgg ctacacgacg gcctatgtgg acctggcccg gacggcactg 960

gccgaagctc gagtaccgga cgtgggcgca ccgttcgacg gggcgcgcgt cgtggccgct 1020

gccattgcag acgatctcac caagggaaaa tcgcgttacg gacggggctc gcatacggat 1080

ttgaaagacc acggcacacc gactggtgaa ctctga 1116

<210> 22
<211> 371
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(371)
<223> orf4261;胞嘧啶葡糖醛酸合成酶;GouI

<400> 22

Met Ala Thr Pro Phe Gly Phe Gly Pro Ala Ser Lys Ala Tyr Ser Ile

1 5 10 15

Gly Glu Val Leu His Thr His Trp Gly Val Asp Val Gln Tyr Tyr Gly
20 25 30

Thr Asp Ser Ala Arg Asp Phe Phe Ser Ala Gln Pro Asp Val Arg Pro
35 40 45

Leu Ala Pro Glu Ala Val Gly Asp Thr Gly Ala Ile Asp Ala Val Leu
50 55 60

Asn Val Leu Ala Pro Asp Leu Ile Arg Ser Ser Glu Glu Ala Ala Arg
65 70 75 80

Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Leu Gly Phe Met Trp Gln Pro Ser Asp Ile
85 90 95

Pro Asp Gly Ser Leu Leu Lys Arg Val His Arg Tyr Phe Ala Gln Asp
100 105 110

Ile Phe Gly Ser Ala Asp His Leu Thr Ala Leu Gly Ile Thr Gly Val
115 120 125

Thr Pro Val Ser Gly Ile Val Ala Glu Thr Ala Pro Thr Asp Met Ser
130 135 140

Pro Arg Pro Arg Ser Val Lys Arg Leu Leu Val Gln Leu Gly Gly Leu
145 150 155 160

Ser Asn Pro Ala Gly Arg Ser Ser Gly Glu Val Tyr Leu Ala Leu Ala
165 170 175

Ala Arg Leu Leu Thr Ala Leu Gln Gln Asp Pro Tyr Glu Leu Ser Ile
180 185 190

Ala Met Asn Arg Ala Gly Gly Thr Phe Ser Leu Gly Ser Leu Asp Gln
195 200 205

Ala Arg Gln Leu Ser Gly Arg Asp Phe His Val Glu Leu Ala Thr Cys
210 215 220

Ala Gly Val Leu Ser Ser Pro Gly Met Thr Thr Leu Ile Glu Val Ser
225 230 235 240

Arg Ala Lys Cys Pro Tyr Val Pro Leu Pro Pro Gln Asn Trp Ser Gln
245 250 255

Val Val Ile Ser Arg Tyr Met Ala Arg Asn Ser Arg Leu Gly Ile Trp
260 265 270

Asp Phe Leu Ile Gly Pro Tyr Ala Thr Val Asp Ala His Val Pro Glu
275 280 285

Ala Gln Lys Ala Ala Gln Val Gly Glu Ile Asn Gln Leu Leu Ala Arg
290 295 300

Asn Ala Gly Tyr Thr Thr Ala Tyr Val Asp Leu Ala Arg Thr Ala Leu
305 310 315 320

Ala Glu Ala Arg Val Pro Asp Val Gly Ala Pro Phe Asp Gly Ala Arg
325 330 335

Val Val Ala Ala Ala Ile Ala Asp Asp Leu Thr Lys Gly Lys Ser Arg
340 345 350

Tyr Gly Arg Gly Ser His Thr Asp Leu Lys Asp His Gly Thr Pro Thr
355 360 365

Gly Glu Leu
370

<210> 23
<211> 714
<212> DNA
<213> 細黃鍵黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(714)
<223> orf4262;假定蛋白; GouJ

<400> 23
atgacgcagc agatcgacaa cggcctcgtg gccgtacttc agtcgctcgc gcacgaggtg 60

gaaaccgcgc gcgagtggag ccaggtatcg cggacgctgg cacaggagcg ggtggccacc 120

gtcttcggct cggcccgtac gcgccgcggt gaaccggcat acaacctggc gtatgaactc 180

gccacggcac tggccgcagg gaagtggacc acgattaccg gcggtggacc cggcatcatg 240

caggccgcgc gggacggcag tggggagggc ttgtcccgag cggtgcgggt ggagatcccc 300

ggtgaggaac ccgacaccgt gctggacccg tccaggtcca taaccgtcgc aaccttcgcg 360

ctgcgcaaat tactcctgac ccacgacatc gacgctctgt tcgtcttccc cgggggtgtc 420

ggcaccttcg acgagctgta cgaggtgctg gtccaccagg acaccaaccg acttgcctgg 480

ttcccggttg tcctgatgca gccggccggc gagagcctct ggtcggcctg gctggagttc 540

atggagaagc acttggtcag cacgggactg gccagctcct ccgtgatcaa gaggctggtt 600

gtggccgagt cggtggaaga ggccctggca gccgccgagg ggccccgcgc gacggcctac 660

ggaacgagcg gttctccgtc gcccggaaca ggtcacgggg cgaccggaaa gtga 714

<210> 24
<211> 237
<212> PRT
<213> 細黃鍵黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(237)
<223> orf4262;假定蛋白; GouJ

<400> 24

Met Thr Gln Gln Ile Asp Asn Gly Leu Val Ala Val Leu Gln Ser Leu
1 5 10 15

Ala His Glu Val Glu Thr Ala Arg Glu Trp Ser Gln Val Ser Arg Thr

20 25 30

Leu Ala Gln Glu Arg Val Ala Thr Val Phe Gly Ser Ala Arg Thr Arg
35 40 45

Arg Gly Glu Pro Ala Tyr Asn Leu Ala Tyr Glu Leu Ala Thr Ala Leu
50 55 60

Ala Ala Gly Lys Trp Thr Thr Ile Thr Gly Gly Gly Pro Gly Ile Met
65 70 75 80

Gln Ala Ala Arg Asp Gly Ser Gly Glu Gly Leu Ser Arg Ala Val Arg
85 90 95

Val Glu Ile Pro Gly Glu Glu Pro Asp Thr Val Leu Asp Pro Ser Arg
100 105 110

Ser Ile Thr Val Ala Thr Phe Ala Leu Arg Lys Leu Leu Leu Thr His
115 120 125

Asp Ile Asp Ala Leu Phe Val Phe Pro Gly Gly Val Gly Thr Phe Asp
130 135 140

Glu Leu Tyr Glu Val Leu Val His Gln Asp Thr Asn Arg Leu Ala Trp
145 150 155 160

Phe Pro Val Val Leu Met Gln Pro Ala Gly Glu Ser Leu Trp Ser Ala
165 170 175

Trp Leu Glu Phe Met Glu Lys His Leu Val Ser Thr Gly Leu Ala Ser
180 185 190

Ser Ser Val Ile Lys Arg Leu Val Val Ala Glu Ser Val Glu Glu Ala
195 200 205

Leu Ala Ala Ala Glu Gly Pro Arg Ala Thr Ala Tyr Gly Thr Ser Gly
210 215 220

Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gly His Gly Ala Thr Gly Lys
225 230 235

<210> 25
<211> 636
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(636)
<223> orf4263;糖基轉移酶; GouK

<400> 25
gtggtgacgc tcgacgccga ccaagtggtg gagccgctct tccttgccga acacgcccgg 60

ctgcacgcag gcggccccgg ccgcgtcgtt gcaggccagc gtctccaact cgccgagggg 120

ccaatgaacg aggctcgctt ggagcacggg ttcgacccgc aggccctccc accggtggtc 180

cggggcgacg agcgggagca gctgtttcgt ctcctcgaca gctccctaga ggacatggtg 240

accggctggc accacgtctg gacctgcaac gcctccttcc cccgggacag gctcgaggcg 300

gtcgggggct tcgacgagac gttcaccggc tgggggctgg aggacgcgga actcgcctat 360

cggctggttc aaggtggtgc aaccacgcac ttcgccccgt cggcggtggt ccgccacgag 420

caccgcacac cggttacagc cgacatgtac cgggagtggt gccgcaactt ggcctacttc 480

gtgcgccgac atcccgcacc agaggtacgg ctccaggaga tattcgctcc cgccatcgat 540

cccgaccggt ccgcgccggg aacgtgggac gacatcgccg ccgagttcga gcacacggct 600

cgacggctcg gcgctgaccc cggccagcat ccgtag 636

<210> 26
<211> 211
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(211)
<223> orf4263; 糖基轉移酶; GouK

<400> 26

Met Val Thr Leu Asp Ala Asp Gln Val Val Glu Pro Leu Phe Leu Ala
1 5 10 15

Glu His Ala Arg Leu His Ala Gly Gly Pro Gly Arg Val Val Ala Gly
20 25 30

Gln Arg Leu Gln Leu Ala Glu Gly Pro Met Asn Glu Ala Arg Leu Glu
35 40 45

His Gly Phe Asp Pro Gln Ala Leu Pro Pro Val Val Arg Gly Asp Glu
50 55 60

Arg Glu Gln Leu Phe Arg Leu Leu Asp Ser Ser Leu Glu Asp Met Val
65 70 75 80

Thr Gly Trp His His Val Trp Thr Cys Asn Ala Ser Phe Pro Arg Asp
85 90 95

Arg Leu Glu Ala Val Gly Gly Phe Asp Glu Thr Phe Thr Gly Trp Gly
100 105 110

Leu Glu Asp Ala Glu Leu Ala Tyr Arg Leu Val Gln Gly Gly Ala Thr
115 120 125

Thr His Phe Ala Pro Ser Ala Val Val Arg His Glu His Arg Thr Pro
130 135 140

Val Thr Ala Asp Met Tyr Arg Glu Trp Cys Arg Asn Leu Ala Tyr Phe
145 150 155 160

Val Arg Arg His Pro Ala Pro Glu Val Arg Leu Gln Glu Ile Phe Ala
165 170 175

Pro Ala Ile Asp Pro Asp Arg Ser Ala Pro Gly Thr Trp Asp Asp Ile
180 185 190

Ala Ala Glu Phe Glu His Thr Ala Arg Arg Leu Gly Ala Asp Pro Gly
195 200 205

Gln His Pro
210

<210> 27
<211> 1341
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(1341)
<223> orf4264;假定蛋白；GouL

<400> 27
atgcccaccc ctgcgggaaa cgtccccgac catctcgccc cgaccgtccg ccgggtcgtc 60

tatctgcctg tcaaccgccc cttcgagaca gcatttcact ccgtggccgc cgaagtggca 120

tcgttggaga agaaccagcg agacaacgtc accctcctcg tcgtggacga ctgtgcgcca 180

ccagtgtcac gggccaatcg ccaggtgacc gagcgggtag cccgtgaatc gggcctgcgc 240

gtacacacac tggaccaaca agactggctt cgtctggcca ccacagtgat cgcagcttcc 300

gggctgaccg gggccgaccg agccacggcg cggaccgccc tggtcaaacc caccggttcc 360

tacggggcag gtcccaacaa ggccgccctg gtcgccgcgc tggaaggtgc agtctccctg 420

catcgccggg acagcgacca ggtcacgacg gtagaccccg acaccggagc ctccccgctc 480

cgcctggaag ccgacctcct gggtcgcgcc cgcccggagg gcggcgccgc ggcctactgc 540

gcaggctcct tcctcaccgg tcgccccacg cgagaccgaa gggacctgga acgcgactcg 600

acggagtacg cggcccgtat cgacgcactg agccaactcc cctccgcccc ggcccgacgc 660

ccgcctctcc cgcctgtccg ggaacggacg gaactcctag gagggcagca cgccgagcgt 720

gacctgacag gtgtggtcga gatggggatc gcggccatgc gaagcgtgta cgagtggatc 780

ccagaaatgc ccgccgtggg catcctcggc agcgactact tccagaaggg actgctctat 840

cagctcaacc tcccggtctt ccaccacagc ctcccagccc ggcacaccta cgaatcctgg 900

cgcacggagc agtgcgacga ttcccatctg gcctggtacg tccgggcgga ggtgcgctac 960

gccgtactgc gccgccactg gaacagcttc aaccacctgc tcgtgggcca acggacgcgc 1020

gtgctgtccg atggtcactt cgactcccgg gcttacggtc agctgttcgt cgaagcgctc 1080

cacgagggca cccgggggggc ggaaagcatt cccgacgact tcgcggccgt ataccgcgac 1140

gccgcgaacg cggccacagg cgaggtccgt cgacgtcttc tggtgcggct ggccgcactg 1200

gaagaggaga ccgatgctgt caacgcatac gtggccgatg ccatccacga attcgccgcc 1260

ctctcacgtc tgtggcccgg attgatctct gccgcacaac gggtcgggag gacaaccgcg 1320

ctggagacgt ttacccactg a 1341

<210> 28
<211> 446
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>

<221> MISC_特性
<222> (1)..(446)
<223> orf4264;假定蛋白；GouL

<400> 28

Met Pro Thr Pro Ala Gly Asn Val Pro Asp His Leu Ala Pro Thr Val
1 5 10 15

Arg Arg Val Val Tyr Leu Pro Val Asn Arg Pro Phe Glu Thr Ala Phe
20 25 30

His Ser Val Ala Ala Glu Val Ala Ser Leu Glu Lys Asn Gln Arg Asp
35 40 45

Asn Val Thr Leu Leu Val Val Asp Asp Cys Ala Pro Pro Val Ser Arg
50 55 60

Ala Asn Arg Gln Val Thr Glu Arg Val Ala Arg Glu Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Val His Thr Leu Asp Gln Gln Asp Trp Leu Arg Leu Ala Thr Thr Val
85 90 95

Ile Ala Ala Ser Gly Leu Thr Gly Ala Asp Arg Ala Thr Ala Arg Thr
100 105 110

Ala Leu Val Lys Pro Thr Gly Ser Tyr Gly Ala Gly Pro Asn Lys Ala
115 120 125

Ala Leu Val Ala Ala Leu Glu Gly Ala Val Ser Leu His Arg Arg Asp
130 135 140

Ser Asp Gln Val Thr Thr Val Asp Pro Asp Thr Gly Ala Ser Pro Leu
145 150 155 160

Arg Leu Glu Ala Asp Leu Leu Gly Arg Ala Arg Pro Glu Gly Gly Ala
165 170 175

Ala Ala Tyr Cys Ala Gly Ser Phe Leu Thr Gly Arg Pro Thr Arg Asp
180 185 190

Arg Arg Asp Leu Glu Arg Asp Ser Thr Glu Tyr Ala Ala Arg Ile Asp
195 200 205

Ala Leu Ser Gln Leu Pro Ser Ala Pro Ala Arg Arg Pro Pro Leu Pro
210 215 220

Pro Val Arg Glu Arg Thr Glu Leu Leu Gly Gly Gln His Ala Glu Arg
225 230 235 240

Asp Leu Thr Gly Val Val Glu Met Gly Ile Ala Ala Met Arg Ser Val
245 250 255

Tyr Glu Trp Ile Pro Glu Met Pro Ala Val Gly Ile Leu Gly Ser Asp
260 265 270

Tyr Phe Gln Lys Gly Leu Leu Tyr Gln Leu Asn Leu Pro Val Phe His

275 280 285

His Ser Leu Pro Ala Arg His Thr Tyr Glu Ser Trp Arg Thr Glu Gln
290 295 300

Cys Asp Asp Ser His Leu Ala Trp Tyr Val Arg Ala Glu Val Arg Tyr
305 310 315 320

Ala Val Leu Arg Arg His Trp Asn Ser Phe Asn His Leu Leu Val Gly
325 330 335

Gln Arg Thr Arg Val Leu Ser Asp Gly His Phe Asp Ser Arg Ala Tyr
340 345 350

Gly Gln Leu Phe Val Glu Ala Leu His Glu Gly Thr Arg Gly Ala Glu
355 360 365

Ser Ile Pro Asp Asp Phe Ala Ala Val Tyr Arg Asp Ala Ala Asn Ala
370 375 380

Ala Thr Gly Glu Val Arg Arg Arg Leu Leu Val Arg Leu Ala Ala Leu
385 390 395 400

Glu Glu Glu Thr Asp Ala Val Asn Ala Tyr Val Ala Asp Ala Ile His
405 410 415

Glu Phe Ala Ala Leu Ser Arg Leu Trp Pro Gly Leu Ile Ser Ala Ala
420 425 430

Gln Arg Val Gly Arg Thr Thr Ala Leu Glu Thr Phe Thr His
435 440 445

<210> 29
<211> 1764
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(1764)
<223> orf4265;天門冬醯胺合成酶類似性；GouM

<400> 29
atgtgcggca tcggaggcat cgtcctgaag cagcgttccc gggtcgacag aaaccacatg 60

atggaacgcc tacgcgccgg tctcgcccac cgcgggcgaa gctcgcaggg agacttcgcc 120

gacacccgcg cagccttgca ctgcgcacgg cacgctgtca tcgccgtcga agccgcccaa 180

cagccgctac gggactcccg gaacgaactg gtgatggtcg gcaacggcga gatcctgaac 240

taccaggaac tggcacagca gcttcccgcc gcgcgaacac gccgcctgct gccaggagac 300

ctccaggtcg cgctcgaaat gtacgccgag cacgggatcg gcgccctgga gaagctgcgc 360

ggcccgttcg cggtcgcctt gtgggacagc cagtcgggcg agctgaccct cgcgcgtgac 420

cggttaggag agcgcccccc ctacttcttc gactgtcccg acttttcgc cttcgcatcg 480

gaggtacggt gcctcgccgc agctcttccg caaggcctgc tgaacctgga cgaagaagcg 540

gcggtagcct tcctggggct gggacgagtg cctacgggcc gaaccctcta ccgggagatt 600

ttcgcggtcc cggcgggctc agtgctccga atggggactc agccgttcga gccccggcac 660

atggcgtccc tggctcctgt ctcggcactg cgcagcgcgc cggccccgca ggaggagatc 720

gacgccgttc tcgcccaggc ccaacgccgg gcgctggtgg cggaccaccc cgtagctgtg 780

ggattctccg gcggcatgga ttctgcagca gtcctgtcag cggccctgga cggagcgggt 840

gccgccgcag tcatcacggt ctactccgaa ctgtcgccag tcaccgatgt gaacctccgg 900

cgcgcgcgga gtcttgcgcc ccttctgggc gtccaactga ccgaggtccc gttccgaatg 960

cccacggtcc agggcgccgt ggatattctg aactcgacac tcgacggccc agccgctgag 1020

cccctggtgc tgcacaacga cgccctgcat actgcggccc gggagcactc cgccgtcgtg 1080

gtcggagggc acggagccga tgaagtcttc ggagggtacg cccggtatcc ggcgctacga 1140

gcccaggaga ccgcgccgac gaagcactgg ctcgcgtcgt ccgcctggga gcggtggaat 1200

cgatcggccg cctggcaccg gttcgtcgag gaaaacgccg cgccgcacct ggcggatcgc 1260

gtatcggcgt cctttcccga tccgctagaa aagaccttcc cctacgcatg gtcggaatcg 1320

agcgaccccg tgctcttcgg ccaggctctc gatatgttcc ggctgatgac ctacgacaac 1380

ttccgagcta cggacgagaa cggcatggca cgacaggtgg aggtcagatc tcccttcttc 1440

gacctcgacc tgctggctgc cgtctacagt ctcccggtga ctgagcgcct cggaccaggg 1500

gcctccaagc cgctgttgcg gcgttcgttc cgaaataccc cgctggcagg agcattcacc 1560

gaaccgaagg taggcttcga cgatcatttc tcctatgccg actggatgac agagaactgg 1620

ctccagttct caaccgccat caccgacggg ccactcaaag ggacgggcat cctgcaggac 1680

ggcgccctgg acgatctgga gcatcgcgac tggcgcacac tgtggcgcct tttcagtctg 1740

tccgcctggc tgaggcgcag ttga 1764

<210> 30
<211> 587
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(587)
<223> orf4265;天門冬醯胺合成酶類似性；GouM

<400> 30

Met Cys Gly Ile Gly Gly Ile Val Leu Lys Gln Arg Ser Arg Val Asp
1 5 10 15

Arg Asn His Met Met Glu Arg Leu Arg Ala Gly Leu Ala His Arg Gly
20 25 30

Arg Ser Ser Gln Gly Asp Phe Ala Asp Thr Arg Ala Ala Leu His Cys
35 40 45

Ala Arg His Ala Val Ile Ala Val Glu Ala Ala Gln Gln Pro Leu Arg
50 55 60

Asp Ser Arg Asn Glu Leu Val Met Val Gly Asn Gly Glu Ile Leu Asn
65 70 75 80

Tyr Gln Glu Leu Ala Gln Gln Leu Pro Ala Ala Arg Thr Arg Arg Leu

85 90 95

Leu Pro Gly Asp Leu Gln Val Ala Leu Glu Met Tyr Ala Glu His Gly
100 105 110

Ile Gly Ala Leu Glu Lys Leu Arg Gly Pro Phe Ala Val Ala Leu Trp
115 120 125

Asp Ser Gln Ser Gly Glu Leu Thr Leu Ala Arg Asp Arg Leu Gly Glu
130 135 140

Arg Pro Leu Tyr Phe Phe Asp Cys Pro Asp Phe Phe Ala Phe Ala Ser
145 150 155 160

Glu Val Arg Cys Leu Ala Ala Ala Leu Pro Gln Gly Leu Leu Asn Leu
165 170 175

Asp Glu Glu Ala Ala Val Ala Phe Leu Gly Leu Gly Arg Val Pro Thr
180 185 190

Gly Arg Thr Leu Tyr Arg Glu Ile Phe Ala Val Pro Ala Gly Ser Val
195 200 205

Leu Arg Met Gly Thr Gln Pro Phe Glu Pro Arg His Met Ala Ser Leu
210 215 220

Ala Pro Val Ser Ala Leu Arg Ser Ala Pro Ala Pro Gln Glu Glu Ile
225 230 235 240

Asp Ala Val Leu Ala Gln Ala Gln Arg Arg Ala Leu Val Ala Asp His
245 250 255

Pro Val Ala Val Gly Phe Ser Gly Gly Met Asp Ser Ala Ala Val Leu
260 265 270

Ser Ala Ala Leu Asp Gly Ala Gly Ala Ala Ala Val Ile Thr Val Tyr
275 280 285

Ser Glu Leu Ser Pro Val Thr Asp Val Asn Leu Arg Arg Ala Arg Ser
290 295 300

Leu Ala Pro Leu Leu Gly Val Gln Leu Thr Glu Val Pro Phe Arg Met
305 310 315 320

Pro Thr Val Gln Gly Ala Val Asp Ile Leu Asn Ser Thr Leu Asp Gly
325 330 335

Pro Ala Ala Glu Pro Leu Val Leu His Asn Asp Ala Leu His Thr Ala
340 345 350

Ala Arg Glu His Ser Ala Val Val Val Gly Gly His Gly Ala Asp Glu
355 360 365

Val Phe Gly Gly Tyr Ala Arg Tyr Pro Ala Leu Arg Ala Gln Glu Thr
370 375 380

Ala Pro Thr Lys His Trp Leu Ala Ser Ser Ala Trp Gly Arg Trp Asn
385 390 395 400

Arg Ser Ala Ala Trp His Arg Phe Val Glu Glu Asn Ala Ala Pro His
405 410 415

Leu Ala Asp Arg Val Ser Ala Ser Phe Pro Asp Pro Leu Glu Lys Thr
420 425 430

Phe Pro Tyr Ala Trp Ser Glu Ser Ser Asp Pro Val Leu Phe Gly Gln
435 440 445

Ala Leu Asp Met Phe Arg Leu Met Thr Tyr Asp Asn Phe Arg Ala Thr
450 455 460

Asp Glu Asn Gly Met Ala Arg Gln Val Glu Val Arg Ser Pro Phe Phe
465 470 475 480

Asp Leu Asp Leu Leu Ala Ala Val Tyr Ser Leu Pro Val Thr Glu Arg
485 490 495

Leu Gly Pro Gly Ala Ser Lys Pro Leu Leu Arg Arg Ser Phe Arg Asn
500 505 510

Thr Pro Leu Ala Gly Ala Phe Thr Glu Pro Lys Val Gly Phe Asp Asp
515 520 525

His Phe Ser Tyr Ala Asp Trp Met Thr Glu Asn Trp Leu Gln Phe Ser
530 535 540

Thr Ala Ile Thr Asp Gly Pro Leu Lys Gly Thr Gly Ile Leu Gln Asp
545 550 555 560

Gly Ala Leu Asp Asp Leu Glu His Arg Asp Trp Arg Thr Leu Trp Arg
565 570 575

Leu Phe Ser Leu Ser Ala Trp Leu Arg Arg Ser
580 585

<210> 31
<211> 114
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(114)
<223> orf4266;假定蛋白

<400> 31
gtggacgagg tggaggaaga cattggcggt gatgtcgacg tcgtcggccg tgctcggccc 60

accctcgcta ccaagggctc cggcgagaac tacacggtca acgacaactc gtag 114

<210> 32
<211> 37
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(37)
<223> orf4266; 假定蛋白

<400> 32

Met Asp Glu Val Glu Glu Asp Ile Gly Gly Asp Val Asp Val Val Gly
1 5 10 15

Arg Ala Arg Pro Thr Leu Ala Thr Lys Gly Ser Gly Glu Asn Tyr Thr
20 25 30

Val Asn Asp Asn Ser
35

<210> 33
<211> 405
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(405)
<223> orf4267;假定蛋白

<400> 33
atgtacgagg gcggtctttt gcctctggga gcaaagtccg acagctgggt cagttgggaa 60

gctgactgtt ggctgagtcc tcagccgttc gacggcaccg ccctacgcaa gctcgaccgg 120

cctttcccgc ttgtagagga atggcagtgg gagtacgagt actacgacca cgccctccac 180

tcagcgccgc tgcacgagat ctaccagcac ggctccgtgc tgctgggcag tgatcaacct 240

ggcgactact ggacgttggt ggtgactggc ccgcagcgcg gcaaggtgtg gtggctcaga 300

gacggatgcg ccacacccta ttcttcgtcc ggagaacttg gagtcggctt cctggactgg 360

gtgagggact ggcacctcgg acagggctgt tggcgctccg agtag 405

<210> 34
<211> 134
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(134)
<223> orf4267;假定蛋白

<400> 34

Met Tyr Glu Gly Gly Leu Leu Pro Leu Gly Ala Lys Ser Asp Ser Trp
1 5 10 15

Val Ser Trp Glu Ala Asp Cys Trp Leu Ser Pro Gln Pro Phe Asp Gly
20 25 30

Thr Ala Leu Arg Lys Leu Asp Arg Pro Phe Pro Leu Val Glu Glu Trp
35 40 45

Gln Trp Glu Tyr Glu Tyr Tyr Asp His Ala Leu His Ser Ala Pro Leu
50 55 60

His Glu Ile Tyr Gln His Gly Ser Val Leu Leu Gly Ser Asp Gln Pro
65 70 75 80

Gly Asp Tyr Trp Thr Leu Val Val Thr Gly Pro Gln Arg Gly Lys Val
85 90 95

Trp Trp Leu Arg Asp Gly Cys Ala Thr Pro Tyr Ser Ser Ser Gly Glu
100 105 110

Leu Gly Val Gly Phe Leu Asp Trp Val Arg Asp Trp His Leu Gly Gln
115 120 125

Gly Cys Trp Arg Ser Glu
130

<210> 35
<211> 1281
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_ 特性
<222> (1)..(1281)
<223> orf4268;假定蛋白;+

<400> 35
atgtccgacc aaggaacaca caagctcagc acgaaggccg tgaggatgag tctgtcgcat 60

cacgtcgccc gggggatcc gtttgcggga ctgtcacgct tccgggatga gttctattcc 120

tgtctgacca ggcgtgcgga cgcgctgttc gaactcgcgg acgcggtgtt gtgcgcggac 180

ggtccggtcc ggtcgctggt ggaactgtcg ctggtcggtg aacaccgtcg cgggcacggc 240

gggctctacg atgccctgtc cgcaggccgg gtcgatgtcg cccgactgcg gcgggccctg 300

gccatggtgc ggctgcctcg ggcggccgac ggacggctgg tcctggccgc cgatctcacc 360

tgctggctgc gacccgacgc gcacacctca ccgcagcgga tcctgtgcca cacctacggg 420

cggggcaagg accagcacat tcccgttccc ggctggccct actcggtgat ctgcgcactt 480

gagacgggcc gtaattcctg gaccgcgccg ctggacgcac tacgtctggc gccgggcgac 540

gacgccgcca ccgtcaccgc caggcaggca cgcgagctcg tcgagcggct gatcgatgcc 600

gggcagtgga cggacggcga tcccgagatc ctgatcgtcg tggacgccgg ctacgacgtt 660

ccccgcctgg ccttcctcct gaaggatctt ccggtgcagg tgctgggccg aatgcgctcg 720

gaccgcgtcc tgcgacgcgg ggtcccaccc cgcgagcccg gtgtccgggg ccgcccacca 780

cgccacggcg gggagttcgt cttcggtgac ccggccacct ggaacactcc cgacgcacag 840

acggtgaccg cgacacgtct ctacggcacc gccgtcgcac gggcatggga ccggctccac 900

ccgagactga cccaccgctc ggcctggacc gcccagctag tgccgcatca agcaacgttt 960

gccctgtcag gccgacatac tgtgggcgtg cttgagtact tgcttgcgac cgatgacgac 1020

gatttcctcg ggccggtgcg ctcggatagg tgtccggatg tgcttcagcc aaggggctgg 1080

ggggcggtgc cagtggctgg cgatggccac tatcggatcg ctgtcgaagg catggagatt 1140

gagttcgctt gggaaatgcc cggccttcag gtcacggttc acggcatatc agacgagccc 1200

agggttgagg agctggtggc tacgatcgcg cgtcaggtcg gaaccgagct cgcggtgcga 1260

gtccgggtaa tcccgctcta g 1281

<210> 36
<211> 426
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(426)
<223> orf4268; 假定蛋白

<400> 36

Met Ser Asp Gln Gly Thr His Lys Leu Ser Thr Lys Ala Val Arg Met
1 5 10 15

Ser Leu Ser His His Val Ala Arg Gly Asp Pro Phe Ala Gly Leu Ser
20 25 30

Arg Phe Arg Asp Glu Phe Tyr Ser Cys Leu Thr Arg Arg Ala Asp Ala
35 40 45

Leu Phe Glu Leu Ala Asp Ala Val Leu Cys Ala Asp Gly Pro Val Arg
50 55 60

Ser Leu Val Glu Leu Ser Leu Val Gly Glu His Arg Arg Gly His Gly
65 70 75 80

Gly Leu Tyr Asp Ala Leu Ser Ala Gly Arg Val Asp Val Ala Arg Leu
85 90 95

Arg Arg Ala Leu Ala Met Val Arg Leu Pro Arg Ala Ala Asp Gly Arg
100 105 110

Leu Val Leu Ala Ala Asp Leu Thr Cys Trp Leu Arg Pro Asp Ala His
115 120 125

Thr Ser Pro Gln Arg Ile Leu Cys His Thr Tyr Gly Arg Gly Lys Asp
130 135 140

Gln His Ile Pro Val Pro Gly Trp Pro Tyr Ser Val Ile Cys Ala Leu
145 150 155 160

Glu Thr Gly Arg Asn Ser Trp Thr Ala Pro Leu Asp Ala Leu Arg Leu
165 170 175

Ala Pro Gly Asp Asp Ala Ala Thr Val Thr Ala Arg Gln Ala Arg Glu
180 185 190

Leu Val Glu Arg Leu Ile Asp Ala Gly Gln Trp Thr Asp Gly Asp Pro
195 200 205

Glu Ile Leu Ile Val Val Asp Ala Gly Tyr Asp Val Pro Arg Leu Ala
210 215 220

Phe Leu Leu Lys Asp Leu Pro Val Gln Val Leu Gly Arg Met Arg Ser
225 230 235 240

Asp Arg Val Leu Arg Arg Gly Val Pro Pro Arg Glu Pro Gly Val Arg
245 250 255

Gly Arg Pro Pro Arg His Gly Gly Glu Phe Val Phe Gly Asp Pro Ala
260 265 270

Thr Trp Asn Thr Pro Asp Ala Gln Thr Val Thr Ala Thr Arg Leu Tyr
275 280 285

Gly Thr Ala Val Ala Arg Ala Trp Asp Arg Leu His Pro Arg Leu Thr
290 295 300

His Arg Ser Ala Trp Thr Ala Gln Leu Val Pro His Gln Ala Thr Phe
305 310 315 320

Ala Leu Ser Gly Arg His Thr Val Gly Val Leu Glu Tyr Leu Leu Ala
325 330 335

Thr Asp Asp Asp Asp Phe Leu Gly Pro Val Arg Ser Asp Arg Cys Pro
340 345 350

Asp Val Leu Gln Pro Arg Gly Trp Gly Ala Val Pro Val Ala Gly Asp
355 360 365

Gly His Tyr Arg Ile Ala Val Glu Gly Met Glu Ile Glu Phe Ala Trp
370 375 380

Glu Met Pro Gly Leu Gln Val Thr Val His Gly Ile Ser Asp Glu Pro
385 390 395 400

Arg Val Glu Glu Leu Val Ala Thr Ile Ala Arg Gln Val Gly Thr Glu
405 410 415

Leu Ala Val Arg Val Arg Val Ile Pro Leu
420 425

<210> 37
<211> 1137
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(1137)
<223> ORF4269;可動元件;-

<400> 37
gtggctgaac gagtacgcgt ccgtgagatc gatgacgatg aaggccggcg gttgttgcgg 60

atcgtccgcc gcggcacagg gtcagtggtg acctggcgcc gggcccagat ggtgctgctg 120

tccgcgcaga gcatgcccgt ggtgaagatc gccgaggtcg cgttcaccag tgcggaccgg 180

gtccgggacg tgatccacaa tttcaaatcc gacgggttcg catcgctcta cccgaagtac 240

agaggcggcc ggccggagac gttcaccctg cccgagcgcc gggagatcaa gaagatcgcc 300

aagtccaagc cagtcgagca caatctgccc ttctcgacct ggagtctggt caagctggcc 360

gacttcctag ttgccgaggg ggtggtcgac gacatcagcc acgagggcct gcgcatcctg 420

ctccgcgagg aaggcgtctc ctttcaacgc gtgaaaacct ggaagacctc gaaagacccg 480

gactacgcgc agaagaaggc ccgtgtcgag catctctacg ccatcgccga cggcgaggtc 540

atacccgagg acggcgagcc cgagatcatc ttctgcatgg acgaattcgg cccgctcaac 600

ctccagcccc accccggacg ccagtgggcc gaacgcagtg gccggcacaa gaaccccgac 660

cgagcccccc ggccacggcg gcgggcgacc tacacccgcc cgcatggggt ccggcacctg 720

ttcgccgcct acgacctggg caaagaccag ctctatggtc acatcaagaa gaccaagaac 780

cgctccaagt acctggagtt ctgccgctac ctgcgctcct tgcacccagc gaaggtgcgg 840

atcgccatca tctgcgacaa ctactccccg cacctgacga cgaagcggtg ccaacgggtc 900

gcgacgtggg cggacgcgaa caacgtcgag atcgcctaca ccccaaccaa cagctcctgg 960

ctcaaccgga tcgaggccca gttcaccgcc gccctgcgct acttcaccct cgacggcacc 1020

gaccacgcca gtcacaagga gcagggcagc atgatccgcc gttacatcat ctggagaaac 1080

caccacactc atgaccagca actacgaacc gtagtcaacc aagcccacgt tgcctga 1137

<210> 38
<211> 378
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(378)
<223> orf4269;可動元件蛋白質

<400> 38

Met Ala Glu Arg Val Arg Val Arg Glu Ile Asp Asp Asp Glu Gly Arg
1 5 10 15

Arg Leu Leu Arg Ile Val Arg Arg Gly Thr Gly Ser Val Val Thr Trp
20 25 30

Arg Arg Ala Gln Met Val Leu Leu Ser Ala Gln Ser Met Pro Val Val
35 40 45

Lys Ile Ala Glu Val Ala Phe Thr Ser Ala Asp Arg Val Arg Asp Val
50 55 60

Ile His Asn Phe Lys Ser Asp Gly Phe Ala Ser Leu Tyr Pro Lys Tyr
65 70 75 80

Arg Gly Gly Arg Pro Glu Thr Phe Thr Leu Pro Glu Arg Arg Glu Ile
85 90 95

Lys Lys Ile Ala Lys Ser Lys Pro Val Glu His Asn Leu Pro Phe Ser
100 105 110

Thr Trp Ser Leu Val Lys Leu Ala Asp Phe Leu Val Ala Glu Gly Val
115 120 125

Val Asp Asp Ile Ser His Glu Gly Leu Arg Ile Leu Leu Arg Glu Glu
130 135 140

Gly Val Ser Phe Gln Arg Val Lys Thr Trp Lys Thr Ser Lys Asp Pro
145 150 155 160

Asp Tyr Ala Gln Lys Lys Ala Arg Val Glu His Leu Tyr Ala Ile Ala
165 170 175

Asp Gly Glu Val Ile Pro Glu Asp Gly Glu Pro Glu Ile Ile Phe Cys
180 185 190

Met Asp Glu Phe Gly Pro Leu Asn Leu Gln Pro His Pro Gly Arg Gln
195 200 205

Trp Ala Glu Arg Ser Gly Arg His Lys Asn Pro Asp Arg Ala Pro Arg
210 215 220

Pro Arg Arg Arg Ala Thr Tyr Thr Arg Pro His Gly Val Arg His Leu
225 230 235 240

Phe Ala Ala Tyr Asp Leu Gly Lys Asp Gln Leu Tyr Gly His Ile Lys
245 250 255

Lys Thr Lys Asn Arg Ser Lys Tyr Leu Glu Phe Cys Arg Tyr Leu Arg
260 265 270

Ser Leu His Pro Ala Lys Val Arg Ile Ala Ile Ile Cys Asp Asn Tyr
275 280 285

Ser Pro His Leu Thr Thr Lys Arg Cys Gln Arg Val Ala Thr Trp Ala
290 295 300

Asp Ala Asn Asn Val Glu Ile Ala Tyr Thr Pro Thr Asn Ser Ser Trp
305 310 315 320

Leu Asn Arg Ile Glu Ala Gln Phe Thr Ala Ala Leu Arg Tyr Phe Thr
325 330 335

Leu Asp Gly Thr Asp His Ala Ser His Lys Glu Gln Gly Ser Met Ile
340 345 350

Arg Arg Tyr Ile Ile Trp Arg Asn His His Thr His Asp Gln Gln Leu
355 360 365

Arg Thr Val Val Asn Gln Ala His Val Ala
370 375

<210> 39
<211> 564
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(564)
<223> orf4270;轉錄調控子, MarR族; -

<400> 39
atggggaatc cggcacagga gccgtgggag acgtcgcagg tcaagatgat ggaagcactg 60

cgggagtggg cgaccggctt cgccgagatc aacctgtaca tgtcgcagtg gatgcgactg 120

ccaggctcgg acgccaacgc cgtcggacag atcgtctggg cggcacagag cggcaccccc 180

ctctccccctg ccgcactctc ccggcgtatc ggaatgtcca caggatcaac agccgttctc 240

ctgaaccgcc tcgaacgggc agggctggtg gtccgcagcc gcgagcacca ggaccgccgc 300

cgcgtcaccc tgcggcccac acccgccgcc tccgaacagg cacacgcatt catggccatc 360

gccggaaccg agatcgcagc gaccctgcgc caggccaccg aggccgagct cagcaccgcg 420

acctcagttc tagatcggat gaacgatgcc gcgaagcagg ccatccagcg cctgcacacc 480

gtcggcaccc gcactccgcc cgagaagcga agctccatcc ctcagccgct aatgccgcat 540

cagacaacgt ttgccctgtt gtga 564

<210> 40
<211> 188
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(188)
<223> orf4270;轉錄調控子，MarR族

<400> 40

Met Gly Asn Pro Ala Gln Glu Pro Trp Glu Thr Ser Gln Val Lys Met
1 5 10 15

Met Glu Ala Leu Arg Glu Trp Ala Thr Gly Phe Ala Glu Ile Asn Leu
20 25 30

Tyr Met Ser Gln Trp Met Arg Leu Pro Gly Ser Asp Ala Asn Ala Val
35 40 45

Gly Gln Ile Val Trp Ala Ala Gln Ser Gly Thr Pro Leu Ser Pro Ala
50 55 60

Ala Leu Ser Arg Arg Ile Gly Met Ser Thr Gly Ser Thr Ala Val Leu
65 70 75 80

Leu Asn Arg Leu Glu Arg Ala Gly Leu Val Val Arg Ser Arg Glu His
85 90 95

Gln Asp Arg Arg Arg Val Thr Leu Arg Pro Thr Pro Ala Ala Ser Glu
100 105 110

Gln Ala His Ala Phe Met Ala Ile Ala Gly Thr Glu Ile Ala Ala Thr
115 120 125

Leu Arg Gln Ala Thr Glu Ala Glu Leu Ser Thr Ala Thr Ser Val Leu
130 135 140

Asp Arg Met Asn Asp Ala Ala Lys Gln Ala Ile Gln Arg Leu His Thr
145 150 155 160

Val Gly Thr Arg Thr Pro Xaa Pro Glu Lys Arg Ser Ser Ile Pro Gln
165 170 175

Pro Leu Met Pro His Gln Thr Thr Phe Ala Leu Leu
180 185

<210> 41
<211> 1107
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(1107)
<223> orf4271;單加氧酶; +; GouN

<400> 41
gtgatcgagc gcgcaccgga gttccgcgat ggcgggcaga acatcgacgt gcgcggcgtc 60

gcgcgggagg ttcttgtccg tatgggtctg ttcgatgcgg tcaaggcgcg caacacgacc 120

gagacgggcg ccgtcatcgt ggacgggaat ggccaggcga ttgcgaccct gccagacggc 180

ggaggcaccg gggcgacggc ggagctggag attctgcggg gcgatctcgc cggtgttctg 240

cgcgatcacc tccccgaggg ggtggagttc gtctacggcg acaccatcga ggacgtgagc 300

gagcatgccg ggcatgcccg cctgacgacg gcgggcggcc gggagctgcg gtgcgatctg 360

ctggtgatcg ccgaaggggt ccgctccacg accaggggcc gcgtcttcgc ccaagacacc 420

gtcgaggagc gcgagctggg ggtgacgatg gtgttcggca cgatcccccg cgtgccgggt 480

gacgacgacc gatggcgctg gtacaacgcg cctggcgggc ggcaggccca tctgcgcccg 540

gacccctacg gcacgacgcg gaccatcctg tcctacagcc ccggcgacga cctgctgtcc 600

atgagccgca atgaggcctt ggcccaggtc cggtcgcggt accgcggcgc gggatgggag 660

acatcacgca tccttgacgc gctggagacc tcgcaggacg tctacatcga ccagctcgcg 720

cagatccgga tgaaaacttg gcaccaagga cacgtcgtga tgctgggaga cgccgcatgg 780

tgcgtgaccc ccatgggtgg cggaggcgct tccctggcgc tgaccagcgc gtacgttctg 840

gcggcacagc tctccgcaca ttccggcgat ctcgctgccg cgctggcggc atacgagcgg 900

tggatgcgcc cgctcgtgcg ggacgcgcag aacatgccgg gctggctgac gcgtttcgcc 960

taccccaga gccgggcggg actggcgctg cgccacgtcg ccgaccgcgt gttcacctcc 1020

gcccccttcc ggcccctagc tgcaaagctc acccaggtcg ccgagactga acggacgctt 1080

cccacgctcc gcccgaccac cggataa 1107

<210> 42
<211> 368
<212> PRT
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> MISC_特性
<222> (1)..(368)
<223> orf4271;單加氧酶; GouN

<400> 42

Met Ile Glu Arg Ala Pro Glu Phe Arg Asp Gly Gly Gln Asn Ile Asp
1 5 10 15

Val Arg Gly Val Ala Arg Glu Val Leu Val Arg Met Gly Leu Phe Asp
20 25 30

Ala Val Lys Ala Arg Asn Thr Thr Glu Thr Gly Ala Val Ile Val Asp

35 40 45

Gly Asn Gly Gln Ala Ile Ala Thr Leu Pro Asp Gly Gly Gly Thr Gly
50 55 60

Ala Thr Ala Glu Leu Glu Ile Leu Arg Gly Asp Leu Ala Gly Val Leu
65 70 75 80

Arg Asp His Leu Pro Glu Gly Val Glu Phe Val Tyr Gly Asp Thr Ile
85 90 95

Glu Asp Val Ser Glu His Ala Gly His Ala Arg Leu Thr Thr Ala Gly
100 105 110

Gly Arg Glu Leu Arg Cys Asp Leu Leu Val Ile Ala Glu Gly Val Arg
115 120 125

Ser Thr Thr Arg Gly Arg Val Phe Ala Gln Asp Thr Val Glu Glu Arg
130 135 140

Glu Leu Gly Val Thr Met Val Phe Gly Thr Ile Pro Arg Val Pro Gly
145 150 155 160

Asp Asp Asp Arg Trp Arg Trp Tyr Asn Ala Pro Gly Gly Arg Gln Ala
165 170 175

His Leu Arg Pro Asp Pro Tyr Gly Thr Thr Arg Thr Ile Leu Ser Tyr
180 185 190

Ser Pro Gly Asp Asp Leu Leu Ser Met Ser Arg Asn Glu Ala Leu Ala
195 200 205

Gln Val Arg Ser Arg Tyr Arg Gly Ala Gly Trp Glu Thr Ser Arg Ile
210 215 220

Leu Asp Ala Leu Glu Thr Ser Gln Asp Val Tyr Ile Asp Gln Leu Ala
225 230 235 240

Gln Ile Arg Met Lys Thr Trp His Gln Gly His Val Val Met Leu Gly
245 250 255

Asp Ala Ala Trp Cys Val Thr Pro Met Gly Gly Gly Gly Ala Ser Leu
260 265 270

Ala Leu Thr Ser Ala Tyr Val Leu Ala Ala Gln Leu Ser Ala His Ser
275 280 285

Gly Asp Leu Ala Ala Ala Leu Ala Ala Tyr Glu Arg Trp Met Arg Pro
290 295 300

Leu Val Arg Asp Ala Gln Asn Met Pro Gly Trp Leu Thr Arg Phe Ala
305 310 315 320

Tyr Pro Gln Ser Arg Ala Gly Leu Ala Leu Arg His Val Ala Asp Arg
325 330 335

Val Phe Thr Ser Ala Pro Phe Arg Pro Leu Ala Ala Lys Leu Thr Gln
340 345 350

Val Ala Glu Thr Glu Arg Thr Leu Pro Thr Leu Arg Pro Thr Thr Gly
355 360 365

<210> 43
<211> 24959
<212> DNA
<213> 細黃鏈黴菌

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(21933)
<223> 谷氏菌素基因簇加一些側翼序列之基因組DNA序列

<220>
<221> misc_特性
<222> (1)..(177)
<223> orf4248;假定蛋白;+

<220>
<221> misc_特性
<222> (605)..(2311)
<223> orf4249;內-1,4-β-木聚糖酶A先質 (EC 3.2.1.8);-

<220>
<221> misc_特性
<222> (2492)..(2787)
<223> orf4250;可動元件蛋白質;-

<220>
<221> misc_特性
<222> (4455)..(4880)
<223> orf4251;甲基轉移酶結構域家族 ; -; gouA

<220>
<221> misc_ 特性
<222> (6340)..(6801)
<223> orf4252;主要協助轉運子;+; gouB

<220>
<221> misc_特性
<222> (7197)..(7712)
<223> orf4253;羥基異丁酸脫氫酶 (EC 1.1.1.31);+; gouC

<220>
<221> misc_特性
<222> (8130)..(8486)
<223> orf4254;假定蛋白;-

<220>
<221> misc_特性
<222> (8589)..(8729)
<223> orf4255;含有CoA結合域蛋白質;+;部分結合gouD

<220>
<221> misc_特性
<222> (8912)..(9826)
<223> orf4256;假定蛋白;+;gouE

<220>
<221> misc_特性
<222> (9827)..(10823)
<223> orf4257; DegT/DnrJ/EryC1/StrS胺基轉移酶;+;gouF

<220>
<221> misc_特性
<222> (10820)..(12013)
<223> orf4258; DegT/DnrJ/EryC1/StrS
synthase;+; gouG 胺基轉移酶,胞啶嘧樣合成酶;+;gouG

<220>
<221> misc_特性
<222> (12020)..(13145)
<223> orf4259; 磷酸甘油酸變位酶;+;gouH

<220>
<221> misc_特性
<222> (13146)..(13265)
<223> orf4260;;-

<220>
<221> misc_特性
<222> (13219)..(14334)
<223> orf4261; 胞嘧啶葡糖醛酸(CGA)合成酶;+;gouI

<220>
<221> misc_特性
<222> (14350)..(15063)
<223> orf4262; 核苷酸結合蛋白質;+;gouJ

<220>
<221> misc_特性
<222> (15411)..(16046)
<223> orf4263; 糖基轉移酶;+;gouK

<220>
<221> misc_特性
<222> (16142)..(17482)
<223> orf4264; 假定蛋白;+;gouL

<220>
<221> misc_特性
<222> (17549)..(19312)
<223> orf4265; 天門冬醯胺合成酶類似性;+;gouM

<220>
<221> misc_特性
<222> (19461)..(19574)
<223> orf4266; 假定蛋白;+

<220>
<221> misc_特性
<222> (20147)..(20551)
<223> orf4267; 假定蛋白;+

<220>
<221> misc_特性
<222> (20650)..(21933)
<223> orf4268; 轉位酶;+

<400> 43
atggtccccg cggaccggga cacgctggtc cgccgctggt acgtgcgcca gatccgtctg 60

gacagcgagg gcacggtccg cccggaacgg atcgagaccg aggccttcgc acggcccacc 120

gacacctacg ctcgcgtgga gagcagtcgg agaccggcat cgtcgcggcc ggcgtgatcg 180

gcttacctcc gcgagcactt cccgcgatct tgatggatct cggcgttccg gtcgacctcc 240

gcttacgcgg agagcacacg atgaccatct tcggcctgct cgtgcgcttc ggctcacctc 300

cgctcgcgcg gagagcacga tccctgggtg gtctccacca gcccctcggt cggctcacct 360

ccgctgacgc ggaggtgtac cggacgcggg tgttctggag aaagacgctc aggtgtggtc 420

cttgccgagg cggggatggc cccgcctgag atcacacctg agggctgtcc cgtagtcctg 480

gtggatcagc gcgcggcgtc agatgcgggg catcgtaagg cgtaggggcg ttcgcgtact 540

ggatgatttc gtgcgcggag aatgcggtga ggtgccgtag ctgtcgtggt gcgcccgcca 600

ggggttacgg ggcagcccga agggcttcga gcaggtgttc gtacgcccgc ttcggccgca 660

ggtccgtgtc ccatggcagg gaatcggccg tgcgcggggg atagatcttg gtgtcgctgg 720

tggagccgta ccggtcggtg aatccccagg tggagaatga tgtgcagttc ggctcctcca 780
ggcagactcg cagcttgcct gccatctcga cagcctgggt ctctcgcccg tcctcctcgt 840
cctcacctat ggggacgtcc atctccgaca cccgcgcctg aaccccgagt tccgccagat 900
cctgcacatg gctgcggaag gtctccgggg cggtgcggtc gccgggtgtg tactcatggt 960
tctggaaacc gacgccgtcg atcggtacgc cgcgttcttt gagtcgtttg atcagatcgt 1020
agagggcgtc ccatcgctcg ccttcctcct cgaccccgta ttcgttgagg aacagctctg 1080
ccttcggatc ggcccggtgg gcggccctga aggcctcgtc gatgtactcc tcgcccatgg 1140
cctcgtacca cgggctctgc tcggatcgca gaccgaggtt cccattggtg tagctcttct 1200
cgtcgtcgga catgggctcg ttgaccacat cccattctgc gacttttccc ttgaagtgcc 1260
ctgcgacggt ggcgatgtgc cggagcatgg tccggcgtac ctcctcgggg tcgtcgtcct 1320
cccgcatcca gttgggcaga gcctcgtgcc agacgagggt gtgcgcgtga accttcatgt 1380
cgtttgcgcg ggcgaaacgt acgagtaggt ccgcgtcgcg gaagtcgtag acgccgcggc 1440
gtgggtggag aaactgtggc ttgaacgcgt tctccggagt gagcatggag aactggctcc 1500
ccgcgagcgc ccggtaacgt gagtcggtga gcagcgggtt ctcagccagg gcggttccga 1560
cgtcgaaggg tcgttccaca tctgcggccc gcgcacgcag cgtgtcgtcg gactgcgcct 1620
ggcgtagctg gggggccttg atcacgcgga gcgagtcacc gctctctggc cgcgcgatca 1680
gttgggtcag acgccatccc tcgcggcgct cgttttcgcc cgcgtccgcc tccagaccga 1740
accagacagc gccctcggcg aacaccccag ggtcctgcac ggttcctagc tgccgcccgt 1800
cggcttttac gcggaatgtg tctccgatgc tcgacacagc gagcgtcacc gtcccggagc 1860
agccgcagtc gaagtccttg gaggtggccg gctcatcgcc ctcgccgtcc catatctgca 1920
cccttactcg tccgtcggcg gtcacgccga cgcggagtga gggccgctcc tgcctccact 1980
cgtcgtagat gaccggtacg cgtccgtaca gccgcagcca tgagtcgccg tcatcgtcac 2040
caacaccgga catgcgcgcg gtgacggtga agtcgccatc ggatctgaga tgcgggccgg 2100
ccagattcag cgggggttg ggctggccgc cggaggagtc ctgctccacg atgtgccgat 2160
ccgatgcgct gacccgcagg atgccgttct gtgcggtggt gcccggcatc tgcgtccagt 2220
tgtggttccg cagcaggtct tcgtcgcttc tgccgccgat gctttcgccc tgccccgtac 2280
aaccggccgc caccgccatg acgagcagca tggcgcccag tcggcgccac gtctccccac 2340
taagatccac ggttccccac tctcttgttc gagacgaggt caacgtctcg aagctgggca 2400
gtagttcatc acggatgagg tatggctgcc ttgtggggca cgtcccagcc agggactgtc 2460
aaatgagcgg tgtaactcgg gttgttgagg gttactggcg tgctgcggag agtcggccgt 2520
cgaaggtgat atcgaaggcg ttcagaacgg ttttccagcg catggtccag cgggcttggc 2580
ccttgccggt cgggtcgagc gacatgatcg ccatgtagac gcacttcagg gcagcctgtt 2640
cgttcgggaa gtgcccccgg gctttcaccg cccggcggat cctggcgtag acggactcga 2700
tcgcgttggt ggtgcagacg atgcggcgga tctcggtgtc gaagcgcagg aacggggtga 2760
actcctccca cgcgttctcc cagagcctga cgatcgccgg atacttcttg ccccatgcgt 2820
cggcgaactc cgcgaaccga tcgagggccg cgtcctcggt cgccgcggtg tagacgggct 2880
tgaggacctt ggcgatcttg tcccagtcct ggcgggcggc atagcggaag gagttccnnn 2940

nnnnnnnatg gaccacgcat gtctgcacga cggtgcgggg ccagacggtc tcgaccgcgt 3000
caggaagccc cttcagcccg tcgcagacga gcatgaggac gtcgctcacg ccgcggttct 3060
tgatctcggt gaggatgtgc atccagtgct tggcgccctc gccgccgtcg ccgacccaca 3120
gcccgagaat gtcccgccgg ccctcgacgg tgaccgccag ggcgacgtag atgggccggt 3180
tggcgaccgc gccgtcgcgg atctttacgt ggatggcgtc gatgaacacc accggataga 3240
cggcgtccag gggccggttc tgccattcgg ccatgccttc gaagaccttg tcggtgatcg 3300
tggagatcgt ctggcgcgac acgtcggcgc tatagacctc ggccaggtgg gcctggacct 3360
cgccggtgtt caggcccttg gccgcgagtg agatgaccat ctcgtcgacg ccggacaaac 3420
gcttctggcg cttcttgacg atcttcggtt cgaaggagcc ctcgcggtcg cggggcacgg 3480
ttatctccac agggcccacg tcggtcagta cggtcttggc gcgggtgccg ttgcgggagt 3540
tgccgccgtt cttccccgcc ggatcgtgcg tgtcatagcc gaggtggtcg gtgctctcgc 3600
cctcgagggc cgactccagg agtcgtttgg tcagctgctg gagcagcccg ccctcgccgg 3660
tcagctgcag gccctccgcc tgagcctggc ccaccaactc gtcgatcagc cggtcgtcaa 3720
cagacttcga cggcaccgtc tcagacggct cgacgggctc ggccttggtc acgttgtttt 3780
tggtcatcga tgcatcttcc atgatcggga gttacaccga acgttttaca gtcccgcctc 3840
tggcgctccc gcgacatcgc ctcccgcttc ggcgacatca ccgtggagac catgtacaga 3900
catccctcca gatgggccga gaccggcctc atccacaaac ttggccccgg cctctacgcc 3960
gccacagcat ggacccaaac acccccttgcg tgacctgcga aaacgtcaac tgaccggcct 4020
tgggtcaagg cccgaaggct gctccggcgg gtctggggac caccaggagt tcaccgcccg 4080
gcagcctcgt cctggaggcg gccgggattg aggacccgcg tccttccagc cgtctccacc 4140
cgctccagcg gccgaagcgc ggcgggctgc tgacgtacgc gcgaccgggc gaaagcggtc 4200
acatctccga gatgaccggc ccgggggtcgg ctcccgcatc gatcttgcga agtgtcttgt 4260
aggtgaggcg caggtcagcc gggcttgcca ggtaaacggt ccggtgcgcg atgcggccga 4320
tctgcggccc cggctcccga gctgggcccg caagtacttc cagggaagcc cggctcgctc 4380
gtacccgaga atgcctttgg ccggagtcgc cttgtcgggt cggggagcga gggtctgggt 4440
gtctcggcag ttggtcagag aggtcggcgg gcgtggtaga tccggcggtg gggtgatgcg 4500
cccccgccgt agccgtggtc gacctgttcc agaatcaacc cggcacgcag tagagcggct 4560
tcgagatcga gtgcccgcag gtgggtccaa tgctccgtga accggaggag aacgcttctg 4620
tctgttcgga aggttttgtc gatgaggatg tggtctgggt gggaccttgt tcgttcccat 4680
tcctcgacgg gctgcctgct cacttcttcg caggggcgcg acagtacccg ctgccagtcg 4740
ctgctctccc gcaggtcgaa gttgctgctg acatcgatgt ggactgtggc acctggcctc 4800
atggcgcgta cggcttccgt cagtgctcgc tcccggtcct cgacggtccg gagtaactgg 4860
aacgtggagt aggggatcac gacctgatcc gcagtccggg tcaggggaag ccggcgcatg 4920
tcggcacaca cagggtgcag tccaggcacg ggtggcatac gtgccaagcg ccatcgactc 4980
aggtctacgg cgaccacccg ggagcccggg cgagtggcca gagggctggc cactcgcccg 5040
gttcccgccc ccagcacgac gatattttgc tgcgggggta ccaagttgag ccagtactcc 5100
aggtcaagcc tctggttgcg caacctgtgc tggttgtgcc agtcgtacag caaggcttcc 5160
aagtattgtt cgcacatctc tcctcgcctc cttggttatc cctggattta gccattctgg 5220

ccggaaggcc gctgatttcg aaggtcgggg tggtcctggt cgacggatcg actgtatgcc 5280
acagagtggc gaagatggcg agatgtgttc cgcgtaagtg ccttatccag ccacgtcgga 5340
atccatcatt gatccgtggc gcgctaacgc cgagtttcgg ccaacccgaa cgatgaatgt 5400
gtgcgcgggg atgatgggga aaggaagagc ttggtcatgt gtcatcctga acaacggtgc 5460
tgaggggagg tgttcgagat ggtggcgtcc catacagcgc ggacgaggtc ggagatctgg 5520
aaggggtttc cgttcagtac tcgtcgcgag attggcacgg tcgggatatc aacgttccag 5580
agtcagagca cttccgctct tatgcttctg ctgctgtccg ttctggtggt cgaggtgacg 5640
ggttcggcgg ccagtgctcc tttggtcatc gctgccggcg cactgcctgc gctgcttctg 5700
gtgcgctggg ttcggagtgt caaccgtctc ctggaccacc gctgggtgat gatcctctcg 5760
gacacgggcg cttttgcagt cgcgctggct ctcttcctgc tatcgcaggc cgacgtccaa 5820
gcctggcaaa tctactgcgg cgtcgccttg ttctccggct tcggtgcctt ctacctgccc 5880
gcaatgcgtg gctgggtggc cgaccagtcg ggcgacatca cccaactcac ctggctcaac 5940
tcgatgctgg ccgtagctac gcaggcgtcc gtcgtcgtcg gatgggcact tgggggtgtt 6000
ctggccagca ccgtcggggt caggttcgct ctggggctgt gcgccattgc ctacgtatgc 6060
ggcatcgtgc tgcagttcgt cgtgtttgtc gtggtcaacc ggacgccgct acgtcgggcc 6120
gctgcgtcgg cggctggcct ggtggtgcaa cggcgttctt cggtgaagga ggtgccggag 6180
acggctatcc ggcaggaggg cggtgcgtgg cgcaaggtct tctcgccgcg caggctcggg 6240
ttgttcactg gctcgctgtt ggcgatggag ctcagccacg tgctggcttt cagtatgttc 6300
gtcccacttg tcactcaagc ttccgctgac cgctcctggg tggcgggcct ggccaacgcg 6360
tgtttcgccc tggcggcgat cggcagtgga gtgctcgtct ccggaggatc gctgggcaac 6420
tgggtgcgca gccacacacc aggagtcctc atcgccggtt tcgctgtgca gacggtgttc 6480
ggacttaccg cgagtcagac cgtcttagcc gttgccctct acacgctggt cggtgtgctc 6540
agcggcgggg acaccgtgct gcagagcgag gtgcaggatc gctggcgaag tgtcgggtcc 6600
tcccaggcgt tcgccatttt cggtgcggtg tccggacctt cccaactggt cggctccttg 6660
gtcatcgctt ttctgctcct gcacttctcg atcaccgctg tctacgtcgg aacgattgtg 6720
attctgggat tcggttcggc gctccttctg gtcatggcga gagcgaagtc gatcaatccc 6780
gtggaagaag tcgtcccgta agtttcaccg aaaatttgat gagtctttac ggtgcgtcag 6840
agatgtggac ggatccgatc ctcggatatt cgcatggaat gcctgaagaa gggaaacccg 6900
cgatggaaat agccctctac ggtctgggag agatgggctc ggagatagcg cgctgcctgg 6960
cgcggggcgg tgcgcgggtt cacacatacg atccatccga atcggtggaa gtggaggaga 7020
agaacctcat tcggtgggac agtgtccggc atgccgcaga gaacgcctcc gtgcacttgg 7080
tcgtcgcgaa gcacctttcc gacgtggagt cacttctctt ctccgccgat gggataggcc 7140
cgaatgcttc tcaaaagtcc ctgatcgcgg tgcacaccac actcaccccg gaggttgtgc 7200
gggacctgca cacccggatg cgggacaccc acggacacac gctggtggat gccgcgctca 7260
gccgccgcgg cggtgttgtg cgcgagggtt cgctgtccct gttcgtcggg gcaggagacg 7320
aggccttcgc cgtagcccgg ccggtcttcg accgctacgc cgacaacgtc gtccacgccg 7380
gagacgtcgg tgccggcatg acggtcaagc tttgcaacaa ctggctgctc tacgcgaacc 7440

ggcactccgc actccaggcc atccgaacgg gccgtcagct cggcgtggat ccggctgtgc 7500
tcacggacgc gctcgcctct tccaccggat ccagctgggc actgtcccac tactccgacc 7560
tggacgaagc catcgtcacc gggcggggcg caccagcggt catccgggac aggacagctt 7620
cggagcttgg catggcgaag cagatggcgg cacaggacgg tgaggtgccc accagcctcc 7680
aggagacctt cgcccttctg gacgtgatgt agccgccttc ggacgccagc cgatcactgc 7740
ctgcccgtac cggtccgcag cgcgggcccc ggctccatgc cgctcatgcc cggaaggccg 7800
atatgcacag cgaaccagtt acacgcgagt cgtatgtgga gaccgtcgcc gagcttcccg 7860
tcccggtgtg gaactcctcc gtcgcaacgg agttatacac gcggacgctc accgtggtct 7920
gtcgcaggcg acgcgggggc gctgtggcag gggtctgggt ctgcccgctg gacacgggca 7980
tagagggcag aggtgacgcg gcacggcgga agtaccggct gctgccatac gcctcccctt 8040
ggatcgatcc gaacctccat cccctggagc ggcaccgggt cgctctctcg ttgctcgagg 8100
tggtcctgca gcgcgtgcac ctggtcgagt tacccatgga tccgtgtttc ggcgaagtag 8160
ctgcactcgc tgaggtgggt ggagacgtgg cgtgccgaca cacccgcatg ctggacatac 8220
gtgagggctg tgacccccga gggggttaca gccccaccgt ccgcaaccat ctgcgggctg 8280
cggggcgcgc tctgcgtgtg gaggccgcag atccgtgtga gttcgacttc gctcgcgccg 8340
tcgttggcca gtccgaggcg gctgtggcgg aacggagagc cgccggactg cgcctccgcc 8400
gctctgaagg ggcggtccgc tgtctcgcgg cggtggacgc cgaaggcgtc ctgcgcggac 8460
aggcgttcgt cctgcgggac cgtcacaccg cagtgctcat gcaccagtgg ttcgaccgtg 8520
ccgggccgcg cgggacaccg actttgctgg tcgatagggc ggtcatgcag acactgggat 8580
cacccggcgt gaactctttc gattttgaag gaagtgtcgt tccgggcatc gaccgcttca 8640
tggctggctt cggcgctcag gccgtcggtt acgggcagtt ccgctggcaa caggattggc 8700
gggaagaccc tgccgggagg ttcgggtgaa tcggaacgag gatcgggcat ccaggtctcc 8760
ggaagaggct gctgcgcctc caccttcct tcggagggac gtgcgaaagg ccggggaccc 8820
tggcggccca ctccaggtcg ccccactcgg cgagctcagg cctgaacagg aggcttactg 8880
gcaggcactc tacgacctct acggatccct ggtgcagcag tcgcccgcgt acgcccgtgc 8940
ggtcggcgag tcggggcggt acgtccttgt ggtgatgggc caccgggggg tgttcccgct 9000
gcagctcggc tcggacgtgt gcacagcgct cggcggcgac cggccgctcc tcgcggacgg 9060
caccggcccc ctgcccctgg ttcctctggt ggccgcggcc gcagaggcca ccgggctccc 9120
cgtctacctc cctctggtgg acgcttcgct cgccgaggca ggagttgtgg aggcgttcag 9180
cgtgtgggag cggccaccca attcactgat cgactggtcg ctcgacggcg ccgacctatg 9240
ggatcgcgta accgagcgcg gtggttcaca gtggagcagg aaacagcggc tcatcgagcg 9300
ggacggcctg attctgtcct tcggccggtc gggcgaggcg gccgccgagg aggtcctgcg 9360
gatcgatgac cgctcgtgga agtctgccca caggcagaac atgcgtgcgc gagagggcca 9420
ggacaagttg tacgccgggc tgatcgggtc aggggtgctc acggctacgt tcctgcggga 9480
cggcgaccgc tctgtcgcct tccggcttga ctcccgcgtc aaaggccgcc tgacctgctt 9540
gaagtggtcg tatgacgagt cttaccggcg atactcaccc ggtgtccatt tgctcacgca 9600
ggggctgcgc caggagtggt gcgggcgcgg catagaggtg gtcgatctgc acgggagtcc 9660
cgactcactg aaggacctgc tgtgcaccga ccgggtgagc cgcgtggacc tctggtacgg 9720

cgacccgctg gccggcgcgc gccgtgcggc cgagcggacc ggcttcgaca ggcggatgag 9780
ggcggtccgt gacggtggga aggggttacg ccatgccttc gagtgagtcc ggtgccccag 9840
gggtggaacg gcccgacaga ggtgccacgg gcttcgccgg tcccgccggg tacgtcaccg 9900
tcggtgaagc cgtcgcggaa ctgacccgtc gcatggccca gcccgcggtc gagttcaccg 9960
cctccggtac cgccgctctc gaagcggcac tggaggtgct gggcatcgga cggggcgatg 10020
aagtggttgt gcctgacgtg ggatgtcact cggtggccgc cgccgtcgtg cgacggggag 10080
cgatcccggt gttcacggga gtgggggagg ccctgacgct cgatccccgg ggggtttccc 10140
tggcctgcgg cccacgcacc cgcgctgtcg ttgccgtgca tcagtacgga ctgccctgtg 10200
atgtgcccgg catcatggag gcggtggggc cggacatccc ggtgatcgag gatgtcgccc 10260
agacgtgggg gtcggcggtg ggcggtgccc cggcggggtc gctcgggacc atcgccgtca 10320
tttctttcgg ttcgaccaag ccggtggcgc tcggcgcggg cggggcgctc ttcgggccgg 10380
cctcactgat cggcggagcg gtctcccgcg gcgatggagc ggaccggcag ctgcttcgcc 10440
ctcccagcgc cgctcggttc cccgcccccc tgctcgccca tcttcccaaa gccttggaaa 10500
gggctgaccg gctgctggcc ttgcgtcggg cagcggtgga aacctttctc cgtgggccgc 10560
tggcccagga gttacgtctg cctccgacgc cacccggctc ctcctccgga tggacccgca 10620
cccctctgta tccgatcgcc cccgcgacct cggtcacggc cgaacacatg gagcggctgg 10680
aggcgtgtca cggcccggtt cagcgcatgc acgcgacgcc gccgtcggcg ctgccgatgt 10740
tccgcggaag cacaacgcgt gtgacaggcg gcggccgtcg gctcaccgaa cccctactcg 10800
tgaagatggg atcaccacga tgactgcaag gaacctgacg acccgagcgg gcgtcatcaa 10860
ccctcaccag ctcttcgacc tttctcagga ggacatcgac tccttcagcc acctgaagag 10920
cgtgctcgcc gacggacagc tcttccgcta cgtcgagagc gaccgggaat cggcgaacac 10980
cttggtcgaa cggcacttcg ccgagcactt ccgcaaggag agggcagtgg ccgtggccaa 11040
cggcaccgta ggcctgcgcc tggccctgcg tgcgctgggc atcggccccg gtcaccgagt 11100
ggcggtcaat gcctacgctt tcatcgcatg tgccatggcg atatcagcga ccggcgccga 11160
gccggtgccg gtcgacatgg gcggatccgt cctgagcatg gacgccgacg ctctggagaa 11220
gggcgtgggc cacctcgatg cggtcctcct ggtgcacgtc cagggccacg ccgtcgcggc 11280
cggtccgata cgtgccgtct gcgaccggct cggcataccg atgatcgagg acgtgtgcca 11340
ggcgctggga gctggttcgt cagaggcggg cgccggcggc gtaggtgacg tcgctgtgac 11400
gagtttccaa caggccaagc agatctcctc gggtgaaggc ggactcgtcg ccgggcccga 11460
ggaggtgatc gaacgggtct accgcctgtc ggatctgggc gccgtgcgcc aggagaacgg 11520
tctgccggac tgggaccacg aggatgccct gatcggtgac aacctgcgga tgactgagct 11580
tcaggccgcc cttgtcatgg atcaggcagt gcggctggag aacacgcttg cccggcaacg 11640
ggaccagcgg tcacggctgc gggccgggct cagtgatatc cccgttatcg agagcgagaa 11700
cccggccgag gacaccggat cgcacacgct tgtcctggcc cgggacacca cggcggcgga 11760
ggagttccgc gttgagctcg cacgccgcgg ggtgctggcc cgaccggtct ggaagaagag 11820
ctgggtggaa tacggtttgt accgacggga gttcgcgagc ggcgcccctg ccggcccgtg 11880
gcccgggaag gctgtcggcc tcgcctcgcg gattctgagt attcccactt cgaaatatgt 11940

gacggactcc gccgtcgccc aagtggccca ggccatcgcg gcgggccgcc accacctcac 12000
acaggacagg tgagacccca tgtcatcctt cgcgctcctg ctccgcggcc tgccgaactc 12060
cggcaagacg accactgccg cgctgcttcg caacgccttg aagccgtccg ttcggatctc 12120
caacgactcg gtgcgctaca tggcacagcc ccgggatttc agcgacttca ctctcgtcgc 12180
ctccgagctc ggctgcctgg atctcgcctc ttcatacctg gagagcggct tcgtacccgt 12240
gatcgacggc gtgttcgagg acatcgactt cctgtccgcg cagaagttgc gcttccacag 12300
gaaaggtatg cggctgatcg tcatcaccct ggagggaagt ctttccgatc tgctcgaccg 12360
aaacgcctcc cgcgatccgc tggcccggat ggaggaggac cggatgcgag agctccacgc 12420
ccagttccgg ccgagcggac tcgtcctgtc cctcgacggg aaacagcccg aagaggtggc 12480
ggacgacgta ttggacctcc tggaattgca gcccccgtac caggccgagg cagctgaccc 12540
gggagcggcc gacattctct tcctgcgcca cggtgctccc gagtacccca gtgacgtcta 12600
ccccgatccc tatgcgatgg ggctgtccga gcaaggcttt gacgaggccc gcgtggcgcg 12660
tgccgctgtg gagcggttcg cgcccgagat cgtctacacg tccgacttcc gtcgtgcgga 12720
gcaaactgcc tcgctggtga ccgccacgat cgatgtcacg ccccagcccg aacaccgtct 12780
gcgggagcga gtcttccatc agctcgccgg cgtagagctc gaagaggtcc gctcacagct 12840
gggggctgag gcggatgcgg tcctcggggg caacagcgat ctgtgcgagc gtgaggagga 12900
ggaatcctac gaggctgcaa gagcccgggt gctcgccttt ttcgatgaga tggccgagcg 12960
gcacgccggc cggcgggtcc tggtcgtcgg ccacggcgga cctcacgcat ggctggtgga 13020
gcgggcgctt ggcgccgaga tgcgaggagt gcgccgcatg cgctgggaca cgggtcactt 13080
ctcgcggttc aaggtgacgc ccaaccaggt ctcactggac tacctcaaca ggtcaccgga 13140
agacgtcacc ccatgactaa cgcaaaggac gcgaccacga ccgcttcgga tccacgacga 13200
cggccacggg tcgccgtggt ggccaccccc ttcggcttcg gtcctgcctc gaaggcgtac 13260
agcatcggcg aagtcctgca cacccattgg ggtgtggacg tccagtacta cggaacggac 13320
tccgcccgcg acttcttctc cgcgcagccc gatgtgaggc ccctggcgcc ggaggcagtc 13380
ggtgacaccg gagcgatcga cgccgtactg aacgtgctgg ctccggatct gatccgaagt 13440
tccgaggagg cagcccggac gtactacgtc gacagcctcg gcttcatgtg gcagccctcg 13500
gacattccgg acggcagtct gctcaaaagg gtgcaccggt acttcgccca ggacatcttt 13560
ggcagcgctg accatctcac tgcgctgggg atcaccggag tgacccccgt ctcgggaatc 13620
gtcgccgaaa cagcgccgac cgacatgtca ccgcggccac gctccgtgaa acggctgctc 13680
gtccaactcg gtggtctgag taacccggcc ggccggtcgt ccggagaggt ttatctcgca 13740
ctcgccgcga gactactcac ggcactgcag caggacccgt acgaactgag cattgccatg 13800
aaccgcgcag gcggcacgtt ctccctggga tcgctcgacc aggcccgcca attgtccggc 13860
cgcgacttcc acgttgaact ggccacctgc gccggtgtcc tcagctcacc cggtatgacc 13920
acgctcattg aggtgtcgcg tgccaagtgc ccctatgttc cattaccgcc tcagaactgg 13980
agccaggtag tcatatcacg ctatatggcg cgaaattcac gcttggggat atgggacttt 14040
ctgatcggtc cgtacgccac ggtggacgct catgtccccg aggctcagaa ggccgcccag 14100
gtgggggaga tcaaccagct gctggcaagg aacgccggct acacgacggc ctatgtggac 14160
ctggcccgga cggcactggc cgaagctcga gtaccggacg tgggcgcacc gttcgacggg 14220

gcgcgcgtcg tggccgctgc cattgcagac gatctcacca agggaaaatc gcgttacgga 14280
cggggctcgc atacggattt gaaagaccac ggcacaccga ctggtgaact ctgaagaaaa 14340
gagattccga tgacgcagca gatcgacaac ggcctcgtgg ccgtacttca gtcgctcgcg 14400
cacgaggtgg aaaccgcgcg cgagtggagc caggtatcgc ggacgctggc acaggagcgg 14460
gtggccaccg tcttcggctc ggcccgtacg cgccgcggtg aaccggcata caacctggcg 14520
tatgaactcg ccacggcact ggccgcaggg aagtggacca cgattaccgg cggtggaccc 14580
ggcatcatgc aggccgcgcg ggacggcagt ggggagggct tgtcccgagc ggtgcgggtg 14640
gagatccccg gtgaggaacc cgacaccgtg ctggacccgt ccaggtccat aaccgtcgca 14700
accttcgcgc tgcgcaaatt actcctgacc cacgacatcg acgctctgtt cgtcttcccc 14760
gggggtgtcg gcaccttcga cgagctgtac gaggtgctgg tccaccagga caccaaccga 14820
cttgcctggt tcccggttgt cctgatgcag ccggccggcg agagcctctg gtcggcctgg 14880
ctggagttca tggagaagca cttggtcagc acgggactgg ccagctcctc cgtgatcaag 14940
aggctggttg tggccgagtc ggtggaagag gccctggcag ccgccgaggg gccccgcgcg 15000
acggcctacg gaacgagcgg ttctccgtcg cccggaacag gtcacggggc gaccggaaag 15060
tgaccgccac cgaggacgac cggccccgca gccaggcaga tacaaggccg cctggcaccg 15120
ctcaggtcca catcagcgtg atcatcccaa cgttcaacgc ccgcaccact ttgcgatgct 15180
gtcttctctc gctcctccac cagaggctcg gcgctcacgg accggacgca gggtctccgt 15240
tcacgtacga ggtcatcgtc gttgacgacg gttcctccga cggcacaacc gaaatgatcg 15300
cccagttccc ctcccggctc gacctgcgat acaccttcct gcctcgaacg gacagatcgg 15360
gtcgggcccg ggcacggaat gccggcctgg ctctcgccac gggaggcctc gtggtgacgc 15420
tcgacgccga ccaagtggtg gagccgctct tccttgccga acacgcccgg ctgcacgcag 15480
gcggccccgg ccgcgtcgtt gcaggccagc gtctccaact cgccgagggg ccaatgaacg 15540
aggctcgctt ggagcacggg ttcgacccgc aggccctccc accggtggtc cggggcgacg 15600
agcgggagca gctgtttcgt ctcctcgaca gctccctaga ggacatggtg accggctggc 15660
accacgtctg gacctgcaac gcctccttcc cccgggacag gctcgaggcg gtcgggggct 15720
tcgacgagac gttcaccggc tgggggctgg aggacgcgga actcgcctat cggctggttc 15780
aaggtggtgc aaccacgcac ttcgccccgt cggcggtggt ccgccacgag caccgcacac 15840
cggttacagc cgacatgtac cgggagtggt gccgcaactt ggcctacttc gtgcgccgac 15900
atcccgcacc agaggtacgg ctccaggaga tattcgctcc cgccatcgat cccgaccggt 15960
ccgcgccggg aacgtgggac gacatcgccg ccgagttcga gcacacggct cgacggctcg 16020
gcgctgaccc cggccagcat ccgtagctgg catcaccggt tccgctgcta tggcagcacc 16080
cgctcatagg ccgcagcagc ggacccccct ggaccaaatt gagaggaggc gattcaccgc 16140
catgcccacc cctgcgggaa acgtccccga ccatctcgcc ccgaccgtcc gccgggtcgt 16200
ctatctgcct gtcaaccgcc ccttcgagac agcatttcac tccgtggccg ccgaagtggc 16260
atcgttggag aagaaccagc gagacaacgt caccctcctc gtcgtggacg actgtgcgcc 16320
accagtgtca cgggccaatc gccaggtgac cgagcgggta gcccgtgaat cgggcctgcg 16380
cgtacacaca ctggaccaac aagactggct tcgtctggcc accacagtga tcgcagcttc 16440

cgggctgacc ggggccgacc gagccacggc gcggaccgcc ctggtcaaac ccaccggttc 16500
ctacggggca ggtcccaaca aggccgccct ggtcgccgcg ctggaaggtg cagtctccct 16560
gcatcgccgg gacagcgacc aggtcacgac ggtagacccc gacaccggag cctccccgct 16620
ccgcctggaa gccgacctcc tgggtcgcgc ccgcccggag ggcggcgccg cggcctactg 16680
cgcaggctcc ttcctcaccg gtcgccccac gcgagaccga agggacctgg aacgcgactc 16740
gacggagtac gcggcccgta tcgacgcact gagccaactc ccctccgccc cggcccgacg 16800
cccgcctctc ccgcctgtcc gggaacggac ggaactccta ggagggcagc acgccgagcg 16860
tgacctgaca ggtgtggtcg agatggggat cgcggccatg cgaagcgtgt acgagtggat 16920
cccagaaatg cccgccgtgg gcatcctcgg cagcgactac ttccagaagg gactgctcta 16980
tcagctcaac ctcccggtct tccaccacag cctcccagcc cggcacacct acgaatcctg 17040
gcgcacggag cagtgcgacg attcccatct ggcctggtac gtccgggcgg aggtgcgcta 17100
cgccgtactg cgccgccact ggaacagctt caaccacctg ctcgtgggcc aacggacgcg 17160
cgtgctgtcc gatggtcact tcgactcccg ggcttacggt cagctgttcg tcgaagcgct 17220
ccacgagggc acccgggggg cggaaagcat tcccgacgac ttcgcggccg tataccgcga 17280
cgccgcgaac gcggccacag gcgaggtccg tcgacgtctt ctggtgcggc tggccgcact 17340
ggaagaggag accgatgctg tcaacgcata cgtggccgat gccatccacg aattcgccgc 17400
cctctcacgt ctgtggcccg gattgatctc tgccgcacaa cgggtcggga ggacaaccgc 17460
gctggagacg tttacccact gagtagtccg gccggtcgaa ctgccgtcgg aacgagggaa 17520
gacaacaccc aaccggaagg aagacgccat gtgcggcatc ggaggcatcg tcctgaagca 17580
gcgttcccgg gtcgacagaa accacatgat ggaacgccta cgcgccggtc tcgcccaccg 17640
cgggcgaagc tcgcagggag acttcgccga cacccgcgca gccttgcact gcgcacggca 17700
cgctgtcatc gccgtcgaag ccgcccaaca gccgctacgg gactcccgga acgaactggt 17760
gatggtcggc aacggcgaga tcctgaacta ccaggaactg gcacagcagc ttcccgccgc 17820
gcgaacacgc cgcctgctgc caggagacct ccaggtcgcg ctcgaaatgt acgccgagca 17880
cgggatcggc gccctggaga agctgcgcgg cccgttcgcg gtcgccttgt gggacagcca 17940
gtcgggcgag ctgaccctcg cgcgtgaccg gttaggagag cgcccccctct acttcttcga 18000
ctgtcccgac tttttcgcct tcgcatcgga ggtacggtgc ctcgccgcag ctcttccgca 18060
aggcctgctg aacctggacg aagaagcggc ggtagccttc ctggggctgg gacgagtgcc 18120
tacgggccga accctctacc gggagatttt cgcggtcccg gcgggctcag tgctccgaat 18180
ggggactcag ccgttcgagc cccggcacat ggcgtccctg gctcctgtct cggcactgcg 18240
cagcgcgccg gccccgcagg aggagatcga cgccgttctc gcccaggccc aacgccgggc 18300
gctggtggcg gaccaccccg tagctgtggg attctccggc ggcatggatt ctgcagcagt 18360
cctgtcagcg gccctggacg gagcgggtgc cgccgcagtc atcacggtct actccgaact 18420
gtcgccagtc accgatgtga acctccggcg cgcgcggagt cttgcgcccc ttctgggcgt 18480
ccaactgacc gaggtcccgt tccgaatgcc cacggtccag ggcgccgtgg atattctgaa 18540
ctcgacactc gacggcccag ccgctgagcc cctggtgctg cacaacgacg ccctgcatac 18600
tgcggcccgg gagcactccg ccgtcgtggt cggagggcac ggagccgatg aagtcttcgg 18660
agggtacgcc cggtatccgg cgctacgagc ccaggagacc gcgccgacga agcactggct 18720

cgcgtcgtcc gcctgggagc ggtggaatcg atcggccgcc tggcaccggt tcgtcgagga 18780
aaacgccgcg ccgcacctgg cggatcgcgt atcggcgtcc tttcccgatc cgctagaaaa 18840
gaccttcccc tacgcatggt cggaatcgag cgaccccgtg ctcttcggcc aggctctcga 18900
tatgttccgg ctgatgacct acgacaactt ccgagctacg gacgagaacg gcatggcacg 18960
acaggtggag gtcagatctc ccttcttcga cctcgacctg ctggctgccg tctacagtct 19020
cccggtgact gagcgcctcg gaccaggggc ctccaagccg ctgttgcggc gttcgttccg 19080
aaataccccg ctggcaggag cattcaccga accgaaggta ggcttcgacg atcatttctc 19140
ctatgccgac tggatgacag agaactggct ccagttctca accgccatca ccgacgggcc 19200
actcaaaggg acgggcatcc tgcaggacgg cgccctggac gatctggagc atcgcgactg 19260
gcgcacactg tggcgccttt tcagtctgtc cgcctggctg aggcgcagtt gaactacgga 19320
agttgaactc gcgacgtcgc tgccgctcag gtgagtctga tggtcaggcc ggtctcggcg 19380
aggcagccgt tctgtgaagt cgctgcggta cgcgctggac gtggtgttag ggggtactga 19440
aggcgacgtt ggctcgcagc gtggacgagg tggaggaaga cattggcggt gatgtcgacg 19500
tcgtcggccg tgctcggccc accctcgcta ccaagggctc cggcgagaac tacacggtca 19560
acgacaactc gtaggtcgtc tgcggcaacg ttcccaccgc caacgccacg gtctacatcg 19620
tcgacaccgt tctgatgccc aaggcgtgac caccccactc cgcccctgac gcgcggtgat 19680
gcggcaacgc tctggtgagc gcgccacacg ccgcctcccg ctggagtgca agctccagca 19740
acgggcgagc cacatcccca tccctgactc ggggccgcgt gcgtttctga aggagcccga 19800
ccgctggcgc tttcgccgga ggccacacgg aaggtctgcc gggtgagcgg ctccggtctg 19860
caggcggtgg cgaaggccgg ggacatcacc caggcctagc ttgatcttta acccccctgca 19920
ctatgcatca ggaccgtatg tcggttgctg gtgatatctg tggggcgtgg aagatgcgat 19980
cttgagtgcg atagccctgc taagtgaagc cttcgtggca gagacccgtc gccggccgct 20040
gggctgggag gggcttcggt cgtgggagga ccagcaaggt gtcgtgttgc cggagccgta 20100
tcgcaccttc gtggccgaga ttgcgaacgg aacaaacgag ggcccgatgt acgagggcgg 20160
tcttttgcct ctgggagcaa agtccgacag ctgggtcagt tgggaagctg actgttggct 20220
gagtcctcag ccgttcgacg gcaccgccct acgcaagctc gaccggcctt tcccgcttgt 20280
agaggaatgg cagtgggagt acgagtacta cgaccacgcc ctccactcag cgccgctgca 20340
cgagatctac cagcacggct ccgtgctgct gggcagtgat caacctggcg actactggac 20400
gttggtggtg actggcccgc agcgcggcaa ggtgtggtgg ctcagagacg gatgcgccac 20460
accctattct tcgtccggag aacttggagt cggcttcctg gactgggtga gggactggca 20520
cctcggacag ggctgttggc gctccgagta gcccagttcc tcaatcgcga actcgtaggt 20580
cggacggttc gtcgtacttg atcactcgga ctggtaagtg ccttacgagc agccgacctt 20640
cggctgagca tgtgatccga ccaaggaaca cacaagctca gcacgaaggc cgtgaggatg 20700
agtctgtcgc atcacgtcgc ccgggggggat ccgtttgcgg gactgtcacg cttccgggat 20760
gagttctatt cctgtctgac caggcgtgcg gacgcgctgt tcgaactcgc ggacgcggtg 20820
ttgtgcgcgg acggtccggt ccggtcgctg gtggaactgt cgctggtcgg tgaacaccgt 20880
cgcgggcacg gcgggctcta cgatgccctg tccgcaggcc gggtcgatgt cgcccgactg 20940

cggcgggccc tggccatggt gcggctgcct cgggcggccg acggacggct ggtcctggcc 21000
gccgatctca cctgctggct gcgacccgac gcgcacacct caccgcagcg gatcctgtgc 21060
cacacctacg ggcggggcaa ggaccagcac attcccgttc ccggctggcc ctactcggtg 21120
atctgcgcac ttgagacggg ccgtaattcc tggaccgcgc cgctggacgc actacgtctg 21180
gcgccgggcg acgacgccgc caccgtcacc gccaggcagg cacgcgagct cgtcgagcgg 21240
ctgatcgatg ccgggcagtg gacggacggc gatcccgaga tcctgatcgt cgtggacgcc 21300
ggctacgacg ttccccgcct ggccttcctc ctgaaggatc ttccggtgca ggtgctgggc 21360
cgaatgcgct cggaccgcgt cctgcgacgc ggggtcccac cccgcgagcc cggtgtccgg 21420
ggccgcccac cacgccacgg cggggagttc gtcttcggtg acccggccac ctggaacact 21480
cccgacgcac agacggtgac cgcgacacgt ctctacggca ccgccgtcgc acgggcatgg 21540
gaccggctcc acccgagact gacccaccgc tcggcctgga ccgcccagct agtgccgcat 21600
caagcaacgt ttgccctgtc aggccgacat actgtgggcg tgcttgagta cttgcttgcg 21660
accgatgacg acgatttcct cgggccggtg cgctcggata ggtgtccgga tgtgcttcag 21720
ccaaggggct ggggggcggt gccagtggct ggcgatggcc actatcggat cgctgtcgaa 21780
ggcatggaga ttgagttcgc ttgggaaatg cccggccttc aggtcacggt tcacggcata 21840
tcagacgagc ccagggttga ggagctggtg gctacgatcg cgcgtcaggt cggaaccgag 21900
ctcgcggtgc gagtccgggt aatcccgctc tagcgctgct tcaggcaacg tgggcttggt 21960
tgactacggt tcgtagttgc tggtcatgag tgtggtggtt tctccagatg atgtaacggc 22020
ggatcatgct gccctgctcc ttgtgactgg cgtggtcggt gccgtcgagg gtgaagtagc 22080
gcagggcggc ggtgaactgg gcctcgatcc ggttgagcca ggagctgttg gttggggtgt 22140
aggcgatctc gacgttgttc gcgtccgccc acgtcgcgac ccgttggcac cgcttcgtcg 22200
tcaggtgcgg ggagtagttg tcgcagatga tggcgatccg caccttcgct gggtgcaagg 22260
agcgcaggta gcggcagaac tccaggtact tggagcggtt cttggtcttc ttgatgtgac 22320
catagagctg gtctttgccc aggtcgtagg cggcgaacag gtgccggacc ccatgcgggc 22380
gggtgtaggt cgcccgccgc cgtggccggg gggctcggtc ggggttcttg tgccggccac 22440
tgcgttcggc ccactggcgt ccggggtggg gctggaggtt gagcgggccg aattcgtcca 22500
tgcagaagat gatctcgggc tcgccgtcct cgggtatgac ctcgccgtcg gcgatggcgt 22560
agagatgctc gacacgggcc ttcttctgcg cgtagtccgg gtctttcgag gtcttccagg 22620
ttttcacgcg ttgaaaggag acgccttcct cgcggagcag gatgcgcagg ccctcgtggc 22680
tgatgtcgtc gaccaccccc tcggcaacta ggaagtcggc cagcttgacc agactccagg 22740
tcgagaaggg cagattgtgc tcgactggct tggacttggc gatcttcttg atctcccggc 22800
gctcgggcag ggtgaacgtc tccggccggc cgcctctgta cttcgggtag agcgatgcga 22860
acccgtcgga tttgaaattg tggatcacgt cccggacccg gtccgcactg gtgaacgcga 22920
cctcggcgat cttcaccacg ggcatgctct gcgcggacag cagcaccatc tgggcccggc 22980
gccaggtcac cactgaccct gtgccgcggc ggacgatccg caacaaccgc cggccttcat 23040
cgtcatcgat ctcacggacg cgtactcgtt cagccacccg cacagcttga cggccgcacg 23100
ccgcccagga caggtcccaa acggcgcgtc aggtcacaac agggcaaacg ttgtctgatg 23160
cggcattagc ggctgaggga tggagcttcg cttctcgggc tacggagtgc gggtgccgac 23220

ggtgtgcagg cgctggatgg cctgcttcgc ggcatcgttc atccgatcta gaactgaggt 23280
cgcggtgctg agctcggcct cggtggcctg gcgcagggtc gctgcgatct cggttccggc 23340
gatggccatg aatgcgtgtg cctgttcgga ggcggcgggt gtgggccgca gggtgacgcg 23400
gcggcggtcc tggtgctcgc ggctgcggac caccagccct gcccgttcga ggcggttcag 23460
gagaacggct gttgatcctg tggacattcc gatacgccgg gagagtgcgg caggggagag 23520
gggggtgccg ctctgtgccg cccagacgat ctgtccgacg gcgttggcgt ccgagcctgg 23580
cagtcgcatc cactgcgaca tgtacaggtt gatctcggcg aagccggtcg cccactcccg 23640
cagtgcttcc atcatcttga cctgcgacgt ctcccacggc tcctgtgccg gattccccat 23700
gcccactcca atgctctact gtagagatac tttactgtag agcttagtgg acgggagctg 23760
tcatgagtgc aggcactgcg gtggtgtccg gggcgagcat cgctgggctg tcggcggctt 23820
tctggctgcg gcgccttggg tggcaggtca ctgtgatcga gcgcgcaccg gagttccgcg 23880
atggcgggca gaacatcgac gtgcgcggcg tcgcgcggga ggttcttgtc cgtatgggtc 23940
tgttcgatgc ggtcaaggcg cgcaacacga ccgagacggg cgccgtcatc gtggacggga 24000
atggccaggc gattgcgacc ctgccagacg gcggaggcac cggggcgacg gcggagctgg 24060
agattctgcg gggcgatctc gccggtgttc tgcgcgatca cctccccgag ggggtggagt 24120
tcgtctacgg cgacaccatc gaggacgtga gcgagcatgc cgggcatgcc cgcctgacga 24180
cggcgggcgg ccgggagctg cggtgcgatc tgctggtgat cgccgaaggg gtccgctcca 24240
cgaccagggg gcgcgtcttc gcccaagaca ccgtcgagga gcgcgagctg ggggtgacga 24300
tggtgttcgg cacgatcccc cgcgtgccgg gtgacgacga ccgatggcgc tggtacaacg 24360
cgcctggcgg gcggcaggcc catctgcgcc cggaccccta cggcacgacg cggaccatcc 24420
tgtcctacag ccccggcgac gacctgctgt ccatgagccg caatgaggcc ttggcccagg 24480
tccggtcgcg gtaccgcggc gcgggatggg agacatcacg catccttgac gcgctggaga 24540
cctcgcagga cgtctacatc gaccagctcg cgcagatccg gatgaaaact tggcaccaag 24600
gacacgtcgt gatgctggga gacgccgcat ggtgcgtgac ccccatgggt ggcggaggcg 24660
cttccctggc gctgaccagc gcgtacgttc tggcggcaca gctctccgca cattccggcg 24720
atctcgctgc cgcgctggcg gcatacgagc ggtggatgcg cccgctcgtg cgggacgcgc 24780
agaacatgcc gggctggctg acgcgtttcg cctaccccca gagccgggcg ggactggcgc 24840
tgcgccacgt cgccgaccgc gtgttcacct ccgcccccct ccggccccta gctgcaaagc 24900
tcacccaggt cgccgagact gaacggacgc ttcccacgct ccgcccgacc accggataa 24959

<210> 44
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物1F

<400> 44
gtcaatgcct acgctttcat cgca 24

<210> 45
<211> 24
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 引物1R

<400> 45
acaaaccgta ttccacccag ctct 24

<210> 46
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物2F

<400> 46
tcaccagctc ttcgaccttt ctca 24

<210> 47
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物2R

<400> 47
catggcacat gcgatgaaag cgta 24

<210> 48
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物3F

<400> 48
acgaactgag cattgccatg aacc 24

<210> 49
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物3R

<400> 49
gtgcctggtc tttcaaatcc gta 23

<210> 50
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物4F

<400> 50
agagctgggt ggaatacggt ttgt 24

<210> 51
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物4R

<400> 51
tttcggtcga gcagatcgga aaga 24

<210> 52
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物5F

<400> 52
ccatcgccgt catttctttc ggtt 24

<210> 53
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物5R

<400> 53
catggcacat gcgatgaaag cgta 24

<210> 54
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物6F

<400> 54
acatacgact cgcgtgtaac tggt 24

<210> 55
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物6R

<400> 55
acatacgact cgcgtgtaac tggt 24

<210> 56
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物7F

<400> 56
ttgcagacga tctcaccaag ggaa 24

<210> 57
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物7R

<400> 57

atgatcacgc tgatgtggac ctga 24

<210> 58
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Kan-F引物

<400> 58
gcccccgggt tctatcataa ttgtggtttc 30

<210> 59
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> Kan-R 引物

<400> 59
ggggatccgg tgattgattg agcaagcttt a 31

<210> 60
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouL-1-F(-2056)引物

<400> 60
cgaattcagt cgtacagcaa ggcttccaag t 31

<210> 61
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouL-1-R(-880) :引物

<400> 61
ccggtaccga gtgacaagtg ggacgaac 28

<210> 62
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouL-2-F(+522) 引物

<400> 62
cctctagatt cggacgccag ccgatcac 28

<210> 63
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouL-2-R(+2364) 引物

<400> 63
ccaagcttac tcgtcatacg accacttcaa gc 32

<210> 64
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouH-1-F(-1827): 引物

<400> 64
cgaattcccg ctgcagctcg gctcggacgt 30

<210> 65
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouH-1-R(-845): 引物

<400> 65
ggcggtaccg gaggcggtga actcg 25

<210> 66
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouH-2-F(+1184): 引物

<400> 66
cctctagagg acaggtgaga ccccatgtca tcc 33

<210> 67
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouH-2-R(+2985): 引物

<400> 67
ccaagcttgg ttcatggcaa tgctcagttc gt 32

<210> 68
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouF-1-F(-1831): 引物

<400> 68
cgaattctag gtgacgtcgc tgtgacgagt tt 32

<210> 69
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouF-1-R(-41): 引物

<400> 69
ccggtacctg gtcgcgtcct ttgcgttag 29

<210> 70
<211> 31
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> gouF-2-F(+1126):引物

<400> 70
cctctagatt ccgatgacgc agcagatcga c 31

<210> 71
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouF-2-R(+2919):引物

<400> 71
ccaagcttcg gtgaatcgcc tcctctcaat tt 32

<210> 72
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouWcluster-F(+4)引物

<400> 72
cgaattcacc acgcatgtct gcacgacggt 30

<210> 73
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouWcluster-R(+1897)引物

<400> 73
ccggtaccaa ctgccgagac acccaga 27

<210> 74
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouWcluster-F(-1373end)引物

<400> 74
cctctagatc aatcgcgaac tcgtaggt 28

<210> 75
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> gouWcluster-R(-92end)引物

<400> 75
ccaagcttat atgccgtgaa ccgtgacctg aa 32

<210> 76
<211> 11883
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 76

atgcttctgc tgctgtccgt tctggtgatc gaggtgacgg gttcggcggc cagtgctcct 60
ttggtcatcg ctgccggcgc actgcctgcg ctgcttctgg tgcgctgggt gcggagcgtc 120
aaccgtctcc tggaccatcg ctgggtgatg atcctctcgg acacaggagc tttcgcagtc 180
gcgctggctc tcttcctgct gtcgcaggcc gacgtccaag cctggcagat ctactgcggc 240
gtcgccttgt tctccggctt cggcgccttc tacctgcccg caatgcgtgg ctgggtggcc 300
gaccagtcgg gcgacatcac ccaactcacg tggctcaact cgatgctggc ggtggctacg 360
caggcgtccg tcgtcgtcgg gtgggcgctt gggggtgttc tggcaagcac ggtcgggatc 420
agcttcgctc tggggctgtg cgccatcgcc tacgcatgcg gcatcgtgct gcagttcgtc 480
gtatttgttg tggtcaaccg gacgccgcta cgtcgggacg ctgcaccggt ggccggcccg 540
ggagagcggc ggcgttcttc ggcgaaggag gtgccggaga cggccatgcg gcaggagggc 600
ggtgcgtggc gcacggtctt ctcgccgcgc aggctcggtc tgttcactgg ctcgttgctc 660
gcgatggagc tcagccatgt gctggctttc agtatgtttg tcccacttgt cactcaggct 720
tccgccgacc gatcctgggt ggcgggcctg gccaacgcat gtttcgccct ggcggcgatc 780
ggcagcggag tgctcgtctc cggaggatca ctcggcaact gggtgcgcag ccacgcacca 840
ggagtcctca tcgccggttt cgctgtgcag acggtgttcg gactcagcgc gagtcagacc 900
gtcctggccg ttgccctcta cacgctggtc ggtgtgctca gcggcgggga caccgtgctg 960
cagagtgagg tgcaggatcg ctggcggagt gtcgggtcct cccaggcgtt cgccgttttc 1020
ggcgctgtgt ccggaccttc ccaactggtc ggctccttgg tcattgcttt tctgctcctg 1080
cacttctcga tcaccgccgt ctatgtcgga acaatcatga ttctgggatt cggttcggcg 1140
ctccttctgg tcgtggcgag agcgaagtcg ataaatcctg tggaagaagt catcccgtag 1200
gtttcactga aagtttggtg agtctgtgcg gtgcgtcgca gatgtggacg gatccgatcc 1260
tcggatccgc gtggaatgcc agaagaaggg agactcgcga tggaaatagc cctttacggt 1320
ctgggagaga tgggctcgga gatagcgcgc tgcctggcac ggggcggtgc gcgggtccac 1380
acgtacgatc catccgaatc ggtggaagtg gaggagcaga acctcgttcg gtggggcagc 1440
gtccggcatg ccgcagagaa ggcctccgtg cacctggtca tcgcgaagca cctttccgac 1500
gtggagtcac ttctcttctc cgccgacggg ataggcccga atgcttctca aaagtccctg 1560
atcgcgctgc acaccacact caccccggag gttgtgcggg acctgcacac ccggatgggg 1620
gacacccacg gacacatgct ggtggatgcc gcgctcagcc gccgcggcgg tgctgtgcgc 1680
gagggttcgt tgtccctgtt cgtcggggca ggagacgagg ccttcgccgt agcccggccg 1740
gtcttcgacc gctacgccga caacgtcgtc cacgccggag acgtcggtgc cggcatgacg 1800
gtcaagctct gcaacaactg gctgctctac gcgaatcggc actccgcact ccaggccatc 1860
cgaacgggcc gtcagctcgg cgtggacccg gctgtgctca cggacgcgct cgcctcctcc 1920
accggatcca gctgggccct gtctcactac tccgacctgg acgaagccat cgtcaccggg 1980
cggggcgcac cagcggtcat ccgggacagg acggcttcgg agctcggtat ggcgaagcag 2040
atggcggcac gggatggtgt ggtgcccacc agccttcagg agaccttcgc tcttctggac 2100
gtgatgtagc agcctgcgga agccagccga tcactgccta cccgtaccgg tccgcagcgc 2160
gggccccggc tccctgccgt tcatgcccgg aaggccgata tgcacagcga accagttaca 2220
cgcgagtcgt atgcggagac cgtcgccgag cttcccgtcc cggtgtggaa ctcctccgtc 2280

gcaacggagc tgtacacgcg gacgctcact gtggtctgtc gcaggcgacg cgggggcgcc 2340
gtggcagggg tctgggtctg cccgctggac acgggcatcg agggcaaagg tgacgtggca 2400
cggcgagaac accggctgtt gccatacgcc tccccctgga tcgatccgaa cctccatccc 2460
ctggagcggc accgtgtcgc tctctcgttg atcgaggtgg tcctgcagca tgtgcacctg 2520
gtcgagttgc ccatggatcc gtgcttcagc gaagtagctg cactcgccga ggtgggtgga 2580
gacgtggcgt gtcggcacac tcgcatgctg gacatgcgtg agggctgtga cccccgaggg 2640
ggttacagcc ccaccgtgcg caaccatctg cgggctgcgg ggcgcgttct gtgtgtggag 2700
gccgcagatc cgtgtgagtt cgacttcgct cgcgccgtcg tcggccagtc cgaggcggct 2760
gttgcggaac ggagggccgc cggactgcgg ctccgccacg tcgaggggggc ggtccgctgt 2820
ctcgcggcgg tcgacgccga aggcgtcctg cgcggacagg cgttcgtcct gcgggaccgt 2880
cacaccgcga tactcatgca ccagtggttc gatcgcaccg ggccgcgcgg gacaccgact 2940
ctgctggtcg acagtgcggt cgtacagaca ctggagtcac ccggcgtgat ctcttttgat 3000
tttgaaggaa gtgtcattcc gggcatcgat cgcttcatgg ccggcttcgg cgcgcaggcc 3060
gtcggttacg ggcagttccg ctggcagcag gatgggcggg aagagcctgc cgggaggttc 3120
gggtgaatcg gaacgaggat cgggcatcca tgtctccgga agagggtgct gcgcttccgc 3180
ctttccttcg gggggacgtg cgaaaggccg gaagccctgg cggcccgctc caggtcaccc 3240
cactcggcga actcaggccc gagcaggagg cgtactggca ggcactctac gatctctgcg 3300
gatcccgggt gcagcagtcg cccgcgtacg cccgtgcggt cggcgagtcg gggcgggacg 3360
tccttgtggt gatgggccac cgggggggtgt tcccgttgca gctgggctcg gacgtgtgca 3420
cagcgcttgg cggcgaccgg ccgctcctcg cggactgcac cgtccccctg cccctggttg 3480
ctctggtggc cgcggccgca gatgccaccg ggctccctgt ctacctccct ctggtggacg 3540
cttcgctggc cgaggcagga gtcgtggacg cgttcagcgt gtgggagcgg ccacccaatt 3600
cgctgatcga ctggtcgctc gacggcgccg acctgtggga tcgcgtgacc gagcgcggtg 3660
gttcacagtg gagcaggaaa cagcggctcg tcgagcggga cggcctgaat ctgtctttcg 3720
gccggtcggg cgaggcggcc gccgaggagg tcctgcggat cgatgaccgc tcgtggaagt 3780
ccgcccgcgg gcagaacatg cgtgcgcgag agggccagga caggttgtac gccggtctga 3840
tcggggcagg ggtgctcacc gctaccttcc tgcgggacgg cgaccactct gtcgccttcc 3900
ggctggactc ccgggtcaaa ggccgcctga cctgcttgaa atggtcgtat gacgagtcct 3960
accggcggta ctcacccggt gtccatctgc tcacgcaggg gctgcgccag gagtggtgcg 4020
ggcgcggcat agaggtggtc gatctgcacg gaagtcccga ctcgctgaag gacctgttgt 4080
gcaccgaccg gatgagccgc gtggacctct ggtacggcga cccgctggcc ggcgcgcggc 4140
gtgcggccga gcggaccggc ttcgacaggc ggatgagggc ggtccgtgac ggcgggaagg 4200
ggttgcgcca tgccttcgag tgagtccggt gcgccagaag tggaacggcc cgacgaaggc 4260
gccaagggct tcgctggtgc ggccgaccac gtcacggtcg gtgcagccgt cacggaactg 4320
acccgtcgta tggcccagcc cgccgtcgag ttcaccgcct ccggtaccgc cgctctcgaa 4380
gcggccctgg aggtgctggg catcggacgg ggcgatgaag tggtggtgcc tgacgtggga 4440
tgtcactcgg tggccgccgc cgtcgtgcga cggggagcga tcccggtgtt cacgggagtg 4500

ggggaagccc tgacgctcga tcccctggga gtttccctgg cctgcggccc acgcacccgc 4560
gctgtcgtcg ccgtgcacca gtacggactg ccctgtgatg tgcccggcat catgaagacg 4620
gtggggccgg acatcccggt gatcgaggat gtcgcccaga cctggggatc ggcggtgggc 4680
ggtgccccgg ccggttcgct tgggaccatc gccgtcatct ctttcggttc gaccaagccg 4740
gtggcgctcg gcgcgggcgg agcgctcttc gggccggctt cactgatccg cggagcggtc 4800
tcccgcggcg atggagcgga ccggcagctg cttcgccctc ccagtgccgc tcggttcccc 4860
gcccctctgc tggcccgtct tcccgaagcc ttggcaaggg ccgaccggtt gctggcctcg 4920
cgtcgggcag cggtggaagc ctttctccgt gggccgctgg cccaggagtt gcgtctgcct 4980
ccgacgccat ccggctcctc ctccggatgg acccgcaccc ctctgtatcc gatcgccccc 5040
gcgacctcgg tcacggccga acaggtggag cggctggagg cgtgtcacgg accggttcag 5100
cgcatgcacg cgacgccgcc gtcggcgctg ccgatgttcc gcggaagcac gacgcgtgtg 5160
acaggcggag gccgtcggct caccgaaccc ctactcgtga agatgggatc accacgatga 5220
ctgcaaggaa cctgacgacc cgagcgggcg tcatcaaccc tcaccagctc ttcgaccttt 5280
cccaggagga caccgactcc ttcagccacc tgaagagcgt gctcgccgac ggacagctct 5340
tccgctacgt cgagagcgac cgggaatcgg cgaacacctt ggtcgaacgg cacttcgccg 5400
agcacttccg caaggagagg gcagtggccg tggccaatgg caccgtaggc ctgcgcctgg 5460
ccctgcgtgc gctgggcatc ggccccggtc accgagtggc ggtcaatgcc tacgccttca 5520
tcgcgtgtgc catggcgata tcggcgaccg gcgccgagcc ggtgccggtc gacatgggcg 5580
gatccgtcct gagcatggac gccgacgctc tggagaagag cgtgggccac ctcgatgcgg 5640
tcctcctggt gcacgtccag ggccacgccc ttgcggccgg tccgatacgt gccgtctgcg 5700
accggctcgg tataccgatg atcgaggacg tgtgccaggc gctgggagct ggttcgtcag 5760
aggcgggcgc cggccgcgtg ggtgacgtcg ctgtgacgag cttccagcag gccaagcaga 5820
tctcctcggg tgaaggcgga ctcgttgccg ggcccgatga ggtgatcgaa cgggtctacc 5880
gcctgtcgga tctgggagcg gtgcgccagg agaacggtct gccggactgg gaccacgagg 5940
atgccctgat cggtgacaac ctgcggatga ccgagcttca ggcggccctt gtcatggatc 6000
aggccgtgcg gctggaggac acgctggccc ggcagcggga gcggcggtca cggctgcggg 6060
ccgggctcag tgatatcccc gtcatcgaga gcgagaaccc ggccgatgac gccggatcgc 6120
acacgcttgt cctggcccgg gataccgcgg cggcggagga gttccgcgtt gagctcgcac 6180
gccgcggggt gctggcccgg ccggtctgga agaagagctg ggtggaatac ggtttgtacc 6240
gacgggagtt cgcgagcggc gcccctgccg gcccgtggcc cgggaaggct gtcggcctcg 6300
cctcgcggat tctgagtatt cccacttcga aatatgtgac ggactccgcc gtcgaccaag 6360
tggccgaggc catcgcggcg ggccgccaac acctcacaca ggacaggtga gacccccccat 6420
gtcatccttc gcacttctgc tccgcggcct gccgaactcc ggcaagacga ccactgccgc 6480
gctgcttcgc aacgccttga agccgtccgt ccggatctcc aacgactcgg tgcgctacat 6540
ggcacagccc cgggatttca gcgacttcac tctcgtcgcc tccgagctcg gctgcctgga 6600
tctcgcctcc tcatacctgg agagcggctt cgtacccgtg atcgacggcg tgttcgagga 6660
cgtcgacttc ctgtccgcgc agaagctgcg cttccacagg aagggtatgc ggctgatcgt 6720
catcaccctg gagggaagtc tttccgatct gctcgaccga aacgcctccc gcgatccgct 6780

ggcccggatg gaggaggacc ggatgcgtga gctccacgcc cagttccgac cgagcggaat 6840
cgtcctgtcc cttgacggga agcagcccga agaggtggcg gacgacgtat tggacctcct 6900
ggacttgcag cccccgtacc agggcgaggc agctgaccag ggagcggccg acattctctt 6960
cctgcgccac ggtgctcccg agtaccccag tgacatctac cccgatccct atgcgatggg 7020
tctgtccgag caaggcattg acgaggcccg cgtggcgcgc gccgctgtgg agcggttcgc 7080
acccgagatc gtctacacgt ccgacttccg tcgtgcggag cagactgcct cgctggtgac 7140
cgcgacgatc gatgtcacgc cccagcccga acaccggctg cgggagcggg tcttccatca 7200
gctcgccggc gtagagctcg acgaggtccg ctcacagctt ggcgctgagg cggatgcggt 7260
cctcgggggc aacagcgatc tgtgcgagcg ggaggaggag gaatcctacg aggcggcgcg 7320
agcccgggtg ctcggcttct tcgacgaggt ggccgagcgg cacgccggcc ggcgggtcct 7380
ggtcgtcggc cacggcggac cgcacgcatg gctggtggag cgggcgcttg gcgccgagat 7440
gcgaggcgtg cgccgcatgc gctgggacac gggtcacttc tcgcggttca aggtcacgcc 7500
caaccaggtc gcactggact acctcaaccg gtcaccggaa gacatcacgc gatgaccgac 7560
gcaaaggacg cgaccacgac cgcctcggat ccacgacgac ggccacgggt cgccgtggtg 7620
gccacccccc tcggcttcgg tcctgcctcg aaggcgtaca gcatcggcga agtcctgcgc 7680
acccattggg gtgtggacgt ccagtactac ggaacggact ccgcccgcga cttcttctcc 7740
gcgcagcccg atgtgaggcc cctggcgccg gaggcggtcg gtggcaccgg agcgatcgac 7800
gccgtgctga acgtgctggc tccggatctg atccgaagtt ccgaggaggc agcccggacg 7860
tactacgtcg acagcctcgg cttcatgtgg cagccctcgg acattccgga cggcagtctg 7920
ctcacaaggg tgcatcggta cttcgcccag gacgtcttcg gcagcgttga ccatctcacc 7980
gcgctcggga tcaccggagt gactcccgtc tcgggaatcg tcgccgaaac agcgccgacc 8040
gacatctcgc cgggcccacg ctccgtgagg cggctgctcg tccagctcgg cggcctgagc 8100
aacccggccg ggcgctcttc cggagaggtc tacctcgcac tcgccgcggg actgctcacg 8160
gctctgcggc aggacccgta cgaactgagc attgccatga accgcgcggg cggcacgttc 8220
tccctggggt cgctcggcca ggcccgccag ttgtccggcc gcgacttcca ccgtgaactg 8280
gccacctgcg ccggtgtcct cagctcaccc ggcatgacca ccctcatcga ggtgtcgcgc 8340
gccaagtgcc cctatgttcc cttaccgcct caaaactgga gccaagtatt aatatcgcgc 8400
catatggcgc gacattcacg cctggggatc tgggactttc tgatcggtcc gtacgccacg 8460
gtggacgccc gtgcccccga ggctcagaag gcggcccagg tgggggagat caaccagttg 8520
ctggcggggg acaccggcta cacgacggcc tatgtggacc tggcccggac ggcactggcc 8580
gaagctcgag tacccgacgt gggggcaccg ttcgacgggg cgcatgtcgt ggccgcctcc 8640
atcgcagacg atctcatcaa gggcacatcg cgttgcgggc ggggctcgcg tacggagttg 8700
aaggaccacg gcacaccgac cggtgaactc tgaagaaaag ggattccgat gacgcagcac 8760
atcgacagcg gcctcgtggc cgtgcttcag tcgctcgcgc acgaggtgga aaccgcgcgc 8820
gagtggagcc aggcatcgca gacgctggca caggagcggg tggccactgt cttcggctcg 8880
gcccgtacgc gccgcggcga accggcgtac accctggcgt atgaactcgc cacggcactg 8940
gccgcggcga agtggaccac gatcaccggc ggtggccccg gcatcatgca ggccgcgcgg 9000

gacggcagtg gggagggctt gtcccgagcg gtgcgggtgg ggatcccccg gtgaggaacc 9060
cgacaccgtg ctggacccgt ccaggtccat caccgtcgcg accttcgcac tgcgcaagtt 9120
actcctgacc cacgacatcg acgctctgtt cgtcttcccc ggtggtgtcg gcaccttcga 9180
cgagctgtac gaggtgctgg tccaccagga caccaaccga cttgcctggt tcccggtcgt 9240
cctgatgcag ccggccggtg agagtctctg gtcggcctgg ctggagttca tggagaagca 9300
cttggtcagc acgggactgg ccagctcctc cgtgatcaag cggctggttg tggccgagtc 9360
ggtggaagag gccctggcag ccgccgaggg gccgcgtacg acggcctgcg gaacgagcgg 9420
ttctccgtcg cccggaacac gtcacggggc gaccggaaag tgactgccac cgaggacgac 9480
cggcctcaca gccaggcaga tacaaggccg cctggtgccg cacaggtccg catcagcgtg 9540
atcattccaa cgttcaacgc ccgcaccact ctgcgatgct gtcttctctc gctcctccac 9600
cagaggttcg gcgttcacgg atcggacgcg gggcctccgt tcacgtacga ggtcatcgtc 9660
gtggacgacg gttcctccga cggcacaagc gaaatgatcg cccagttccc ctcccgactc 9720
gacctgcggt acaccttcct gcctcgaacg gacagatcgg gtcgggcccg ggcacggaat 9780
gccggtctgg ctctcgccac gggaggcctt gtggtgacgc tcgacgccga ccaagtggtg 9840
gagccccact ttcttgccga acacgcccgg ctgcacgcag gcggcccggg ccgtgttgtc 9900
gcaggccggc gtctccaact cgccgacggg ccaatggacg aggcgcgcct ggagcacggg 9960
ttcgacccgc aggccctccc accggtggtc cggggcgacg agcgggagca gctgttccgt 10020
ctcctcgaca gctccctgga ggacatggtg accggctggc accacgtctg gacctgcaac 10080
gcctccttcc cccgggacag gcttgaggcg gtcgggggct tcgacgagac gttcaccggc 10140
tgggggctgg aggacgctga actcgcctat cggctggtgc agggcggtgc aaccacgcac 10200
ttcgccccgt cggcggtggt ccgccacgag caccgcacac cggtaacagc cgacatgtac 10260
cgggagtggt gccgcaacct ggcccacttc gtgcgccgac atcccgcacc ggaggtgcgg 10320
ctccaggaga tattcgctcc cgccatcgac cccgaccggt ccgcaccggg aacgtgggac 10380
gacatcgccg ccgagttcga gcacacggct cgccggctcg gcgctgaccc cggccagcat 10440
cggtagccgc catgaccggt tccgttgctg tggcagcacc cgctcatgtg ccgcagcagc 10500
ggaacccccc tggaccacac tgagaggagg cgattcaccg ccatgcccac ccctgcggga 10560
aacgtccccg accatctcgc cccgaccgtc cgccgggtcg tctatctgcc ggtcaaccgc 10620
cccttcgagg cggcattcca ctccgtggcc gccgaagtgg catcgttgga gaagagccag 10680
cgagacaacg tcaccctcct cgtcgtcgac gactgcgcgc cgccggtgtc acgggccaac 10740
cgccaggtga ccgagcgggt agcccgtgaa tcgggcctgc gcgtacacac actggaccaa 10800
caggcctggc gtcgtctggc caccacactg atcgcggctg ccgggctgac cggggccgac 10860
cgagccacgg cgcagaccgc cctggtcaaa cccaccggtt cctacggggc aggtcccaac 10920
aaggccgccc tggtcgccgc cctggaaggt gcggtctccc tgcatcgccg ggacagcgac 10980
cagatcacga ccgtagaccc cgacaccgga gcctctccgc tccgtctgga agccgacctc 11040
ctcagtcgcg cccgccccga gggcggcgct gcggcctact gcgcaggctc cttcctcacg 11100
ggtcgcccaa cgcgagaccg aagggacctg gaacgcgact cgacggagta cgcggcccgt 11160
atcgacgcgc tgagccaact cccctccgcc ccggcccgac gcccacctct cccgcctgtc 11220
cgggaacggg cggcgctcct gggagggcag cacgccgagc gcgacctgac aggtgtggtc 11280

gagatgggga tcgcagccat gcgaagcgtg tacgagtgga ttccagagat gcccgccgtg 11340

ggcatcctcg gcagcgacta cttccagaag ggactgctct atcagctcga cctcccggtc 11400

ttccaccaca gcctcccagc ccggcacacc tacgaatcct ggcgcacgga gcagcgcgac 11460

gattcccatc tggcctggta cgtgcgggcg gaggtgcgct acgccgtact gcgccgccac 11520

tggaacagct tcaaccacct gctcgtggcc gaacgggcgc gtgtgctgtc cgatgggcac 11580

ttcgactccc gggcttacgg agagctgttc gtcgaagcgc tccacgaggg cgcccggggg 11640

gcggaaagca ttcccgacga cttcgtggcc gtataccgcg acgccgcgaa cgcggccact 11700

ggcgaggtcc gccggcgtct tctggtgcgg ctggccggac tggaagagga gaccggtgct 11760

gtcaacgcat acgtggccgg cgccatccac gaattcgccg ccctctcacg tctgtggccc 11820

ggattgatct ctgccgcaca acgggtcggg aggacgaccg cgctggagac gtttacccac 11880

tga 11883

<210> 77
<211> 399
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 77

Met Leu Leu Leu Leu Ser Val Leu Val Ile Glu Val Thr Gly Ser Ala
1 5 10 15

Ala Ser Ala Pro Leu Val Ile Ala Ala Gly Ala Leu Pro Ala Leu Leu
20 25 30

Leu Val Arg Trp Val Arg Ser Val Asn Arg Leu Leu Asp His Arg Trp
35 40 45

Val Met Ile Leu Ser Asp Thr Gly Ala Phe Ala Val Ala Leu Ala Leu
50 55 60

Phe Leu Leu Ser Gln Ala Asp Val Gln Ala Trp Gln Ile Tyr Cys Gly
65 70 75 80

Val Ala Leu Phe Ser Gly Phe Gly Ala Phe Tyr Leu Pro Ala Met Arg
85 90 95

Gly Trp Val Ala Asp Gln Ser Gly Asp Ile Thr Gln Leu Thr Trp Leu
100 105 110

Asn Ser Met Leu Ala Val Ala Thr Gln Ala Ser Val Val Val Gly Trp
115 120 125

Ala Leu Gly Gly Val Leu Ala Ser Thr Val Gly Ile Ser Phe Ala Leu
130 135 140

Gly Leu Cys Ala Ile Ala Tyr Ala Cys Gly Ile Val Leu Gln Phe Val
145 150 155 160

Val Phe Val Val Val Asn Arg Thr Pro Leu Arg Arg Asp Ala Ala Pro
165 170 175

Val Ala Gly Pro Gly Glu Arg Arg Arg Ser Ser Ala Lys Glu Val Pro
180 185 190

Glu Thr Ala Met Arg Gln Glu Gly Gly Ala Trp Arg Thr Val Phe Ser
195 200 205

Pro Arg Arg Leu Gly Leu Phe Thr Gly Ser Leu Leu Ala Met Glu Leu
210 215 220

Ser His Val Leu Ala Phe Ser Met Phe Val Pro Leu Val Thr Gln Ala
225 230 235 240

Ser Ala Asp Arg Ser Trp Val Ala Gly Leu Ala Asn Ala Cys Phe Ala
245 250 255

Leu Ala Ala Ile Gly Ser Gly Val Leu Val Ser Gly Gly Ser Leu Gly
260 265 270

Asn Trp Val Arg Ser His Ala Pro Gly Val Leu Ile Ala Gly Phe Ala
275 280 285

Val Gln Thr Val Phe Gly Leu Ser Ala Ser Gln Thr Val Leu Ala Val
290 295 300

Ala Leu Tyr Thr Leu Val Gly Val Leu Ser Gly Gly Asp Thr Val Leu
305 310 315 320

Gln Ser Glu Val Gln Asp Arg Trp Arg Ser Val Gly Ser Ser Gln Ala
325 330 335

Phe Ala Val Phe Gly Ala Val Ser Gly Pro Ser Gln Leu Val Gly Ser
340 345 350

Leu Val Ile Ala Phe Leu Leu Leu His Phe Ser Ile Thr Ala Val Tyr
355 360 365

Val Gly Thr Ile Met Ile Leu Gly Phe Gly Ser Ala Leu Leu Leu Val
370 375 380

Val Ala Arg Ala Lys Ser Ile Asn Pro Val Glu Glu Val Ile Pro
385 390 395

<210> 78
<211> 213
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 78

Met His Leu Val Ile Ala Lys His Leu Ser Asp Val Glu Ser Leu Leu
1 5 10 15

Phe Ser Ala Asp Gly Ile Gly Pro Asn Ala Ser Gln Lys Ser Leu Ile
20 25 30

Ala Leu His Thr Thr Leu Thr Pro Glu Val Val Arg Asp Leu His Thr
35 40 45

Arg Met Gly Asp Thr His Gly His Met Leu Val Asp Ala Ala Leu Ser
50 55 60

Arg Arg Gly Gly Ala Val Arg Glu Gly Ser Leu Ser Leu Phe Val Gly
65 70 75 80

Ala Gly Asp Glu Ala Phe Ala Val Ala Arg Pro Val Phe Asp Arg Tyr
85 90 95

Ala Asp Asn Val Val His Ala Gly Asp Val Gly Ala Gly Met Thr Val
100 105 110

Lys Leu Cys Asn Asn Trp Leu Leu Tyr Ala Asn Arg His Ser Ala Leu
115 120 125

Gln Ala Ile Arg Thr Gly Arg Gln Leu Gly Val Asp Pro Ala Val Leu
130 135 140

Thr Asp Ala Leu Ala Ser Ser Thr Gly Ser Ser Trp Ala Leu Ser His
145 150 155 160

Tyr Ser Asp Leu Asp Glu Ala Ile Val Thr Gly Arg Gly Ala Pro Ala
165 170 175

Val Ile Arg Asp Arg Thr Ala Ser Glu Leu Gly Met Ala Lys Gln Met
180 185 190

Ala Ala Arg Asp Gly Val Val Pro Thr Ser Leu Gln Glu Thr Phe Ala
195 200 205

Leu Leu Asp Val Met
210

<210> 79
<211> 143
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 79

Met Glu Ala Ala Asp Pro Cys Glu Phe Asp Phe Ala Arg Ala Val Val
1 5 10 15

Gly Gln Ser Glu Ala Ala Val Ala Glu Arg Arg Ala Ala Gly Leu Arg
20 25 30

Leu Arg His Val Glu Gly Ala Val Arg Cys Leu Ala Ala Val Asp Ala
35 40 45

Glu Gly Val Leu Arg Gly Gln Ala Phe Val Leu Arg Asp Arg His Thr
50 55 60

Ala Ile Leu Met His Gln Trp Phe Asp Arg Thr Gly Pro Arg Gly Thr
65 70 75 80

Pro Thr Leu Leu Val Asp Ser Ala Val Val Gln Thr Leu Glu Ser Pro
85 90 95

Gly Val Ile Ser Phe Asp Phe Glu Gly Ser Val Ile Pro Gly Ile Asp
100 105 110

Arg Phe Met Ala Gly Phe Gly Ala Gln Ala Val Gly Tyr Gly Gln Phe
115 120 125

Arg Trp Gln Gln Asp Gly Arg Glu Glu Pro Ala Gly Arg Phe Gly
130 135 140

<210> 80
<211> 304
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 80

Met Gln Gln Ser Pro Ala Tyr Ala Arg Ala Val Gly Glu Ser Gly Arg
1 5 10 15

Asp Val Leu Val Val Met Gly His Arg Gly Val Phe Pro Leu Gln Leu
20 25 30

Gly Ser Asp Val Cys Thr Ala Leu Gly Gly Asp Arg Pro Leu Leu Ala
35 40 45

Asp Cys Thr Val Pro Leu Pro Leu Val Ala Leu Val Ala Ala Ala Ala
50 55 60

Asp Ala Thr Gly Leu Pro Val Tyr Leu Pro Leu Val Asp Ala Ser Leu
65 70 75 80

Ala Glu Ala Gly Val Val Asp Ala Phe Ser Val Trp Glu Arg Pro Pro
85 90 95

Asn Ser Leu Ile Asp Trp Ser Leu Asp Gly Ala Asp Leu Trp Asp Arg
100 105 110

Val Thr Glu Arg Gly Gly Ser Gln Trp Ser Arg Lys Gln Arg Leu Val
115 120 125

Glu Arg Asp Gly Leu Asn Leu Ser Phe Gly Arg Ser Gly Glu Ala Ala
130 135 140

Ala Glu Glu Val Leu Arg Ile Asp Asp Arg Ser Trp Lys Ser Ala Arg
145 150 155 160

Gly Gln Asn Met Arg Ala Arg Glu Gly Gln Asp Arg Leu Tyr Ala Gly
165 170 175

Leu Ile Gly Ala Gly Val Leu Thr Ala Thr Phe Leu Arg Asp Gly Asp
180 185 190

His Ser Val Ala Phe Arg Leu Asp Ser Arg Val Lys Gly Arg Leu Thr
195 200 205

Cys Leu Lys Trp Ser Tyr Asp Glu Ser Tyr Arg Arg Tyr Ser Pro Gly
210 215 220

Val His Leu Leu Thr Gln Gly Leu Arg Gln Glu Trp Cys Gly Arg Gly
225 230 235 240

Ile Glu Val Val Asp Leu His Gly Ser Pro Asp Ser Leu Lys Asp Leu
245 250 255

Leu Cys Thr Asp Arg Met Ser Arg Val Asp Leu Trp Tyr Gly Asp Pro
260 265 270

Leu Ala Gly Ala Arg Arg Ala Ala Glu Arg Thr Gly Phe Asp Arg Arg
275 280 285

Met Arg Ala Val Arg Asp Gly Gly Lys Gly Leu Arg His Ala Phe Glu
290 295 300

<210> 81
<211> 326
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 81

Met Glu Arg Pro Asp Glu Gly Ala Lys Gly Phe Ala Gly Ala Ala Asp
1 5 10 15

His Val Thr Val Gly Ala Ala Val Thr Glu Leu Thr Arg Arg Met Ala
20 25 30

Gln Pro Ala Val Glu Phe Thr Ala Ser Gly Thr Ala Ala Leu Glu Ala
35 40 45

Ala Leu Glu Val Leu Gly Ile Gly Arg Gly Asp Glu Val Val Val Pro
50 55 60

Asp Val Gly Cys His Ser Val Ala Ala Ala Val Val Arg Arg Gly Ala
65 70 75 80

Ile Pro Val Phe Thr Gly Val Gly Glu Ala Leu Thr Leu Asp Pro Leu
85 90 95

Gly Val Ser Leu Ala Cys Gly Pro Arg Thr Arg Ala Val Val Ala Val
100 105 110

His Gln Tyr Gly Leu Pro Cys Asp Val Pro Gly Ile Met Lys Thr Val
115 120 125

Gly Pro Asp Ile Pro Val Ile Glu Asp Val Ala Gln Thr Trp Gly Ser
130 135 140

Ala Val Gly Gly Ala Pro Ala Gly Ser Leu Gly Thr Ile Ala Val Ile
145 150 155 160

Ser Phe Gly Ser Thr Lys Pro Val Ala Leu Gly Ala Gly Gly Ala Leu
165 170 175

Phe Gly Pro Ala Ser Leu Ile Arg Gly Ala Val Ser Arg Gly Asp Gly
180 185 190

Ala Asp Arg Gln Leu Leu Arg Pro Pro Ser Ala Ala Arg Phe Pro Ala
195 200 205

Pro Leu Leu Ala Arg Leu Pro Glu Ala Leu Ala Arg Ala Asp Arg Leu
210 215 220

Leu Ala Ser Arg Arg Ala Ala Val Glu Ala Phe Leu Arg Gly Pro Leu
225 230 235 240

Ala Gln Glu Leu Arg Leu Pro Pro Thr Pro Ser Gly Ser Ser Ser Gly
245 250 255

Trp Thr Arg Thr Pro Leu Tyr Pro Ile Ala Pro Ala Thr Ser Val Thr
260 265 270

Ala Glu Gln Val Glu Arg Leu Glu Ala Cys His Gly Pro Val Gln Arg
275 280 285

Met His Ala Thr Pro Pro Ser Ala Leu Pro Met Phe Arg Gly Ser Thr
290 295 300

Thr Arg Val Thr Gly Gly Gly Arg Arg Leu Thr Glu Pro Leu Leu Val
305 310 315 320

Lys Met Gly Ser Pro Arg
325

<210> 82
<211> 397
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 82

Met Thr Ala Arg Asn Leu Thr Thr Arg Ala Gly Val Ile Asn Pro His
1 5 10 15

Gln Leu Phe Asp Leu Ser Gln Glu Asp Thr Asp Ser Phe Ser His Leu
20 25 30

Lys Ser Val Leu Ala Asp Gly Gln Leu Phe Arg Tyr Val Glu Ser Asp
35 40 45

Arg Glu Ser Ala Asn Thr Leu Val Glu Arg His Phe Ala Glu His Phe
50 55 60

Arg Lys Glu Arg Ala Val Ala Val Ala Asn Gly Thr Val Gly Leu Arg
65 70 75 80

Leu Ala Leu Arg Ala Leu Gly Ile Gly Pro Gly His Arg Val Ala Val
85 90 95

Asn Ala Tyr Ala Phe Ile Ala Cys Ala Met Ala Ile Ser Ala Thr Gly
100 105 110

Ala Glu Pro Val Pro Val Asp Met Gly Gly Ser Val Leu Ser Met Asp
115 120 125

Ala Asp Ala Leu Glu Lys Ser Val Gly His Leu Asp Ala Val Leu Leu
130 135 140

Val His Val Gln Gly His Ala Leu Ala Ala Gly Pro Ile Arg Ala Val
145 150 155 160

Cys Asp Arg Leu Gly Ile Pro Met Ile Glu Asp Val Cys Gln Ala Leu
165 170 175

Gly Ala Gly Ser Ser Glu Ala Gly Ala Gly Arg Val Gly Asp Val Ala
180 185 190

Val Thr Ser Phe Gln Gln Ala Lys Gln Ile Ser Ser Gly Glu Gly Gly
195 200 205

Leu Val Ala Gly Pro Asp Glu Val Ile Glu Arg Val Tyr Arg Leu Ser
210 215 220

Asp Leu Gly Ala Val Arg Gln Glu Asn Gly Leu Pro Asp Trp Asp His
225 230 235 240

Glu Asp Ala Leu Ile Gly Asp Asn Leu Arg Met Thr Glu Leu Gln Ala
245 250 255

Ala Leu Val Met Asp Gln Ala Val Arg Leu Glu Asp Thr Leu Ala Arg
260 265 270

Gln Arg Glu Arg Arg Ser Arg Leu Arg Ala Gly Leu Ser Asp Ile Pro
275 280 285

Val Ile Glu Ser Glu Asn Pro Ala Asp Asp Ala Gly Ser His Thr Leu
290 295 300

Val Leu Ala Arg Asp Thr Ala Ala Ala Glu Glu Phe Arg Val Glu Leu
305 310 315 320

Ala Arg Arg Gly Val Leu Ala Arg Pro Val Trp Lys Lys Ser Trp Val
325 330 335

Glu Tyr Gly Leu Tyr Arg Arg Glu Phe Ala Ser Gly Ala Pro Ala Gly
340 345 350

Pro Trp Pro Gly Lys Ala Val Gly Leu Ala Ser Arg Ile Leu Ser Ile
355 360 365

Pro Thr Ser Lys Tyr Val Thr Asp Ser Ala Val Asp Gln Val Ala Glu
370 375 380

Ala Ile Ala Ala Gly Arg Gln His Leu Thr Gln Asp Arg
385 390 395

<210> 83
<211> 378
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 83

```
Met Ser Ser Phe Ala Leu Leu Leu Arg Gly Leu Pro Asn Ser Gly Lys
1               5                  10                  15

Thr Thr Thr Ala Ala Leu Leu Arg Asn Ala Leu Lys Pro Ser Val Arg
            20                  25                  30

Ile Ser Asn Asp Ser Val Arg Tyr Met Ala Gln Pro Arg Asp Phe Ser
        35                  40                  45

Asp Phe Thr Leu Val Ala Ser Glu Leu Gly Cys Leu Asp Leu Ala Ser
    50                  55                  60

Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Phe Val Pro Val Ile Asp Gly Val Phe Glu
65                  70                  75                  80

Asp Val Asp Phe Leu Ser Ala Gln Lys Leu Arg Phe His Arg Lys Gly
                85                  90                  95

Met Arg Leu Ile Val Ile Thr Leu Glu Gly Ser Leu Ser Asp Leu Leu
            100                 105                 110

Asp Arg Asn Ala Ser Arg Asp Pro Leu Ala Arg Met Glu Glu Asp Arg
        115                 120                 125

Met Arg Glu Leu His Ala Gln Phe Arg Pro Ser Gly Ile Val Leu Ser
    130                 135                 140

Leu Asp Gly Lys Gln Pro Glu Glu Val Ala Asp Asp Val Leu Asp Leu
145                 150                 155                 160

Leu Asp Leu Gln Pro Pro Tyr Gln Gly Glu Ala Ala Asp Gln Gly Ala
                165                 170                 175

Ala Asp Ile Leu Phe Leu Arg His Gly Ala Pro Glu Tyr Pro Ser Asp
            180                 185                 190

Ile Tyr Pro Asp Pro Tyr Ala Met Gly Leu Ser Glu Gln Gly Ile Asp
        195                 200                 205

Glu Ala Arg Val Ala Arg Ala Ala Val Glu Arg Phe Ala Pro Glu Ile
    210                 215                 220

Val Tyr Thr Ser Asp Phe Arg Arg Ala Glu Gln Thr Ala Ser Leu Val
225                 230                 235                 240

Thr Ala Thr Ile Asp Val Thr Pro Gln Pro Glu His Arg Leu Arg Glu
                245                 250                 255

Arg Val Phe His Gln Leu Ala Gly Val Glu Leu Asp Glu Val Arg Ser
            260                 265                 270

Gln Leu Gly Ala Glu Ala Asp Ala Val Leu Gly Gly Asn Ser Asp Leu
        275                 280                 285

Cys Glu Arg Glu Glu Glu Glu Ser Tyr Glu Ala Ala Arg Ala Arg Val
    290                 295                 300
```

Leu Gly Phe Phe Asp Glu Val Ala Glu Arg His Ala Gly Arg Arg Val
305 310 315 320

Leu Val Val Gly His Gly Gly Pro His Ala Trp Leu Val Glu Arg Ala
325 330 335

Leu Gly Ala Glu Met Arg Gly Val Arg Arg Met Arg Trp Asp Thr Gly
340 345 350

His Phe Ser Arg Phe Lys Val Thr Pro Asn Gln Val Ala Leu Asp Tyr
355 360 365

Leu Asn Arg Ser Pro Glu Asp Ile Thr Arg
370 375

<210> 84
<211> 393
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 84

Met Thr Asp Ala Lys Asp Ala Thr Thr Thr Ala Ser Asp Pro Arg Arg
1 5 10 15

Arg Pro Arg Val Ala Val Val Ala Thr Pro Phe Gly Phe Gly Pro Ala
20 25 30

Ser Lys Ala Tyr Ser Ile Gly Glu Val Leu Arg Thr His Trp Gly Val
35 40 45

Asp Val Gln Tyr Tyr Gly Thr Asp Ser Ala Arg Asp Phe Phe Ser Ala
50 55 60

Gln Pro Asp Val Arg Pro Leu Ala Pro Glu Ala Val Gly Gly Thr Gly
65 70 75 80

Ala Ile Asp Ala Val Leu Asn Val Leu Ala Pro Asp Leu Ile Arg Ser
85 90 95

Ser Glu Glu Ala Ala Arg Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Leu Gly Phe Met
100 105 110

Trp Gln Pro Ser Asp Ile Pro Asp Gly Ser Leu Leu Thr Arg Val His
115 120 125

Arg Tyr Phe Ala Gln Asp Val Phe Gly Ser Val Asp His Leu Thr Ala
130 135 140

Leu Gly Ile Thr Gly Val Thr Pro Val Ser Gly Ile Val Ala Glu Thr
145 150 155 160

Ala Pro Thr Asp Ile Ser Pro Gly Pro Arg Ser Val Arg Arg Leu Leu
165 170 175

Val Gln Leu Gly Gly Leu Ser Asn Pro Ala Gly Arg Ser Ser Gly Glu
180 185 190

Val Tyr Leu Ala Leu Ala Ala Gly Leu Leu Thr Ala Leu Arg Gln Asp
195 200 205

Pro Tyr Glu Leu Ser Ile Ala Met Asn Arg Ala Gly Gly Thr Phe Ser
210 215 220

Leu Gly Ser Leu Gly Gln Ala Arg Gln Leu Ser Gly Arg Asp Phe His
225 230 235 240

Arg Glu Leu Ala Thr Cys Ala Gly Val Leu Ser Ser Pro Gly Met Thr
245 250 255

Thr Leu Ile Glu Val Ser Arg Ala Lys Cys Pro Tyr Val Pro Leu Pro
260 265 270

Pro Gln Asn Trp Ser Gln Val Leu Ile Ser Arg His Met Ala Arg His
275 280 285

Ser Arg Leu Gly Ile Trp Asp Phe Leu Ile Gly Pro Tyr Ala Thr Val
290 295 300

Asp Ala Arg Ala Pro Glu Ala Gln Lys Ala Ala Gln Val Gly Glu Ile
305 310 315 320

Asn Gln Leu Leu Ala Gly Asp Thr Gly Tyr Thr Thr Ala Tyr Val Asp
325 330 335

Leu Ala Arg Thr Ala Leu Ala Glu Ala Arg Val Pro Asp Val Gly Ala
340 345 350

Pro Phe Asp Gly Ala His Val Val Ala Ala Ser Ile Ala Asp Asp Leu
355 360 365

Ile Lys Gly Thr Ser Arg Cys Gly Arg Gly Ser Arg Thr Glu Leu Lys
370 375 380

Asp His Gly Thr Pro Thr Gly Glu Leu
385 390

<210> 85
<211> 101
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 85

Met Thr Gln His Ile Asp Ser Gly Leu Val Ala Val Leu Gln Ser Leu
1 5 10 15

Ala His Glu Val Glu Thr Ala Arg Glu Trp Ser Gln Ala Ser Gln Thr
20 25 30

Leu Ala Gln Glu Arg Val Ala Thr Val Phe Gly Ser Ala Arg Thr Arg
35 40 45

Arg Gly Glu Pro Ala Tyr Thr Leu Ala Tyr Glu Leu Ala Thr Ala Leu
50 55 60

Ala Ala Ala Lys Trp Thr Thr Ile Thr Gly Gly Gly Pro Gly Ile Met
65 70 75 80

Gln Ala Ala Arg Asp Gly Ser Gly Glu Gly Leu Ser Arg Ala Val Arg
85 90 95

Val Gly Ile Pro Arg
100

<210> 86
<211> 131
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 86

Met Leu Asp Pro Ser Arg Ser Ile Thr Val Ala Thr Phe Ala Leu Arg
1 5 10 15

Lys Leu Leu Leu Thr His Asp Ile Asp Ala Leu Phe Val Phe Pro Gly
20 25 30

Gly Val Gly Thr Phe Asp Glu Leu Tyr Glu Val Leu Val His Gln Asp
35 40 45

Thr Asn Arg Leu Ala Trp Phe Pro Val Val Leu Met Gln Pro Ala Gly
50 55 60

Glu Ser Leu Trp Ser Ala Trp Leu Glu Phe Met Glu Lys His Leu Val
65 70 75 80

Ser Thr Gly Leu Ala Ser Ser Ser Val Ile Lys Arg Leu Val Val Ala
85 90 95

Glu Ser Val Glu Glu Ala Leu Ala Ala Ala Glu Gly Pro Arg Thr Thr
100 105 110

Ala Cys Gly Thr Ser Gly Ser Pro Ser Pro Gly Thr Arg His Gly Ala
115 120 125

Thr Gly Lys
130

<210> 87
<211> 170
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 87

Met Asp Glu Ala Arg Leu Glu His Gly Phe Asp Pro Gln Ala Leu Pro
1 5 10 15

Pro Val Val Arg Gly Asp Glu Arg Glu Gln Leu Phe Arg Leu Leu Asp
20 25 30

Ser Ser Leu Glu Asp Met Val Thr Gly Trp His His Val Trp Thr Cys
35 40 45

Asn Ala Ser Phe Pro Arg Asp Arg Leu Glu Ala Val Gly Gly Phe Asp
50 55 60

Glu Thr Phe Thr Gly Trp Gly Leu Glu Asp Ala Glu Leu Ala Tyr Arg
65 70 75 80

Leu Val Gln Gly Gly Ala Thr Thr His Phe Ala Pro Ser Ala Val Val
85 90 95

Arg His Glu His Arg Thr Pro Val Thr Ala Asp Met Tyr Arg Glu Trp
100 105 110

Cys Arg Asn Leu Ala His Phe Val Arg Arg His Pro Ala Pro Glu Val
115 120 125

Arg Leu Gln Glu Ile Phe Ala Pro Ala Ile Asp Pro Asp Arg Ser Ala
130 135 140

Pro Gly Thr Trp Asp Asp Ile Ala Ala Glu Phe Glu His Thr Ala Arg
145 150 155 160

Arg Leu Gly Ala Asp Pro Gly Gln His Arg
165 170

<210> 88
<211> 446
<212> PRT
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 88

Met Pro Thr Pro Ala Gly Asn Val Pro Asp His Leu Ala Pro Thr Val
1 5 10 15

Arg Arg Val Val Tyr Leu Pro Val Asn Arg Pro Phe Glu Ala Ala Phe
20 25 30

His Ser Val Ala Ala Glu Val Ala Ser Leu Glu Lys Ser Gln Arg Asp
35 40 45

Asn Val Thr Leu Leu Val Val Asp Asp Cys Ala Pro Pro Val Ser Arg
50 55 60

Ala Asn Arg Gln Val Thr Glu Arg Val Ala Arg Glu Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Val His Thr Leu Asp Gln Gln Ala Trp Arg Arg Leu Ala Thr Thr Leu
85 90 95

Ile Ala Ala Ala Gly Leu Thr Gly Ala Asp Arg Ala Thr Ala Gln Thr
100 105 110

Ala Leu Val Lys Pro Thr Gly Ser Tyr Gly Ala Gly Pro Asn Lys Ala
115 120 125

Ala Leu Val Ala Ala Leu Glu Gly Ala Val Ser Leu His Arg Arg Asp
130 135 140

Ser Asp Gln Ile Thr Thr Val Asp Pro Asp Thr Gly Ala Ser Pro Leu
145 150 155 160

Arg Leu Glu Ala Asp Leu Leu Ser Arg Ala Arg Pro Glu Gly Gly Ala
165 170 175

Ala Ala Tyr Cys Ala Gly Ser Phe Leu Thr Gly Arg Pro Thr Arg Asp
180 185 190

Arg Arg Asp Leu Glu Arg Asp Ser Thr Glu Tyr Ala Ala Arg Ile Asp
195 200 205

Ala Leu Ser Gln Leu Pro Ser Ala Pro Ala Arg Arg Pro Pro Leu Pro
210 215 220

Pro Val Arg Glu Arg Ala Ala Leu Leu Gly Gly Gln His Ala Glu Arg
225 230 235 240

Asp Leu Thr Gly Val Val Glu Met Gly Ile Ala Ala Met Arg Ser Val
245 250 255

Tyr Glu Trp Ile Pro Glu Met Pro Ala Val Gly Ile Leu Gly Ser Asp
260 265 270

Tyr Phe Gln Lys Gly Leu Leu Tyr Gln Leu Asp Leu Pro Val Phe His
275 280 285

His Ser Leu Pro Ala Arg His Thr Tyr Glu Ser Trp Arg Thr Glu Gln
290 295 300

Arg Asp Asp Ser His Leu Ala Trp Tyr Val Arg Ala Glu Val Arg Tyr
305 310 315 320

Ala Val Leu Arg Arg His Trp Asn Ser Phe Asn His Leu Leu Val Ala
325 330 335

Glu Arg Ala Arg Val Leu Ser Asp Gly His Phe Asp Ser Arg Ala Tyr
340 345 350

Gly Glu Leu Phe Val Glu Ala Leu His Glu Gly Ala Arg Gly Ala Glu
355 360 365

Ser Ile Pro Asp Asp Phe Val Ala Val Tyr Arg Asp Ala Ala Asn Ala
370 375 380

Ala Thr Gly Glu Val Arg Arg Arg Leu Leu Val Arg Leu Ala Gly Leu
385 390 395 400

Glu Glu Glu Thr Gly Ala Val Asn Ala Tyr Val Ala Gly Ala Ile His
405 410 415

Glu Phe Ala Ala Leu Ser Arg Leu Trp Pro Gly Leu Ile Ser Ala Ala
420 425 430

Gln Arg Val Gly Arg Thr Thr Ala Leu Glu Thr Phe Thr His
435 440 445

<210> 89
<211> 1200
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 89
atgcttctgc tgctgtccgt tctggtgatc gaggtgacgg gttcggcggc cagtgctcct 60
ttggtcatcg ctgccggcgc actgcctgcg ctgcttctgg tgcgctgggt gcggagcgtc 120
aaccgtctcc tggaccatcg ctgggtgatg atcctctcgg acacaggagc tttcgcagtc 180
gcgctggctc tcttcctgct gtcgcaggcc gacgtccaag cctggcagat ctactgcggc 240
gtcgccttgt tctccggctt cggcgccttc tacctgcccg caatgcgtgg ctgggtggcc 300
gaccagtcgg gcgacatcac ccaactcacg tggctcaact cgatgctggc ggtggctacg 360
caggcgtccg tcgtcgtcgg gtgggcgctt gggggtgttc tggcaagcac ggtcgggatc 420
agcttcgctc tggggctgtg cgccatcgcc tacgcatgcg gcatcgtgct gcagttcgtc 480
gtatttgttg tggtcaaccg gacgccgcta cgtcgggacg ctgcaccggt ggccggcccg 540
ggagagcggc ggcgttcttc ggcgaaggag gtgccggaga cggccatgcg gcaggagggc 600
ggtgcgtggc gcacggtctt ctcgccgcgc aggctcggtc tgttcactgg ctcgttgctc 660
gcgatggagc tcagccatgt gctggctttc agtatgtttg tcccacttgt cactcaggct 720
tccgccgacc gatcctgggt ggcgggcctg gccaacgcat gtttcgccct ggcggcgatc 780
ggcagcggag tgctcgtctc cggaggatca ctcggcaact gggtgcgcag ccacgcacca 840
ggagtcctca tcgccggttt cgctgtgcag acggtgttcg gactcagcgc gagtcagacc 900
gtcctggccg ttgccctcta cacgctggtc ggtgtgctca gcggcgggga caccgtgctg 960
cagagtgagg tgcaggatcg ctggcggagt gtcgggtcct cccaggcgtt cgccgttttc 1020
ggcgctgtgt ccggaccttc ccaactggtc ggctccttgg tcattgcttt tctgctcctg 1080
cacttctcga tcaccgccgt ctatgtcgga acaatcatga ttctgggatt cggttcggcg 1140
ctccttctgg tcgtggcgag agcgaagtcg ataaatcctg tggaagaagt catcccgtag 1200

<210> 90
<211> 642
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 90
gtgcacctgg tcatcgcgaa gcacctttcc gacgtggagt cacttctctt ctccgccgac 60
gggataggcc cgaatgcttc tcaaaagtcc ctgatcgcgc tgcacaccac actcaccccg 120
gaggttgtgc gggacctgca cacccggatg ggggacaccc acggacacat gctggtggat 180
gccgcgctca gccgccgcgg cggtgctgtg cgcgagggtt cgttgtccct gttcgtcggg 240
gcaggagacg aggccttcgc cgtagcccgg ccggtcttcg accgctacgc cgacaacgtc 300
gtccacgccg gagacgtcgg tgccggcatg acggtcaagc tctgcaacaa ctggctgctc 360
tacgcgaatc ggcactccgc actccaggcc atccgaacgg gccgtcagct cggcgtggac 420
ccggctgtgc tcacggacgc gctcgcctcc tccaccggat ccagctgggc cctgtctcac 480
tactccgacc tggacgaagc catcgtcacc gggcggggcg caccagcggt catccgggac 540
aggacggctt cggagctcgg tatggcgaag cagatggcgg cacgggatgg tgtggtgccc 600
accagccttc aggagacctt cgctcttctg gacgtgatgt ag 642

<210> 91
<211> 432
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 91
gtggaggccg cagatccgtg tgagttcgac ttcgctcgcg ccgtcgtcgg ccagtccgag 60

gcggctgttg cggaacggag ggccgccgga ctgcggctcc gccacgtcga gggggcggtc 120

cgctgtctcg cggcggtcga cgccgaaggc gtcctgcgcg gacaggcgtt cgtcctgcgg 180

gaccgtcaca ccgcgatact catgcaccag tggttcgatc gcaccgggcc gcgcgggaca 240

ccgactctgc tggtcgacag tgcggtcgta cagacactgg agtcacccgg cgtgatctct 300

tttgattttg aaggaagtgt cattccgggc atcgatcgct tcatggccgg cttcggcgcg 360

caggccgtcg gttacgggca gttccgctgg cagcaggatg ggcgggaaga gcctgccggg 420

aggttcgggt ga 432

<210> 92
<211> 915
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 92
gtgcagcagt cgcccgcgta cgcccgtgcg gtcggcgagt cggggcggga cgtccttgtg 60

gtgatgggcc accgggggggt gttcccgttg cagctgggct cggacgtgtg cacagcgctt 120

ggcggcgacc ggccgctcct cgcggactgc accgtccccc tgcccctggt tgctctggtg 180

gccgcggccg cagatgccac cgggctccct gtctacctcc ctctggtgga cgcttcgctg 240

gccgaggcag gagtcgtgga cgcgttcagc gtgtgggagc ggccacccaa ttcgctgatc 300

gactggtcgc tcgacggcgc cgacctgtgg gatcgcgtga ccgagcgcgg tggttcacag 360

tggagcagga aacagcggct cgtcgagcgg gacggcctga atctgtcttt cggccggtcg 420

ggcgaggcgg ccgccgagga ggtcctgcgg atcgatgacc gctcgtggaa gtccgcccgc 480

gggcagaaca tgcgtgcgcg agagggccag gacaggttgt acgccggtct gatcggggca 540

gggggtgctca ccgctacctt cctgcgggac ggcgaccact ctgtcgcctt ccggctggac 600

tcccgggtca aaggccgcct gacctgcttg aaatggtcgt atgacgagtc ctaccggcgg 660

tactcacccg gtgtccatct gctcacgcag gggctgcgcc aggagtggtg cgggcgcggc 720

atagaggtgg tcgatctgca cggaagtccc gactcgctga aggacctgtt gtgcaccgac 780

cggatgagcc gcgtggacct ctggtacggc gacccgctgg ccggcgcgcg gcgtgcggcc 840

gagcggaccg gcttcgacag gcggatgagg gcggtccgtg acggcgggaa ggggttgcgc 900

catgccttcg agtga 915

<210> 93
<211> 981
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 93
gtggaacggc ccgacgaagg cgccaagggc ttcgctggtg cggccgacca cgtcacggtc 60

ggtgcagccg tcacggaact gacccgtcgt atggcccagc ccgccgtcga gttcaccgcc 120

tccggtaccg ccgctctcga agcggccctg gaggtgctgg gcatcggacg gggcgatgaa 180

gtggtggtgc ctgacgtggg atgtcactcg gtggccgccg ccgtcgtgcg acggggagcg 240

atcccggtgt tcacgggagt gggggaagcc ctgacgctcg atcccctggg agtttccctg 300

gcctgcggcc cacgcacccg cgctgtcgtc gccgtgcacc agtacggact gccctgtgat 360

gtgcccggca tcatgaagac ggtggggccg gacatcccgg tgatcgagga tgtcgcccag 420

acctggggat cggcggtggg cggtgccccg gccggttcgc ttgggaccat cgccgtcatc 480

tctttcggtt cgaccaagcc ggtggcgctc ggcgcgggcg gagcgctctt cgggccggct 540

tcactgatcc gcggagcggt ctcccgcggc gatggagcgg accggcagct gcttcgccct 600

cccagtgccg ctcggttccc cgcccctctg ctggcccgtc ttcccgaagc cttggcaagg 660

gccgaccggt tgctggcctc gcgtcgggca gcggtggaag cctttctccg tgggccgctg 720

gcccaggagt tgcgtctgcc tccgacgcca tccggctcct cctccggatg gacccgcacc 780

cctctgtatc cgatcgcccc cgcgacctcg gtcacggccg aacaggtgga gcggctggag 840

gcgtgtcacg gaccggttca gcgcatgcac gcgacgccgc cgtcggcgct gccgatgttc 900

cgcggaagca cgacgcgtgt gacaggcgga ggccgtcggc tcaccgaacc cctactcgtg 960

aagatgggat caccacgatg a 981

<210> 94
<211> 1194
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 94
atgactgcaa ggaacctgac gacccgagcg ggcgtcatca accctcacca gctcttcgac 60

ctttcccagg aggacaccga ctccttcagc cacctgaaga gcgtgctcgc cgacggacag 120

ctcttccgct acgtcgagag cgaccgggaa tcggcgaaca ccttggtcga acggcacttc 180

gccgagcact tccgcaagga gagggcagtg gccgtggcca atggcaccgt aggcctgcgc 240

ctggccctgc gtgcgctggg catcggcccc ggtcaccgag tggcggtcaa tgcctacgcc 300

ttcatcgcgt gtgccatggc gatatcggcg accggcgccg agccggtgcc ggtcgacatg 360

ggcggatccg tcctgagcat ggacgccgac gctctggaga agagcgtggg ccacctcgat 420

gcggtcctcc tggtgcacgt ccagggccac gcccttgcgg ccggtccgat acgtgccgtc 480

tgcgaccggc tcggtatacc gatgatcgag gacgtgtgcc aggcgctggg agctggttcg 540

tcagaggcgg gcgccggccg cgtgggtgac gtcgctgtga cgagcttcca gcaggccaag 600

cagatctcct cgggtgaagg cggactcgtt gccgggcccg atgaggtgat cgaacgggtc 660

taccgcctgt cggatctggg agcggtgcgc caggagaacg gtctgccgga ctgggaccac 720

gaggatgccc tgatcggtga caacctgcgg atgaccgagc ttcaggcggc ccttgtcatg 780

gatcaggccg tgcggctgga ggacacgctg gcccggcagc gggagcggcg gtcacggctg 840

cgggccgggc tcagtgatat ccccgtcatc gagagcgaga acccggccga tgacgccgga 900

tcgcacacgc ttgtcctggc ccgggatacc gcggcggcgg aggagttccg cgttgagctc 960

gcacgccgcg gggtgctggc ccggccggtc tggaagaaga gctgggtgga atacggtttg 1020

taccgacggg agttcgcgag cggcgccccc gccggcccgt ggcccgggaa ggctgtcggc 1080

ctcgcctcgc ggattctgag tattcccact tcgaaatatg tgacggactc cgccgtcgac 1140

caagtggccg aggccatcgc ggcgggccgc caacacctca cacaggacag gtga 1194

<210> 95
<211> 1137
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 95
atgtcatcct tcgcacttct gctccgcggc ctgccgaact ccggcaagac gaccactgcc 60
gcgctgcttc gcaacgcctt gaagccgtcc gtccggatct ccaacgactc ggtgcgctac 120
atggcacagc cccgggattt cagcgacttc actctcgtcg cctccgagct cggctgcctg 180
gatctcgcct cctcatacct ggagagcggc ttcgtacccg tgatcgacgg cgtgttcgag 240
gacgtcgact tcctgtccgc gcagaagctg cgcttccaca ggaagggtat gcggctgatc 300
gtcatcaccc tggagggaag tctttccgat ctgctcgacc gaaacgcctc ccgcgatccg 360
ctggcccgga tggaggagga ccggatgcgt gagctccacg cccagttccg accgagcgga 420
atcgtcctgt cccttgacgg gaagcagccc gaagaggtgg cggacgacgt attggacctc 480
ctggacttgc agcccccgta ccagggcgag gcagctgacc agggagcggc cgacattctc 540
ttcctgcgcc acggtgctcc cgagtacccc agtgacatct accccgatcc ctatgcgatg 600
ggtctgtccg agcaaggcat tgacgaggcc cgcgtggcgc gcgccgctgt ggagcggttc 660
gcacccgaga tcgtctacac gtccgacttc cgtcgtgcgg agcagactgc ctcgctggtg 720
accgcgacga tcgatgtcac gccccagccc gaacaccggc tgcgggagcg ggtcttccat 780
cagctcgccg gcgtagagct cgacgaggtc cgctcacagc ttggcgctga ggcggatgcg 840
gtcctcgggg gcaacagcga tctgtgcgag cgggaggagg aggaatccta cgaggcggcg 900
cgagcccggg tgctcggctt cttcgacgag gtggccgagc ggcacgccgg ccggcgggtc 960
ctggtcgtcg gccacggcgg accgcacgca tggctggtgg agcgggcgct tggcgccgag 1020
atgcgaggcg tgcgccgcat gcgctgggac acgggtcact tctcgcggtt caaggtcacg 1080
cccaaccagg tcgcactgga ctacctcaac cggtcaccgg aagacatcac gcgatga 1137

<210> 96
<211> 1182
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 96
atgaccgacg caaaggacgc gaccacgacc gcctcggatc cacgacgacg gccacgggtc 60
gccgtggtgg ccacccccct cggcttcggt cctgcctcga aggcgtacag catcggcgaa 120
gtcctgcgca cccattgggg tgtggacgtc cagtactacg gaacggactc cgcccgcgac 180
ttcttctccg cgcagcccga tgtgaggccc ctggcgccgg aggcggtcgg tggcaccgga 240
gcgatcgacg ccgtgctgaa cgtgctggct ccggatctga tccgaagttc cgaggaggca 300
gcccggacgt actacgtcga cagcctcggc ttcatgtggc agccctcgga cattccggac 360
ggcagtctgc tcacaagggt gcatcggtac ttcgcccagg acgtcttcgg cagcgttgac 420
catctcaccg cgctcgggat caccggagtg actcccgtct cgggaatcgt cgccgaaaca 480
gcgccgaccg acatctcgcc gggcccacgc tccgtgaggc ggctgctcgt ccagctcggc 540
ggcctgagca acccggccgg gcgctcttcc ggagaggtct acctcgcact cgccgcggga 600
ctgctcacgg ctctgcggca ggacccgtac gaactgagca ttgccatgaa ccgcgcgggc 660

ggcacgttct ccctggggtc gctcggccag gcccgccagt tgtccggccg cgacttccac 720

cgtgaactgg ccacctgcgc cggtgtcctc agctcacccg gcatgaccac cctcatcgag 780

gtgtcgcgcg ccaagtgccc ctatgttccc ttaccgcctc aaaactggag ccaagtatta 840

atatcgcgcc atatggcgcg acattcacgc ctggggatct gggactttct gatcggtccg 900

tacgccacgg tggacgcccg tgcccccgag gctcagaagg cggcccaggt gggggagatc 960

aaccagttgc tggcgggggа caccggctac acgacggcct atgtggacct ggcccggacg 1020

gcactggccg aagctcgagt acccgacgtg ggggcaccgt tcgacggggc gcatgtcgtg 1080

gccgcctcca tcgcagacga tctcatcaag ggcacatcgc gttgcgggcg gggctcgcgt 1140

acggagttga aggaccacgg cacaccgacc ggtgaactct ga 1182

<210> 97
<211> 306
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 97
atgacgcagc acatcgacag cggcctcgtg gccgtgcttc agtcgctcgc gcacgaggtg 60

gaaaccgcgc gcgagtggag ccaggcatcg cagacgctgg cacaggagcg ggtggccact 120

gtcttcggct cggcccgtac gcgccgcggc gaaccggcgt acaccctggc gtatgaactc 180

gccacggcac tggccgcggc gaagtggacc acgatcaccg gcggtggccc cggcatcatg 240

caggccgcgc gggacggcag tggggagggc ttgtcccgag cggtgcgggt ggggatcccc 300

cggtga 306

<210> 98
<211> 396
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 98
gtgctggacc cgtccaggtc catcaccgtc gcgaccttcg cactgcgcaa gttactcctg 60

acccacgaca tcgacgctct gttcgtcttc cccggtggtg tcggcacctt cgacgagctg 120

tacgaggtgc tggtccacca ggacaccaac cgacttgcct ggttcccggt cgtcctgatg 180

cagccggccg gtgagagtct ctggtcggcc tggctggagt tcatggagaa gcacttggtc 240

agcacgggac tggccagctc ctccgtgatc aagcggctgg ttgtggccga gtcggtggaa 300

gaggccctgg cagccgccga ggggccgcgt acgacggcct gcggaacgag cggttctccg 360

tcgcccggaa cacgtcacgg ggcgaccgga aagtga 396

<210> 99
<211> 513
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 99
atggacgagg cgcgcctgga gcacgggttc gacccgcagg ccctcccacc ggtggtccgg 60

ggcgacgagc gggagcagct gttccgtctc ctcgacagct ccctggagga catggtgacc 120

ggctggcacc acgtctggac ctgcaacgcc tccttccccc gggacaggct tgaggcggtc 180

gggggcttcg acgagacgtt caccggctgg gggctggagg acgctgaact cgcctatcgg 240

ctggtgcagg gcggtgcaac cacgcacttc gccccgtcgg cggtggtccg ccacgagcac 300

cgcacaccgg taacagccga catgtaccgg gagtggtgcc gcaacctggc ccacttcgtg 360

cgccgacatc ccgcaccgga ggtgcggctc caggagatat tcgctcccgc catcgacccc 420

gaccggtccg caccgggaac gtgggacgac atcgccgccg agttcgagca cacggctcgc 480

cggctcggcg ctgaccccgg ccagcatcgg tag 513

<210> 100
<211> 1341
<212> DNA
<213> 紫紅鏈黴菌

<400> 100
atgcccaccc ctgcgggaaa cgtccccgac catctcgccc cgaccgtccg ccgggtcgtc 60

tatctgccgg tcaaccgccc cttcgaggcg gcattccact ccgtggccgc cgaagtggca 120

tcgttggaga agagccagcg agacaacgtc accctcctcg tcgtcgacga ctgcgcgccg 180

ccggtgtcac gggccaaccg ccaggtgacc gagcgggtag cccgtgaatc gggcctgcgc 240

gtacacacac tggaccaaca ggcctggcgt cgtctggcca ccacactgat cgcggctgcc 300

gggctgaccg gggccgaccg agccacggcg cagaccgccc tggtcaaacc caccggttcc 360

tacggggcag gtcccaacaa ggccgccctg gtcgccgccc tggaaggtgc ggtctccctg 420

catcgccggg acagcgacca gatcacgacc gtagaccccg acaccggagc ctctccgctc 480

cgtctggaag ccgacctcct cagtcgcgcc cgccccgagg gcggcgctgc ggcctactgc 540

gcaggctcct tcctcacggg tcgcccaacg cgagaccgaa gggacctgga acgcgactcg 600

acggagtacg cggcccgtat cgacgcgctg agccaactcc cctccgcccc ggcccgacgc 660

ccacctctcc cgcctgtccg ggaacgggcg gcgctcctgg gagggcagca cgccgagcgc 720

gacctgacag gtgtggtcga gatggggatc gcagccatgc gaagcgtgta cgagtggatt 780

ccagagatgc ccgccgtggg catcctcggc agcgactact tccagaaggg actgctctat 840

cagctcgacc tcccggtctt ccaccacagc ctcccagccc ggcacaccta cgaatcctgg 900

cgcacggagc agcgcgacga ttcccatctg gcctggtacg tgcgggcgga ggtgcgctac 960

gccgtactgc gccgccactg gaacagcttc aaccacctgc tcgtggccga acgggcgcgt 1020

gtgctgtccg atgggcactt cgactcccgg gcttacggag agctgttcgt cgaagcgctc 1080

cacgagggcg cccgggggcc ggaaagcatt cccgacgact tcgtggccgt ataccgcgac 1140

gccgcgaacg cggccactgg cgaggtccgc cggcgtcttc tggtgcggct ggccggactg 1200

gaagaggaga ccggtgctgt caacgcatac gtggccggcg ccatccacga attcgccgcc 1260

ctctcacgtc tgtggcccgg attgatctct gccgcacaac gggtcgggag gacgaccgcg 1320

ctggagacgt ttacccactg a 1341

申請專利範圍

1.一種組成物，其包含植食性殺蠕和/或殺真菌細黃鏈黴菌(*Streptomyces microflavus*)株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蠕和/或殺真菌突變株的生物上純培養物。

2.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該突變株具有透層活性。

3.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該突變株具有殺卵活性。

4.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該突變株具有殘留活性。

5.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該突變株具有殺真菌活性。

6.如申請專利範圍第 5 項之組成物，其中該突變株具有抗黴菌活性。

7.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其中該突變株具有殺蟲活性。

8.如申請專利範圍第 7 項之組成物，其中該突變株具有抗玉米根蟲活性。

9.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其包含每毫升培養物至少約 1×10^{6}CFU 之菌株。

10.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其進一步包含調和物成分。

11.如申請專利範圍第 10 項之組成物，其中該調和物

成分爲濕潤劑。

12.如申請專利範圍第 1 項之組成物，其具有至少約50%之葉蟎(Spider Mite)效力。

13.如申請專利範圍第 12 項之組成物，其具有至少約60%之葉蟎效力。

14.一種組成物，其包含殺蟎和/或殺真菌細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎和/或殺真菌突變株的醱酵產物。

15.如申請專利範圍第 14 項之組成物，其中該醱酵產物進一步包含調和物成分。

16.如申請專利範圍第 15 項之組成物，其中該調和物成分爲潤濕劑。

17.如申請專利範圍第 14 項之組成物，其具有至少約50%之葉蟎效力。

18.一種處理植物以控制植物疾病或害蟲之方法，其中該方法包含將細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎和/或突變株施用在植物、植物之一部分和/或植物之所在地上。

19.如申請專利範圍第 18 項之方法，其中該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎和/或殺真菌突變株係以包含該細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550，或由其衍生之植食性殺蟎突變株的組成物施用。

20.如申請專利範圍第 19 項之方法，其中該組成物爲細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突

變株的醱酵產物。

21.如申請專利範圍第 19 項之方法，其中該方法包含將該組成物施用在葉面植物部分。

22.如申請專利範圍第 19 項之方法，其中該欲控制之害蟲係選自蟎及葉甲(Diabrotica)。

23.如申請專利範圍第 22 項之方法，其中該蟎係選自以下群組：三葉蟎(clover mite)、棕色蟎(brown mite)、榛子蛛蟎(hazelnut spider mite)、蘆筍蛛蟎(asparagus spider mite)、棕色小麥蟎(brown wheat mite)、豆蟎(legume mite)、酢漿草蟎(oxalis mite)、黃楊木蟎(boxwood mite)、德州柑橘蟎(Texas citrus mite)、東方紅蟎(Oriental red mite)、柑桔紅蟎(citrus red mite)、歐洲紅蟎(European red mite)、黃蛛蟎(yellow spider mite)、無花果蛛蟎(fig spider mite)、劉易斯蛛蟎(Lewis spider mite)、六斑蛛蟎(six-spotted spider mite)、威拉米特蟎(Willamette mite)、尤馬蛛蟎(Yuma spider mite)、紡網絡蟎(web-spinning mite)、菠蘿蟎(pineapple mite)、柑橘綠蟎(citrus green mite)、美洲皂莢蛛蟎(honey-locust spider mite)、茶紅蛛蟎(tea red spider mite)、南方紅蟎(southern red mite)、鱷梨棕蟎(avocado brown mite)、雲杉蛛蟎(spruce spider mite)、鱷梨紅蟎(avocado red mite)、草地小爪蟎(Banks grass mite)、硃砂蛛蟎(carmine spider mite)、沙漠蛛蟎(desert spider mite)、蔬菜蜘蟎(vegetable spider mite)、隆突蛛蟎(tumid spider mite)、草莓蛛蟎(strawberry spider mite)、二斑蛛

蟎(two-spotted spider mite)、丹尼爾蟎(McDaniel mite)、太平洋蛛蟎(Pacific spider mite)、山楂蛛蟎(hawthorn spider mite)、四斑蛛蟎(four-spotted spider mite)、肖氏蛛蟎(Schoenei spider mite)、智利假蛛蟎(Chilean false spider mite)、柑橘平蟎 (citrus flat mite)、女貞蟎(privet mite)、平猩紅蟎 (flat scarlet mite)、白尾蟎(white-tailed mite)、菠蘿跗線蟎(pineapple tarsonemid mite)、西印度甘蔗蟎(West Indian sugar cane mite)、鱗莖鱗蟎(bulb scale mite)、仙客來蟎(cyclamen mite)、廣明蟎(broad mite)、麥圓葉爪蟎(winter grain mite)、紅足泥蟎(red-legged earth mite)、榛小植刺癭蟎(filbert big-bud mite)、葡萄癭蟎(grape erineum mite)、梨腫葉蟎(pear blister leaf mite)、蘋果捲葉緣蟎 (apple leaf edgeroller mite)、桃植羽癭蟎(peach mosaic vector mite)、赤楊珠癭蟎(alder bead gall mite)、佩里安核桃葉癭蟎(Perian walnut leaf gall mite)、胡桃葉捲緣蟎(pecan leaf edgeroll mite)、無花果癭蟎(fig bud mite)、橄欖油癭蟎(olive bud mite)、柑橘癭蟎(citrus bud mite)、荔枝癭蟎(litchi erineum mite)、小麥曲蟎(wheat curl mite)、椰子花核癭蟎(coconut flower and nut mite)、甘蔗腫癭蟎(sugar cane blister mite)、野牛草癭蟎(buffalo grass mite)、百慕達草癭蟎(bermuda grass mite)、胡蘿蔔癭蟎(carrot bud mite)、紅薯葉癭蟎(sweet potato leaf gall mite)、石榴葉曲蟎(pomegranate leaf curl mite)、ash sprangle 癭蟎(ash sprangle gall mite)、槭斜背瘤癭蟎

(maple bladder gall mite)、alder erineum 蟎(alder erineum mite)、紅莓蟎(redberry mite)、棉花腫蟎(cotton blister mite)、藍莓癭蟎(blueberry bud mite)、粉紅茶銹蟎(pink tea rust mite)、茶紫癭蟎(ribbed tea mite)、灰色柑橘蟎(grey citrus mite)、紅薯銹蟎(sweet potato rust mite)、七葉樹銹蟎(horse chestnut rust mite)、柑桔銹蟎(citrus rust mite)、蘋果銹蟎(apple rust mite)、葡萄銹蟎(grape rust mite)、梨銹蟎(pear rust mite)、扁針鞘松蟎(flat needle sheath pine mite)、野玫瑰芽果蟎(wild rose bud and fruit mite)、乾莓癭蟎(dryberry mite)、芒果銹蟎(mango rust mite)、杜鵑銹蟎(azalea rust mite)、梅銹蟎(plum rust mite)、桃銀色刺癭蟎(peach silver mite)、蘋果銹蟎(apple rust mite)、番茄葉赤皮癭蟎(tomato russet mite)、粉紅柑桔銹蟎(pink citrus rust mite)、穀物銹蟎(cereal rust mite)、水稻銹蟎(rice rust mite)及彼等之組合。

24.如申請專利範圍第 22 項之方法，其中該葉甲係選自以下群組：帶狀黃瓜甲蟲(Banded cucumber beetle)(食蚜蠅葉甲)(*Diabrotica balteata*)、北方玉米根蟲(Northern corn rootworm)(巴氏根葉甲)(*Diabrotica barberi*)、南方玉米根蟲(Southern corn rootworm)(黃瓜十一星葉甲食根亞種)(*Diabrotica undecimpunctata howardi*)、西黃瓜甲蟲(Western cucumber beetle)(黃瓜十一星葉甲)(*Diabrotica undecimpunctata tenella*)、西斑黃瓜甲蟲(Western spotted cucumber beetle)(黃瓜十一星葉甲)(*Diabrotica undecimpunctata undecimpunctata*)、西玉

米根蟲(Western corn rootworm)(玉米根螢葉甲)(*Diabrotica virgifera virgifera*)、墨西哥玉米根蟲(Mexican corn rootworm)(墨西哥玉米根葉甲)(*Diabrotica virgifera zeae*)及彼等之組合。

25.如申請專利範圍第 20 項之方法，其中該醱酵產物爲經冷凍乾燥之粉末或經噴霧乾燥之粉末，且其中該醱酵產物係以約 0.625 磅/英畝至約 5 磅/英畝之比率施用。

26.如申請專利範圍第 25 項之方法，其中該醱酵產物包含至少約 2 重量%之谷氏菌素。

27.如申請專利範圍第 26 項之方法，其中該醱酵產物包含至少約 4 重量%之谷氏菌素。

28.如申請專利範圍第 23 項之方法，其中該蟎爲抗阿維菌素(abamectin)蟎。

29.如申請專利範圍第 19 項之方法，其中該植物疾病係由真菌引起。

30.如申請專利範圍第 29 項之方法，其中該植物疾病爲黴病或銹病。

31.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該黴病爲白粉病或霜黴病。

32.如申請專利範圍第 30 項之方法，其中該銹病係選自以下群組：由小麥葉銹菌(Puccinia triticina)引起之小麥葉銹葉銹病、由大麥柄銹菌(Puccinia hordei)引起之大麥葉銹病、由隱匿柄銹菌(Puccinia recondita)引起之裸麥葉銹病、棕葉銹病、冠銹病及稈銹病。

33.一種產製谷氏菌素之鏈黴菌株之醱酵基質，其中該醱酵基質包含至少約 1 克/升之谷氏菌素。

34.如申請專利範圍第 33 項之醱酵基質，其中該產製谷氏菌素之鏈黴菌株包含編碼與選自以下群組之胺基酸序列具有至少約 80%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 和 SEQ ID NO：42。

35.如申請專利範圍第 34 項之醱酵基質，其中該產製谷氏菌素之鏈黴菌株包含編碼與選自以下群組之胺基酸序列具有至少約 90%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 及 SEQ ID NO：42。

36.如申請專利範圍第 33 項之醱酵基質，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升、至少約 2 克/升、至少約 3 克/升、至少約 4 克/升、至少約 5 克/升、至少約 6 克/升、至少約 7 克/升、或至少約 8 克/升之谷氏菌素。

37.如申請專利範圍第 33 項之醱酵基質，其中該醱酵基質含有濃度爲約 1 克/升至約 15 克/升之谷氏菌素。

38.如申請專利範圍第 34 項之醱酵基質，其中該鏈黴菌株爲細黃鏈黴菌株或紫紅鏈黴菌(*Streptomyces puniceus*)株。

39.如申請專利範圍第 38 項之醱酵基質，其中該細黃鏈黴菌株係選自以下群組：細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突變株。

40.如申請專利範圍第 39 項之醱酵基質，其中該紫紅鏈黴菌株係選自以下群組：紫紅鏈黴菌株 A 或由其衍生之植食性殺蟎突變株。

41.一種製造產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質之方法，其中該醱酵基質含有至少約 1 克/升之谷氏菌素，該方法包含：在有氧條件下，將鏈黴菌株培養在含有可消化之碳源和可消化之氮源的培養基中，其中該培養基含有之胺基酸濃度能有效達成濃度爲至少 1 克/升之谷氏菌素。

42.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中係將該鏈黴菌株培養在培養基中直到該培養基中含有之谷氏菌素濃度爲至少約 2 克/升、至少約 3 克/升、至少約 4 克/升、爲至少約 5 克/升、至少約 6 克/升、至少約 7 克/升、或至少約 8 克/升之谷氏菌素。

43.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中係經該鏈黴菌株係培養在培養基中直到該培養基中含有之谷氏菌素濃度在約 1 克/升至約 15 克/升之範圍內。

44.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該胺基酸係

選自以下群組：甘胺酸、麩胺酸、麩胺醯胺、絲胺酸及彼等之混合物。

45.如申請專利範圍第 44 項之方法，其中該培養基含有初始濃度爲至少約 2 克/升之胺基酸。

46.如申請專利範圍第 45 項之方法，其中該培養基含有初始濃度爲約 5 克/升至約 15 克/升之甘胺酸。

47.如申請專利範圍第 45 項之方法，其中該培養基含有初始濃度爲約 5 克/升至約 15 克/升之麩胺酸。

48.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該培養基含有葡萄糖和寡醣之混合物作爲碳源。

49.如申請專利範圍第 48 項之方法，其中該寡醣爲麥芽糊精或糊精。

50.如申請專利範圍第 49 項之方法，其中該培養基中之麥芽糊精的初始濃度爲約 50 克/升至約 100 克/升。

51.如申請專利範圍第 50 項之方法，其中該培養基中之麥芽糊精的初始濃度爲約 60 克/升至約 80 克/升。

52.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該培養基中之葡萄糖的初始濃度爲約 20 克/升至約 60 克/升。

53.如申請專利範圍第 52 項之方法，其中該培養基中之葡萄糖的初始濃度爲約 30 克/升至約 50 克/升。

54.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該培養基中含有初始濃度爲約 1 克/升至 3 克/升之碳酸鈣。

55.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該氮源係至少部分選自以下群組：大豆蛋白胨、大豆酸水解產物、大

豆粉水解產物、酪蛋白水解產物、酵母萃取物及彼等之混合物。

56.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該鏈黴菌株包含編碼與選自以下群組之胺基酸序列具有至少約 80%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 和 SEQ ID NO：42。

57.如申請專利範圍第 41 項之方法，其中該鏈黴菌株爲細黃鏈黴菌株。

58.如申請專利範圍第 56 項之方法，其中該細黃鏈黴菌株係選自細黃鏈黴菌株 NRRL B-50550 或由其衍生之植食性殺蟎突變株。

59.如申請專利範圍第 56 項之方法，其中該鏈黴菌株爲紫紅鏈黴菌株。

60.如申請專利範圍第 59 項之方法，其中該紫紅鏈黴菌株爲紫紅鏈黴菌株 A 或由其衍生之植食性殺蟎突變株。

61.一種增加產製谷氏菌素之鏈黴菌株的醱酵基質中之谷氏菌素量的方法，其包含在有氧條件下，在含有可消化之碳源及可消化之氮源的培養基中培養鏈黴菌株，其中該培養基中含有之胺基酸濃度能有效達成較該在含有少於約 1 克/升之一或多種胺基酸的培養基中所達成者至少高

出兩倍之谷氏菌素濃度。

62.如申請專利範圍第 61 項之方法，其中該培養基中所含有之胺基酸濃度爲約 2 克/升之一或多種胺基酸。

63.如申請專利範圍第 62 項之方法，其中該胺基酸是麩胺酸、絲胺酸或甘胺酸。

64.如申請專利範圍第 61 項之方法，其中該鏈黴菌株包含編碼與選自以下群組之胺基酸序列具有至少約 80%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 和 SEQ ID NO：42。

65.一種與 SEQ ID NO：43 之核苷酸序列具有至少 70%之序列同一性之核酸序列，其係可操作地連接至少一種用於指導該序列表現之外源性和/或異源性調控元件。

66.如申請專利範圍第 65 項之核酸序列，其進一步包含 SEQ ID NO：43 之位置 10820 至位置 12013 的核苷酸序列。

67.如申請專利範圍第 65 項中任一項之核酸序列，其進一步包含 SEQ ID NO：43 之位置 13219 至位置 14334 的核苷酸序列。

68.如申請專利範圍第 65-67 項中任一項之核酸序列，其中該核酸序列係從細黃鏈黴菌、灰色鏈黴菌(*S. griseus*)、

環圈鏈黴菌(*S. anulatus*)、糞生鏈黴菌(*S. fimicarius*)、小鏈黴菌(*S. parvus*)、淡紫灰鏈黴菌(*S. lavendulae*)、白綠鏈黴菌(*S. alboviridis*)、紫紅鏈黴菌或禾粟鏈黴菌(*S. graminearus*)分離出。

69.一種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第 65-68 項中任一項之核酸序列。

70.一種用於產製谷氏菌素或谷氏菌素類似物之方法，其包含：在培養基中培養谷氏菌素或鏈黴菌族中產製谷氏菌素的細菌以製造並將該谷氏菌素或谷氏菌素類似物分泌入培養基中，從培養基中收集該谷氏菌素或谷氏菌素類似物，其中該細菌已經過修改以增加如申請專利範圍第 65-68 項中任一項之核酸序列之基因表現。

71.如申請專利範圍第 70 項之方法，其中該細菌係選自以下群組：細黃鏈黴菌、灰色鏈黴菌、環圈鏈黴菌、糞生鏈黴菌、小鏈黴菌、淡紫灰鏈黴菌、白綠鏈黴菌、紫紅鏈黴菌及禾粟鏈黴菌。

72.如申請專利範圍第 70 項之方法，其中該細菌爲細黃鏈黴菌。

73.一種表現載體，其包含編碼選自如申請專利範圍第 65-68 項中任一項之核酸序列的多肽亞單位之基因。

74.一種宿主細胞，其包含如申請專利範圍第 73 項之載體。

75.一種用於製備谷氏菌素或谷氏菌素類似物之方法，其包含以下步驟：

a)構建含有如申請專利範圍第 65-68 項中任一項之核酸序列的重組表現載體；

b)以含有步驟 a)之核酸序列的表現載體將宿主細胞轉化以產製轉化株；

c)培養該步驟 b)之轉化株；及

d)將該谷氏菌素或谷氏菌素類似物從步驟 c)之轉化株的培養產物中分離出並純化。

76.一種基因轉殖之原核細胞，其包含編碼與選自以下群組之至少一種胺基酸序列具有至少 70%之序列同一性的胺基酸序列之核酸序列：SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：4、SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：10、SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：16、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：30 和 SEQ ID NO：42。

77.一種與 SEQ ID NO：13 之核苷酸序列具有至少 70%之序列同一性之核酸序列，其係可操作地連接至少一種用於指導該序列表現之外源性和/或異源性調控元件。

78.如申請專利範圍第 77 項之核酸序列，其進一步包含與 SEQ ID NO：17 之核苷酸序列具有至少 70%之序列同一性的核酸序列。

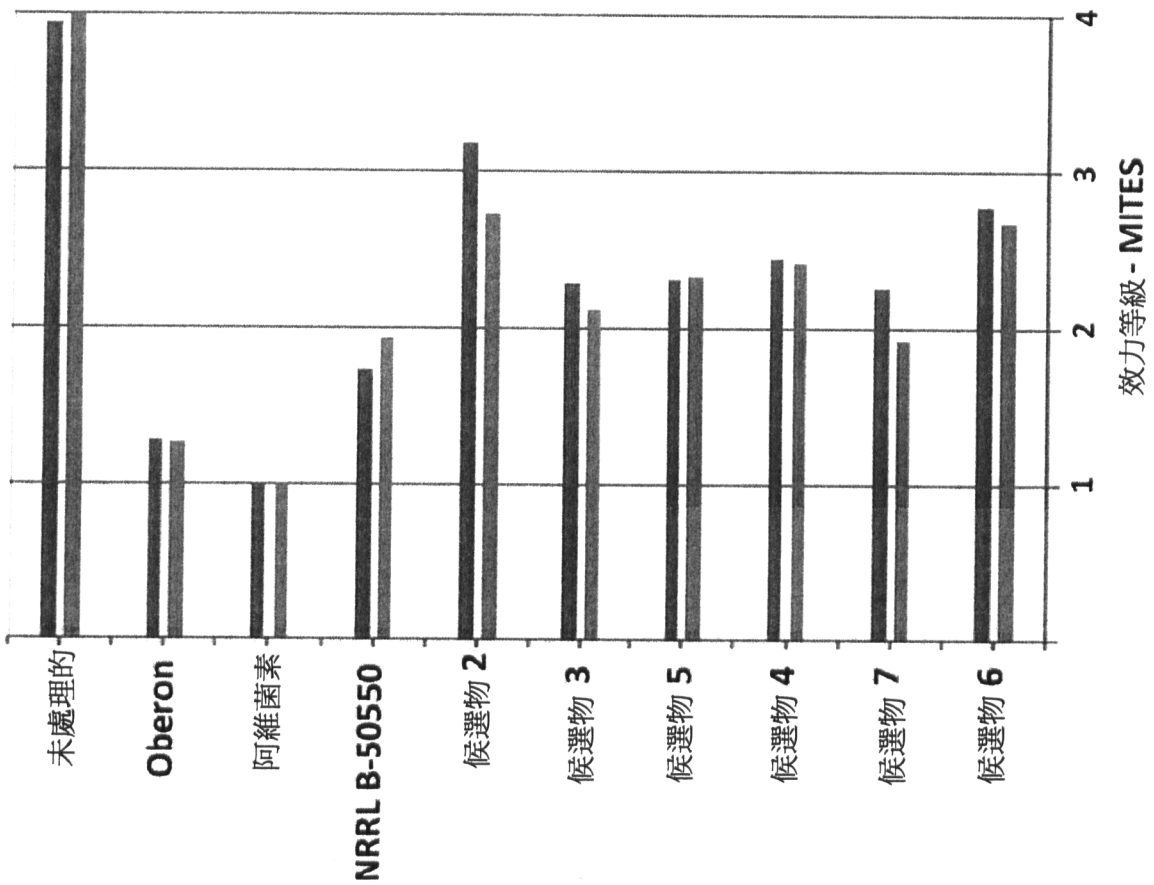
79.如申請專利範圍第 77 或 78 項之核酸序列，其進一步包含與選自以下群組之核苷酸序列具有至少 70%之序列同一性的核酸序列：SEQ ID NO：1、SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：5、SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：11、SEQ

ID NO：15、SEQ ID NO：21、SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：25、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：29 及 SEQ ID NO：41。

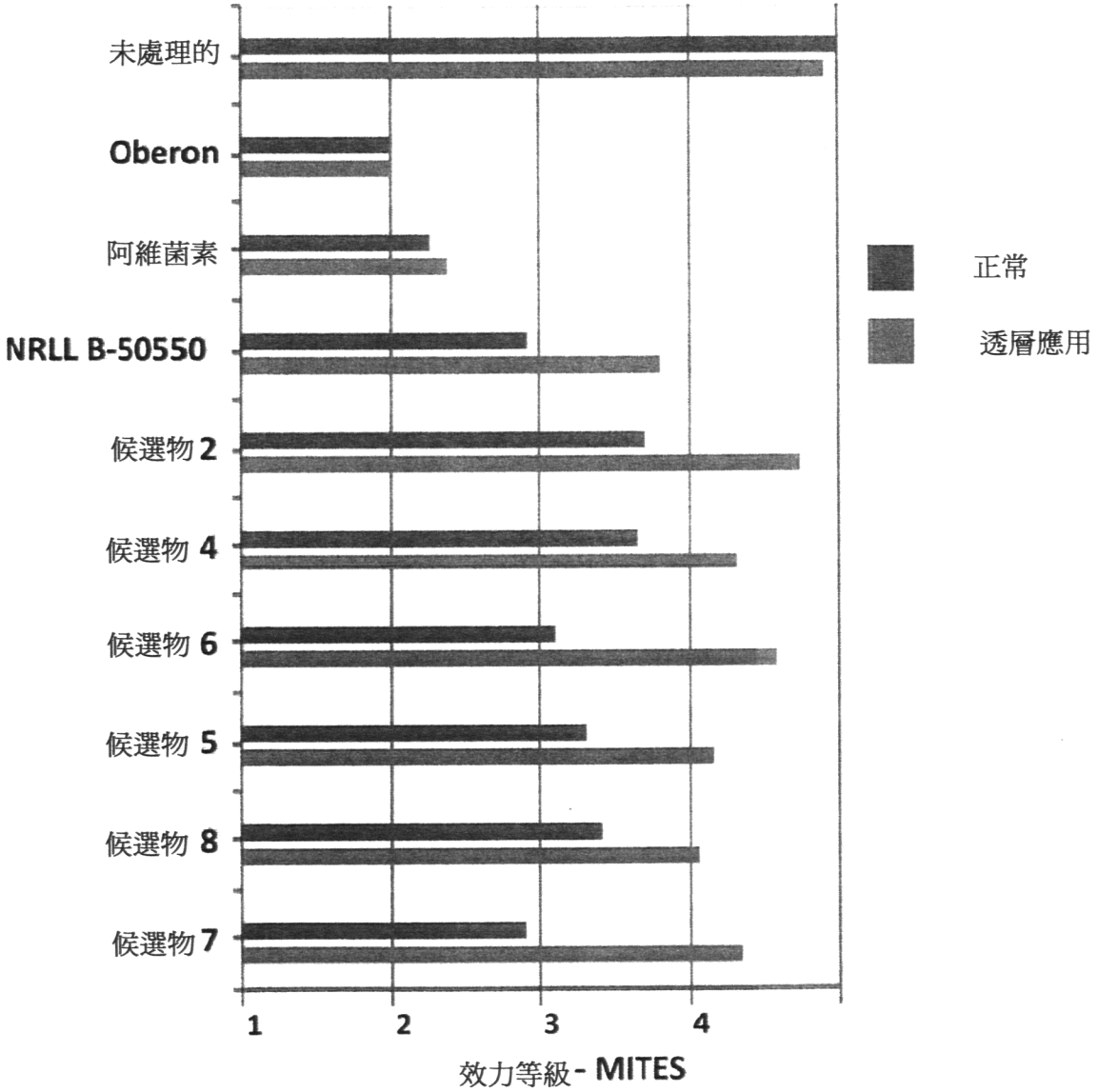
80.一種與選自以下群組之核酸序列具有至少 70%之序列同一性之核酸序列：SEQ ID NO：1、SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：5、SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：11、SEQ ID NO：13、SEQ ID NO：15、SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：21、SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：25、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：29 及 SEQ ID NO：41，其進一步包含含有外源性限制性內切酶裂解部位之核酸序列。

圖式

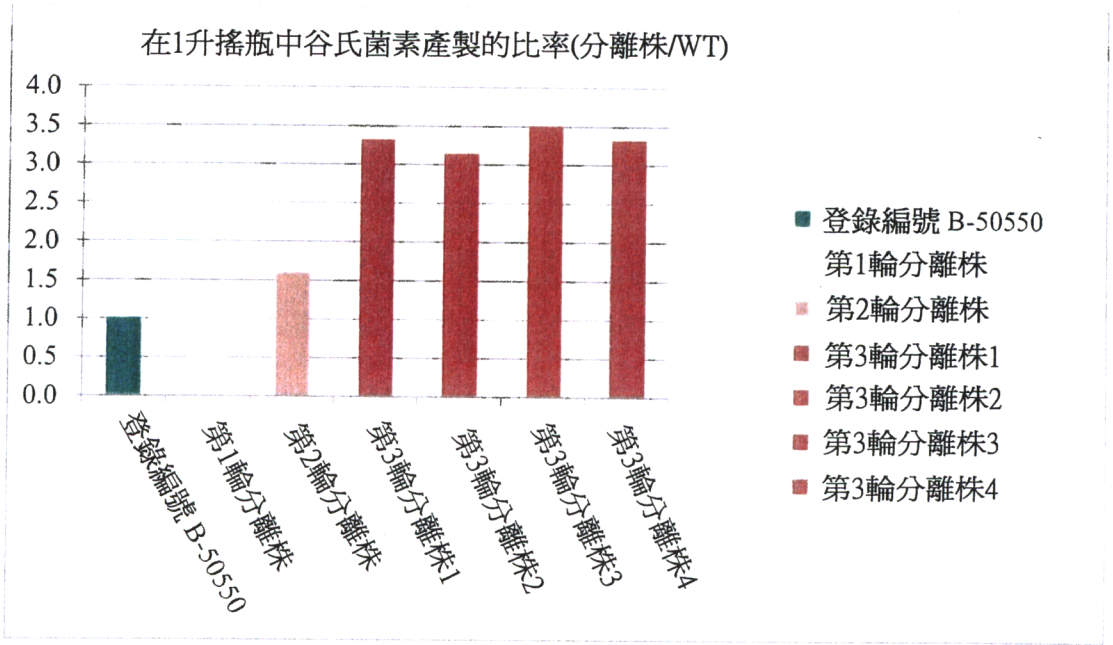
第 1 圖


UV
No UV
未處理的
Oberon
阿維菌素
NRRL B-50550
候選物 2
候選物 3
候選物 5
候選物 4
候選物 7
候選物 6
1
2
3
4
效力等級 - MITES

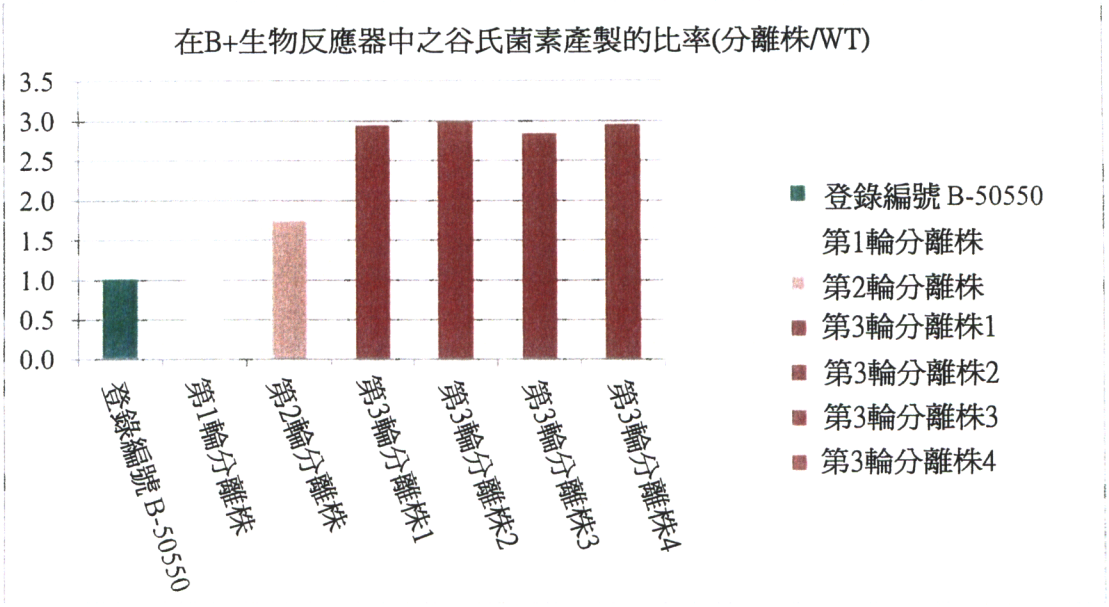
第 2 圖


未處理的
Oberon
阿維菌素
NRLL B-50550
候選物 2
候選物 4
候選物 6
候選物 5
候選物 8
候選物 7
正常
透層應用
1
2
3
4
效力等級 - MITES

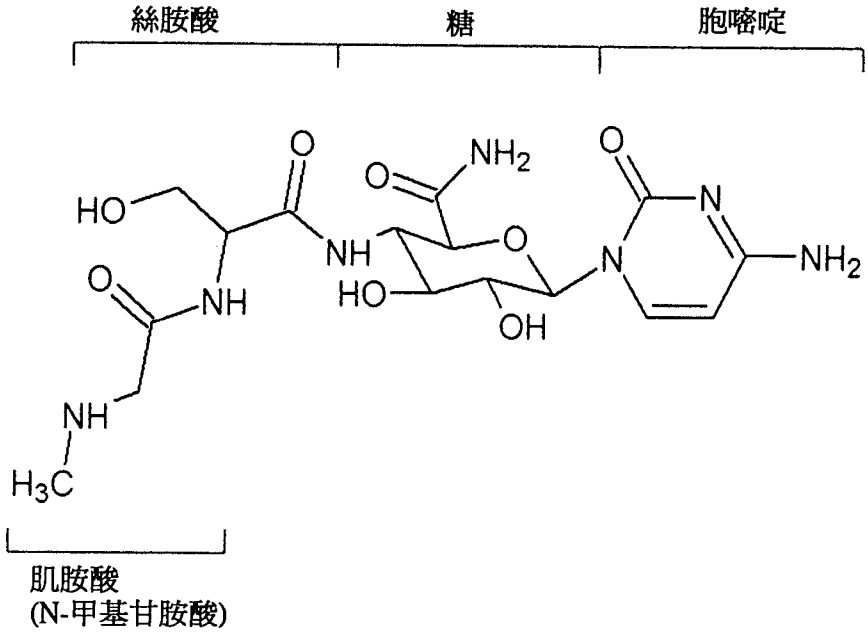
第 3 圖


在1升搖瓶中谷氏菌素產製的比率(分離株/WT)
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
登錄編號 B-50550
第1輪分離株
第2輪分離株
第3輪分離株1
第3輪分離株2
第3輪分離株3
第3輪分離株4
登錄編號 B-50550
第1輪分離株
第2輪分離株
第3輪分離株1
第3輪分離株2
第3輪分離株3
第3輪分離株4

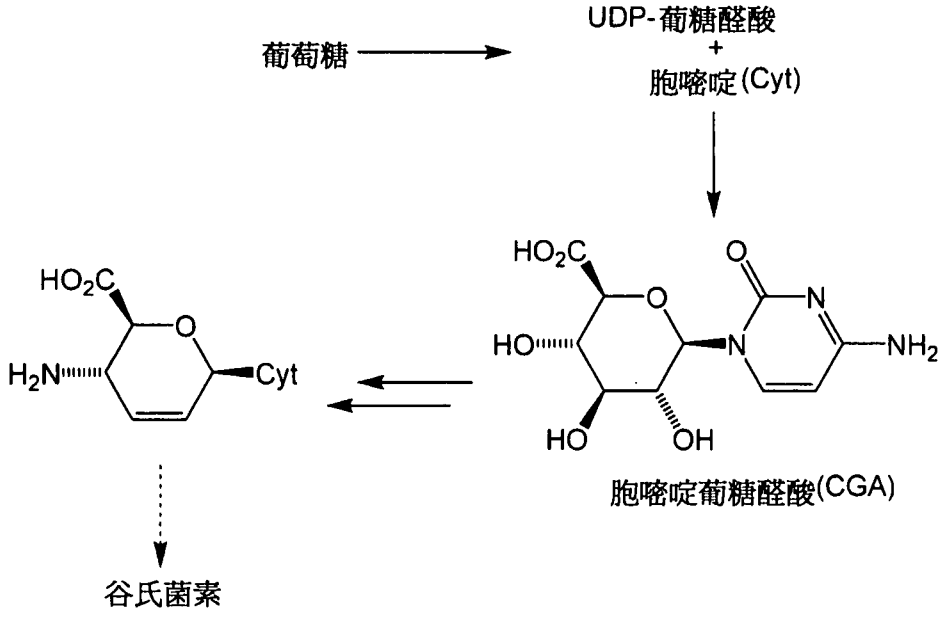
第 4 圖


在B+生物反應器中之谷氏菌素產製的比率(分離株/WT)
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
登錄編號 B-50550
第1輪分離株
第2輪分離株
第3輪分離株1
第3輪分離株2
第3輪分離株3
第3輪分離株4
登錄編號 B-50550
第1輪分離株
第2輪分離株
第3輪分離株1
第3輪分離株2
第3輪分離株3
第3輪分離株4

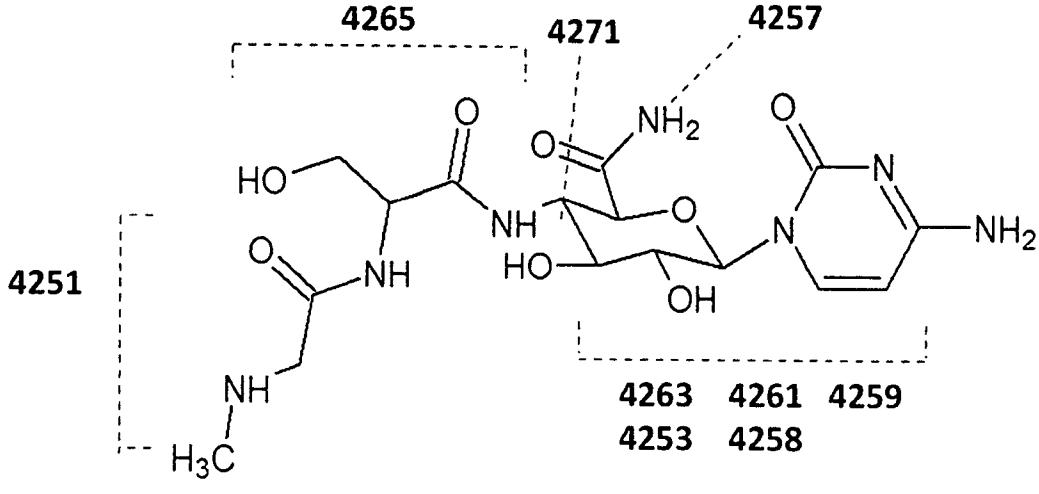
第 5 圖



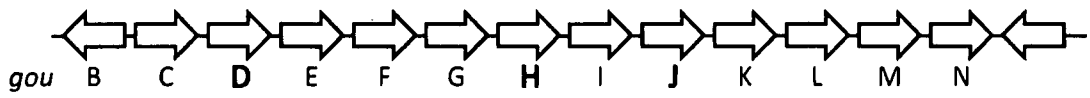
第 6 圖


葡萄糖
UDP-葡糖醛酸
+
胞嘧啶(Cyt)
HO2C
O
N
HO
N
NH2
HO
OH
胞嘧啶葡糖醛酸(CGA)
HO2C
O
H2N
Cyt
谷氏菌素

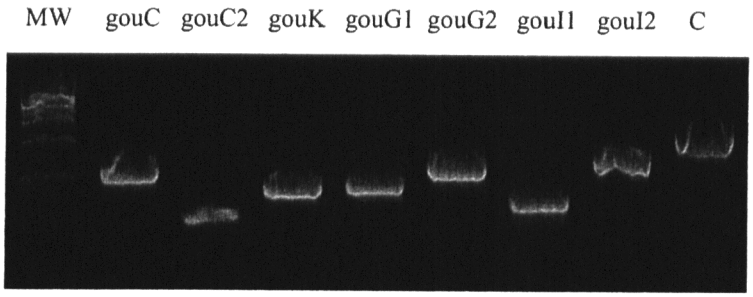
第 7 圖


4265
4271
4257
4251
4263
4261
4259
4253
4258
HO
O
NH
NH2
O
N
NH2
HO
OH
H3C

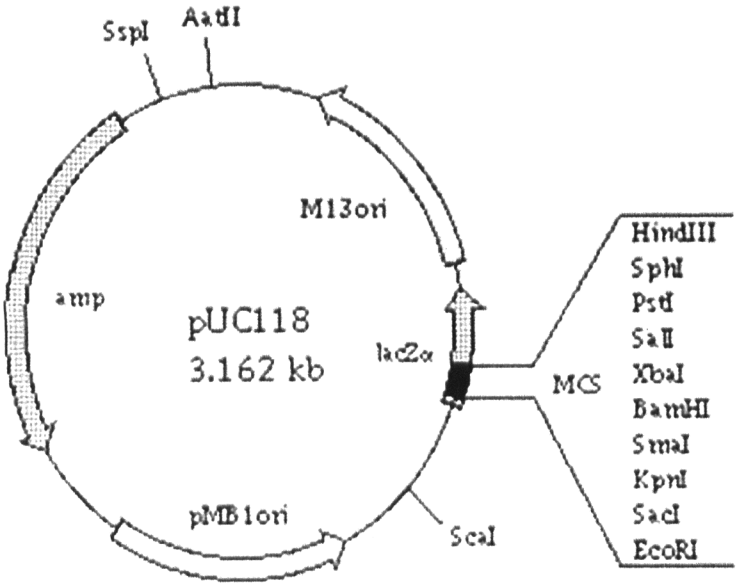
第 8 圖



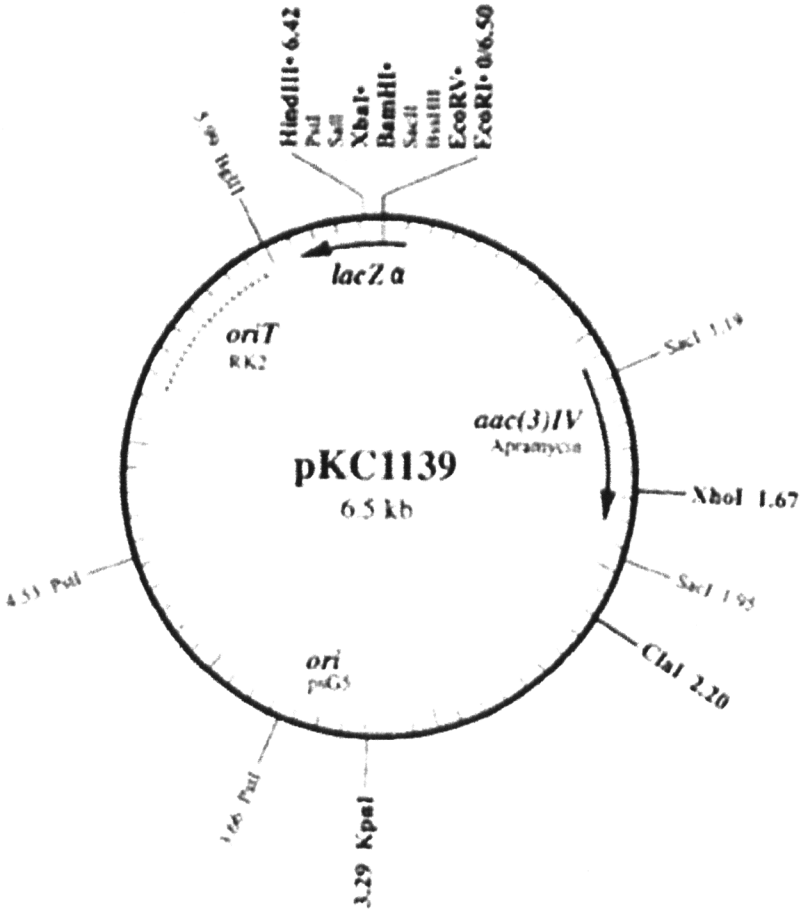
第 9 圖



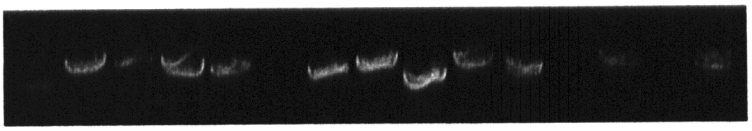
第 10 圖


SspI
AatII
M13ori
amp
pUC118
3.162 kb
lacZα
MCS
HindIII
SphI
PstI
SalI
XbaI
BamHI
SmaI
KpnI
SacI
EcoRI
pMB1ori
ScaI

第 11 圖


HindIII• 6.42
Pst
Sal
XbaI•
BamHI•
SacII
BstEII
EcoRV•
EcoRI• 0/6.50
lacZ α
oriT
RK2
aac(3)IV
Apramycin
pKC1139
6.5 kb
SacI 1.19
XhoI 1.67
SacI 1.95
ClaI 2.20
ori
pnG5
3.29 KpnI
4.53 PstI

第 12 圖



M I G I G I G I G I G I G I G
B-50550 Ia IKI1 CKW CKI IKI2 IKI3

承認本發明無權憑藉以往的發明而早於這類出版物。

[0177] 雖然本發明已結合其特定實施例描述，須理解的是，本發明能夠進一步修改，且本申請案意在涵蓋依循，一般而言，本發明之原則的任何變化、用途或改編，且包括偏離本揭露內容，但在本發明所屬之技藝內的公知或習慣做法內者，且可能適用於前文所載之基本特徵及以下所附之申請專利範圍。

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

1.食品工業發展研究所 2014/01/10；BCRC 910606

2.食品工業發展研究所 2014/01/10；BCRC 910607

3.食品工業發展研究所 2014/01/10；BCRC 910608

4.食品工業發展研究所 2014/01/17；BCRC 910609

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

1.美國 ；AGRICULTURAL RESEARCH CULTURE COLLECTION, NRRL; 2011/08/19 ; NRRL B-50550

2.美國 ；AGRICULTURAL RESEARCH CULTURE COLLECTION, NRRL ; 2013/09/27 ; NRRL B-50875

3.加拿大 ； INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY OF CANADA ; 2013/10/09 ; 091013-01

4.加拿大 ； INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY OF CANADA ; 2013/10/09 ; 091013-02