



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0118973
(43) 공개일자 2010년11월08일

(51) Int. Cl.

C12N 1/21 (2006.01) C12N 1/15 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01) C12P 5/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7015437

(22) 출원일자(국제출원일자) 2008년12월15일
심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2010년07월12일

(86) 국제출원번호 PCT/US2008/086869

(87) 국제공개번호 WO 2009/076676

국제공개일자 2009년06월18일

(30) 우선권주장

61/013,574 2007년12월13일 미국(US)

(71) 출원인

다니스코 유에스 인크.

미합중국 캘리포니아 (우편번호 94304) 팔로 알토
페이지 밀 로드 925

더 굿이어 타이어 앤드 러버 캄파니

미국 오하이오주 44316-1 애크론 이스트 마켓트
스트리트 1144

(72) 발명자

커빈 마게리트

미국 94062 캘리포니아주 레드우드 시티 팔로마
드라이브 404

화이트드 그레고리 엠

미국 94002 캘리포니아주 벨몬트 사우스 로드 304
(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인코리아나

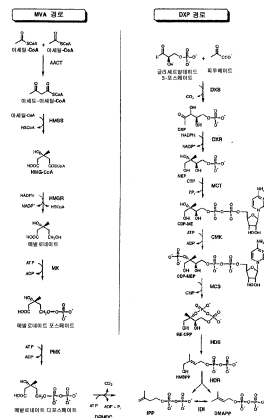
전체 청구항 수 : 총 105 항

(54) 이소프렌을 생성하기 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명은 배양된 세포로부터 이소프렌을 생성하는 방법을 특징으로 한다. 본 발명은 또한 이들 배양된 세포를 포함하는 조성물을 제공한다.

대표도 - 도19a



(72) 발명자

초타니 고틀 케이

미국 95014 캘리포니아주 쿠퍼티노 캐롤 리 드라이브 10166

발레 페르난도

미국 94010 캘리포니아주 벨링게임 반크로프트 로드 232

피오레시 캐롤

미국 94061 캘리포니아주 레드우드 시티 노섬버랜드 에비뉴 408

산포드 칼 제이

미국 95014 캘리포니아주 쿠퍼티노 알리샤 코트 10434

매콜리프 조셉 씨

미국 94085 캘리포니아주 서니베일 마드론 에비뉴 663

페헤르 프랭크 제이

미국 44321 오하이오주 코플리 시에라 드라이브 4305

푸하라 아론 에스

미국 44242 오하이오주 켄트 캐틀린 코트 923

미아스니코브 안드레이

미국 94041 캘리포니아주 마운틴 뷰 라탐 스트리트 1769 넘버에이

알도르 일라나 에스

미국 94306 캘리포니아주 팔로 알토 콜리지 에비뉴 220 아파트먼트 디

라 두카 리차드 제이

미국 94588 캘리포니아주 플레전튼 징거 코트 7430

특허청구의 범위

청구항 1

약 $400 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간 초과의 이소프렌을 생성하는 배양물 내 세포.

청구항 2

약 $0.1 \text{ mg/L}_{\text{브로쓰}}$ /시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 배양물 내 세포.

청구항 3

세포 배양 배지로부터 세포가 소비하는 약 0.002 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 배양물 내 세포.

청구항 4

세포가 (i) 약 $400 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간 초과의 이소프렌을 생성하고, (ii) 세포 배양 배지로부터 세포가 소비하는 약 0.002 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키거나, 또는 (iii) 약 $0.1 \text{ mg/L}_{\text{브로쓰}}$ /시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 배양물 내 세포.

청구항 5

이중 핵산이 프로모터에 작동가능하게 연결되며, 세포에 의한 이소프렌의 생성이 약 $400 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간 초과인, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 배양물 내 세포.

청구항 6

이중 핵산이 프로모터에 작동가능하게 연결되며, 세포가 약 $0.1 \text{ mg/L}_{\text{브로쓰}}$ /시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 배양물 내 세포.

청구항 7

이중 핵산이 프로모터에 작동가능하게 연결되며, 세포 배양 배지로부터 세포가 소비하는 탄소의 약 0.002 몰% 초과가 이소프렌으로 변환되는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 배양물 내 세포.

청구항 8

제 1 항, 제 4 항 또는 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 $4.0 \times 10^3 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간 초과의 이소프렌을 생성하는 세포.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 약 $4.0 \times 10^4 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간 초과의 이소프렌을 생성하는 세포.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 약 $1.5 \times 10^5 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간 초과의 이소프렌을 생성하는 세포.

청구항 11

제 1 항, 제 4 항 또는 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 $400 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간 내지 약 $2.0 \times 10^5 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}$ /시간의 이소프렌을 생성하는 세포.

청구항 12

제 2 항, 제 4 항 또는 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 100 mg/L_{브로쓰}/시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 세포.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 약 1,000 mg/L_{브로쓰}/시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 세포.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 약 1,500 mg/L_{브로쓰}/시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 세포.

청구항 15

제 2 항, 제 4 항 또는 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.1 내지 약 1,500 mg/L_{브로쓰}/시간의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 세포.

청구항 16

제 3 항, 제 4 항 또는 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.05 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 세포.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 약 1 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 세포.

청구항 18

제 17 항에 있어서, 약 10 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 세포.

청구항 19

제 18 항에 있어서, 약 20 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 세포.

청구항 20

제 3 항, 제 4 항 또는 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.002 내지 약 25 몰%의 탄소를 이소프렌으로 변환시키는 세포.

청구항 21

제 4 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 식물 이소프렌 신타아제 폴리펩티드인 세포.

청구항 22

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서, IDI 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 세포.

청구항 23

제 1 항 내지 제 22 항 중 어느 한 항에 있어서, IDI 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 카피의 삽입물을 추가로 포함하는 세포.

청구항 24

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 세포.

청구항 25

제 1 항 내지 제 24 항 중 어느 한 항에 있어서, DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 카피의 삽입물을 추가로 포함하는 세포.

청구항 26

제 1 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서, IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 이상의 핵산을 추가로 포함하는 세포.

청구항 27

제 26 항에 있어서, 한 핵산이 이소프렌 신타아제 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 세포.

청구항 28

제 27 항에 있어서, 한 플라스미드가 이소프렌 신타아제 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 세포.

청구항 29

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, MVA 경로 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 세포.

청구항 30

제 29 항에 있어서, MVA 경로 폴리펩티드가 메발로네이트 키나아제 (MVK)인 세포.

청구항 31

제 30 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나 (Methanosarcina)로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 32

제 31 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나 마제이 (Methanosarcina mazei)로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 33

제 4 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 푸에라리아 (Pueraria)로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 세포.

청구항 34

제 33 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 푸에라리아 몬타나 (Pueraria montana)로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 세포.

청구항 35

제 4 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 포폴루스 (Populus)로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 세포.

청구항 36

제 35 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 포폴루스 알바 (Populus alba)로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 세포.

청구항 37

제 35 항 또는 제 36 항에 있어서, MVA 경로 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 세포.

청구항 38

제 37 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 39

제 38 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나 마제이로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 40

제 1 항 내지 제 39 항 중 어느 한 항에 있어서, 세균 세포인 세포.

청구항 41

제 40 항에 있어서, 그람-양성 세균 세포인 세포.

청구항 42

제 41 항에 있어서, 바실러스 (*Bacillus*) 세포인 세포.

청구항 43

제 42 항에 있어서, 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis*) 세포인 세포

청구항 44

제 40 항에 있어서, 그람-음성 세균 세포인 세포.

청구항 45

제 44 항에 있어서, 에스케리키아 (*Escherichia*) 또는 판토에아 (*Pantoea*) 세포인 세포.

청구항 46

제 45 항에 있어서, 에스케리키아 콜리 (*Escherichia coli*) 또는 판토에아 시트레아 (*Pantoea citrea*) 세포인 세포.

청구항 47

제 1 항 내지 제 39 항 중 어느 한 항에 있어서, 진균 세포인 세포.

청구항 48

제 47 항에 있어서, 트리코테르마 (*Trichoderma*) 세포인 세포.

청구항 49

제 48 항에 있어서, 트리코테르마 레에세이 (*Trichoderma reesei*) 세포인 세포.

청구항 50

제 47 항에 있어서, 효모 세포인 세포.

청구항 51

제 50 항에 있어서, 야로위야 (*Yarrowia*) 세포인 세포.

청구항 52

제 51 항에 있어서, 야로위야 리폴리티카 (*Yarrowia lipolytica*) 세포인 세포.

청구항 53

약 400 nmol/g_{wcm}/시간 초과의 이소프렌을 생성하기에 충분한 조건 하에서 세포를 배양하는 것을 포함하는 이소

프렌 생성 방법.

청구항 54

약 $0.1 \text{ mg/L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 초과 이소프렌의 평균 체적 생산성을 야기하는 조건 하에 세포를 배양하는 것을 포함하는 이소프렌 생성 방법.

청구항 55

세포 배양 배지로부터 세포가 소비하는 약 0.002 몰% 초과 탄소를 이소프렌으로 변환시키기에 충분한 조건 하에 세포를 배양하는 것을 포함하는 이소프렌 생성 방법.

청구항 56

이중 핵산이 프로모터에 작동가능하게 연결되며 세포에 의한 이소프렌의 생성이 약 $400 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}/\text{시간}$ 초과인, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 세포를 배양하는 것을 포함하는 이소프렌 생성 방법.

청구항 57

이중 핵산이 프로모터에 작동가능하게 연결되며 세포가 약 $0.1 \text{ mg/L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 초과 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 세포를 배양하는 것을 포함하는 이소프렌 생성 방법.

청구항 58

이중 핵산이 프로모터에 작동가능하게 연결되며 세포 배양 배지로부터 세포가 소비하는 약 0.002 몰% 초과 탄소가 이소프렌으로 변환되는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 세포를 배양하는 것을 포함하는 이소프렌 생성 방법.

청구항 59

하기를 포함하는 이소프렌 생성 방법:

(a) 이소프렌을 생성하기에 적합한 배양 조건 하에 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 세포 {(i) 약 $400 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}/\text{시간}$ 초과 이소프렌을 생성하며, (ii) 세포 배양 배지로부터 세포가 소비하는 약 0.002 몰% 초과 탄소를 이소프렌으로 변환시키거나, 또는 (iii) 약 $0.1 \text{ mg/L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 초과 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 세포}를 배양하고,

(b) 이소프렌을 생성함.

청구항 60

제 53 항, 제 56 항 또는 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 약 $4.0 \times 10^3 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}/\text{시간}$ 초과 이소프렌을 생성하는 방법.

청구항 61

제 60 항에 있어서, 세포가 약 $4.0 \times 10^4 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}/\text{시간}$ 초과 이소프렌을 생성하는 방법.

청구항 62

제 61 항에 있어서, 세포가 약 $1.5 \times 10^5 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}/\text{시간}$ 초과 이소프렌을 생성하는 방법.

청구항 63

제 53 항, 제 56 항 또는 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 약 $400 \text{ nmol/g}_{\text{wcm}}/\text{시간}$ 내지 약 2.0×10^5

nmol/g_{wcm}/시간의 이소프렌을 생성하는 방법.

청구항 64

제 54 항, 제 57 항 또는 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 약 100 mg/L_{브로쓰}/시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 방법.

청구항 65

제 64 항에 있어서, 세포가 약 1,000 mg/L_{브로쓰}/시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 방법.

청구항 66

제 65 항에 있어서, 세포가 약 1,500 mg/L_{브로쓰}/시간 초과의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 방법.

청구항 67

제 54 항, 제 57 항 또는 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, 약 0.1 내지 약 1,500 mg/L_{브로쓰}/시간의 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 세포.

청구항 68

제 55 항, 제 58 항 또는 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 약 0.05 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 방법.

청구항 69

제 68 항에 있어서, 세포가 약 1 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 방법.

청구항 70

제 69 항에 있어서, 세포가 약 10 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 방법.

청구항 71

제 70 항에 있어서, 세포가 약 20 몰% 초과를 이소프렌으로 변환시키는 방법.

청구항 72

제 55 항, 제 58 항 또는 제 59 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 약 0.002 내지 약 25 몰%의 탄소를 이소프렌으로 변환시키는 방법.

청구항 73

제 53 항 내지 제 72 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포에 의해 생성된 이소프렌을 회수하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 74

제 56 항 내지 제 73 항 중 어느 한 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 식물 이소프렌 신타아제 폴리펩티드인 방법.

청구항 75

제 53 항 내지 제 74 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 IDI 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 방법.

청구항 76

제 53 항 내지 제 75 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 IDI 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 카피의 삽입물을 추가로 포함하는 방법.

청구항 77

제 53 항 내지 제 76 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 방법.

청구항 78

제 53 항 내지 제 77 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 카피의 삽입물을 추가로 포함하는 방법.

청구항 79

제 53 항 내지 제 78 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 이상의 핵산을 추가로 포함하는 방법.

청구항 80

제 79 항에 있어서, 한 핵산이 이소프렌 신타아제 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 방법.

청구항 81

제 80 항에 있어서, 한 플라스미드가 이소프렌 신타아제 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 방법.

청구항 82

제 53 항 내지 제 81 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 MVA 경로 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 방법.

청구항 83

제 82 항에 있어서, MVA 경로 폴리펩티드가 메발로네이트 키나아제 (MVK)인 세포.

청구항 84

제 83 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 85

제 84 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나 마제이로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 86

제 56 항 내지 제 85 항 중 어느 한 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 푸에라리아로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 방법.

청구항 87

제 86 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 푸에라리아 몬타나로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 방법.

청구항 88

제 56 항 내지 제 85 항 중 어느 한 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 포폴루스로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 방법.

청구항 89

제 88 항에 있어서, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드가 포폴루스 알바로부터의 자연 발생적 폴리펩티드인 방법.

청구항 90

제 88 항 또는 제 89 항에 있어서, MVA 경로 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함하는 방법.

청구항 91

제 90 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 92

제 91 항에 있어서, MVK가 메타노사르키나 마제이로부터의 폴리펩티드인 세포.

청구항 93

제 53 항 내지 제 92 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 세균 세포인 방법.

청구항 94

제 93 항에 있어서, 세포가 그람-양성 세균 세포인 방법.

청구항 95

제 94 항에 있어서, 세포가 바실러스 세포인 방법.

청구항 96

제 95 항에 있어서, 세포가 바실러스 서브틸리스 세포인 방법.

청구항 97

제 93 항에 있어서, 세포가 그람-음성 세균 세포인 방법.

청구항 98

제 97 항에 있어서, 세포가 에스케리키아 또는 판토에아 세포인 방법.

청구항 99

제 98 항에 있어서, 세포가 에스케리키아 콜리 또는 판토에아 시트레아 세포인 방법.

청구항 100

제 53 항 내지 제 92 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포가 진균 세포인 방법.

청구항 101

제 100 항에 있어서, 세포가 트리코데르마 세포인 방법.

청구항 102

제 100 항에 있어서, 세포가 트리코데르마 레에세이 세포인 방법.

청구항 103

제 100 항에 있어서, 세포가 효모 세포인 방법.

청구항 104

제 103 항에 있어서, 세포가 야로위야 세포인 방법.

청구항 105

제 104 항에 있어서, 세포가 야로위야 리포르티카 세포인 방법.

명세서

기술분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2007년 12월 13일에 출원한 미국 가출원 제 61/013,574 호에 대해 우선권을 주장한다. 상기 출원의 본문은 그 전문이 본원에 참고문헌으로 포함된다.

[0003] 본 발명은 일반적으로, 배양된 세포에서 이소프렌을 생성하기 위한 방법 및 이러한 배양된 세포를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0004] 이소프렌 (2-메틸-1,3-부타디엔)은 다양한 합성 중합체, 가장 특히 합성 고무에 대한 중요한 출발 물질이다. 이소프렌은 다양한 미생물, 식물 및 동물 종류에 의해 자연적으로 생성된다. 특히, 이소프렌의 생합성에 대한 두 가지 경로가 확인되었다: 메발로네이트 (MVA) 경로 및 비-메발로네이트 (DXP) 경로 (도 19A 및 19B). 그러나, 자연 발생적 유기체로부터의 이소프렌의 수율은 상업적으로 주목받지 못하고 있다. 1년 당 약 800,000 톤의 시스-폴리이소프렌이 이소프렌의 중합에서 생성되며; 이러한 폴리이소프렌의 대부분은 타이어 및 고무 산업에서 사용된다. 이소프렌은 또한 신발류, 기계 제품, 의료 제품, 스포츠 상품 및 라텍스와 같은 기타 제품에서 합성 엘라스토머로서 사용하기 위해 공중합된다.

[0005] 최근, 타이어 및 고무 산업은 천연 및 합성 고무의 사용을 바탕으로 한다. 천연 고무는 고무 나무 또는 아프리카의 열대 우림에서 발견되는 식물의 유액성 즙에서 수득된다. 합성 고무는 주로 부타디엔 중합체를 기초로 한다. 이들 중합체에 대하여, 부타디엔은 에틸렌 및 프로필렌 제조로부터 공동-생성물로서 수득된다.

[0006] 이소프렌이 석유 분류에 의해 수득될 수 있는 한편, 이러한 물질의 정제는 값이 비싸고 시간 소비적이다. 탄화수소의 C5 스트림의 석유 크래킹은 단지 약 15% 이소프렌을 생성해낸다. 따라서, 이소프렌을 생성하기 위한 보다 경제적인 방법이 필요하다. 특히, 확고한 상업적 공정의 요구를 충족하기에 충분한 속도, 역가 및 순도로 이소프렌을 생성하는 방법이 바람직하다. 또한, 비싸지 않은 출발 물질로부터 이소프렌을 생성하기 위한 시스템이 바람직하다.

발명의 내용

[0007] 발명의 요약

[0008] 한 측면에서는, 본 발명은 이소프렌을 생성하는 배양물 내 세포를 특징으로 한다. 일부 구현예에서는, 본 발명은 이소프렌의 세포/시간의 습식 중량에 대해 약 400 nmol 초과인 이소프렌/세포 g을 생성하는 (nmol/g_{wcm}/시간) 배양물 내 세포를 제공한다. 일부 구현예에서는, 세포는 (i) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하고 (ii) 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이중 핵산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 세포는 비제한적으로 탄수화물 (예를 들어, 자일로오스 또는 글루코오스), 아세테이트, 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원 (예를 들어, 가수분해된 바이오매스 (biomass) 탄소원), 폴리펩티드 (예를 들어, 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합과 같은 탄소원을 포함하는 배양 배지에서 배양된다.

[0009] 일부 구현예에서는, 본 발명은 약 0.1 mg/L_{브로쓰}/시간 초과인, 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는 배양물 내 세포를 제공한다. 일부 구현예에서는, 본 발명은 약 0.5 mg/L_{브로쓰}/시간 초과인, 이소프렌의 피크 체적 생산성을 갖는 배양물 내 세포를 제공한다. 일부 구현예에서는, 세포는 (i) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하고 (ii) 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이중 핵산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 세포는 비제한적으로 탄수화물 (예를 들어, 자일로오스 또는 글루코오스), 아세테이트, 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원 (예를 들어, 가수분해된 바이오매스 탄소원), 폴리펩티드 (예를 들어, 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합과 같은 탄소원을 포함하는 배양 배지에서 배양된다.

- [0010] 일부 구현예에서는, 본 발명은 세포 배양 배지에서 약 0.002% 초과인 탄소를 이소프렌으로 변환시키는 배양물 내 세포를 제공한다. 일부 구현예에서는, 세포는 (i) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하고 (ii) 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이중 핵산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 세포는 비제한적으로 탄수화물 (예를 들어, 자일로오스 또는 글루코오스), 아세테이트, 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원 (예를 들어, 가수분해된 바이오매스 탄소원), 폴리펩티드 (예를 들어, 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합과 같은 탄소원을 포함하는 배양 배지에서 배양된다.
- [0011] 일부 구현예에서는, 본 발명은 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 배양물 내 세포를 제공한다. 일부 구현예에서는, 세포는 (i) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하고 (ii) 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이중 핵산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 세포는 비제한적으로 탄수화물 (예를 들어, 자일로오스 또는 글루코오스), 아세테이트, 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원 (예를 들어, 가수분해된 바이오매스 탄소원), 폴리펩티드 (예를 들어, 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합과 같은 탄소원을 포함하는 배양 배지에서 배양된다.
- [0012] 한 측면에서는, 본 발명은 본원에서 이소프렌을 생성하기 위해 기재된 임의 세포를 사용하는 방법과 같은, 이소프렌을 생성하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 약 400 nmol/g_{wcm}/시간 초과인 이소프렌을 생성하기에 충분한 조건 하에서 세포를 배양하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 또한 세포에 의해 생성된 이소프렌을 회수하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 세포에 의해 생성된 이소프렌을 정제하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 이소프렌을 중합하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 세포는 (i) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하고 (ii) 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이중 핵산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 세포는 비제한적으로 탄수화물 (예를 들어, 자일로오스 또는 글루코오스), 아세테이트, 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원 (예를 들어, 가수분해된 바이오매스 탄소원), 폴리펩티드 (예를 들어, 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합과 같은 탄소원을 포함하는 배양 배지에서 배양된다.
- [0013] 한 측면에서는, 본 발명은 본원에서 이소프렌을 생성하기 위해 기재된 임의 세포를 사용하는 방법과 같은, 이소프렌을 생성하는 방법을 특징으로 한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 약 0.1 mg/L_{브로쓰}/시간 초과인, 이소프렌의 평균 체적 생산성을 야기하는 조건 하에 세포를 배양하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 약 0.5 mg/L_{브로쓰}/시간 초과인, 이소프렌의 피크 체적 생산성을 야기하는 조건 하에 세포를 배양하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 또한 세포에 의해 생성된 이소프렌을 회수하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 세포에 의해 생성된 이소프렌을 정제하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 이소프렌을 중합하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 세포는 (i) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하고 (ii) 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이중 핵산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 세포는 비제한적으로 탄수화물 (예를 들어, 자일로오스 또는 글루코오스), 아세테이트, 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원 (예를 들어, 가수분해된 바이오매스 탄소원), 폴리펩티드 (예를 들어, 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합과 같은 탄소원을 포함하는 배양 배지에서 배양된다.
- [0014] 일부 구현예에서는, 상기 방법은 세포 배양 배지에서 약 0.002% 초과인 탄소를 이소프렌으로 변환시키기에 충분한 조건 하에 세포를 배양하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 또한 세포에 의해 생성된 이소프렌을 회수하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 세포에 의해 생성된 이소프렌을 정제하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 상기 방법은 이소프렌을 중합하는 것을 포함한다. 일부 구현예에서는, 세포는 (i) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하고 (ii) 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이중 핵산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 세포는 비제한적으로 탄수화물 (예를 들어, 자일로오스 또는 글루코오스), 아세테이트, 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지

방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원 (예를 들어, 가수분해된 바이오매스 탄소원), 폴리펩티드 (예를 들어, 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합과 같은 탄소원을 포함하는 배양 배지에서 배양된다.

[0015] 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 초과로 또는 약 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,500, 3,000, 4,000, 5,000, 10,000, 12,500, 20,000, 30,000, 40,000, 50,000, 75,000, 100,000, 125,000, 150,000, 188,000 nmol/g_{wcm}/시간 이상으로 이소프렌을 생성한다. 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 초과로 또는 약 0.1, 1.0, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1100, 1200, 1300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500 이상의 이소프렌 mg/브로쓰 L/시간 (mg/L_{브로쓰}/시간, 브로쓰의 부피에는 세포 및 세포 배지의 부피가 포함됨)의, 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는다. 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 초과로 또는 약 0.5, 1.0, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1100, 1200, 1300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500, 3,750, 4,000, 4,250, 4,500, 4,750, 5,000, 5,250, 5,500, 5,750, 6,000, 6,250, 6,500, 6,750, 7,000, 7,250, 7,500, 7,750, 8,000, 8,250, 8,500, 8,750, 9,000, 9,250, 9,500, 9,750, 10,000, 12,500, 15,000 이상의 이소프렌 mg/브로쓰 L/시간 (mg/L_{브로쓰}/시간, 브로쓰의 부피에는 세포 및 세포 배지의 부피가 포함됨)의, 이소프렌의 피크 체적 생산성을 갖는다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 세포 배양 배지에서 초과로 또는 약 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.12, 0.14, 0.16, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 2.0, 2.2, 2.4, 2.6, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0, 13.0, 14.0, 15.0, 16.0, 17.0, 18.0, 19.0, 20.0, 21.0, 22.0, 23.0, 23.2, 23.4, 23.6, 23.8, 24.0, 25.0, 30.0, 31.0, 32.0, 33.0, 35.0, 37.5, 40.0, 45.0, 47.5, 50.0, 55.0, 60.0, 65.0, 70.0, 75.0, 80.0, 85.0, 90.0 몰% 이상의 탄소를 이소프렌으로 변환시킨다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 세포/시간의 습식 중량에 대해 초과로 또는 약 1, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,500, 3,000, 4,000, 5,000, 10,000, 100,000 이상의 이소프렌 ng/세포 g (ng/g_{wcm}/시간)으로 이소프렌을 생성한다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 초과로 또는 약 1, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,500, 3,000, 4,000, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000 이상의 이소프렌 mg/브로쓰 L (mg/L_{브로쓰}, 브로쓰의 부피에는 세포 및 세포 배지의 부피가 포함됨)로 이소프렌의 누적 역가 (총량)를 생성한다. 이소프렌 생성의 기타 예시적 속도 및 이소프렌 생성의 총량은 본원에 개시된다.

[0016] 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 IDI 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함한다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 IDI 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 카피의 삽입물을 추가로 포함한다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함한다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 카피의 삽입물을 추가로 포함한다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 이상의 핵산을 추가로 포함한다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 한 핵산은 이소프렌 신타아제 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩한다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 한 벡터는 이소프렌 신타아제 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드 및 DXS 폴리펩티드를 인코딩한다. 일부 구현예에서는, 상기 벡터는 항생제 내성 핵산과 같은 선택 마커를 포함한다.

[0017] 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 이중 이소프렌 신타아제 핵산은 중간 또는 높은 카피 플라스미드에 포함된 T7 프로모터와 같은 T7 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 이중 이소프렌 신타아제 핵산은 중간 또는 높은 카피 플라스미드에 포함된 Trc 프로모터와 같은 Trc 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 이중 이소프렌 신타아제 핵산은 낮은 카피 플라스미드에 포함된 Lac 프로모터와 같은 Lac 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 본 발명의 임의의 측면의 일부 구현예에서는, 이중 이소프렌 신타아제 핵산은 내인성 알칼리 세린 프로테아제 프로모터와 같은 내인성 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서는, 이중 이소프렌 신타아제 핵산이 선택 마커

없이 세포의 염색체에 융합된다.

- [0018] 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 적어도 일부의 세포가 연속 배양 (회색하지 않는 연속 배양과 같은)에서 이중 이소프렌 신타아제 핵산을 적어도 또는 약 5, 10, 20, 40, 50, 60, 65회 이상의 세포 분열 동안 유지시킨다. 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제, IDI 또는 DXS 핵산을 포함하는 핵산은 또한 항생제 내성 핵산과 같은 선택 마커를 포함한다.
- [0019] 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 MVA 경로 폴리펩티드 (사카로마이세스 세레비지에 (*Saccharomyces cerevisiae*), 메타노사르키나 마제이 (*Methanosarcina mazei*) 또는 엔테로코쿠스 파에칼리스 (*Enterococcus faecalis*)로부터의 MVA 경로 폴리펩티드와 같은)를 인코딩하는 이중 핵산을 추가로 포함한다. 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 MVA 경로 폴리펩티드 (사카로마이세스 세레비지에, 메타노사르키나 마제이 또는 엔테로코쿠스 파에칼리스로부터의 MVA 경로 폴리펩티드와 같은)를 인코딩하는 내인성 핵산의 카피의 삽입물을 추가로 포함한다. 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 이소프렌 신타아제, DXS 및 MVA 경로 핵산을 포함한다. 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 이소프렌 신타아제 핵산, DXS 핵산, IDI 핵산 및 MVA 경로 핵산 (IDI 핵산에 추가로)을 포함한다.
- [0020] 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드는 푸에라리아 (*Pueraria*) (예를 들어, 푸에라리아 몬타나 (*Pueraria montana*)) 또는 포폴루스 (*Populus*) (예를 들어, 포폴루스 트레몰로이데스 (*Populus tremuloides*), 포폴루스 알바 (*Populus alba* (P. alba)), 포폴루스 니그라 (*Populus nigra*), 포폴루스 트리코카르파 (*Populus trichocarpa*) 또는 하이브리드, 포폴루스 알바 x 포폴루스 트레몰라 (*Populus tremula*))와 같은 식물로부터의 자연 발생적 폴리펩티드이다.
- [0021] 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 그람-양성 세균 세포 (예를 들어, 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis*) 세포와 같은 바실러스 세포, 또는 스트렙토마이세스 리비단스 (*Streptomyces lividans*), 스트렙토마이세스 코엘리콜로르 (*Streptomyces coelicolor*), 스트렙토마이세스 알부스 (*Streptomyces albus*) 또는 스트렙토마이세스 그리세우스 (*Streptomyces griseus*) 세포와 같은 스트렙토마이세스 세포)와 같은 세균 세포이다. 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 그람-음성 세균 세포 (예를 들어, 에스케리키아 콜리 (*Escherichia coli*, 대장균) 세포와 같은 에스케리키아 세포, 또는 판토에아 시트레아 (*Pantoea citrea*) 세포와 같은 판토에아 세포)이다. 일부 구현예에서는, 대장균 세포는 대장균 FadR atoC 돌연변이체 세포이다. 일부 구현예에서는, 대장균 세포는 ybhE (또한 pgl로서 알려짐)를 발현한다 (예를 들어, 항시적으로 발현). 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 세포는 필라멘트성 진균 세포 (예를 들어, 트리코테르마 레에세이 (*Trichoderma reesei*) 세포와 같은 트리코테르마 세포, 또는 아스페르길루스 오리자에 (*Aspergillus oryzae*) 및 아스페르길루스 니게르 (*Aspergillus niger*)와 같은 아스페르길루스 세포) 또는 효모 세포 (예를 들어, 야로위야 리폴리티카 (*Yarrowia lipolytica*) 세포와 같은 야로위야 세포)와 같은 진균 세포이다.
- [0022] 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 미생물 폴리펩티드 탄소원은 효모 또는 세균으로부터의 하나 이상의 폴리펩티드를 포함한다. 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 식물 폴리펩티드 탄소원은 콩, 옥수수, 카놀라, 자트로파, 야자, 땅콩, 해바라기, 코코넛, 겨자, 평지씨, 목화씨, 야자 핵 (palm kernel), 올리브, 잇꽃, 참깨 또는 아마인으로부터의 하나 이상의 폴리펩티드를 포함한다.
- [0023] 한 측면에서는, 본 발명은 폴리이소프렌을 포함하는 타이어를 제공한다. 일부 구현예에서는, 폴리이소프렌은 (i) 본원에 기재된 임의의 조성물 또는 방법으로부터 이소프렌을 중합하거나 (ii) 본원에 기재된 임의의 조성물 또는 방법에서 회수된 이소프렌을 중합하여 생성된다. 일부 구현예에서는, 폴리이소프렌은 시스-1,4-폴리이소프렌을 포함한다.
- [0024] 한 측면에서는, 본 발명은 본 발명의 임의의 조성물 또는 방법에 의해 제조된 생성물 (예를 들어 타이어)을 특징으로 한다.
- [0025] 본원에 기재된 다양한 구현예의 특성 중 하나, 일부 또는 전부가 조합되어 본 발명의 다른 구현예를 형성할 수 있음이 이해될 것이다. 본 발명의 이러한 측면 및 기타 측면은 당업자에게 명백할 것이다.
- [0026] 발명의 상세한 설명
- [0027] 본 발명은 증가된 양의 이소프렌의 생성을 위한 방법 및 조성물을 특징으로 한다. 특히, 이들 조성물 및 방법은 이소프렌 생성 속도를 증가시키고, 생성된 이소프렌의 총량을 증가시킨다. 예를 들어, 4.8×10^4

nmol/g_{wcm}/시간의 이소프렌을 생성하는 세포 배양 시스템이 만들어졌다 (표 1). 이들 시스템의 효율은 세포 배양 배지로부터 세포가 소비하는 탄소의 약 23.6 몰% 수율 (10.7 중량% 수율)의 이소프렌으로의 변환 (탄소 수율%)에 의해 입증된다. 실시예 및 표 2에서 나타내는 바와 같이, 브로쓰 ℓ 당 약 60.5 g의 이소프렌이 발효되었다. 이소프렌은 1.88×10^5 nmol/OD/시간의 피크 특이적 속도 (1.88×10^5 nmol/g_{wcm}/시간)에서 생성되었다. 필요하다면, 본원에 기재된 것들과 같은 다른 조건을 사용하여 더 큰 양의 이소프렌을 수득할 수 있다. 일부 구현예에서는, 재생가능 탄소원이 이소프렌의 생성에 사용된다. 본 발명의 조성물 및 방법은, 세포 당 높은 이소프렌 수율, 높은 탄소 수율, 높은 이소프렌 순도, 높은 생산성, 낮은 에너지 사용, 낮은 제조 가격 및 투자 비용, 및 최소의 부반응을 허용하기 때문에 바람직하다. 이러한 이소프렌 생성을 위한 효율적이고 대규모인 생합성 공정은 합성 이소프렌계 고무에 대한 이소프렌 공급원을 제공하며, 천연 고무를 사용하는 것에 대해 바람직하고 낮은 비용 대체물을 제공한다.

[0028] 하기에 추가로 토의되는 바와 같이, 세포에 의해 생성된 이소프렌의 양은 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 (예를 들어, 식물 이소프렌 신타아제 폴리펩티드)를 인코딩하는 이중 핵산을 세포에 도입함으로써 크게 증가될 수 있다. 이소프렌 신타아제 폴리펩티드는 디메틸알릴 디포스페이트 (DMAPP)를 이소프렌으로 변환시킨다. 실시예에서 나타내는 바와 같이, 이중 푸에라리아 몬타나 (*Pueraria Montana*) (쿠주) 또는 포폴루스 알바 (*Populus alba*) (포폴리) 이소프렌 신타아제 폴리펩티드는 에스케리키아 콜리 (*Escherichia coli*, 대장균), 판토에아 시트레아 (*Pantoea citrea*), 바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis*), 야로위야 리폴리티카 (*Yarrowia lipolytica*) 및 트리코데르마 레에세이 (*Trichoderma reesei*)와 같은 다양한 숙주 세포에서 발현되었다. 실시예에서 나타내는 바와 같이, 이중 메타노사르키나 마제이 (*Methanosarcina mazei*) (M. 마제이) 메발로네이트 키나아제 (MVK)는 대장균과 같은 숙주 세포에서 발현되어 이소프렌 생성을 증가시켰다. 이들 세포 모두는 이중 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 갖지 않는 상응하는 세포들보다 더 많은 이소프렌을 생성하였다. 표 1 및 2에서 설명하는 바와 같이, 본원에서 기재된 방법을 사용하여 다량의 이소프렌이 생성된다. 예를 들어, 이중 이소프렌 신타아제 핵산을 갖는 B. 서브틸리스 세포는 이중 핵산을 갖지 않는 상응하는 대조군 B. 서브틸리스 세포보다 14ℓ 발효기에서 약 10배 더 많은 이소프렌을 생성한다 (표 2). 발효기 내에서 대장균에 의한 브로쓰의 ℓ 당 이소프렌 (mg/L, 브로쓰의 부피에는 세포의 부피 및 세포 배지의 부피가 모두 포함됨) 60.5 g, 및 B. 서브틸리스에 의한 30 mg/L의 생성은 유의한 양의 이소프렌이 생성될 수 있다는 것을 나타낸다 (표 2). 필요하다면, 이소프렌의 양을 추가적으로 증가시키는데 사용될 수 있는 본원에 기재된 다른 조건 또는 보다 더 큰 규모에서 이소프렌을 생성할 수 있다. 벡터를 표 1 및 2에 열거하고, 실험적 조건을 하기 및 실시예 부분에서 보다 상세히 기재한다.

[0029] 표 1: 본 발명의 방법 및 세포 배양물을 사용하는 진탕 플라스크로부터의 이소프렌의 예시적 수율

[0030] 이소프렌 생성을 측정하기 위한 검정법을 실시예 1, II 부분에서 기재한다. 상기 검정을 위해, 진탕 플라스크로부터 하나 이상의 시간 지점에서 샘플을 제거하고 30분 동안 배양하였다. 상기 샘플에서 생성된 이소프렌의 양을 이후 측정하였다. 이소프렌 생성의 특이적 속도 및 상부공간 농도를 표 1에 열거하고 본원에서 추가적으로 기재한다.

[0031] [표 1]

균주	상부공간 바이알에서의 이소프렌 생성 *	
	상부공간 농도 $\mu\text{g/L}_{\text{기체}}$	특이적 속도 $\mu\text{g/L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}/\text{OD}$ ($\text{nmol/g}_{\text{wet}}/\text{시간}$)
대장균 BL21/ pTrcKudzu IS	1.40	53.2 (781.2)
대장균 BL21/ Pel DXS yidi Kudzu IS	7.61	289.1 (4.25×10^3)
대장균 BL21/ 쿠주 IS 및 전체 MVA 통로를 갖는 MCM127	23.0	874.1 (1.28×10^4)
대장균 BL21/ Pet N-HisKudzu IS	1.49	56.6 (831.1)
판토에아 시트레아 /pTrcKudzu IS	0.66	25.1 (368.6)
대장균 w/ <i>Poplar IS</i> [Miller (2001)]	-	5.6 (82.2)
바실러스 리체니포르미스 (US 5849970 에 해당)	-	4.2 (61.4)
쿠주 이소프렌 신타아제를 갖는 아로워야 리포르티카	$\sim 0.05 \mu\text{g/L}$	~ 2 (~ 30)
쿠주 이소프렌 신타아제를 갖는 트리코테르마 레에세이	$\sim 0.05 \mu\text{g/L}$	~ 2 (~ 30)
대장균 BL21/ 쿠주 IS 및 하위 MVA 통로를 갖는 pTrcKKD ₇ L ₆ IS	85.9	3.2×10^3 (4.8×10^4)

[0032]

[0033] * 1:19의 액체 대 상부공간 부피 비율로 밀봉 상부공간 바이알에서 1시간 동안 배양된, 1의 OD₆₀₀의 1 ml에 대해 정상화됨.

[0034] 표 2: 본 발명의 방법 및 세포 배양물을 사용하는 발효기에서의 이소프렌의 예시적 수율

[0035] 이소프렌 생성을 측정하기 위한 검정법을 실시예 1, II 부분에서 기재한다. 상기 검정을 위해, 발효기의 배출 기체 (off-gas) 샘플을 취하고 이소프렌의 양에 대해 분석하였다. 피크 상부공간 농도 (발효 동안 가장 높은 상부공간 농도), 역가 (브로쓰의 l 당 생성된 이소프렌의 누적 총량) 및 이소프렌 생성의 피크 특이적 속도 (발효 동안 가장 높은 특이적 속도)를 표 2에 열거하고 본원에서 추가적으로 기재한다.

[0036] [표 2]

균주	발효기에서의 이소프렌 생성		
	피크 상부공간 농도 ** ($\mu\text{g/L}_{\text{기체}}$)	역가 ($\text{mg/L}_{\text{브로쓰}}$)	피크 특이적 속도 $\mu\text{g/L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}/\text{OD}$ ($\text{nmol/g}_{\text{wet}}/\text{시간}$)
대장균 BL21 /Kudzu IS를 갖는 pTrcKudzu	52	41.2	37 (543.3)
대장균 FM5/pTrcKudzu IS	3	3.5	21.4 (308.1)
대장균 BL21/ 3종 균주 (DXS, yidi, IS)	285	300	240 (3.52×10^3)
대장균 FM5/ 3종 균주 (DXS, yidi, IS)	50.8	29	180.8 (2.65×10^3)
대장균 / Kudzu IS 및 전체 MVA 통로를 갖는 MCM127	1094	250	875 (1.28×10^4)
바실러스 서브틸리스 야생형	1.5	2.5	0.8 (11.7)
바실러스 <i>pBS Kudzu</i> <i>IS</i>	16.6	~30 (over 100 hours)	5 (73.4)
바실러스 마르부르그 6051 [Wagner and Fall (1999)]	2.04	0.61	24.5 (359.8)
바실러스 마르부르그 6051 (US 5849970 에 해당)	0.7	0.15	6.8 (100)
대장균 BL21/pCLPtrcUpper Pathway 및 gil.2KKDyI 및 pTrcAlba-mMVK	2.03×10^4	3.22×10^4	5.9×10^3 (8.66×10^4)
대장균 BL21/pCLPtrcUpper Pathway 및 gil.2KKDyI 및 pTrcAlba-mMVK + pBBRCMPGI1.5pgl	3.22×10^4	6.05×10^4	1.28×10^4 (1.88×10^5)

[0037]

[0038] **1 vvm (분 당 1 L_{브로쓰} 당 1 부피 배출 기체)의 배출 기체 유속에 대해 정상화됨.

[0039] 추가적으로, 이중 이소프렌 신타아제 핵산을 함유하는 세포에 의한 이소프렌 생성은 세포에 의해 발현되는 1-테옥시-D-자일루로오스-5-포스페이트 신타아제 (DXS) 폴리펩티드 및/또는 이소펜테닐 디포스페이트 이성화효소 (IDI) 폴리펩티드의 양을 증가시킴으로써 증강될 수 있다. 예를 들어 DXS 핵산 및/또는 IDI 핵산은 세포에 도입될 수 있다. DXS 핵산은 이중 핵산, 또는 내인성 핵산의 이중 카피일 수 있다. 유사하게, IDI 핵산은 이중 핵산, 또는 내인성 핵산의 이중 카피일 수 있다. 일부 구현예에서는, DXS 및/또는 IDI 폴리펩티드의 양은 내인성 DXS 및/또는 IDI 프로모터 또는 조절 부위를 DXS 및/또는 IDI 핵산의 더 큰 전사를 야기하는 다른 프로모터 및/또는 조절 부위로 대체함으로써 증가된다. 일부 구현예에서는, 세포는 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산 (예를 들어 식물 이소프렌 신타아제 핵산) 및 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 이중 카피를 모두 함유한다.

[0040] 인코딩된 DXS 및 IDI 폴리펩티드는 이소프렌의 생합성을 위한 DXP 경로의 일부이다 (도 19A). DXS 폴리펩티

드는 피루베이트 및 D-글리세르알데히드-3-포스페이트를 1-데옥시-D-자일루로오스-5-포스페이트로 변환시킨다.

어떠한 특정 이론에도 얽매이지 않는 것으로 의도되지만, DXS 폴리펩티드의 양을 증가시키는 것은 DXP 경로를 통한 탄소의 흐름을 증가시켜 더 많은 이소프렌 생성을 야기하는 것으로 믿어진다. IDI 폴리펩티드는 이소펜테닐 디포스페이트 (IPP) 및 디메틸 알릴 디포스페이트 (DMAPP)의 상호변환을 촉진한다. 어떠한 특정 이론에도 얽매이지 않는 것으로 의도되지만, 세포 내의 IDI 폴리펩티드의 양을 증가시키는 것은 IPP의 양을 증가시켜 이는 DMAPP로 변환되고, 다음에는 이소프렌으로 변환되는 것으로 믿어진다.

[0041] 예를 들어, 쿠주 (kudzu) 이소프렌 신타아제, *S. 세레비지에* (*S. cerevisiae*) IDI, 및 대장균 DXS 핵산을 갖는 대장균 세포의 발효가 이소프렌을 생성하는데 사용된다. 이소프렌의 수준은 15시간의 기간에 걸쳐 50 내지 300 $\mu\text{g/L}$ 로 가변적이다 (실시에 7, VII 부분). 또 다른 예로서, *M. 마제이* 메발로네이트 키나아제 (MVK), *P. 알바* 이소프렌 신타아제, 상위 MVA 경로 및 융합된 하위 MVA 경로를 갖는 대장균 세포의 발효가 이소프렌을 생성하는데 사용된다. 이소프렌의 수준은 67시간의 기간에 걸쳐 32 내지 35.6 g/L로 가변적이다 (실시에 10, III 부분).

[0042] 또 다른 예에서, *M. 마제이* 메발로네이트 키나아제 (MVK), *P. 알바* 이소프렌 신타아제, *pgl* 과발현 (RHM111608-2), 상위 MVA 경로 및 융합된 하위 MVA 경로를 갖는 대장균의 발효가 이소프렌을 생성하는데 사용된다. 이소프렌의 수준은 40시간의 기간에 걸쳐 33.2 g/L 내지 40.0 g/L, 또는 59시간의 기간에 걸쳐 48.6 g/L 내지 60.5 g/L로 가변적이다 (실시에 13, (ii) 부분).

[0043] 일부 구현예에서는, 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, IDI 및 DXS 핵산의 존재는 세포가 오직 하나 또는 둘의 이들 이종 또는 특별 내인성 핵산을 갖는 상응하는 세포와 비교하여 보다 재생가능하게 성장하거나 더 길게 생존하도록 유발한다. 예를 들어 이종 이소프렌 신타아제, IDI 및 DXS 핵산을 함유하는 세포는 오직 이종 이소프렌 신타아제 및 DXS 핵산을 갖거나 오직 이종 이소프렌 신타아제 핵산만을 갖는 세포보다 더 양호하게 성장한다. 또한 이종 이소프렌 신타아제, IDI 및 DXS 핵산은 세포에 과량의 독성을 일으키지 않고 세포에서 발현될 수 있는 다량의 폴리펩티드를 제시하는, 대장균에서 유지된 높은 카피 플라스미드 상의 강력한 프로모터에 성공적으로 작동가능하게 연결된다. 특정 이론에 얽매이지 않는 것으로 의도되지만, 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제 및 IDI 핵산의 존재는 이종 또는 특별 내인성 DXS 핵산이 세포 내에 존재하기만 한다면 축적되는 하나 이상의 잠재적 독성 중간체의 양을 감소시킬 수 있는 것으로 믿어진다.

[0044] 일부 구현예에서는, 이종 이소프렌 신타아제 핵산을 함유하는 세포에 의한 이소프렌의 생성은 세포에 의해 발현되는 MVA 폴리펩티드의 양을 증가시킴으로써 증대된다 (도 19A 및 19B). 예시적 MVA 경로 폴리펩티드는 하기 폴리펩티드 중 임의의 것을 포함한다: 아세틸-CoA 아세틸트랜스퍼라아제 (AA-CoA 티올라아제) 폴리펩티드, 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA 신타아제 (HMG-CoA 신타아제) 폴리펩티드, 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA 환원효소 (HMG-CoA 환원효소) 폴리펩티드, 메발로네이트 키나아제 (MVK) 폴리펩티드, 포스포메발로네이트 키나아제 (PMK) 폴리펩티드, 디포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (MVD) 폴리펩티드, 포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (PMDC) 폴리펩티드, 이소펜테닐 포스페이트 키나아제 (IPK) 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드, 및 둘 이상의 MVA 경로 폴리펩티드의 활성을 갖는 폴리펩티드 (예를 들어, 융합 폴리펩티드). 예를 들어, 하나 이상의 MVA 경로 핵산이 세포에 도입될 수 있다. 일부 구현예에서는, 세포는 AA-CoA 티올라아제, HMG-CoA 신타아제 및 HMG-CoA 환원효소 핵산을 포함하는 상위 MVA 경로를 함유한다. 일부 구현예에서는, 세포는 MVK, PMK, MVD 및 IDI 핵산을 포함하는 하위 MVA 경로를 함유한다. 일부 구현예에서는, 세포는 AA-CoA 티올라아제, HMG-CoA 신타아제, HMG-CoA 환원효소, MVK, PMK, MVD 및 IDI 핵산을 포함하는 전체 MVA 경로를 함유한다.

일부 구현예에서는, 세포는 AA-CoA 티올라아제, HMG-CoA 신타아제, HMG-CoA 환원효소, MVK, PMDC, IPK 및 IDI 핵산을 포함하는 전체 MVA 경로를 함유한다. MVA 경로 핵산은 이종 핵산, 또는 내인성 핵산의 이종 카피일 수 있다. 일부 구현예에서는, 하나 이상의 MVA 경로 폴리펩티드는 MVA 경로 핵산에 대한 내인성 프로모터 또는 조절 부위를 MVA 경로 핵산의 더 큰 전사를 야기하는 다른 프로모터 및/또는 조절 부위로 대체함으로써 증가된다. 일부 구현예에서는, 세포는 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이종 핵산 (예를 들어 식물 이소프렌 신타아제 핵산), 및 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 내인성 핵산의 이종 카피를 모두 함유한다.

[0045] 예를 들어, 쿠주 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 및 사카로마이세스 세레비지에 MVK, PMK, MVD 및 IDI 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 함유하는 대장균 세포는 6.67×10^4 nmol/L_{브로츠}/OD₆₀₀/시간의 속도로 이소프렌을 생성한다 (실시에 8 참조). 추가적으로, 엔테로코쿠스 파에칼리스 (*Enterococcus faecalis*) AA-CoA 티올라아제, HMG-CoA 신타아제 및 HMG-CoA 환원효소 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 갖는 대장균 세포

의 14 ℓ 발효로 22 g의 메발론산 (MVA 경로의 중간체)이 생성된다. 이들 세포의 진탕 플라스크에서 ℓ 당 2~4 g의 메발론산이 생성된다. 이들 결과는 이중 MVA 경로 핵산이 대장균에서 활성이라는 것을 나타낸다.

상위 MVA 경로 및 하위 MVA 경로 뿐 아니라 쿠주 이소프렌 신타아제를 모두 함유하는 대장균 세포 (균주 MCM 127)는 오직 하위 MVA 경로 및 쿠주 이소프렌 신타아제에 대한 핵산만을 갖는 대장균 (균주 MCM 131)에 비해 유의하게 더 많은 이소프렌 ($874 \mu\text{g/L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}/\text{OD}$)을 생성한다 (표 3 및 실시예 8, VIII 부분 참조).

[0046] 또 다른 예로서, P. 알바 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산 및 M. 마제이 MVK 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 함유하는 대장균 세포는 효모 추출물의 공급 없이 67시간 발효 동안 $320.6 \text{ g } (9.54 \times 10^4 \text{ nmol/L}_{\text{브로쓰}}/\text{OD}_{600}/\text{시간의 피크 특이적 속도에서 (즉 } 9.5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}_{\text{브로쓰}}/\text{OD}_{600}/\text{시간}))$ 의 이소프렌을 생성하거나, 효모 추출물을 공급하여 68시간 발효 동안 $395.5 \text{ g } (8.66 \times 10^4 \text{ nmol/L}_{\text{브로쓰}}/\text{OD}_{600}/\text{시간의 피크 특이적 속도에서})$ 의 이소프렌을 생성한다 (실시예 10 참조).

[0047] 일부 구현예에서는, 세포의 적어도 일부는 연속 배양 (예를 들어 희석하지 않는 연속 배양)에서 이중 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산을 약 5, 10, 20, 50, 75, 100, 200, 300회 이상의 세포 분열 동안 유지한다. 본 발명의 임의 측면의 일부 구현예에서는, 이중 또는 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산의 이중 카피를 포함하는 핵산은 또한 카나마이신, 암피실린, 카르베니실린, 겐타마이신, 하이그로마이신, 플레오마이신, 블레오마이신, 네오마이신, 또는 클로람페니콜 항생제 내성 핵산과 같은 선택 마커를 포함한다.

[0048] 실시예 7, VI 부분에서 나타내는 바와 같이, 생성된 이소프렌의 양은 이소프렌이 생성되도록 쿠주 이소프렌 신타아제, S. 세레비지에 IDI 및 대장균 DXS 핵산을 갖는 대장균 세포를 사용하는 세포 배양 배지에 효모 추출물을 첨가함으로써 추가로 증가될 수 있다. 특히, 생성된 이소프렌의 양은 시험된 농도에 대한 세포 배지 내의 효모 추출물의 양에 대해 선형으로 비례한다 (도 48C). 추가적으로, 브로쓰의 ℓ 당 약 0.11 g의 이소프렌이 효모 추출물 및 글루코오스를 갖는 세포 배지에서 생성되었다 (실시예 7, VIII 부분). 글루코오스의 존재 하에 효모 추출물의 양을 증가시키는 것은, 효모 추출물의 존재 하에 글루코오스의 양을 증가시키는 것보다 더 많은 이소프렌이 생성되게 한다. 또한 효모 추출물의 양을 증가시켜, 세포가 더 긴 시간 동안 높은 수준의 이소프렌을 생성하게 하고 세포의 건강이 개선되게 한다.

[0049] 탄소원으로서 세 가지 유형의 가수분해된 바이오매스 (바가스, 옥수수대 및 침엽수 펄프)를 사용하여 이소프렌 생성을 또한 입증한다 (도 46A~C 및 도 69A 및 69B). 쿠주 이소프렌 신타아제, S. 세레비지에 IDI 및 대장균 DXS 핵산을 갖는 대장균 세포는 동량의 글루코오스 (예를 들어 1% 글루코오스, w/v)로부터의 이소프렌 양만큼, 가수분해된 바이오매스 탄소원으로부터 이소프렌을 생성한다. P. 알바 이소프렌 신타아제 및 MVA 경로를 발현하는 대장균 세포는 동량의 글루코오스로부터보다 암모니아 함유 팽창 (AFEX) 사전처리된 옥수수대로부터 더 높은 초기 성장 속도로 이소프렌을 생성한다 (도 69 A 및 69B). 필요하다면, 임의 다른 바이오매스 탄소원이 본 발명의 조성물 및 방법에 사용될 수 있다. 많은 통상적 세포 배지보다 더 싸고, 그에 따라 이소프렌의 경제적 제조가 촉진되기 때문에, 상기 바이오매스 탄소원이 바람직하다.

[0050] 추가적으로, 반전당 (invert sugar)은 이소프렌의 생성을 위한 탄소원으로서 역할하는 것으로 나타난다 (도 47D).

[0051] 추가적으로, 자일로오스, 아세테이트 및 글리세롤이 또한 이소프렌의 생성을 위한 탄소원으로서 역할하는 것으로 나타난다 (도 69A~69D). 예를 들어 유일한 탄소원으로서 아세테이트 상에서 성장한, P. 알바 이소프렌 신타아제 및 MVA 경로를 갖는 대장균 세포는 글루코오스 상에서 성장하는 동안의 약 2배 더 높은 이소프렌의 특이적 생산성을 가진다 (실시예 10, IV 부분; 도 69A 및 69B).

[0052] 일부 구현예에서는, 오일이 세포 배지에 포함된다. 예를 들어, 쿠주 이소프렌 신타아제 핵산을 함유하는 B. 서브틸리스 세포는 오일 및 글루코오스의 공급원을 함유하는 세포 배지에서 배양되는 경우 이소프렌을 생성한다 (실시예 4, III 부분). 또 다른 예로서, 상위 및 하위 MVA 경로 + 쿠주 이소프렌 신타아제를 함유하는 대장균 fadR atoC 돌연변이체 세포는 야자유 및 글루코오스 공급원을 함유하는 세포 배지에서 배양되는 경우 이소프렌을 생성한다 (실시예 12, II 부분). 일부 구현예에서는, 하나 초과와 오일 (예를 들어 2, 3, 4, 5개 이상의 오일)이 세포 배지에 포함된다. 어떠한 특정 이론에도 얽매이지 않는 것으로 의도되지만, (i) 오일이 이소프렌으로의 변환에 활용가능한 세포 내의 탄소량을 증가시킬 수 있고, (ii) 오일이 세포 내의 아세틸-CoA의 양을 증가시킴으로써 MVA 통로를 통한 탄소 흐름을 증가시킬 수 있고/있거나 (iii) 오일이 세포에 여분의 영양

분을 제공할 수 있다고 믿어지는데, 이는 세포 내의 많은 탄소가 다른 생성물보다는 이소프렌으로 변환되기 때문에 바람직하다. 일부 구현예에서는, 오일을 함유하는 세포 배지에서 배양되는 세포는 이소프렌이 생성되도록 자연적으로 MVA 경로를 사용하거나, 전체 MVA 통로에 대한 핵산을 함유하도록 유전적으로 변형된다. 일부 구현예에서는, 오일이 세포 배양 배지에 첨가되기 전에 부분적으로 또는 완전히 가수분해되어 숙주 세포에 의한 오일의 사용이 촉진된다.

[0053] 예시적 폴리펩티드 및 핵산

[0054] 다양한 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산이 본 발명의 조성물 및 방법에 사용될 수 있다.

[0055] 본원에서 사용되는 바와 같이, "폴리펩티드"는 폴리펩티드, 단백질, 펩티드, 폴리펩티드의 절편, 및 제 1 폴리펩티드의 일부 또는 전부 (예를 들어 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드) 및 제 2 폴리펩티드의 일부 또는 전부 (예를 들어 His-표지와 같은, 융합 폴리펩티드의 정제 또는 검출을 촉진하는 펩티드)를 포함하는 융합 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서는, 융합 폴리펩티드는 둘 이상의 MVA 경로 폴리펩티드 (AA-CoA 티올라아제 및 HMG-CoA 환원효소 폴리펩티드와 같은)의 활성을 갖는다. 일부 구현예에서는, 폴리펩티드는 둘 이상의 MVA 경로 폴리펩티드의 활성을 갖는 자연 발생적 폴리펩티드 (예를 들어 엔테로코쿠스 파에칼리스 mvaE 핵산에 의해 인코딩되는 폴리펩티드)이다.

[0056] 다양한 구현예에서, 폴리펩티드는 적어도 또는 약 50, 100, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400개 이상의 아미노산을 갖는다. 일부 구현예에서는, 폴리펩티드 절편은 전체 길이 폴리펩티드로부터 적어도 또는 약 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300개 이상의 연속 아미노산을 함유하며, 상응하는 전체 길이 폴리펩티드의 활성의 적어도 또는 약 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100%를 갖는다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 임의의 자연 발생적 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드의 전체 아미노산 서열 또는 단편을 포함한다. 일부 구현예에서는, 폴리펩티드는 야생형 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드의 서열 (즉, 자연적으로 발생하는 서열)과 비교하여 하나 이상의 돌연변이를 갖는다.

[0057] 일부 구현예에서는, 폴리펩티드는 단리된 폴리펩티드이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "단리된 폴리펩티드"는 2, 5, 10, 20, 50개 이상의 상이한 폴리펩티드의 라이브러리와 같은 폴리펩티드의 라이브러리의 일부가 아니며, 자연적으로 발생하는 하나 이상의 성분으로부터 분리된다. 단리된 폴리펩티드는, 예를 들어 폴리펩티드를 인코딩하는 재조합 핵산의 발현에 의해 수득될 수 있다.

[0058] 일부 구현예에서는, 폴리펩티드는 이중 폴리펩티드이다. "이중 폴리펩티드"는 동일한 숙주 세포에서 자연적으로 발현되는 또 다른 폴리펩티드의 서열과 아미노산 서열이 동일하지 않은 폴리펩티드를 의미한다.

[0059] 본원에서 사용되는 바와 같이, "핵산"은 단일 또는 이중 가닥 형태인 둘 이상의 데옥시리보뉴클레오타이드 및/또는 리보뉴클레오타이드를 나타낸다. 일부 구현예에서는, 핵산은 재조합 핵산이다. "재조합 핵산"은 관심 핵산이 유래하는 유기체의 자연 발생적 게놈에서, 관심 핵산의 측면에 위치하는 하나 이상의 핵산 (예를 들어 유전자)이 없는 관심 핵산을 의미한다. 그러므로 상기 용어는 예를 들어 벡터, 자체 복제 플라스미드 또는 바이러스, 또는 원핵생물 또는 진핵생물의 게놈 DNA 내에 통합되거나, 다른 서열에 독립적인 별개의 분자 (예를 들어 cDNA, 게놈 DNA 절편, 또는 PCR 또는 제한 엔도뉴클레아제 소화에 의해 생성되는 cDNA 절편)로서 존재하는 재조합 DNA를 포함한다. 일부 구현예에서 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은, 또 다른 폴리펩티드의 전부 또는 일부를 인코딩하는 또 다른 핵산에 작동가능하게 연결되어, 재조합 핵산이 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드를 포함하는 융합 폴리펩티드, 및 또 다른 폴리펩티드 (예를 들어 His-표지와 같은, 융합 폴리펩티드의 정제 또는 검출을 촉진하는 펩티드)의 전부 또는 일부를 인코딩한다. 일부 구현예에서는, 재조합 핵산의 일부 또는 전부가 화학적으로 합성된다.

[0060] 일부 구현예에서는, 핵산은 이중 핵산이다. "이중 핵산"은 동일한 숙주 세포에서 자연적으로 발견되는 또 다른 핵산의 서열과 동일하지 않은 핵산 서열의 핵산을 의미한다.

[0061] 특정 구현예에서는, 핵산은 임의의 자연 발생적 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산의 전체 핵산 서열 또는 단편을 포함한다. 일부 구현예에서는, 핵산은 자연 발생적 이소프렌 신타아제 핵산 DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산으로부터 적어도 또는 약 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800개 이상의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서는, 핵산은 야생형 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산의 서열 (즉, 자연적으로 발생하는 서열)과 비교하여 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 일부 구현예에서는, 핵산은 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산의 전사 또는 번역을 증가시키는 하나 이상의 돌연

변이 (예를 들어 침묵 돌연변이)를 갖는다. 일부 구현예에서는, 핵산은 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드를 인코딩하는 임의 핵산의 변이체를 퇴화시킨다.

[0062] "코돈 퇴화성"은 인코딩된 폴리펩티드의 아미노산 서열에 영향을 주지 않고 뉴클레오티드 서열의 변이를 허용하는 유전적 코드에서의 차이 (divergence)를 나타낸다. 숙련된 기술자는 주어진 아미노산을 구체화하기 위한 뉴클레오티드 코돈의 이용에서 특정 숙주 세포에 의해 나타나는 "코돈-바이어스 (codon-bias)"를 잘 인지한다.

그러므로, 숙주 세포 내의 개선된 발현을 위해 핵산을 합성하는 경우 핵산을 설계하기 위한 일부 구현예에서 코돈 이용의 빈도가 숙주 세포의 바람직한 코돈 이용의 빈도에 도달하는 것이 바람직하다.

[0063] 예시적 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산의 기탁 번호를 부록 1에 열거하였다 (부록 1의 기탁 번호 및 이의 상응하는 서열은, 특히 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산의 아미노산 및 핵산 서열에 대해 그 전체가 본원에 참고문헌으로 포함됨). Kegg 데이터베이스는 또한 수많은 예시적 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산의 아미노산 및 핵산 서열을 포함한다 (예를 들어 "www.genome.jp/kegg/pathway/map/map00100.html" 및 그의 서열 참조; 특히 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산의 아미노산 및 핵산 서열에 대해 그 전체가 본원에 참고문헌으로 포함됨). 일부 구현예에서는, 하나 이상의 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드 및/또는 핵산은 부록 1에서의 임의 기탁 번호 또는 Kegg 데이터베이스에 존재하는 임의 서열에 상응하는 임의의 서열과 같은 2007년 12월 12일 또는 2008년 12월 11일에 공식적으로 활용가능한 서열과 동일한 서열을 갖는다. 추가적인 예시적 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산은 하기에서 추가적으로 기재된다.

[0064] 예시적 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 및 핵산

[0065] 상기 언급된 바와 같이, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드는 디메틸알릴 디포스페이트 (DMAPP)를 이소프렌으로 변환시킨다. 예시적 이소프렌 신타아제 폴리펩티드는 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 및 이소프렌 신타아제 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 포함한다. 세포 추출물 내에서 시험관 내, 또는 생체내에서 DMAPP를 이소프렌으로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법을 사용하여 폴리펩티드가 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다. 예시적 검정에서, 실시예 1에서 기재된 바와 같은 진탕 플라스크 방법으로 균주 (예를 들어 본원에 기재된 대장균/pTrcKudzu 균주)를 성장시켜 세포 추출물을 제조한다. 유도가 완료된 후, 약 10 ml의 세포를 7000 x g에서 10분 동안 원심분리하여 펠릿화시키고 글리세롤이 없는 5 ml의 PEB에 재현탁한다. 표준 절차를 사용하여 세포 파쇄기 (French Pressure cell)로 세포를 용해한다. 대안적으로는, -80℃에서 동결/해동 후 리소자임 (Ready-Lyse 리소자임 용액; Epicentre)으로 세포를 처리한다.

[0066] 세포 추출물 내의 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 활성은 예를 들어 [Silver 등, J. Biol. Chem. 270:13010-13016, 1995 및 그의 참고문헌 (특히 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 활성에 대한 검정에 대해, 각각 그 전문이 참고문헌으로 포함됨)에 기재된 바와 같이 측정될 수 있다. DMAPP (Sigma)를 질소 흐름 하에 건조되도록 증발시키고, 100 mM 인산 칼륨 완충액 (pH 8.2) 중 100 mM의 농도로 재수화하고 -20℃에서 보관한다. 검정을 수행하기 위해, 5 μ l의 1M MgCl₂, 1 mM (250 μ g/ml) DMAPP, 65 μ l의 식물 추출 완충액 (PEB) (50 mM Tris-HCl, pH 8.0, 20 mM MgCl₂, 5% 글리세롤 및 2 mM DTT)의 용액을 금속 나사 덮개 및 테플론 코팅된 규소 격막 (Agilent Technologies)을 갖는 20 ml 상부공간 바이알 내의 25 μ l의 세포 추출물에 첨가하고 37℃에서 15분 동안 진탕하면서 배양한다. 200 μ l의 250 mM EDTA를 첨가하여 반응을 쉼시키고, 실시예 1, II 부분에서 기재된 바와 같이 GC/MS로 정량한다.

[0067] 예시적 이소프렌 신타아제 핵산은 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 또는 이소프렌 신타아제 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 포함한다. 예시적 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 및 핵산은 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 및 핵산 뿐 아니라 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체에서 유래한 돌연변이체 폴리펩티드 및 핵산을 포함한다.

[0068] 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 또는 핵산은 콩아과 (Faboideae subfamily)와 같은 콩과 (family Fabaceae)로부터의 것이다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 또는 핵산은 푸에라리아 몬타나 (Pueraria montana (쿠주)) (Sharkey 등, Plant Physiology 137:700-712, 2005), 푸에라리아 로바타 (Pueraria lobata), 포폴러 (예를 들어 포폴루스 알바 (Populus alba), 포폴루스 니가라 (Populus nigra), 포폴루스 트리코카르파 (Populus trichocarpa), 포폴루스 알바 x 트레물라 (tremula) (CAC35696), 또는 포폴루스

스 알바) (Sasaki 등, FEBS Letters 579(11): 2514-2518, 2005; Miller 등, Planta 213: 483-487, 2001), 아스펜 (aspen) (예를 들어 포플루스 트레물로이데스 (Populus tremuloides)) (Silver 등, JBC 270(22): 13010-1316, 1995), 또는 잉글리시 오크 (English Oak) (쿠에르쿠스 로부르 (Quercus robur)) (Zimmer 등, WO 98/02550) (특히 이소프렌 신타아제 핵산, 및 이소프렌 신타아제 폴리펩티드의 발현에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨)로부터의 폴리펩티드 또는 핵산이다. 적합한 이소프렌 신타아제는 비제한적으로, 특히 이소프렌 신타아제 핵산 및 폴리펩티드의 서열에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함되는 Genbank 기탁 번호 AY341431, AY316691, AY279379, AJ457070 및 AY182241에 의해 확인되는 것들을 포함한다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 또는 핵산은 쿠에르쿠스 로부르 (Quercus robur)로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 또는 핵산이 아니다 (즉, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 또는 핵산은 쿠에르쿠스 로부르로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 또는 핵산 외의 이소프렌 신타아제 폴리펩티드 또는 핵산임). 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제 핵산 또는 폴리펩티드는 포플러로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 또는 핵산이다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제 핵산 또는 폴리펩티드는 포플러로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 또는 핵산이 아니다.

[0069] 예시적 DXS 폴리펩티드 및 핵산

[0070] 상기 나타내는 바와 같이, 1-데옥시-D-자일루로오스-5-포스페이트 신타아제 (DXS) 폴리펩티드는 피루베이트 및 D-글리세르알데히드-3-포스페이트를 1-데옥시-D-자일루로오스-5-포스페이트로 변환시킨다. 예시적 DXS 폴리펩티드는 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 및 DXS 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 포함한다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 피루베이트 및 D-글리세르알데히드-3-포스페이트를 1-데옥시-D-자일루로오스-5-포스페이트로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 DXS 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다. 예시적 DXS 핵산은 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 또는 DXS 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 포함한다. 예시적 DXS 폴리펩티드 및 핵산은 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 및 핵산 뿐 아니라 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체에서 유래한 돌연변이체 폴리펩티드 및 핵산을 포함한다.

[0071] 예시적 IDI 폴리펩티드 및 핵산

[0072] 이소펜테닐 디포스페이트 이성화효소 폴리펩티드 (이소펜테닐-디포스페이트 델타- 이성화효소 또는 IDI)는 이소펜테닐 디포스페이트 (IPP) 및 디메틸알릴 디포스페이트 (DMAPP)의 상호변환 (예를 들어, IPP를 DMAPP로 변환시키고/시키거나 DMAPP를 IPP로 변환시킴)을 촉진한다. 예시적 IDI 폴리펩티드는 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 및 IDI 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 포함한다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 IPP 및 DMAPP를 상호변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 IDI 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다. 예시적 IDI 핵산은 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 또는 IDI 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 포함한다. 예시적 IDI 폴리펩티드 및 핵산은 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 및 핵산 뿐 아니라 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체에서 유래한 돌연변이체 폴리펩티드 및 핵산을 포함한다.

[0073] 예시적 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산

[0074] 예시적 MVA 경로 폴리펩티드는 아세틸-CoA 아세틸트랜스퍼라아제 (AA-CoA 티올라아제) 폴리펩티드, 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA 신타아제 (HMG-CoA 신타아제) 폴리펩티드, 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA 환원효소 (HMG-CoA 환원효소) 폴리펩티드, 메발로네이트 키나아제 (MVK) 폴리펩티드, 포스포메발로네이트 키나아제 (PMK) 폴리펩티드, 디포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (MVD) 폴리펩티드, 포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (PMDC) 폴리펩티드, 이소펜테닐 포스페이트 키나아제 (IPK) 폴리펩티드, IDI 폴리펩티드, 및 둘 이상의 MVA 경로 폴리펩티드의 활성을 갖는 폴리펩티드 (예를 들어 융합 폴리펩티드)를 포함한다. 특히, MVA 경로 폴리펩티드는 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 및 MVA 경로 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 포함한다. 예시적 MVA 경로 핵산은 폴리펩티드, 폴리펩티드의 절편, 펩티드, 또는 MVA 경로 폴리펩티드의 하나 이상의 활성을 갖는 융합 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 포함한다. 예시적 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산은 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체로부터의 자연 발생적 폴리펩티드 및 핵산 뿐 아니라 본원에 기재된 임의의 공급원 유기체에서 유래한 돌연변이체 폴리펩티드 및 핵산을 포함한다.

[0075] 특히, 아세틸-CoA 아세틸트랜스퍼라아제 폴리펩티드 (AA-CoA 티올라아제 또는 AACT)는 두 분자의 아세틸-CoA를

아세트아세틸-CoA로 변환시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 두 분자의 아세트-CoA를 아세트아세틸-CoA로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 AA-CoA 티올라아제 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0076] 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA 신타아제 (HMG-CoA 신타아제 또는 HMGS) 폴리펩티드는 아세트아세틸-CoA를 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA로 변환시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 아세트아세틸-CoA를 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 HMG-CoA 신타아제 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0077] 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA 환원효소 (HMG-CoA 환원효소 또는 HMGR) 폴리펩티드는 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA를 메발로네이트로 변환시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA를 메발로네이트로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 HMG-CoA 환원효소 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0078] 메발로네이트 키나아제 (MVK) 폴리펩티드는 메발로네이트를 인산화하여 메발로네이트-5-포스페이트를 형성시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 메발로네이트를 메발로네이트-5-포스페이트로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 MVK 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0079] 포스포메발로네이트 키나아제 (PMK) 폴리펩티드는 메발로네이트-5-포스페이트를 인산화하여 메발로네이트-5-디포스페이트를 형성시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 메발로네이트-5-포스페이트를 메발로네이트-5-디포스페이트로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 PMK 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0080] 디포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (MVD 또는 DPMD) 폴리펩티드는 메발로네이트-5-디포스페이트를 이소펜테닐 디포스페이트 (IPP)로 변환시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 메발로네이트-5-디포스페이트를 IPP로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 MVD 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0081] 포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (PMDC) 폴리펩티드는 메발로네이트-5-포스페이트를 이소펜테닐 포스페이트 (IP)로 변환시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 메발로네이트-5-포스페이트를 IP로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 PMDC 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0082] 이소펜테닐 포스페이트 키나아제 (IPK) 폴리펩티드는 이소펜테닐 포스페이트 (IP)를 인산화하여 이소펜테닐 디포스페이트 (IPP)를 형성시킨다. 세포 추출물 내에서 시험관내, 또는 생체내에서 IP를 IPP로 변환시키는 폴리펩티드의 능력을 측정함으로써, 표준 방법 (본원에 기재된 것들과 같은)을 사용하여 폴리펩티드가 IPK 폴리펩티드 활성을 갖는지 여부를 측정할 수 있다.

[0083] 예시적 IDI 폴리펩티드 및 핵산이 상기에 기재된다.

[0084] 핵산을 단리하기 위한 예시적 방법

[0085] 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산은 표준 방법을 사용하여 단리될 수 있다. 관심 공급원 유기체 (예를 들어 세균 계통)으로부터 원하는 핵산을 수득하는 방법은 통상적인 것이며 분자 생물학계에 잘 알려져 있다 (예를 들어, 특히 관심 핵산의 단리에 대해 각각 그 전문이 참고문헌으로 포함된 WO 2004/033646 및 그에 인용된 참고문헌들 참조). 예를 들어, 핵산의 서열이 알려져 있다면 (예를 들어 본원에 기재된 임의의 알려진 핵산), 제한 엔도뉴클레아제 소화에 의해 적합한 계통 라이브러리가 생성될 수 있으며, 원하는 핵산 서열에 상보적인 프로브로 스크리닝될 수 있다. 서열이 단리되고 나면, 적절한 벡터를 사용하는 형질전환에 적합한 양의 DNA가 수득되도록 중합효소 연쇄 반응 (PCR)과 같은 표준 프라이머 지정 증폭 방법을 사용하여 DNA를 증폭할 수 있다 (미국 특허 제 4,683,202 호; 특히 PCR 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨).

[0086] 대안적으로는, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산 (예를 들어 알려진 핵산 서열을 갖는 임의의 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산)은 표준 방법을 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다.

[0087] 본원에 기재된 조성물 및 방법에 사용하기에 적합할 수 있는 추가적인 이소프렌 신타아제, DXS, IDI, 또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산은 표준 방법을 사용하여 확인될 수 있다. 예를 들어, 이소프렌을 자연적으로 생성

하는 것으로 알려진 유기체의 염색체 DNA의 코스미드 라이브러리는 대장균과 같은 유기체에서 구성된 후 이소프렌 생성에 대해 스크리닝될 수 있다. 특히, 큰 단편의 게놈 DNA (35~45 kb)가 벡터 내에 패키징되는 코스미드 라이브러리가 생성되며 적절한 숙주를 형질전환시키는데 사용될 수 있다. 코스미드 벡터는 다량의 DNA를 수용할 수 있다는 점에 있어서 고유하다. 일반적으로 코스미드 벡터는 이중 DNA의 패키징 및 후속적 원형화에 필요한 cos DNA 서열의 하나 이상의 카피를 갖는다. cos 서열에 추가적으로, 이들 벡터는 또한 ColEI과 같은 복제 기원, 및 암피실린 또는 네오마이신에 내성인 핵산과 같은 약물 내성 마커를 포함한다. 적합한 세균 숙주의 형질전환을 위해 코스미드 벡터를 사용하는 방법은 특히 형질전환 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함되는 [Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor, 1989]에 잘 기재된다.

[0088] 클론 코스미드에 대해 전형적으로, 이중 DNA는 적절한 제한 엔도뉴클레아제를 사용하여 단리되며, 적절한 리가아제를 사용하여 코스미드 벡터의 cos 부위에 인접하게 라이게이션된다. 선형화된 이중 DNA를 함유하는 코스미드 벡터는 이후 박테리오파지와 같은 DNA 패키징 비히클과 반응한다. 패키징 과정 동안 cos 위치가 절단되고 이중 DNA가 세균 바이러스성 입자의 헤드 부위 내에 패키징된다. 이후 이들 입자는 대장균과 같은 적합한 숙주 세포를 트랜스펙션시키는데 사용된다. 세포에 주입되고 나면, 이중 DNA는 cos 점착성 말단의 영향 하에 원형화된다. 이러한 방식으로, 이중 DNA의 큰 단편이 숙주 세포에 도입되고 발현될 수 있다.

[0089] 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산을 수득하기 위한 추가적인 방법은 검정 (예를 들어 본원에 기재된 상부공간 검정), 또는 보존된 길이의 아미노산 (예를 들어 3 이상의 보존된 아미노산)을 인코딩하는 뉴클레오티드에 대해 지정된 프라이머를 사용하는 PCR에 의한 메타게놈 라이브러리 스크리닝을 포함한다. 보존된 아미노산은 알려진 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드의 아미노산 서열을 정렬함으로써 확인될 수 있다. 이소프렌 신타아제 폴리펩티드에 대한 보존된 아미노산은 알려진 이소프렌 신타아제 폴리펩티드의 정렬된 서열을 기초로 하여 확인될 수 있다. 이소프렌을 자연적으로 생성하는 것으로 발견된 유기체는 표준 단백질 정제 방법 (당업계에 잘 알려진)에 적용될 수 있으며, 생성된 정제 폴리펩티드는 표준 방법을 사용하여 서열분석될 수 있다. 다른 방법이 문헌에서 발견된다 (예를 들어, Julsing 등, Appl Environ Microbiol. 73(19):6277-83, 2007; Withers 등, Appl Environ Microbiol. 73(19):6277-83, 2007 참조; 특히 이소프렌의 합성에 포함된 핵산의 확인에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨).

[0090] 추가적으로, 표준 서열 정렬 및/또는 구조 예측 프로그램을 사용하여, 제 1차 및/또는 예측된 폴리펩티드 제 2차 구조와 알려진 DXS, IDI, 또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산의 구조와의 유사성을 기초로 하여 추가적인 DXS, IDI, 또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산을 확인할 수 있다. swissprot-trembl 데이터베이스 ("www.expasy.org", Swiss Institute of Bioinformatics Swiss-Prot group CMU - 1 rue Michel Servet CH-1211 Geneva 4, Switzerland)와 같은 표준 데이터베이스를 또한 사용하여 이소프렌 신타아제, DXS, IDI, 또는 MVA 경로 폴리펩티드 및 핵산을 확인할 수 있다. PredictProtein (630 West, 168 Street, BB217, New York, N.Y. 10032, USA)과 같은 표준 구조 예측 프로그램의 디폴트 설정을 사용하여 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드의 제 2차 및/또는 제 3차 구조를 예측할 수 있다. 대안적으로, 표준 방법을 사용하여 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드의 실제적인 제 2차 및/또는 제 3차 구조가 측정될 수 있다. 알려진 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산으로부터 생성된 프로브에 대한 하이브리드화에 의해 추가적인 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산이 또한 확인될 수 있다.

[0091] 예시적 프로모터 및 벡터

[0092] 본원에 기재된 임의의 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 하나 이상의 벡터에 포함될 수 있다. 따라서, 발명자는 또한 본원에서 기재된 임의의 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 이상의 핵산을 갖는 벡터를 나타낸다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "벡터"는 숙주 세포에서 하나 이상의 관심 핵산을 전달하고 바람직하게는 발현시킬 수 있는 구성물을 의미한다. 벡터의 예에는 비제한적으로, 플라스미드, 바이러스 벡터, DNA 또는 RNA 발현 벡터, 코스미드 및 파지 벡터가 포함된다. 일부 구현예에서는, 벡터는 발현 조절 서열의 조절 하에 핵산을 함유한다.

[0093] 본원에서 사용되는 바와 같이, "발현 조절 서열"은 관심 핵산의 전사를 지시하는 핵산 서열을 의미한다. 발현 조절 서열은 항시성 또는 유도성 프로모터와 같은 프로모터, 또는 인핸서일 수 있다. "유도성 프로모터"는 환경 또는 발달 조절 하에 활성화된 프로모터이다. 발현 조절 서열은 전사될 핵산 단편에 작동가능하게 연결된다.

[0094] 일부 구현예에서는, 벡터는 선택 마커를 포함한다. 용어 "선택 마커"는 도입된 핵산 또는 벡터를 포함하는

이들 숙주 세포의 선택을 용이하게 하는 숙주 세포에서 발현될 수 있는 핵산을 나타낸다. 선택가능한 마커의 예에는 비제한적으로, 항생제 내성 핵산 (예를 들어 카나마이신, 암피실린, 카르베니실린, 겐타마이신, 하이그로마이신, 플레오마이신, 블레오마이신, 네오마이신 또는 클로람페니콜) 및/또는 숙주 세포에 영양 이득과 같은 대사작용 이득을 부여하는 핵산이 포함된다. 예시적 영양 선택 마커는 amdS, argB 및 pyr4로서 당업계에 공지된 마커를 포함한다. 트리코테르마의 형질전환을 위한 벡터 시스템에서 유용한 마커가 당업계에 알려져 있다 (예를 들어, Finkelstein, Chapter 6 in Biotechnology of Filamentous Fungi, Finkelstein 등, Eds. Butterworth-Heinemann, Boston, MA, Chap. 6., 1992; 및 Kinghorn 등, Applied Molecular Genetics of Filamentous Fungi, Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, 1992 참조; 특히 선택 마커에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 일부 구현예에서는, 선택 마커는 형질전환된 세포가 질소원으로 아세트아미드 상에서 성장하도록 하는 효소 아세트아미다아제를 인코딩하는 amdS 핵산이다. A. 니둘란스 (A. nidulans) amdS 핵산을 선택 마커로서 사용하는 것은 [Kelley 등, EMBO J. 4:475-479, 1985] 및 [Penttilä 등, Gene 61 :155-164, 1987] (특히 선택 마커에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨)에서 기재된다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 선택 마커 없이 세포의 염색체에 융합된다.

[0095] 적합한 벡터는 사용되는 숙주 세포와 호환 가능한 것들이다. 적합한 벡터는, 예를 들어 세균, 바이러스 (예를 들어 박테리오파지 T7 또는 M-13 유래 파지), 코스미드, 효모 또는 식물에서 유래할 수 있다. 이러한 벡터를 수득하고 사용하기 위한 프로토콜은 당업자에게 알려져 있다 (예를 들어 Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor, 1989 참조; 특히 벡터의 사용에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨).

[0096] 프로모터는 당업계에 잘 알려져 있다. 숙주 세포에서 기능하는 임의의 프로모터는 숙주 세포 내의 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산의 발현에 사용될 수 있다. 다양한 숙주 세포에서 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산의 발현을 유발하는데 유용한 개시 조절 부위 또는 프로모터가 많이 존재하며 이는 당업자에게 익숙한 것이다 (예를 들어, WO 2004/033646 및 그의 참고문헌들 참조; 특히 관심 핵산의 발현을 위한 벡터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 이들 핵산을 유발할 수 있는 사실상 임의의 프로모터가 본 발명에 적합하며 비제한적으로 CYC1, HIS3, GAL1, GAL10, ADH1, PGK, PHO5, GAPDH, ADCI, TRP1, URA3, LEU2, ENO 및 TPI (사카로마이세스에서의 발현에 유용함); AOX1 (피키아 (Pichia)에서의 발현에 유용함); 및 lac, trp, λP_L , λP_R , T7, tac 및 trc (대장균에서의 발현에 유용함)를 포함한다.

[0097] 일부 구현예에서는, 글루코오스 이성화효소 프로모터가 사용된다 (예를 들어 미국 특허 제 7,132,527 호 및 그에 인용된 참고문헌들 참조; 특히 관심 폴리펩티드를 발현시키기 위한 플라스미드 시스템 및 프로모터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 보고된 글루코오스 이성화효소 프로모터 돌연변이체는 글루코오스 이성화효소 프로모터에 작동가능하게 연결된 핵산에 의해 인코딩되는 폴리펩티드의 발현 수준을 다양하게 하는데 사용될 수 있다 (미국 특허 제 7,132,527 호). 다양한 구현예에서는 글루코오스 이성화효소 프로모터가 낮은, 중간 또는 높은 카피 플라스미드 내에 포함된다 (미국 특허 제 7,132,527 호).

[0098] 다양한 구현예에서는 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산이 낮은 카피 플라스미드 (예를 들어, 세포 당 약 1 내지 약 4 카피로 유지되는 플라스미드), 중간 카피 플라스미드 (예를 들어, 세포 당 약 10 내지 약 15 카피로 유지되는 플라스미드) 또는 높은 카피 플라스미드 (예를 들어, 세포 당 약 50 이상의 카피로 유지되는 플라스미드) 내에 포함된다. 일부 구현예에서는, 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 T7 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서는, T7 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 중간 또는 높은 카피 플라스미드 내에 포함된다. 일부 구현예에서는, 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 Trc 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서는, Trc 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 중간 또는 높은 카피 플라스미드 내에 포함된다. 일부 구현예에서는, 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 Lac 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서는, Lac 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 낮은 카피 플라스미드 내에 포함된다. 일부 구현예에서는, 이종 또는 특별 내인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 내인성 에스케리키아, 판토에아, 바실러스, 야로위야, 스트렙토마이세스 또는 트리코테르마 프로모터, 또는 내인성 알칼리 세린 프로테아제, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 프로모터와 같은 내인성 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 일부 구현예에서는, 내인성 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이종 또는 특별 내

인성 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 높은 카피 플라스미드 내에 포함된다. 일부 구현예에서는, 벡터는 세포 내의 염색체에 융합되지 않는 복제 플라스미드이다. 일부 구현예에서는, 벡터의 일부 또는 전부가 세포 내의 염색체에 융합된다.

[0099] 일부 구현예에서는, 벡터는 진균 숙주 세포에 도입되는 경우 숙주 세포 게놈에 융합되고 복제되는 임의의 벡터이다. 벡터 목록에 대해서는 [Fungal Genetics Stock Center Catalogue of Strains] (FGSC, "www.fgsc.net" 및 그에 인용된 참고문헌들; 특히 벡터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨)를 참고로 한다. 적합한 발현 및/또는 융합 벡터의 추가적인 예가 [Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor, 1989, Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel 등 (eds) 1987, Supplement 30, section 7.7.18); van den Hondel et al. in Bennett and Lasure (Eds.) More Gene Manipulations in Fungi, Academic Press pp. 396-428, 1991; 및 미국 특허 제 5,874,276 호] (특히 벡터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨)에서 제공된다. 특히 유용한 벡터는 pFB6, pBR322, PUC18, pUC100 및 pENTR/D를 포함한다.

[0100] 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 진균 숙주 세포에서 전사 활성을 나타내는 적합한 프로모터에 작동가능하게 연결된다. 프로모터는 숙주 세포에 대해 내인성 또는 이종인 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 이상의 핵산에서 유래할 수 있다. 일부 구현예에서는, 프로모터는 트리코테르마 숙주에서 유용하다. 프로모터의 적합한 비제한적 예는 cbh1, cbh2, eg11, eg12, pepA, hfb1, hfb2, xyn1 및 amy를 포함한다. 일부 구현예에서는, 프로모터는 숙주 세포에 대해 선천적인 것이다. 예를 들어 일부 구현예에서 T. 레에세이가 숙주인 경우, 프로모터는 선천적 T. 레에세이 프로모터이다. 일부 구현예에서는, 프로모터는 T. 레에세이 cbh1이며 이는 유도성 프로모터이고 기탁 번호 D86235로 GenBank에 수탁된다 (특히 프로모터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨). 일부 구현예에서는, 프로모터는 진균 숙주 세포에 이종인 것이다. 유용한 프로모터의 또 다른 예는 A. 아와모리 (A. awamori) 및 A. 니게르 (A. niger) 글루코아밀라아제 (glaA) (Nunberg 등, Mol. Cell Biol. 4:2306-2315, 1984 및 Boel 등, EMBO J. 3: 1581-1585, 1984; 특히 프로모터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨); 아스페르길루스 니게르 알파 아밀라아제, 아스페르길루스 오리자 (Aspergillus oryzae) TAKA 아밀라아제, T. 레에세이 xln1, 및 T. 레에세이 셀로바이오하이드롤라아제 1 (EP 137280, 특히 프로모터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨)의 유전자로부터의 프로모터를 포함한다.

[0101] 일부 구현예에서는, 발현 벡터는 또한 종결 서열을 포함한다. 종결 조절 부위는 또한 숙주 세포에 대해 선천적인 다양한 유전자에서 유래할 수 있다. 일부 구현예에서는, 종결 서열 및 프로모터 서열은 동일한 근원에서 유래한다. 또 다른 구현예에서는, 종결 서열은 숙주 세포에 대해 내인성이다. 특히 적합한 터미네이터 서열은 트리코테르마 균주 (예를 들어 T. 레에세이)에서 유래하는 cbh1이다. 다른 유용한 진균 터미네이터는 A. 니게르 또는 A. 아와모리 글루코아밀라아제 핵산으로부터의 터미네이터를 포함한다 (Nunberg 등, Mol. Cell Biol. 4:2306-2315, 1984 및 Boel 등, EMBO J. 3:1581-1585, 1984; 특히 진균 터미네이터에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 임의로는, 종결 위치가 포함될 수 있다. 폴리펩티드의 효과적인 발현을 위하여, 폴리펩티드를 인코딩하는 DNA는 개시 코돈을 통해 발현이 적절한 메신저 RNA의 형성을 야기하도록 선택된 발현 조절 부위에 작동가능하게 연결된다.

[0102] 일부 구현예에서는, 프로모터, 코딩 부위, 및 터미네이터는 모두 발현될 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산으로부터 기원한다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산에 대한 코딩 부위는 발현 구성 프로모터 및 터미네이터 서열의 전사적 조절 하에 있도록 범용 발현 벡터에 삽입된다. 일부 구현예에서는, 유전자 또는 이의 부분은 강력한 cbh1 프로모터의 삽입된 하류이다.

[0103] 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산은 표준 기술을 사용하여 발현 벡터와 같은 벡터에 통합될 수 있다 (Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, 1982; 특히 적절한 DNA 서열의 스크리닝 및 벡터의 구성에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨). 관심 핵산 (예를 들어 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산), 프로모터, 터미네이터 및 기타 서열을 포함하는 DNA 구성물을 라이게이션하고 이들을 적합한 벡터에 삽입하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 제한 효소는 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산 및 벡터를 절단하는데 사용될 수 있다. 이후, 절단된 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산, 및 절단된 벡터의 양립성 말단이 라이게이션될 수 있다. 일반적으로, 편리한 제한 위치에서의 라이게이션에 의해 연결이 일어난다. 이러한 위치가 존재하지 않는다면, 통상적인 실행에 따라 합성 올리고뉴클레오타이드 링커를 사용한다 (Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor, 1989, 및 Bennett and Lasure, More Gene Manipulations in Fungi,

Academic Press, San Diego, pp 70-76, 1991; 특히 올리고뉴클레오티드 링커에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 추가적으로, 벡터는 알려진 재조합 기술을 사용하여 구성될 수 있다 (예를 들어, Invitrogen Life Technologies, Gateway Technology).

[0104] 일부 구현예에서는, 자연 발생적 세포에서 현재 발견되는 것보다 더 높은 수준으로 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산을 과발현시키는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 결과는 이들 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 멀티카피 플라스미드 내로 선택적으로 클로닝하거나 이들 핵산을 강력한 유도성 또는 항시성 프로모터 하에 둠으로써 성취될 수 있다. 바람직한 폴리펩티드를 과발현시키는 방법은 통상적이고 분자 생물학계에 잘 알려져 있으며, 그 예를 [Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor, 1989] (특히 클로닝 기술에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨)에서 발견할 수 있다.

[0105] 하기의 원천은 본 발명에 따른 유용한 추가적인 일반적 방법론의 설명을 포함한다: Kreigler, Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual, 1990 및 Ausubel 등, Eds. Current Protocols in Molecular Biology, 1994 (특히 분자 생물학 및 클로닝 기술에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨).

[0106] 예시적 공급원 유기체

[0107] 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산 (및 이의 인코딩된 폴리펩티드)는 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산을 자연적으로 함유하는 임의 유기체로부터 수득될 수 있다. 상기 나타낸 바와 같이, 이소프렌은 세균, 효모, 식물 및 동물과 같은 다양한 유기체에 의해 자연적으로 형성된다. 유기체는 이소프렌을 생성하기 위해 MVA 경로, DXP 경로, 또는 MVA 및 DXP 경로 모두를 포함한다 (도 19). 따라서 DXS 핵산은 예를 들어, DXP 경로를 포함하거나 MVA 및 DXP 경로를 모두 포함하는 임의 유기체로부터 수득될 수 있다. IDI 및 이소프렌 신타아제 핵산은 예를 들어, MVA 경로, DXP 경로, 또는 MVA 및 DXP 경로 모두를 포함하는 임의 유기체로부터 수득될 수 있다. MVA 경로 핵산은 예를 들어, MVA 경로를 포함하거나 MVA 및 DXP 경로를 모두 포함하는 임의의 유기체로부터 수득될 수 있다.

[0108] 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산의 핵산 서열은 자연에서의 하기 임의의 유기체에 의해 생성되는 핵산의 서열과 동일하다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드의 아미노산 서열은 자연에서의 하기 임의의 유기체에 의해 생성되는 폴리펩티드의 서열과 동일하다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산 또는 폴리펩티드는 본원에서 기재된 임의 유기체에서 유래하는 돌연변이체 핵산 또는 폴리펩티드이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "~에서 유래하는"은 하나 이상의 돌연변이가 도입되는 핵산 또는 폴리펩티드의 공급원을 나타낸다. 예를 들어, "식물 폴리펩티드에서 유래하는" 폴리펩티드는 하나 이상의 돌연변이가 야생형 식물 폴리펩티드의 서열 (즉 자연적으로 발생하는 서열)에 도입되어 야기되는 관심 폴리펩티드를 나타낸다.

[0109] 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 진균이며 이의 예는 A. 오리자에 및 A. 니게르와 같은 아스페르길루스 종, S. 세레비지에 (S. cerevisiae)와 같은 사카로마이세스 종, S. 폼베 (S. pombe)와 같은 시조사카로마이세스 (Schizosaccharomyces) 종, 및 T. 레에세이와 같은 트리코데르마 종이다. 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 필라멘트성 진균 세포이다. 용어 "필라멘트성 진균"은 유미코티나 아문 (subdivision Eumycotina)의 모든 필라멘트성 형태를 나타낸다 (Alexopoulos, C. J. (1962), Introductory Mycology, Wiley, New York 참조). 이들 진균은 키틴, 셀룰로오스 및 기타 복합 다당류로 이루어지는 세포벽을 갖는 영양 (vegetative) 균사체를 특징으로 한다. 필라멘트성 진균은 형태학적, 생리학적 및 유전적으로 효모와 구별된다. 필라멘트성 진균의 영양 성장은 균사 연장에 의한 것이며 탄소 이화작용은 절대 호기성이다. 필라멘트성 진균 모세포는 비제한적으로 트리코데르마 (예를 들어 트리코데르마 레에세이, 이전에 T. 롱기브라키아툼 (T. longibrachiatum)으로 분류되었던 무성형 하이포크레아 제코리나 (Hypocrea jecorina), 트리코데르마 비리데 (Trichoderma viride), 트리코데르마 코닌지 (Trichoderma koningii), 트리코데르마 하르지아눔 (Trichoderma harzianum)) (Sheir-Neirs 등., Appl. Microbiol. Biotechnol 20: 46-53, 1984; ATCC No. 56765 및 ATCC No. 26921); 페니실리움 종 (Penicillium sp.), 후미콜라 종 (Humicola sp.) (예를 들어 H. 인솔렌스 (H. insolens), H. 라누기노세 (H. lanuginose) 또는 H. 그리세아 (H. grisea)); 크리소스포리움 종 (Chrysosporium sp.) (예를 들어 C. 루크노웬세 (C. lucknowense)), 글리오클라디움 종 (Gliocladium sp.), 아스페르길루스 종 (예를 들어 A. 오리자에, A. 니게르, A. 소자에 (A. sojae), A. 자포니쿠스 (A. japonicus), A. 니둘란스 또는 A. 아와모리) (Ward 등, Appl. Microbiol. Biotechnol. 39: 7380743, 1993, 및 Goedegebuur 등, Genet 41: 89-98, 2002), 푸사리움 종 (Fusarium sp.) (예를 들어 F. 로세움 (F. roseum), F. 그라미눔 (F. graminum), F. 세레알리스 (F. cerealis), F. 옥시스포리움 (F. oxysporum) 또는 F. 베네나툼 (F.

venenatum)), 뉴로스포라 종 (*Neurospora* sp.) (예를 들어 *N. 크라사* (*N. crassa*)), 하이포크레아 종 (*Hypocrea* sp.), 무코르 종 (*Mucor* sp.) (예를 들어 *M. 미에헤이* (*M. miehei*)), 리조푸스 종 (*Rhizopus* sp.) 및 에메리셀라 종 (*Emericella* sp.) (또한 Innis 등, *Sci.* 228: 21-26, 1985 참조)의 종의 세포일 수 있다. 용어 "트리코테르마" 또는 "트리코테르마 종 (sp. 또는 spp.)"은 트리코테르마로 이전에 또는 현재 분류된 임의의 진균 속을 나타낸다.

- [0110] 일부 구현예에서는, 진균은 *A. 니돌란스*, *A. 아와모리*, *A. 오리자에*, *A. 아쿠레아투스* (*A. aculeatus*), *A. 니게르*, *A. 자포니쿠스*, *T. 레에세이*, *T. 비리데*, *F. 옥시스포룸* (*F. oxysporum*) 또는 *F. 솔라니* (*F. solani*)이다. 아스페르길루스 종은 특히 진균에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함되는 [Ward 등, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 39:738-743, 1993] 및 [Goedegebuur 등, *Curr Gene* 41: 89-98, 2002]에 개시된다. 특정 구현예에서는, 진균은 *T. 레에세이*의 종과 같은 트리코테르마 종이다. *T. 레에세이*의 종은 알려져 있으며 비제한적 예로 ATCC 번호 13631, ATCC 번호 26921, ATCC 번호 56764, ATCC 번호 56765, ATCC 번호 56767 및 NRRL 15709 (특히 *T. 레에세이*에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨)를 포함한다. 일부 구현예에서는, 숙주 종은 RL-P37의 유도체이다. RL-P37은 특히 *T. 레에세이* 종에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함되는 [Sheir-Neiss 등, *Appl. Microbiol. Biotechnology* 20:46-53, 1984]에 개시된다.
- [0111] 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 사카로마이세스 종, 시조사카로마이세스 종, 피키아 종 또는 칸디다 종 (*Candida* sp.)과 같은 효모이다.
- [0112] 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 *B. 리체니포르미스* (*B. licheniformis*) 또는 *B. 서브틸리스*와 같은 바실러스 종, *P. 시트레아* (*P. citrea*)와 같은 판토에아 종, *P. 알칼리게네스* (*P. alcaligenes*)와 같은 슈도모나스 (*Pseudomonas*) 종, *S. 알부스*, *S. 리비단스* 또는 *S. 루비기노수스* (*S. rubiginosus*)와 같은 스트렙토마이세스 종, 또는 대장균과 같은 에스케리키아 종이다.
- [0113] 본원에서 사용되는 바와 같이, "바실러스 속"은 당업자에게 알려진 바와 같은 "바실러스" 속 내의 모든 종을 포함하며 비제한적으로 *B. 서브틸리스*, *B. 리체니포르미스*, *B. 렌투스* (*B. lentus*), *B. 브레비스* (*B. brevis*), *B. 스테아로써모필루스* (*B. stearothermophilus*), *B. 알칼로필루스* (*B. alkalophilus*), *B. 아밀로리쿠에파시엔스* (*B. amyloliquefaciens*), *B. 클라우시* (*B. clausii*), *B. 할로두란스* (*B. halodurans*), *B. 메가테리움* (*B. megaterium*), *B. 코아굴란스* (*B. coagulans*), *B. 써쿨란스* (*B. circulans*), *B. 라우투스* (*B. lautus*) 및 *B. 투링기엔시스* (*B. thuringiensis*)를 포함한다. 바실러스 속이 분류학적 개편을 계속하여 거치고 있다는 것이 인지된다. 따라서, 속에는 현재 "지오바실러스 스테아로써모필루스 (*Geobacillus stearothermophilus*)"로 명명되는 *B. 스테아로써모필루스*와 같은 유기체를 비제한적으로 포함하는 재분류된 종이 포함되는 것으로 의도된다. 산소의 존재 하에 내성 내생포자가 생성되는 것은 바실러스 속의 특징을 정의하는 것으로 고려되지만, 이러한 특징은 또한 최근 명명된 알리시클로바실러스 (*Alicyclobacillus*), 암피바실러스 (*Amphibacillus*), 아뉴리니바실러스 (*Aneurinibacillus*), 아녹시바실러스 (*Anoxybacillus*), 브레비바실러스 (*Brevibacillus*), 필로바실러스 (*Filobacillus*), 그라실리바실러스 (*Gracilibacillus*), 할로바실러스 (*Halobacillus*), 파에니바실러스 (*Paenibacillus*), 살리바실러스 (*Salibacillus*), 써모바실러스 (*Thermobacillus*), 우레이바실러스 (*Ureibacillus*) 및 비르기바실러스 (*Virgibacillus*)에 적용된다.
- [0114] 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 그람 양성 세균이다. 비제한적인 예에는 스트렙토마이세스 종 (예를 들어 *S. 알부스*, *S. 리비단스*, *S. 코엘리콜로르* (*S. coelicolor*) 또는 *S. 그리세우스* (*S. griseus*)) 및 바실러스 종이 포함된다. 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 대장균 또는 슈도모나스 종과 같은 그람 음성 세균이다.
- [0115] 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 콩아과와 같은 콩과 식물과 같은 식물이다. 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 쿠주, 포폴러 (포폴루스 알바 x 트레몰라 CAC35696 또는 포폴루스 알바) (Sasaki 등, *FEBS Letters* 579(11): 2514-2518, 2005), 아스펜 (예를 들어 포폴루스 트레몰로이데스) 또는 쿠에르쿠스로부르이다.
- [0116] 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 녹조류, 홍조류, 글라우코피트 (*glaucophyte*), 클로라라크니오피트 (*chlorarachniophyte*), 유글레니드 (*euglenid*), 크로미스타 (*chromista*) 또는 디노플라젤레이트 (*dinoflagellate*)와 같은 조류이다.
- [0117] 일부 구현예에서는, 공급원 유기체는 형태학을 기준으로 임의의 하기 군으로 분류되는 남세균 (*cyanobacteria*)과 같은 남세균이다: 크로코칼레스 (*Chroococcales*), 플레우로캡살레스 (*Pleurocapsales*), 오스실라토리아레

스 (Oscillatoriales), 노스토칼레스 (Nostocales) 또는 스티고네마탈레스 (Stigonematales).

[0118] 예시적 숙주 세포

[0119] 다양한 숙주 세포가 사용되어 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드를 발현시키고 발명에 청구된 방법으로 이소프렌을 생성시킬 수 있다. 예시적 숙주 세포는 제목 "예시적 공급원 유기체" 하의 이전 부분에 열거된 임의의 유기체로부터의 세포를 포함한다. 숙주 세포는 자연적으로 이소프렌을 생성하는 세포 또는 자연적으로 이소프렌을 생성하지 않는 세포일 수 있다. 일부 구현예에서는, 숙주 세포는 DXP 경로를 사용하여 자연적으로 이소프렌을 생성하고, 이러한 경로를 사용하는 이소프렌의 생성이 강화되도록 이소프렌 신타아제, DXS 및/또는 IDI 핵산이 첨가된다. 일부 구현예에서는, 숙주 세포는 MVA 경로를 사용하여 자연적으로 이소프렌을 생성하고, 이러한 경로를 사용하는 이소프렌의 생성이 강화되도록 이소프렌 신타아제 및/또는 하나 이상의 MVA 경로 핵산이 첨가된다. 일부 구현예에서는, 숙주 세포는 DXP 경로를 사용하여 자연적으로 이소프렌을 생성하고, MVA 경로 뿐 아니라 DXP 경로의 일부 또는 전부를 사용하여 이소프렌이 생성되도록 하나 이상의 MVA 경로 핵산이 첨가된다. 일부 구현예에서는, 숙주 세포는 DXP 및 MVA 경로 모두를 사용하여 자연적으로 이소프렌을 생성하고, 이들 경로 중 하나 또는 둘 모두에 의한 이소프렌의 생성이 강화되도록 하나 이상의 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산이 첨가된다.

[0120] 예시적 형질전환 방법

[0121] 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산 또는 이를 함유하는 벡터는 인코딩된 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드의 발현을 위한 표준 기술을 사용하여 숙주 세포 (예를 들어 본원에 기재된 식물 세포, 진균 세포, 효모 세포 또는 세균 세포)에 삽입될 수 있다. DNA 구성물 또는 벡터를 숙주 세포에 도입하는 것은 형질전환, 전기천공, 핵 미량주사, 형질도입, 트랜스펙션 (예를 들어, 리포펙틴 매개 또는 DEAE-텍스트린 매개 트랜스펙션 또는 재조합 파지 바이러스를 사용하는 트랜스펙션), 인산칼슘 DNA 침전물로의 인큐베이션, DNA-코팅된 미세사출물로의 고속 충격 및 원형질체 융합과 같은 기술을 사용하여 수행될 수 있다. 일반적인 형질전환 기술은 당업계에 알려져 있다 (예를 들어, Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel 등. (eds) Chapter 9, 1987; Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor, 1989; 및 Campbell 등, Curr. Genet. 16:53-56, 1989 참조; 특히 형질전환 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 트리코테르마에서의 이중 폴리펩티드의 발현은 미국 특허 제 6,022,725 호; 미국 특허 제 6,268,328 호; 미국 특허 제 7,262,041 호; WO 2005/001036; Harkki 등; Enzyme Microb. Technol. 13:227-233, 1991; Harkki 등, Bio Technol. 7:596-603, 1989; EP 244,234; EP 215,594; 및 Nevalainen 등, "The Molecular Biology of Trichoderma and its Application to the Expression of Both Homologous and Heterologous Genes" in Molecular Industrial Mycology, Eds. Leong and Berka, Marcel Dekker Inc., NY pp. 129-148, 1992 에 기재되며, 이는 특히 형질전환 및 발현 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함된다. 또한, 아스페르길루스 종의 형질전환에 대해 [Cao 등, (Sci. 9:991-1001, 2000; EP 238023; 및 Yelton 등, Proceedings. Natl. Acad. Sci. USA 81:1470-1474, 1984) (특히 형질전환 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨)]이 참고된다. 도입된 핵산은 염색체 DNA에 융합되거나 염색체외 복제 서열로서 유지된다.

[0122] 당업계에 알려진 임의의 방법이 형질전환체를 선택하는데 사용될 수 있다. 비제한적인 한 예에서 amdS 마커를 포함하는 안정적 형질전환체는, 아세트아미드를 함유하는 고체 배양 배지에서 불완전한 외형보다는 매끄러운 외형을 갖는 원형 콜로니의 형성 및 빠른 성장 속도에 의해 불안정적 형질전환체와 구별된다. 추가적으로 일부 경우에는, 고체 비선택 배지 (예를 들어 아세트아미드가 결여된 배지)에서의 형질전환체의 성장, 이러한 배양 배지로부터의 포자 수확, 및 이후 아세트아미드를 함유하는 선택 배지에서 발아 및 성장하는 이들 포자의 %의 측정에 의해 안정성의 추가적인 시험이 수행된다.

[0123] 일부 구현예에서는, 진균 세포는 원형질체 형성 및 원형질체의 형질전환, 이후 알려진 방식으로의 세포벽 재생을 포함하는 방법에 의해 형질전환된다. 한 특정 구현예에서, 형질전환을 위한 트리코테르마 종의 제조는 진균 균사체로부터의 원형질체의 제조를 포함한다 (Campbell 등, Curr. Genet. 16:53-56, 1989; 특히 형질전환 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨). 일부 구현예에서는, 균사체는 발아된 영양 포자로부터 수득된다. 균사체는 세포벽을 소화하여 원형질체를 야기하는 효소로 처리된다. 이후 원형질체는 현탁 배지에서 삼투압 안정화제의 존재에 의해 보호된다. 이들 안정화제는 소르비톨, 만니톨, 염화칼륨, 황화마그네슘 등을 포함한다. 통상적으로 이들 안정화제의 농도는 0.8 M 내지 1.2 M로 가변적이다. 현탁 배지에서 약 1.2 M 용액의 소르비톨을 사용하는 것이 바람직하다.

- [0124] DNA를 숙주 트리코테르마 종에 흡수시키는 것은 칼슘 이온 농도에 의존적이다. 일반적으로 약 10 mM CaCl₂ 내지 50 mM CaCl₂가 흡수 용액에 사용된다. 흡수 용액에서의 칼슘 이온에 추가로, 일반적으로 포함되는 다른 화합물은 TE 완충액 (10 mM Tris, pH 7.4; 1 mM EDTA) 또는 10 mM MOPS, pH 6.0 완충액 (몰포린프로판설펜산) 및 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 같은 완충 시스템이다. 어떠한 특정 이론에도 얽매이지 않는 것으로 의도되지만, 폴리에틸렌 글리콜이 세포막이 융합하도록 작용함으로써 배지의 내용물이 트리코테르마 종의 세포질에 전달되고 플라스미드 DNA가 핵에 전달된다고 믿어진다. 이러한 융합은 종종 숙주 염색체에 융합된 다수 카피의 플라스미드 DNA를 남긴다.
- [0125] 통상적으로 10⁵ 내지 10⁷/ml (예를 들어 2 x 10⁶/ml)의 밀도로 투과성 처리된 트리코테르마 종 원형질체 또는 세포를 함유하는 현탁액이 형질전환에 사용된다. 적절한 용액 (예를 들어 1.2 M 소르비톨 및 50 mM CaCl₂) 내의 이들 원형질체 또는 세포의 100 μl 부피를 원하는 DNA와 혼합한다. 일반적으로, 높은 농도의 PEG가 흡수 용액에 첨가된다. 0.1 내지 1 부피의 25% PEG 4000이 원형질체 현탁액에 첨가될 수 있다. 일부 구현예에서는, 약 0.25 부피가 원형질체 현탁액에 첨가된다. 디메틸 설펜옥사이드, 헤파린, 스펜트미딘, 염화칼륨 등과 같은 첨가제가 또한 흡수 용액에 첨가되고 형질전환을 보조할 수 있다. 유사한 절차가 다른 진균 숙주 세포에 대해서 활용가능하다 (예를 들어 미국 특허 제 6,022,725 및 6,268,328; 특히 형질전환 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨).
- [0126] 일반적으로, 혼합물은 이후 10분 내지 30분의 기간 동안 약 0°C에서 배양된다. 이후 추가적인 PEG를 혼합물에 첨가하여 원하는 핵산 서열의 흡수를 추가적으로 강화시킨다. 25% PEG 4000은 일반적으로 형질전환 혼합물 부피의 5 내지 15배의 부피로 첨가되지만; 더 크고 적은 부피가 적합할 수 있다. 25% PEG 4000은 바람직하게는 형질전환 혼합물 부피의 약 10배이다. PEG가 첨가된 후, 형질전환 혼합물은 소르비톨 및 CaCl₂ 용액을 첨가하기 전에 실온 또는 얼음 상에서 배양된다. 이후 원형질체 현탁액을 성장 배지의 용융 분취액에 추가로 첨가한다. 성장 배지가 성장 선택물 (예를 들어 아세트아미드 또는 항생제)을 포함하는 경우, 이는 형질전환체만이 성장하게 한다.
- [0127] 세균 세포의 형질전환은 예를 들어 특히 형질전환 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함되는 [Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, 1982]에 기재된 바와 같은 통상적인 방법에 따라 수행될 수 있다.
- [0128] 예시적 세포 배양 배지
- [0129] 본 발명은 또한 이소프렌을 생성하는 배양물 내의 세포 집단 또는 세포를 포함한다. "배양물 내의 세포"는 세포가 하나 이상의 세포 분열을 거치도록 하는 용액 (예를 들어 세포 배지) 내의 둘 이상의 세포를 의미한다. "배양물 내의 세포"에는 식물 조직으로 분화된 세포를 함유하는 살아있는 다세포성 식물의 일부인 식물 세포가 포함되지 않는다. 다양한 구현예에서, 세포 배양물에는 적어도 또는 약 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1,000, 5,000, 10,000개 이상의 세포가 포함된다.
- [0130] 임의의 탄소원이 숙주 세포를 배양하는데 사용될 수 있다. 용어 "탄소원"은 숙주 세포 또는 유기체에 의해 신진 대사될 수 있는 하나 이상의 탄소-함유 화합물을 나타낸다. 예를 들어, 숙주 세포를 배양하는데 사용되는 세포 배지는 숙주 세포의 생존성 또는 성장을 유지시키기 위해 적합한 임의의 탄소원을 포함할 수 있다.
- [0131] 일부 구현예에서는, 탄소원은 탄수화물 (예를 들어 단당류, 이당류, 올리고당류 또는 다당류), 반전당 (예를 들어 효소적으로 처리된 수크로오스 시럽), 글리세롤, 글리세린 (예를 들어 바이오디젤 또는 비누-제조 공정의 글리세린 부산물), 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일 (예를 들어 옥수수유, 야자유 또는 콩기름과 같은 식물 또는 야채 오일), 아세테이트, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산 (예를 들어 포화 지방산, 불포화 지방산 또는 다중불포화 지방산), 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 폴리펩티드 (예를 들어 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드), 재생가능 탄소원 (예를 들어 가수분해된 바이오매스 탄소원과 같은 바이오매스 탄소원), 효모 추출물, 효모 추출물로부터의 성분, 중합체, 산, 알코올, 알데히드, 케톤, 아미노산, 숙시네이트, 락테이트, 아세테이트, 에탄올 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합이다. 일부 구현예에서는, 탄소원은 비제한적으로 글루코오스를 포함하는 광합성의 산물이다. 일부 구현예에서, 탄수화물은 자일로오스 또는 글루코오스이다.
- [0132] 예시적 단당류는 글루코오스 및 프루토오스를 포함한다; 예시적 올리고당류는 락토오스 및 수크로오스를 포함하고, 예시적 다당류는 녹말 및 셀룰로오스를 포함한다. 예시적 탄수화물은 C6 당 (예를 들어 프루토오스, 만

노오스, 갈락토오스 또는 글루코오스) 및 C5 당 (예를 들어 자일로오스 또는 아라비노오스)을 포함한다. 일부 구현예에서는, 세포 배지는 탄수화물 뿐 아니라 탄수화물 외의 탄소원 (예를 들어 글리세롤, 글리세린, 디하이드록시아세톤, 1-탄소원, 오일, 동물성 지방, 동물성 오일, 지방산, 지질, 인지질, 글리세롤지질, 모노글리세리드, 디글리세리드, 트리글리세리드, 재생가능 탄소원, 또는 효모 추출물로부터의 성분)을 포함한다. 일부 구현예에서는, 세포 배지는 탄수화물 뿐 아니라 폴리펩티드 (예를 들어 미생물 또는 식물 단백질 또는 펩티드)를 포함한다. 일부 구현예에서는, 미생물 폴리펩티드는 효모 또는 세균으로부터의 폴리펩티드이다. 일부 구현예에서는, 식물 폴리펩티드는 콩, 옥수수, 카놀라, 자트로파, 야자, 땅콩, 해바라기, 코코넛, 겨자, 평지씨, 목화씨, 야자 핵, 올리브, 잇꽃, 참깨 또는 아마인으로부터의 폴리펩티드이다.

[0133] 일부 구현예에서는, 탄수화물의 농도는 적어도 또는 약 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 150, 200, 300, 400 g/L 이상과 같은 브로쓰 ℓ 당 적어도 또는 약 5 g 이상이다 (g/L, 브로쓰의 부피에는 세포 배지의 부피 및 세포의 부피가 모두 포함됨). 일부 구현예에서는, 탄수화물의 농도는 약 50 내지 약 400 g/L, 예를 들어 약 100 내지 약 360 g/L, 약 120 내지 약 360 g/L, 또는 약 200 내지 약 300 g/L이다. 일부 구현예에서는, 탄수화물의 농도는 숙주 세포의 배양 전 및/또는 배양 동안에 첨가되는 탄수화물 총량을 포함한다.

[0134] 예시적 지질은 포화, 불포화 또는 분지된 C4 및 초과 지방산인 하나 이상의 지방산을 함유하는 임의의 물질이다.

[0135] 예시적 오일은 실온에서 액체인 지질이다. 일부 구현예에서는, 지질은 하나 이상의 C4 또는 초과 지방산을 함유한다 (예를 들어, 4개 이상의 탄소를 갖는 하나 이상의 포화, 불포화 또는 분지된 지방산을 함유). 일부 구현예에서는, 오일은 콩, 옥수수, 카놀라, 자트로파, 야자, 땅콩, 해바라기, 코코넛, 겨자, 평지씨, 목화씨, 야자 핵, 올리브, 잇꽃, 참깨, 아마인, 유질 미생물 세포, 중국 수지 (Chinese tallow), 또는 전술한 것 중 둘 이상의 임의 조합으로부터 수득된다.

[0136] 예시적 지방산은 "R"이 탄화수소인 화학식 RCOOH의 화합물을 포함한다. 예시적 불포화 지방산은 "R"이 하나 이상의 탄소-탄소 이중 결합을 포함하는 화합물을 포함한다. 예시적 불포화 지방산은 비제한적으로, 올레산, 박센산, 리놀렌산, 팔미텔라딘산 및 아라키돈산을 포함한다. 예시적 다중불포화 지방산은 "R"이 다수의 탄소-탄소 이중 결합을 포함하는 화합물을 포함한다. 예시적 포화 지방산은 "R"이 포화 지방족기인 화합물을 포함한다. 일부 구현예에서는, 탄소원은 하나 이상의 C₁₂-C₂₂ 지방산, 예를 들어 C₁₂ 포화 지방산, C₁₄ 포화 지방산, C₁₆ 포화 지방산, C₁₈ 포화 지방산, C₂₀ 포화 지방산 또는 C₂₂ 포화 지방산을 포함한다. 예시적 구현예에서는 지방산이 팔미트산이다. 일부 구현예에서는, 탄소원은 지방산 (예를 들어 불포화 지방산)의 염, 지방산 (예를 들어 불포화 지방산)의 유도체 또는 지방산 (예를 들어 불포화 지방산)의 유도체의 염이다. 적합한 염은 비제한적으로 리튬 염, 칼륨 염, 나트륨 염 등을 포함한다. 디- 및 트리글리세롤은 글리세롤의 지방산 에스테르이다.

[0137] 일부 구현예에서는, 지질, 오일, 지방, 지방산, 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드의 농도는 적어도 또는 약 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 150, 200, 300, 400 g/L 이상과 같은 브로쓰 ℓ 당 적어도 또는 약 1 g (g/L, 브로쓰의 부피에는 세포 배지의 부피 및 세포의 부피가 모두 포함됨)이다. 일부 구현예에서는, 지질, 오일, 지방, 지방산, 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드의 농도는 약 10 내지 약 400 g/L, 예를 들어 약 25 내지 약 300 g/L, 약 60 내지 약 180 g/L, 또는 약 75 내지 약 150 g/L이다. 일부 구현예에서는, 농도는 숙주 세포 배양 전 및/또는 배양 동안 첨가되는 지질, 오일, 지방, 지방산, 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드 총량을 포함한다. 일부 구현예에서는, 탄소원은 (i) 지질, 오일, 지방, 지방산, 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드 및 (ii) 글루코오스와 같은 탄수화물을 모두 포함한다. 일부 구현예에서는, 지질, 오일, 지방, 지방산, 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드 대 탄수화물의 비율은 탄소 기준으로 약 1:1이다 (즉, 탄수화물 탄소 당 지질, 오일, 지방, 지방산, 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드 내의 하나의 탄소). 특정 구현예에서, 지질, 오일, 지방, 지방산, 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 트리글리세리드의 양은 약 60 내지 180 g/L이고, 탄수화물의 양은 약 120 내지 360 g/L이다.

[0138] 예시적 미생물 폴리펩티드 탄소원은 효모 또는 세균으로부터의 하나 이상의 폴리펩티드를 포함한다. 예시적 식물 폴리펩티드 탄소원은 콩, 옥수수, 카놀라, 자트로파, 야자, 땅콩, 해바라기, 코코넛, 겨자, 평지씨, 목화씨, 야자 핵, 올리브, 잇꽃, 참깨 또는 아마인으로부터의 하나 이상의 폴리펩티드를 포함한다.

[0139] 예시적 재생가능 탄소원은 치즈 유장 투과물, 옥수수 침지수, 사탕무 당밀, 보리 맥아, 및 전술한 임의의 것으

로부터의 성분을 포함한다. 예시적 재생가능 탄소원은 또한 옥수수, 지팡이풀 (switchgrass), 사탕수수, 발효 공정의 세포 폐기물, 및 콩, 옥수수 또는 밀의 제분으로부터의 단백질 부산물과 같은 바이오매스 내에 존재하는 아세테이트, 글루코오스, heksoos, 펜토오스 및 자일로오스를 포함한다. 일부 구현예에서는, 바이오매스 탄소원은 비제한적으로 풀, 밀, 밀짚, 바가스, 사탕수수 바가스, 침엽수 펄프, 옥수수, 옥수수 속대 또는 껍질 (husk), 옥수수 핵 (corn kernel), 옥수수 핵으로부터의 섬유, 옥수수대, 지팡이풀, 벼 외피 산물, 또는 곡물 (예를 들어 옥수수, 수수, 호밀, 트리티케이트 (triticale), 보리, 밀, 및/또는 증류 곡물)의 습식 또는 건식 제분으로부터의 부산물과 같은 리그노셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 또는 셀룰로오스 물질이다. 예시적 셀룰로오스 물질은 목재, 종이 및 펄프 폐기물, 초본 식물 및 과일 펄프를 포함한다. 일부 구현예에서는, 탄소원은 줄기, 낱알, 뿌리 또는 덩이줄기와 같은 임의 식물 부분을 포함한다. 일부 구현예에서는, 임의의 하기 식물의 전부 또는 일부가 탄소원으로서 사용된다: 옥수수, 밀, 호밀, 수수, 트리티케이트, 쌀, 기장, 보리, 카사바, 콩, 완두와 같은 콩류, 감자, 고구마, 바나나, 사탕수수 및/또는 타피오카. 일부 구현예에서는, 탄소원은 자일로오스 및 글루코오스를 모두 포함하거나 수크로오스 및 글루코오스를 모두 포함하는 바이오매스 가수분해물과 같은 바이오매스 가수분해물이다.

[0140] 일부 구현예에서는, 재생가능 탄소원 (예를 들어 바이오매스)은 세포 배양 배지에 첨가되기 전 사전처리된다. 일부 구현예에서는, 사전처리는 효소적 사전처리, 화학적 사전처리 또는 효소적 및 화학적 사전처리 모두의 조합을 포함한다 (예를 들어 Farzaneh 등, Bioresource Technology 96 (18): 2014-2018, 2005; 미국 특허 제 6,176,176 호; 미국 특허 제 6,106,888 호; 특히 재생가능 탄소원의 사전처리에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 일부 구현예에서는, 재생가능 탄소원은 세포 배양 배지에 첨가되기 전 부분적으로 또는 완전히 가수분해된다.

[0141] 일부 구현예에서는, 재생가능 탄소원 (예를 들어 옥수수대)은 세포 배양 배지에 첨가되기 전 암모니아 섬유 팽창 (AFEX) 사전처리를 거친다 (예를 들어 Farzaneh 등, Bioresource Technology 96 (18): 2014-2018, 2005). AFEX 사전처리 동안, 재생가능 탄소원은 온건한 온도 (예를 들어 약 60 내지 약 100°C) 및 고압 (예를 들어 약 250 내지 약 300 psi)에서 약 5분 동안 액체 무수 암모니아로 처리된다. 이후, 압력을 빠르게 해제시킨다. 이러한 방법에서, 리그닌 용해화, 헤미셀룰로오스 가수분해, 셀룰로오스 탈결정화 및 증가된 표면적의 조합된 화학적 및 물리적 효과는 셀룰로오스 및 헤미셀룰로오스가 발효가능 당으로 거의 완전하게 효소적으로 변환되게 한다. AFEX 사전처리는 거의 모든 암모니아가 회수되고 재사용될 수 있는 한편, 하류 방법에서 미생물에 대한 질소원으로 역활하는 것으로 남아있다는 이점을 갖는다. 또한, 세척 흐름은 AFEX 사전처리에 필요하지 않다. 따라서, AFEX 처리 이후 건조 물질 회수는 본질적으로 100%이다. AFEX는 기본적으로 건조 대 건조 방법이다. 처리된 재생가능 탄소원은 장기간에 적합하며, 효소적 가수분해 또는 발효 방법에서 매우 높은 고체 적재로 공급될 수 있다. 셀룰로오스 및 헤미셀룰로오스는 분해가 없거나 거의 없이 AFEX 방법에서 잘 보존된다. AFEX 사전처리를 거친 재생가능 탄소원의 효소적 가수분해 전에 중화할 필요는 없다. AFEX-처리된 탄소원의 효소적 가수분해는 후속 발효 사용을 위한 깨끗한 당 흐름을 만들어낸다.

[0142] 일부 구현예에서는, 탄소원 (예를 들어 재생가능 탄소원)의 농도는 적어도 또는 약 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40 또는 50% 글루코오스 (w/v)와 동등하다. 탄소원으로부터 생성된 글루코오스의 양을 측정하기 위해 참조로서 글루코오스를 사용하는 표준 HPLC 방법을 사용하여 동량의 글루코오스를 측정할 수 있다. 일부 구현예에서는, 탄소원 (예를 들어 재생가능 탄소원)의 농도는 약 0.1 내지 약 20% 글루코오스, 예를 들어 약 0.1 내지 약 10% 글루코오스, 약 0.5 내지 약 10% 글루코오스, 약 1 내지 약 10% 글루코오스, 약 1 내지 약 5% 글루코오스, 또는 약 1 내지 약 2% 글루코오스와 동등하다.

[0143] 일부 구현예에서는, 탄소원은 효모 추출물 또는 효모 추출물의 하나 이상의 성분을 포함한다. 일부 구현예에서는, 효모 추출물의 농도는 적어도 또는 약 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 150, 200, 300 g/L 이상과 같은 브로쓰의 l 당 효모 추출물 1 g 이상 (g/L, 브로쓰의 부피에는 세포 배지의 부피 및 세포의 부피가 모두 포함됨)이다. 일부 구현예에서는, 효모 추출물의 농도는 약 1 내지 약 300 g/L, 예를 들어 약 1 내지 약 200 g/L, 약 5 내지 약 200 g/L, 약 5 내지 약 100 g/L, 또는 약 5 내지 약 60 g/L이다. 일부 구현예에서는, 농도는 숙주 세포의 배양 전 및/또는 배양 동안에 첨가되는 효모 추출물 총량을 포함한다. 일부 구현예에서는, 탄소원은 효모 추출물 (또는 이의 하나 이상의 성분) 및 글루코오스와 같은 또 다른 탄소원을 모두 포함한다. 일부 구현예에서는, 효모 추출물 대 다른 탄소원의 비율은 약 1:5, 약 1:10 또는 약 1:20 (w/w)이다.

[0144] 추가적으로 탄소원은 또한 이산화탄소 또는 메탄올과 같은 1-탄소원 기질일 수 있다. 단일 탄소원 (예를 들어 메탄올, 포름알데히드 또는 포르메이트)로부터 글리세롤을 생성하는 것은 메탄올자화 (methylotrophic) 효모

(Yamada 등, Agric. Biol. Chem., 53(2) 541-543, 1989; 특히 탄소원에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨) 및 세균 (Hunter 등, Biochemistry, 24, 4148-4155, 1985; 특히 탄소원에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨)에서 보고된 바 있다. 이들 유기체는 메탄에서 포르메이트로의 산화 상태 범위에 있는 단일 탄소 화합물을 동화시키고 글리세롤을 생성시킬 수 있다. 탄소 동화의 경로는 리볼로오스 모노포스페이트, 세린, 또는 자일로오스-모노포스페이트를 통한 것일 수 있다 (Gottschalk, Bacterial Metabolism, Second Edition, Springer-Verlag: New York, 1986; 특히 탄소원에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨). 리볼로오스 모노포스페이트 경로는 포르메이트와 리볼로오스-5-포스페이트와의 축합으로 6개 탄소 당이 형성되어 이것이 프룩토오스가 되고 마침내 3탄소 산물 글리세르알데히드-3-포스페이트가 되는 것을 포함한다. 마찬가지로, 세린 경로는 메틸렌테트라하이드로폴레이트를 통해 1-탄소 화합물을 당분해 경로에 동화시킨다.

[0145] 1 또는 2개의 탄소 기질에 추가로, 메탄올자화 유기체는 메틸아민, 글루코사민 및 대사작용 활성을 위한 다양한 아미노산과 같은 화합물을 함유하는 많은 다른 탄소를 이용하는 것으로 또한 알려져 있다. 예를 들어, 메탄올자화 효모는 메틸아민으로부터의 탄소를 이용하여 트레할로오스 또는 글리세롤을 형성시키는 것으로 알려져 있다 (Bellion 등, Microb. Growth Cl Compd, [Int. Symp.], 7th ed., 415-32. Editors: Murrell 등, Publisher: Intercept, Andover, UK, 1993; 특히 탄소원에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨). 유사하게, 다양한 칸디다 종은 알라닌 또는 올레산을 신진 대사시킨다 (Suiter 등, Arch. Microbiol. 153(5), 485-9, 1990; 특히 탄소원에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨).

[0146] 일부 구현예에서는, 세포는 생리적 염 및 영양을 함유하는 표준 배지에서 배양된다 (예를 들어 [Pourquie, J. 등, Biochemistry and Genetics of Cellulose Degradation, eds. Aubert 등, Academic Press, pp. 71-86, 1988] 및 [Ilmen 등, Appl. Environ. Microbiol. 63: 1298-1306, 1997]; 특히 세포 배지에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 예시적 성장 배지는 루리아 베르타니 (Luria Bertani, LB) 브로쓰, 사브로 텍스트로오스 (Sabouraud Dextrose, SD) 브로쓰, 또는 효모 배지 (Yeast medium, YM) 브로쓰와 같은 상업적으로 제조된 통상적 배지이다. 다른 한정 또는 합성 성장 배지가 또한 사용될 수 있고, 특정 숙주 세포의 성장을 위한 적절한 배지는 미생물 또는 발효 과학계의 당업자에게 알려져 있다.

[0147] 적절한 탄소원에 추가로, 세포 배지는 바람직하게는 적합한 미네랄, 염, 공동 인자, 완충액, 및 배양물의 성장 또는 이소프렌 생성의 증진에 적합한 당업자에게 알려져 있는 기타 성분을 함유한다 (예를 들어 WO 2004/033646 및 그에 인용된 참고문헌, 및 WO 96/35796 및 그에 인용된 참고문헌; 특히 세포 배지 및 세포 배양 조건에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 핵산이 유도성 프로모터의 조절 하에 있는 일부 구현예에서는 유도제 (예를 들어 당, 금속 염 또는 살균제)를 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드의 발현을 유도하기에 효과적인 농도로 배지에 첨가하는 것이 바람직하다. 일부 구현예에서는, 세포 배지는 하나 이상의 DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산을 갖는 벡터 상의 항생제 내성 핵산 (예를 들어 카나마이신 내성 핵산)에 상응하는 항생제 (예를 들어 카나마이신)를 갖는다.

[0148] 예시적 세포 배양 조건

[0149] 세균 배양물의 유지 및 성장에 적합한 재료 및 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 예시적 기술이 [Manual of Methods for General Bacteriology Gerhardt 등, eds), American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1994) 또는 Brock in Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology, 초 Edition (1989) Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA] (특히 세포 배양 기술에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨)에서 발견될 수 있다. 일부 구현예에서는, 세포는 숙주 세포에 삽입된 핵산에 의해 인코딩되는 하나 이상의 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 폴리펩티드가 발현되게 하는 조건 하에 배양 배지에서 배양된다.

[0150] 표준 세포 배양 조건이 세포를 배양하는데 사용될 수 있다 (예를 들어 WO 2004/033646 및 그에 인용된 참고문헌; 특히 세포 배양 및 발효 조건에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨). 세포는 적절한 온도, 기체 혼합물 및 pH에서 (예를 들어 약 20 내지 약 37°C, 약 6% 내지 약 84% CO₂, 및 pH 약 5 내지 약 9에서) 성장하고 유지된다. 일부 구현예에서는, 세포는 적절한 세포 배지에서 35°C에서 성장한다. 일부 구현예에서는, 예를 들어 배양물은 진탕 배양물 또는 발효기 내의 적절한 배지에서 원하는 양의 이소프렌 생성이 달성될 때까지 약 28°C에서 배양된다. 일부 구현예에서는, 발효를 위한 pH 범위는 약 pH 5.0 내지 약 pH 9.0 (예를 들어 약 pH 6.0 내지 약 pH 8.0, 또는 약 6.5 내지 약 7.0)이다. 반응은 숙주 세포의 필요 사항을 기초로 하여 호기성, 무산소 또는 혐기성 조건 하에 수행될 수 있다. 주어진 필라멘트성 진균의 예시적 배양 조건은 당업계에 공지되어 있으며 과학 문헌 및/또는 미국 미생물 보존 센터 (American Type Culture Collection)

및 진균 저장 센터 (Fungal Genetics Stock Center)와 같은 진균 공급원으로부터 발견될 수 있다.

- [0151] 다양한 구현예에서 세포는 회분식 (batch), 유가식 (fed-batch), 또는 연속 공정과 같은 임의의 공지된 발효 방식을 사용하여 성장한다. 일부 구현예에서는, 발효의 회분식 방법이 사용된다. 고정적 회분식 발효는 배지의 조성물이 발효의 시작점에서 정해지고 발효 동안 인공적 변경이 가해지지 않는 폐쇄 시스템이다. 따라서, 발효의 시작점에서 세포 배지를 원하는 숙주 세포로 접종하고 발효는 시스템에 아무것도 첨가되지 않도록 한다. 그러나 전형적으로 "회분식" 발효는 탄소원의 첨가에 대한 회분이며 pH 및 산소 농도와 같은 조절 인자에서 이루어지도록 종종 시도된다. 회분식 시스템에서, 시스템의 대사산물 및 바이오매스 조성물은 발효가 중단되는 시간까지 끊임없이 변화한다. 회분식 배양물 내에서, 세포는 정적 지연상에서 고성장 로그상, 및 최종적으로는 성장 속도가 감소되거나 정지하는 정지상을 통해 적절하게 된다. 일부 구현예에서는, 로그상의 세포는 대량의 이소프렌 생성에 책임이 있다. 일부 구현예에서는, 정지상의 세포는 이소프렌을 생성한다.
- [0152] 일부 구현예에서는, 표준 회분식 시스템에 대해 유가식 시스템과 같은 변형이 사용된다. 유가식 발효 방법은 탄소원이 발효 진행으로서의 증가량으로 첨가된다는 것을 제외하고는 전형적인 회분식 시스템을 포함한다. 유가식 발효는 이화 작용 산물 억제가 세포의 신진 대사를 억제하는 경향이 있고 세포 배지 내에 제한된 양의 탄소원을 갖는 것이 바람직한 경우 유용하다. 유가식 발효는 제한된 양 또는 과량의 탄소원 (예를 들어 글루코오스)으로 수행될 수 있다. 유가식 시스템에서의 실제적 탄소원 농도를 측정하는 것은 어려우며, 그러므로 pH, 용존 산소 및 CO₂와 같은 폐기 기체의 부분 압력과 같은 측정가능한 요소의 변화를 기준으로 추정된다. 회분식 및 유가식 발효는 통상적이며 당업계에 잘 알려져 있고, 그 예들이 [Brock, Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology, Second Edition (1989) Sinauer Associates, Inc.] (특히 세포 배양 및 발효 조건에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨)에서 발견될 수 있다.
- [0153] 일부 구현예에서는, 연속 발효 방법이 사용된다. 연속 발효는 한정된 발효 배지가 생물반응기에 연속적으로 첨가되고 동량의 조건화된 배지가 절차 동안 동시에 제거되는 개방형 시스템이다. 연속 발효는 일반적으로, 세포가 주로 로그상 성장에 있는 일정한 고밀도에서 배양물을 유지시킨다.
- [0154] 연속 발효에서는 세포 성장 또는 이소프렌 생성에 영향을 미치는 한 인자 또는 임의의 수의 인자들의 조절이 가능하다. 예를 들어, 한 방법은 고정된 속도에서의 질소 수준 또는 탄소원과 같은 제한 영양을 유지하며 모든 다른 매개변수가 조정되게 한다. 다른 시스템에서, 성장에 영향을 주는 많은 수의 인자가 연속적으로 변경되는 한편 세포 농도 (예를 들어 배지 탁도에 의해 측정되는 농도)는 일정하게 유지된다. 연속 시스템은 항상 상태 성장 조건을 유지하고자 한다. 따라서, 배지의 배수로 인한 세포 유실은 발효에서의 세포 성장 속도에 대해 평형화된다. 연속 발효 방법에 대한 성장 인자 및 영양분을 조정하는 방법 뿐 아니라 생성물 형성 속도를 최대화하는 기술은 산업 미생물학계에 잘 알려져 있으며 다양한 방법들이 [Brock, Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology, Second Edition (1989) Sinauer Associates, Inc.] (특히 세포 배양 및 발효 조건에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함됨)에 상세히 기재된다.
- [0155] 일부 구현예에서 세포는 전체 세포 촉매로서 기질 상에 고정되며, 이소프렌 생성에 대한 발효 조건에 가해진다.
- [0156] 일부 구현예에서는, 산소를 액체에 도입하고 배양물의 균일성을 유지하기 위해 액체 배양물 병을 진탕기에 넣는다. 일부 구현예에서는, 인큐베이터가 온도, 습도, 진탕 속도 및/또는 배양물이 성장하는 기타 조건을 조절하는데 사용된다. 가장 단순한 인큐베이터는 전형적으로 약 65℃까지 상승하는 조정가능한 가열기를 갖는 절연 상자이다. 보다 정교한 인큐베이터는 또한 (냉장을 통해) 온도를 낮추는 능력, 또는 습도 또는 CO₂ 수준을 조절하는 능력을 포함한다. 대부분의 인큐베이터는 타이머를 포함하며; 일부는 또한 상이한 온도, 습도 수준 등을 통해 순환하도록 프로그래밍될 수 있다. 인큐베이터는 탁상용에서 소규모 방 크기의 유닛까지 그 크기가 다양할 수 있다.
- [0157] 필요하다면, 세포 배지의 일부 또는 전부를 바꾸어 영양분을 다시 채우고/채우거나 잠재적으로 유해한 대사작용 부산물 및 사멸 세포의 축적을 피할 수 있다. 현탁 배양물의 경우, 세포는 현탁 배양물의 원심분리 또는 여과, 및 이후 새로운 배지에 세포를 재현탁함으로써 배지로부터 분리될 수 있다. 점착성 배양물의 경우, 배지를 흡인에 의해 직접적으로 제거하고 대체할 수 있다. 일부 구현예에서는, 세포 배지는 연속 배양물 (예를 들어 희석하지 않은 연속 배양물)에서 적어도 또는 약 5, 10, 20, 40, 50, 60, 65회 이상의 세포 분열 동안 세포의 적어도 일부가 분열되게 한다.
- [0158] 일부 구현예에서는, 항시 또는 누출 프로모터 (예를 들어 Trc 프로모터)가 사용되며 프로모터에 작동가능하게

연결되는 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산(들)의 발현이 유도되도록 화합물 (예를 들어 IPTG)이 첨가되지 않는다. 일부 구현예에서는, 프로모터에 작동가능하게 연결되는 이소프렌 신타아제, DXS, IDI 또는 MVA 경로 핵산(들)의 발현이 유도되도록 화합물 (예를 들어 IPTG)이 첨가된다.

[0159] 이소프렌의 예시적 생성

[0160] 일부 구현예에서는, 세포는 세포에 의해 이소프렌이 생성되게 하는 조건 하에 배양 배지에서 배양된다. "피크 절대 생산성"은 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안의 배출 기체 내에 있는 이소프렌의 최대 절대량을 의미한다. "피크 절대 생산성 시간 지점"은 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안 배출 기체 내의 이소프렌의 절대량이 최대일 때 발효 런 동안의 시간 지점을 의미한다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 양은 피크 절대 생산성 시간 지점에서 측정된다. 일부 구현예에서는, 세포에 대한 피크 절대 생산성은 본원에 개시된 임의의 대략적 이소프렌 양이다.

[0161] "피크 특이적 생산성"은 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안의 세포 당 생성된 이소프렌의 최대량을 의미한다. "피크 특이적 생산성 시간 지점"은 세포 당 생성된 이소프렌의 양이 최대일 때 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안의 시간 지점을 의미한다. 피크 특이적 생산성은, 600 nm에서의 광학 밀도 (OD_{600})에 의해 측정되는 바와 같이 총 생산성을 세포량으로 나누어 측정된다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 양은 피크 특이적 생산성 시간 지점에서 측정된다. 일부 구현예에서는, 세포에 대한 피크 특이적 생산성은 본원에 개시된 임의의 대략적인 세포 당 이소프렌 양이다.

[0162] "피크 체적 생산성"은 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안의 브로쓰의 부피 (세포 및 세포 배지의 부피를 포함) 당 생성된 이소프렌의 최대량을 의미한다. "피크 특이적 체적 생산성 시간 지점"은 브로쓰의 부피 당 생성된 이소프렌의 양이 최대일 때 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안의 시간 지점을 의미한다. 피크 특이적 체적 생산성은 총 생산성을 브로쓰의 부피 및 시간량으로 나누어 측정된다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 양은 피크 특이적 체적 생산성 시간 지점에서 측정된다. 일부 구현예에서는, 세포에 대한 피크 특이적 체적 생산성은 본원에 개시된 임의의 대략적인 시간 당 부피 당 이소프렌 양이다.

[0163] "피크 농도"는 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안 생성된 이소프렌의 최대량을 의미한다. "피크 농도 시간 지점"은 세포 당 생성된 이소프렌의 양이 최대일 때 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안의 시간 지점을 의미한다. 일부 구현예에서는, 이소프렌 양은 피크 농도 시간 지점에서 측정된다. 일부 구현예에서는, 세포에 대한 피크 농도는 본원에 개시된 임의의 대략적 이소프렌 양이다.

[0164] "평균 체적 생산성"은 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안 브로쓰의 부피 (세포 및 세포 배지의 부피를 포함) 당 생성된 이소프렌의 평균량을 의미한다. 평균 체적 생산성은 총 생산성을 브로쓰의 부피 및 시간량으로 나누어 측정된다. 일부 구현예에서는, 세포에 대한 평균 특이적 체적 생산성은 본원에 개시된 임의의 대략적인 시간 당 부피 당 이소프렌 양이다.

[0165] "누적 총 생산성"은 특정 기간의 시간 동안 세포를 배양 (예를 들어 특정 발효 런 동안 세포를 배양)하는 동안 생성된 이소프렌의 누적 총량을 의미한다. 일부 구현예에서는 이소프렌의 누적 총량이 측정된다. 일부 구현예에서는, 세포에 대한 누적 총 생산성은 본원에 개시된 임의의 대략적인 이소프렌 양이다.

[0166] 일부 구현예에서는, 배양물 내의 세포는 초과로 또는 약 1, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,500, 3,000, 4,000, 5,000, 10,000, 12,500, 20,000, 30,000, 40,000, 50,000, 75,000, 100,000, 125,000, 150,000, 188,000 이상의 이소프렌 nmol/세포의 습식 중량에 대한 세포 g/시간 (nmol/g_{wcm}/시간)으로 이소프렌을 생성한다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 양은 약 2 내지 약 200,000 nmol/g_{wcm}/시간, 예를 들어 약 2 내지 약 100 nmol/g_{wcm}/시간, 약 100 내지 약 500 nmol/g_{wcm}/시간, 약 150 내지 약 500 nmol/g_{wcm}/시간, 약 500 내지 약 1,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 1,000 내지 약 2,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 2,000 내지 약 5,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 5,000 내지 약 10,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 10,000 내지 약 50,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 50,000 내지 약 100,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 100,000 내지 약 150,000 nmol/g_{wcm}/시간, 또는 약 150,000 내지 약 200,000 nmol/g_{wcm}/시간이다. 일부 구현예에서는, 이소프

렌의 양은 약 20 내지 약 200,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 100 내지 약 5,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 200 내지 약 2,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 200 내지 약 1,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 300 내지 약 1,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 400 내지 약 1,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 1,000 내지 약 5,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 2,000 내지 약 20,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 5,000 내지 약 50,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 10,000 내지 약 100,000 nmol/g_{wcm}/시간, 약 20,000 내지 약 150,000 nmol/g_{wcm}/시간, 또는 약 20,000 내지 약 200,000 nmol/g_{wcm}/시간이다.

[0167] nmol/g_{wcm}/시간 단위의 이소프렌 양은 특히 이소프렌 생성의 측정에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함되는 미국 특허 제 5,849,970 호에서 개시된 바와 같이 측정될 수 있다. 예를 들어 2 ml의 상부공간 (예를 들어, 밀봉된 바이알에서 32°C에서 200 rpm에서 진탕하면서 약 3시간 동안 배양된 2 ml의 배양물과 같은 배양물로부터의 상부공간)은, n-옥탄/포라실 C 컬럼 (Alltech Associates, Inc., Deerfield, Ill.)을 가지며 RGD2 산화수는 환원 기체 검출기 (Trace Analytical, Menlo Park, CA)와 결합된 등온선상 (85°C) 작동 시스템과 같은 표준 기체 크로마토그래피 시스템을 사용하여 이소프렌에 대해 분석된다 (예를 들어 Greenberg 등, Atmos. Environ. 27A: 2689-2692, 1993; Silver 등, Plant Physiol. 97:1588-1591, 1991 참조; 특히 이소프렌 생성의 측정에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 기체 크로마토그래피 영역 단위는 표준 이소프렌 농도 교정 곡선을 통해 nmol 이소프렌으로 변환된다. 일부 구현예에서는, 세포의 습식 중량에 대한 세포의 g에 대한 값은 세포 배양물의 세포에 대한 A₆₀₀ 값을 측정한 후, 알려진 A₆₀₀ 값을 갖는 세포 배양물에 대한 습식 중량의 교정 곡선을 기준으로 하여 상기 A₆₀₀ 값을 세포의 g으로 변환함으로써 계산된다. 일부 구현예에서는, 세포의 g은 1의 A₆₀₀ 값을 갖는 1 l의 브로쓰 (세포 배지 및 세포를 포함)가 1 g의 습식 세포 중량을 갖는다고 가정함으로써 추정된다. 상기 값은 또한 인큐베이션된 배양물의 시간 수 (예를 들어 3시간)로 나누어진다.

[0168] 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 초과로 또는 약 1, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,500, 3,000, 4,000, 5,000, 10,000, 100,000 이상의 이소프렌 ng/세포의 습식 중량에 대한 세포의 g/시간 (ng/g_{wcm}/시간)으로 이소프렌을 생성한다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 양은 약 2 내지 약 5,000 ng/g_{wcm}/시간, 예를 들어 약 2 내지 약 100 ng/g_{wcm}/시간, 약 100 내지 약 500 ng/g_{wcm}/시간, 약 500 내지 약 1,000 ng/g_{wcm}/시간, 약 1,000 내지 약 2,000 ng/g_{wcm}/시간, 또는 약 2,000 내지 약 5,000 ng/g_{wcm}/시간이다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 양은 약 20 내지 약 5,000 ng/g_{wcm}/시간, 약 100 내지 약 5,000 ng/g_{wcm}/시간, 약 200 내지 약 2,000 ng/g_{wcm}/시간, 약 200 내지 약 1,000 ng/g_{wcm}/시간, 약 300 내지 약 1,000 ng/g_{wcm}/시간, 또는 약 400 내지 약 1,000 ng/g_{wcm}/시간이다. ng/g_{wcm}/시간으로의 이소프렌 양은 상기 토의된 nmol/g_{wcm}/시간 단위에서의 이소프렌 생성에 대한 값을 68.1로 곱하여 계산될 수 있다 (하기 방정식 5에서 기재된 바와 같음).

[0169] 일부 구현예에서는, 배양물 내의 세포는 초과로 또는 약 1, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1,250, 1,500, 1,750, 2,000, 2,500, 3,000, 4,000, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000 이상의 이소프렌 mg/브로쓰 L (mg/L_{브로쓰}, 브로쓰의 부피에는 세포 및 세포 배지의 부피가 포함됨)로 이소프렌의 누적 역가 (총량)을 생성한다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 양은 약 2 내지 약 5,000 mg/L_{브로쓰}, 예를 들어 약 2 내지 약 100 mg/L_{브로쓰}, 약 100 내지 약 500 mg/L_{브로쓰}, 약 500 내지 약 1,000 mg/L_{브로쓰}, 약 1,000 내지 약 2,000 mg/L_{브로쓰}, 또는 약 2,000 내지 약 5,000 mg/L_{브로쓰}이다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 양은 약 20 내지 약 5,000 mg/L_{브로쓰}, 약 100 내지 약 5,000 mg/L_{브로쓰}, 약 200 내지 약 2,000 mg/L_{브로쓰}, 약 200 내지 약 1,000 mg/L_{브로쓰}, 약 300 내지 약 1,000 mg/L_{브로쓰}, 또는 약 400 내지 약 1,000 mg/L_{브로쓰}이다.

[0170] 진탕 플라스크 또는 유사한 배양물로부터의 이소프렌 mg/상부공간 L로의 이소프렌의 특이적 생산성은 약 1.0의 OD₆₀₀ 값의 세포 배양물로부터 1 ml 샘플을 취하고 30분 동안 인큐베이션한 후 상부공간 내의 이소프렌의 양을 측정함으로써 측정될 수 있다 (예를 들어 실시예 1, II 부분에서 기재된 바와 같음). OD₆₀₀ 값이 1.0이 아니라면, OD₆₀₀ 값으로 나누어 1.0의 OD₆₀₀ 값에 대해 측정을 정상화시킬 수 있다. 이소프렌 mg/상부공간 L의 값은 38의 인자로 곱하여 배양물 브로쓰의 mg/L_{브로쓰}/시간/OD₆₀₀으로 변환될 수 있다. mg/L_{브로쓰}/시간/OD₆₀₀ 단위

의 값을 시간 수 및 OD_{600} 값으로 곱하여 이소프렌 $\text{mg}/\text{브로쓰 L}$ 단위의 누적 역가를 취득할 수 있다.

[0171] 일부 구현예에서는, 배양물 내의 세포는 초과 또는 약 0.1, 1.0, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1100, 1200, 1300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500 이상의 이소프렌 $\text{mg}/\text{브로쓰 L}/\text{시간}$ ($\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 브로쓰의 부피에는 세포 및 세포 배지의 부피가 포함됨)으로 이소프렌의 평균 체적 생산성을 갖는다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 평균 체적 생산성은 약 0.1 내지 약 3,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 예를 들어 약 0.1 내지 약 100 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 100 내지 약 500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 500 내지 약 1,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 1,000 내지 약 1,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 1,500 내지 약 2,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 2,000 내지 약 2,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 2,500 내지 약 3,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 또는 약 3,000 내지 약 3,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 이다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 평균 체적 생산성은 약 10 내지 약 3,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 100 내지 약 3,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 200 내지 약 1,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 200 내지 약 1,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 1,000 내지 약 3,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 또는 약 1,500 내지 약 3,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 이다.

[0172] 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 초과 또는 약 0.5, 1.0, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1,000, 1100, 1200, 1300, 1,400, 1,500, 1,600, 1,700, 1,800, 1,900, 2,000, 2,100, 2,200, 2,300, 2,400, 2,500, 2,600, 2,700, 2,800, 2,900, 3,000, 3,100, 3,200, 3,300, 3,400, 3,500, 3,750, 4,000, 4,250, 4,500, 4,750, 5,000, 5,250, 5,500, 5,750, 6,000, 6,250, 6,500, 6,750, 7,000, 7,250, 7,500, 7,750, 8,000, 8,250, 8,500, 8,750, 9,000, 9,250, 9,500, 9,750, 10,000, 12,500, 15,000 이상의 이소프렌 $\text{mg}/\text{브로쓰 L}/\text{시간}$ ($\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 브로쓰의 부피에는 세포 및 세포 배지의 부피가 포함됨)으로 이소프렌의 피크 체적 생산성을 갖는다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 피크 체적 생산성은 약 0.5 내지 약 15,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 예를 들어 약 0.5 내지 약 10 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 1.0 내지 약 100 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 100 내지 약 500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 500 내지 약 1,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 1,000 내지 약 1,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 1,500 내지 약 2,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 2,000 내지 약 2,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 2,500 내지 약 3,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 3,000 내지 약 3,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 3,500 내지 약 5,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 5,000 내지 약 7,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 7,500 내지 약 10,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 10,000 내지 약 12,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 또는 약 12,500 내지 약 15,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 이다. 일부 구현예에서는, 이소프렌의 피크 체적 생산성은 약 10 내지 약 15,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 100 내지 약 2,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 1,000 내지 약 5,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 2,500 내지 약 7,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 5,000 내지 약 10,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 약 7,500 내지 약 12,500 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$, 또는 약 10,000 내지 약 15,000 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 이다.

[0173] 발효기 내의 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 으로의 순간 이소프렌 생성 속도는 발효기 배출 기체의 샘플을 취하고, 예를 들어 실시예 1, II 부분에서 기재된 바와 같이 이소프렌의 양에 대해 이를 분석하고 (예를 들어 $L_{\text{기체}}$ 당 이소프렌 mg 의 단위로) 상기 값을 배출 기체가 브로쓰 각각의 ℓ 를 통해 지나가는 속도 (예를 들어, 1 vvm (공기 부피/브로쓰 부피/분)에서 이는 시간 당 60 $L_{\text{기체}}$ 임)로 곱하여 측정될 수 있다. 따라서, 1 $\text{mg}/L_{\text{기체}}$ 의 배출 기체 수준은 1 vvm의 공기 흐름에서 60 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 의 순간 생성 속도에 상응한다. 필요하다면, $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 단위의 값을 OD_{600} 값으로 나누어 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}/OD$ 단위의 특이적 속도를 취득할 수 있다. 이소프렌 $\text{mg}/L_{\text{기체}}$ 의 평균 값은 상기 평균 배출 기체 이소프렌 농도에 발효 동안의 발효 브로쓰의 ℓ 당 살포된 배출 기체의 총량을 곱하여 총 생성물 생산성 (발효 브로쓰 ℓ 당 이소프렌 g , $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}$)으로 변환될 수 있다. 따라서, 1 vvm에서 10시간에 걸친 0.5 $\text{mg}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}$ 의 평균 배출 기체 이소프렌 농도는 300 mg 이소프렌/ $\text{L}_{\text{브로쓰}}$ 의 총 생성물 농도에 상응한다.

[0174] 일부 구현예에서는, 배양물 내 세포는 초과 또는 약 0.0015, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.12, 0.14, 0.16, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 2.0, 2.2, 2.4, 2.6, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0, 13.0, 14.0, 15.0, 16.0, 17.0, 18.0, 19.0, 20.0, 21.0, 22.0,

23.0, 23.2, 23.4, 23.6, 23.8, 24.0, 25.0, 30.0, 31.0, 32.0, 33.0, 35.0, 37.5, 40.0, 45.0, 47.5, 50.0, 55.0, 60.0, 65.0, 70.0, 75.0, 80.0, 85.0, 또는 90.0 몰%의 세포 배양 배지 내 탄소를 이소프렌으로 변환시킨다. 일부 구현예에서는, 탄소의 이소프렌으로의 변환 %는 약 0.002 내지 약 90.0 몰%, 예를 들어 약 0.002 내지 약 0.005 몰%, 약 0.005 내지 약 0.01 몰%, 약 0.01 내지 약 0.05 몰%, 약 0.05 내지 약 0.15 몰%, 0.15 내지 약 0.2 몰%, 약 0.2 내지 약 0.3 몰%, 약 0.3 내지 약 0.5 몰%, 약 0.5 내지 약 0.8 몰%, 약 0.8 내지 약 1.0 몰%, 약 1.0 내지 약 1.6 몰%, 약 1.6 내지 약 3.0 몰%, 약 3.0 내지 약 5.0 몰%, 약 5.0 내지 약 8.0 몰%, 약 8.0 내지 약 10.0 몰%, 약 10.0 내지 약 15.0 몰%, 약 15.0 내지 약 20.0 몰%, 약 20.0 내지 약 25.0 몰%, 약 25.0 내지 30.0 몰%, 약 30.0 내지 35.0 몰%, 약 35.0 내지 40.0 몰%, 약 45.0 내지 50.0 몰%, 약 50.0 내지 55.0 몰%, 약 55.0 내지 60.0 몰%, 약 60.0 내지 65.0 몰%, 약 65.0 내지 70.0 몰%, 약 75.0 내지 80.0 몰%, 약 80.0 내지 85.0 몰%, 또는 약 85.0 내지 90.0 몰%이다. 일부 구현예에서는, 탄소의 이소프렌으로의 변환 %는 약 0.002 내지 약 0.4 몰%, 0.002 내지 약 0.16 몰%, 0.04 내지 약 0.16 몰%, 약 0.005 내지 약 0.3 몰%, 약 0.01 내지 약 0.3 몰%, 약 0.05 내지 약 0.3 몰%, 약 0.1 내지 0.3 몰%, 약 0.3 내지 약 1.0 몰%, 약 1.0 내지 약 5.0 몰%, 약 2 내지 약 5.0 몰%, 약 5.0 내지 약 10.0 몰%, 약 7 내지 약 10.0 몰%, 약 10.0 내지 약 20.0 몰%, 약 12 내지 약 20.0 몰%, 약 16 내지 약 20.0 몰%, 약 18 내지 약 20.0 몰%, 약 18 내지 23.2 몰%, 약 18 내지 23.6 몰%, 약 18 내지 약 23.8 몰%, 약 18 내지 약 24.0 몰%, 약 18 내지 약 25.0 몰%, 약 20 내지 약 30.0 몰%, 약 30 내지 약 40.0 몰%, 약 30 내지 약 50.0 몰%, 약 30 내지 약 60.0 몰%, 약 30 내지 약 70.0 몰%, 약 30 내지 약 80.0 몰%, 또는 약 30 내지 약 90.0 몰%이다.

[0175] 탄소의 이소프렌으로의 변환 % (또한 "탄소 수율 %"로서 나타냄)는 생성된 이소프렌 내의 탄소 mol을 탄소원 내 탄소 mol (예를 들어 회분식 및 공급된 글루코오스 및 효모 추출물에서의 탄소 mol)로 나누어 측정될 수 있다. 이러한 수를 100%로 곱하여 % 값을 취득한다 (방정식 1에 나타낸 바와 같음).

[0176] 방정식 1

[0177] 탄소 수율% = (생성된 이소프렌 내의 탄소 mol)/(탄소원 내의 탄소 mol) * 100

[0178] 상기 계산을 위해, 효모 추출물이 50% w/w 탄소를 함유하는 것으로 가정할 수 있다. 예로서, 실시예 7, VIII 부분에 기재된 500 ℓ에 대해, 탄소의 이소프렌으로의 변환%는 하기 방정식 2에 나타낸 바와 같이 계산될 수 있다.

[0179] 방정식 2

[0180] 탄소 수율% = (39.1 g 이소프렌 * 1/68.1 mol/g * 5 C/mol)/[(181221 g 글루코오스 * 1/180 mol/g * 6 C/mol) + (17780 g 효모 추출물 * 0.5 * 1/12 mol/g)] * 100 = 0.042%

[0181] 본원에 기재된 두 가지 500 ℓ 발효에 대해 (실시예 7, VII 및 VIII 부분), 탄소의 이소프렌으로의 변환 %는 0.04~0.06%였다. 본원에 기재된 바와 같이 14 ℓ 시스템을 사용하여 0.11~0.16 탄소 수율%를 취득하였다.

[0182] 당업자는 이소프렌 생성 속도 및 생성된 이소프렌의 양을 어떠한 다른 단위로도 용이하게 변환할 수 있다. 단위 사이의 상호변환에 대한 예시적 방정식을 하기에 열거한다.

[0183] 이소프렌 생성 속도에 대한 단위 ("총합 및 특이적")

[0184] 방정식 3

[0185] 1 g 이소프렌/L_{브로쓰}/시간 = 14.7 mmol 이소프렌/L_{브로쓰}/시간 (총 체적 속도)

[0186] 방정식 4

[0187] 1 nmol 이소프렌/g_{wcm}/시간 = 1 nmol 이소프렌/L_{브로쓰}/시간/OD₆₀₀ (이러한 변환은 1의 OD₆₀₀ 값을 갖는 1 ℓ의 브로쓰가 1 g의 습식 세포 중량을 갖는다고 가정함)

[0188] 방정식 5

[0189] 1 nmol 이소프렌/g_{wcm}/시간 = 68.1 ng 이소프렌/g_{wcm}/시간 (이소프렌 분자량이 주어짐)

[0190] 방정식 6

[0191] 1 nmol 이소프렌/L_{기체} O₂/시간 = 90 nmol 이소프렌/L_{브로쓰}/시간 (브로쓰 L 당 90 L/시간의 O₂ 유속에서)

- [0192] 방정식 7
- [0193] $1 \text{ ug 이소프렌/배출 기체 중 } L_{\text{기체}} \text{ 이소프렌} = L_{\text{브로쓰}} \text{ 당 } 60 L_{\text{기체}} \text{의 유속에서 } 60 \text{ ug 이소프렌}/L_{\text{브로쓰}}/\text{시간} (1 \text{ vvm})$
- [0194] 역가에 대한 단위 (총합 및 특이적)
- [0195] 방정식 8
- [0196] $1 \text{ nmol 이소프렌/mg 세포 단백질} = 150 \text{ nmol 이소프렌}/L_{\text{브로쓰}}/OD_{600}$ (이러한 변환은 1의 OD_{600} 값을 갖는 1ℓ의 브로쓰가 약 150 mg의 총 세포 단백질을 갖는다고 가정함) (특이적 생산성)
- [0197] 방정식 9
- [0198] $1 \text{ g 이소프렌}/L_{\text{브로쓰}} = 14.7 \text{ mmol 이소프렌}/L_{\text{브로쓰}}$ (총 역가)
- [0199] 필요하다면, 방정식 10을 사용하여 세포의 습식 중량을 포함하는 임의의 단위를 세포의 건식 중량을 포함하는 상응하는 단위로 변환할 수 있다.
- [0200] 방정식 10
- [0201] 세포의 건식 중량 = (세포의 습식 중량)/3.3
- [0202] 본 발명에 의해 포함되는 일부 구현예에서는 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 포함하는 세포가, 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산을 갖지 않는 본질적으로 동일한 조건 하에 성장한 상응하는 세포에서 생성된 이소프렌의 양보다 적어도 또는 약 2배, 3배, 5배, 10배, 25배, 50배, 100배, 150배, 200배, 400배 이상의 이소프렌 양을 생성한다.
- [0203] 본 발명에 의해 포함되는 일부 구현예에서는 이소프렌 신타아제 폴리펩티드를 인코딩하는 이중 핵산, 및 DXS, IDI 및/또는 MVA 경로 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 이상의 이중 핵산을 포함하는 세포가, 이중 핵산을 갖지 않는 본질적으로 동일한 조건 하에 성장한 상응하는 세포에서 생성된 이소프렌의 양보다 적어도 또는 약 2배, 3배, 5배, 10배, 25배, 50배, 100배, 150배, 200배, 400배 이상의 이소프렌의 양을 생성한다.
- [0204] 예시적 이소프렌 정제 방법
- [0205] 일부 구현예에서는, 본원에 기재된 임의의 방법은 이소프렌을 회수하는 것을 추가로 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 조성물 및 방법을 사용하여 생성된 이소프렌은 기체 스트리핑, 분획화, 흡수/탈착, 투과증발, 고체상으로부터의 이소프렌의 열 또는 진공 탈착, 또는 고정 또는 흡수된 이소프렌을 용매를 사용하여 고체상으로부터 추출하는 것과 같은 표준 기술을 사용하여 회수될 수 있다 (예를 들어 미국 특허 제 4,703,007 호 및 제 4,570,029 호 참조; 특히 이소프렌 회수 및 정제 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 일부 구현예에서는, 이소프렌의 회수는 액체 형태의 이소프렌 (예를 들어 용매 중 이소프렌의 용액 또는 이소프렌의 순 용액)의 단리를 포함한다. 기체 스트리핑은 연속 방식으로 발효 배출 기체 흐름으로부터 이소프렌 증기를 제거하는 것을 포함한다. 이러한 제거는 고체상으로부터의 흡수, 액체상으로부터의 분할, 또는 직접 축합을 비제한적으로 포함하는 여러 상이한 방법으로 달성될 수 있다. 일부 구현예에서는, 회석 이소프렌 증기 흐름의 막 풍부함은 액체 이소프렌의 축합을 야기하는 증기의 이슬점을 초과한다.
- [0206] 이소프렌의 회수는 한 단계 또는 다중 단계를 포함할 수 있다. 일부 구현예에서는, 발효 배출 기체로부터의 이소프렌 증기의 제거 및 이소프렌의 액체상으로부터의 변환은 동시에 수행된다. 예를 들어, 이소프렌은 배출 기체 흐름으로부터 직접적으로 축합되어 액체를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서는, 발효 배출 기체로부터의 이소프렌 증기의 제거 및 이소프렌의 액체상으로부터의 변환은 연속적으로 수행된다. 예를 들어, 이소프렌은 고체상으로부터 흡수된 후 용매로 고체상으로부터 추출될 수 있다.
- [0207] 일부 구현예에서는, 본원에 기재된 임의의 방법은 이소프렌을 정제하는 것을 추가로 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 조성물 및 방법을 사용하여 생성된 이소프렌은 표준 기술을 사용하여 정제될 수 있다. 정제는, 이소프렌이 생성되는 경우 존재하는 하나 이상의 성분으로부터 이소프렌이 분리되는 과정을 나타낸다. 일부 구현예에서는, 이소프렌은 실제로 순수한 액체로서 수득된다. 정제 방법의 예에는 (i) 액체 추출용 용제 중의 용액으로부터의 증류 및 (ii) 크로마토그래피가 포함된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "정제된 이소프렌"은 이소프렌이 생성되는 경우 존재하는 하나 이상의 성분으로부터 분리된 이소프렌을 의미한다. 일부 구현예에서 이소프렌은, 이소프렌이 생성되는 경우 존재하는 기타 성분 없이, 약 20 중량%이다. 다양한 구현예에서는, 이소프렌은 적어도 또는 약 25, 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 90, 95 또는 99 중량% 순수한

다. 순도는 적절한 방법, 예를 들어 컬럼 크로마토그래피, HPLC 분석 또는 GC- MS 분석에 의해 검정될 수 있다.

[0208] 일부 구현예에서는, 본원에 기재된 임의의 방법은 이소프렌을 중합하는 것을 추가로 포함한다. 예를 들어, 정제된 이소프렌을 중합하는데 표준 방법을 사용하여 시스-폴라이소프렌을 형성시키거나, 표준 방법을 사용하여 다른 하위 스트림을 형성시킬 수 있다.

[0209] 추가적인 방법 및 조성물이 미국 가출원 제 61/097,186 호 (2008년 9월 15일에 출원), 미국 가출원 제 61/097,189 호 (2008년 9월 15일에 출원), 및 미국 가출원 제 61/097,163 호 (2008년 9월 15일에 출원)에 기재되며, 이들 모두 특히 이소프렌을 생성하기 위한 조성물 및 방법에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0210] 도 1은 대장균에서의 발현을 위해 코돈-최적화된 쿠주 (kudzu) 이소프렌 신타아제 유전자의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:1). atg 시작 코돈은 이탤릭체이고, 정지 코돈은 굵은 글씨이며, 첨가된 PstI 위치는 밑줄 그은 부분이다.

도 2는 pTrcKudzu의 지도이다.

도 3은 pTrcKudzu의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:2). RBS는 밑줄 그은 부분이며, 쿠주 이소프렌 신타아제 시작 코돈은 굵은 대문자체이고 정지 코돈은 굵은 대문자 이탤릭체이다. 벡터 골격은 pTrcHis2B이다.

도 4는 pETNHisKudzu의 지도이다.

도 5는 pETNHisKudzu의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:5).

도 6은 pCL-lac-Kudzu의 지도이다.

도 7은 pCL-lac-Kudzu의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:7).

도 8A는 벡터를 갖지 않는 대장균 BL21 세포에서의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다.

도 8B는 pCL-lac-Kudzu를 갖는 대장균 BL21 세포에서의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다.

도 8C는 pTrcKudzu를 갖는 대장균 BL21 세포에서의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다.

도 8D는 pETN-HisKudzu를 갖는 대장균 BL21 세포에서의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다.

도 9A는 14 ℓ 유가식 (fed-batch) 발효에서 대장균 BL21/pTrcKudzu의 발효 시간에 걸친 OD를 나타내는 그래프이다.

도 9B는 14 ℓ 유가식 발효에서 대장균 BL21/pTrcKudzu의 발효 시간에 걸친 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다.

도 10A는 판토에아 시트레아 (Pantoea citrea)에서의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 대조군 세포는 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제를 갖지 않는다. 회색 다이아몬드는 이소프렌 합성을 나타내고, 흑색 사각형은 OD₆₀₀을 나타낸다.

도 10B는 pCL-lac Kudzu를 발현하는 판토에아 시트레아에서의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 회색 다이아몬드는 이소프렌 합성을 나타내고, 흑색 사각형은 OD₆₀₀을 나타낸다.

도 10C는 pTrcKudzu를 발현하는 판토에아 시트레아에서의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 회색 다이아몬드는 이소프렌 합성을 나타내고, 흑색 사각형은 OD₆₀₀을 나타낸다.

도 11은 재조합 이소프렌 신타아제를 발현하는 바실러스 서브틸리스 (Bacillus subtilis)에서의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. BG3594comK는 플라스미드가 없는 B. 서브틸리스이다 (선천적 이소프렌 생성).

CF443-BG3594comK는 pBSKudzu를 갖는 B. 서브틸리스이다 (재조합 이소프렌 생성). y축의 IS는 이소프렌을 나타낸다.

도 12는 pBS Kudzu #2의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:57).

도 13은 야로위야 (Yarrowia)에서의 발현을 위해 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제의 뉴클레오타이드 서열이

다 (SEQ ID NO:8).

도 14는 야로위야에서의 발현을 위해 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 포함하는 pTrex3g의 지도이다.

도 15는 벡터 pSPZ 1 (MAP29Spb)의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:11).

도 16은 야로위야에서의 발현을 위해 코돈-최적화된 합성 쿠주 (푸에라리아 몬타나 (*Pueraria montana*)) 이소프렌 유전자의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:12).

도 17은 합성 하이브리드 포플러 (포폴루스 알바 (*Populus alba*) x 포폴루스 트레몰라 (*Populus tremula*)) 이소프렌 신타아제 유전자의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:13). ATG 시작 코돈은 굵은 글씨체이고, 정지 코돈은 밑줄 그은 부분이다.

도 18A는 벡터 pYLA 1, pYL1 및 pYL2의 도식적인 개략적 구성을 나타낸다.

도 18B는 벡터 pYLA(POP1)의 도식적인 개략적 구성을 나타낸다.

도 18C는 벡터 pYLA(KZ1)의 도식적인 개략적 구성을 나타낸다.

도 18D는 벡터 pYLI(KZ1)의 도식적인 개략적 구성을 나타낸다.

도 18E는 벡터 pYLI(MAP29)의 도식적인 개략적 구성을 나타낸다.

도 18F는 벡터 pYLA(MAP29)의 도식적인 개략적 구성을 나타낸다.

도 19A는 이소프렌에 대한 MVA 및 DXP 대사작용 경로를 나타낸다 (F. Bouvier 등, *Progress in Lipid Res.* 44:357-429, 2005를 근거로 함). 하기의 설명은 경로에서의 각각의 폴리펩티드의 대안적 명칭, 및 표시된 폴리펩티드의 활성을 측정하기 위한 검정을 개시하는 참고문헌을 포함한다 (이들 각각의 참고문헌은 그 전문이, 특히 MVA 및 DXP 경로에서의 폴리펩티드에 대한 폴리펩티드 활성에 대한 검정에 대해서 본원에 참고로 포함됨).

메발로네이트 경로: AACT; 아세틸-CoA 아세틸트랜스퍼라아제, MvaE, EC 2.3.1.9. 검정: J. Bacteriol, 184: 2116-2122, 2002; HMGS; 하이드록시메틸글루타릴-CoA 신타아제, MvaS, EC 2.3.3.10. 검정: J. Bacteriol, 184: 4065-4070, 2002; HMGR; 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA 환원효소, MvaE, EC 1.1.1.34. 검정: J. Bacteriol, 184: 2116-2122, 2002; MVK; 메발로네이트 키나아제, ERG12, EC 2.7.1.36. 검정: *Curr Genet* 19:9-14, 1991. PMK; 포스포메발로네이트 키나아제, ERG8, EC 2.7.4.2, 검정: *Mol Cell Biol.*, 11:620-631, 1991; DPMD; 디포스포메발로네이트 데카르복실라아제, MVD1, EC 4.1.1.33. 검정: *Biochemistry*, 33:13355-13362, 1994; IDI; 이소펜테닐-디포스페이트 델타-이성화효소, IDI1, EC 5.3.3.2. 검정: *J. Biol. Chem.* 264:19169-19175, 1989. DXP 경로: DXS; 1-테옥시자일루로오스-5-포스페이트 신타아제, dxs, EC 2.2.1.7. 검정: *PNAS*, 94:12857-62, 1997; DXR; 1-테옥시-D-자일루로오스 5-포스페이트 환원이성화효소, dxr, EC 2.2.1.7. 검정: *Eur. J. Biochem.* 269:4446-4457, 2002; MCT; 4-디포스포시타딜-2C-메틸-D-에리트ρί톨 신타아제, IspD, EC 2.7.7.60. 검정: *PNAS*, 97:6451-6456, 2000; CMK; 4-디포스포시타딜-2C-메틸-D-에리트ρί톨 키나아제, IspE, EC 2.7.1.148. 검정: *PNAS*, 97:1062-1067, 2000; MCS; 2C-메틸-D-에리트ρί톨 2,4-시클로디포스페이트 신타아제, IspF, EC 4.6.1.12. 검정: *PNAS*, 96:11758-11763, 1999; HDS; 1-하이드록시-2-메틸-2-(E)-부테닐 4-디포스페이트 신타아제, ispG, EC 1.17.4.3. 검정: *J. Org. Chem.*, 70:9168-9174, 2005; HDR; 1-하이드록시-2-메틸-2-(E)-부테닐 4-디포스페이트 환원효소, IspH, EC 1.17.1.2. 검정: *JACS*, 126:12847-12855, 2004.

도 19B는 고전적, 및 변형된 MVA 경로를 설명한다. 1, 아세틸-CoA 아세틸트랜스퍼라아제 (AACT); 2, HMG-CoA 신타아제 (HMGS); 3, HMG-CoA 환원효소 (HMGR); 4, 메발로네이트 키나아제 (MVK); 5, 포스포메발로네이트 키나아제 (PMK); 6, 디포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (MVD 또는 DPMD); 7, 이소펜테닐 디포스페이트 이성화효소 (IDI); 8, 포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (PMDC); 9, 이소펜테닐 포스페이트 키나아제 (IPK).

고전적 MVA 경로는 반응 1에서부터 반응 5 및 6을 통해 반응 7로 진행되는 반면, 변형된 MVA 경로는 반응 8 및 9를 통해 반응 7로 진행된다. 구조식에서 P 및 PP는 각각 포스페이트 및 피로포스페이트이다. 상기도면은 특히 변형된 MVA 경로의 핵산 및 폴리펩티드에 대해 그 전문이 참고문헌으로 포함된 [Koga 및 Morii, *Microbiology and Mol. Biology Reviews*, 71:97-120, 2007]에서 취해졌다. 변형된 MVA 경로는, 예를 들어 메타노사르키나 마제이와 같은 일부 고세균성 유기체에 존재한다.

도 20은 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자가 없거나 (좌측) 있는 (우측) 재조합 Y. 리포리티카 (*Y. lipolytica*) 균주에 의한 이소프렌의 GC-MS 분석의 결과를 나타내는 그래프를 보여준다. 화살표는 본래 이소프렌 표준의

용리 시간을 나타낸다.

도 21은 pTrcKudzu yIDI DXS Kan의 지도이다.

도 22는 pTrcKudzu yIDI DXS Kan의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:20).

도 23A는 BL21/pTrcKudzukan에서 글루코오스로부터의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 시간 0은 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간이다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 원형은 총 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내며 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 23B는 BL21/pTrcKudzu yIDI kan에서 글루코오스로부터의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다. 시간 0은 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간이다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 원형은 총 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내며 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 23C는 BL21/pTrcKudzu DXS kan에서 글루코오스로부터의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다. 시간 0은 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간이다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 원형은 총 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내며 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 23D는 BL21/pTrcKudzu yIDI DXS kan에서 글루코오스로부터의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다. 시간 0은 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간이다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 원형은 총 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내며 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 23E는 BL21/pCL PtrcKudzu에서 글루코오스로부터의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 시간 0은 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간이다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 원형은 총 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내며 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 23F는 BL21/pCL PtrcKudzu yIDI에서 글루코오스로부터의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 시간 0은 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간이다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 원형은 총 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내며 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 23G는 BL21/pCL PtrcKudzu DXS에서 글루코오스로부터의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 시간 0은 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간이다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 원형은 총 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내며 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 23H는 BL21/pTrcKudzuIDIXSkan에서 글루코오스로부터의 이소프렌의 생성을 나타내는 그래프이다. 화살표는 IPTG (400 μ mol)로의 유도 시간을 나타낸다. x축은 유도 후 시간이고; y축은 OD₆₀₀이고 y2축은 이소프렌의 총 생산성 (μ g/상부공간 L) 또는 특이적 생산성 (μ g/상부공간 L/OD)이다. 흑색 다이아몬드형은 OD₆₀₀을 나타내고, 흑색 삼각형은 이소프렌 생산성 (μ g/L)을 나타내고, 백색 사각형은 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다 (μ g/L/OD).

도 24는 pTrcKKDyIkIS kan의 지도이다.

도 25는 pTrcKKDyIkIS kan의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:33).

도 26은 pCL PtrcUpperPathway의 지도이다.

도 27은 pCL PtrcUpperPathway의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:46).

도 28은 nprE 유전자 자리에 B. 서브틸리스 염색체 내 융합을 위한 효모 idi 및 하위 MVA 경로를 함유하는 카세트의 지도를 나타낸다. nprE 상류/하류는 융합을 위한 nprE 유전자 자리로부터의 각각의 서열 1kb를 나타낸다. aprE 프로모터 (알칼리 세린 프로테아제 프로모터)는 aprE 유전자의 프로모터 (-35, -10, +1 전사 시작 위치, RBS)를 나타낸다. MVK1은 효모 메발로네이트 키나아제 유전자를 나타낸다. RBS-PMK는 시작 위치의 바실러스 RBS 상류를 갖는 효모 포스포메발로네이트 키나아제 유전자를 나타낸다. RBS-MPD는 시작 위치의 바실러스 RBS 상류를 갖는 효모 디포스포메발로네이트 데카르복실라아제 유전자를 나타낸다. RBS-IDI는 시작 위치의 바실러스 RBS 상류를 갖는 효모 idi 유전자를 나타낸다. 터미네이터는 B. 아밀로리쿠에파시엔스 (B. amyloliquefaciens)로부터의 알칼리 세린 프로테아제 전사 터미네이터를 나타낸다. SpecR은 스펙티노마이신 내성 마커를 나타낸다. "증폭을 위한 nprE 상류 반복 부분"은 증폭에 사용되는 상류 부위의 직렬 반복을 나타낸다.

도 29는 nprE 유전자 자리에 B. 서브틸리스 염색체 내 융합을 위한 효모 idi 및 하위 MVA 경로를 함유하는 카세트의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:47).

도 30은 p9796-poplar의 지도이다.

도 31은 p9796-poplar의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:48).

도 32는 pTrcPoplar의 지도이다.

도 33은 pTrcPoplar의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:49).

도 34는 pTrcKudzu yIDI Kan의 지도이다.

도 35는 pTrcKudzu yIDI Kan의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:50).

도 36은 pTrcKudzuDXS Kan의 지도이다.

도 37은 pTrcKudzuDXS Kan의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:51).

도 38은 pCL PtrcKudzu의 지도이다.

도 39는 pCL PtrcKudzu의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:52).

도 40은 pCL PtrcKudzu A3의 지도이다.

도 41은 pCL PtrcKudzu A3의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:53).

도 42는 pCL PtrcKudzu yIDI의 지도이다.

도 43은 pCL PtrcKudzu yIDI의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:54).

도 44는 pCL PtrcKudzu DXS의 지도이다.

도 45는 pCL PtrcKudzu DXS의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:55).

도 46은 바이오매스 공급원료로부터의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프를 보여준다. 패널 A는 옥수수대로부터의 이소프렌 생성을 나타내고, 패널 B는 바가스로부터의 이소프렌 생성을 나타내고, 패널 C는 침엽수 (softwood) 펄프로부터의 이소프렌 생성을 나타내고, 패널 D는 글루코오스로부터의 이소프렌 생성을 나타내며, 패널 E는 추가적인 공급원료를 갖지 않는 세포로부터의 이소프렌 생성을 나타낸다. 회색 사각형은 표시된 접종 후 시간에서의 배양물의 OD₆₀₀ 측정을 나타내고, 흑색 삼각형은 표시된 접종 후 시간에서의 이소프렌 생성을 나타낸다.

도 47A는 글루코오스가 첨가되지 않은 배양물에서 BL21 (λDE3) pTrcKudzu yIDI DXS (kan)에 의한 이소프렌 생성을 나타내는 그래프를 보여준다. 사각형은 OD₆₀₀을 나타내고, 삼각형은 생성된 이소프렌을 나타낸다 (μg/ml).

도 47B는 BL21 (λDE3) pTrcKudzu yIDI DXS (kan)에 의한 1% 글루코오스 공급원료 반전당으로부터의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프를 보여준다. 사각형은 OD₆₀₀을 나타내고, 삼각형은 생성된 이소프렌을 나타낸다 (μg/ml).

도 47C는 BL21 (λDE3) pTrcKudzu yIDI DXS (kan)에 의한 1% 반전당 공급원료로부터의 이소프렌 생성을 나타내

는 그래프를 보여준다. 사각형은 OD₆₀₀을 나타내고, 삼각형은 생성된 이소프렌을 나타낸다 ($\mu\text{g}/\text{ml}$).

도 47D는 BL21 (λ DE3) pTrcKudzu yIDI DXS (kan)에 의한 1% AFEX 옥수수대 공급원료로부터의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프를 보여준다. 사각형은 OD₆₀₀을 나타내고, 삼각형은 생성된 이소프렌을 나타낸다 ($\mu\text{g}/\text{ml}$).

도 48은 이소프렌 생성에 대한 효모 추출물의 효과를 입증하는 그래프를 보여준다. 패널 A는 가변적 양의 효모 추출물이 공급된 발효기 내의 광학 밀도의 시간 추이를 나타낸다. 패널 B는 가변적 양의 효모 추출물이 공급된 발효기 내의 이소프렌 역가의 시간 추이를 나타낸다. 역가는 발효 브로쓰의 ℓ 당 생성된 이소프렌의 양으로서 정의된다. 패널 C는 유가식 배양물에서 성장시킨 대장균에서 이소프렌 생성에 대한 효모 추출물의 효과를 나타낸다.

도 49는 pTrcKudzu 및 yIDI 및 DXS 플라스미드를 함유하는 대장균 세포로 500 ℓ 생물반응기에서 이소프렌을 생성하는 것을 입증하는 그래프를 나타낸다. 패널 A는 글루코오스 및 효모 추출물이 공급된 500 ℓ 생물반응기 내의 광학 밀도의 시간 추이를 나타낸다. 패널 B는 글루코오스 및 효모 추출물이 공급된 500 ℓ 생물반응기 내의 이소프렌 역가의 시간 추이를 나타낸다. 역가는 발효 브로쓰의 ℓ 당 생성된 이소프렌의 양으로서 정의된다. 패널 C는 글루코오스 및 효모 추출물이 공급된 500 ℓ 생물반응기로부터 생성된 총 이소프렌의 시간 추이를 나타낸다.

도 50은 pJMupperpathway2의 지도이다.

도 51은 pJMupperpathway2의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:56).

도 52는 pBS Kudzu #2의 지도이다.

도 53A는 14 ℓ 유가식 발효에서 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하는 바실러스의 발효 시간 동안의 성장을 나타내는 그래프이다. 흑색 다이아몬드형은 재조합 이소프렌 신타아제를 갖지 않는 대조군 균주 (BG3594comK) (선천적 이소프렌 생성)를 나타내고, 회색 삼각형은 pBSKudzu를 갖는 바실러스 (재조합 이소프렌 생성)를 나타낸다.

도 53B는 14 ℓ 유가식 발효에서 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하는 바실러스의 발효 시간 동안의 이소프렌 생성을 나타내는 그래프이다. 흑색 다이아몬드형은 재조합 이소프렌 신타아제를 갖지 않는 대조군 균주 (BG3594comK) (선천적 이소프렌 생성)를 나타내고, 회색 삼각형은 pBSKudzu를 갖는 바실러스 (재조합 이소프렌 생성)를 나타낸다.

도 54는 플라스미드 pET24 P.alba HGS의 지도이다.

도 55A 및 55B는 플라스미드 pET24 P.alba HGS의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:87).

도 56은 플라스미드 EWL230을 구성하기 위한 엔도뉴클레아제 소화에 사용된 제한 위치, 및 BspHI과 NcoI 위치 사이의 부착 말단을 나타내는 도식적 그림이다.

도 57은 플라스미드 EWL230의 지도이다.

도 58A 및 58B는 플라스미드 EWL230의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:88).

도 59는 플라스미드 EWL244를 구성하기 위한 엔도뉴클레아제 소화에 사용된 제한 위치, 및 NsiI과 PstI 위치 사이의 부착 말단을 나타내는 도식적 그림이다.

도 60은 EWL244의 지도이다.

도 61A 및 61B는 플라스미드 EWL244의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:89).

도 62는 플라스미드 MCM484-487의 지도이다.

도 63A-63C는 플라스미드 MCM484의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:90).

도 64A-64C는 플라스미드 MCM485의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:91).

도 65A-65C는 플라스미드 MCM486의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:92).

도 66A-66C는 플라스미드 MCM487의 뉴클레오티드 서열이다 (SEQ ID NO:93).

도 67A-67D는 MVA 경로로부터의 유전자를 발현하고, 효모 추출물 공급 없이 15 ℓ 규모의 유가식 배양에서 성장

하는 대장균 균주 (EWL256)에 의한 이소프렌 생성의 그래프이다. 도 67A는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물 반응기 내의 광학 밀도의 시간 추이를 나타낸다. 도 67B는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 이소프렌 역가의 시간 추이를 나타낸다. 역가는 발효 브로쓰의 ℓ 당 생성된 이소프렌의 양으로서 정의된다.

도 67C는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기로부터 생성된 총 이소프렌의 시간 추이를 나타낸다. 도 67D는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 총 이산화탄소 발생 속도 (TCER), 또는 대사작용 활성 프로필을 나타낸다.

도 68A~68E는 MVA 경로로부터의 유전자를 발현하며, 효모 추출물이 공급된 15 ℓ 규모의 유가식 배양에서 성장한 대장균 균주 (EWL256)에 의한 이소프렌 생성의 그래프이다. 도 68A는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 광학 밀도의 시간 추이를 나타낸다. 도 68B는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 이소프렌 역가의 시간 추이를 나타낸다. 역가는 발효 브로쓰의 ℓ 당 생성된 이소프렌의 양으로서 정의된다. 도 68C는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기로부터 생성된 총 이소프렌의 시간 추이를 나타낸다. 도 68D는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 체적 생산성을 나타낸다. 1.1 g/L/시간의 평균값은 효모 추출물 공급과 함께 40시간의 기간 (23~63시간) 동안 유지되었다. 도 68E는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 이산화탄소 발생 속도 (CER), 또는 대사작용 활성 프로필을 나타낸다.

도 69A~69D는 MVA (경로)를 통한 상이한 탄소원으로부터의 이소프렌의 생성을 나타낸다. 도 69A는 유일한 탄소원으로서 글루코오스, 바이오매스 가수분해물, 글리세롤 또는 아세테이트에서, MVA 경로 및 이소프렌 신타아제를 모두 함유하는 대장균 EWL256의 성장을 나타낸다. 상이한 탄소원을 배지 중 1%의 농도로 첨가하였다. 탄소원이 첨가되지 않은 음성 대조군을 포함시켰다. 600 nM에서 광학 밀도로서 성장을 측정하였다. 도 69B는 유일한 탄소원으로서 글루코오스, 바이오매스 가수분해물, 글리세롤 또는 아세테이트에서 성장하는 경우, MVA 경로 및 이소프렌 신타아제를 모두 함유하는 대장균 EWL256으로부터의 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다. 상이한 탄소원을 배지 중 1%의 농도로 첨가하였다. 탄소원이 첨가되지 않은 음성 대조군을 포함시켰다. 접종 190분 후, 255분 후 및 317분 후 샘플을 취하고, GC-MS를 사용하여 세균에 의해 생성된 이소프렌을 측정하였다. 도 69C는 유일한 탄소원으로서 글루코오스 또는 자일로오스에서 대장균 EWL256의 성장을 나타낸다. 상이한 탄소원을 배지 중 1%의 농도로 첨가하였다. 탄소원이 첨가되지 않은 음성 대조군을 포함시켰다. 600 nM에서 광학 밀도로서 성장을 측정하였다. 도 69D는 유일한 탄소원으로서 글루코오스 또는 자일로오스에서 성장하는 경우 대장균 EWL256으로부터의 이소프렌의 특이적 생산성을 나타낸다. 탄소원을 배지 중 1%의 농도로 첨가하였다. 탄소원이 첨가되지 않은 음성 대조군을 포함시켰다. 접종 260분 후, 322분 후 및 383분 후 샘플을 취하고, GC-MS를 사용하여 세균에 의해 생성된 이소프렌을 측정하였다.

도 70A 및 70B는 각각 글루코오스 및 지방산으로부터 대장균에 의한 이소프렌의 생성을 나타낸다. 도 70A에 대하여, WW4를 pMCM118 (하위 메발론산 통로를 포함하는 플라스미드)로 형질전환한 것으로부터의 11개 콜로니를 골라 하위 통로의 존재를 확인하였다. 콜로니로부터의 세포를 0.1% 효모 추출물 및 2% 글루코오스를 함유하는 TM3 배지에서 배양하였다. 유도된 배양물의 분취액을, 유도 4시간 후 이소프렌 생성에 대해 검정하였다.

모든 콜로니가 이소프렌의 생성을 나타내었다. 50에서 900 μ M 농도의 유도제에 대해 3에서 4.6배 감소된 세포 밀도에서 명백한 바와 같이, 유도제 IPTG는 강력한 성장 억제 효과를 가졌다 (데이터는 나타내지 않음).

그래프는 더 높은 유도로 이소프렌의 더 높은 특이적 역가가 수득된다는 것을 나타낸다. 도 70B에 대하여, 생성 배양물은 세척된 하룻밤 배양물로부터 1 내지 10배 희석물로 접종되었다. 배양물은 수 시간 동안 성장하였고, 50 μ M IPTG로 유도되었다. 좌측 막대는 유도 4시간 후, 뒤이어 1시간 이소프렌 축적 검정의 이소프렌 검정 결과를 나타낸다. 가운데 막대는 동일한 유도 기간을 가지지만 12시간 이소프렌 축적 검정에 의해 분석된, 동일한 배양물에 대한 1시간 정상화된 값을 나타낸다. 좌측 막대는 13시간 동안 유도된 배양물의 1시간 이소프렌 축적 검정에 대한 값을 나타낸다.

도 71은 Kudzu. Tsr, 티오스트랩톤 내성 유전자로부터 이소프렌 신타아제를 클로닝하는데 사용되는 대장균-스트렙토마이세스 셔틀 벡터 pUWL201PW (6400 bp)의 지도이다. 그림은 [Douthett 등, Mol. Gen. Genet. 264: 477-485, 2000]에서 가져온 것이다.

도 72는 스트렙토마이세스 알부스 (*Streptomyces albus*) 야생형 균주 ("wt"), 및 플라스미드 pUWL201PW (음성 대조군) 또는 pUWL201_iso (Kudzu로부터 이소프렌 신타아제를 인코딩함)를 갖는 균주에 의한 이소프렌 형성을 나타낸다.

도 73A는 M. 마제이 (*M. mazei*) 고세균성 하위 경로 오페론의 지도이다.

도 73B 및 73C는 M. 마제이 고세균성 하위 경로 오페론의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:113).

도 74A는 M. 마제이 고세균성 Lowerin pET200D로부터의 MCM376 - MVK의 지도이다.

도 74B 및 74C는 M. 마제이 고세균성 Lowerin pET200D로부터의 MCM376 - MVK의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:114).

도 75A~75D는 RM11608-2와 비교하여 EWL256에 대한 이소프렌 생성의 특이적 생산성 및 성장을 나타낸다. 성장 (OD550)은 백색 다이아몬드형으로 나타내고; 이소프렌의 특이적 생산성은 고체 막대로 나타낸다. x축은 200 (도 75A 및 75B) 또는 400 (도 75C 및 75D) μ M IPTG로의 유도 후 시간 (hr)이다. Y-1축은 이소프렌의 생산성 (μ g/L/OD/시간)이고 Y-2축은 550의 파장에서 광학 밀도의 임의 단위 (arbitrary unit)이다. OD550에 대한 이들 값에 6.66을 곱하여 배양물의 실제 OD를 수득하였다.

도 76은 플라스미드 pBBRCMPGI1.5-pgl의 지도이다.

도 77A 및 77B는 플라스미드 pBBRCMPGI1.5-pgl의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:122).

도 78A~78F는 M. 마제이 메발로네이트 키나아제, P. 알바 이소프렌 신타아제 및 pgl (RHM11608-2)을 발현하며, 15 ℓ 규모의 유가식 배양에서 성장하는 대장균 균주에 의한 이소프렌 생성의 그래프이다. 도 78A는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 광학 밀도의 시간 추이를 나타낸다. 도 78B는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 이소프렌 역가의 시간 추이를 나타낸다. 역가는 발효 브로쓰의 ℓ 당 생성된 이소프렌의 양으로서 정의된다. 이소프렌을 계산하기 위한 방법: 59시간에서 생성된 축적 이소프렌, 59시간에서의 발효기 부피 당 g, L [=] g/브로쓰 L. 도 78C는 또한 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 이소프렌 역가의 시간 추이를 나타낸다. 이소프렌을 계산하기 위한 방법: $\int$ (순간 이소프렌 생성 속도, g/L/시간)dt, t = 0 내지 59시간 [=] g/브로쓰 L. 도 78D는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기로부터 생성된 총 이소프렌의 시간 추이를 나타낸다. 도 78E는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 체적 생산성을 나타낸다. 도 78F는 글루코오스가 공급된 15 ℓ 생물반응기 내의 이산화탄소 발생 속도 (CER) 또는 대사작용 활성 프로필을 나타낸다.

도 79A는 플라스미드 pJ201:19813의 지도이다.

도 79B 및 79C는 pJ201:19813의 뉴클레오타이드 서열이다 (SEQ ID NO:123).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0211]

본 발명의 단지 예시로서 의도되며, 따라서 어떠한 방식으로든 본 발명을 제한하는 것으로 고려되어서는 안 되는 실시예가 또한 기재되며, 상기 토의된 본 발명의 측면 및 구현예가 상술된다. 다르게 나타내지 않는 한, 온도는 섭씨 온도이며 압력은 대기압 또는 대기압에 가깝다. 전술한 예 및 상세한 설명은 실례로서 제공되며, 제한하는 것으로서 제공되지 않는다. 본 명세서에 인용된 모든 발행물, 특허 출원 및 특허는 각각의 개별적 발행물, 특허 출원 또는 특허가 참고문헌으로 포함되는 것으로 구체적이고 개별적으로 나타내어지는 것처럼 참고문헌으로 본원에 포함된다. 특히, 본원에 인용된 모든 발행물은 발명과 관련하여 사용될 수 있는 조성물 및 방법론을 기재하고 개시하기 위해 본원에 명백히 포함된다. 전술한 발명이 명쾌한 이해를 위한 실례 및 예시로서 일부 상세히 기재되지만, 본 발명의 교시의 관점에 있어서 첨부된 청구항의 취지 및 범주에서 벗어나지 않고 특정 변화 및 변경이 발명에 대해 만들어질 수 있다는 것이 당업자에게 용이하게 명백할 것이다.

[0212]

실시예 1: 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하는 대장균에서의 이소프렌의 생성

[0213]

I. 대장균에서 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하기 위한 벡터의 구성

[0214]

쿠주 (푸에라리아 몬타나) 이소프렌 신타아제 유전자 (IspS)에 대한 단백질 서열을 GenBank (AAQ84170)에서 수득하였다. 대장균 코돈 사용을 위해 최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 DNA2.0에서 구매하였다 (SEQ ID NO:1). BspLU11I/PstI으로 제한 엔도뉴클레아제 소화시켜 이소프렌 신타아제 유전자를 공급 플라스미드로부터 제거하고, 겔-정제하고, NcoI/PstI으로 소화된 pTrcHis2B (Invitrogen)에 라이게이션하였다. 이소프렌 신타아제 유전자 내의 정지 코돈이 PstI 위치에 대해 5'가 되도록 구성물을 설계하였다. 결과로서, 구성물이 발현되는 경우 His-표지가 이소프렌 신타아제 단백질에 결합하지 않는다. 생성된 플라스미드, pTrcKudzu를 서열분석으로 확인하였다 (도 2 및 3).

- [0215] 이소프렌 신타아제 유전자를 pET16b (Novagen)에 클로닝하였다. 이러한 경우, 재조합 이소프렌 신타아제 단백질이 N-말단 His 표지를 함유하도록 이소프렌 신타아제 유전자를 pET16b에 삽입하였다. 프라이머 세트 pET-His-Kudzu-2F: 5'-CGTGAGATCATATGTGTGCGACCTCTTCTCAATTAC (SEQ ID NO:3) 및 pET-His-Kudzu-R: 5'-CGGTCGACGGATCCCTGCAGTTAGACATACATCAGCTG (SEQ ID NO:4)를 사용하여 PCR로 pTrcKudzu로부터 이소프렌 신타아제 유전자를 증폭하였다. 이들 프라이머는 각각 유전자의 5'-말단에서 NdeI 위치, 및 3'-말단에서 BamHI 위치를 첨가한다. 상기 기재된 플라스미드 pTrcKudzu를 주형 DNA로서 사용하고, Herculanase 중합효소 (Stratagene)를 제조사의 지시에 따라 사용하고, 프라이머를 10 pMol의 농도로 첨가하였다. PCR를 25 μ l의 총 부피로 실행하였다. PCR 생성물을 NdeI/BamHI으로 소화시키고, 동일한 효소로 소화된 pET16b에 클로닝하였다. 라이게이션 믹스를 대장균 Top 10 (Invitrogen)에 형질전환하고 서열분석으로 올바른 클론을 선별하였다. 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자가 T7 프로모터로부터 발현된 생성된 플라스미드를 pETNHiskudzu로 지정하였다 (도 4 및 5).
- [0216] 또한 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 낮은 카피 수 플라스미드 pCL1920에 클로닝하였다. 프라이머를 사용하여 상기 기재된 pTrcKudzu로부터 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 증폭하였다. 정방향 프라이머는 HindIII 위치 및 대장균 공통 (consensus) RBS를 5' 말단에 첨가하였다. PstI 클로닝 위치는 이미 pTrcKudzu 정지 코돈의 바로 3'에 존재하며, 따라서 역방향 프라이머를 최종 PCR 생성물이 PstI 위치를 포함하도록 구성하였다. 프라이머의 서열은 하기와 같다: HindIII-rbs-Kudzu F: 5'-CATATGAAAGCTTGTATCGATTAAATAAGGAGGAATAAACC (SEQ ID NO:6) 및 BamHI-Kudzu R: 5'-CGGTCGACGGATCCCTGCAGTTAGACATACATCAGCTG (SEQ ID NO:4). 10 pmol 농도의 프라이머 및 1 ng의 주형 DNA (pTrcKudzu)와 함께 Herculanase 중합효소를 사용하여 PCR 생성물을 증폭하였다. 증폭 프로토콜에는 [95°C에서 1분, 60°C에서 1분, 72°C에서 2분]의 30 사이클이 포함되었다. 생성물을 HindIII 및 PstI으로 소화시키고, HindIII 및 PstI으로 또한 소화된 pCL1920에 라이게이션시켰다. 라이게이션 믹스를 대장균 Top 10에 형질전환하였다. 여러 형질전환체를 서열분석으로 확인하였다. 생성된 플라스미드를 pCL-lac-Kudzu로 지정하였다 (도 6 및 7).
- [0217] II. 이소프렌 생성의 측정
- [0218] 진탕 플라스크 배양물에 대해, 1 ml의 배양물을 진탕 플라스크로부터 20 ml CTC 상부공간 바이알 (Agilent 바이알 카탈로그 번호 5188 2753; 마개 카탈로그 번호 5188 2759)로 옮겼다. 마개를 단단히 조이고, 바이알을 250 rpm에서 진탕하면서 동등한 온도에서 인큐베이션하였다. 30분 후 바이알을 인큐베이터에서 제거하고 하기 기재한 바와 같이 분석하였다 (이러한 검정으로부터의 일부 실험적 값에 대하여 표 1 참조).
- [0219] 발효기 내의 이소프렌 생성이 측정된 경우, 발효기의 배출 기체로부터 샘플을 취하고 하기 기재된 바와 같이 직접적으로 분석하였다 (이러한 검정으로부터의 일부 실험적 값에 대하여 표 2 참조).
- [0220] 상부공간 방식으로 작동하는 CTC Analytics (Switzerland) CombiPAL 오토샘플러가 연결된 Agilent 6890 GC/MS 시스템을 사용하여 분석을 수행하였다. Agilent HP-5MS GC/MS 컬럼 (30 m x 0.25 mm; 0.25 μ m 필름 두께)을 분석물을 분리하는데 사용하였다. 샘플러를 500 μ l의 상부공간 기체가 주입되도록 설정하였다. GC/MS 방법은 1 ml/분의 흐름으로 담체로서 헬륨을 이용하였다. 주입 포트를 50:1의 살포 비율로 250°C에서 고정하였다. 분석하는 동안 오븐 온도를 37°C에서 2분 동안 고정하였다. Agilent 5793N 질량 선택 검출기를 m/z 67 상 단일 이온 모니터링 (SIM) 방식으로 실행시켰다. 검출기를 1.4 내지 1.7분에서 스위치를 꺼서 영구 기체가 용리되게 하였다. 이들 조건 하에 이소프렌 (2-메틸-1,3-부타디엔)이 관찰되어 1.78분에서 용리하였다. 고정 표를 사용하여 이소프렌의 절대량을 정량하였고, 1 μ g/L 내지 200 μ g/L로 선형인 것으로 발견되었다. 검출 한계는 이러한 방법을 사용하여 50 내지 100 ng/L인 것으로 추정되었다.
- [0221] III. 재조합 이소프렌 신타아제를 발현하는 대장균 세포를 함유하는 진탕 플라스크에서의 이소프렌 생성
- [0222] 상기 기재된 벡터를 대장균 균주 BL21 (Novagen)에 도입하여 균주 BL21/ptrcKudzu, BL21/pCL-lac-Kudzu 및 BL21/pETHiskudzu를 생성시켰다. 단리를 위해 상기 균주를 LA (루리아 한천) 및 카르베니실린 (50 μ g/ml) 상에 스프레딩하고 37°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 단일 콜로니를 20 ml 루리아 베르타니 브로쓰 (LB) 및 카르베니실린 (100 μ g/ml)을 함유하는 250 ml 배플드 (baffled) 진탕 플라스크에 접종하였다. 배양물을 200 rpm에서 진탕하면서 20°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 하룻밤 배양물의 OD₆₀₀을 측정하고 배양물을 30 ml MagicMedia (Invitrogen) 및 카르베니실린 (100 μ g/ml)을 함유하는 250 ml 배플드 진탕 플라스크 내로 OD₆₀₀ 약 0.05가 되도록 희석하였다. 배양물을 200 rpm에서 진탕하면서 30°C에서 인큐베이션하였다.

OD₆₀₀ 약 0.5~0.8일 때 400 μ M IPTG를 첨가하고 세포를 추가 6시간 동안 200 rpm에서 진탕하면서 30℃에서 인큐베이션하였다. IPTG로 유도한 0, 2, 4 및 6시간 후, 배양물의 1 ml 분취액을 수집하고, OD₆₀₀을 측정하고 생성된 이소프렌의 양을 상기 기재된 바와 같이 측정하였다. 결과를 도 8에 나타내었다.

[0223] IV. 14 l 발효에서 BL21/ptrcKudzu로부터 이소프렌의 생성

[0224] 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 함유하는 대장균으로부터의 이소프렌의 대규모 생성이 유가식 배양에서 측정되었다. 발효 배지의 l 당 발효 배지 (TM2)의 제조 방법은 하기와 같다: K₂HPO₄ 13.6 g, KH₂PO₄ 13.6 g, MgSO₄ * 7H₂O 2 g, 시트르산 일수화물 2 g, 구연산 철 암모늄 0.3 g, (NH₄)₂SO₄ 3.2 g, 효모 추출물 5 g, 1000X 변형 미량 금속 용액 1 ml. 모든 성분을 diH₂O에 함께 첨가하고 용해하였다. 수산화칼륨 (KOH)으로 pH를 6.8로 조정하고 부피에 대해 충분량이 되게 하였다. 최종 생성물을 0.22 μ 필터 (단독, 오토클레이브하지 않은)로 여과 멸균하였다. 1000X 변형 미량 금속 용액에 대한 제조 방법은 하기와 같다: 시트르산 * H₂O 40 g, MnSO₄ * H₂O 30 g, NaCl 10 g, FeSO₄ * 7H₂O 1 g, CoCl₂ * 6H₂O 1 g, ZnSO * 7H₂O 1 g, CuSO₄ * 5H₂O 100 mg, H₃BO₃ 100 mg, NaMoO₄ * 2H₂O 100 mg. 각각의 성분을 diH₂O에 한번에 하나씩 용해하고, HCl/NaOH로 pH를 3.0이 되게 하고, 부피에 대해 충분량이 되게 하고 0.22 μ 필터로 여과 멸균하였다.

[0225] 이러한 실험을 14 l 생물반응기에서 실행하여 원하는 발효, pH 6.7 및 온도 34℃에서 글루코오스로부터 이소프렌이 형성되는 것을 모니터링하였다. 동결 바이알에서 취한 대장균 균주 BL21/ptrcKudzu의 접종물을 소이톤-효모 추출물-글루코오스 배지에서 제조하였다. 접종물이 OD₅₅₀ = 0.6으로 성장한 후, 두 개의 600 ml 플라스크를 원심분리하고, 세포 펠렛을 생물반응기에 옮기기 위해 내용물을 70 ml 상청액에 재현탁하였다 (70 ml의 OD 3.1 물질). 접종 후 다양한 시간 지점에서, 샘플을 제거하고 생성된 이소프렌의 양을 상기 기재된 바와 같이 측정하였다. 결과를 도 9에 나타내었다.

[0226] 실시예 2: 재조합 포플러 이소프렌 신타아제를 발현하는 대장균에서의 이소프렌의 생성

[0227] 포플러 (포플루스 알바 x 포플루스 트레몰라) 이소프렌 신타아제에 대한 단백질 서열 (Schnitzler, J-P, 등. (2005) Planta 222:777-786)을 GenBank (CAC35696)에서 획득하였다. 대장균에 대해 코돈 최적화된 유전자를 DNA2.0에서 구매하였다 (p9796-poplar, 도 30 및 31). BspLU11I/PstI으로 제한 엔도뉴클레아제 소화시켜 이소프렌 신타아제 유전자를 공급 플라스미드로부터 제거하고, 겔-정제하고, NcoI/PstI으로 소화된 pTrcHis2B에 라이게이션하였다. 이소프렌 신타아제 유전자를 공급 플라스미드로부터 제거하였다. 삽입물 내의 정지 코돈이 PstI 위치 전에 있도록 구성물을 클로닝하여, His-표지가 이소프렌 신타아제 단백질에 결합하지 않게 하였다. 생성된 플라스미드 pTrcPoplar (도 32 및 33)를 서열분석으로 확인하였다.

[0228] 실시예 3: 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하는 판토에아 시트레아에서의 이소프렌의 생성

[0229] 실시예 1에서 기재된 pTrcKudzu 및 pCL-lac Kudzu 플라스미드를 P. 시트레아 내로 전기전환하였다 (미국 특허 제 7,241,587 호). 각각 카르베니실린 (200 μ g/ml) 또는 스펙티노마이신 (50 μ g/ml)을 함유하는 LA에서 형질전환체를 선별하였다. 진탕 플라스크로부터의 이소프렌의 생성 및 생성된 이소프렌 양의 측정을 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하는 대장균 균주에 대해 실시예 1에서 기재된 바와 같이 수행하였다. 결과를 도 10에 나타내었다.

[0230] 실시예 4: 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하는 바실러스 서브틸리스에서의 이소프렌의 생성

[0231] I. 쿠주 이소프렌 신타아제의 발현을 위한 B. 서브틸리스 복제 플라스미드의 구성

[0232] aprE 프로모터의 조절 하에 복제 플라스미드 (클로람페니콜 내성 카세트를 갖는 pBS19)를 사용하여 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 바실러스 서브틸리스 aprEnrE Pxyl-comK 균주 (BG3594comK)에서 발현시켰다. 이소프렌 신타아제 유전자, aprE 프로모터 및 전사 터미네이터를 PCR을 사용하여 개별적으로 증폭하고 융합하였다. 구성물을 이후 pBS19에 클로닝하고 B. 서브틸리스에 형질전환시켰다.

[0233] a) aprE 프로모터의 증폭

[0234] 하기의 프라이머를 사용하여 바실러스 서브틸리스의 염색체 DNA에서 aprE 프로모터를 증폭하였다:

[0235] CF 797 (+) 시작 aprE 프로모터 MfeI

- [0236] 5'-GACATCAATTGCTCCATTTTCTTCTGCTATC (SEQ ID NO:58)
- [0237] CF 07-43 (-) Kudzu ispS에 대한 aprE 프로모터 융합
- [0238] 5'-ATTGAGAAGAGGTCGCACACTCTTTACCCTCTCCTTTTA (SEQ ID NO:59)
- [0239] b) 이소프렌 신타아제 유전자의 증폭
- [0240] 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 플라스미드 pTrcKudzu로부터 증폭하였다 (SEQ ID NO:2). 유전자를 대장균에 대해 코돈 최적화하고 DNA 2.0으로 합성하였다. 하기 프라이머를 사용하였다:
- [0241] CF 07-42 (+) 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자에 대한 aprE 프로모터 융합 (GTG 시작 코돈)
- [0242] 5'-TAAAAGGAGAGGGTAAAGAGTGTGTGCGACCTTTCTCAAT (SEQ ID NO:60)
- [0243] CF 07-45 (-) 터미네이터에 대한 쿠주 이소프렌 신타아제의 3' 말단 융합
- [0244] 5'-CCAAGGCCGGTTTTTTTAGACATACATCAGCTGGTTAATC (SEQ ID NO:61)
- [0245] c) 전사 터미네이터의 증폭
- [0246] 하기의 프라이머를 사용하여, 바실러스 아밀로리쿠에파시엔스의 알칼리 세린 프로테아제로부터의 터미네이터를 이전에 서열분석된 플라스미드 pJHPms382로부터 증폭하였다:
- [0247] CF 07-44 (+) 터미네이터에 대한 쿠주 이소프렌 신타아제의 3' 말단 융합
- [0248] 5'-GATTAACCAGCTGATGTATGTCTAAAAAACCAGCCTTGG (SEQ ID NO:62)
- [0249] CF 07-46 (-) B. 아밀로리쿠에파시엔스 터미네이터의 말단 (BamHI)
- [0250] 5'-GACATGACGGATCCGATTACGAATGCCGTCTC (SEQ ID NO:63)
- [0251] 하기의 프라이머로 PCR을 사용하여 쿠주 절편을 터미네이터 절편에 융합하였다:
- [0252] CF 07-42 (+) 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자에 대한 aprE 프로모터 융합 (GTG 시작 코돈)
- [0253] 5'-TAAAAGGAGAGGGTAAAGAGTGTGTGCGACCTTTCTCAAT (SEQ ID NO:61)
- [0254] CF 07-46 (-) B. 아밀로리쿠에파시엔스 터미네이터의 말단 (BamHI)
- [0255] 5'-GACATGACGGATCCGATTACGAATGCCGTCTC (SEQ ID NO:63)
- [0256] 하기의 프라이머로 PCR을 사용하여 쿠주-터미네이터 절편을 프로모터 절편에 융합하였다:
- [0257] CF 797 (+) 시작 aprE 프로모터 MfeI
- [0258] 5'-GACATCAATTGCTCCATTTTCTTCTGCTATC (SEQ ID NO:64)
- [0259] CF 07-46 (-) B. 아밀로리쿠에파시엔스 터미네이터의 말단 (BamHI)
- [0260] 5'-GACATGACGGATCCGATTACGAATGCCGTCTC (SEQ ID NO:63)
- [0261] Qiagen 키트를 사용하여 융합 PCR 절편을 정제하고 제한 효소 MfeI 및 BamHI으로 소화시켰다. 이러한 소화된 DNA 절편을 Qiagen 키트를 사용하여 겔 정제하고, EcoRI 및 BamHI으로 소화된 pBS19으로 알려진 벡터에 라이게이션하고 겔 정제하였다.
- [0262] 라이게이션 믹스를 대장균 Top 10 세포에 형질전환시키고, LA 및 50 카르베니실린 플레이트 상에서 콜로니를 선별하였다. 총 6개 콜로니를 선택하고 LB 및 50 카르베니실린에서 하룻밤 동안 성장시킨 후, Qiagen 키트를 사용하여 플라스미드를 단리하였다. 플라스미드를 EcoRI 및 BamHI으로 소화시켜 삽입물에 대해 확인하고, 하기의 프라이머로의 서열분석을 위해 3개의 올바른 플라스미드를 발송하였다:
- [0263] CF 149 (+) aprE 프로모터의 EcoRI 출발
- [0264] 5'-GACATGAATTCCTCCATTTTCTTCTGC (SEQ ID NO:65)
- [0265] CF 847 (+) pXX 049에서의 서열 (aprE 프로모터의 말단)
- [0266] 5'-AGGAGAGGGTAAAGAGTGAG (SEQ ID NO:66)

- [0267] CF 07-45 (-) 터미네이터에 대한 쿠주 이소프렌 신타아제의 3' 말단 융합
- [0268] 5'-CCAAGGCCGGTTTTTTTAGACATACATCAGCTGGTTAATC (SEQ ID NO:61)
- [0269] CF 07-48 (+) 쿠주 이소프렌 신타아제에 대한 서열분석 프라이머
- [0270] 5'-CTTTTCCATCACCCACCTGAAG (SEQ ID NO:67)
- [0271] CF 07-49 (+) 쿠주 이소프렌 신타아제에서의 서열분석
- [0272] 5'-GGCGAAATGGTCCAACAACAAAATTATC (SEQ ID NO:68)
- [0273] pBS Kudzu #2로 지정된 플라스미드 (도 52 및 12)를 서열분석으로 바로잡고, BG 3594 comK, 바실러스 서브틸리스 숙주 균주에 형질전환시켰다. LA 및 5 클로람페니콜 플레이트 상에서 선별하였다. 형질전환체를 LA 및 5 클로람페니콜 상에서 선택하고 단일 콜로니를 분리한 후, 1.5의 OD₆₀₀이 될 때까지 LB 및 5 클로람페니콜에서 성장시켰다. 글리세롤의 존재 하에 -80℃에서 바이알 내에 동결 보관하였다. 생성된 균주를 CF 443으로 지정하였다.
- [0274] II. 재조합 이소프렌 신타아제를 발현하는 B. 서브틸리스 세포를 함유하는 진탕 플라스크에서의 이소프렌의 생성
- [0275] 하룻밤 배양물에 LA 및 클로람페니콜 (Cm, 25 µg/ml)로부터의 CF 443의 단일 콜로니를 접종하였다. 배양물을 LB 및 Cm에서 200 rpm에서 진탕하면서 37℃에서 성장시켰다. 이들 하룻밤 배양물 (1 ml)을, 25 ml Grants II 배지 및 클로람페니콜을 함유하는 250 ml 배플드 진탕 플라스크에 25 µg/ml의 최종 농도로 접종하는데 사용하였다. Grants II 배지의 제조 방법은 하기와 같고: 10 g 소이톤, 3 ml 1M K₂HPO₄, 75 g 글루코오스, 3.6 g 우레아, 100 ml 10X MOPS, 1 l 가 되게 하는 충분한량의 H₂O, pH 7.2; 10X MOPS 제조 방법은 하기와 같으며: 83.72 g MOPS, 7.17 g 트리신 (tricine), 12 g KOH 펠릿, 10 ml 0.276M K₂SO₄ 용액, 10 ml 0.528M MgCl₂ 용액, 29.22 g NaCl, 100 ml 100X 미량영양소, 1 l 가 되게 하는 충분한량의 H₂O; 100X 미량영양소의 제조 방법은 하기와 같다: 1.47 g CaCl₂*2H₂O, 0.4 g FeSO₄*7H₂O, 0.1 g MnSO₄*H₂O, 0.1 g ZnSO₄*H₂O, 0.05 g CuCl₂*2H₂O, 0.1 g CoCl₂*6H₂O, 0.1 g Na₂MoO₄*2H₂O, 1 l 가 되게 하는 충분한량의 H₂O. 진탕 플라스크를 37℃에서 인큐베이션하고, 샘플을 18, 24 및 44시간에 취하였다. 18시간에서, CF443 및 대조군 균주의 상부공간을 샘플링하였다. 이는 이소프렌의 18시간의 축적을 나타내었다. 이소프렌의 양을 실시예 1에서 기재한 바와 같이 기체 크로마토그래피로 측정하였다. 이소프렌의 생성은 재조합 이소프렌 신타아제를 발현시킴으로써 유의하게 증강되었다 (도 11).
- [0276] III. 14 l 발효에서 CF443에 의한 이소프렌의 생성
- [0277] 복제 플라스미드 상에서 재조합 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 함유하는 B. 서브틸리스로부터의 이소프렌의 대규모 생성이 유가식 배양에서 측정되었다. 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 발현하는 바실러스 균주 CF 443, 또는 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 발현하지 않는 대조군 균주를 대두박 (Cargill), 인산나트륨 및 인산 칼륨, 황화마그네슘 및 시트르산 용액, 염화 제2철 및 염화망간을 함유하는 영양 배지에서의 통상적인 유가식 발효에 의해 배양하였다. 발효 전, 배지를 셀룰라아제, 헤미셀룰라아제 및 펙티나아제를 포함하는 효소의 혼합물을 사용하여 90분 동안 연화시켰다 (W095/04134 참조). 14 l 회분식 발효에 60% wt/wt 글루코오스 (Cargill DE99 텍스트로오스, ADM Versadex greens 또는 Danisco 반전당) 및 99% wt/wt 오일 (Western Family 콩기름, 99% wt/wt는 세포 배양 배지에 첨가되기 전 오일의 농도임)을 공급하였다. 회분 내의 글루코오스가 측정불가할 때 공급을 시작하였다. 공급 속도는 몇 시간에 걸쳐 사면화하였고, 동일한 탄소 기준에서 오일이 첨가되어 조정되었다. 28% w/v 수산화암모늄을 사용하여 pH를 6.8~7.4로 조절하였다. 거품의 경우에는 항거품제를 배지에 첨가하였다. 발효 온도를 37℃에서 조절하고, 발효 배양물을 750 rpm에서 휘저었다. pH, DO%, 공기흐름 및 압력과 같은 다양한 기타 매개변수를 전체 절차 동안 내내 모니터링하였다. DO%를 20 초과로 유지하였다. 샘플을 36시간의 시간 추이에 걸쳐 취하고, 세포 성장 (OD₅₅₀) 및 이소프렌 생성에 대해 분석하였다. 이들 실험의 결과를 도 53A 및 53B에 나타내었다.
- [0278] IV. B. 서브틸리스에서 쿠주 이소프렌 신타아제 (ispS)의 융합
- [0279] 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 aprE 프로모터의 조절 하에 융합 플라스미드 (pJH101-cmpR)에서

클로닝하였다. 시험한 조건 하에서는 이소프렌이 검출되지 않았다.

[0280] **실시예 5: 트리코테르마에서의 이소프렌의 생성**

[0281] I. 트리코테르마 레에세이에서의 쿠주 이소프렌 신타아제의 발현을 위한 벡터의 구성

[0282] 야로위야 리포리티카 코돈-최적화된 쿠주 IS 유전자를 DNA 2.0에 의해 합성하였다 (SEQ ID NO:8) (도 13). 상기 플라스미드는 하기의 PCR 증폭 반응을 위한 주형으로서 역할하였다: 1 μ l 플라스미드 주형 (20 ng/ μ l), 1 μ l 프라이머 EL-945 (10 μ M) 5'-GCTTATGGATCCTCTAGACTATTACACGTACATCAATTGG (SEQ ID NO:9), 1 μ l 프라이머 EL-965 (10 μ M) 5'-CACCATGTGTGCAACCTCCTCCAGTTTAC (SEQ ID NO:10), 1 μ l dNTP (10 mM), 5 μ l 10x PfuUltra II 용합 HS DNA 중합효소 완충액, 1 μ l PfuUltra II 용합 HS DNA 중합효소, 40 μ l 물 (총 반응 부피 50 μ l). 정방향 프라이머에는 Y. 리포리티카 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자에 상응하지 않지만 pENTR/D-TOPO 벡터에 클로닝하기 위해 필요한 추가적인 4개 뉴클레오티드가 5'-말단에 포함되었다. 역방향 프라이머에는 Y. 리포리티카 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자에 상응하지 않지만 다른 벡터 골격에 클로닝하기 위해 삽입된 추가적인 21개 뉴클레오티드가 5'-말단에 포함되었다. MJ Research PTC-200 써모사이클러를 사용하여, 하기와 같이 PCR 반응을 수행하였다: 95°C에서 2분 (첫 사이클에서만), 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 30초 (27 사이클 동안 반복), 마지막 사이클 후 72°C에서 1분. PCR 생성물을 1.2% E-겔 상에서 분석하여 Y. 리포리티카 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자의 성공적인 증폭을 확인하였다.

[0283] 이후, 제조사의 프로토콜에 따라 TOPO pENTR/D-TOPO 클로닝 키트를 사용하여 PCR 생성물을 클로닝하였다: 1 μ l PCR 반응, 1 μ l 염 용액, 1 μ l TOPO pENTR/D-TOPO 벡터 및 3 μ l 물 (총 반응 부피 6 μ l). 반응물을 실온에서 5분 동안 인큐베이션하였다. 1 μ l의 TOPO 반응물을 TOP 10 화학적 수용성 (competent) 대장균 세포에 형질전환시켰다. 형질전환체를 LA 및 50 μ g/ml 카나마이신 플레이트 상에서 선별하였다. 여러 콜로니를 고르고, 각각을 LB 및 50 μ g/ml 카나마이신을 함유하는 5 ml 튜브에 접종하고, 배양물을 200 rpm에서 진탕하면서 37°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 제조사의 프로토콜에 따라, QIAprep Spin Miniprep 키트를 사용하여 하룻밤 배양 튜브에서 플라스미드를 단리하였다. 여러 플라스미드를 서열분석하여 DNA 서열이 올바른지 확인하였다.

[0284] Y. 리포리티카 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 인코딩하는 단일 pENTR/D-TOPO 플라스미드를, 주문 제작된 pTrex3g 벡터에 게이트웨이 클로닝 (Gateway Cloning)하는데 사용하였다. pTrex3g의 구성은 WO 2005/001036 A2에 기재되어 있다. 게이트웨이 LR 클로나아제 (Clonase) II 효소 믹스 키트 (Invitrogen)에 대한 제조사의 프로토콜에 따라 반응을 수행하였다: 1 μ l Y. 리포리티카 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자 pENTR/D-TOPO 공여자 벡터, 1 μ l pTrex3g 목적지 벡터, 6 μ l TE 완충액, pH 8.0 (총 반응 부피 8 μ l). 반응물을 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, 1 μ l 프로테이나아제 K 용액을 첨가하고 37°C에서 10분 동안 인큐베이션을 지속하였다. 이후 1 μ l의 반응물을 TOP 10 화학적 수용성 대장균 세포에 형질전환시켰다. 형질전환체를 LA 및 50 μ g/ml 카르베니실린 플레이트 상에서 선별하였다. 여러 콜로니를 고르고, 각각을 LB 및 50 μ g/ml 카르베니실린을 함유하는 5 ml 튜브에 접종하고 배양물을 200 rpm에서 진탕하면서 37°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 제조사의 프로토콜에 따라, QIAprep Spin Miniprep 키트 (Qiagen, Inc.)를 사용하여 하룻밤 배양 튜브에서 플라스미드를 단리하였다. 여러 플라스미드를 서열분석하여 DNA 서열이 올바른지 확인하였다.

[0285] Y. 리포리티카 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 pTrex3g 플라스미드 (도 14)의 쿼드 삭제 트리코테르마 레에세이 균주로의 유전자종 (Biolistic) 형질전환을 유전자종 PDS-1000/HE 입자 전달 시스템을 사용하여 수행하였다 (WO 2005/001036 A2 참조). 특허 출원 WO 2005/001036 A2의 실시예 11에 열거된 프로토콜을 사용하여 안정적인 형질전환체의 단리 및 진탕 플라스크 평가를 수행하였다.

[0286] II. T. 레에세이의 재조합 균주에서의 이소프렌의 생성

[0287] 상기 기재된 이소프렌 신타아제의 15 및 36시간 배양물 1 ml를 상부공간 바이알에 옮겼다. 바이알을 밀봉하고 30°C에서 5시간 동안 인큐베이션하였다. 상부공간 기체를 측정하고, 실시예 1에서 기재된 방법으로 이소프렌을 확인하였다. 형질전환체 중 2개가 미량의 이소프렌을 나타내었다. 이소프렌의 양은 14시간 인큐베이션에 의해 증가될 수 있었다. 2개의 양성 샘플은 14시간 인큐베이션에 대해 약 0.5 μ g/L의 수준으로 이소프렌을 나타내었다. 미형질전환된 대조군은 검출가능한 수준의 이소프렌을 나타내지 않았다. 상기 실험은 외생 이소프렌 신타아제가 공급되는 경우 T. 레에세이가 내인성 전구체로부터 이소프렌을 생성할 수 있다

는 것을 나타낸다.

[0288] **실시예 6: 야로위야에서의 이소프렌의 생성**

[0289] I. 야로위야 리포리티카에서의 쿠주 이소프렌 신타아제의 발현을 위한 벡터의 구성

[0290] 야로위야 리포리티카에서 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 발현하기 위한 벡터의 구성을 위한 시작점은 벡터 pSPZ1 (MAP29Spb)이었다. 상기 벡터의 완전한 서열 (SEQ ID No:11)을 도 15에 나타내었다.

[0291] 주형으로서 Y. 리포리티카 균주 GICC 120285의 염색체 DNA를 사용하여 PCR로 하기 절편을 증폭하였다: URA3 유전자의 프로모터 없는 형태, 18S 리보솜 RNA 유전자, Y. 리포리티카 XPR2 유전자의 전사 터미네이터, 및 XPR2 및 ICL1 유전자의 프로모터를 함유하는 두 DNA 절편. 하기의 PCR 프라이머를 사용하였다:

[0292] ICL13

[0293] 5'-GGTGAATTCAGTCTACTGGGGATTCCCAATCTATATATACTGCAGGTGAC (SEQ ID NO:69)

[0294] ICL15

[0295] 5'-GCAGGTGGGAACTATGCACTCC (SEQ ID NO:70)

[0296] XPR3

[0297] 5'-CCTGAATTCTGTTGGATTGGAGGATTGGATAGTGGG (SEQ ID NO:71)

[0298] XPR5

[0299] 5'-GGTGTGACGTACGGTCGAGCTTATTGACC (SEQ ID NO:72)

[0300] XPRT3

[0301] 5'-GGTGGGCGCCGATTTTGCCACCTACAAGCCAG (SEQ ID NO:73)

[0302] XPRT5

[0303] 5'-GGTGAATTCTAGAGGATCCCAACGCTGTTGCCTACAACGG (SEQ ID NO:74)

[0304] Y18S3

[0305] 5'-GGTGCGCCGCTGTCTGGACCTGGTGAGTTTCCCCG (SEQ ID NO:75)

[0306] Y18S5

[0307] 5'-GGTGGGCCCATTAAATCAGTTATCGTTTATTGATAG (SEQ ID NO:76)

[0308] YURA3

[0309] 5'-GGTGACCAGCAAGTCCATGGGTGGTTTGATCATGG (SEQ ID NO:77)

[0310] YURA50

[0311] 5'-GGTGCGCCGCGCTTTGGAGTACGACTCCAACATG (SEQ ID NO:78)

[0312] YURA51

[0313] 5'-GCGGCCGCGAGCTAAATTTATTTTCAGTCTCC (SEQ ID NO:79)

[0314] PCR 증폭을 위해 PfuUltraII 중합효소 (Stratagene), 공급자-제공된 완충액 및 dNTP, 2.5 μ m 프라이머 및 표시된 주형 DNA를 제조사의 지시사항에 따라 사용하였다. 하기의 사이클을 사용하여 증폭을 수행하였다: 95°C에서 1분; 34x (95°C에서 30초; 55°C에서 30초; 72°C에서 3분) 및 72°C에서 10분 후 4°C 인큐베이션.

[0315] 야로위야에서의 발현을 위해 코돈-최적화된 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 인코딩하는 합성 DNA 분자를 DNA 2.0에서 획득하였다 (도 16; SEQ ID NO:12). 각각 XPR2 및 ICL1 프로모터의 조절 하에 합성 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 수반하는 플라스미드 pYLA(KZ1) 및 pYLI(KZ1)의 구성 도식의 전체 세부사항을 도 18에 나타내었다. 접합 인자 유전자 (MAP29)가 이소프렌 신타아제 유전자 대신에 삽입된 대조군 플라스미드를 또한 구성하였다 (도 18E 및 18F).

[0316] 유사한 클로닝 절차를 사용하여 포플러 (포폴루스 알바 x 포폴루스 트레물라) 이소프렌 신타아제 유전자를 발현

시켰다. 포플러 이소프렌의 서열은 [Miller B. 등. (2001) *Planta* 213, 483-487]에서 기재되며, 이를 도 17에 나타내었다 (SEQ ID NO:13). 각각 XPR2 및 ICL1 프로모터의 조절 하에 합성 포플러 이소프렌 신타아제 유전자를 수반하는 플라스미드 pYLA(POP1) 및 pYLI(POP1)를 생성하기 위한 구성 도식을 도 18A 및 B에 나타내었다.

[0317] II. Y. 리포리티카의 재조합 균주에 의한 이소프렌의 생성

[0318] 벡터 pYLA(KZ1), pYLI(KZ1), pYLA(MAP29) 및 pYLI (MAP29)를 SacII로 소화시키고, 우리딘 원형양성 (prototrophy)에 대한 표준 리튬 아세테이트/폴리에틸렌 글리콜 절차에 의해 균주 Y. 리포리티카 CLIB 122를 형질전환하는데 사용하였다. 간략하게는, YEPD (1% 효모 추출물, 2% 펩톤, 2% 글루코오스)에서 하룻밤 동안 성장시킨 효모 세포를 원심분리 (4000 rpm, 10분)로 수집하고, 멸균수로 1회 세척하고 0.1 M 리튬 아세테이트 (pH 6.0)에 현탁하였다. 세포 현탁액의 200 μ l 분취액을 선형화 플라스미드 DNA 용액 (10~20 μ g)과 혼합하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션하고, 동일한 완충액에서의 50% PEG 4000 1 ml과 혼합하였다. 현탁액을 실온에서 1시간 동안 추가로 인큐베이션한 후 42°C에서 2분 열 충격을 주었다. 이후 세포를 SC his leu 플레이트 (0.67% 효모 질소 베이스, 2% 글루코오스, 류신 및 히스티딘 각각 100 mg/L) 상에서 플레이트하였다. 30°C에서 3~4일 인큐베이션한 후 형질전환체가 나타났다.

[0319] pYLA(KZ1) 형질전환에서의 3개 단리물, pYLI(KZ1) 형질전환에서의 3개 단리물, pYLA(MAP29) 형질전환에서의 2개 단리물 및 pYLI(MAP29) 형질전환에서의 2개 단리물을 진탕하면서 30°C에서 YEP7 배지 (1% 효모 추출물, 2% 펩톤, pH 7.0)에서 24시간 동안 성장시켰다. 10 ml의 배양물에서의 세포를 원심분리로 수집하고, 3 ml의 새로운 YEP7에 재현탁하고 15 ml 나사 마개 바이알에 넣었다. 바이알을 부드럽게 (60 rpm) 진탕하면서 실온에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 이들 바이알의 상부공간 내의 이소프렌 함량을 실시예 1에서 기재된 바와 같이 질량-분석 검출기를 사용하여 기체 크로마토그래피로 분석하였다. pYLA(KZ1) 및 pYLI(KZ1)로 수득된 모든 형질전환체는 쉽게 검출가능한 양의 이소프렌을 생성하였다 (0.5 μ g/L 내지 1 μ g/L, 도 20). 이소프렌은 이소프렌 신타아제 유전자 대신 피타아제 유전자를 수반하는 대조균 균주의 상부공간에서 검출되지 않았다.

[0320] 실시예 7: 쿠주 이소프렌 신타아제 및 idi, 또는 dxs, 또는 idi 및 dxs를 발현하는 대장균에서의 이소프렌의 생성

[0321] I. 대장균에서 이소프렌의 생성을 위한 쿠주 이소프렌 신타아제 및 idi, 또는 dxs, 또는 idi 및 dxs를 인코딩하는 벡터의 구성

[0322] i) pTrcKudzuKan의 구성

[0323] pTrcKudzu (실시예 1에서 기재된)의 bla 유전자를 카나마이신 내성을 부여하는 유전자로 대체하였다. bla 유전자를 제거하기 위해 pTrcKudzu를 BspHI로 소화시키고, 쉬림프 알칼리 포스파타아제 (SAP)로 처리하고 65°C에서 열 사멸시킨 후, Klenow 절편 및 dNTP로 말단을 채웠다 (end-filled). 5 kbp 크기 절편을 아가로오스 겔에서 정제하고, 프라이머 MCM22 5'-GATCAAGCTTAACCGAATTGCCAGCTG (SEQ ID NO:14) 및 MCM23 5'-GATCCGATCGTCAGAAGAACTCGTCAAGAAGGC (SEQ ID NO:15)를 사용하여 PCR-Blunt-II-TOPO로부터 PCR 증폭된 kan^r 유전자에 라이게이션하고, HindIII 및 PvuI으로 소화시키고, 말단을 채웠다. 카나마이신 내성을 부여하는 플라스미드를 수반하는 형질전환체 (pTrcKudzuKan)를 카나마이신 50 μ g/ml 함유 LA 상에서 선별하였다.

[0324] ii) pTrcKudzu yIDI Kan의 구성

[0325] pTrcKudzuKan을 PstI으로 소화시키고, SAP으로 처리하고, 열 사멸시키고 겔 정제하였다. 이를 합성 RBS를 갖는 S. 세레비지에로부터의 idi를 인코딩하는 PCR 생성물에 라이게이션하였다. PCR용 프라이머는 NsiI-YIDI 1 F 5'-CATCAATGCATCGCCCTTAGGAGGTAATAAATGAC (SEQ ID NO:16) 및 PstI-YIDI 1 R 5'-CCTTCTGCAGGACGCGTGTATAGC (SEQ ID NO:17)이고; 주형은 S. 세레비지에 게놈 DNA였다. PCR 생성물을 NsiI 및 PstI으로 소화시키고, 라이게이션하기 전에 겔 정제하였다. 라이게이션 혼합물을 화학적 수용성 TOP 10 세포에 형질전환하고, 50 μ g/ml 카나마이신을 함유하는 LA 상에서 선별하였다. 여러 형질전환체를 선별하고 서열분석하고, 생성된 플라스미드를 pTrcKudzu-yIDI(kan)로 지칭하였다 (도 34 및 35).

[0326] iii) pTrcKudzu DXS Kan의 구성

[0327] 플라스미드 pTrcKudzuKan을 PstI으로 소화시키고, SAP으로 처리하고, 열 사멸시키고 겔 정제하였다. 이를 합성 RBS를 갖는 대장균으로부터의 dxs를 인코딩하는 PCR 생성물에 라이게이션하였다. PCR용 프라이머는

MCM 13 5'-GATCATGCATTGCGCCTTAGGAGGTAAAAAACATGAGTTTGTATATTGCCAAATACCCG (SEQ ID NO:18) 및 MCM14 5'-CATGCTGCAGTTATGCCAGCCAGGCCTTGAT (SEQ ID NO:19)이고; 주형은 대장균 게놈 DNA였다. PCR 생성물을 NsiI 및 PstI으로 소화시키고, 라이게이션하기 전에 겔 정제하였다. 생성된 형질전환 반응물을 TOP 10 세포에 형질전환하고, 카나마이신 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 갖는 LA 상에서 선별하였다. 여러 형질전환체를 단리하고 서열분석하고, 생성된 플라스미드를 pTrcKudzu-DXS(kan)로 지칭하였다 (도 36 및 37).

[0328] iv) pTrcKudzu-yIDI-dxs (kan)의 구성

[0329] pTrcKudzu-yIDI(kan)을 PstI으로 소화시키고, SAP으로 처리하고, 열 사멸시키고 겔 정제하였다. 이를 합성 RBS를 갖는 대장균 dxs를 인코딩하는 PCR 생성물에 라이게이션 (프라이머 MCM13 5'-GATCATGCATTGCGCCTTAGGAGGTAAAAAACATGAGTTTGTATATTGCCAAATACCCG (SEQ ID NO:18) 및 MCM14 5'-CATGCTGCAGTTATGCCAGCCAGGCCTTGAT (SEQ ID NO:19); 주형 TOP 10 세포) (NsiI 및 PstI으로 소화됨)하고 겔 정제하였다. 최종 플라스미드를 pTrcKudzu-yIDI-dxs (kan)로 지칭하였다 (도 21 및 22).

[0330] v) pCL PtrcKudzu의 구성

[0331] 상기 실시예 1로부터의 프로모터, 구조적 유전자 및 터미네이터를 함유하는 DNA 절편을 SspI을 사용하여 pTrcKudzu로부터 소화시키고 겔 정제하였다. 이를 PvuII로 소화시킨 pCL1920에 라이게이션하고, SAP으로 처리하고 열 사멸시켰다. 생성된 라이게이션 혼합물을 TOP 10 세포에 형질전환하고, 스펙티노마이신 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 함유하는 LA 상에서 선별하였다. 여러 클로니를 단리하고 서열분석하고, 두 개를 선별하였다. pCL PtrcKudzu 및 pCL PtrcKudzu (A3)는 반대 위치에서 삽입물을 가졌다 (도 38~41).

[0332] vi) pCL PtrcKudzu yIDI의 구성

[0333] NsiI-PstI 소화된, 겔 정제된 상기 (ii)로부터의 IDI PCR 앰플리콘 (amplicon)을 PstI으로 소화된 pCL PtrcKudzu에 라이게이션하고, SAP으로 처리하고 열 사멸시켰다. 라이게이션 혼합물을 TOP 10 세포에 형질전환하고, 스펙티노마이신 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 함유하는 LA에서 선별하였다. 여러 클론을 단리하고 서열분석하고, 생성된 플라스미드를 pCL PtrcKudzu yIDI로 지칭하였다 (도 42 및 43).

[0334] vii) pCL PtrcKudzu DXS의 구성

[0335] NsiI-PstI 소화된, 겔 정제된 상기 (iii)로부터의 DXS PCR 앰플리콘을 PstI으로 소화된 pCL PtrcKudzu (A3)에 라이게이션하고, SAP으로 처리하고, 열 사멸시켰다. 라이게이션 혼합물을 TOP 10 세포에 형질전환하고 스펙티노마이신 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 함유하는 LA에서 선별하였다. 여러 클론을 단리하고 서열분석하고, 생성된 플라스미드를 pCL PtrcKudzu DXS로 지칭하였다 (도 44 및 45).

[0336] II. 상이한 카피 수로 쿠주 이소프렌 신타아제, idi 및/또는 dxs를 발현하는 배양물로부터의 상부공간에서의 이소프렌의 측정

[0337] 플라스미드 pTrcKudzu(kan) (A), pTrcKudzu-yIDI kan (B), pTrcKudzu-DXS kan (C), pTrcKudzu-yIDI-DXS kan (D)로 이미 형질전환된 대장균 BL21 (λ DE3)의 배양물을 LB 카나마이신 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 성장시켰다. pCL PtrcKudzu (E), pCL PtrcKudzu, pCL PtrcKudzu-yIDI (F) 및 pCL PtrcKudzu-DXS (G)를 LB 스펙티노마이신 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 성장시켰다. 400 μM IPTG로 시간 0 (OD_{600} 약 0.5)에서 배양물을 유도하고 및 샘플을 이소프렌 상부공간 측정을 위해 취하였다 (실시예 1 참조). 결과를 도 23A~23G에서 나타내었다.

[0338] 플라스미드 pTrcKudzu-yIDI-dxs (kan)을 형질전환으로 대장균 균주 BL21에 도입하였다. 생성된 균주 BL21/pTrc Kudzu IDI DXS를 카나마이신 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 함유 LB에서 20°C에서 하룻밤 동안 성장시키고, 1% 글루코오스를 함유하는 TM3 (13.6 g K_2PO_4 , 13.6 g KH_2PO_4 , 2.0 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2.0 g 시트르산 일수화물, 0.3 g 구연산 철 암모늄, 3.2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.2 g 효모 추출물, 1.0 ml 1000x 변형 미량 금속 용액 (pH 6.8로 조정됨) 및 H_2O 충분량, 및 여과 멸균됨)의 진탕 플라스크에 접종하는데 사용하였다. 0.8의 OD_{600} 에 도달할 때까지 플라스크를 30°C에서 인큐베이션한 후, 400 μM IPTG로 유도하였다. 유도 후 다양한 시간에서 샘플을 취하고, 상부공간 내의 이소프렌의 양을 실시예 1에서 기재된 바와 같이 측정하였다. 결과를 도 23H에 나타내었다.

[0339] III. 대장균/pTrcKudzu yIDI DXS에서의 바이오매스로부터의 이소프렌의 생성

[0340] 균주 BL21 pTrcKudzuIDIDXS를 하기 세 유형의 바이오매스로부터 이소프렌을 생성하는 능력에 대해 시험하였다: 바가스, 옥수수대 및 침엽수 펄프 (대조군으로서 글루코오스). 바이오매스의 가수분해물을 효소적 가수분해

에 의해 제조하고 (Brown, L 및 Torget, R., 1996, NREL standard assay method Lap-009 "Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass") 글루코오스 동등물을 기초로 회석에 사용하였다. 상기 실시예에서, 글루코오스 동등물은 1% 글루코오스와 동등하였다. BL21 (DE3) pTrcKudzu yIDI DXS (kan)의 새로이 형질전환된 세포 플레이트로부터의 단일 콜로니를 사용하여 5 ml의 LB + 카나마이신 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에 접종하였다. 배양물을 진탕하면서 25°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 다음날 하룻밤 배양물을 25 ml의 TM3 및 0.2% YE 및 1% 공급원료에서 0.05의 OD₆₀₀으로 회석하였다. 공급원료는 옥수수대, 바가스 또는 침엽수 펄프였다. 글루코오스를 양성 대조군으로 사용하고, 글루코오스가 없는 것을 음성 대조군으로 사용하였다. 배양물을 180 rpm에서 진탕하면서 30°C에서 인큐베이션하였다. 배양물이 약 0.8의 OD₆₀₀에 도달할 때 이를 OD₆₀₀에 대해 모니터링하고, 배양물을 실시예 1에서 기재한 바와 같이 이소프렌 생성에 대해 1 및 3시간에서 분석하였다. 배양물은 유도되지 않았다. 첨가된 공급원료를 함유하는 모든 배양물은 글루코오스 양성 대조군과 동등하게 이소프렌을 생성하였다. 실험을 2 반복하여 수행하였고, 도 46에 나타내었다.

[0341] IV. 대장균/pTrcKudzuIDIDXS에서의 반전당으로부터의 이소프렌의 생성

[0342] BL21 (λ DE3)/pTrcKudzu yIDI DXS (kan)의 새로이 형질전환된 세포 플레이트로부터의 단일 콜로니를 사용하여 5 ml의 LB 및 카나마이신 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에 접종하였다. 배양물을 진탕하면서 25°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 다음날 하룻밤 배양물을 25 ml의 TM3 및 0.2% YE 및 1% 공급원료에서 0.05의 OD₆₀₀으로 회석하였다. 공급원료는 글루코오스, 반전 글루코오스 또는 옥수수대였다. 반전당 공급원료 (Danisco Invert Sugar)를 효소적 처리 수크로오스 시럽에 의해 제조하였다. AFEX 옥수수대를 하기 기재한 바와 같이 제조하였다 (V 부분). 세포를 30°C에서 성장시키고, 배양물이 약 0.8~1.0의 OD₆₀₀에 도달할 때 (0시간) 제 1 샘플을 측정하였다. 배양물을, OD₆₀₀을 측정함으로써 성장에 대해, 및 실시예 1에서와 같이 0, 1 및 3시간에서 이소프렌 생성에 대해 분석하였다. 결과를 도 47에 나타내었다.

[0343] V. AFEX 사전처리된 옥수수대로부터의 가수분해물의 제조

[0344] AFEX 사전처리된 옥수수대를 Michigan Biotechnology Institute에서 수득하였다. 사전처리 조건은 60% 수분, 1:1 암모니아 로딩, 및 90°C에서 30분 후 자연 건조시켰다. AFEX 사전처리된 옥수수대 내의 수분 함량은 21.27%였다. AFEX 사전처리된 옥수수대 내의 글루칸 및 자일란의 함량은 각각 31.7% 및 19.1% (건조량 기준)였다. 당화 과정은 하기와 같다; 20 g의 AFEX 사전처리된 옥수수대를 5 ml의 1 M 나트륨 시트레이트 완충액 pH 4.8, 2.25 ml의 Accellerase 1000, 0.1 ml의 Grindamyl H121 (제빵 산업용 아스페르길루스 니게르로부터의 Danisco xylanase 제품), 및 72.65 ml의 DI 수를 갖는 500 ml 플라스크에 첨가하였다. 플라스크를 궤도 진탕기에 넣고, 96시간 동안 50°C에서 인큐베이션하였다. 진탕기에서 1개의 샘플을 취하고 HPLC를 사용하여 분석하였다. 가수분해물은 38.5 g/L의 글루코오스, 21.8 g/L의 자일로오스, 및 10.3 g/L의 글루코오스 및/또는 자일로오스 올리고머를 함유하였다.

[0345] VI. 유가식 배양에서 성장한 대장균에서의 이소프렌 생성에 대한 효모 추출물의 효과

[0346] 상기 기재된 pTrcKudzu yIDI DXS 플라스미드를 함유하는 대장균 세포로 이전에 기재된 바와 같이 14 l 규모에서 발효를 수행하였다. 효모 추출물 (Bio Springer, Montreal, Quebec, Canada)를 지수 증대 속도 (exponential rate)에서 공급하였다. 발효기에 전달된 효모 추출물의 총량은 40시간 발효 동안 70~830 g으로 가변적이었다. 발효 브로쓰의 광학 밀도를 550 nm의 파장에서 측정하였다. 발효기 내의 최종 광학 밀도는 첨가된 효모 추출물의 양에 대해 비례하였다 (도 48A). 발효기로부터의 배출 기체 내의 이소프렌 수준을 이전에 기재된 바와 같이 측정하였다. 이소프렌 역가는 발효의 과정에 걸쳐 증가하였다 (도 48B). 생성된 이소프렌의 양은 공급 효모 추출물의 양에 대해 선형으로 비례하였다 (도 48C).

[0347] VII. pTrcKudzu DXS yIDI의 500 l 발효에서의 이소프렌의 생성

[0348] 쿠주 이소프렌 신타아제, S. 세레비지에 IDI 및 대장균 DXS 핵산 (대장균 BL21 (λ DE3) pTrc Kudzu dxs yidi)를 갖는 대장균 세포의 500 l 발효를 사용하여 이소프렌을 생성하였다. 이소프렌의 수준은 15시간 동안의 시간에 걸쳐 50 내지 300 $\mu\text{g}/\text{L}$ 로 가변적이었다. 평균 이소프렌 농도, 장치를 통한 평균 흐름 및 이소프렌 급등의 함량을 기준으로, 수집된 이소프렌의 양을 약 17 g인 것으로 계산하였다.

[0349] VIII. 유가식 배양에서 성장한 대장균의 500 l 발효에서의 이소프렌의 생성

[0350] 배지 제조 방법 (발효 배지 l 당):

- [0351] K_2HPO_4 7.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 g, 시트르산 일수화물 2 g, 구연산 철 암모늄 0.3 g, 효모 추출물 0.5 g, 1000X 변형 미량 금속 용액 1 ml. 모든 성분을 diH_2O 에 함께 첨가하고 용해하였다. 상기 용액을 오토클레이브 하였다. 암모늄 기체 (NH_3)로 pH를 7.0으로 조정하고 부피에 대해 충분량이 되게 하였다. 글루코오스 10 g, 티아민 * HCl 0.1 g, 및 항생제를 멸균 및 pH 조정 후 첨가하였다.
- [0352] 1000X 변형 미량 금속 용액:
- [0353] 시트르산 * H_2O 40 g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 30 g, NaCl 10 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 1 g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 100 mg, H_3BO_3 100 mg, $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ 100 mg. 각각의 성분을 한번에 하나씩 DI H_2O 에 용해하고, HCl/NaOH로 pH를 3.0으로 조정한 후 부피에 대해 충분량이 되게 하고, 0.22 마이크론 필터로 여과 멸균하였다.
- [0354] pTrcKudzu yIDI DXS 플라스미드를 함유하는 대장균 세포를 갖는 500 l 생물반응기에서 발효를 수행하였다. 상기 실험을 실행하여 원하는 발효 pH 7.0 및 온도 30°C에서 글루코오스 및 효모 추출물로부터의 이소프렌 형성을 모니터링하였다. 동결 바이알에서 취한 대장균 균주의 접종물을 소이톤-효모 추출물-글루코오스 배지에서 제조하였다. 접종물을 OD 0.15으로 성장시키고 (550 nm에서 측정), 20 ml를 사용하여 2.5 l 소이톤-효모 추출물-글루코오스 배지를 함유하는 생물반응기에 접종하였다. 2.5 l 생물반응기를 30°C에서 OD 1.0로 성장시키고, 2.0 l를 500 l 생물반응기에 옮겼다.
- [0355] 효모 추출물 (Bio Springer, Montreal, Quebec, Canada) 및 글루코오스를 지수 증대 속도에서 공급하였다. 50시간 발효 동안 생물반응기에 전달된 글루코오스 및 효모 추출물의 총량은 각각 181.2 kg 및 17.6 kg이었다. 시간에 걸친 생물반응기 내의 광학 밀도를 도 49A에 나타내었다. 생물반응기로부터의 배출 기체 내의 이소프렌 수준은 이전에 기재된 바와 같이 측정되었다. 이소프렌 역가는 발효의 과정에 걸쳐 증가하였다 (도 49B). 50시간 발효 동안 생성된 이소프렌의 총량은 55.1 g이고, 생성의 시간 추이를 도 49C에 나타내었다.
- [0356] **실시예 8: 쿠주 이소프렌 신타아제 및 재조합 메발론산 경로 유전자를 발현하는 대장균에서의 이소프렌의 생성**
- [0357] I. 하위 MVA 경로 클로닝
- [0358] 하위 메발론산 경로를 클로닝하기 위한 전략은 하기와 같다. 메발론산 생합성 통로의 네 가지 유전자; 메발로네이트 키나아제 (MVK), 포스포메발로네이트 키나아제 (PMK), 디포스포메발로네이트 데카르복실라아제 (MVD) 및 이소펜테닐 디포스페이트 이성화효소 유전자를 S. 세레비지에 염색체 DNA로부터 PCR로 증폭하고 pCR Blunt II TOPO 플라스미드 (Invitrogen) 내에 개별적으로 클로닝하였다. 일부 경우에서, idi 유전자를 대장균 염색체 DNA로부터 증폭하였다. 대장균 공통 RBS (AGGAGGT (SEQ ID NO:80) 또는 AAGGAGG (SEQ ID NO:81))가 5' 말단에 삽입되고, 시작 코돈의 8 bp 상류 및 PstI 위치가 3' 말단에 첨가되도록 프라이머를 설계하였다. 이후, 전체 경로가 어셈블링될 때까지 유전자를 하나씩 pTrcHis2B 벡터에 클로닝하였다.
- [0359] S. 세레비지에 S288C로부터의 염색체 DNA를 ATCC (ATCC 204508D)에서 획득하였다. 제조사의 지시사항에 따라 PfuTurbo를 사용하여 프라이머 MVKF (5'-AGGAGGTAACATGTCATTACCGTTCTTAACCTCTGC, SEQ ID NO:21) 및 MVK-PstI-R (5'-ATGGCTGCAGGCCTATCGCAAATTAGCTTATGAAGTCCATGGTAAATTCGTG, SEQ ID NO:22)을 사용하여 S. 세레비지에의 염색체로부터 MVK 유전자를 증폭하였다. 1.2% E-겔 (Invitrogen)을 통한 전기영동으로 올바른 크기의 PCR 생성물 (1370 bp)을 확인하고 pZeroBLUNT TOPO 내에 클로닝하였다. 생성된 플라스미드를 pMVK1로 지정하였다. 플라스미드 pMVK1을 SacI 및 Taq 1 제한 엔도뉴클레아제로 소화시키고 절편을 겔 정제하고, SacI 및 BstBI으로 소화된 pTrcHis2B에 라이게이션하였다. 생성된 플라스미드를 pTrcMVK1로 지칭하였다.
- [0360] 메발론산 생합성 경로 내의 제 2 유전자, PMK를 하기 프라이머를 사용하여 증폭하였다: PstI-PMK1 R (5'-GAATCGCCCTTCTGCAGCTACC, SEQ ID NO:23) 및 BsiHKA I-PMK1 F (5'-CGACTGGTGCACCCCTTAAGGAGGAAAAAATGTCAG, SEQ ID NO:24). 제조사의 지시사항에 따라 Pfu Turbo 중합효소 (Stratagene)를 사용하여 PCR 반응을 수행하였다. 올바른 크기의 생성물 (1387 bp)을 PstI 및 BsiHKA I로 소화시키고, PstI로 소화된 pTrcMVK1에 라이게이션하였다. 생성된 플라스미드를 pTrcKK로 지칭하였다. MVD 및 idi 유전자를 동일한 방식으로 클로닝하였다. 프라이머 쌍 PstI-MVD 1 R (5'-GTGCTGGAATTCGCCCTTCTGCAGC, SEQ ID NO:25) 및 NsiI-MVD 1 F (5'-GTAGATGCATGCAGAAATTCGCCCTTAAGGAGG, SEQ ID NO:26)를 사용하여 PCR을 실행하여 MVD 유전자 및 PstI- YIDI 1 R (5'-CCTTCTGCAGGACGCGTTGTTATAGC, SEQ ID NO:27) 및 NsiI-YIDI 1 F (5'-CATCAATGCATGCCCTTAGGAGGTAACAAAAAATGAC, SEQ ID NO:28)를 증폭하여 yIDI 유전자를 증폭하였다. 일부 경우에서 IPP 이성화효소 유전자, 대장균으로부터의 idi를 사용하였다. 대장균으로부터의 idi를 증폭하기 위

해, 하기의 프라이머 세트를 사용하였다: PstI-CIDI 1 R (5'-GTGTGATGGATATCTGCAGAATTCG, SEQ ID NO:29) 및 NsiI-CIDI 1 F (5'-CATCAATGCATCGCCCTTAGGAGGTAAAAAACATG, SEQ ID NO:30). 주형 DNA는 대장균 FM5로부터 표준 방법에 의해 단리된 염색체 DNA였다 (WO 96/35796 및 WO 2004/033646; 특히 핵산의 단리에 대해 그 전문이 참고문헌으로 각각 포함됨). 최종 플라스미드를, 호모 idi 유전자를 인코딩하는 구성물에 대해서는 pKKDIy로, 또는 대장균 idi 유전자를 인코딩하는 구성물에 대해서는 pKKDIc로 지칭하였다. 플라스미드를 후속적 분석을 위해 대장균 숙주 BL21에 형질전환하였다. 일부 경우에서 쿠주로부터의 이소프렌 신타아제를 pKKDIy에 클로닝하여 플라스미드 pKKDIyIS를 획득하였다.

[0361] 하위 MVA 경로를 또한 카나마이신 항생제 내성 마커를 함유하는 pTrc에 클로닝하였다. 플라스미드 pTrcKKDIy를 제한 엔도뉴클레아제 ApaI 및 PstI으로 소화시키고, 5930 bp 절편을 1.2% 아가로오스 E-겔 상에서 분리시키고, 제조사의 지시사항에 따라 Qiagen Gel Purification 키트를 사용하여 정제하였다. 실시예 7에서 기재된 플라스미드 pTrcKudzuKan을 제한 엔도뉴클레아제 ApaI 및 PstI로 소화시키고, 벡터를 함유하는 3338 bp 절편을 Qiagen Gel Purification 키트를 사용하여 1.2% E-겔에서 정제하였다. 3338 bp 벡터 절편 및 5930 bp 하위 MVA 경로 절편을 Roche Quick Ligation 키트를 사용하여 라이게이션하였다. 라이게이션 혼합물을 대장균 TOP 10 세포에 형질전환하고, 형질전환체를 카나마이신 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 함유 LA 상에서 선별하면서 37°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 형질전환체를 제한 효소 소화로 확인하고, 하나를 저장물로서 동결시켰다. 플라스미드를 pTrcKanKKDIy로 지정하였다.

[0362] II. 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자의 pTrcKanKKDIy 내로의 클로닝

[0363] 프라이머 MCM50 5'-GATCATGCATTCGCCCTTAGGAGGTAAAAAACATGTGTGCGACCTCTTCAATTACT (SEQ ID NO:31) 및 MCM53 5'-CGGTCGACGGATCCCTGCAGTTAGACATACATCAGCTG (SEQ ID NO:32)를 사용하여 실시예 1에서 기재된 pTrcKudzu로부터 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 PCR로 증폭하였다. 생성된 PCR 절편을 pCR2.1에 클로닝하고, 대장균 TOP 10에 형질전환시켰다. 상기 절편은 쿠주 이소프렌 신타아제에 대한 코딩 서열 및 대장균에서의 RBS를 함유하는 상류 부위를 포함한다. 형질전환체를 카르베니실린 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 함유 LA 상에서 선별하면서 37°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 절편의 올바른 삽입물을 서열분석으로 확인하고, 상기 균주를 MCM93으로 지정하였다.

[0364] 균주 MCM93으로부터의 플라스미드를 제한 엔도뉴클레아제 NsiI 및 PstI으로 소화시켜 RBS 및 쿠주 이소프렌 신타아제를 함유하는 1724 bp 삽입물을 유리시켰다. 1724 bp 절편을 1.2% 아가로오스 E-겔에서 분리하고, 제조사의 지시사항에 따라 Qiagen Gel Purification 키트를 사용하여 정제하였다. 플라스미드 pTrcKanKKDIy를 제한 엔도뉴클레아제 PstI으로 소화시키고, 37°C에서 30분 동안 SAP으로 처리하고, Qiagen PCR cleanup 키트를 사용하여 정제하였다. 플라스미드 및 쿠주 이소프렌 신타아제를 인코딩하는 DNA 절편을 Roche Quick Ligation 키트를 사용하여 라이게이션하였다. 라이게이션 믹스를 대장균 TOP 10 세포에 형질전환하고, 형질전환체를 카나마이신 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 함유 LA 상에서 선별하면서 37°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 올바른 형질전환체를 제한 소화로 확인하고, 플라스미드를 pTrcKKDyIkISKan (도 24 및 25)로 지정하였다. 상기 플라스미드를 BL21(λ DE3) 세포 (Invitrogen)에 형질전환하였다.

[0365] III. 쿠주로부터의 이소프렌 신타아제 및 재조합 하위 메발로네이트 경로를 발현하는 대장균에서의 메발로네이트로부터의 이소프렌 생성

[0366] 균주 BL21/pTrcKKDyIkISKan를 pH 7.1로 조정되고 0.5% 글루코오스 및 0.5% 메발론산으로 보충된 MOPS 배지에서 배양하였다 (Neidhardt 등, (1974) J. Bacteriology 119:736-747). 동일한 조건이지만 0.5% 메발론산이 첨가되지 않은 대조군 배양물을 또한 설정하였다. 배양물이 0.3 내지 0.5의 OD₆₀₀에 도달할 때, 1% 점종물을 갖는 하룻밤 종자 배양물로부터 배양을 시작하고 500 μM IPTG로 유도하였다. 배양물을 250 rpm에서 진탕하면서 30°C에서 성장시켰다. 실시예 1에서 기재한 상부공간 검정을 사용하여 이소프렌의 생성을 유도 3시간 후 분석하였다. 이소프렌의 최대 생성은 6.67×10^4 nmol/L_{브로츠}/OD₆₀₀/시간이었다 (L_{브로츠}는 브로츠의 부피이며, 세포 배지의 부피 및 세포의 부피가 모두 포함됨). 메발론산이 보충되지 않은 대조군 배양물은 측정 가능한 이소프렌을 생성하지 않았다.

[0367] IV. 상위 MVA 경로 클로닝

[0368] 3가지 효소적 활성을 인코딩하는 두 유전자를 포함하는 상위 메발로네이트 생합성 경로를 엔테로코쿠스 파에칼리스로부터 클로닝하였다. mvaE 유전자는 경로에서의 제 1 및 제 3 단백질인 아세틸-CoA 아세틸트랜스퍼라아제 및 3-하이드록시-3-메틸글루타릴-CoA (HMG-CoA) 환원효소 모두의 효소적 활성을 갖는 단백질을

인코딩하며, mvaS 유전자는 상기 경로에서의 제 2 효소, HMG-CoA 신타아제를 인코딩한다. 하기의 프라이머를 사용하여, 대장균 리보솜 결합 위치 및 전방에 스페이서를 갖는 E. 파이칼리스 게놈 DNA (ATCC 700802D-5)로부터 mvaE 유전자를 증폭하였다:

- [0369] CF 07-60 (+) mvaE w/ RBS + ATG 시작 코돈 SacI의 시작
- [0370] 5'-GAGACATGAGCTCAGGAGGTAAAAAACATGAAAACAGTAGTTATTATTG (SEQ ID NO:34)
- [0371] CF 07-62 (-) 중간에서 RBS를 갖는 mvaS에 대한 mvaE 융합
- [0372] 5'-TTTATCAATCCCAATTGTCATGTTTTTTTACCTCCTTATTGTTTTCTTAAATC (SEQ ID NO:35)
- [0373] 하기의 프라이머를 사용하여 전방에 대장균으로부터의 스페이서 및 RBS를 갖는 E. 파에칼리스 게놈 DNA (ATCC 700802D-5)로부터 mvaS 유전자를 증폭하였다:
- [0374] CF 07-61 (+) 중간에서 RBS를 갖는 mvaS에 대한 mvaE 융합
- [0375] 5'-GATTTAAGAAAAACAATAAAGGAGGTAAAAAACATGACAATTGGGATTGATAAA (SEQ ID NO:36)
- [0376] CF 07-102 (-) mvaS 유전자 BglIII의 말단
- [0377] 5'-GACATGACATAGATCTTTAGTTTCGATAAAGAACGAACGGT (SEQ ID NO:37)
- [0378] 하기의 프라이머를 사용하여 PCR 절편을 PCR과 함께 융합하였다:
- [0379] CF 07-60 (+) mvaE w/ RBS + ATG 시작 코돈 SacI의 시작
- [0380] 5'-GAGACATGAGCTCAGGAGGTAAAAAACATGAAAACAGTAGTTATTATTG (SEQ ID NO:34)
- [0381] CF 07-102 (-) mvaS 유전자 BglIII의 말단
- [0382] 5'-GACATGACATAGATCTTTAGTTTCGATAAAGAACGAACGGT (SEQ ID NO:37)
- [0383] Qiagen 키트를 사용하여 융합 PCR 절편을 정제하고, 제한 효소 SacI 및 BglIII로 소화시켰다. 상기 소화된 DNA 절편을 Qiagen 키트를 사용하여 겔 정제하고, Sac I 및 BglIII으로 소화된 시판되는 벡터 pTrcHis2A에 라이게이션하였다.
- [0384] 라이게이션 믹스를 대장균 Top 10 세포에 형질전환하고, 콜로니를 LA 및 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 카르베니실린 플레이트 상에서 선별하였다. 총 6개의 콜로니를 선택하고, LB 및 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 카르베니실린에서 하룻밤 동안 성장시키고, 플라스미드를 Qiagen 키트를 사용하여 단리하였다. 플라스미드를 SacI 및 BglIII로 소화시켜 삽입물을 확인하고, 한 올바른 플라스미드를 하기의 프라이머로 서열분석하였다:
- [0385] CF 07-58 (+) mvaE 유전자의 시작
- [0386] 5'-ATGAAAACAGTAGTTATTATTGATGC (SEQ ID NO:38)
- [0387] CF 07-59 (-) mvaE 유전자의 말단
- [0388] 5'-ATGTTATTGTTTCTTAAATCATTAAAAATAGC (SEQ ID NO:39)
- [0389] CF 07-82 (+) mvaS 유전자의 시작
- [0390] 5'-ATGACAATTGGGATTGATAAAATTAG (SEQ ID NO:40)
- [0391] CF 07-83 (-) mvaS 유전자의 말단
- [0392] 5'-TTAGTTTCGATAAAGAACGAACGGT (SEQ ID NO:41)
- [0393] CF 07-86 (+) mvaE에서의 서열
- [0394] 5'-GAAATAGCCCCATTAGAAGTATC (SEQ ID NO:42)
- [0395] CF 07-87 (+) mvaE에서의 서열
- [0396] 5'-TTGCCAATCATATGATTGAAAATC (SEQ ID NO:43)
- [0397] CF 07-88 (+) mvaE에서의 서열

- [0398] 5'-GCTATGCTTCATTAGATCCTTATCG (SEQ ID NO:44)
- [0399] CF 07-89 (+) 서열 mvaS
- [0400] 5'-GAAACCTACATCCAATCTTTGCCC (SEQ ID NO:45)
- [0401] pTrcHis2UpperPathway#1으로 지칭되는 플라스미드를 서열분석으로 바로잡고, 시판되는 대장균 균주 BL21에 형질전환하였다. LA 및 50 $\mu\text{g/ml}$ 카르베니실린 상에서 선별하였다. 두 형질전환체를 선택하고, 1.5의 OD₆₀₀에 도달할 때까지 LB 및 50 $\mu\text{g/ml}$ 카르베니실린에서 성장시켰다. 두 균주 모두를 글리세롤의 존재 하에 -80°C에서 바이알 내에서 동결시켰다. 균주를 BL21에서의 pTrcHis2UpperPathway#1, 단리물#1에 대해 CF 449로, BL21에서의 pTrcHis2UpperPathway#1, 단리물#2에 대해 CF 450으로 지정하였다. 분석한 경우, 두 클론 모두 동일하게 행동하는 것으로 발견되었다.
- [0402] V. UpperMVA 경로의 pCL1920 내로의 클로닝
- [0403] 플라스미드 pTrcHis2UpperPathway를 제한 엔도뉴클레아제 SspI로 소화시켜 pTrc-mvaE-mvaS-(His 표지)-터미네이터를 함유하는 절편을 방출시켰다. 상기 절편에서, his-표지는 번역되지 않았다. Qiagen Gel Purification 키트를 사용하여, 상기 무딘 말단 4.5 kbp 절편을 1.2% E-겔에서 정제하였다. 제한 엔도뉴클레아제 PvuII로 벡터를 소화시키고, SAP로 처리하고, Qiagen Gel Purification 키트를 사용하여 1.2% E-겔로부터 겔 정제하여 pCL1920으로부터의 탈인산화된, 무딘 말단 4.2 kbp 절편을 제조하였다. Roche Quick Ligation 키트를 사용하여 두 절편을 라이게이션하고, TOP 10 화학적 수용성 세포에 형질전환시켰다. 형질전환체를 스펙티노마이신 (50 $\mu\text{g/ml}$) 함유 LA 상에서 선별하였다. PCR에 의해, 삽입물의 존재에 대해 스크리닝하여 올바른 콜로니를 확인하였다. 플라스미드를 pCL PtrcUpperPathway로 지정하였다 (도 26 및 27).
- [0404] VI. 조합된 상위 및 하위 메발론산 경로를 발현하는 균주
- [0405] 완전한 메발론산 경로와 함께 쿠주 이소프렌 신타아제를 수득하기 위해서, 플라스미드 pTrcKKdyIkISkan 및 pCLpTrcUpperPathway를 모두 BL21(λ DE3) 수용성 세포 (Invitrogen)에 형질전환하고, 형질전환체를 카나마이신 (50 $\mu\text{g/ml}$) 및 스펙티노마이신 (50 $\mu\text{g/ml}$)을 함유하는 LA 상에서 선별하였다. 형질전환체를 플라스미드 프랩으로 확인하여, 플라스미드 모두가 숙주 내에서 유지되는지를 확실하게 하였다. 균주를 MCM127로 지정하였다.
- [0406] VII. 대장균/pUpperpathway에서의 글루코오스로부터 메발론산의 생성
- [0407] BL21/pTrcHis2A-mvaE/mvaS 또는 FM5/p pTrcHis2A-mvaE/mvaS를 LB 및 카르베니실린 (100 $\mu\text{g/ml}$)에 접종하고, 200 rpm에서 진탕하면서 37°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 이들 배양물을 250 ml 배플드 플라스크 내의 50 ml 배지로 0.1의 OD₆₀₀이 되도록 희석하였다. 배지는 TM3, 1 또는 2% 글루코오스, 카르베니실린 (100 $\mu\text{g/ml}$) 또는 TM3, 1% 글루코오스, 가수분해된 콩기름, 및 카르베니실린 (100 $\mu\text{g/ml}$) 또는 TM3 및 바이오매스 (제조된 바가스, 옥수수대 또는 지렁이풀)였다. 배양물을 OD₆₀₀이 0.4에 도달할 때까지 약 2~3시간 동안 200 rpm에서 진탕하면서 30°C에서 성장시켰다. 이 시점에서, IPTG (400 μM)을 첨가하여 mvaE mvaS 구성물로부터의 발현을 유도하였다. 2시간 주기 내지 유도 후 6시간, 이후 필요시 24, 36 및 48시간 후에 취한 샘플로 추가 20 또는 40시간 동안 배양물을 인큐베이션하였다. 1 ml의 배양물을 제거하고, OD₆₀₀을 측정하고, 마이크로퓨즈 (microfuge)에서 세포를 펠릿화하고 상청액을 제거하고, 메발론산에 대해 이를 분석하여 샘플링을 수행하였다.
- [0408] 엔테로코쿠스 파에칼리스 AA-CoA 티올라아제, HMG-CoA 신타아제, 및 HMG-CoA 환원효소 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산을 갖는 대장균 세포의 14 l 발효로, 세포 배지로서 TM3 배지 및 2% 글루코오스를 사용하여 22 g의 메발론산이 생성되었다. 이들 세포의 진탕 플라스크에서는 세포 배양 배지로서 LB 배지 및 1% 글루코오스를 사용하여 l 당 2~4 g의 메발론산이 생성되었다. 이들 균주에서의 메발론산의 생성은 MVA 경로가 대장균에서 가능한다는 것을 나타내었다.
- [0409] VIII. 상위 및 하위 MVA 경로 + 쿠주 이소프렌 신타아제를 함유하는 대장균 BL21로부터의 이소프렌의 생성
- [0410] 상기 기재한 바와 같은 상위 및 하위 MVA 경로 및 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 함유하는 플라스미드, 및 실시예 7에서 기재된 idi, dxs 및 dxr 및 이소프렌 신타아제 유전자를 함유하는 플라스미드의 다양한 조합에서의 형질전환으로써 하기의 균주를 제작하였다. 사용된 숙주 세포는 화학적 수용성 BL21(λ DE3)이고, 표준 방법으로 형질전환을 수행하였다. 카나마이신 (50 $\mu\text{g/ml}$) 또는 카나마이신 + 스펙티노마이신 (둘 모두 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도)을 함유하는 L 한천에서 형질전환체를 선별하였다. 플레이트를 37°C에서 성장시켰다. 생

성된 균주를 하기와 같이 지정하였다:

- [0411] 카나마이신 + 스펙티노마이신 (각각 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 성장시킴
- [0412] MCM127 - BL21(λ DE3) 내의 pCL Upper MVA 및 pTrcKKDyIkIS (kan)
- [0413] MCM131 - BL21(λ DE3) 내의 pCL1920 및 pTrcKKDyIkIS (kan)
- [0414] MCM125 - BL21(λ DE3) 내의 pCL Upper MVA 및 pTrcHis2B (kan)
- [0415] 카나마이신 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)에서 성장시킴
- [0416] MCM64 - BL21(λ DE3) 내의 pTrcKudzu yIDI DXS (kan)
- [0417] MCM50 - BL21(λ DE3) 내의 pTrcKudzu (kan)
- [0418] MCM123 - BL21(λ DE3) 내의 pTrcKudzu yIDI DXS DXR (kan)

[0419] 상기 균주를 냉동기 저장물로부터 LA 및 적절한 항생제에 스트리킹하고, 37°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 각각의 플레이트로부터의 단일 콜로니를 진탕 플라스크 (25 ml LB 및 적절한 항생제)에 접종하는데 사용하였다. 플라스크를 200 rpm에서 진탕하면서 22°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 다음날 아침에 플라스크를 37°C 인큐베이터에 옮기고 200 rpm에서 진탕하면서 추가 4.5시간 동안 성장시켰다. 25 ml 배양물을 원심분리하여 세포를 펠릿화시키고, 세포를 5 ml LB 및 적절한 항생제에 재현탁하였다. 배양물을 이후 25 ml LB, % 글루코오스, 및 적절한 항생제로 0.1의 OD₆₀₀이 되도록 희석하였다. 각각의 균주에 대해 두 개 플라스크를 설정하고, 첫 번째 세트는 IPTG (800 μM)로 유도하고, 두 번째 세트는 유도하지 않았다. 배양물을 250 rpm에서 진탕하면서 37°C에서 인큐베이션하였다. 배양물의 한 세트를 1.50시간 후에 유도하였다 (샘플링 시간 지점 1의 직후). 각각의 샘플링 시간 지점에서, OD₆₀₀을 측정하고 실시예 1에서 기재된 바와 같이 이소프렌의 양을 측정하였다. 결과를 표 3에 나타내었다. 생성된 이소프렌의 양을 특정 균주에 대한 피크 생성에서의 양으로서 나타내었다.

[0420] 표 3. 대장균 균주에서의 이소프렌의 생성

균주	이소프렌($\mu\text{g}/\text{L}_{\text{브로쓰}}/\text{시간}/\text{OD}_{600}$)
MCM50	23.8
MCM64	289
MCM125	ND
MCM131	미량
MCM127	874

[0421]

[0422] ND: 미검출

[0423] 미량: 피크가 존재하나 적분가능하지 않음

[0424] IX. 메발론산의 분석

[0425] 메발로놀아세톤 (1.0 g, 7.7 mmol) (CAS# 503-48-0)을 메발론산의 칼륨염을 생성시키기 위해 물 (7.7 ml)에 용해하고 수산화칼륨 (7.7 mmol)으로 처리한 시럽으로서 Sigma-Aldrich (WI, USA)에서 공급받았다. 메발론산으로의 변환을 ¹H NMR 분석으로 입증하였다. 14,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 세포를 제거한 후 상청액의 300 μl 분취액을 900 μl 의 H₂O에 첨가하여 HPLC 분석을 위한 샘플을 제조하였다. 이후 과염소산 (70% 용액의 36 μl)을 첨가한 후, 얼음 상에서 5분 동안 혼합 및 냉각하였다. 이후 샘플을 다시 원심분리하고 (14,000 rpm에서 5분), 상청액을 HPLC에 옮겼다. 메발론산 표준물 (20, 10, 5, 1 및 0.5 g/L)을 동일한 방식으로 제조하였다. 5 mM 황산으로 0.6 ml/분에서 용리된 BioRad Aminex 87-H+ 컬럼 (300 mm, 7.0 mm)을 사용하여 굴절률 (RI) 검출을 갖는 HPLC에 의해 메발론산의 분석 (20 μL 주입 부피)을 수행하였다. 이들 조건 하에 18.5분에서 락톤 형태로서 메발론산을 용리하였다.

[0426] 실시예 9. 바실러스 서브틸리스로의 융합을 위한 상위 및 하위 MVA 경로의 구성

- [0427] I. 바실러스 서브틸리스에서의 상위 MVA 경로의 구성
- [0428] 엔테로코쿠스 파에칼리스로부터의 상위 경로를 aprE 프로모터의 조절 하에 B. 서브틸리스에 융합하였다. 상위 경로는 하기 두 유전자로 이루어진다; AACT 및 HMGR를 인코딩하는 mvaE, 및 HMGS를 인코딩하는 mvaS. 두 유전자는 중간에서, mvaS 앞의 RBS 위치에서 정지 코돈과 함께 융합되고, aprE 프로모터의 조절 하에 있다. 터미네이터는 mvaE 유전자 뒤에 위치한다. 클로람페니콜 내성 마커는 mvaE 유전자 뒤에 클로닝되며, 구성물은 상동성의 측면 부위를 사용하여 이중 교차에 의해 aprE 유전자 자리에서 융합된다.
- [0429] PCR 반응에 의해 함께 융합되게 할 돌출물 (overhang)을 함유하도록 네 개의 DNA 절편을 PCR로 증폭하였다. 제조사의 지시사항에 따라 Herculase 증합효소를 사용하여 PCR 증폭을 실행하였다.
- [0430] 1: PaprE
- [0431] CF 07-134 (+) aprE 프로모터 PstI의 시작
- [0432] 5'-GACATCTGCAGCTCCATTTTCTTCTGC (SEQ ID NO:82)
- [0433] CF 07-94 (-) mvaE에 대한 PaprE 융합
- [0434] 5'-CAATAATAACTACTGTTTTCACTCTTACCCTCTCCTTTTAA (SEQ ID NO:83)
- [0435] 주형: 바실러스 서브틸리스 염색체 DNA
- [0436] 2: mvaE
- [0437] CF 07-93 (+) aprE 프로모터에 대한 mvaE 융합 (GTG 시작 코돈)
- [0438] 5'-TTAAAAGGAGAGGGTAAAGAGTGAAAACAGTAGTTATTATTG (SEQ ID NO:84)
- [0439] CF 07-62 (-) 중간에서 RBS를 갖는 mvaS에 대한 mvaE 융합
- [0440] 5'-TTTATCAATCCCAATTGTCATGTTTTTTACCTCCTTATTGTTTTCTTAAATC (SEQ ID NO:35)
- [0441] 주형: 엔테로코쿠스 파에칼리스 염색체 DNA (ATCC)
- [0442] 3. mvaS
- [0443] CF 07-61 (+) 중간에서 RBS를 갖는 mvaS에 대한 mvaE 융합
- [0444] 5'-GATTTAAGAAAAACAATAAGGAGGTAAAAAACATGACAATTGGGATTGATAAA (SEQ ID NO:36)
- [0445] CF 07-124 (-) 터미네이터에 대한 mvaS의 말단 융합
- [0446] 5'-CGGGGCCAAGGCCGGTTTTTTTAGTTTCGATAAGAACGAACGGT (SEQ ID NO:85)
- [0447] 주형: 엔테로코쿠스 파에칼리스 염색체 DNA
- [0448] 4. B. 아밀로리쿠에파시엔스 알칼리 세린 프로테아제 터미네이터
- [0449] CF 07-123 (+) 터미네이터에 대한 mvaS의 말단 융합
- [0450] 5'-ACCGTTCGTTCTTATCGAAACTAAAAAACCGGCCTTGGCCCCG (SEQ ID NO:86)
- [0451] CF 07-46 (-) B. 아밀로리쿠에파시엔스 터미네이터 BamHI의 말단
- [0452] 5'-GACATGACGGATCCGATTACGAATGCCGTCTC (SEQ ID NO:63)
- [0453] 주형: 바실러스 아밀로리쿠에파시엔스 염색체 DNA
- [0454] PCR 융합 반응
- [0455] 5. mvaS에 대한 mvaE 융합
- [0456] CF 07-93 (+) aprE 프로모터에 대한 mvaE 융합 (GTG 시작 코돈)
- [0457] 5'-TTAAAAGGAGAGGGTAAAGAGTGAAAACAGTAGTTATTATTG (SEQ ID NO:84)
- [0458] CF 07-124 (-) 터미네이터에 대한 mvaS의 말단 융합

- [0459] 5'-CGGGGCCAAGGCCGGTTTTTTTTAGTTTCGATAAGAACGAACGGT (SEQ ID NO:85)
- [0460] 주형: 상기로부터의 #2 및 3
- [0461] 6. aprE 프로모터에 대한 mvaE-mvaS 융합
- [0462] CF 07-134 (+) aprE 프로모터 PstI의 시작
- [0463] 5'-GACATCTGCAGCTCCATTTTCTTCTGC (SEQ ID NO:82)
- [0464] CF 07-124 (-) 터미네이터에 대한 mvaS의 말단 융합
- [0465] 5'-CGGGGCCAAGGCCGGTTTTTTTTAGTTTCGATAAGAACGAACGGT (SEQ ID NO:85)
- [0466] 주형: 상기로부터의 #1 및 #4
- [0467] 7. 터미네이터에 대한 PaprE-mvaE-mvaS 융합
- [0468] CF 07-134 (+) aprE 프로모터 PstI의 시작
- [0469] 5'-GACATCTGCAGCTCCATTTTCTTCTGC (SEQ ID NO:82)
- [0470] CF 07-46 (-) B. 아밀로리쿠에파시엔스 터미네이터 BamHI의 말단
- [0471] 5'-GACATGACGGATCCGATTACGAATGCCGTCTC (SEQ ID NO:63)
- [0472] 주형: #4 및 #6
- [0473] 생성물을 제한 엔도뉴클레아제 PstI/BamHI으로 소화시키고, PstI/BamHI으로 소화시킨 pJM102에 라이게이션하였다 (Perego, M. 1993. Integrational vectors for genetic manipulation in *Bacillus subtilis*, p. 615-624. In A. L. Sonenshein, J. A. Hoch, and R. Losick (ed.), *Bacillus subtilis* and other gram-positive bacteria: biochemistry, physiology, and molecular genetics. American Society for Microbiology, Washington, D.C.). 라이게이션물을 대장균 TOP 10 화학적 수용성 세포에 형질전환하고, 형질전환체를 카르베니실린 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 함유 LA 상에서 선별하였다. 올바른 플라스미드를 서열분석으로 확인하고, pJUpperpathway2로 지정하였다 (도 50 및 51). 정제된 플라스미드 DNA를 바실러스 서브틸리스 aprEnprE PxyI-comK에 형질전환하고, 형질전환체를 클로람페니콜 (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 함유 L 한천에서 선별하였다. 올바른 콜로니를 선별하고, 클로람페니콜 10, 15 및 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 함유하는 L 한천 상에서 순차적으로 플레이팅하여 상위 경로를 함유하는 카세트의 카피 수를 증폭시켰다.
- [0474] 1% 글루코오스를 함유하는 LB에서 성장시켜, 생성된 균주를 메발론산 생성에 대해 시험하였다. 메발론산의 생성에 대해 배양물을 GC로 분석하였다.
- [0475] 상기 균주를 하위 메발론산 경로의 융합에 대한 숙주로서 이후 사용하였다.
- [0476] 하기 프라이머를 사용하여 상기 다양한 구성물을 서열분석하였다.
- [0477] 서열분석 프라이머:
- [0478] CF 07-134 (+) aprE 프로모터 PstI의 시작
- [0479] 5'-GACATCTGCAGCTCCATTTTCTTCTGC (SEQ ID NO:82)
- [0480] CF 07-58 (+) mvaE 유전자의 시작
- [0481] 5'-ATGAAAACAGTAGTTATTATTGATGC (SEQ ID NO:38)
- [0482] CF 07-59 (-) mvaE 유전자의 말단
- [0483] 5'-ATGTTATTGTTTCTTAAATCATTTAAATAGC (SEQ ID NO:39)
- [0484] CF 07-82 (+) mvaS 유전자의 시작
- [0485] 5'-ATGACAATTGGGATTGATAAAATTAG (SEQ ID NO:40)
- [0486] CF 07-83 (-) mvaS 유전자의 말단
- [0487] 5'-TTAGTTTCGATAAGAACGAACGGT (SEQ ID NO:41)

- [0488] CF 07-86 (+) mvaE에서의 서열
- [0489] 5'-GAAATAGCCCCATTAGAAGTATC (SEQ ID NO:42)
- [0490] CF 07-87 (+) mvaE에서의 서열
- [0491] 5'-TTGCCAATCATATGATTGAAAAATC (SEQ ID NO:43)
- [0492] CF 07-88 (+) mvaE에서의 서열
- [0493] 5'-GCTATGCTTCATTAGATCCTTATCG (SEQ ID NO:44)
- [0494] CF 07-89 (+) 서열 mvaS
- [0495] 5'-GAAACCTACATCCAATCTTTTGCCC (SEQ ID NO:45)
- [0496] 형질전환체를 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 클로람페니콜을 함유하는 LA 상에서 선별하였다. 한 콜로니가 서열분석에 의해 올바른 융합을 갖는 것을 확증하고, 수 일에 걸쳐 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 최종 수준까지 증가하는 농도로 클로람페니콜을 함유하는 LA 상에서 플레이팅하였다. 이는 관심 유전자를 포함하는 카세트의 증폭을 야기하였다. 생성된 균주를 CF 455: pJMupperpathway#1 X 바실러스 서브틸리스 aprEnprE PxyI comK (클로람페니콜 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 함유하는 LA 상에서 성장하도록 증폭됨)로 지정하였다.
- [0497] II. 바실러스 서브틸리스에서의 하위 MVA 경로의 구성
- [0498] mvk1, pmk, mpd 및 idi로 이루어지는 하위 MVA 경로는 B. 서브틸리스 염색체의 nprE 부위로부터의 측면 DNA 부위 (융합 위치), aprE 프로모터, 및 스펙티노마이신 내성 마커로 이루어지는 카세트에서 조합된다 (도 28 및 29 참조). 상기 카세트를 DNA2.0에 의해 합성하고, aprE 유전자 자리에서 융합된 상위 MVA 경로를 함유하는 B. 서브틸리스의 염색체에 융합하였다. 쿠주 이소프렌 신타아제 유전자를 실시예 4에서 기재된 복제 플라스미드로부터 발현시키고, 상위 및 하위 경로가 모두 융합된 균주에 형질전환하였다.
- [0499] **실시예 10: M. 마제이 메발로네이트 키나아제 및 P. 알바 이소프렌 신타아제를 발현하는 대장균에서의 이소프렌의 생성**
- [0500] I. M. 마제이 메발로네이트 키나아제 (MVK) 및 P. 알바 이소프렌 신타아제를 인코딩하는 균주 및 벡터의 구성
- [0501] (i) 균주 EWL201 (BL21, Cm-GI1.2-KKdyI)의 구성
- [0502] 대장균 BL21 (Novagen brand, EMD Biosciences, Inc.)은 수용 균주로서, MCM331 P1 용해물 ([Ausubel, 등, Current Protocols in Molecular Biology. John Wiley and Sons, Inc.]에서 기재된 방법에 따라 제조된 용해물)로 형질도입되었다. L 한천 및 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 클로람페니콜 상에 세포를 스프레딩하여 형질도입체를 선별하였다. 플레이트를 30°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 형질도입체의 분석으로, 대조군 플레이트 (역전에 대한 물 + 세포 대조군 플레이트, 및 용해물 오염에 대한 물 및 P1 용해물 대조군 플레이트) 상에서는 콜로니가 나타나지 않았다.
- [0503] 네 개의 형질도입체를 고르고, 5 ml L 브로쓰 및 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 클로람페니콜을 접종하는데 사용하였다. 배양물을 200 rpm에서 진탕하면서 30°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. PCR 분석을 위한 각각의 형질도입체의 게놈 DNA 프래그를 만들기 위해, 1.5ml의 하룻밤 세포 배양물을 원심분리하였다. 세포 펠릿을 400 μl 재현탁 완충액 (20 mM Tris, 1 mM EDTA, 50 mM NaCl, pH 7.5)으로 재현탁하고, 4 μl RNase (무-DNase) (Roche)를 첨가하였다. 튜브를 30분 동안 37°C에서 인큐베이션한 후, 4 μl 10% SDS 및 4 μl 의 10 mg/ml 프로테이나아제 K 저장액 (Sigma- Aldrich)을 첨가하였다. 튜브를 1시간 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 세포 용해물을 2 ml Phase Lock Light Gel 튜브 (Eppendorf)에 옮기고, 각각 200 μl 의 포화 페놀 (pH 7.9) (Ambion Inc.) 및 클로로포름을 첨가하였다. 튜브를 잘 혼합시키고, 5분 동안 미세원심분리 (microcentrifuge)하였다. 400 μl 클로로포름으로 두 번째 추출을 수행하고, 수성층을 새로운 에펜도르프 튜브에 옮겼다. 1 ml의 100% 에탄올을 첨가하고 5분 동안 원심분리하여 게놈 DNA를 침전시켰다. 게놈 DNA 펠릿을 1 ml의 70% 에탄올로 세척하였다. 에탄올을 제거하고 게놈 DNA 펠릿을 짧게 자연 건조시켰다. 게놈 DNA 펠릿을 200 μl TE로 재현탁하였다.
- [0504] Pfu Ultra II DNA 중합효소 (Stratagene) 및 주형으로 200 ng/ μl 의 게놈 DNA를 사용하여, 제조사의 프로토콜에 따라 2개의 상이한 세트의 PCR 반응 튜브를 제조하였다. 세트 1에 대해, 프라이머 MCM 130 및 GB Cm-Rev (표 4)를 사용하여 형질도입체가 attTn7 유전자 자리에 성공적으로 융합된 것을 확인하였다. 세트 1에 대한

PCR 매개변수는 하기와 같다: 95℃에서 2분 (첫 사이클에서만), 95℃에서 25초, 55℃에서 25초, 72℃에서 25초 (28 사이클 동안 단계 2~4를 반복), 72℃에서 1분. 세트 2에 대해, 프라이머 MVD For 및 MVD Rev (표 4)를 사용하여 g11.2-KKdyI 오페론이 적절하게 융합된 것을 확인하였다. 세트 2에 대한 PCR 매개변수는 하기와 같다: 95℃에서 2분 (첫 사이클에서만), 95℃에서 25초, 55℃에서 25초, 72℃에서 10초 (28 사이클 동안 단계 2~4를 반복), 72℃에서 1분. 1.2% E-겔 (Invitrogen Corp.)에서의 PCR 앰플리콘의 분석으로, 모든 4개의 형질도입체 클론이 올바르게 나타났다는 것이 나타났다 (하나를 고르고 균주 EWL201로 지정하였음).

[0505] ii) 균주 EWL204 (BL21, 루프아웃-GI1.2-KKdyI)의 구성

[0506] Datsenko 및 Wanner (2000) (Datsenko 등, Proc Natl. Acad. Sci USA 97:6640-6645, 2000)에 의해 기재된 바와 같이 플라스미드 pCP20을 사용하여 클로람페니콜 마커를 균주 EWL201의 외부로 루프화시켰다. 에스케리키아 콜리 K-12에서의 염색체 유전자의 1-단계 불활성은 PCR 생성물을 사용하였다 (Datsenko 등, PNAS, 97:6640-6645, 2000). EWL201 세포를 L 브로쓰에서 중간 로그상까지 성장시킨 후 얼음 냉각된 멸균수로 3회 세척하였다. 50 μ l의 세포 현탁액 분취액을 1 μ l의 pCP20과 혼합하고, 세포 현탁액 혼합물을 Gene Pulser Electroporator (Bio-Rad Inc.)를 사용하여 2.5 볼트 및 25 μ Fd에서 2 mm 큐벳 (Invitrogen Corp.)내에서 전기천공하였다. 1 ml의 LB를 세포에 즉시 첨가한 후, 금속 마개를 갖는 14 ml 폴리프로필렌 튜브 (Sarstedt)에 옮겼다. 30℃에서 1시간 동안 성장시켜 세포가 회수되게 하였다. 형질전환체를 L 한천 및 20 μ g/ μ l 클로람페니콜 및 50 μ g/ μ l 카르베니실린 상에서 선별하고 30℃에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 다음날, 단일 콜로니를 초기 로그상이 될 때까지 10 ml L 브로쓰 및 50 μ g/ μ l 카르베니실린에서 30℃에서 성장시켰다. 이후 성장 배양물의 온도를 2시간 동안 42℃로 변경하였다. 여러 희석물을 제조하고, 세포를 이후 LA 플레이트 (항생제 선택성이 없는) 상에 스프레딩하고, 30℃에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 다음날, 20개의 콜로니를 고르고 L 한천 (항생제 없음) 및 LA 및 20 μ g/ μ l 클로람페니콜 플레이트 상에 적용시켰다. 이후 플레이트를 30℃에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. LA 플레이트에서 성장할 수 있으나, LA 및 20 μ g/ μ l 클로람페니콜 플레이트에서는 성장하지 못하는 세포는 외부에 루프화된 클로람페니콜 마커를 갖는 것으로 간주되었다 (하나를 고르고 균주 EWL204로 지정하였음).

[0507] iii) 플라스미드 pEWL230 (pTrc P. alba)의 구성

[0508] 대장균 발현을 위한 코돈 최적화 방법을 기초로 하여, 포폴루스 알바 이소프렌 신타아제 (P. 알바 HGS)를 인코딩하는 합성 유전자의 생성물을 DNA2.0 Inc. (Menlo Park, CA)에서 외주 제작하였다. 합성 유전자는 플라스미드 pET24a (Novagen brand, EMD Biosciences, Inc.) 내로 주문식으로 클로닝되었고, 동결건조되어 전달되었다 (도 54, 55A 및 55B).

[0509] 제조사의 프로토콜에 따라 주형으로서 pET24 P. alba HGS, 프라이머 MCM182 및 MCM192, 및 Herculase II 융합 DNA 중합효소 (Stratagene)를 사용하여 PCR 반응을 수행하여 P. 알바 이소프렌 신타아제 (P. 알바 HGS) 유전자를 증폭하였다. PCR 조건은 하기와 같다: 95℃에서 2분 (첫 사이클에서만), 95℃에서 25초, 55℃에서 20초, 72℃에서 1분, 25 사이클 동안 반복, 72℃에서 3분 동안 최종 연장.

[0510] QIAquick PCR Purification 키트 (Qiagen Inc.)을 사용하여 P. 알바 이소프렌 신타아제 PCR 생성물을 정제하였다.

[0511] P. 알바 이소프렌 신타아제 PCR 생성물을 이후 1 μ l BspHI 엔도뉴클레아제 (New England Biolabs)와 함께 2 μ l 10X NEB 완충액 4를 함유하는 20 μ l 반응물에서 소화시켰다. 반응물을 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 소화된 PCR 절편을 이후 QIAquick PCR Purification 키트를 사용하여 정제하였다. 제 2 제한 소화를 1 μ l PstI 엔도뉴클레아제 (Roche)와 함께 2 μ l 10X 완충액 H를 함유하는 20 μ l 반응물에서 수행하였다. 반응물을 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 소화된 PCR 절편을 이후 QIAquick PCR Purification 키트를 사용하여 정제하였다. 플라스미드 pTrcHis2B (Invitrogen Corp.)를 1 μ l NcoI 엔도뉴클레아제 (Roche), 1 μ l PstI 엔도뉴클레아제, 및 2 μ l 10X 완충액 H를 함유하는 20 μ l 반응물에서 소화시켰다. 반응물을 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 소화된 pTrcHis2B 벡터를 1.2% E-겔 (Invitrogen Corp.)을 사용하여 겔 정제하고, QIAquick Gel Extraction 키트 (Qiagen)를 사용하여 추출하였다 (도 56). BspHI 및 NcoI 위치의 양립성 부착 말단을 사용하여, 5 μ l P. 알바 이소프렌 신타아제 삽입물, 2 μ l pTrc 벡터, 1 μ l T4 DNA 리가아제 (New England Biolabs), 2 μ l 10X 리가아제 완충액 및 10 μ l ddH₂O를 함유하는 20 μ l 라이게이션 반응물을 제조하였다. 라이게이션 혼합물을 실온에서 40분 동안 인큐베이션하였다. ddH₂O의 페트리 접시에 0.025 μ m 니트로셀룰로오스 막 필터 (Millipore)를 띄우고 실온에서 30분 동안 라이게이션 혼합물을 니트

로셀룰로오스 막 필터 상부에 조심스럽게 도포시켜 라이게이션 혼합물을 탈염시켰다. MCM446 세포 (II 부분 참조)를 LB에서 중간 로그상까지 성장시킨 후 얼음 냉각된 멸균수로 3회 세척하였다. 50 μ l의 세포 현탁액 분취액을 5 μ l의 탈염된 pTrc P. alba HGS 라이게이션 믹스와 혼합하였다. 세포 현탁액 혼합물을 Gene Pulser Electroporator를 사용하여 2.5 볼트 및 25 μ Fd에서 2 mm 큐벳 내에서 전기천공하였다. 1 ml의 LB를 세포에 즉시 첨가한 후, 금속 마개를 갖는 14 ml 폴리프로필렌 튜브 (Sarstedt)에 옮겼다. 30°C에서 2시간 동안 성장시켜 세포가 회수되게 하였다. 형질전환체를 L 한천 및 50 μ g/ μ l 카르베니실린 및 10 mM 메발론산 상에서 선별하고, 30°C에서 인큐베이션하였다. 다음날, 6개의 형질전환체를 고르고, 5 ml L 브로쓰 및 50 μ g/ μ l 카르베니실린 튜브에서 30°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 플라스미드 프래그를 QIAquick Spin Miniprep 키트 (Qiagen)를 사용하여 하룻밤 배양물에서 수행하였다. 플라스미드를 증식시키기 위한 BL21 세포의 사용으로 인해, 고품질 플라스미드 DNA를 획득하기 위하여 PB 완충액 5X 및 PE 완충액 3X를 사용한 스핀 컬럼 세척의 변경을 표준 제조사의 프로토콜에 포함시켰다. 플라스미드를 20 μ l 반응물에서 PstI로 소화시켜 올바른 크기의 선형 절편을 보증하였다. 모든 6개의 플라스미드는 올바른 크기였고, 프라이머 MCM65, MCM66, EL1000로 서열분석하기 위해 Quintara Biosciences (Berkeley, CA)로 수송하였다 (표 4). DNA 서열 분석 결과는 모든 6개의 플라스미드가 올바르다는 것을 나타냈다. 하나를 고르고 플라스미드를 EWL230으로 지정하였다 (도 57, 58A 및 58B).

[0512] iv) 플라스미드 pEWL244 (pTrc P. alba-mMVK)의 구성

[0513] PCR 반응을 수행하여, 제조사의 프로토콜에 따라 주형으로서 MCM376 (v 부분 참조), 프라이머 MCM165 및 MCM177 (표 4 참조), 및 Pfu Ultra II 융합 DNA 중합효소 (Stratagene)를 사용하여 메타노사르키나 마제이 (M. 마제이) MVK 유전자를 증폭하였다. PCR 조건은 하기와 같다: 95°C에서 2분 (첫 사이클에서만), 95°C에서 25초, 55°C에서 25초, 72°C에서 18초, 28 사이클 동안 반복, 72°C에서 1분 동안 최종 연장. M. 마제이 MVK PCR 생성물을 QIAquick PCR Purification 키트 (Qiagen Inc.)를 사용하여 정제하였다.

[0514] 이후, M. 마제이 MVK PCR 생성물을 8 μ l PCR 생성물, 2 μ l PmeI 엔도뉴클레아제 (New England Biolabs), 4 μ l 10X NEB 완충액 4, 4 μ l 10X NEB BSA 및 22 μ l의 ddH₂O를 함유하는 40 μ l 반응물에서 소화시켰다. 반응물을 37°C에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 소화된 PCR 절편을 이후 QIAquick PCR Purification 키트를 사용하여 정제하였다. 제 2 제한 소화를 2 μ l NsiI 엔도뉴클레아제 (Roche), 4.7 μ l 10X 완충액 H 및 40 μ l의 PmeI 소화된 M. 마제이 MVK 절편을 함유하는 47 μ l 반응물에서 수행하였다. 반응물을 37°C에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 소화된 PCR 절편을 이후 1.2% E-겔을 사용하여 겔 정제하고, QIAquick Gel Extraction 키트를 사용하여 추출하였다. 플라스미드 EWL230을 10 μ l 플라스미드, 2 μ l PmeI 엔도뉴클레아제, 4 μ l 10X NEB 완충액 4, 4 μ l 10X NEB BSA 및 20 μ l의 ddH₂O를 함유하는 40 μ l 반응물에서 소화시켰다. 반응물을 37°C에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 소화된 PCR 절편을 이후 QIAquick PCR Purification 키트를 사용하여 정제하였다. 제 2 제한 소화를 2 μ l PstI 엔도뉴클레아제, 4.7 μ l 10X 완충액 H 및 40 μ l의 PmeI 소화된 EWL230 선형 절편을 함유하는 47 μ l 반응물에서 수행하였다. 반응물을 37°C에서 3시간 동안 인큐베이션하였다. 소화된 PCR 절편을 이후 1.2% E-겔을 사용하여 겔 정제하고, QIAquick Gel Extraction 키트를 사용하여 추출하였다 (도 59). NsiI 및 PstI 위치의 양립성 부착 말단을 사용하여, 8 μ l M. 마제이 MVK 삽입물, 3 μ l EWL230 플라스미드, 1 μ l T4 DNA 리가아제, 2 μ l 10X 리가아제 완충액 및 6 μ l ddH₂O를 함유하는 20 μ l 라이게이션 반응물을 제조하였다. 라이게이션 혼합물을 16°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 다음날, ddH₂O의 페트리 접시에 0.025 μ m 니트로셀룰로오스 막 필터를 띄우고 실온에서 30분 동안 라이게이션 혼합물을 니트로셀룰로오스 막 필터의 상부에 조심스럽게 도포시켜 라이게이션 혼합물을 탈염시켰다. MCM446 세포를 LB에서 중간 로그상까지 성장시킨 후 얼음 냉각된 멸균수로 3회 세척하였다. 50 μ l의 세포 현탁액 분취액을 5 μ l의 탈염된 pTrc P.alba-mMVK 라이게이션 믹스와 혼합하였다. 세포 현탁액 혼합물을 Gene Pulser Electroporator를 사용하여 2.5 볼트 및 25 μ Fd에서 2 mm 큐벳 내에서 전기천공하였다. 1 ml의 LB를 세포에 즉시 첨가한 후, 금속 마개를 갖는 14 ml 폴리프로필렌 튜브에 세포를 옮겼다. 30°C에서 2시간 동안 성장시켜 세포가 회수되게 하였다. 형질전환체를 LA 및 50 μ g/ μ l 카르베니실린 및 5 mM 메발론산 플레이트 상에서 선별하고, 30°C에서 인큐베이션하였다. 다음날, 6개의 형질전환체를 고르고, 5 ml LB 및 50 μ g/ μ l 카르베니실린 튜브에서 30°C에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 플라스미드 프래그를 QIAquick Spin Miniprep 키트를 사용하여 하룻밤 배양물에서 수행하였다. 플라스미드를 증식시키기 위한 BL21 세포의 사용으로 인해, 고품질 플라스미드 DNA를 획득하기 위하여 PB 완충액 5X 및 PE 완충액 3X를 사용한 스핀 컬럼 세척의 변경을 표준 제조사의 프로토콜에 포함시켰다. 플라스미드를 20 μ l 반응물에서 PstI로 소

화시켜 올바른 크기의 선형 절편을 보증하였다. 6개의 플라스미드 중 3개는 올바른 크기였고, 프라이머 MCM65, MCM66, EL1000, EL1003 및 EL1006으로 서열분석하기 위해 Quintara Biosciences로 수송하였다 (표 4).

DNA 서열분석 결과는 모든 3개의 플라스미드가 올바르다는 것을 나타냈다. 하나를 고르고 플라스미드를 EWL244로 지정하였다 (도 60, 61A~B).

[0515] v) pET200D에서의 M. 마제이 고세균성 하위로부터의 플라스미드 MCM376 - MVK의 구성

[0516] Invitrogen Platinum HiFi PCR 믹스를 사용하고 프라이머 MCM161 및 MCM162 (표 4)를 사용하여 M. 마제이 고세균성 하위 경로 오페론으로부터의 MVK ORF (도 73A~C)를 PCR 증폭하였다. 45 μ L의 PCR 믹스를 1 μ L 주형, 10 μ M의 각 프라이머 1 μ L, 및 2 μ L 물과 조합하였다. 하기의 사이클과 같은 반응을 수행하였다: 94°C에서 2:00분; 94°C에서 0:30분, 55°C에서 0:30분 및 68°C에서 1:15분의 30 사이클; 및 이후 72°C에서 7:00분, 및 냉각될 때까지 4°C. 3 μ L의 상기 PCR 반응물을 제조사의 프로토콜에 따라 Invitrogen pET200D 플라스미드에 라이게이션시켰다. 3 μ L의 상기 라이게이션물을 Invitrogen TOP 10 세포에 도입하고, 형질전환체를 LA/kan50 상에서 선별하였다. 형질전환체로부터의 플라스미드를 단리하고 삽입물을 서열분석하여, MCM376이 야기되었다 (도 74A~C).

[0517] vi) 균주 EWL251 (BL21(DE3), Cm-GI1.2-KKdyI, pTrc P.alba-mMVK)의 구성

[0518] MCM331 세포 (S. 세레비지에 메발로네이트 키나아제, 메발로네이트 포스페이트 키나아제, 메발로네이트 피로포스페이트 데카르복실라아제 및 IPP 이성화효소를 인코딩하는 염색체 구성물 gi1.2KKdyI를 함유함)를 LB에서 중간 로그상까지 성장시킨 후 얼음 냉각된 멸균수로 3회 세척하였다. 50 μ L의 세포 현탁액을 1 μ L의 플라스미드 EWL244와 혼합하였다. 세포 현탁액 혼합물을 Gene Pulser Electroporator를 사용하여 2.5 볼트 및 25 μ Fd에서 2 mm 큐벳 내에서 전기천공하였다. 1 mL의 LB를 세포에 즉시 첨가한 후, 금속 마개를 갖는 14 mL 폴리프로필렌 튜브에 옮겼다. 30°C에서 2시간 동안 성장시켜 세포가 회수되게 하였다. 형질전환체를 LA 및 50 μ g/ μ L 카르베니실린 및 5 mM 메발론산 플레이트 상에서 선별하고 37°C에서 인큐베이션하였다. 한 콜로니를 선별하고 균주 EWL251로 지정하였다.

[0519] vii) 균주 EWL256 (BL2(DE3), Cm-GI1.2-KKdvI, pTrc P.alba-mMVK, pCL Upper MVA)의 구성

[0520] EWL251 세포를 LB에서 중간 로그상까지 성장시킨 후, 얼음 냉각된 멸균수로 3회 세척하였다. 50 μ L의 세포 현탁액을 1 μ L의 플라스미드 MCM82 (E. 파에칼리스 mvaE 및 mvaS를 인코딩하는 pCL PtrcUpperPathway)와 혼합하였다. 세포 현탁액 혼합물을 Gene Pulser Electroporator를 사용하여 2.5 볼트 및 25 μ Fd에서 2 mm 큐벳 내에서 전기천공하였다. 1 mL의 LB를 세포에 즉시 첨가한 후, 금속 마개를 갖는 14 mL 폴리프로필렌 튜브에 옮겼다. 30°C에서 2시간 동안 성장시켜 세포가 회수되게 하였다. 형질전환체를 LA 및 50 μ g/ μ L 카르베니실린 및 50 μ g/ μ L 스펙티노마이신 플레이트 상에서 선별하고 37°C에서 인큐베이션하였다. 한 콜로니를 고르고 균주 EWL256으로 지정하였다.

[0521] [표 4: 프라이머 서열]

프라이머 명칭	프라이머 서열
MCM130	ACCAATTGCACCCGGCAGA (SEQ ID NO:94)
GB Cm Rev	GCTAAAGCGCATGCTCCAGAC (SEQ ID NO:95)
MVD For	GACTGGCCTCAGATGAAAGC (SEQ ID NO:96)
MVD Rev	CAAACATGTGGCATGGAAAG (SEQ ID NO:97)
MCM182	GGGCCCCGTTAAACTTTAACTAGACTCTGCAGTTAGCGTTCAAACGGCAGAA (SEQ ID NO:98)
MCM192	CGCATGCATGTCATGAGATGTAGCGTGTCCACCGAAAA (SEQ ID NO:99)
MCM65	ACAATTTACACAGGAAACAGC (SEQ ID NO:100)
MCM66	CCAGGCAAATCTGTTTTATCAG (SEQ ID NO:101)
EL1000	GCACTGTCTTTCCGTCTGCTGC (SEQ ID NO:102)
MCM165	GCGAACGATGCATAAAGAGGTAAAAAACATGGTATCCTGTTCTGCGCCGGGTAAGATTTACCTG (SEQ ID NO:103)
MCM177	GGGCCCCGTTAAACTTTAACTAGACTTTAATCTACTTTCAGACCTTGC (SEQ ID NO:104)
EL1003	GATAGTAACGGCTGCGCTGCTACC (SEQ ID NO:105)
EL1006	GACAGCTTATCATCGACTGCACG (SEQ ID NO:106)
MCM161	CACCATGGTATCCTGTTCTGCG (SEQ ID NO:107)
MCM162	TTAATCTACTTTTCAGACCTTGC (SEQ ID NO:108)

[0522]

[0523]

II. MCM442-449의 구성: FRT-cmR-FRT-gil.x-mKKDyI를 갖는 BL21 및 BL21(DE3)

[0524]

i) 재조합을 위한 주형의 구성

[0525]

FRT-기준 재조합 카세트, 및 Red/ET-매개 융합용 플라스미드 및 항생제 마커 루프아웃을 Gene Bridges GmbH (Germany)에서 취득하였다. 이들 재료를 사용하는 절차를 Gene Bridges 프로토콜에 따라 실행하였다. 프라이머 MCM193 및 MCM 195를 사용하여, 제조사의 프로토콜에 따라 Stratagene Herculanase II Fusion 키트를 사용하여 FRT-gb2-Cm-FRT 주형으로부터 내성 카세트를 증폭하였다. 50 uL 반응물을 하기와 같은 사이클에 적용하였다: 95℃, 2분; (95℃, 20초, 55℃, 20초, 72℃, 1분) x 5, (95℃, 20초, 60℃, 20초, 72℃, 1분) x 25; 72℃, 3분; 냉각될 때까지 4℃. 제조사의 프로토콜에 따라 Qiagen PCR 컬럼으로 암플리콘을 정제하고, 30 uL EB (용리 완충액)에서 용리하였다. 1x Roche H 완충액 및 0.5 uL BSA를 갖는 20 uL 반응물 내에서 NdeI 및 PciI로 DNA를 소화시켰다. 각각 1 uL의 NdeI, NcoI, 및 Roche H 완충액을 함유하는 10 uL 반응물 내에서 플라스미드 MCM376을 소화시켰다. 반응을 37℃에서 하룻밤 동안 진행시킨 후, 절단된 DNA를 Qiagen PCR 컬럼 상에서 정제하고 30 uL EB에서 용리하였다. 1 uL 벡터, 3 uL PCR 생성물, 1 uL Roche Quick 리가아제 완충액 2, 5 uL 완충액 1, 및 1 uL 리가아제를 함유하는 반응물 내에서 PCR 생성물을 MCM376에 라이게이션 하였다. 반응을 실온에서 3시간 동안 진행시킨 후, 제조사의 프로토콜에 따라 5 uL를 Invitrogen TOP 10 세포에 형질전환하였다. 형질전환체를 L 한천 (LA) 및 클로람페니콜 (10 ug/ml) 상에서 37℃에서 하룻밤 동안 선별하였다.

[0526]

보관을 위해 형질전환체 콜로니를 클로람페니콜 (30 ug/ml) 및 카나마이신 (50 ug/ml) 함유 LA에 적용하고, 서열분석을 위해 Quintara (Berkeley, CA)에 보냈다. 프라이머 MCM195 내의 "N"에서의 네 가지 상이한 뉴클레오티드를 각각 갖는 네 개의 콜로니가, 삽입된 프로모터에 대해 올바른 서열을 갖는 것으로 발견되었다. 클론을 클로람페니콜 (30 ug/ml) 및 카나마이신 (50 ug/ml) 함유 LB 5 ml에서 성장시키고, 플라스미드 DNA의 제조에 사용하였다. 상기 플라스미드를 TOP 10 세포에 재형질전환하고, 균주를 하기와 같이 동결하였다:

[0527]

[표 5: MCM484-487]

MCM484	pET내의 cmR-gil.6-MVK(mazei) (클론 A1-3, 가변 뉴클레오티드 A)
MCM485	pET내의 cmR-gil.10-MVK(mazei) (클론 B4-6, 가변 뉴클레오티드 C)
MCM486	pET내의 cmR-gil.12-MVK(mazei) (클론 C1-5, 가변 뉴클레오티드 G)
MCM487	pET내의 cmR-gil.15-MVK(mazei) (클론 C3-3, 가변 뉴클레오티드 T)

[0528]

[0529]

ii) 재조합 표적 균주 MCM349 및 MCM441의 생성

[0530]

제조사의 지시사항에 따라 플라스미드 pGB706 (GeneBridges)을 사용하여 클로람페니콜 내성 (cmR) 마커를 균주 MCM331의 외부로 루프화시켰다. MCM331 세포를 LB에서 중간 로그상까지 성장시킨 후, 얼음 냉각된 멸균수로

3회 세척하였다. pGB706 DNA의 1 μ L 분취액을 50 μ L의 세포 현탁액에 첨가하고, 상기 혼합물을 2.5 볼트, 25 μ Fd에서 2 mm 큐벳 내에서 전기천공한 직후 30℃에서 1시간 동안 500 μ L LB에서 회수하였다. 형질전환체를 30℃에서, 테트라사이클린 (5 μ g/ml) 함유 LB 상에서 선별하였다. 다음날, 눈에 띄게 탁해질 때까지 (약 0.5~0.8의 OD₆₀₀) 클론을 테트라사이클린 (5 μ g/ml) 함유 LB에서 30℃에서 성장시켰다. 상기 배양물을 LB에 스트리킹하고 37℃에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 클로람페니콜 (10 μ g/ml) 함유 LB 또는 테트라사이클린 (5 μ g/ml) 함유 LB에서 성장할 수 없는 클론을 MCM348로서 동결하였다. 플라스미드 MCM356 (pRedET 카르베닐린; GeneBridges)을 상기 기재된 바와 같이 전기천공하고, 형질전환체를 카르베닐린 (50 μ g/ml) 함유 LB 상에서 30℃에서 선별하였다. 클론을 LB 카르베닐린 (50 μ g/ml)에서 30℃에서 성장시키고 MCM349로서 동결하였다.

[0531] 상기와 같이 플라스미드 MCM356를 EWL204에 전기형질전환 (electrotransformation)하여 균주 MCM441을 제작하였다.

[0532] iii) FRT-cmR-FRT-gil.x-mMKDyI의 MCM349 및 MCM441 내로의 재조합

[0533] 제조사의 프로토콜에 따라, 프라이머 MCM120 및 MCM196 및 Herculanase II Fusion 키트와 함께 PCR 증폭을 위한 주형으로서 플라스미드 MCM484-487을 사용하였다. 0, 1 또는 3 μ L DMSO로, 주형 당 세 반응을 실행하였다.

50 μ L 반응물을 하기와 같은 사이클에 적용하였다: 95℃, 2분; 5 사이클 동안 (95℃, 20초; 55℃, 20초; 72℃, 1.5분); 25 사이클 동안 (95℃, 20초; 60℃, 20초; 72℃, 1.5분); 72℃에서 3분; 하룻밤 동안 4℃. 주어진 주형으로부터의 세 반응물을 모으고 Qiagen PCR 컬럼 상에서 정제하고, 60℃에서 30 μ L EB로 용리하였다.

37℃에서 3시간 동안 1x Roche 완충액 A에서 5 μ L DNA를 1 μ L DpnI으로 소화시켰다. 상기 DNA를 이후 30분 동안 과량의 물에 대해 미세투석하였다.

[0534] 새로이 스트리킹한 균주를 30℃에서 약 0.5의 OD₆₀₀으로 카르베닐린 (50 μ g/ml) 함유 LB 5 mL에서 성장시켰다.

40 mM L-아라비노오스를 첨가하고, 배양물을 37℃에서 1.5시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를 수확하고 상기 3 μ L 투석된 암플리콘으로 전기천공한 후, 500 μ L SOC에서 37℃에서 1.5~3시간 동안 회수하였다. 형질전환체를 클로람페니콜 (5 μ g/ml) 함유 LA 플레이트 상에서 37℃에서 선별하였다.

[0535] 카나마이신 감수성 클론을 암플리콘의 삽입을 위한 PCR에 의해 스크리닝하였다. 양성 클론으로부터의 PCR 생성물을 서열분석하여 삽입된 DNA의 서열을 확인하였다. 암플리콘은 FRT-cmR-FRT-gil.x-mMKDyI로 대체되는 MCM441 및 348 내 attTn7에서의 FRT-gil.2-yMKDyI와 일치하였다 (yK 및 mK 지정은 각각 사카로마이세스 세레비지에 및 메타노사르키나 마제이로부터의 메탈로네이트 키나아제를 나타냄).

[0536] [표 6A: 하기의 균주를 클로람페니콜 (5 μ g/ml) 함유 LB에서 성장시키고 동결하였음]

균주 ID	명칭	모체	재조합 암플리콘 주형
MCM442	BL21(DE3) cmR-gil.6mMKDyI A1, 클론 37 (A)	MCM349	MCM484
MCM443	BL21(DE3) cmR-gil.0mMKDyI B4, 클론 27 (C)	MCM349	MCM485
MCM444	BL21(DE3) cmR-gil.2mMKDyI C1, 클론 16 (G)	MCM349	MCM486
MCM445	BL21(DE3) cmR-gil.5mMKDyI C3, 클론 7 (T)	MCM349	MCM487
MCM446	BL21 cmR-gil.6mMKDyI A1-3 (A)	MCM441	MCM484
MCM447	BL21 cmR-gil.0mMKDyI B4-6 (C)	MCM441	MCM485
MCM448	BL21 cmR-gil.2mMKDyI C1-5 (G)	MCM441	MCM486
MCM449	BL21 cmR-gil.5mMKDyI C3-3 (T)	MCM441	MCM487

[0537]

[0538] [표 6B: 프라이머]

MCM120	AAAGTAGCCGAAGATGACGGTTTGTACATGGAGTTGGCAGGAT
MCM193	GATATACATATGAATTAACCCTCACTAAAGGGCGG (SEQ ID NO:109)
MCM195	GATATACATATGAATTAACCCTCACTAAAGG (SEQ ID NO:110)
MCM196	GCATGCATGACATGTTTTTTACCTCCTTGTATCCGCTCACAAT
	TAGTGGTTGAATTATTTGCTCAGGATGTGGCATNGTCAAGGGCG
	CGGCCGCGATCTAATACGACTCACTATAGGGCTCG (SEQ ID NO:111)
	AGGCTCTCAACTCTGACATGTTTTTTCTCCTCTTAAGGGTGCAGG
	CCTATCGCAAATTAGCTTAATCTACTTTTCAGACCTTGCTCGG
	(SEQ ID NO:112)

[0539]

[0540] III. 메발론산 경로로부터의 유전자를 발현하며 15 ℓ 규모에서의 유가식 배양물에서 성장하는 대장균에서의 이소프렌 생성에 대한 효모 추출물의 효과

[0541] 배지 제조 방법 (발효 배지 ℓ 당):

[0542] K₂HPO₄ 7.5 g, MgSO₄ * 7H₂O 2 g, 시트르산 일수화물 2 g, 구연산 철 암모늄 0.3 g, 효모 추출물 0.5 g, 1000X 변형 미량 금속 용액 1 ml. 모든 성분을 diH₂O에 함께 첨가하고 용해하였다. 상기 용액을 오토클레이브 하였다. 수산화암모늄 (30%)으로 pH를 7.0으로 조정하고 부피에 대해 충분량이 되게 하였다. 글루코오스 10 g, 티아민 * HCl 0.1 g, 및 항생제를 멸균 및 pH 조정 후 첨가하였다.

[0543] 1000X 변형 미량 금속 용액:

[0544] 시트르산 * H₂O 40 g, MnSO₄ * H₂O 30 g, NaCl 10 g, FeSO₄ * 7H₂O 1 g, CoCl₂ * 6H₂O 1 g, ZnSO₄ * 7H₂O 1 g, CuSO₄ * 5H₂O 100 mg, H₃BO₃ 100 mg, NaMoO₄ * 2H₂O 100 mg. 각각의 성분을 Di H₂O에 한번에 하나씩 용해하고, HCl/NaOH로 pH를 3.0이 되게 하고, 부피에 대해 충분량이 되게 하고 0.22 마이크론 필터로 여과 멸균하였다.

[0545] 상위 메발론산 (MVA) 경로 (pCL Upper), 융합된 하위 MVA 경로 (gi1.2KKDyI), 및 M. 마제이로부터의 메발로네이트 키나아제 및 P. 알바로부터의 이소프렌 신타아제 (pTrcAlba-mMVK)의 고발현물을 포함하는 BL21 (DE3) 대장균 세포를 갖는 15 ℓ 생물반응기에서 발효를 실행하였다. 이러한 실험을 실행하여 원하는 발효 pH 7.0 및 온도 30℃에서 글루코오스로부터 이소프렌이 형성되는 것을 모니터링하였다. 대장균 균주의 동결 바이알을 해동시키고, 트립톤-효모 추출물 배지에 접종하였다. 접종물이 OD 1.0 (550 nm에서 측정됨)으로 성장한 후, 초기 부피를 5 ℓ 로 하는 15 ℓ 생물반응기에 접종하는데 500 ml를 사용하였다.

[0546] i) 효모 추출물 공급 없이 유가식 배양에서 성장한 대장균 세포 (EL256)에서의 이소프렌의 생성

[0547] 세포가 정지상에 도달할 때까지 지수 증대 속도로 글루코오스를 공급하였다. 이후, 글루코오스 공급을 감소시켜 대사작용 요구를 충족시켰다. 67시간 발효 동안 생물반응기로 전달된 글루코오스의 총량은 3.9 kg이었다. 이소프로필-베타-D-1-티오갈락토피라노시드 (IPTG)를 첨가하여 유도하였다. 550 nm에서의 광학 밀도 (OD₅₅₀)가 9의 값에 도달했을 때 IPTG 농도는 102 μM이었다. OD₅₅₀이 140에 도달했을 때 IPTG 농도는 192 μM으로 상승하였다. 시간에 걸친 생물반응기 내의 OD₅₅₀ 프로파일을 도 67A에 나타내었다. 생물반응기로부터의 배출 기체 중 이소프렌 수준을 Hiden 질량 분석기를 사용하여 측정하였다. 이소프렌 역가는 발효의 과정에 걸쳐 35.6 g/L의 최종 값으로 증가하였다 (도 67B). 67시간 발효 동안 생성된 이소프렌의 총량은 320.6 g이었고, 생성의 시간 추이를 도 67C에 나타내었다. TCER로 측정된 바와 같은 대사작용 활성 프로파일을 도 67D에 나타내었다. 발효 동안 이소프렌을 생성하는데 이용된 탄소의 물 수율은 17.9%였다. 글루코오스로부터의 이소프렌의 중량% 수율은 8.1%였다.

[0548] 효모 추출물을 공급하는 유가식 배양에서 성장한 대장균 세포 (EL256)에서의 이소프렌의 생성

[0549] 세포가 정지상에 도달할 때까지 지수 증대 속도로 글루코오스를 공급하였다. 이후, 글루코오스 공급을 감소시켜 대사작용 요구를 충족시켰다. 68시간 발효 동안 생물반응기로 전달된 글루코오스의 총량은 7.1 kg이었다. 총 1.06 kg의 효모 추출물을 또한 발효 동안 공급하였다. IPTG를 첨가하여 유도하였다. 550 nm에서의 광학 밀도 (OD₅₅₀)가 7의 값에 도달했을 때 IPTG 농도는 208 μM이었다. OD₅₅₀이 180에 도달했을 때 IPTG 농도는 193 μM으로 상승하였다. 시간에 걸친 생물반응기 내의 OD₅₅₀ 프로파일을 도 68A에 나타내었다.

생물반응기로부터의 배출 기체 중 이소프렌 수준을 Hiden 질량 분석기를 사용하여 측정하였다. 이소프렌 역가는 발효의 과정에 걸쳐 32.2 g/L의 최대값으로 증가하였다 (도 68B). 68시간 발효 동안 생성된 이소프렌의 총량은 395.5 g이었고, 생성의 시간 추이를 도 68C에 나타내었다. 체적 생산성의 시간 추이를 도 68D에 나타내었고, 이는 1.1 g/L/시간의 평균 속도를 23 내지 63시간 동안 유지하였다는 것을 나타낸다. CER로 측정된 바와 같은 대사작용 활성 프로파일을 도 68E에 나타내었다. 발효 동안 이소프렌을 생성하는데 이용된 탄소의 물 수율은 10.3%였다. 글루코오스로부터의 이소프렌의 중량% 수율은 5.2%였다.

[0550] IV. 메발론산 (MVA) 경로 및 이소프렌 신타아제를 갖는 대장균 (EWL256)에서의 상이한 탄소원으로부터의 이소프렌의 생성

[0551] 배지 제조 방법 (발효 배지 ℓ 당):

[0552] K_2HPO_4 13.6 g, KH_2PO_4 13.6 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 g, 시트르산 일수화물 2 g, 구연산 철 암모늄 0.3 g, $(NH_4)_2SO_4$ 3.2 g, 효모 추출물 0.2 g, 1000X 변형 미량 금속 용액 1 ml. 모든 성분을 순차적으로 diH_2O 에 용해하였다.

수산화암모늄 (30%)으로 pH를 6.8로 조정하고, 부피에 대해 충분량이 되게 하였다. 배지를 0.22 마이크론 필터로 여과 멸균하였다. 탄소원을 1%의 최종 농도로 첨가하였다. 멸균 및 pH 조정 후에 필요한 항생제를 첨가하였다.

[0553] 1000X 미량 금속 용액 (발효 배지 ℓ 당):

[0554] 시트르산 * H_2O 40 g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 30 g, NaCl 10 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 1 g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 100 mg, H_3BO_3 100 mg, $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ 100 mg. 각각의 성분을 diH_2O 에 한번에 하나씩 용해하고, HCl/NaOH로 pH를 3.0이 되게 하고, 부피에 대해 충분량이 되게 하고 0.22 마이크론 필터로 여과 멸균하였다.

[0555] i) AFEX 바이오매스 가수분해물의 제조

[0556] AFEX 사전처리된 옥수수대를 가수분해하여 자일로오스, 글루코오스 및 아세테이트를 모두 함유하는 바이오매스 가수분해물을 제조하였다.

[0557] [Michigan Biotechnology Institute]에서 제공된 AFEX 사전처리 옥수수대를 사용하였다. 사전처리 조건은 60% 수분, 1:1 암모니아 적하량, 및 90℃에서 30분 동안이었고, 그 후 자연 건조하였다. AFEX 사전처리 옥수수대 중의 수분 함량은 21.27%였다. AFEX 사전처리 옥수수대 중의 글루칸 및 자일란의 함량은 각각 31.7% 및 19.1% (건조량 기준)였다. 사용되는 효소는 Accellerase 1000, Grindamyl H121 (제빵용 아스페르길루스 니게르로부터의 Danisco 자일라나아제 제품)이었다.

[0558] 당화의 경우, 20 g의 AFEX 사전처리 옥수수대를 500 ml 플라스크 내에, 5 ml의 1 M pH 4.8 나트륨 시트레이트 완충액, 2.25 ml의 Accellerase 1000, 0.1 ml의 Grindamyl H121, 및 72.65 ml의 DI 물과 함께 첨가하였다. 플라스크를 케도 진탕기에 넣고, 50℃에서 96시간 동안 인큐베이션하였다.

[0559] 분석을 위해, 진탕기에서 하나의 샘플을 취하여, HPLC를 사용하여 분석하였다. 가수분해물에는 37.2 g/L의 글루코오스 및 24.3 g/L의 자일로오스, 및 7.6 g/L의 글루코오스 및/또는 자일로오스의 올리고머가 함유되어 있었다. 추가적으로는, 가수분해물에는 또한 1.17 g/L 아세테이트가 함유되어 있었다.

[0560] ii) 실험 절차

[0561] MVA 경로 및 이소프렌 신타아제를 함유하는 대장균 균주 EWL256의 접종물을 동결 바이알로부터 취하고 스펙티노 마이신 (50 ug/ml) 및 카르비니클린 (50 ug/ml)을 함유하는 LB 브로쓰 한천 플레이트에 스트리킹하고 30℃에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 단일 콜로니를 유일한 탄소원으로서 글루코오스, 자일로오스, 글리세롤, 아세테이트 또는 바이오매스를 함유하는 TM3 배지에 접종하고, 30℃에서 하룻밤 동안 성장시켰다. 아세테이트 상에서 성장한 세포는 유의하게 낮은 광학 밀도에 도달하였다. 글루코오스, 글리세롤, 바이오매스 가수분해물 또는 아세테이트 상에서 성장한 세포를 각각의 탄소원을 함유하는 TM3 배지 20 ml에 희석하여 600 nM에서 측정된 0.1 사이의 광학 밀도에 도달하도록 하였다. 임의의 탄소원을 함유하지 않는 음성 대조군을 글루코오스 하룻밤 배양물로부터 제조하였다. 글루코오스 및 자일로오스로 별도의 실험을 수행하였고, 이때 배양물을 0.05의 광학 밀도로 희석하였다. 모든 배양 조건 (아세테이트 및 글리세롤의 경우를 제외함)을 2 반복으로 시험하고, 제시된 결과는 이들 배양물 사이의 평균으로 정하였다. 시험 시작시 200 μM IPTG로 이소프렌의 생성을 유도하였다. 플라스크를 케도 진탕기 (200 rpm)에서 30℃에서 인큐베이션하고, 광학 밀도 측정에

의해 성장을 확인하였다. 글루코오스 공급 배양물이 약 0.4의 광학 밀도에 도달한 후, 샘플을 3시간 동안 매 시간 모든 시험된 탄소원으로부터의 이소프렌 생성에 대해 분석하였다. 100 μ l의 샘플을 2 ml 유리 바이알로 2 반복으로 옮기고, 밀봉하고 30분 동안 30°C에서 인큐베이션하였다. 이후 80°C에서 8분 동안의 인큐베이션에 의해 세균을 열 사멸시켰다. GC-MS를 사용하여 생성된 이소프렌의 양을 측정하고 특이적 생산성 (μ g/L*시간)을 계산하였다.

[0562] iii) 결과

[0563] 모든 시험된 탄소원 상에서의 성장 동안 유의한 이소프렌 생성이 입증될 수 있었다. 이러한 탄소원은 통상의 알코올, 유기산, 5 또는 6 (C5 또는 C6) 탄당, 및 바이오매스 가수분해물의 예이다.

[0564] 바이오매스 가수분해물 상에서의 초기 성장 속도는 글루코오스 상에서의 성장 속도에 필적하였다 (도 69A). 바이오매스 가수분해물 상에서의 성장 동안의 초기 특이적 생산성은 글루코오스 상에서의 성장 동안의 것보다 유의하게 높았다. 이것은 바이오매스 가수분해물이 이소프렌 생성을 위한 효율적인 탄소원으로서 사용될 수 있다는 것을 입증한다. 특이적 생산성은 바이오매스 가수분해물 상에서의 성장 255분 후 감소하였다 (도 69B). 세균은 글루코오스와 비교하였을 때 유일한 탄소원으로서 자일로오스를 사용하여 낮은 성장 속도를 보였으나 (도 69C), 유의한 특이적 이소프렌 생산성이 측정되었다 (도 69D). 이는 C5 및 C6 당 모두가 메발로네이트 산 경로를 통한 이소프렌의 생성에 이용될 수 있다는 것을 보여준다.

[0565] 놀랍게도, 유일한 탄소원으로서의 아세테이트 상에서 성장한 세균은 글루코오스 상에서의 성장 동안 약 2배 높은 이소프렌의 특이적 생산성을 가졌다 (도 69A). 세균은 글루코오스와 비교하였을 때 아세테이트 상에서 더 느리게 성장하지만 (도 69B), 수행된 실험은 아세테이트가 또한 이소프렌의 생성을 위한 탄소원으로서 사용될 수 있다는 것을 입증한다. 아세테이트는 또한 HPLC에 의해 측정된 바와 같이 바이오매스 가수분해물 내에 존재하였다.

[0566] 세균은 유일한 탄소원으로서의 글리세롤로 잘 성장하였고 (도 69A), 유의한 이소프렌 생성이 입증되었다 (도 69B). 이는 통상의 알코올도 또한 메발로네이트 산 경로를 통한 이소프렌의 생성을 위한 탄소원으로서 사용될 수 있다는 것을 보여준다.

[0567] **실시예 11: 스트렙토마이세스 종에서의 식물로부터의 이소프렌-신타아제의 발현**

[0568] 이소프렌 신타아제 Kudzu에 대한 유전자는 플라스미드 pJ201:19813으로부터 획득되었다. 플라스미드 pJ201:19813은 푸에라이아 로바타 (*Pueraria lobata*) (Kudzu 식물)로부터의 이소프렌 신타아제를 인코딩하고, 슈도모나스 플루오레스센스 (*Pseudomonas fluorescens*), 슈도모나스 푸티다 (*Pseudomonas putida*), 로도슈도모나스 팔루스트리스 (*Rhodopseudomonas palustris*) 및 코리네박테리움 (*Corynebacterium*)에 대해 코돈-최적화되어 있다 (도 79A-79C (SEQ ID NO:123)). 플라스미드 pJ201:19813를 제한 효소 NdeI 및 BamHI로 소화시키면 유전자 iso19813이 방출되고, 이를 스트렙토마이세스-대장균 셔틀 벡터 pUWL201PW (Doumith 등, *Mol. Gen. Genet.* 264: 477-485, 2000; 도 71) 내로 라이게이션시켜 pUWL201_iso를 생성시킨다. pUWL201_iso의 제한 분석에 의해 성공적인 클로닝을 확인하였다. 이소프렌 신타아제 iso19813의 발현은, 스트렙토마이세스 종에서의 항시적 발현은 허용하나, 대장균에서의 발현은 허용하지 않는 erm-프로모터의 조절 하에서 이루어졌다.

[0569] PUWL201PW (삽입물 없음) 및 pUWL201_iso를 [Hopwood 등., *The John innes foundation*, Norwich, 1985]에 의해 기재되는 바와 같이 원형질체의 형질전환에 의해 스트렙토마이세스 알부스 J1074 (Sanchez 등., *Chem. Biol.* 9:519-531, 2002) 내로 도입하였다.

[0570] 원형질체 현탁액의 200 μ l 분취액을 1.9 μ g pUWL201PW 또는 2.9 μ g pUWL201_iso로 형질전환시켰다. 비-선별성 R5-한천 플레이트 상에서 28°C에서 하룻밤 동안 인큐베이션한 후, 티오스트렙톤 (250 μ g/ml)을 함유하는 R3-오버레이 한천에서 4일 동안 추가 인큐베이션하여 양성 형질전환체를 선별하였다. 티오스트렙톤 내성 형질전환체를 Plasmid Mini 키트 (Qiagen)를 사용하는 플라스미드 제제에 의해 pUWL-플라스미드의 존재 하에서 시험하였다. 준비된 플라스미드 DNA를 대장균 DH5 α 내로 재도입하여, 제한 분석으로 분석하기에 충분한 양의 플라스미드 DNA를 생성시켰다. 양성 형질전환체를 암피실린-함유 L-한천 플레이트 상에서 선별하고 NdeI 및 BamHI 엔도뉴클레아제로 플라스미드 DNA를 소화시켜 삽입물 분석을 수행하였다. 이소프렌 신타아제를 양성 pUWL201 iso 클론에서 1.7 kb 절편으로서 확인하였으나, 대조군 균주 (pUWL201PW)에서는 이러한 절편이 관찰되지 않았다.

[0571] 대조군 플라스미드 pUWL201PW 또는 이소프렌 신타아제 인코딩 pUWL201_iso를 함유하는 S. 알부스의 형질전환체 및 야생형 균주를 이소프렌 형성에 대해 분석하였다. 티오스트렙톤 (200 μ g/ml)의 존재 또는 부재 하의 고

체 배지 (트립신 콩 브로쓰 한천, TSB; 2.5 ml) 상에서 균주를 2 반복으로 배양하고, 밀봉된 상부공간 바이알 (총 부피 20 ml) 내에 28℃에서 4일 동안 인큐베이션하였다. SIM-방식으로 GC-MS에 의해 500 μ l 상부공간 샘플 (종결 지점 측정)을 분석하고, 이소프렌을 참조 지체 시간 및 분자량 (67 m/z)에 따라 확인하였다. 상부공간 샘플 내에 존재하는 이소프렌을 이전에 생성된 검정 곡선에 의해 정량화하였다. 야생형 S. 알부스 및 pUWL201PW를 갖는 대장균 균주가 이소프렌을 검출 한계 (0.04~0.07 ppm) 보다 약간 높은 농도로 생성하는 반면, pUWL201_iso를 갖는 S. 알부스는 대장균에 비해 10배 이상 초과량으로 이소프렌을 생성하였다 (0.75 ppm; 도 72). 상기 결과는 악티노마이세테스 (Actinomycetes) 균의 원핵세포 유기체 내 식물 유래 이소프렌 신타아제의 성공적인 발현을 입증한다.

[0572] 실시예 12: 상위 또는 상위 및 하위 메발론산 경로, 및 쿠주 이소프렌 신타아제를 함유하는 대장균 fadR atoC LS5218 내에서의 지방산 또는 야자유로부터 이소프렌 또는 메발로네이트의 생성

[0573] 에스케리키아 콜라이 (대장균) fadR atoC 균주 LS5218 (#6966)은 [Coli Genetic Stock Center]로부터 획득하였다. FadR은 지방산 분해 효소를 인코딩하는 유전자의 발현을 하향 조절하는 전사 억제자를 인코딩한다 (Campbell 등, J. Bacteriol. 183: 5982-5990, 2001). AtoC는 AtoS와 함께 2 성분 조절 시스템에서의 반응 조절자로서, 아세토라테이트 신진 대사를 조절한다. fadR atoC 균주는 지방산 분해 유전자의 구조적 발현을 허용하고 장쇄 지방산을 장쇄 길이 폴리하이드록시알카노에이트 내로 도입시킨다. 야자유가 메발로네이트 또는 이소프렌 생성을 위한 탄소원으로서 사용되는 경우, 야자유는 글리세롤과 지방산으로 변환되었다. 이에 대한 방법은 당업계에 잘 알려져 있고, 이는 리파아제 (예를 들어, 돼지 (Porcine) 췌장 리파아제, 칸디다 루고사 (Candida rugosa) 리파아제, 또는 기타 유사한 리파아제)로의 인큐베이션에 의해 효소적으로 또는 수산화나트륨과 같은 염기로의 비누화에 의해 화학적으로 수행될 수 있다.

[0574] i) 상위 메발론산 경로를 발현하는 대장균 fadR atoC 균주

[0575] 표준 방법 (Sambrooke 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor, 1989)을 사용하여 pCLPtrUpperPathway를 LS5218 내로 전기천공하여 균주 WW4를 제작하였다. 탄소원으로서 C12 지방산 (FA) 또는 야자유가 보충된 TM3 배지에서 세포를 배양한 경우 메발론산 (MVA) 생성에 의해 플라스미드의 도입이 입증되었다. 지방산으로부터 WW4에 의한 MVA의 생성을 입증하기 위해, 하룻밤 배양액으로부터의 세포를 0.25% C12 FA (Sigma 카탈로그 번호 L9755)가 보충된 변형 TM3 배지 (효모 추출물이 없는 TM3) 5 ml 내로 1 내지 100 배 희석시켰다. MVA 생성 (24 mg/L)의 첫 번째 징후는 IPTG 유도 배양액의 30℃에서의 하룻밤 동안의 인큐베이션 후 명백하였다. 생성된 MVA의 194 mg/L의 최종 수준으로 3일에 걸쳐 생성이 증가하였다. 오일로부터 WW4에 의한 MVA의 생성을 입증하기 위해, 하룻밤 배양액으로부터의 세포를 TM3 배지 5 ml 당 200 mg의 소화된 야자유가 보충된 변형 TM3 배지 내로 1 내지 100배 희석시켰다. MVA 생성 (50 mg/L)의 첫 번째 징후는 IPTG 유도 배양액의 30℃에서의 하룻밤 동안의 인큐베이션 후 명백하였다. 생성된 MVA의 500 mg/L의 최종 수준으로 3일에 걸쳐 생성이 증가하였다.

[0576] ii) 상위 및 하위 MVA 경로 및 쿠주 이소프렌 신타아제를 발현하는 대장균 fadR atoC 균주

[0577] 에스케리키아 콜라이 (대장균) 균주 WW4 (LS5218 fadR atoC pCLPtrUpperPathway)를 pMCM118 [pTrcKKDyIkIS]로 형질전환시켜 WW10을 획득하였다. 균주를 TM3 및 글루코오스에서 배양하고 IPTG (100, 300 또는 900 μ M)로 유도한 경우 이소프렌의 생성이라는 증거에 의해 플라스미드의 도입이 입증되었다. 균주는 IPTG에 비교적 민감성이었고, 100 μ M IPTG에서도 유의한 성장 결핍을 보였다. 이러한 결과를 도 70A에 나타내었다.

[0578] 도데칸산으로부터의 이소프렌 생성을 시험하기 위해, WW10을 스펙티노마이신 (50 μ g/ml), 및 카나마이신 (50 μ g/ml) 함유 L 브로쓰에서 200 rpm에서 진탕하면서 37℃에서 하룻밤 동안 배양하였다. 변형 TM3 배지로의 본래 배양 부피에서의 원심분리 및 재현탁에 의해 세포를 변형 TM3 배지로 세척하였다. 상기 종균 배양물 (starter culture)로부터 세척되고 재현탁된 세포를 0.125% C12 지방산 (Sigma 카탈로그 번호 L9755) 함유 변형 TM3 배지 5 ml 내로 1 내지 100배 및 1 내지 10배 희석하였다.

[0579] 야자유로부터의 메발로네이트의 생성을 입증하기 위하여, 37℃ 및 250 rpm에서 수일 동안 리파아제로 오일을 사 전소화시켜 지방산을 방출시켰다 (튜브가 진탕될 때 형성된 거품에 의해 가수분해가 증명되는 것으로 판단됨).

[0580] 추가로, 야자유와 함께 시험 튜브에 함유된 변형 TM3 매질에서 세척된 세포를 1 내지 10배 희석시킴으로써 배양 물을 제조하였다. 추가 희석 없이 세척된 세포의 잔여물 (2.5 ml)에 0.125% C12FA를 첨가함으로써 추가 튜브를 제조하였다 (생물변환 (bioconversion)). 250 rpm에서 진탕하면서 30℃에서 3.75시간 성장시킨 후, 50 μ M IPTG를 첨가하여 배양물 모두를 유도하였다. 변형된 상부공간 검정법 (500 rpm에서 진탕하면서 30℃

에서 1시간 축적)을 이용하여 이소프렌 축적에 대해 각각의 배양물 200 μ L를 검정한 후 4시간 동안 인큐베이션을 지속하였다. 추가적인 이소프렌 검정법을 GCMS 분석 전에 검정법 유리 블록의 12시간 인큐베이션으로 수행하였다. 유도된 배양물의 인큐베이션을 하룻밤 동안 유지하고, 다음날 아침 200 μ L 분취량을 이소프렌 생성에 대해 다시 검정하였다 (1시간, 30 deg, 500 rpm Shel-Lab 진탕기). 상기 배양물의 분석을 통해 유의한 수준의 이소프렌의 생성이 나타났다. 하룻밤 동안 인큐베이션되고 유도된 후 하룻밤 평균 배양물로부터의 1/10 희석물로 점종된 배양물에서 최고 수준의 이소프렌이 관찰되었다. 이러한 결과는 상기 배양물이 지속적으로 성장하고 세포 밀도를 증가시킨다는 것을 제안한다. 이러한 결과를 도 70B에 나타내었다. 지방산 현탁액의 외관이 탁하기 때문에 세포 밀도를 직접 측정할 수 없다. 그러므로 상기 배양물의 분취량을 플레이트하여 상기 배양물의 세포 밀도를 측정하였고, 8×10^7 콜로니 형성 단위가 나타났다. 이는 0.1의 OD₆₀₀에 거의 상응한다. 그럼에도, 상기 배양물은 유의한 이소프렌 생성을 제공하였고; 본 실시예에 기재된 경로 없이는 유사한 균주에 대해서 이소프렌이 관찰되지 않는다.

[0581] 실시예 13: 대장균에서 ybhE의 항시적 발현에 의한 이소프렌 생성의 향상

[0582] 본 실시예는 야생형 ybhE를 갖는 대조균 균주와 비교하여 ybhE (pgl)을 항시적으로 발현하는 균주에서의 이소프렌 생성을 나타낸다. 유전자 ybhE (pgl)는 이중으로 발현되는 단백질의 번역 후 글루코닐화를 억제하고, 생성물 용해도 및 수율을 향상시키면서 펜토오스 포스페이트 경로를 통해 바이오매스 수율 및 플럭스를 또한 개선시키는 6-포스포글루코노락토나아제를 인코딩한다 (Aon 등, Applied and Environmental Microbiology, 74(4): 950-958, 2008).

[0583] 이소프렌을 생성하는 대장균의 BL21 균주 (EWL256)는 복제 플라스미드 pBBR1MCS5 (젠타마이신) (Dr. K. Peterson, Louisiana State University로부터 수득함) 상의 ybhE 유전자의 항시적 발현으로 구성된다.

[0584] FRT-기준 재조합 카세트, 및 Red/ET-매개 융합용 플라스미드 및 항생제 마커 루프아웃을 Gene Bridges GmbH (독일)에서 수득하였다. 이들 재료를 사용하는 절차를 Gene Bridges 프로토콜에 따라 실행하였다. 프라이머 Pgl-F 및 PglGI1.5-R을 사용하여, 제조사의 프로토콜에 따라 Stratagene Hercules II Fusion 키트를 사용하여 FRT-gb2-Cm-FRT 주형으로부터 내성 카세트를 증폭하였다. PCR 반응물 (최종 부피 50 μ L)은 5 μ L 완충액, 1 μ L 주형 DNA (Gene Bridges로부터의 FRT-gb2-Cm-F), 각 프라이머 10 pmol, 및 1.5 μ L 25 mM dNTP 믹스를 함유하였고, dH₂O를 사용하여 50 μ L로 제조하였다. 반응물을 하기와 같은 사이클에 적용하였다: 1 x 2분, 95°C, 이후 (95°C에서 30초; 63°C에서 30초; 72°C에서 3분)의 30 사이클.

[0585] 생성된 PCR 생성물을 QiaQuick PCR 정제 키트 (Qiagen)를 사용하여 정제하고, 하기와 같이 pRed-ET 재조합효소-함유 플라스미드를 갖는 전기수용성 (electrocompetent) MG1655 세포 내로 전기천공하였다. 5 mL의 L 브로쓰를 약 0.6의 OD₆₀₀으로 30°C에서 성장시켜 세포를 제조하였다. 4% 아라비노오스를 첨가함으로써 재조합 효소 발현을 위해 세포를 유도하였고, 30분 동안 30°C, 이어서 30분 동안 37°C에서 성장시켰다. 1.5 mL의 세포 분취량을 얼음 냉각된 dH₂O로 3~4회 세척하였다. 최종 세포 펠릿을 40 μ L의 얼음 냉각된 dH₂O에 재현탁시키고, 2~5 μ L의 PCR 생성물을 첨가하였다. Gene Pulser Electroporator (Bio-Rad Inc.)로 1.3 kV에서 1-mm 갭 큐벳 내에서 전기천공을 수행하였다. 세포를 30°C에서 1~2시간 동안 회수하고, 클로람페니콜 (5 ug/mL)을 함유하는 L 한천 상에 플레이트하였다. 융합 부위 측면에 위치한 (flanking) 프라이머 (2 프라이머 세트: pgl 및 49 rev 및 3' EcoRV-pglstop; Bottom Pgb2 및 Top GB's CMP (946))를 사용하여 PCR 및 서열분석으로 5개의 형질전환체를 분석하였다. 올바른 형질전환체를 선별하고, 이러한 균주를 MG1655 GI1.5-pgl::CMP로 지정하였다.

[0586] MG1655 GI1.5-pgl::CMP의 염색체 DNA를 주형으로 사용하여 FRT-CMP-FRT-GI 1.5-ybhE 구성물을 함유하는 PCR 절편을 생성하였다. 이러한 구성물은 하기와 같이 pBBR1MCS5 (젠타마이신)으로 클로닝되었다. 본원에서 CMP-GI1.5-pgl로 지칭되는 절편을, 5' 프라이머 Pglconfirm-F 및 3' 프라이머 3' EcoRV-pglstop을 사용하여 증폭시켰다. 제조사가 제시한 바와 같이, Invitrogen TOPO-Blunt 클로닝 키트를 사용하여 플라스미드 벡터 pCR-Blunt II-TOPO 내로 생성된 절편을 클로닝하였다. CMP-GI1.5-pgl 절편을 갖는 NsiI 절편을 pBBR1MCS5 (젠타마이신)의 PstI 위치로 클로닝하였다. 5 μ L CMP-GI1.5-pgl 삽입물, 2 μ L pBBR1MCS5 (젠타마이신) 벡터, 1 μ L T4 DNA 리가아제 (New England Biolabs), 2 μ L 10X 리가아제 완충액, 및 10 μ L ddH₂O를 함유하는 20 μ L 라이게이션 반응물을 제조하였다. 라이게이션 혼합물을 실온에서 40분 동안 인큐베이션한 후, 상기 개시된 매개변수를 사용하여 전기수용성 Top 10 세포 (Invitrogen) 내로 2~4 μ L를 전기천공하였다. 10 ug/mL 클로람페니콜 및 5 ug/mL 젠타마이신을 함유하는 L 한천 상에서 형질전환체를 선별하였다. 선별된 클론의

서열을 상기 기재된 다수의 프라이머 뿐만 아니라 Sequetech, CA 에 의해 제공되는 역방향 프라이머 및 사내 (in-house) T3을 사용하여 측정하였다. 이러한 플라스미드를 pBBRCMPGI1.5-pgl로 지정하였다 (도 77A-B 및 SEQ ID NO:122).

[0587] 실시예 10에서 상기 기재한 바와 같이 플라스미드 pBBRCMPGI1.5-pgl를 EWL256 내로 전기천공하고, 클로람페니콜 (10 ug/ml), 겐타마이신 (5 ug/ml), 스펙티노마이신 (50 ug/ml) 및 카르베니실린 (50 ug/ml)을 함유하는 L 한천 상에 형질전환체를 플레이트하였다. 하나의 형질전환체를 선별하여 RM11608-2로 지정하였다.

[0588] 프라이머:

Pgl-F

5'-
ACCGCCAAAAGCGACTAATTTTAGCTGTTACAGTCAGTTGAATTAACCCCTCACTAAA
GGGCGGCCGC-3' (SEQ ID NO:115)

PglGI1.5-R

5'-
GCTGGCGATATAAACTGTTTGCTTCATGAATGCTCCTTTGGGTTACCTCCGGGAAAC
GCGGTTGATTGTTTAGTGGTTGAATTATTTGCTCAGGATGTGGCATAGTCAAGGGC
GTGACGGCTCGCTAATACGACTCACTATAGGGCTCGAG-3' (SEQ ID NO:116)

3' EcoRV-pglstop:

5'-CTT GAT ATC TTA GTG TGC GTT AAC CAC CAC (SEQ ID NO:117)

[0589]

pgl +49 rev: CGTGAATTTGCTGGCTCTCAG (SEQ ID NO:118)

Bottom Pgb2: GGTTTAGTTCCTCACCTTGTC (SEQ ID NO:119)

Top GB's CMP (946): ACTGAAACGTTTTTCATCGCTC (SEQ ID NO:120)

Pglconfirm-F

5'-ACCGCCAAAAGCGACTAATTTTAGCT-3' (SEQ ID NO:121)

[0590]

[0591] i) 소규모 분석

[0592] 배지 제조 방법 (발효 배지 ℓ 당):

[0593] K₂HPO₄ 13.6 g, KH₂PO₄ 13.6 g, MgSO₄ * 7H₂O 2 g, 시트르산 일수화물 2 g, 구연산 철 암모늄 0.3 g, (NH₄)₂SO₄ 3.2 g, 효모 추출물 1 g, 1000X 미량 금속 용액 1 ml. 모든 성분을 diH₂O에 함께 첨가하고 용해하였다. 수산화암모늄 (30%)을 사용하여 pH를 6.8로 조정하고, 부피에 대해 충분량이 되게 하였다. 0.22 마이크론 필터를 사용하여 배지를 여과 멸균하였다. 글루코오스 5.0 g 및 항생제를 멸균 및 pH 조정 후 첨가하였다.

[0594] 1000X 미량 금속 용액 (발효 배지 ℓ 당):

[0595] 시트르산 * H₂O 40 g, MnSO₄ * H₂O 30 g, NaCl 10 g, FeSO₄ * 7H₂O 1 g, CoCl₂ * 6H₂O 1 g, ZnSO₄ * 7H₂O 1 g, CuSO₄ * 5H₂O 100 mg, H₃BO₃ 100 mg, NaMoO₄ * 2H₂O 100 mg. 각 성분을 한번에 하나씩 diH₂O에 용해하였다.

HCl/NaOH로 pH를 3.0으로 조정한 후, 용액을 부피에 대해 충분량이 되게 하고 0.22 마이크론 필터를 사용하여 여과 멸균하였다.

[0596] a) 실험 절차

[0597] MicroReactor Technologies, Inc 사제 Cellerator™ 에서 균주를 성장시켜 이소프렌 생성을 분석하였다. 각 24 웰의 작용 부피는 4.5 ml였다. 온도를 30℃로 유지시켰고, pH 설정점은 7.0이었고, 산소 흐름 설정점은 20 sccm이었으며, 교반 속도는 800 rpm이었다. 동결 바이알에서 취한 대장균 균주의 접종물을 LB 브로쓰 한천 플레이트 (항생제 포함) 상에 스트리킹하고, 30℃에서 인큐베이션하였다. 단일 콜로니를 항생제를 갖는 배지에 접종하고, 하룻밤 동안 성장시켰다. 세균을 항생제를 갖는 배지 4.5 ml로 희석하여 550 nm에서 측정된 광학 밀도 0.05에 도달시켰다.

[0598] 기체 크로마토그래프-질량 분석기 (GC-MS) (Agilent) 상부공간 검정법을 사용하여 이소프렌의 배출 기체 분석을

수행하였다. 샘플을 하기와 같이 제조하였다: 100 μ l의 전체 브로쓰를 밀봉된 GC 바이알에 넣고, 30분의 고정 시간 동안 30°C에서 인큐베이션하였다. 5분 동안 70°C에서의 인큐베이션으로 이루어진 열 사멸 단계에 이어서, 샘플을 GC에 적하시켰다.

[0599] 실험 과정 동안 마이크로플레이트 판독기 (Spectramax)를 사용하여 파장 550 nm에서 광학 밀도 (OD)를 측정하였다. 이소프렌 농도 (μ g/L)를 OD 판독 및 시간 (hr)으로 나누어 특이적 생산성을 측정하였다.

[0600] 두 개의 균주 EWL256 및 RM11608-2를 200 및 400 μ M IPTG 유도 수준에서 평가하였다. 1, 2.5, 4.75 및 8시간 후-유도 (post-induction)에서 세포 성장 (OD_{550}) 및 이소프렌 생성에 대해 샘플을 분석하였다. 샘플을 2 반복하여 수행하였다.

[0601] b) 결과

[0602] 2개의 상이한 농도의 IPTG에서 ybhE (pgl)를 발현하는 균주가 대조군 균주에 비해 특이적 이소프렌 생산성에 있어서 극적인 2-3배 증가를 갖는다는 것을 실험을 통해 입증하였다.

[0603] ii) M. 마제이 메발로네이트 키나아제, P. 알바 이소프렌 신타아제, 및 pgl 과발현물 (RHM11608-2)을 발현하며 15 l 규모에서 유가식 배양물에서의 성장하는 대장균으로부터의 이소프렌 발효

[0604] 배지 제조 방법 (발효 배지 l 당)

[0605] K_2HPO_4 7.5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 g, 시트르산 일수화물 2 g, 구연산 철 암모늄 0.3 g, 효모 추출물 0.5 g, 1000X 변형 미량 금속 용액 1 ml. 모든 성분을 diH_2O 에 함께 첨가하고 용해하였다. 용액을 오토클레이브하였다. 수산화암모늄 (30%)으로 pH를 7.0으로 조정하고 및 부피에 대해 충분량이 되게 하였다. 글루코오스 10 g, 티아민 $\cdot$ HCl 0.1 g, 및 항생제를 멸균 및 pH 조정 후 첨가하였다.

[0606] 1000X 변형 미량 금속 용액:

[0607] 시트르산 $\cdot$ H_2O 40 g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 30 g, NaCl 10 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 1 g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 100 mg, H_3BO_3 100 mg, $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ 100 mg. 각각의 성분을 한번에 하나씩 diH_2O 에 용해하고, HCl/NaOH으로 pH를 3.0으로 조정한 후, 용액을 부피에 대해 충분량이 되게 하고, 0.22 마이크론 필터로 여과 멸균하였다.

[0608] 상위 메발론산 (MVA) 경로 (pCL Upper), 융합된 하위 MVA 경로 (gi1.2KKDyI), M. 마제이로부터의 메발로네이트 키나아제의 과발현물 및 P. 알바 (pTrcAlba-mMVK)로부터의 이소프렌 신타아제의 과발현물, 및 pgl (pBBR-pgl)의 과발현물을 함유하는 BL21 (DE3) 대장균 세포를 갖는 15 l 생물반응기에서 발효를 수행하였다. 상기 실험을 실행하여 원하는 발효 pH 7.0 및 온도 34°C에서 글루코오스로부터의 이소프렌 형성을 모니터링하였다. 대장균 균주의 동결 바이알을 해동시키고, 트립톤-효모 추출물 배지에 접종하였다. 접종물을 550 nm에서 측정된 $OD_{1.0}$ 으로 성장시킨 후, 500 ml를 사용하여 15 l 생물반응기에 접종하여 초기 부피를 5 l 가 되게 하였다.

[0609] 세포가 정지상에 도달할 때까지 지수 증대 속도로 글루코오스를 공급하였다. 이때 이후, 글루코오스 공급을 감소시켜 대사작용 요구를 충족시켰다. 40시간 (59시간) 발효 동안 생물반응기에 전달된 글루코오스 총량은 3.1 kg (59시간에 4.2 kg)이었다. IPTG를 첨가하여 유도하였다. 550 nm에서 광학 밀도 (OD_{550})가 4 값에 도달할 때 IPTG 농도는 110 μ M이었다. OD_{550} 이 150에 도달할 때 IPTG 농도는 192 μ M으로 상승하였다.

시간에 따른 생물반응기 내에서의 OD_{550} 프로파일을 도 78A에 나타내었다. 생물반응기로부터의 배출 기체 내의 이소프렌 수준을 Hiden 질량 분석기를 사용하여 측정하였다. 이소프렌 역가는 발효 과정에 걸쳐 40시간에서 33.2 g/L (59시간에서 48.6 g/L)의 최대값으로 증가하였다 (도 78B). 이소프렌 역가는 발효 과정에 걸쳐 40시간에서 40.0 g/L (59시간에서 60.5 g/L)의 최대값으로 증가하였다 (도 78C). 40시간 (59시간) 발효 동안 생성된 이소프렌의 총량은 281.3 g (59시간에서 451.0 g)이었고, 생성의 시간 추이를 도 78D에 나타내었다. 체적 생산성의 시간 추이를 도 78E에 나타내었고, 평균 속도 1.0 g/L/시간을 0 내지 40시간 유지한 것을 나타내었다 (19 내지 59시간에서 1.4 g/L/시간). CER로 측정된 바와 같은 대사작용 활성 프로파일을 도 78F에 나타내었다. 발효 동안 이소프렌을 생성하는데 이용된 탄소의 몰 수율은 40시간에서 19.6% (59시간에서 23.6%)였다. 글루코오스로부터의 이소프렌의 중량%는 40시간에서 8.9% (59시간에서 10.7%)였다.

[0610] 다르게 정의하지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 당업자에 의해 통상

적으로 이해되는 것들이다. [Singleton, 등, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology, 2nd ed., John Wiley and Sons, New York (1994), 및 Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology, Harper Perennial, N.Y. (1991)]은 본 발명에서 사용되는 많은 용어의 일반적 일람을 갖는 지식 중 하나를 제공한다. 본 발명이 다양할 수 있는 특정 방법론, 프로토콜, 및 기재된 시약에 제한되지 않는다는 것이 이해될 것이다. 당업자는 또한 본원에 기재된 것과 유사 또는 동등한 임의 방법 및 재료가 본 발명을 실행 또는 시험하는데 또한 사용될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0611] 본원에 제공된 표제는 전체로서 본 명세서에 참고문헌으로 포함될 수 있는 발명의 다양한 측면 또는 구현예의 제한이 아니다.

[0612] 본원에서 사용하기 위해, 달리 명백하게 나타내지 않는 한, 단수형 표현은 복수형 표현을 나타낸다.

[0613] 본원의 값 또는 매개변수에 대한 표현 "약"은 자체적 값 또는 매개변수를 지시하는 구현예를 포함 (및 설명)한다. 예를 들어, "약 X"를 나타내는 설명은 "X"의 설명을 포함한다. 수치적 범위는 범위를 한정하는 수치를 포함한다.

[0614] 본원에 기재된 발명의 측면 및 구현예가 측면 및 구현예를 "포함하고", "구성하고" 및 "본질적으로 이로 이루어지는" 것이 이해된다.

[0615] 부록 1

[0616] 예시적 1-데옥시-D-자일루로오스-5-포스페이트 신타아제 핵산 및 폴리펩티드

ATH: AT3G21500(DXPS1) AT4G15560(CLA1) AT5G11380(DXPS3)
 OSA: 4338768 4340090 4342614
 CME: CMF089C
 PFA: MAL13P1.186
 TAN: TA20470
 TPV: TP01_0516
 ECO: b0420(dxS)
 ECJ: JW0410(dxS)
 ECE: Z0523(dxS)
 ECS: ECs0474
 ECC: c0531(dxS)
 ECI: UTI89_C0443(dxS)
 ECP: ECP_0479
 ECV: APECO1_1590(dxS)
 ECW: EcE24377A_0451(dxS)
 ECX: EcHS_A0491
 STY: STY0461(dxS)
 STT: t2441(dxS)
 SPT: SPA2301(dxS)
 SEC: SC0463(dxS)
 STM: STM0422(dxS)
 YPE: YPO3177(dxS)
 YPK: y1008(dxS)
 YPM: YP_0754(dxS)
 YPA: YPA_2671
 YPN: YPN_0911
 YPP: YPDSF_2812

[0617]

YPS: YPTB0939(dxS)
 YPI: YpsIP31758_3112(dxS)
 SFL: SF0357(dxS)
 SFX: S0365(dxS)
 SFV: SFV_0385(dxS)
 SSN: SSON_0397(dxS)
 SBO: SBO_0314(dxS)
 SDY: SDY_0310(dxS)
 ECA: ECA1131(dxS)
 PLU: plu3887(dxS)
 BUC: BU464(dxS)
 BAS: BUsg448(dxS)
 WBR: WGLp144(dxS)
 SGL: SG0656
 KPN: KPN_00372(dxS)
 BFL: Bfl238(dxS)
 BPN: BPEN_244(dxS)
 HIN: HI1439(dxS)
 HIT: NTHI1691(dxS)
 HIP: CGSHiEE_04795
 HIQ: CGSHiGG_01080
 HDU: HD0441(dxS)
 HSO: HS_0905(dxS)
 PMU: PM0532(dxS)
 MSU: MS1059(dxS)
 APL: APL_0207(dxS)
 XFA: XF2249
 XFT: PD1293(dxS)
 XCC: XCC2434(dxS)
 XCB: XC_1678
 XCV: XCV2764(dxS)
 XAC: XAC2565(dxS)

[0618]

XOO: XOO2017(dxS)
XOM: XOO_1900(XOO1900)
VCH: VC0889
VVU: VV1_0315
VVY: VV0868
VPA: VP0686
VFI: VF0711
PPR: PBPA0805
PAE: PA4044(dxS)
PAU: PA14_11550(dxS)
PAP: PSPA7_1057(dxS)
PPU: PP_0527(dxS)
PST: PSPTO_0698(dxS)
PSB: Psyr_0604
PSP: PSPPH_0599(dxS)
PFL: PFL_5510(dxS)
PFO: Pfl_5007
PEN: PSEEN0600(dxS)
PMY: Pmen_3844
PAR: Psyc_0221(dxS)
PCR: Pcryo_0245
ACI: ACIAD3247(dxS)
SON: SO_1525(dxS)
SDN: Sden_2571
SFR: Sfri_2790
SAZ: Sama_2436
SBL: Sbal_1357
SLO: Shew_2771
SHE: Shewmr4_2731
SHM: Shewmr7_2804
SHN: Shewana3_2901
SHW: Sputw3181_2831

[0619]

ILO: IL2138(dx)
 CPS: CPS_1088(dx)
 PHA: PSHAa2366(dx)
 PAT: Patl_1319
 SDE: Sde_3381
 PIN: Ping_2240
 MAQ: Maqu_2438
 MCA: MCA0817(dx)
 FTU: FTT1018c(dx)
 FTF: FTF1018c(dx)
 FTW: FTW_0925(dx)
 FTL: FTL_1072
 FTH: FTH_1047(dx)
 FTA: FTA_1131(dx)
 FTN: FTN_0896(dx)
 NOC: Noc_1743
 AEH: Mlg_1381
 HCH: HCH_05866(dx)
 CSA: Csa1_0099
 ABO: ABO_2166(dx)
 AHA: AHA_3321(dx)
 BCI: BCI_0275(dx)
 RMA: Rmag_0386
 VOK: COSY_0360(dx)
 NME: NMB1867
 NMA: NMA0589(dx)
 NMC: NMC0352(dx)
 NGO: NGO0036
 CVI: CV_2692(dx)
 RSO: RSc2221(dx)
 REU: Reut_A0882
 REH: H16_A2732(dx)

[0620]

RME: Rmet_2615
 BMA: BMAA0330(dxS)
 BMV: BMASAVP1_1512(dxS)
 BML: BMA10299_1706(dxS)
 BMN: BMA10247_A0364(dxS)
 BXE: Bxe_B2827
 BUR: Bcep18194_B2211
 BCN: Bcen_4486
 BCH: Bcen2424_3879
 BAM: Bamb_3250
 BPS: BPSS1762(dxS)
 BPM: BURPS1710b_A0842(dxS)
 BPL: BURPS1106A_A2392(dxS)
 BPD: BURPS668_A2534(dxS)
 BTE: BTH_II0614(dxS)
 BPE: BP2798(dxS)
 BPA: BPP2464(dxS)
 BBR: BB1912(dxS)
 RFR: Rfer_2875
 POL: Bpro_1747
 PNA: Pnap_1501
 AJS: Ajs_1038
 MPT: Mpe_A2631
 HAR: HEAR0279(dxS)
 MMS: mma_0331
 NEU: NE1161(dxS)
 NET: Neut_1501
 NMU: Nmul_A0236
 EBA: ebA4439(dxS)
 AZO: azo1198(dxS)
 DAR: Daro_3061
 TBD: Tbd_0879

[0621]

MFA: Mfla_2133
 HPY: HP0354(dxS)
 HPJ: jhp0328(dxS)
 HPA: HPAG1_0349
 HHE: HH0608(dxS)
 HAC: Hac_0968(dxS)
 WSU: WS1996
 TDN: Tmden_0475
 CJE: Cj0321(dxS)
 CJR: CJE0366(dxS)
 CJJ: CJJ81176_0343(dxS)
 CJU: C8J_0298(dxS)
 CJD: JJD26997_1642(dxS)
 CFF: CFF8240_0264(dxS)
 CCV: CCV52592_1671(dxS) CCV52592_1722
 CHA: CHAB381_1297(dxS)
 CCO: CCC13826_1594(dxS)
 ABU: Abu_2139(dxS)
 NIS: NIS_0391(dxS)
 SUN: SUN_2055(dxS)
 GSU: GSU0686(dxS-1) GSU1764(dxS-2)
 GME: Gmet_1934 Gmet_2822
 PCA: Pear_1667
 PPD: Ppro_1191 Ppro_2403
 DVU: DVU1350(dxS)
 DVL: Dvul_1718
 DDE: Dde_2200
 LIP: LI0408(dxS)
 DPS: DP2700
 ADE: Adeh_1097
 MXA: MXAN_4643(dxS)
 SAT: SYN_02456

[0622]

SFU: Sfum_1418
PUB: SAR11_0611(dxS)
MLO: mlr7474
MES: Meso_0735
SME: SMc00972(dxS)
ATU: Atu0745(dxS)
ATC: AGR_C_1351
RET: RHE_CH00913(dxS)
RLE: RL0973(dxS)
BME: BMEI1498
BMF: BAB1_0462(dxS)
BMS: BR0436(dxS)
BMB: BruAb1_0458(dxS)
BOV: BOV_0443(dxS)
BJA: blI2651(dxS)
BRA: BRADO2161(dxS)
BBT: BBta_2479(dxS)
RPA: RPA0952(dxS)
RPB: RPB_4460
RPC: RPC_1149
RPD: RPD_4305
RPE: RPE_1067
NWI: Nwi_0633
NHA: Nham_0778
BHE: BH04350(dxS)
BQU: BQ03540(dxS)
BBK: BARBAKC583_0400(dxS)
CCR: CC_2068
SIL: SPO0247(dxS)
SIT: TM1040_2920
RSP: RSP_0254(dxSA) RSP_1134(dxS)
JAN: Jann_0088 Jann_0170

[0623]

RDE: RD1_0101(dxs) RD1_0548(dxs)
 MMR: Mmar10_0849
 HNE: HNE_1838(dxs)
 ZMO: ZMO1234(dxs) ZMO1598(dxs)
 NAR: Saro_0161
 SAL: Sala_2354
 ELI: ELI_12520
 GOX: GOX0252
 GBE: GbCGDNIH1_0221 GbCGDNIH1_2404
 RRU: Rru_A0054 Rru_A2619
 MAG: amb2904
 MGM: Mmc1_1048
 SUS: Acid_1783
 BSU: BG11715(dxs)
 BHA: BH2779
 BAN: BA4400(dxs)
 BAR: GBAA4400(dxs)
 BAA: BA_4853
 BAT: BAS4081
 BCE: BC4176(dxs)
 BCA: BCE_4249(dxs)
 BCZ: BCZK3930(dxs)
 BTK: BT9727_3919(dxs)
 BTL: BALH_3785(dxs)
 BLI: BL01523(dxs)
 BLD: BLi02598(dxs)
 BCL: ABC2462(dxs)
 BAY: RBAM_022600
 BPU: BPUM_2159
 GKA: GK2392
 GTN: GTING_2322
 LMO: lmo1365(tktB)

[0624]

LMF: LMOF2365_1382(dxS)
 LIN: lin1402(tktB)
 LWE: lwe1380(tktB)
 LLA: L108911(dxSA) L123365(dxSB)
 LLC: LACR_1572 LACR_1843
 LLM: llmg_0749(dxSB)
 SAK: SAK_0263
 LPL: lp_2610(dxS)
 LJO: LJ0406
 LAC: LBA0356
 LSL: LSL_0209(dxS)
 LGA: LGAS_0350
 STH: STH1842
 CAC: CAC2077 CA_P0106(dxS)
 CPE: CPE1819
 CPF: CPF_2073(dxS)
 CPR: CPR_1787(dxS)
 CTC: CTC01575
 CNO: NT01CX_1983
 CTH: Cthe_0828
 CDF: CD1207(dxS)
 CBO: CBO1881(dxS)
 CBA: CLB_1818(dxS)
 CBH: CLC_1825(dxS)
 CBF: CLI_1945(dxS)
 CKL: CKL_1231(dxS)
 CHY: CHY_1985(dxS)
 DSY: DSY2348
 DRM: Dred_1078
 PTH: PTH_1196(dxS)
 SWO: Swol_0582
 CSC: Csac_1853

[0625]

TTE: TTE1298(dxS)
 MTA: Moth_1511
 MPE: MYPE730
 MGA: MGA_1268(dxS)
 MTU: Rv2682c(dxS1) Rv3379c(dxS2)
 MTC: MT2756(dxS)
 MBO: Mb2701c(dxS1) Mb3413c(dxS2)
 MLE: ML1038(dxS)
 MPA: MAP2803c(dxS)
 MAV: MAV_3577(dxS)
 MSM: MSMEG_2776(dxS)
 MMC: Mmcs_2208
 CGL: NCgl1827(cgl1902)
 CGB: cg2083(dxS)
 CEF: CE1796
 CDI: DIP1397(dxS)
 CJK: jk1078(dxS)
 NFA: nfa37410(dxS)
 RHA: RHA1_ro06843
 SCO: SCO6013(SC1C3.01) SCO6768(SC6A5.17)
 SMA: SAV1646(dxS1) SAV2244(dxS2)
 TWH: TWT484
 TWS: TW280(DxS)
 LXX: Lxx10450(dxS)
 CMI: CMM_1660(dxSA)
 AAU: AAur_1790(dxS)
 PAC: PPA1062
 TFU: Tfu_1917
 FRA: Francci3_1326
 FAL: FRAAL2088(dxS)
 ACE: Acel_1393
 SEN: SACE_1815(dxS) SACE_4351

[0626]

BLO: BL1132(dxS)
 BAD: BAD_0513(dxS)
 FNU: FN1208 FN1464
 RBA: RB2143(dxS)
 CTR: CT331(dxS)
 CTA: CTA_0359(dxS)
 CMU: TC0608
 CPN: CPn1060(ktB_2)
 CPA: CP0790
 CPJ: CPj1060(ktB_2)
 CPT: CpB1102
 CCA: CCA00304(dxS)
 CAB: CAB301(dxS)
 CFE: CF0699(dxS)
 PCU: pc0619(dxS)
 TPA: TP0824
 TDE: TDE1910(dxS)
 LIL: LA3285(dxS)
 LIC: LIC10863(dxS)
 LBJ: LBJ_0917(dxS)
 LBL: LBL_0932(dxS)
 SYN: sl11945(dxS)
 SYW: SYNW1292(DxS)
 SYC: syc1087_c(dxS)
 SYF: Synpcc7942_0430
 SYD: Syncc9605_1430
 SYE: Syncc9902_1069
 SYG: sync_1410(dxS)
 SYR: SynRCC307_1390(dxS)
 SYX: SynWH7803_1223(dxS)
 CYA: CYA_1701(dxS)
 CYB: CYB_1983(dxS)

[0627]

TEL: tll0623
 GVI: gll0194
 ANA: alr0599
 AVA: Ava_4532
 PMA: Pro0928(dxS)
 PMM: PMM0907(Dxs)
 PMT: PMT0685(dxS)
 PMN: PMN2A_0300
 PMI: PMT9312_0893
 PMB: A9601_09541(dxS)
 PMC: P9515_09901(dxS)
 PMF: P9303_15371(dxS)
 PMG: P9301_09521(dxS)
 PMH: P9215_09851
 PMJ: P9211_08521
 PME: NATL1_09721(dxS)
 TER: Tery_3042
 BTH: BT_1403 BT_4099
 BFR: BF0873 BF4306
 BFS: BF0796(dxS) BF4114
 PGI: PG2217(dxS)
 CHU: CHU_3643(dxS)
 GFO: GFO_3470(dxS)
 FPS: FP0279(dxS)
 CTE: CT0337(dxS)
 CPH: Cpha266_0671
 PVI: Cvib_0498
 PLT: Plut_0450
 DET: DET0745(dxS)
 DEH: cbdb_A720(dxS)
 DRA: DR_1475
 DGE: Dgeo_0994

[0628]

TTH: TTC1614
 TTJ: TTHA0006
 AAE: aq_881
 TMA: TM1770
 PMO: Pmob_1001

[0629]

[0630] 예시적 아세틸-CoA-아세틸트랜스퍼라아제 핵산 및 폴리펩티드

HSA: 38(ACAT1) 39(ACAT2)
 PTR: 451528(ACAT1)
 MCC: 707653(ACAT1) 708750(ACAT2)
 MMU: 110446(Acat1) 110460(Acat2)
 RNO: 25014(Acat1)
 CFA: 484063(ACAT2) 489421(ACAT1)
 GGA: 418968(ACAT1) 421587(RCJMB04_34i5)
 XLA: 379569(MGC69098) 414622(MGC81403) 414639(MGC81256)
 444457(MGC83664)
 XTR: 394562(ocat2)
 DRE: 30643(ocat2)
 SPU: 759502(LOC759502)
 DME: Dmel_CG10932 Dmel_CG9149
 CEL: T02G5.4 T02G5.7 T02G5.8(kat-1)
 ATH: AT5G48230(ACAT2/EMB1276)
 OSA: 4326136 4346520
 CME: CMA042C CME087C
 SCE: YPL028W(ERG10)
 AGO: AGOS_ADR165C
 PIC: PICST_31707(ERG10)
 CAL: CaO19.1591(erg10)
 CGR: CAGL0L12364g
 SPO: SPBC215.09c
 MGR: MGG_01755 MGG_13499
 ANI: AN1409.2
 AFM: AFUA_6G14200 AFUA_8G04000
 AOR: AO090103000012 AO090103000406
 CNE: CNC05280
 UMA: UM03571.1
 DDI: DDB_0231621

[0631]

PFA: PF14_0484
 TET: TTHERM_00091590 TTHERM_00277470 TTHERM_00926980
 TCR: 511003.60
 ECO: b2224(atoB)
 ECJ: JW2218(atoB) JW5453(yqeF)
 ECE: Z4164(yqeF)
 ECS: ECs3701
 ECC: c2767(atoB) c3441(yqeF)
 ECI: UT189_C2506(atoB) UT189_C3247(yqeF)
 ECP: ECP_2268 ECP_2857
 ECV: APECO1_3662(yqeF) APECO1_4335(atoB) APECO1_43352(atoB)
 ECX: EcHS_A2365
 STY: STY3164(yqeF)
 STT: t2929(yqeF)
 SPT: SPA2886(yqeF)
 SEC: SC2958(yqeF)
 STM: STM3019(yqeF)
 SFL: SF2854(yqeF)
 SFX: S3052(yqeF)
 SFV: SFV_2922(yqeF)
 SSN: SSON_2283(atoB) SSON_3004(yqeF)
 SBO: SBO_2736(yqeF)
 ECA: ECA1282(atoB)
 ENT: Ent638_3299
 SPE: Spro_0592
 HIT: NTHI0932(atoB)
 XCC: XCC1297(atoB)
 XCB: XC_2943
 XCV: XCV1401(thlA)
 XAC: XAC1348(atoB)
 XOO: XOO1881(atoB)
 XOM: XOO_1778(XOO1778)

[0632]

VCH: VCA0690
 VCO: VC0395_0630
 VVU: VV2_0494 VV2_0741
 VVY: VVA1043 VVA1210
 VPA: VPA0620 VPA1123 VPA1204
 PPR: PBPRB1112 PBPRB1840
 PAE: PA2001(atoB) PA2553 PA3454 PA3589 PA3925
 PAU: PA14_38630(atoB)
 PPU: PP_2051(atoB) PP_2215(fadAx) PP_3754 PP_4636
 PPF: Pput_2009 Pput_2403 Pput_3523 Pput_4498
 PST: PSPTO_0957(phbA-1) PSPTO_3164(phbA-2)
 PSB: Psyr_0824 Psyr_3031
 PSP: PSPPH_0850(phbA1) PSPPH_2209(phbA2)
 PFL: PFL_1478(atoB-2) PFL_2321 PFL_3066 PFL_4330(atoB-2) PFL_5283
 PFO: Pfl_1269 Pfl_1739 Pfl_2074 Pfl_2868
 PEN: PSEEN3197 PSEEN3547(fadAx) PSEEN4635(phbA)
 PMY: Pmen_1138 Pmen_2036 Pmen_3597 Pmen_3662 Pmen_3820
 PAR: Psyc_0252 Psyc_1169
 PCR: Pcryo_0278 Pcryo_1236 Pcryo_1260
 PRW: PsycPRwf_2011
 ACI: ACIAD0694 ACIAD1612 ACIAD2516(atoB)
 SON: SO_1677(atoB)
 SDN: Sden_1943
 SFR: Sfri_1338 Sfri_2063
 SAZ: Sama_1375
 SBL: Sbal_1495
 SBM: Shew185_1489
 SBN: Sbal195_1525
 SLO: Shew_1667 Shew_2858
 SPC: Sputcn32_1397
 SSE: Ssed_1473 Ssed_3533
 SPL: Spea_2783

[0633]

SHE: Shewmr4_2597
 SHM: Shewmr7_2664
 SHN: Shewana3_2771
 SHW: Sputw3181_2704
 ILO: IL0872
 CPS: CPS_1605 CPS_2626
 PHA: PSHAa0908 PSHAa1454(atoB) PSHAa1586(atoB)
 PAT: Patl_2923
 SDE: Sde_3149
 PIN: Ping_0659 Ping_2401
 MAQ: Maqu_2117 Maqu_2489 Maqu_2696 Maqu_3162
 CBU: CBU_0974
 LPN: lpg1825(atoB)
 LPF: lpl1789
 LPP: lpp1788
 NOC: Noc_1891
 AEH: Mlg_0688 Mlg_2706
 HHA: Hhal_1685
 HCH: HCH_05299
 CSA: Csal_0301 Csal_3068
 ABO: ABO_0648(fadAx)
 MMW: Mmwy11_0073 Mmwy11_3021 Mmwy11_3053 Mmwy11_3097 Mmwy11_4182
 AHA: AHA_2143(atoB)
 CVI: CV_2088(atoB) CV_2790(phaA)
 RSO: RSc0276(atoB) RSc1632(phbA) RSc1637(bktB) RSc1761(RS02948)
 REU: Reut_A0138 Reut_A1348 Reut_A1353 Reut_B4561 Reut_B4738
 Reut_B5587 Reut_C5943 Reut_C6062
 REH: H16_A0170 H16_A0867 H16_A0868 H16_A0872 H16_A1297
 H16_A1438(phaA) H16_A1445(bktB) H16_A1528 H16_A1713 H16_A1720
 H16_A1887 H16_A2148 H16_B0380 H16_B0381 H16_B0406 H16_B0662
 H16_B0668 H16_B0759 H16_B1369 H16_B1771
 RME: Rmet_0106 Rmet_1357 Rmet_1362 Rmet_5156

[0634]

BMA: BMA1316 BMA1321(phbA) BMA1436
 BMV: BMASAVP1_A1805(bktB) BMASAVP1_A1810(phbA)
 BML: BMA10299_A0086(phbA) BMA10299_A0091
 BMN: BMA10247_1076(bktB) BMA10247_1081(phbA)
 BXE: Bxe_A2273 Bxe_A2335 Bxe_A2342 Bxe_A4255 Bxe_B0377 Bxe_B0739
 Bxe_C0332 Bxe_C0574 Bxe_C0915
 BVI: Bcep1808_0519 Bcep1808_1717 Bcep1808_2877 Bcep1808_3594
 Bcep1808_4015 Bcep1808_5507 Bcep1808_5644
 BUR: Bcep18194_A3629 Bcep18194_A5080 Bcep18194_A5091
 Bcep18194_A6102 Bcep18194_B0263 Bcep18194_B1439
 Bcep18194_C6652 Bcep18194_C6802 Bcep18194_C6874
 Bcep18194_C7118 Bcep18194_C7151 Bcep18194_C7332
 BCN: Bcen_1553 Bcen_1599 Bcen_2158 Bcen_2563 Bcen_2998 Bcen_6289
 BCH: Bcen2424_0542 Bcen2424_1790 Bcen2424_2772 Bcen2424_5368
 Bcen2424_6232 Bcen2424_6276
 BAM: Bamb_0447 Bamb_1728 Bamb_2824 Bamb_4717 Bamb_5771 Bamb_5969
 BPS: BPSL1426 BPSL1535(phbA) BPSL1540
 BPM: BURPS1710b_2325(bktB) BURPS1710b_2330(phbA)
 BURPS1710b_2453(atoB-2)
 BPL: BURPS1106A_2197(bktB) BURPS1106A_2202(phbA)
 BPD: BURPS668_2160(bktB) BURPS668_2165(phbA)
 BTE: BTH_I2144 BTH_I2256 BTH_I2261
 PNU: Pnuc_0927
 BPE: BP0447 BP0668 BP2059
 BPA: BPP0608 BPP1744 BPP3805 BPP4216 BPP4361
 BBR: BB0614 BB3364 BB4250 BB4804 BB4947
 RFR: Rfer_0272 Rfer_1000 Rfer_1871 Rfer_2273 Rfer_2561 Rfer_2594
 Rfer_3839
 POL: Bpro_1577 Bpro_2140 Bpro_3113 Bpro_4187
 PNA: Pnap_0060 Pnap_0458 Pnap_0867 Pnap_1159 Pnap_2136 Pnap_2804
 AAV: Aave_0031 Aave_2478 Aave_3944 Aave_4368
 AJS: Ajs_0014 Ajs_0124 Ajs_1931 Ajs_2073 Ajs_2317 Ajs_3548

[0635]

Ajs_3738 Ajs_3776
 VEI: Veis_1331 Veis_3818 Veis_4193
 DAC: Daci_0025 Daci_0192 Daci_3601 Daci_5988
 MPT: Mpe_A1536 Mpe_A1776 Mpe_A1869 Mpe_A3367
 HAR: HEAR0577(phbA)
 MMS: mma_0555
 NEU: NE2262(bktB)
 NET: Neut_0610
 EBA: ebA5202 p2A409(tioL)
 AZO: azo0464(fadA1) azo0469(fadA2) azo2172(thlA)
 DAR: Daro_0098 Daro_3022
 HPA: HPAG1_0675
 HAC: Hac_0958(atoB)
 GME: Gmet_1719 Gmet_2074 Gmet_2213 Gmet_2268 Gmet_3302
 GUR: Gura_3043
 BBA: Bd0404(atoB) Bd2095
 DOL: Dole_0671 Dole_1778 Dole_2160 Dole_2187
 ADE: Adeh_0062 Adeh_2365
 AFW: Anae109_0064 Anae109_1504
 MXA: MXAN_3791
 SAT: SYN_02642
 SFU: Sfum_2280 Sfum_3582
 RPR: RP737
 RCO: RC1134 RC1135
 RFE: RF_0163(paaJ)
 RBE: RBE_0139(paaJ)
 RAK: A1C_05820
 RBO: A1I_07215
 RCM: A1E_04760
 PUB: SAR11_0428(thlA)
 MLO: mlr3847
 MES: Meso_3374

[0636]

PLA: Plav_1573 Plav_2783
 SME: SMa1450 SMc03879(phbA)
 SMD: Smed_0499 Smed_3117 Smed_5094 Smed_5096
 ATU: Atu2769(atoB) Atu3475
 ATC: AGR_C_5022(phbA) AGR_L_2713
 RET: RHE_CH04018(phbAch) RHE_PC00068(ypc00040) RHE_PF00014(phbAf)
 RLE: RL4621(phaA) pRL100301 pRL120369
 BME: BMEI0274 BMEII0817
 BMF: BAB1_1783(phbA-1) BAB2_0790(phbA-2)
 BMS: BR1772(phbA-1) BRA0448(phbA-2)
 BMB: BruAb1_1756(phbA-1) BruAb2_0774(phbA-2)
 BOV: BOV_1707(phbA-1)
 OAN: Oant_1130 Oant_3107 Oant_3718 Oant_4020
 BJA: bli0226(atoB) bli3949 bli7400 bli7819 blr3724(phbA)
 BRA: BRADO0562(phbA) BRADO0983(pimB) BRADO3110 BRADO3134(atoB)
 BBT: BBta_3558 BBta_3575(atoB) BBta_5147(pimB) BBta_7072(pimB)
 BBta_7614(phbA)
 RPA: RPA0513(pcaF) RPA0531 RPA3715(pimB)
 RPB: RPB_0509 RPB_0525 RPB_1748
 RPC: RPC_0504 RPC_0636 RPC_0641 RPC_0832 RPC_1050 RPC_2005
 RPC_2194 RPC_2228
 RPD: RPD_0306 RPD_0320 RPD_3105 RPD_3306
 RPE: RPE_0168 RPE_0248 RPE_3827
 NWI: Nwi_3060
 XAU: Xaut_3108 Xaut_4665
 CCR: CC_0510 CC_0894 CC_3462
 SIL: SPO0142(bktB) SPO0326(phbA) SPO0773 SPO3408
 SIT: TM1040_0067 TM1040_2790 TM1040_3026 TM1040_3735
 RSP: RSP_0745 RSP_1354 RSP_3184
 RSH: Rsph17029_0022 Rsph17029_2401 Rsph17029_3179 Rsph17029_3921
 RSQ: Rsph17025_0012 Rsph17025_2466 Rsph17025_2833
 JAN: Jann_0262 Jann_0493 Jann_4050

[0637]

RDE: RD1_0025 RD1_0201(bktB) RD1_3394(phbA)
PDE: Pden_2026 Pden_2663 Pden_2870 Pden_2907 Pden_4811 Pden_5022
DSH: Dshi_0074 Dshi_3066 Dshi_3331
MMR: Mmar10_0697
HNE: HNE_2706 HNE_3065 HNE_3133
NAR: Saro_0809 Saro_1069 Saro_1222 Saro_2306 Saro_2349
SAL: Sala_0781 Sala_1244 Sala_2896 Sala_3158
SWI: Swit_0632 Swit_0752 Swit_2893 Swit_3602 Swit_4887 Swit_5019
Swit_5309
ELI: ELI_01475 ELI_06705 ELI_12035
GBE: GbCGDNIH1_0447
ACR: Acry_1847 Acry_2256
RRU: Rru_A0274 Rru_A1380 Rru_A1469 Rru_A1946 Rru_A3387
MAG: amb0842
MGM: Mmc1_1165
ABA: Acid345_3239
BSU: BG11319(mmgA) BG13063(yhfS)
BHA: BH1997 BH2029 BH3801(mmgA)
BAN: BA3687 BA4240 BA5589
BAR: GBAA3687 GBAA4240 GBAA5589
BAA: BA_0445 BA_4172 BA_4700
BAT: BAS3418 BAS3932 BAS5193
BCE: BC3627 BC4023 BC5344
BCA: BCE_3646 BCE_4076 BCE_5475
BCZ: BCZK3329(mmgA) BCZK3780(thl) BCZK5044(atoB)
BCY: Bcer98_2722 Bcer98_3865
BTK: BT9727_3379(mmgA) BT9727_3765(thl) BT9727_5028(atoB)
BTL: BALH_3262(mmgA) BALH_3642(fadA) BALH_4843(atoB)
BLI: BL03925(mmgA)
BLD: BLi03968(mmgA)
BCL: ABC0345 ABC2989 ABC3617 ABC3891(mmgA)
BAY: RBAM_022450

[0638]

BPU: BPUM_2374(yhfS) BPUM_2941 BPUM_3373
 OIH: OB0676 OB0689 OB2632 OB3013
 GKA: GK1658 GK3397
 SAU: SA0342 SA0534(vraB)
 SAV: SAV0354 SAV0576(vraB)
 SAM: MW0330 MW0531(vraB)
 SAR: SAR0351(thl) SAR0581
 SAS: SAS0330 SAS0534
 SAC: SACOL0426 SACOL0622(atoB)
 SAB: SAB0304(thl) SAB0526
 SAA: SAUSA300_0355 SAUSA300_0560(vraB)
 SAO: SAOUHSC_00336 SAOUHSC_00558
 SAJ: SaurJH9_0402
 SAH: SaurJH1_0412
 SEP: SE0346 SE2384
 SER: SERP0032 SERP0220
 SHA: SH0510(mvaC) SH2417
 SSP: SSP0325 SSP2145
 LMO: lmo1414
 LMF: LMOF2365_1433
 LIN: lin1453
 LWE: lwe1431
 LLA: L11745(thiL) L25946(fadA)
 LLC: LACR_1665 LACR_1956
 LLM: limg_0930(thiL)
 SPY: SPY_0140 SPY_1637(atoB)
 SPZ: M5005_Spy_0119 M5005_Spy_0432 M5005_Spy_1344(atoB)
 SPM: spyM18_0136 spyM18_1645(atoB)
 SPG: SpyM3_0108 SpyM3_1378(atoB)
 SPS: SPs0110 SPs0484
 SPH: MGAS10270_Spy0121 MGAS10270_Spy0433 MGAS10270_Spy1461(atoB)
 SPI: MGAS10750_Spy0124 MGAS10750_Spy0452 MGAS10750_Spy1453(atoB)

[0639]

SPJ: MGAS2096_Spy0123 MGAS2096_Spy0451 MGAS2096_Spy1365(atoB)
 SPK: MGAS9429_Spy0121 MGAS9429_Spy0431 MGAS9429_Spy1339(atoB)
 SPF: SpyM50447(atoB2)
 SPA: M6_Spy0166 M6_Spy0466 M6_Spy1390
 SPB: M28_Spy0117 M28_Spy0420 M28_Spy1385(atoB)
 SAK: SAK_0568
 LJO: LJ1609
 LAC: LBA0626(thiL)
 LSA: LSA1486
 LDB: Ldb0879
 LBU: LBUL_0804
 LBR: LVIS_2218
 LCA: LSEI_1787
 LGA: LGAS_1374
 LRE: Lreu_0052
 EFA: EF1364
 OOE: OEOE_0529
 STH: STH2913 STH725 STH804
 CAC: CAC2873 CA_P0078(thiL)
 CPE: CPE2195(atoB)
 CPF: CPF_2460
 CPR: CPR_2170
 CTC: CTC00312
 CNO: NT01CX_0538 NT01CX_0603
 CDF: CD1059(thiA1) CD2676(thiA2)
 CBO: CBO3200(thi)
 CBE: Cbei_0411 Cbei_3630
 CKL: CKL_3696(thiA1) CKL_3697(thiA2) CKL_3698(thiA3)
 AMT: Amet_4630
 AOE: Clos_0084 Clos_0258
 CHY: CHY_1288 CHY_1355(atoB) CHY_1604 CHY_1738
 DSY: DSY0632 DSY0639 DSY1567 DSY1710 DSY2402 DSY3302

[0640]

DRM: Dred_0400 Dred_1491 Dred_1784 Dred_1892
 SWO: Swol_0308 Swol_0675 Swol_0789 Swol_1486 Swol_1934 Swol_2051
 TTE: TTE0549(paaJ)
 MTA: Moth_1260
 MTU: Rv1135A Rv1323(fadA4) Rv3546(fadA5)
 MTC: MT1365(phbA)
 MBO: Mb1167 Mb1358(fadA4) Mb3576(fadA5) Mb3586c(fadA6)
 MBB: BCG_1197 BCG_1385(fadA4) BCG_3610(fadA5) BCG_3620c(fadA6)
 MLE: ML1158(fadA4)
 MPA: MAP2407c(fadA3) MAP2436c(fadA4)
 MAV: MAV_1544 MAV_1573 MAV_1863 MAV_5081
 MSM: MSMEG_2224 MSMEG_4920
 MUL: MUL_0357
 MVA: Mvan_1976 Mvan_1988 Mvan_4305 Mvan_4677 Mvan_4891
 MGI: Mflv_1347 Mflv_1484 Mflv_2040 Mflv_2340 Mflv_4356 Mflv_4368
 MMC: Mmcs_1758 Mmcs_1769 Mmcs_3796 Mmcs_3864
 MKM: Mkms_0251 Mkms_1540 Mkms_1805 Mkms_1816 Mkms_2836 Mkms_3159
 Mkms_3286 Mkms_3869 Mkms_3938 Mkms_4227 Mkms_4411 Mkms_4580
 Mkms_4724 Mkms_4764 Mkms_4776
 MJL: Mjls_0231 Mjls_1739 Mjls_1750 Mjls_2819 Mjls_3119 Mjls_3235
 Mjls_3800 Mjls_3850 Mjls_4110 Mjls_4383 Mjls_4705 Mjls_4876
 Mjls_5018 Mjls_5063 Mjls_5075
 CGL: NCgl2309(cgl2392)
 CGB: cg2625(pcaF)
 CEF: CE0731 CE2295
 CJK: jk1543(fadA3)
 NFA: nfa10750(fadA4)
 RHA: RHA1_ro01455 RHA1_ro01623 RHA1_ro01876 RHA1_ro02517(catF)
 RHA1_ro03022 RHA1_ro03024 RHA1_ro03391 RHA1_ro03892
 RHA1_ro04599 RHA1_ro05257 RHA1_ro08871
 SCO: SCO5399(SC8F4.03)
 SMA: SAV1384(fadA5) SAV2856(fadA1)

[0641]

ART: Arth_1160 Arth_2986 Arth_3268 Arth_4073
 NCA: Noca_1371 Noca_1797 Noca_1828 Noca_2764 Noca_4142
 TFU: Tfu_1520 Tfu_2394
 FRA: Francci3_3687
 FRE: Franean1_1044 Franean1_2711 Franean1_2726 Franean1_3929
 Franean1_4037 Franean1_4577
 FAL: FRAAL2514 FRAAL2618 FRAAL5910(atoB)
 ACE: Acel_0626 Acel_0672
 SEN: SACE_1192(mmgA) SACE_2736(fadA6) SACE_4011(catF)
 SACE_6236(fadA4)
 STP: Strop_3610
 SAQ: Sare_1316 Sare_3991
 RXY: Rxyl_1582 Rxyl_1842 Rxyl_2389 Rxyl_2530
 FNU: FN0495
 BGA: BG0110(fadA)
 BAF: BAPKO_0110(fadA)
 LIL: LA0457(thiL1) LA0828(thiL2) LA4139(fadA)
 LIC: LIC10396(phbA)
 LBJ: LBJ_2862(paaJ-4)
 LBL: LBL_0209(paaJ-4)
 SYN: slr1993(phaA)
 SRU: SRU_1211(atoB) SRU_1547
 CHU: CHU_1910(atoB)
 GFO: GFO_1507(atoB)
 FJO: Fjoh_4612
 FPS: FP0770 FP1586 FP1725
 RRS: RoseRS_3911 RoseRS_4348
 RCA: Rcas_0702 Rcas_3206
 HAU: Haur_0522
 DRA: DR_1072 DR_1428 DR_1960 DR_2480 DR_A0053
 DGE: Dgeo_0755 Dgeo_1305 Dgeo_1441 Dgeo_1883
 TTH: TTC0191 TTC0330

[0642]

TTJ: TTHA0559
 TME: Tmel_1134
 FNO: Fnod_0314
 PMO: Pmob_0515
 HMA: rmAC0896(acaB3) rmAC2815(aca2) rmAC3497(yqeF)
 rmB0240(aca1) rmB0242(acaB2) rmB0309(acaB1)
 TAC: Ta0582
 TVO: TVN0649
 PTO: PTO1505
 APE: APE_2108
 SSO: SSO2377(acaB-4)
 STO: ST0514
 SAI: Saci_0963 Saci_1361(acaB1)
 MSE: Msed_0656
 PAI: PAE1220
 PIS: Pisl_0029 Pisl_1301
 PCL: Pcal_0781
 PAS: Pars_0309 Pars_1071
 CMA: Cmaq_1941

[0643]

[0644] 예시적 HMG-CoA 신타아제 핵산 및 폴리펩티드

HSA: 3157(HMGCS1) 3158(HMGCS2)
 PTR: 457169(HMGCS2) 461892(HMGCS1)
 MCC: 702553(HMGCS1) 713541(HMGCS2)
 MMU: 15360(Hmgcs2) 208715(Hmgcs1)
 RNO: 24450(Hmgcs2) 29637(Hmgcs1)
 CFA: 479344(HMGCS1) 607923(HMGCS2)
 BTA: 407767(HMGCS1)
 SSC: 397673(CH242-38B5.1)
 GGA: 396379(HMGCS1)
 XLA: 380091(hmgcs1) 447204(MGC80816)
 DRE: 394060(hmgcs1)
 SPU: 578259(LOC578259)
 DME: Dmel_CG4311(Hmgs)
 CEL: F25B4.6
 ATH: AT4G11820(BAP1)
 OSA: 4331418 4347614
 CME: CMM189C
 SCE: YML126C(ERG13)
 AGO: AGOS_ADL356C
 PIC: PICST_83020
 CAL: CaO19_7312(CaO19.7312)
 CGR: CAGL0H04081g
 SPO: SPAC4F8.14c(hcs)
 MGR: MGG_01026
 ANI: AN4923.2
 AFM: AFUA_3G10660 AFUA_8G07210
 AOR: AO090003000611 AO090010000487
 CNE: CNC05080 CNG02670
 UMA: UM05362.1
 ECU: ECU10_0510

[0645]

DDI: DDBDRAFT_0217522 DDB_0219924(hgsA)
TET: TTHERM_00691190
TBR: Tb927.8.6110
YPE: YPO1457
YPK: y2712(pksG)
YPM: YP_1349(pksG)
YPA: YPA_0750
YPN: YPN_2521
YPP: YPDSF_1517
YPS: YPTB1475
CBD: COXBU7E912_1931
TCX: Tcr_1719
DNO: DNO_0799
BMA: BMAA1212
BPS: BPSS1002
BPM: BURPS1710b_A2613
BPL: BURPS1106A_A1384
BPD: BURPS668_A1470
BTE: BTH_II1670
MXA: MXAN_3948(tac) MXAN_4267(mvaS)
BSU: BG10926(pksG)
OIH: OB2248
SAU: SA2334(mvaS)
SAV: SAV2546(mvaS)
SAM: MW2467(mvaS)
SAR: SAR2626(mvaS)
SAS: SAS2432
SAC: SACOL2561
SAB: SAB2420(mvaS)
SAA: SAUSA300_2484
SAO: SAOUHSC_02860
SAJ: SaurJH9_2569

[0646]

SAH: SaurJH1_2622
 SEP: SE2110
 SER: SERP2122
 SHA: SH0508(mvaS)
 SSP: SSP0324
 LMO: lmo1415
 LMF: LMOF2365_1434(mvaS)
 LIN: lin1454
 LWE: lwe1432(mvaS)
 LLA: L13187(hmcM)
 LLC: LACR_1666
 LLM: limg_0929(hmcM)
 SPY: SPy_0881(mvaS.2)
 SPZ: M5005_Spy_0687(mvaS.1)
 SPM: spyM18_0942(mvaS2)
 SPG: SpyM3_0600(mvaS.2)
 SPS: SPs1253
 SPH: MGAS10270_Spy0745(mvaS1)
 SPI: MGAS10750_Spy0779(mvaS1)
 SPJ: MGAS2096_Spy0759(mvaS1)
 SPK: MGAS9429_Spy0743(mvaS1)
 SPF: SpyM51121(mvaS)
 SPA: M6_Spy0704
 SPB: M28_Spy0667(mvaS.1)
 SPN: SP_1727
 SPR: spr1571(mvaS)
 SPD: SPD_1537(mvaS)
 SAG: SAG1316
 SAN: gbs1386
 SAK: SAK_1347
 SMU: SMU.943c
 STC: str0577(mvaS)

[0647]

STL: stu0577(mvaS)
 STE: STER_0621
 SSA: SSA_0338(mvaS)
 SSU: SSU05_1641
 SSV: SSU98_1652
 SGO: SGO_0244
 LPL: lp_2067(mvaS)
 LJO: LJ1607
 LAC: LBA0628(hmcS)
 LSA: LSA1484(mvaS)
 LSL: LSL_0526
 LDB: Ldb0881(mvaS)
 LBU: LBUL_0806
 LBR: LVIS_1363
 LCA: LSEI_1785
 LGA: LGAS_1372
 LRE: Lreu_0676
 PPE: PEPE_0868
 EFA: EF1363
 OOE: OEOE_0968
 LME: LEUM_1184
 NFA: nfa22120
 SEN: SACE_4570(pksG)
 BBU: BB0683
 BGA: BG0706
 BAF: BAPKO_0727
 FJO: Fjoh_0678
 HAL: VNG1615G(mvaB)
 HMA: rmAC1740(mvaS)
 HWA: HQ2868A(mvaB)
 NPH: NP2608A(mvaB_1) NP4836A(mvaB_2)

[0648]

[0649] 예시적 하이드록시메틸글루타릴-CoA 환원효소 핵산 및 폴리펩티드

HSA: 3156(HMGCR)
 PTR: 471516(HMGCR)
 MCC: 705479(HMGCR)
 MMU: 15357(Hmgcr)
 RNO: 25675(Hmgcr)
 CFA: 479182(HMGCR)
 BTA: 407159(HMGCR)
 GGA: 395145(RCJMB04_14m24)
 SPU: 373355(LOC373355)
 DME: Dmel_CG10367(Hmgcr)
 CEL: F08F8.2
 OSA: 4347443
 SCE: YLR450W(HMG2) YML075C(HMG1)
 AGO: AGOS_AER152W
 CGR: CAGL0L11506g
 SPO: SPCC162.09c(hmg1)
 ANI: AN3817.2
 AFM: AFUA_1G11230 AFUA_2G03700
 AOR: AO090103000311 AO090120000217
 CNE: CNF04830
 UMA: UM03014.1
 ECU: ECU10_1720
 DDI: DDB_0191125(hmgA) DDB_0215357(hmgB)
 TBR: Tb927.6.4540
 TCR: 506831.40 509167.20
 LMA: LmjF30.3190
 VCH: VCA0723
 VCO: VC0395_0662
 VVU: VV2_0117
 VVY: VVA0625

[0650]

VPA: VPA0968
 VFI: VFA0841
 PAT: Patl_0427
 CBU: CBU_0030 CBU_0610
 CBD: COXBU7E912_0151 COXBU7E912_0622(hmgA)
 TCX: Tcr_1717
 DNO: DNO_0797
 CVI: CV_1806
 SUS: Acid_5728 Acid_6132
 SAU: SA2333(mvaA)
 SAV: SAV2545(mvaA)
 SAM: MW2466(mvaA)
 SAB: SAB2419c(mvaA)
 SEP: SE2109
 LWE: lwe0819(mvaA)
 LLA: L10433(mvaA)
 LLC: LACR_1664
 LLM: llmg_0931(mvaA)
 SPY: SPy_0880(mvaS.1)
 SPM: spyM18_0941(mvaS1)
 SPG: SpyM3_0599(mvaS.1)
 SPS: SPs1254
 SPH: MGAS10270_Spy0744
 SPI: MGAS10750_Spy0778
 SPJ: MGAS2096_Spy0758
 SPK: MGAS9429_Spy0742
 SPA: M6_Spy0703
 SPN: SP_1726
 SAG: SAG1317
 SAN: gbs1387
 STC: str0576(mvaA)
 STL: stu0576(mvaA)

[0651]

STE: STER_0620
SSA: SSA_0337(mvaA)
LPL: lp_0447(mvaA)
LJO: LJ1608
LSL: LSL_0224
LBR: LVIS_0450
LGA: LGAS_1373
EFA: EF1364
NFA: nfa22110
BGA: BG0708(mvaA)
SRU: SRU_2422
FPS: FP2341
MMP: MMP0087(hmgA)
MMQ: MmarC5_1589
MAC: MA3073(hmgA)
MBA: Mbar_A1972
MMA: MM_0335
MBU: Mbur_1098
MHU: Mhun_3004
MEM: Memar_2365
MBN: Mboo_0137
MTH: MTH562
MST: Msp_0584(hmgA)
MSI: Msm_0227
MKA: MK0355(HMG1)
AFU: AF1736(mvaA)
HAL: VNG1875G(mvaA)
HMA: rmAC3412(mvaA)
HWA: HQ3215A(hmgR)
NPH: NP0368A(mvaA_2) NP2422A(mvaA_1)
TAC: Ta0406m
TVO: TVN1168

[0652]

PTO: PTO1143
PAB: PAB2106(mvaA)
PFU: PF1848
TKO: TK0914
RCI: RCIX1027(hmgA) RCIX376(hmgA)
APE: APE_1869
IHO: Igni_0476
HBU: Hbut_1531
SSO: SSO0531
STO: ST1352
SAI: Saci_1359
PAI: PAE2182
PIS: Pisl_0814
PCL: Pcal_1085
PAS: Pars_0796

[0653]

[0654] 예시적 메탈로네이트 키나아제 핵산 및 폴리펩티드

HSA: 4598(MVK)
MCC: 707645(MVK)
MMU: 17855(Mvk)
RNO: 81727(Mvk)
CFA: 486309(MVK)
BTA: 505792(MVK)
GGA: 768555(MVK)
DRE: 492477(zgc:103473)
SPU: 585785(LOC585785)
DME: Dmel_CG33671
OSA: 4348331
SCE: YMR208W(ERG12)
AGO: AGOS_AER335W
PIC: PICST_40742(ERG12)
CGR: CAGL0F03861g
SPO: SPAC13G6.11c
MGR: MGG_06946
ANI: AN3869.2
AFM: AFUA_4G07780
AOR: AO090023000793
CNE: CNK01740
ECU: ECU09_1780
DDI: DDBDRAFT_0168621
TET: TTHERM_00637680
TBR: Tb927.4.4070
TCR: 436521.9 509237.10
LMA: LmjF31.0560
CBU: CBU_0608 CBU_0609
CBD: COXBU7E912_0620(mvk)
LPN: lpg2039

[0655]

LPF: lpl2017
 LPP: lpp2022
 BBA: Bd1027(lmbP) Bd1630(mvk)
 MXA: MXAN_5019(mvk)
 OIH: OB0225
 SAU: SA0547(mvaK1)
 SAV: SAV0590(mvaK1)
 SAM: MW0545(mvaK1)
 SAR: SAR0596(mvaK1)
 SAS: SAS0549
 SAC: SACOL0636(mvk)
 SAB: SAB0540(mvaK1)
 SAA: SAUSA300_0572(mvk)
 SAO: SAOUHSC_00577
 SEP: SE0361
 SER: SERP0238(mvk)
 SHA: SH2402(mvaK1)
 SSP: SSP2122
 LMO: lmo0010
 LMF: LMOt2365_0011
 LIN: lin0010
 LWE: lwe0011(mvk)
 LLA: L7866(yeaG)
 LLC: LACR_0454
 LLM: llmg_0425(mvk)
 SPY: SPy_0876(mvaK1)
 SPZ: M5005_Spy_0682(mvaK1)
 SPM: spyM18_0937(mvaK1)
 SPG: SpyM3_0595(mvaK1)
 SPS: SPs1258
 SPH: MGAS10270_Spy0740(mvaK1)
 SPI: MGAS10750_Spy0774(mvaK1)

[0656]

SPI: MGAS2096_Spy0753(mvaK1)
 SPK: MGAS9429_Spy0737(mvaK1)
 SPF: SpyM51126(mvaK1)
 SPA: M6_Spy0699
 SPB: M28_Spy0662(mvaK1)
 SPN: SP_0381
 SPR: spr0338(mvk)
 SPD: SPD_0346(mvk)
 SAG: SAG1326
 SAN: gbs1396
 SAK: SAK_1357(mvk)
 SMU: SMU.181
 STC: str0559(mvaK1)
 STL: stu0559(mvaK1)
 STE: STER_0598
 SSA: SSA_0333(mvaK1)
 SSU: SSU05_0289
 SSV: SSU98_0285
 SGO: SGO_0239(mvk)
 LPL: lp_1735(mvaK1)
 LJO: LJ1205
 LAC: LBA1167(mvaK)
 LSA: LSA0908(mvaK1)
 LSL: LSL_0685(eRG)
 LDB: Ldb0999(mvk)
 LBU: LBUL_0906
 LBR: LVIS_0858
 LCA: LSEL_1491
 LGA: LGAS_1033
 LRE: Lreu_0915
 PPE: PEPE_0927
 EFA: EF0904(mvk)

[0657]

OOE: OEOE_1100
 LME: LEUM_1385
 NFA: nfa22070
 BGA: BG0711
 BAF: BAPKO_0732
 FPS: FP0313
 MMP: MMP1335
 MAE: Maeo_0775
 MAC: MA0602(mvk)
 MBA: Mbar_A1421
 MMA: MM_1762
 MBU: Mbur_2395
 MHU: Mhun_2890
 MEM: Memar_1812
 MBN: Mboo_2213
 MST: Msp_0858(mvk)
 MSI: Msm_1439
 MKA: MK0993(ERG12)
 HAL: VNG1145G(mvk)
 HMA: rraAC0077(mvk)
 HWA: HQ2925A(mvk)
 NPH: NP2850A(mvk)
 PTO: PTO1352
 PHO: PH1625
 PAB: PAB0372(mvk)
 PFU: PF1637(mvk)
 TKO: TK1474
 RCI: LRC399(mvk)
 APE: APE_2439
 HBU: Hbut_0877
 SSO: SSO0383
 STO: ST2185

[0658]

SAI: Saci_2365(mvk)
 MSE: Msed_1602
 PAI: PAE3108
 PIS: Pisl_0467
 PCL: Pcal_1835

[0659]

[0660] 예시적 포스포메발로네이트 키나아제 핵산 및 폴리펩티드

HSA: 10654(PMVK)
 PTR: 457350(PMVK)
 MCC: 717014(PMVK)
 MMU: 68603(Pmvk)
 CFA: 612251(PMVK)
 BTA: 513533(PMVK)
 DME: Dmel_CG10268
 ATH: AT1G31910
 OSA: 4332275
 SCE: YMR220W(ERG8)
 AGO: AGOS_AER354W
 PIC: PICST_52257(ERG8)
 CGR: CAGL0F03993g
 SPO: SPAC343.01c
 MGR: MGG_05812
 ANI: AN2311.2
 AFM: AFUA_5G10680
 AOR: AO090010000471
 CNE: CNM00100
 UMA: UM00760.1
 DDI: DDBDRAFT_0184512
 TBR: Tb09.160.3690
 TCR: 507913.20 508277.140
 LMA: LmjF15.1460
 MXA: MXAN_5017
 OIH: OB0227
 SAU: SA0549(mvaK2)
 SAV: SAV0592(mvaK2)
 SAM: MW0547(mvaK2)
 SAR: SAR0598(mvaK2)

[0661]

SAS: SAS0551
SAC: SACOL0638
SAB: SAB0542(mvaK2)
SAA: SAUSA300_0574
SAO: SAOUHSC_00579
SAJ: SaurJH9_0615
SEP: SE0363
SER: SERP0240
SHA: SH2400(mvaK2)
SSP: SSP2120
LMO: lmo0012
LMF: LMOF2365_0013
LIN: lin0012
LWE: lwe0013
LLA: L10014(yebA)
LLC: LACR_0456
LLM: llmg_0427
SPY: SPy_0878(mvaK2)
SPZ: M5005_Spy_0684(mvaK2)
SPM: spyM18_0939
SPG: SpyM3_0597(mvaK2)
SPS: SPs1256
SPH: MGAS10270_Spy0742(mvaK2)
SPI: MGAS10750_Spy0776(mvaK2)
SPJ: MGAS2096_Spy0755(mvaK2)
SPK: MGAS9429_Spy0739(mvaK2)
SPF: SpyM51124(mvaK2)
SPA: M6_Spy0701
SPB: M28_Spy0664(mvaK2)
SPN: SP_0383
SPR: spr0340(mvaK2)
SPD: SPD_0348(mvaK2)

[0662]

SAG: SAG1324
 SAN: gbs1394
 SAK: SAK_1355
 SMU: SMU.938
 STC: str0561(mvaK2)
 STL: stu0561(mvaK2)
 STE: STER_0600
 SSA: SSA_0335(mvaK2)
 SSU: SSU05_0291
 SSV: SSU98_0287
 SGO: SGO_0241
 LPL: lp_1733(mvaK2)
 LJO: LJ1207
 LAC: LBA1169
 LSA: LSA0906(mvaK2)
 LSL: LSL_0683
 LDB: Ldb0997(mvaK)
 LBU: LBUL_0904
 LBR: LVIS_0860
 LCA: LSEI_1092
 LGA: LGAS_1035
 LRE: Lreu_0913
 PPE: PEPE_0925
 EFA: EF0902
 NFA: nfa22090
 BGA: BG0710
 BAF: BAPKO_0731
 NPH: NP2852A
 SSO: SSO2988
 STO: ST0978
 SAI: Saci_1244

[0663]

[0664] 예시적 디포스포메탈로네이트 데카르복실라아제 핵산 및 폴리펩티드

HSA: 4597(MVD)
 PTR: 468069(MVD)
 MCC: 696865(MVD)
 MMU: 192156(Mvd)
 RNO: 81726(Mvd)
 CFA: 489663(MVD)
 GGA: 425359(MVD)
 DME: Dmel_CG8239
 SCE: YNR043W(MVD1)
 AGO: AGOS_AGL232C
 PIC: PICST_90752
 CGR: CAGL0C03630g
 SPO: SPAC24C9.03
 MGR: MGG_09750
 ANI: AN4414.2
 AFM: AFUA_4G07130
 AOR: AO090023000862
 CNE: CNL04950
 UMA: UM05179.1
 DDI: DDBDRAFT_0218058
 TET: TTHERM_00849200
 TBR: Tb10.05.0010 Tb10.61.2745
 TCR: 507993.330 511281.40
 LMA: LmjF18.0020
 CBU: CBU_0607(mvaD)
 CBD: COXBUE912_0619(mvaD)
 LPN: lpg2040
 LPF: lpl2018
 LPP: lpp2023

[0665]

TCX: Tcr_1734
DNO: DNO_0504(mvaD)
BBA: Bd1629
MXA: MXAN_5018(mvaD)
OIH: OB0226
SAU: SA0548(mvaD)
SAV: SAV0591(mvaD)
SAM: MW0546(mvaD)
SAR: SAR0597(mvaD)
SAS: SAS0550
SAC: SACOL0637(mvaD)
SAB: SAB0541(mvaD)
SAA: SAUSA300_0573(mvaD)
SAO: SAOUHSC_00578
SAJ: SaurJH9_0614
SAH: SaurJH1_0629
SEP: SE0362
SER: SERP0239(mvaD)
SHA: SH2401(mvaD)
SSP: SSP2121
LMO: lmo0011
LMF: LMOF2365_0012(mvaD)
LIN: lin0011
LWE: lwe0012(mvaD)
LLA: L9089(yeaH)
LLC: LACR_0455
LLM: llmg_0426(mvaD)
SPY: SPy_0877(mvaD)
SPZ: M5005_Spy_0683(mvaD)
SPM: spyM18_0938(mvd)
SPG: SpyM3_0596(mvaD)
SPS: SPs1257

[0666]

SPH: MGAS10270_Spy0741(mvaD)
 SPI: MGAS10750_Spy0775(mvaD)
 SPJ: MGAS2096_Spy0754(mvaD)
 SPK: MGAS9429_Spy0738(mvaD)
 SPF: SpyM51125(mvaD)
 SPA: M6_Spy0700
 SPB: M28_Spy0663(mvaD)
 SPN: SP_0382
 SPR: spr0339(mvd1)
 SPD: SPD_0347(mvaD)
 SAG: SAG1325(mvaD)
 SAN: gbs1395
 SAK: SAK_1356(mvaD)
 SMU: SMU.937
 STC: str0560(mvaD)
 STL: stu0560(mvaD)
 STE: STER_0599
 SSA: SSA_0334(mvaD)
 SSU: SSU05_0290
 SSV: SSU98_0286
 SGO: SGO_0240(mvaD)
 LPL: lp_1734(mvaD)
 LJO: LJ1206
 LAC: LBA1168(mvaD)
 LSA: LSA0907(mvaD)
 LSL: LSL_0684
 LDB: Ldb0998(mvaD)
 LBU: LBUL_0905
 LBR: LVIS_0859
 LCA: LSEI_1492
 LGA: LGAS_1034
 LRE: Lreu_0914

[0667]

PPE: PEPE_0926
 EFA: EF0903(mvaD)
 LME: LEUM_1386
 NFA: nfa22080
 BBU: BB0686
 BGA: BG0709
 BAF: BAPKO_0730
 GFO: GFO_3632
 FPS: FP0310(mvaD)
 HAU: Haur_1612
 HAL: VNG0593G(dmd)
 HMA: rmAC1489(dmd)
 HWA: HQ1525A(mvaD)
 NPH: NP1580A(mvaD)
 PTO: PTO0478 PTO1356
 SSO: SSO2989
 STO: ST0977
 SAI: Saci_1245(mvd)
 MSE: Msed_1576

[0668]

[0669] 예시적 이소펜테닐 포스페이트 키나아제 (IPK) 핵산 및 폴리펩티드

[0670] 메타노박테리움 써모오토트로피쿰 (Methanobacterium thermoautotrophicum) gi|2621082

[0671] 메타노코쿠스 잔나스치이 (Methanococcus jannaschii) DSM 2661 gi|1590842

[0672] 메타노칼도코쿠스 잔나스치이 (Methanocaldococcus jannaschii) gi|1590842

- [0673] 메타노써보박터 썬마우토티로피쿠스 (Methanothermobacter thermautotrophicus) gi|2621082
- [0674] 피크로필루스 토리두스 (Picrophilus torridus) DSM9790 (IG-57) gi|48477569
- [0675] 피로코쿠스 아비시 (Pyrococcus abyssi) gi|14520758
- [0676] 피로코쿠스 호리코시이 (Pyrococcus horikoshii) OT3 gi|3258052
- [0677] 아카에오글로부스 풀기두스 (Archaeoglobus fulgidus) DSM4304 gi|2648231
- [0678] 예시적 이소펜테닐-디포스페이트 델타-이성화효소 (IDI) 핵산 및 폴리펩티드

HSA: 3422(IDI1) 91734(IDI2)
 PTR: 450262(IDI2) 450263(IDI1)
 MCC: 710052(LOC710052) 721730(LOC721730)
 MMU: 319554(1di1)
 RNO: 89784(1di1)
 GGA: 420459(IDI1)
 XLA: 494671(LOC494671)
 XTR: 496783(1di2)
 SPU: 586184(LOC586184)
 CEL: K06H7.9(1di-1)
 ATH: AT3G02780(IPP2)
 OSA: 4338791 4343523
 CME: CMB062C
 SCE: YPL117C(IDI1)
 AGO: AGOS_ADL268C
 PIC: PICST_68990(IDI1)
 CGR: CAGL0J06952g
 SPO: SPBC106.15(1di1)
 ANI: AN0579.2
 AFM: AFUA_6G11160
 AOR: AO090023000500
 CNE: CNA02550
 UMA: UM04838.1
 ECU: ECU02_0230
 DDI: DDB_0191342(1pi)
 TET: TTHERM_00237280 TTHERM_00438860
 TBR: Tb09.211.0700
 TCR: 408799.19 510431.10
 LMA: LmjF35.5330
 EHI: 46.t00025

[0679]

ECO: b2889(idi)
 ECJ: JW2857(idi)
 ECE: Z4227
 ECS: ECs3761
 ECC: c3467
 ECI: UTI89_C3274
 ECP: ECP_2882
 ECV: APECO1_3638
 ECW: EcE24377A_3215(idi)
 ECX: EcHS_A3048
 STY: STY3195
 STT: t2957
 SPT: SPA2907(idi)
 SEC: SC2979(idi)
 STM: STM3039(idi)
 SFL: SF2875(idi)
 SFX: S3074
 SFV: SFV_2937
 SSN: SSON_3042 SSON_3489(yhfK)
 SBO: SBO_3103
 SDY: SDY_3193
 ECA: ECA2789
 PLU: plu3987
 ENT: Ent638_3307
 SPE: Spro_2201
 VPA: VPA0278
 VFI: VF0403
 PPR: PBPR0469(mvaD)
 PEN: PSEEN4850
 CBU: CBU_0607(mvaD)
 CBD: COXBU7E912_0619(mvaD)
 LPN: lpg2051

[0680]

LPF: lpl2029
 LPP: lpp2034
 TCX: Tcr_1718
 HHA: Hhal_1623
 DNO: DNO_0798
 EBA: ebA5678 p2A143
 DVU: DVU1679(idi)
 DDE: Dde_1991
 LIP: LI1134
 BBA: Bd1626
 AFW: Anae109_4082
 MXA: MXAN_5021(fni)
 RPR: RP452
 RTY: RT0439(idi)
 RCO: RC0744
 RFE: RF_0785(fni)
 RBE: RBE_0731(fni)
 RAK: A1C_04190
 RBO: A1I_04755
 RCM: A1E_02555
 RRI: A1G_04195
 MLO: mlr6371
 RET: RHE_PD00245(ypd00046)
 XAU: Xaut_4134
 SIL: SPO0131
 SIT: TM1040_3442
 RSP: RSP_0276
 RSH: Rsph17029_1919
 RSQ: Rsph17025_1019
 JAN: Jann_0168
 RDE: RD1_0147(idi)
 DSH: Dshi_3527

[0681]

BSU: BG11440(ypgA)
 BAN: BA1520
 BAR: GBAA1520
 BAA: BA_2041
 BAT: BAS1409
 BCE: BC1499
 BCA: BCE_1626
 BCZ: BCZK1380(fni)
 BCY: Bcer98_1222
 BTK: BT9727_1381(fni)
 BTL: BALH_1354
 BLI: BL02217(fni)
 BLD: BLi02426
 BAY: RBAM_021020(fni)
 BPU: BPUM_2020(fni)
 OIH: OB0537
 SAU: SA2136(fni)
 SAV: SAV2346(fni)
 SAM: MW2267(fni)
 SAR: SAR2431(fni)
 SAS: SAS2237
 SAC: SACOL2341(fni)
 SAB: SAB2225c(fni)
 SAA: SAUSA300_2292(fni)
 SAO: SAOUHSC_02623
 SEP: SE1925
 SER: SERP1937(fni-2)
 SHA: SH0712(fni)
 SSP: SSP0556
 LMO: lmo1383
 LMF: LMOF2365_1402(fni)
 LIN: lin1420

[0682]

LWE: lwe1399(fni)
LLA: L11083(yebB)
LLC: LACR_0457
LLM: limg_0428(fni)
SPY: SPy_0879
SPZ: M5005_Spy_0685
SPM: spyM18_0940
SPG: SpyM3_0598
SPS: SPs1255
SPH: MGAS10270_Spy0743
SPI: MGAS10750_Spy0777
SPJ: MGAS2096_Spy0756
SPK: MGAS9429_Spy0740
SPF: SpyM51123(fni)
SPA: M6_Spy0702
SPB: M28_Spy0665
SPN: SP_0384
SPR: spr0341(fni)
SPD: SPD_0349(fni)
SAG: SAG1323
SAN: gbs1393
SAK: SAK_1354(fni)
SMU: SMU.939
STC: str0562(idi)
STL: stu0562(idi)
STE: STER_0601
SSA: SSA_0336
SGO: SGO_0242
LPL: lp_1732(idi1)
LJO: LJ1208
LAC: LBA1171
LSA: LSA0905(idi)

[0683]

LSL: LSL_0682
 LDB: Ldb0996(fni)
 LBU: LBUL_0903
 LBR: LVIS_0861
 LCA: LSEI_1493
 LGA: LGAS_1036
 LRE: Lreu_0912
 EFA: EF0901
 OOE: OEOE_1103
 STH: STH1674
 CBE: Cbei_3081
 DRM: Dred_0474
 SWO: Swol_1341
 MTA: Moth_1328
 MTU: Rv1745c(idi)
 MTC: MT1787(idi)
 MBO: Mb1774c(idi)
 MBB: BCG_1784c(idi)
 MPA: MAP3079c
 MAV: MAV_3894(fni)
 MSM: MSMEG_1057(fni) MSMEG_2337(fni)
 MUL: MUL_0380(idi2)
 MVA: Mvan_1582 Mvan_2176
 MGI: Mflv_1842 Mflv_4187
 MMC: Mmcs_1954
 MKM: Mkms_2000
 MJL: Mjls_1934
 CGL: NCgl2223(cgl2305)
 CGB: cg2531(idi)
 CEF: CE2207
 CDI: DIP1730(idi)
 NFA: nfa19790 nfa22100

[0684]

RHA: RHA1_ro00239
 SCO: SCO6750(SC5F2A.33c)
 SMA: SAV1663(idi)
 LXX: Lxx23810(idi)
 CMI: CMM_2889(idiA)
 AAU: AAur_0321(idi)
 PAC: PPA2115
 FRA: Francci3_4188
 FRE: Franean1_5570
 FAL: FRAAL6504(idi)
 KRA: Krad_3991
 SEN: SACE_2627(idiB_2) SACE_5210(idi)
 STP: Strop_4438
 SAQ: Sare_4564 Sare_4928
 RXY: Rxyl_0400
 BBU: BB0684
 BGA: BG0707
 SYN: sl11556
 SYC: syc2161_c
 SYF: Synpcc7942_1933
 CYA: CYA_2395(fni)
 CYB: CYB_2691(fni)
 TEL: tll1403
 ANA: all4591
 AVA: Ava_2461 Ava_B0346
 TER: Tery_1589
 SRU: SRU_1900(idi)
 CHU: CHU_0674(idi)
 GFO: GFO_2363(idi)
 FJO: Fjoh_0269
 FPS: FP1792(idi)
 CTE: CT0257

[0685]

CCH: Cag_1445
 CPH: Cpha266_0385
 PVI: Cvib_1545
 PLT: Plut_1764
 RRS: RoseRS_2437
 RCA: Rcas_2215
 HAU: Haur_4687
 DRA: DR_1087
 DGE: Dgeo_1381
 TTH: TT_P0067
 TTJ: TTHB110
 MJA: MJ0862
 MMP: MMP0043
 MMQ: MmarC5_1637
 MMX: MmarC6_0906
 MMZ: MmarC7_1040
 MAE: Maeo_1184
 MVN: Mevan_1058
 MAC: MA0604(idi)
 MBA: Mbar_A1419
 MMA: MM_1764
 MBU: Mbur_2397
 MTP: Mthe_0474
 MHU: Mhun_2888
 MLA: Mlab_1665
 MEM: Memar_1814
 MBN: Mboo_2211
 MTH: MTH48
 MST: Msp_0856(fni)
 MSI: Msm_1441
 MKA: MK0776(lldD)
 AFU: AF2287

[0686]

HAL: VNG1818G(idi) VNG6081G(cert_1) VNG6445G(cert_2) VNG7060 VNG7149
 HMA: rrnAC3484(idi)
 HWA: HQ2772A(idiA) HQ2847A(idiB)
 NPH: NP0360A(idiB_1) NP4826A(idiA) NP5124A(idiB_2)
 TAC: Ta0102
 TVO: TVN0179
 PTO: PTO0496
 PHO: PH1202
 PAB: PAB1662
 PFU: PF0856
 TKO: TK1470
 RCI: LRC397(fni)
 APE: APE_1765.1
 SMR: Smar_0822
 IHO: Igni_0804
 HBU: Hbut_0539
 SSO: SSO0063
 STO: ST2059
 SAI: Saci_0091
 MSE: Msed_2136
 PAI: PAE0801
 PIS: Pisl_1093
 PCL: Pcal_0017
 PAS: Pars_0051
 TPE: Tpen_0272

[0687]

[0688]

예시적 이소프렌 신타아제 핵산 및 폴리펩티드

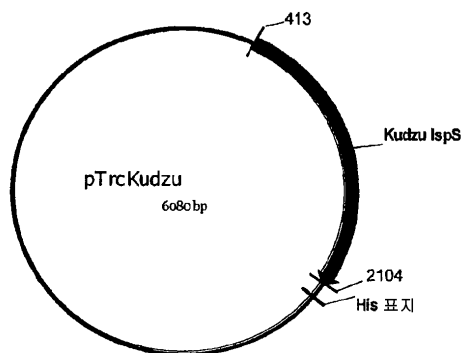
[0689]	Genbank 기탁 번호
[0690]	AY341431
[0691]	AY316691
[0692]	AY279379
[0693]	AJ457070
[0694]	AY182241

도면

도면1

1-
 atgtgtgacacctcttctcaatttactcagattaccgagcataattcccgctcgttcogcaaaact
 atcagccaaacctgtggaatttcgaattcctgcaatccctggagaaogacctgaaagtggaaaa
 gctggaggagaaagcgaccaaactggaggaagaagttcgtgcatgatcaaccgtgtagacacc
 cagccgctgtccctgctggagctgatcgacgatgtgcagcgccctgggtctgacctacaaatttg
 aaaaagacatcattaaagccctggaaaacatcgtactgctggacgaaaaacaaaagaacaaatc
 tgacctgcacgcaaccgctctgtcttccgctctgctgcgtcagcaccggtttcgaggtttctcag
 gatgtttttgagcgtttcaaggataaagaaggtgggtttcagcgggtgaactgaaaggtgacgtcc
 aaggcctgctgagcctgtatgaagcgtcttaccctgggtttcgaggggtgagaacctgctggagga
 ggccgctaccttttccatcacccacctgaagaacaacctgaaagaaggcattaataccaaggtt
 gcagaaacagtgagccacgcccctggaaactgccatataccagcgtctgcaccgtctggaggcac
 gttgggttccctggataaatacgaaccgaaagaacccgcatcaccagctgctgctggagctggcgaa
 gctggattttaacatgggtacagaccctgcaccagaaagagctgcaagatctgtcccgctgggtg
 accgagatggggcctggctagcaaaactggattttgtacgcgaccgctgatggaagtttatttct
 gggcactgggtatggcgccagaccccgagtttgggtgaatgtcgaaagctgttactaaaatgtt
 tggctgtggtgacgatcatcgatgacgtgtatgacgtttatggcactctggacgaactgcaactg
 ttaccgatggtgtagagcgtgggacgttaacgctattaacacctgcccgaactatatgaaac
 tgtgtttctctggcactgtacaacaccgttaacgacacgtcctatttctattctgaaagagaaagg
 tcataacaacctgtcctatctgacgaaaagctggcgtgaactgtgcaaaagcctttctgcaagag
 gcgaaatgggtccaacaacaaaattatcccggtttctccaagtacctggaaaacgccagcgttt
 cctcctccggtgtagcgtgctggcgccgtcttacttttccgtagccagcagcaggaagacat
 ctccgaccacgogctgcgttccctgaccgacttccatggctgtggtgcgttctagctgcgttatc
 ttccgctgtgcaacgatctggccacctctgcggcggagctggaacgtggcgagactaccaatt
 ctatcattagctacatgcacgaaaacgatggtaccagcggaggaaacaggcccgcaagaactgcg
 taaactgatcgacgcgaatggaaaaagatgaatcgtgaacgcgttagcgactccacctgctg
 cctaaagcgttcatggaaatcgagtttaacatggcaacgtgtttcccaactgcacctaccagtatg
 gcgatggtctgggtcgccgactacgcgactgaaaaccgcatcaaaactgctgctgattgaccc
 tttcccgattaaaccagctgatgtatgc
 taactgcag
 (SEQ ID NO:1)

도면2



도면3a

1-
gttttgacagcttatcatcgactgcacgggtgcaccaatgcttctggcgctcaggcagccatcgga
gctgtggtatggctgtgcaggtcgtaaatcactgcataattcgtgtcgctcaaggcgactccc
gttctggataaatgtttttgcgccgacatcataacggttctggcaaatattctgaaatgagctg
ttgacaattaatcatcggctcgtataatgtgtggaattgtgagcggataaccaatttcacacag
gaaacagcgccgctgagaaaaagcgaagcggcactgctcttaacaatttatcagacaattctgt
gtgggcactcgaccggaattatcgatttaactttattttaaaaattaaagaggtatataattaat
gtatcgattaaataaggaggaaataaacc**ATG**gtgtgcgacctcttctcaatttactcagattacc
gagcataattcccgctcgttccgcaaaactatcagccaaacctgtggaatttcgaattcctgcaat
cctgggagaacgacctgaaagtggaaaagctggaggagaaagcgacaaactggaggagaagt
tcgctgcatgatcaacgctgtagacaccagcgcgtgtccctgctggagctgatcgacgatgtg
cagcgccctgggtcgtgacctacaaatttgaaaaagacatcattaaagccctggaaaaatcgtac
tgctggacgaaaaacaaaaagaacaaatctgacctgcacgcaaccgctctgtctttccgtcgtct
gcgtcagcacgggtttcgagggtttctcaggatgtttttgagcgtttcaaggataaagaaggtggt
ttcagcggtgaaaggtagcgtccaaggcctgctgagcctgtatgaagcgtcttacctgg
gtttcgagggtgagaacctgctggaggaggcgtacottttccatcacccacctgaagaacaa
cctgaagaaggcatataataccaaggttgagaacaagtgagccacgccctggaactgccatat
caccagcgtctgcacctgtggaggcacgttggttccctggataaaatcgaaccgaaagaaccgc
atcaccagctgctgctggagctggcgaagctggattttaacatggtacagaccctgcaccagaa
agagctgcaagatctgtcccgctggtggaccgagatgggcctggctagcaaaactggattttgta
cgcgaccgctgatggaagtttatctgggactgggtatggcgccagaccgcagtttgggtg
aatgtcgaaaagctgttactaaaatgtttggtctggtgacgatcatcgatgacgtg*atgacgt
ttatggcactctggacgaactgcaactgttcaccgatgctgtagagcgtgggacgttaacgct
attaacacctgcccgaactatgaaactgtgttccctggcactgtacaacacctgtaacgaca
cgtcctattctattctgaaagagaaagggtcataacaacctgtcctatctgacgaaaagctggcg
tgaactgtgcaaagcctttctgcaagaggcgaaatggtccaacacaaaaattatcccggtttc
tccaagtacctggaaaaacgccagcgtttcctcctccggtgtagcgtgctggcgccgtcttact
tttccgtatgccagcagcaggaaagacatctccgaccacgcgctgcgttccctgaccgactcca
tggtctggtgcgttctagctgcgttatcttccgcctgtgcaacgatctggccacctctgcggcg
gagctggaacgtggcgagactaccaattctatcattagctacatgcacgaaaacgatggtacca
gcgaggaaacaggccccgcaagaactgcgtaaactgatcgacgcccgaatggaaaaagatgaatcg
tgaacgcgttagcgactccacctgctgcctaaagcgttcatggaatcgagttacatggca
cgtgtttcccaactgcacctaccagtatggcgatgggtctgggtcgccagactacgcgactgaaa
accgcatcaaaactgctgctgattgacctttcccgattaaaccagctgatgtatgtc**TAA**ctgca
gctggtaccatatgggaattcgaaagctttctagaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaa
tagcgccgtcgaccatcatcatcatcattgagtttaaacgggtctccagcttggctgttttg
gcggatgagagaagattttcagcctgatacagattaaatcagaacgcagaagcggctctgataaa
acagaatttgctggcgcgagtagcgcggtggtccacctgaccccatgccgaactcagaagt
aaacgcgtagcgccgatggtagtgtgggtctcccatgcgagagtagggaactgccagcgaat
caaataaaacgaaaggctcagtcgaaagactgggcctttcgttttatctgtgtgttgcggtga
acgctctcctgagtaggacaaaatccgcgggagcggatttgaacgttgccgaagcaacggcccg

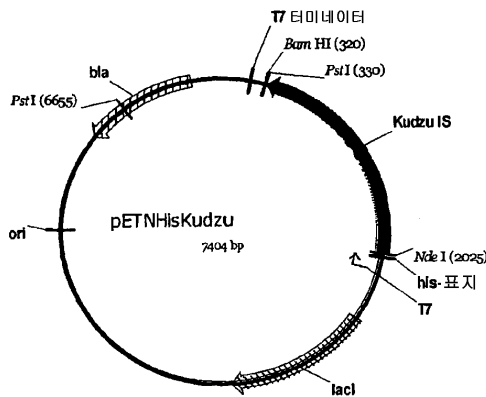
도면3b

agggtggcgaggacgcccgcataaaactgccagcgcataaaatgaagcagaaggccatcctg
acggatggcctttttcgctttctacaaactcttttggtttttttctaaatcatctcaaatat
gtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaggaagagtatg
agtattcaacatttccgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttctgtttttg
ctcaccagaaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtgggtta
catcgaaactggatctcaacagcggtaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttcca
atgatgagcacttttaaagttctgctatgtggcgcggtattatcccggtgttgacgcgggcaag
agcaactcggctcgccgcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactcaccagtcacaga
aaagcatcttacggatggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgcataaccatgagtgat
aacactgcggccaacttacttctgacaacgatcggaggaccgaaggagcctaaccgctttttgc
acaacatgggggatcatgtaactcgcttggatcgttgggaaccggagctgaatgaagccatacc
aaacgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgccgcaactatttaact
ggcgaaactacttactctagcttcccgcaacaattaatagactggatggaggcgataaagtgg
caggaccacttctgcgctcgcccttccggctggctgggttatttgcgtgataaatctggagccgg
tgagcgtgggtctcgcggtatcatctgagcactggggccagatggtaagccctcccgatctgta
gttatctacacgagcgggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagatag
gtgcctcactgattaagcatggtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattga
tttaaaacttcatttttaaatttaaaaggatctaggtgaagatcctttttgataatctcatgacc
aaaatcccttaaagctgagttttcggttccactgagcgtcagaccggtagaaaagatcaaaggat
cttcttgagatccttttttctgcgctaatctgctgcttgcacacacacacacacacacacac
agcggtgggtttgtttgcgggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttccgc
agagcgagataccaaatactgtccttctagtgtagcgttagttagccaccacttcaagaact
ctgtagcaccgctacatacctcgtctgctaactctgttaccagtggtgctgcccagtgccga
taagtcgtgtcttaccgggttggaactcaagacgatagtttacggataaggcgagcgtcgggc
tgaacggggggttcgtgacacacagccagcttggagcgaacgacacacacacacacacacac
tacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttccgaaggagaaaggcgagacaggtatccggt
aagcgaggggtcggaacaggaagagcgacgagggagcttccaggggaaacgctggtatcct
tatagtcctgtcgggttccgacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacac
ggcgagcctatggaaaaacgacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacac
ttttgctcacatgttcttctcgtcttatccctgattctgtgataaccgtatttacccgcttt
gagtgagctgataccgctcgccgcagccgaacgacgagcgcagcagtgagtgagcggaag
cggaagagcgctgatgaggtattttctccttacgcatctgtgcggtatttccacacgcatatg
gtgcaactctcagtaacatctgctctgatgcgcgcatagtttaagccagatatacactccgctatcgc
tacgtgactgggtcatggctgcgcccgcacacacacacacacacacacacacacacacacac
ttgtctgctcccgcatccgcttacagacaaagctgtgacgctctccggagctgcatgtgtcag
aggttttcccgctcatcaccgaacgcgcgagcagcagatcaattcgcgcggaaggcggaagc
ggcatgcatttacgttgacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacacac
ccggaagagagtcatttcagggtggtgaatgtgaaacagtaacggtatacagatgtcgagag
atgcccgtgtctcttatcagacgcttcccgctggtgaaccaggccagccacgctttctgcgaa
aacgcgggaaaaagtggaagcgcgatggcgagctgaattacattcccaaccgctggcaca
caactggcgggcaaacagtcgttctgattggcgttgccacctccagcttgccctgcacgcgc
cgtcgcaaatgttcgcgcgatataatctcgcccgatcaactgggtgcacgctgggtggtgc
gatggtagaacgaagcgcgctgaagcctgtaaagcgcggtgcacaactctctcgcgcaacgc
gtcagtggtgctgatcattaactatccgctggatgaccagatgccattgctgtggaagctgcct

도면3c

Gcactaatgttccggcggtatttcttgatgtctctgaccagacacccatcaacagttattttt
ctcccatgaagacggtacgcgactggcggtggagcatctggctgcattgggtcaccagcaaatc
gcgctgttagcgggcccatlaagttctgtctcgccgctctgcgtctggctggctggcataaat
atctcactcgcaatcaattcagccgatagcggaaacgggaaggcgactggagtgccatgtccgg
ttttcaacaaacatgcaaatgctgaatgagggcatogttccactgcgatgctggttgccaac
gatcagatggcgctggcgcaatgcgcgcaattaccagatccgggtgcgcgttggtgcggata
tctcggtagtgggatacagacgataccgaagacagctcatgttatatccgcgctcaaccacat
caaacaggattttcgctgctggggcaaacagcgtggaccgcttgcgtgcaactctctcagggc
caggcggtgaagggaacacagctgttgccgctctcactggtgaaaagaaaaacacccctggcg
ccaatacgaacacccctctcccgcgcttgccgattcattaatgcagctggcacgacaggt
ttcccgactggaagcgggcagtgagcgcaacgcaattaatgtgagtttagcggaattgatctg
(SEQ ID NO:2)

도면4



도면5a

1-
ttctcatgtttgacagcttatcatcgataagctttaatgcggtagtttatcacagttaaattgc
taacgcagtcaggcacccgtgtatgaaatctaacaatgcgctcatcgatcctcggcacccgtca
ccctggatgctgtaggcataggcttggttatgcccgtactgccgggcccctcttgcgggatatccg
gatatagttcctcctttcagcaaaaaacccctcaagaccgcttagaggcccaagggttatg
ctagttattgctcagcgggtggcagcagccaactcagcttcctttcgggcttggtagcagccgg
atccctgcagtttagacatacatcagctggttaatcgggaaagggtcaatcagcagcagttgat
gcggttttcagtcgcgtagtctgggcgacccagaccatcgccatactggtaggtagcagtgaggaa
acacgtgcatgttaactgcgatttccatgaacgcgtttaggcagcaggggtggagtcgctaaccgc
gttcacgattcatcttttccattcggcgctcgatcagtttacgcagttcttcgcgggcccgttc
ctcgctggtaccatcgtttctgctgcatgtagctaataatgataagaattggtagtcctcgccacgttcc
agctccgcccgcagaggtggccagatcggtgcacagcggaagataacgcagctagaacgcacca
gacctgggaagtoggtcagggaaacgcagcgcgtggtcggagatgtcttctgctgctggcatac
ggaaaagtgaagacggcgccagcagcgtacacccgaggaggaaaacgctggcgttttccaggtac
ttggagaagccgggataattttgtgttggaacatttcgcctcttgcaaaaaggctttgcaca
gttcacgcagcttttctgcagataaggacaggttggttatgacctttctcttcagaatagaata
ggacgtgtcgttaacggtgtgtacagtgccaggaaacacagtttcatatagtcgggcaggggtg
ttaatagcgttaacgtccagcgcctctacagcatcggtgaacagttgcagttcgtccagagtg
cataaacgtcatatacagtcacgatgatcgatcgatcaccagaccaaacttttagtaacagctttgcg
acattcaccaaaactcggggtctggcgccataccagtgcccagaaataaacttccatcaggcgg
tcgctgacaaaaatccagtttgcagccagcccatctcggtccaccagcgggacagatcttgca
gctctttctggtgcagggctctgtaccatgttaaaatccagcttcgcagctccagcagcagctg
gtgatgcggttcttctcggttctgtatttatccaggaaccaacgtgcctccagacgggtgcagacgc
tggtgatatggcagttccagggcggtggtcactgttctgcaaccttggtatattgctctt
tcagggtgttcttcagggtgggtgatggaaaaggtacgcgcctcctccagcaggtlctcacccctc
gaaacccaggtgaagacgcttcatcacaggtcagcagcccttgagctcacctttcagttcacccg
ctgaaacaccccttcttctccttgaaacgctcaaaaacatcctgagaaacctcgaaacccgtgct
gacgcagcagacggaagacagagcgggtgctgcaggtcagatttgttcttttgttttctgctc
cagcagtaacgtatttccagggtttaatgatgtcttttcaaatgttaggtcagaccagcag
cgctgcacatcgatcagctccagcagggacagcgggtgggtgtctacacgggttgatcatgc
agcgaacttcttctccagtttggctcgttctcctccagcttttccactttcaggtcgttctc
cagggtattgcaggaattcgaatttccacaggtttggctgatagtttgcggaaacgacgggaatta
tgctcggtaattctgagtaaatgagaagaggtcgacacatatgacacacctcgatatggccgc
tgctgtgatgatgatgatgatgatgatgatggccatggtatatctccttcttaaggttaa
acaaaattatttctagaggggaattgttatccgctcacaaattccctatagtgagtcgtattaa
tttcgcgggatcgagatctcgatcctctacgcggacgcacgtggcgccatcaccggcgcca
cagggtcgggtgctggcgccctatctcgccgacatcaccgatggggaagatcgggctcgccactt
cgggctcatgagcgttggtttcggcgtgggtatggtggcagggcccgtagccggggactgttg
ggcgccatctccttgcatgaccattccttgcggcgcggtgctcaacggcctcaacctactac
tgggctgcttcttaatgcaggagtcgcataaggagagcgtcgagatcccggacaccatcgaat
ggcgcaaaaccttgcgggtatggcatgatagcggccggaagagagtcgaattcagggtgggtgaa
tgtgaaaccagtaacgtttatcagatgtcgcagagtagccgggtgtcttatcagacgggttcc
cgcggtggtgaaccagggcagccagcttctgcgaaaaacggggaaaaagtggaagcgcgatgg
cggagctgaattacattcccaaccgctggcacaacaactggcgggcaaacagtcgttgcgtgat
tggcggtgccacctccagcttgccctgcacgcgcgtcgcaaatgtcgcggcgattaaatct

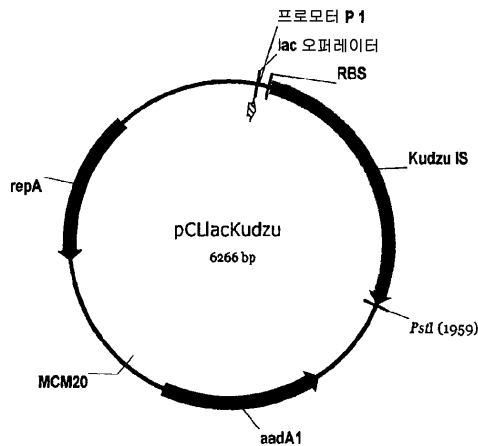
도면5b

cgcgcgcgatcaactgggtgccagcgtgggtggtgcgatggtagaagcgaagcggcgtcgaagccct
gtaaagcggcggtgcacaatctctcgcgcgaacgcgtcagtggtgatcatataactatccgcgt
ggatgaccaggtgacctgtgtggaagctgctgcactaatgttccggcggttatttcttgat
gtctctgaccagacacccatcaacagtattatttctcccatgaagacgggtacgcgactggcg
tgagcatctggtcgcattgggtcaccagcaaatcgcgctgttagcgggcccataaagtctgt
ctcggcgctctcgcgtcgtggtggcgcataaatatctcactcgcaatcaaatcagccgata
gcggaacgggaagcgactggagtccatgtccggtttcaacaaacccatgcaaatgctgaatg
agggcacgttccactgcatgctggttgcacacgatcagatggcgctggcgcaatgcgcgc
cattaccgagtcgggctgcggttggtgoggatctcgcgttagtgggatacgcgataccgaa
gacagctcatgttatatccgcgcgttaaccacatcaaacaggatttccgctgctggggcaaa
ccagcgtggaccgcttgcgcacactctcagggccagcggtgaagggcaatcagctgttgc
cgtctcactggtgaaaagaaaaacccctggcgcccaatcgcgaacccgctctcccgcgcg
ttggccgattcatataatgcagctggcgcacaggtttcccgactggaaagcggcgagtgcgc
aacgcaatataatgtaagttagctcactcattaggaacggggtctcgcacgatgcccttgagag
ccttcaacccagtcagctcctcgcgtggcgcgggggcatgactatcgtcgcgcacttatgac
tgtctcttcttatcatgcaactcgttaggacaggtgcgcgcagcgtctgggtcatttctcgcgag
gaccgcttctcgtggagcgcgcagatgacggcctgtcgttgcggtattcggaatcttgacag
ccctcgtcaagccttctcgtcgtggtccgcaccaaagcttccggcgagaagcaggccattat
cgccgcactggcgccgagcgcgtgggtcactgtcgtggtcgtcgcgcagcaggtggatg
gccttccccattatgattctctcgttccggcggtcagggatgcgcggttgaggccatgc
tgtccagcgagtagatgacgacatcagggaacgcttcaaggatcgtcgcgcgcttaccag
cctaactctcgatcactgacgcgtgatcgtcagggcatttatgcgcctcgcgcagacatgg
aacgggttggtggtgattgtaggcgccgcctataccttgtctgcctcccgcggttggtcgcg
gtgcatggagccgggcccacctgcacctgaatggaagccggcgccacctcgttaacggattcacc
actccaagaattggagccaatcaattcttgcggagaactgtgaatgcgcaaaccaacccctggc
agaacatatacctcgcgtcgcacatctccagcagccgcacgcggcgcatctcgggcagcgttg
gtcctggcagcggtgcgcgatgctgctcctgtcgttgaggacccggctaggctggcggggt
tgcttactggttagcagaatgaatcaccgatacgcgagcgaactgaagcgactgctgctga
aaacgtctgcgacctgagcaacaacatgaatggtctcgggttccggtgttctgtaagtctgga
aacgcgggaagtgcgcgcctgcacattatgttccggatctgcacgcaggatgctgctggcta
ccctgtggaacacctaactgttataacgaagcgtggcattgacccctgagtgatttctct
ggtccgcgcacatccatccgcagttgtttaccctcacaacgttccagtaacccggcatgttc
atcatcagtaacccgtatcgtgagcatcctctcgtttcatcggtatcattacccccgaac
agaaatcccccttacacggaggcatcagtgaccaaacaggaaaaaacccgcttaacatggccc
gctttatcagaagccagacacattaacgcttctgggaaactcaacgagctggagcggatgaaca
ggcagacatctggaatcgttcaacgacacgcgtgatgagcttaccgcagctgcctcgcgcgt
ttcgggtgatgacggtgaaaacctctgacacatgcagctcccgagacgggtcacagcttgtctgt
aagcggtatccgggagcagacaagcccgtagggcgcgctcagcggtgttgccgggtgcgggg
cgcagccatgacccagtcacgtagcgtatgcggagtgatactggcttaactatgcgcgcatcag
agcagattgtactgagagtgacacatatacggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggaga
aaataccgcacagggcgtcttccgcttctcgtcactgactcgtgcgcgtcggtcgttccgc
tgccgcgagcgttatcagctcactcaagcggttaacacggttatccacagaatcaggggataa
cgcaggaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaacgtaaaaggcgcggttg
ctggcggttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaataatcgacgctcaagtca

도면5c

gggtggcgaaccccgacaggactataaagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcg
ctctcctggttccgacccctgcgccttaccggatacctgtcgcctttctccttccgggaagcgtg
gcgctttctcatagctcagcgtgtaggatctcagttcgggtgtaglcttgcctccaagctgg
gctgtgtgcacgaacccccggttcagcccgacgcgtgcgccttatccggtaactatcgtcttga
gtccaacccggtgaagacacgacttatcgcacatggcagcagccactggtaacaggattagcaga
gagaggtatgtaggcggtgtcacagagttcttgaagtggtggcctaactacggctacactagaa
ggacagttatttggtatctgcgcctcgtgaagccagttaccttccgaaaaagagttggtagctc
ttgatccggcaaaccaacccgcgtggtagcggtggttttttggttgcaagcagcagattacg
cgcgaaaaaaaggatctcaagaagatccttggatcttttctacgggggtcgcagctcagtgga
acgaaaaactcaggttaagggttttgggtcatgagattatcaaaaaggatcttccctagatcct
tttaaatataaaatgaagtttaaatcaatcaatcaaaagtatatgagtaaaacttggtctgacagt
taccatgcttaatcagtgaggcaactatctcagcgatctgtctatttcttccatccatagttg
cctgactccccgtcgtgtagataaactacgatacgggagggcttaccatctggccccagtgctgc
aatgatccgcgagacccacgcctcaccggctccagatttatcagcaataaacagccagccgga
agggccgagcgcagaagtggctcgtcaactttatccgctccatccagcttataatgttggc
gggaagctagagtaagttagttcgcaggttaatagtttgcgcaacgttgttgccattgtgcagg
catcgtggtgtcacgctcgtcgtttgggtatggcttcattcagctccggttcccaacgatcaagg
cgagttacatgatccccatgtgtgcaaaaaagcgttagctcctcggctcctcgcgcgttg
tcagaagtaagtgtggccgaggttatcactcatggttatggcagcactgcataattctcttac
tgtcatgccatccgtaagatgctttctgtgactggtgagtaactcaacaaagtcatctgagaa
tagtgtatgcggcgacagagttgctcttgcggcggtcaacacgggataaatccgcgcacata
gcagaactttaaaagtgtcatcattggaaaaagcttctcggggcgaaaaactctcaaggatctt
accgctgttgagatccagttcgatgaacccaactcgtgcacccaactgatcttcagcatcttt
acttccacagcgtttctgggtgagcaaaaaacagggaaggcaaaatgcgcgcaaaaaagggaataa
ggcgacacgggaagtgtgaatactcactactcttcttcttcaatattatgaagcattatca
gggtattgtctcatgagcggtacatatttgatgtatttagaaaaataaacaataggggt
ccgcgcacatttcccgaaaagtgcacctgacgtctaagaacacattattatcatgacattaa
cctataaaaaataggcgtatcagagggcccttctgcttcaagaa
(SEQ ID NO:5)

도면6



도면7a

1-
 cccgtcttactgtcgggaattcgcgttggccgattcattaatgcagctggcagcacaggtttcc
 cgactggaaagcgggcagtgagcgcaacgcaattaatgtgagtttagctcactcattaggcacc
 caggctttacactttatgcttccggctcgtatgtgtgtggaattgtgagcggataacaatttc
 acacaggaaacagctatgacctgattacgccaagcttgatcgattaaataaggaggaataaa
 ccattgtgtgcgacctcttctcaalttactcagattaccgagcataattcccgctcgttcgcgaaa
 ctatcagccaaacctgtggaatttcgaattcctgcaatccctggagaacgacctgaaagtggaa
 aagctggaggagaaagcgacaaactggaggaagaagtgcgtgcattgatcaaccgtgtagaca
 ccagccgctgtccctgctggagcgtgatcgacgatgtgcagcgctgggtctgacctacaaatt
 tgaaaaagacatcattaaagccctggaaaacatcgtactgctggacgaaaaacaaaaagacaaa
 tctgacctgcacgcaaccgctctgtcttccgtctgctgcgtcagcagcgtttcgaggtttctc
 aggatgtttttgagcgtttcaaggataaaagaagtggtttcagcgggtgaactgaaaggtgacgt
 ccaagccctgctgagcctgtatgaagcgtcttacctgggtttcaggggtgagaacctgctggag
 gaggcgctaccttttccatcaccacctgaagaacaacctgaaagaaggcattaataccaagg
 ttgcagaacaagtgaagccacgacctggaaactgccatatcaccagcgtctgcacctctggaggc
 acgttgggttccctggataaatacgaaccgaaagaacccgcatcaccagctgctgctggagctggcg
 aagctggattttaacatggtacagacctgcaccagaaagagctgcaagatctgtcccgctggt
 ggacggagatgggctggtgctagcaaaactggattttgtacgcgacgcctgatggaaatttattt
 ctgggcactgggtatggcgccagacctgcagtttggtgaattgtcgcaagctgttactaaaatg
 tttggtctggtgacgatcatcgatgacgtgtatgacgtttatggcactctggacgaactgcaac
 tgttcaccgatgctgttagagcgtgggacgttaacgctattacacacctgcccgaactatgaa
 actgtgttccctggcactgtacaacacctgttaacgacacgtcctattctattctgaaagagaaa
 ggtcataacaacctgtcctatctgacgaaaagctggcggtgaactgtgcaaaacctttctgcaag
 aggcgaaatggtccaaacaacaaattatcccgctttctccaagtacctggaaaacgcccagcgt
 ttccctcctccggtgtagcgtgctggcgccgtcttacttttccgtatgccagcagcagggaagac
 atctccgaccacgcgctgctgttccctgaccgacttccatggtctggtgctgtttagctgcttta
 tcttccgctgtgcaacgatctggccacctctgcggcggagctggaacgtggcgagactaccaa
 ttctatcattagctacatgcacgaaaacgatggtaccagcgaggaacagggcccgcaagaactg
 cgtaaacctgatcgacgcggaattgaaaaagatgaatcgtgaacgcgttagcgactccacctgc
 tgcctaaaagcgttcatggaattcgagtttaacatggcaogtgttcccaactgcacctaccagta
 tggcgatggtctgggtcgcccagactacgcgactgaaaaccgcatcaaaactgctgctgattgac
 cctttccgattaaaccagctgatgtatgtctaactgcaggtcgactctagaggatccccgggtg
 ccgagctcgaatttcactggccgtcgttttacaacgctcgtgactgggaaaaacctggcgttacc
 aacttaatgccttgtagcacatccccctttcgccagctggcgttaatagcgaagaggcccgac
 cgatcgcccttcccaacagtgtgcgcagcctgaatggcgaatggcgctgatggcgtattttctc
 cttacgcactctgtgcggtatttcacaccgcatatggtgcaactctcagtacaactctgctctgatg
 ccgcatagtttaagccagccccgaccccccaacacccgctgacgagcttagttaaagccctcgc
 tagatttttaatgcggatgttgctgattacttcgccaactattgcgataacaagaaaaagccagcc
 tttcatgatatactcccaatttggtagggcttattatgcacgcttaaaaaataaaaaagcag
 acttgacctgatagtttgctgtgagcaattatgtgcttagtgcatctaaccgtttgagttaaagc
 cgcccggaagcggcgtcggttgaaacgaattgtagacattattggccgaactaccttggtga
 tctcgctttcacgtagtggaacaaattcttccaactgatctgcgcgcgagggccaagcgactcttc
 tcttgtccaagataagcctgtctagcttcaagtagacgggctgactgggcccgcgagcgcc
 tccattgcccagtcggcagcgacatccttcggcgcgattttgcccgttactgcgctgtacaaaa
 tgccgggacaacgtaagcactacatttcgctcatcgccagcccagtcgggcccgcgagttccatag

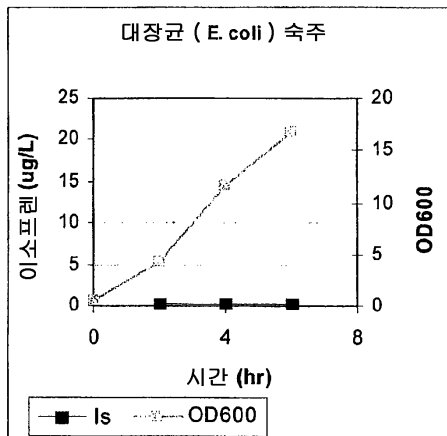
도면7b

cgttaagggtttcatttagcgccctcaaatagatcctgttcagggaacgggatcaaagagttcctcc
gcccgtggacctaccaggaacgctatgttctctgtctttgtcagcaagatagccagatcaa
tgctgatcgtggctggctcgaagatacctgcaagaatgtcattgcgctgccattctccaaattg
cagttcgcgcttagctggataaacgccacggaatgatgtcgtcgtgcacaacaatggtagcttct
acagcgcggaagatctcgtctctccaggggaagccgaagtttccaaaagggtcgttgatcaaag
ctcgcgcggtttgttcatcaagccttacggtcaccgtaaccagcaaatcaatatcactgtgtgg
cttcaggcgccatccaactgcggagccgtacaaatgtacggccagcaacgctcggttcagatgg
cgctcgatgacgccaaactacctctgatagttgagtcgatacttcggcgatcacccgttccctca
tgatgtttaactttgttttagggcgactgcctgctgcgtaacatcgttgctgctccataacat
caaacatcgacccacggcgtaacgcgcttgcgtcgttggtgacccgagcatagactgtacccca
aaaaaacagtcatatacaagccatgaaaacggccactgcgcggttaccaccgctgcgttcggtca
aggttctggaccagtgtgcgtgagcgcatagctacttgcattacagcttacgaaccgaacaggc
ttatgtccactgggttcgtgccttcatccgtttccacgggtgtgcgtcaccgggcaaccttgggc
agcagcgaagtgcaggcatttctgtcctggctggcggaacgagcgcaaggttctcggtctccacgc
atcgtcaggcatttggcgcccttgcgtgttcttctacggcaaggtgctgtgcacggatctgccctg
gcttcaggagatcggaagacctcggcgctcgcggcgcttgcgggtggtgctgaccccgatgaa
gtggttcgcacccctcggttttctggaaggcgagcatcgtttgttcgcccagcttctgtatggaa
ogggcatcgagatcagtgagggtttgcaactgcgggtcaaggatctggatttcgatcagggcac
gatcatcgtgcgggagatagatacgaagggtccaaggatcgggccttgatgttaccgagagcttggca
cccagcctgcggcgagcaggggaattaatccacgggttttgcgtgcccgcaaacgggctgttct
gggtgttgctagtttgttatcagaatcgagatccgggttcagccgggttgcgggctgaaagcgc
tatttctccagaattgccatgatttttccccacgggagcgctcactgggtcccggtgtgtcg
gcagctttgatcgaataagcagcatcgctgttccaggctgtctatgtgtgactgttgagctgt
aacaagttgtctcaggtgttcaatttcatgttctagttgctttgtttactgggttccactgtt
ctattaggtgttacatgctgttcatctgttacattgtcgatctgttcatggtgaacagctttga
atgcacaaaaactcgtaaaagctctgatgtatctatctttttacacggttttcatctgtgca
tatggacagtttccctttgatattgaacgggtgaacaggttctacttttgtttgttagtctt
gatgcttcactgatagatacaagagccataagaacctcagatcctccgtatttagccagtatg
ttctctagtggtgtcgtgttttgcgtgagccatgagaacgaaccattgagatcactttac
tttgcagtgctcactcaaaaatttgcctcaaaaactggtagctgaatttttgcagttaaagcatc
gtgtaggtttttcttagtccgttatgtaggtaggaatctgatgtaatggttgttggtattttg
tcaccattcatttttatcgtgttgcgtcaggttcggttacgagatccatttgcctatctagtt
caacttggaaaatcaacgttatcagtcggcgccctcgttatcaaccaccaatttcatattgct
gtaagtgttttaactttactttatgggtttcaaaacccattggttaagccttttaaactcatgg
tagttattttcaagcattaaacatgaacttaatttcatcaaggctaattctctatatttgcctgt
gagttttcttttgtgttagttcttttaataaaccactcataaatcctcatagagtattgttttc
aaaagacttaacatgtccagatttatattttatgaatttttttaactggaaaagataaaggcaat
atctcttcaactaaaaactaattctaattttgcgttgagaacttggcatagtttgcactgga
aatctcaaaagcctttaaocaaaggattcctgatttccacagttctcgtcatcagctctctggt
tgctttagctaaatacaccataagcattttccctactgatgttcatcatctgagcgtattgttta
taagtgaacgataccgtccgttcttctctgtagggttttcaatcgtggggttgagtagtgcca
cacagcataaaaattagcttgggttccatgctccgttaagtcatagcgactaatcgctagttcatt
tgctttgaaaaaactaattcagacatacatctcaattgggtcaggtgattttaatcactatac
caattgagatgggctagtcattgataattactagtccttttccctttgagttgtgggtatctgta

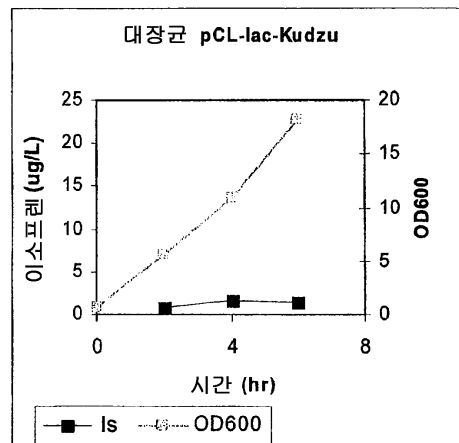
도면7c

Aattctgctagacctttgctggaaaacttgtaaattctgctagacctctgtaaatccgctag
acctttgtgtgtttttttgtttatattcaagtgggtataatttatagaataaagaagaataa
aaaaagataaaaagaatagatcccagccctgtgtataactcactacttttagtcagttccgcagt
attacaaaaggatgtcgcaaacgctgtttgctcctctacaaaacagaccttaaaacccctaaagg
cttaagttagccctcgcaagctcgggcaaatcgctgaatattccttttgcctccgaccatcag
gcacctgagtcgctgtcttttctgtgacattcagttcgtcgcgtcacggctctggcagtgat
gggggttaattggcactacaggcgcttttatggattcatgcaaggaaactaccataataacaag
aaaagcccgctcagggcttctcagggcggttttatggcggtctgctatgtggtgctatctgact
ttttgctgttcagcagtttccgtccctctgattttccagtcagaccactcggattatcccggtga
caggtcattcagactggctaattgcacccagtaaggcagcggtatcatcaacaggctta
(SEQ ID NO:7)

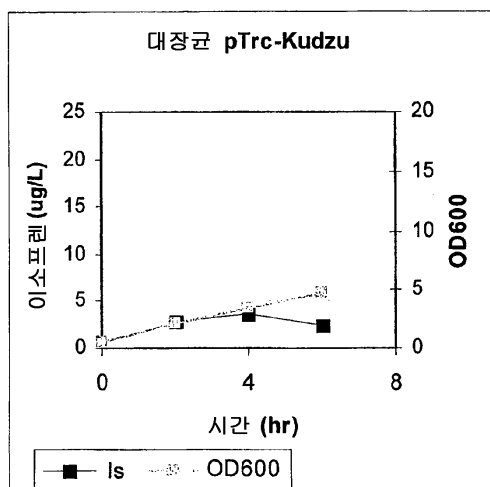
도면8a



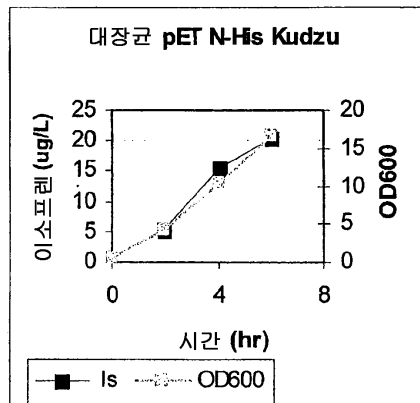
도면8b



도면8c

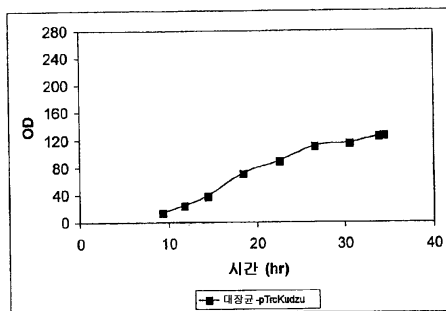


도면8d

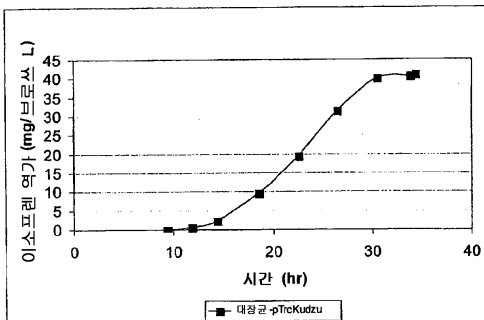


도면9

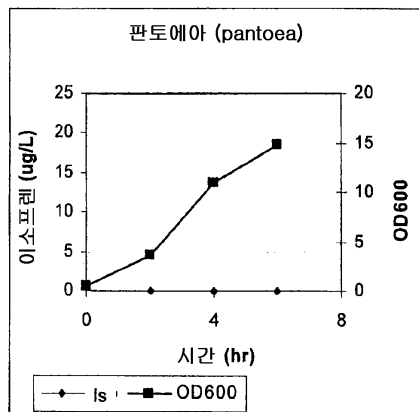
A.



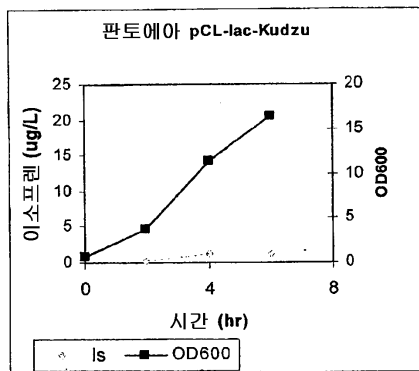
B.



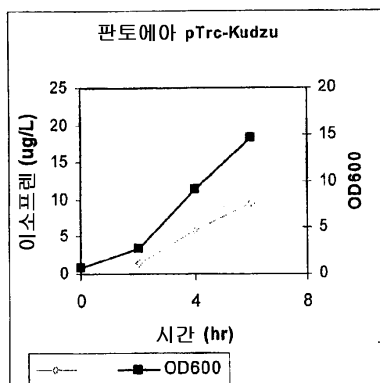
도면10a



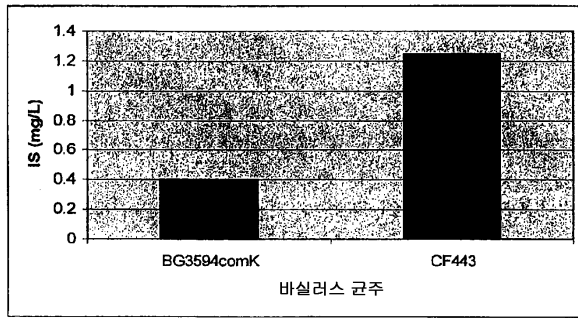
도면10b



도면10c



도면11



도면12a

1-
gaattgctccatttttcttctgctatcaaaataacagactcgtgattttccaaacgagctttcaa
aaaagcctctgccccttgcaaatcggatgcctgtctataaaattcccgatatgtgtaaacagc
ggcgcaatggcgccgcatctgatgtcttggctggcgaatgttcatcttatttcttccctccct
ctcaataatttttctattctatcccttttctglaaagtatttttccagaatacttttatcatc
atgctttgaaaaaatatcacgataaatccattgttctcacggaagcacacgcagggtcatttga
acgaatttttgcgacaggaatttgccgggactcaggagcattttaacctaaaaaagcatgacatt
tcagcataatgaacatttactcatgtctattttcgttctttctgtatgaaaaatagtatttgcg
agtctctacggaataagcagagatgatatacctaaatagagataaaatcatctcaaaaaatg
ggtctactaaaatattattccatctattacaataaaattcacagaatagtcttttaagtaagtct
actctgaatttttttaaaaggagagggttaagagtgtgtgcgaacctcttctcaatttactcaga
ttaccgagcataattcccgctcgttccgcaaaactatcagccaaacctgtggaatttcgaattcct
gcaatccctggagacgacctgaaagtggaaaagctggaggagaaagcgaccaaactggaggaa
gaagtctcgtgcatgatcaaacctgttagacacccagccgctgtccctgctggagctgatcgacg
atgtgcagcgctgggtctgacctacaaatttgaaaaagacatcattaaagccctggaaaacat
cgtactcgtggacgaaaacaaaaagaacaaatctgacctgcacgcaacccgctctgtcttccgt
ctgctgcgtcagcacggttttcgaggtttctcaggatgtttttgagcgtttcaaggataaagaag
gtggtttcagcggtgaactgaaaggtgacgtccaaggcctgctgagcctgtatgaagcgtctta
cctgggtttcgaggtgagaacctgctggaggaggcgctaccttttccatcacccacctgaag
aacaacctgaaagaaggcatttaatacgaaggttcgagaacaagtgcagccagccctggaactgc
catatcacccagcgtctgcacctctggaggcacgttggttccctggataaatcgaaccgaaaaga
accgcatcacccagctgctgctggagctggcgaagctggattttaacatggtacagacccctgcac
cagaagagctgcaagatctgtcccgctggtggaccgagatgggcctggctagcaaaactggatt
ttgtacgcgaccgctgatggaagtattttctgggcactgggtatggcgccagaccgcagtt
tggtgaatgtcgcaagctgttactaaaatgtttggtctggtgacgatcatcgatgacgtgtat
gacgtttatggcactctggacgaactgcaactgttcaccgatgctgtagagcgtgggacgtta
acgtatataacacctgcgcgactatatagaaactgtgttccctggcactgtacaacacctgtaa
cgacacgtcctattctattctgaaagagaaaggtcataacaacctgtcctatctgacgaaaagc
tggcgtgaactgtgcaagcctttctgcaagaggcgaatggccaacaacaaatattcccg
ctttctccaaagtaacctggaacacgccaagcgtttcctcctccggtgtagcgtgctggcgcgctc
ttacttttccgatgccagcagcaggaagacatctccgaccacgcgctgcgttccctgaccgac
ttccatggctggtgctgttctagctgcttattctccgctgtgcaacgatctggccacctctg
cggcggagctggaacgtggcgagactaccaattctatcattagctacatgcacgaaaacgatgg
taccagcgaggaaacaggcccggaagaactcgctaaactgatcgacgcgaatggaaaaagatg
aatcgtgaacgcgttagcgactccacctgctgcctaaagcgttcattggaatcgacgttaaca
tggcacgtgtttccactgcaactaccagtatggcgatggtctgggtgcgccagactacgcgac
tgaaaaacggcatcaaaactgctgctgattgacctttcccgattaaacagctgatgtatgtctaa
aaaaaacggccttgccccgcgggtttttattatttttcttccctccgatgttcaatccgct
ccataatcgacgggatggctccctctgaaaaatttaacgagaaaacggcggttgacccggtcag
tcccgtaacggccaagtctgaaacgtctcaatcgccgcttcccggtttccggtcagctcaatg
ccgtaacggtcggcgcggttttctgataccgggagacggcattcgtaatcggtatcctctagag
tcgacctgcagcgatgcaagctttgctcgcgctttcgtgatgacggtgaaaacctctgaca
catgcagctcccgagacggtcacagctgtctgtaagcggatgcccgggagcagacaagccgct
cagggcgctcagcggtgttgccgggtgtcggggcgagccatgaccagctacgtagcgata

도면12b

g c g g a g t g t a t a c t g g c t t a a c t a t g c g g c a t c a g a g c a g a t t g t a c t g a g a g t g c a c c a t a t g
c g g t g t g a a a t a c c g c a c a g a t g c g t a a g g a g a a a t a c c g c a t c a g g c g c t c t t c c g c t t c c t
c g t c a c t g a c t c g t g c g c t c g g t c g t c g g c g g c g a g c g g t a t c a g c t c a c t c a a a g g c
g g t a a t a c g g t t a t c c a c a g a a t c a g g g a t a a c g c a g g a a g a a c a t g t g a g c a a a g g c c a g
c a a a g g c c a g g a a c c g t a a a a g g c c g c g t t g c t g g c g t t t t c c a t a g g c t c c g c c c c c t g
a c g a g c a t c a c a a a a t c g a c g t c a a g t c a g a g g t g g c g a a a c c g a c a g g a c t a t a a g a t a
c c a g g c g t t t c c c c c t g g a a g t c c c t c g t g c g c t c t c c t g t t c c g a c c c t g c c g t t a c c g g a
t a c c t g t c c g c c t t t c t c c c t t c g g a a g c g t g g c g c t t t t c t a a t g c t c a c g c t g t a g g t a t c
t c a g t t c g g t g t a g g t c g t t c g t c c a a g c t g g g c t g t g t g c a c g a a c c c c c g t t c a g c c c g a
c c g t g c g c c t t a t c c g g t a a c t a t c g t c t t g a g t c c a a c c g g t a a g a c a g a c t t a t c g c c a
c t g g c a g a c c a c t g g t a a c a g g a t t a g c a g a g c a g g t a t g t a g c g g t g c t a c a g a g t t c t
t g a a g t g g t g g c c t a a c t a c g g t a c a c t a g a a g g a c a g t a t t g g t a t c t g c g c t c t g c t g a a
g c c a g t t a c c t t c g g a a a a g a g t t g g t a g c t c t t g a t c c g g c a a a c a a c c a c c g c t g g t a g c
g g t g g t t t t t t g t t g c a g c a g c a g a t t a c g c g c a g a a a a a g g a t c t c a a g a a g a t c c t t
t g a t c t t t t c a c g g g t c t g a c g t c a g t g g a a c g a a a a c t c a c g t t a a g g a t t t t g g t c a t
g a g a t t a c a a a a g g a t c g a a g t c g g t t c a g a a a a g a a g g a t a t g g a t c t g g a g c t g t a a t a
t a a a a c c t t c t t c a a c t a a c g g g c a g g t t a g t g a c a t t a g a a a c c g a c t g t a a a a g t a c a
g t c g g c a t t a t c t a t a t t a t a a a g c c a g t c a t t a g g c c t a t c t g a c a a t t c c t g a a t a g a g t
t c a t a a c c a a t c c t g a t a a c c a t c a c a a c a g a a t g a t g t a c c t g t a a g a t a g c g g t a a
a t a t a t t g a a t t a c c t t t a t a a t g a a t t t c c t g c t g t a a t a a t g g t a g a a g g t a a t t a c t a
t t a t t a t g a t a t t a a g t t a a c c a g t a a a t g a a g t c c a t g g a a t a a t a g a a a g a g a a a a g
c a t t t t c a g g t a g g t g t t t t g g a a c a a t t t a a a g a a c c a t t a t a t t t c t c a c a t c a g a
a a g g t a a a t c a t a a a a c t c t t g a a g t c a t t c t t t a c a g g a g t c c a a a t a c c a g a g a a t g t t
t t a g a t a c a c c a t c a a a a a t t g t a a a g t g g c t c t a a c t t a t c c c a a t a a c c t a a c t c c g t
c g c t a t t g t a a c c a g t t c t a a a a g c t g a t t t g a g t t t a t c a c c c t t g t c a c t a a g a a a t a a a
t g c a g g g t a a a a t t a t a t c c t t c t t g t t t a t g t t t c g g t a t a a a c a c t a a t a t c a a t t t c t
t g g g t t a c t a a a a g t c g t t t g t t g g t t c a a a t a a t g a t t a a a t a t c t c t t t c t c t c c a a t
t g t c t a a a t c a a t t t t a t a a g t t c a t t t g a t a t g c c t c t a a a t t t t a t c t a a a g t g a a t
t a g g a g g c t t a c t t g t c g t t t c t t c a t t a g a a t c a a t c c t t t t t a a g t c a a t a t t a c t g t
a a c a t a a a t a t a t t t t a a a a t a t c c c a c t t t a t c c a a t t t t c g t t t g t g a a c t a a t g g g t
g c t t t a g t t g a a g a t t a a a g a c c a c a t t a a a a a t g t g g t c t t t t g t t t t t t a a a g g a t t
g a g c g t a c g c g a a a a a t c c t t t c t t c t t c t a t c t t g a t a a a a g g g t a a c t a t t g c c g g t
t g t c c a t c a t g g t g a a c t c t g c t c c t c t g t t g a c a t g a c a c a c a t c a t c t c a a t a t c c g a a
t a g g c c a t c a g t c t g a c g a c c a a g a g a g c c a t a a a c a c c a a t a g c c t t a a c a t c a t c c c c a t
a t t a t c c a a t a t c g t t c c t t a a t t c a t g a a c a a t c t t c a t t c t t t c t c t c t a g t c a t t a t
t a t t g g t c c a t c a c t a t t c t c a t t c c c t t t c a g a t a a t t t a g a t t t g c t t t t c t a a a t a a g
a a t a t t t g g a g a g c a c c g t t c t t a t t c a g c t a t t a a a c t c g t c t t c c t a a g c a t c c t t c a a t
c c t t t a a t a a c a a t a t a g c a t c t a a t c t t c a a c a a a c t g g c c c g t t t g t t g a a c t a c t c t t
a a t a a a a a a t t t t c c g t t c c c a a t t c c a c a t t g c a a t a a t a g a a a t c c a t c t t c a t c g g c t
t t t t c g t a t c a t c t g t a t g a a t c a a a t c g c c t t c t c t g t g t c a t c a a g g t t a a t t t t t a t
g t a t t t c t t t a a c a a c c a c a t a g g a g a t t a a c c t t t a c g g t g t a a a c c t t c c t c c a a a t c
a g a c a a a c g t t t c a a a t t c t t t t c t c a t c a t c g g t c a t a a a a t c c g t a t c c t t a c a g g a t a t
t t t g c a g t t t c g t c a a t t g c c g a t t g t a t a t c g g a t t a t a t t t a t t t t c g g t c g a a t c a t t
g a a c t t t a c a t t t g g a t c a t a g t c t a a t t c a t t g c c t t t t c c a a a a t t g a a t c c a t t g t t

도면12c

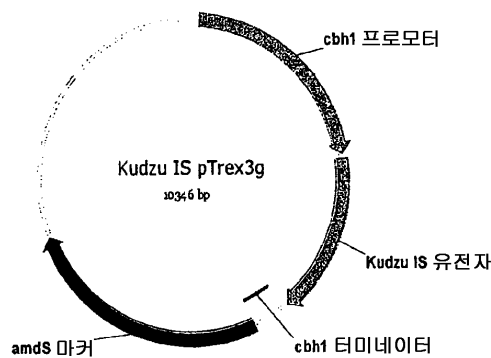
t t g a t t c a c g t a g t t t t c t g t t a t t c t a a a a t a a g t t g g t t c c a c a c a t a c c a t t a c a t g c a t g
t g c t g a t t a a a g a a t t a t c t t t a t t a t t t a t t g t c a c a t c c g t t g c a c g c a t a a a a c c a a c a a
g a t t t t t a t a a t t t t t t a t a t t g c a t c a t c g g c g a a a t c c t t g a g c c a t a t c t g t c a a a c t
c t t a t t t a a t t c t t g c c a t c a t a a a c a t t t t t a a c t g t t a a t g t g a g a a c a a c c a a c g a a c t
g t t g g c t t t g t t a a a a c t c a g c a a c a c c t t t t g t g a c t g a a t g c c a t g t t c a t t g c t c
t c c t c c a g t t g c a c a t t g g a c a a a g c c t g g a t t g c a a a c c a c a c t c g a t a c c a c t t t c t t c
g c c t g t t c a c g a t t t t g t t a t a c t c t a a t a t t t c a g c a c a a t c t t t a c t c t t t c a g c c t t t
t t a a a t t c a a g a a t a t g c a g a a g t t c a a a g t a a t c a a c a t t a g c g a t t t t c t t t c t c c a t g
g t c c a c t t t t c c a c t t t t g t c t t g t c c a c t a a a c c c t t g a t t t t c a t c t g a a t a a t g c t
a c t a t t a g g a c a c a t a a t a t a a a g a a a c c c c a t c t a t t a g t a t t t g t t a g t c a c t t a t
a a c t t a a c a g a t g g g g t t t c t g t g c a a c c a a t t t a a g g g t t t c a a t a c t t t a a a c a c a
t a c a t a c c a c a c t t c a a c g c c c t t c a g c a c t a a a a t a a a a t g a c g t t a t t t c t a t a t g t
a t c a a g a t a a g a a g a a c a g t t c a a a c c a t c a a a a a g a c a c c t t t c a g g t g c t t t t t t
a t t t t a a a a c t c a t t c c o t g a t c t c g a c t t c g t c t t t t t a c c t c t o g g t t a t g a g t t a g t
t c a a a t c g t t c t t t t a g g t t c a a a t c g t g t t t t c t t g g a a t g t g c t g t t t a t c c t t a
c c t t g t c t a a a a c c c t t a a a a c g t t t t a a a g c c t t t a a g c c g t c t g t a c g t t c c t t a a g

(SEQ ID NO:57)

도면13

ATGTGTGCAACCTCCTCCAGTTTACTCAGATTACCGAGCATAATTCTCGACGATCTGCTAACT
 ACCAGCCGAACCTTTGGAACTTTGAGTTTCTCCAGTCTCTCGAAAATGACCTGAAGGTGGAAAA
 GCTCGAGGAGAAGGCGACCAACTCGAGGAGGAGGTCCGATGTATGATCAACAGAGTTGACACC
 CAACCCCTGTCTTTGCTGGAGCTGATCGACGATGTGCAGCGGTTGGGTTTGACTTATAAATTCG
 AGAAGGACATTATCAAGGCACCTGGAGAACATTGTGCTCCTCGACGAGAACAGAAGAACAAGTC
 TGATCTTCACGCTACCGCTCTCTCTTTCCGACTTCTTCGACAAACACGGCTTCGAGGTGTGCGAG
 GACGTCTTCGAGAGATTTAAGGACAAGGAGGGAGGATTTAGCGGCAGCTGAAGGGAGACGTTC
 AGGGCTTCTCTCCTTGTACGAGGCGTCTACCTGGGATTTCGAGGGAGAGAACCTCCTGGAGGA
 AGCTCGTACATTTTCCATCAGTCACCTTAAGAATAACCTTAAGGAGGGAATTAACACCAAGGTG
 GCCGAGCAGGTTTCTCACGCCCTGGAGCTCCCTACCACCAACGGCTCCATAGACTGGAGGCTC
 GTTGGTTCTCTGGACAAATATGAGCCAAAGGAGCCTCATCATCAGTTGCTGTGGAGTTGGCCAA
 GCTGGACTTCAATATGGTTTCAGACGCTGCACCAAAAGGAGTTGCAGGACCTGTCTCGATGGTGG
 ACCGAGATGGGATTGGCCTCGAAGCTGGATTTTGTCCGTGACCGACTTATGGAGGTCTATTTT
 GGGCCCTTGGAAATGGCGCTGACCCCGAGTTCGGAGAGTGCCGGAAGGCGGTGACGAAGATGTT
 CGGTCTTGTGACTATCATCGACGACGTCTACGATGTCTACGGCACACTCGACGAGTTGCAGCTG
 TTCACTGACGCCGTGAGCGATGGGATGTGAACGCCATTAATACTCTCCCTGACTATATGAAGC
 TGTGCTTCTGGCTCTGTACAACACTGTCAACGATACCTCGTACTCTATCCTCAAGGAGAAGGG
 ACACAACAATCTCTCTACTTTGACCAAAATCCTGGCGAGAACTGTGCAAGGCTTTTCTGCAGGAG
 GCTAAATGGTCCCAATACAAGATCATTCCTGCTTTTCTAAATACCTGGAAAAATGCCTCGGTGT
 CGAGCTCTGGCGTCGCCCTTCTGGCCCCCTTCTACTTCTCCGTCTGCCAGCAGCAGGAGGATAT
 TTCCGATCATGCTCTTAGATCGCTGACCGATTTCACGGCCTCGTGCGATCTTCTGCGTGATT
 TTTCCGTTTGTGTAATGACCTTGCGACCTCTGCTGCTGAGCTGGAACGAGGCGAGACTACAAAT
 CCATTATTTCTTACATGCACGAAAACGATGGAACATCTGAAGAACAGGCTAGAGAGGAACTGCG
 AAAGTTGATCGACGCCGAGTGAAGAAGATGAACAGAGAGCGGGTGTCCGACTCTACCTGCTT
 CCCAAGGCCTTCATGGAGATCGCCGTGAACATGGCTCGAGTTTCCCATTGTACTTACCAGTACG
 GTGACGCCCTGGGTGCTCCGGACTACGCTACAGAGAACCAGTCAAGCTGCTGCTCATCGACCC
 CTTCCCTATCAACCAATTGATGTACGTGTAA
 (SEQ ID NO:8)

도면14



도면15a

```

1   TCGACCGGTG AGAAGAACAG CATCGGGACA AGGGAAGGAA GAACAAAGAC AAAGAAAACA
61  AAAGAAAGCA ATTGAAAACA AAACAAAACA ATTTTCATTC CTTCCTCTAT CATTCCTTTT
121 CTTTCTCTTT CTCTCATPCA ACGCACTCCA TCGTATCCGT ATTCCTCTTA TTTTCTCTCT
181 TTCTCTATAT CCATTCTTTT CTCTCTAGGT GTGTCTCTCT TCCTCTCTCA ATTTCTCTAC
241 TCCGCATTCC AACGCATCCT TCCCCCAACC TCCCATTTCC TCCTTACGGC CCGATAGCGA
301 TCGTCTTTCC CTGCTATPCA CTGCTACOG GCCCTCCTCT TGCACCGTAA CCTCCTACGT
361 ATTTACCATA TCATAAAGTT TTTTCGAGG CTATCGCTG ACCCCCTGTC GCCCTCCTAT
421 TGGCTCCGG ATTATCTTCT TGTCATTAAG GTGATCCATG CTTCCTGAAG ATTCGCGAAA
481 TGTCTCCACT TTGGCGGSGA ATCAITCCAT CCACITCTTT CTCTCTGCTT TTCTCTCATC
541 GGGCTCCTCC TTGCGGCTCT CATTTGGTCTT CCGCTCCGTT TTGTCTTTGC CGATGTTACT
601 TGGGAGAGAG TGGGATAATC CTTTCGAAA AACTCGGTTT GACGCTCCC ATGGTATAAA
661 TAGTGGGTGG TGGACAGGTG CCTTCGCTTT TCTTTAAGCA AGAGAATCCC ATGTCTTGA
721 CTATACCGAA TFCACATACA TTATGAAGAT CACCGCTGTC ATTGCCCTTT TATTCTCACT
781 TGCTGTCTGCC TCACCTATTC CAGTTGCCGA TCCTGGTGTG GTTTCAGTTA GCAAGTCATA
841 TGCTGATTTT CTTCGTGTTT ACCAAGTTG GAACACTTTT GCTAATCCTG ATAGACCCAA
901 CCTTAAGAAG AGAATGATA CACCTGAAG TGGATATCAA GTTGAAGAG TCGTAATTTT
961 TGACGCTCAC GGTGTAGGG CCCCTACAAA AATGACTCAA ACCATGCGTG ATGTCACTCC
1021 TAATACATGG CCAGAATGGC CCGTTAAAT AGGATATATT ACACCAAGAG GTGAACACTT
1081 GATATCACTT ATGGGCGGTT TTTACCGTCA AAAATTCAG CAACAAGGAA TCCTTTCTCA
1141 GGGCTCCTGT CTAATCTCTA ACTCCATATA TGCTCGGCTT GAGCTCGATC AGGCTACTTT
1201 AAAAATCTGT GAAGCATTC TTGCTGTTT GGCACCAAAA TGGGCTTGA CAATTCACTA
1261 CCAACAAAAT CTGAGAAAG CTGATCCTCT TTTTCATCCC GTTAAAGCTG GAACCTGTCT
1321 TATGGATAAA ACTCAAGTTC AACCAAGCTG TGAGAAGGAG GCACAACTC CTATAGATAA
1381 TTTGAATCAA CATTACATCC CCTTTTAGC TTTAATGAAT ACAACATTA ATTTAGTAC
1441 TTCTGCTGTG TGCCAAAAC ACTCTGCTGA TAAATCCTGT GACCTAGTTT TATCCATGCC
1501 TTCTAAATGG TCCATAAAG ATAATGGTAA CAAGGTGCGA TTGGATGGAG CTATGGTCT
1561 ATCTCTACT TTGGCGAGA TTTTCTTCT TGAATATGCT CAAGGCATGC CTCAGCTGC
1621 TTGGGTAACT ATCCACTCAG AGCAAGAGTG GGCCTCCTTG CTAAAGTTCG ATAAATGTCA
1681 ATTCGATTTG ATGGCCCGAA CACCTATAT TGCTCGACAT AACGTTACTC CTTTATTGCA
1741 AGCTATATCA AATGCCCTTA ATCCCAACGC CACTGAATCA AAATTCAG ATATTTCACC
1801 TGATAACAAA ATATGTTTCA TTGCAGGTCA TGACACAAAT ATTGCTAATA TAGCGGCTAT
1861 GTTAAATATG CGTTGGACAT TACCAGGTCA ACCAGATAAT ACTCTCCAG GTGGTGCCCT
1921 AGTATTTGAA CGTCTTGCTG ATAAAAGTGG AAAACAATAT GTTCTGTAT CTATGGTTTA
1981 TCAAACACTA GAACACTTC GATCAGACAC TCCCTTTTCT CTAAATCAGC CTGCGGATC
2041 TGTTCAACTT AAAATTCAG GTTGCAATGA TCAACACGCC GAGGGTTACT GTCCCTTTTC
2101 CACTTTTACA AGAGTTGTTT CCAATCTGT TGAACCTGGA TGCCAACTTC AATAATGAGG
2161 ATCCAAGTAA GGAATGAGA ATGTGATCCA CTTTAAATC CTAAATGAATA CATGCCATA
2221 GTCTTTTCTT TTTGTTCTTT ATGTGCTTTT TCGATGGTAC GGGCGTTGTC AATCTCAGTT
2281 TGTGTGCTTG GTTGACGCTT GGTTCAAAT CTGTTCACTC CATGAATCTT TTACCATTTT
2341 ACCACACGTT TATACCATTC TCTCATAGAA TCTTCATCAA ACCATCTCGG GGTTAGAGTG
2401 GAAAGAAAGT CTTGTTCTTT TATTCCCTTT TTTCCATCTT CAAGGCTTTT CTTTCTTCC
2461 TCCTCCTCGT TCATCTTGAG GTTTGACGTG TCTGTTTAGA ATTTTGAGCT GTTGACAGAT
2521 CTTATTTTTT GTTTTGGGAA AACGAAGCGC TTTACTCTCT TCATCAGTTG GACGATTTGA
2581 CCTTTGAAAA CCAACTACTT TTGCATGTTT TGTATAGAAA TCAATGATAT TAGAATCCCA
2641 CTTTAAATTT TCTTTCAAAG TAGTTGAGCT ATAGTTAAGT GTAAGGGCCC TACTGCGAAA
2701 GCATTTGCCA AGGATGTTT CATTAATCAA GAACGAAAGT TAGGGGATCG AAGACGATCA
2761 GATACCGTCG TAGTCTTAAC CATAACTAT GCCGACTAGG GATCGGCAAA TCTTTCAATT
2821 ATCGACTTGC TCGGCACCTT ACGAGAAATC AAAGCTTTT GGTTCGSGG GAGATATGGT
2881 CGCAAGGCTG AAACTTAAG GAATTGACGG AAGGGCACC CAATGAGTG GAGCCTGCGG
2941 CTTAATTTGA CTCACACGG GGAACCTCAC CAGGCTCAGA CATAGTAAGG ATTGACAGAT
3001 TGAGAGCTCT TTCTTGATTC TATCGGTGTT GTTGCATGGC CGTCTTAGT TGGTGGAGTG
3061 ATTTGCTGCT TTAATTCGCA TAACGACGCA GACCTTAACC TGCTAATAG CTGATCAGC
3121 CATTTTGGCT GATCATTTAG TTCTTAGAGG GACTATTGGC ATAAAGCCAA TGAAGTTTG
3181 AGGCAATTAAC AGGCTCTGTA TGCCCTTAGA TGTTCTGGG CACACCGCG CTACACTGAC
3241 GGAGCCACCG AGTTGAAAAA AATCTTTTGA TTTTATATCC TTGGCCGGA GGTCTGGTA
3301 ATCTTGTAA ACTCCCTCGT GCTGGGATA GAGCATTTGA ATTATGCGG CCGCTCCTCA
3361 ATTCGATGTT CGAGATTTTA CAAGTTTTTA AAATGTATTT CATTATTAAT TTTTATATG
3421 CTAATAAAAA AGCCATAGTT TAATCTATAG ATAACTTTTT TTCCAGTGCA CTACCGAGC

```

도면15b

3481 TTACATTCCC ATACAAAAC TCGTAGTTAA AGCTAAGGAA AAGTTAATAT CATGTTAATT
3541 AAATACGCTA TTTACAAATA GACATTGAAC TCATTATAT CGTTGAATAT GAATAACCAA
3601 TTTACGCGAA TTTTAAACAA ACATCGTTCA CCTCGTTTAA GGATATCTTG TGATATGGGT
3661 GTTGACTTGC TTTATCGAAT AATTACCGTA CCGTAAATTG GCTTGCTGGA TATAGCGGTA
3721 GTCTAATATC TAGCAAAAT CTTTGGGTG AAAAGGCTTG CAATTTCACG ACACCGAATC
3781 ATTTGTCATT TTTAATAAG GAAGTTTCC ATAAATTCCT GTAAATTCG GTTGATCTAA
3841 TTGAAAGAG TAGTTTGGCA TCAGATGAG GAGGCTTTT GTAGAAAGAA ATACGAACGA
3901 AACGAAATC AGCGTTGCCA TCGCTTGGG CAAGCTCCC TTACCTGAAG AGTCGAATTT
3961 TATTGATGAA CTTATAACTT CCAAGCATGC AAACCAAAAG GGAGAACAAG TAATCCAAGT
4021 AGACACGGGA ATTGATTTCT TGGATCACAT GTATCATGCA CTGCGTAAAC ATGACGGCTG
4081 GAGCTTACGA CTTTACTCAA GAGGTGATT AATCATCGAT GATCATCACA CTGCAGAAGA
4141 TACTGCTATT GCACCTGGTA TTGCATTCAA GCAGGCTATG GGTAACTTTG CCGCGGTAA
4201 AAGATTGGGA CATGCTTATT GTCCACTTGA CGAAGCTCTT TCTAGAAAGG TAGTTGACTT
4261 GTCCGGGACG COCTATGCTG TTATCGATT GGGATTAAAG CGTGAAGAGG TTGGGGAAAT
4321 GTCCCTGTGA ATGATCCCTC ACTTACTATA TTCTTTTCG GTAGCAGCTG GAATTACTTT
4381 GCATGTTACC TGCTTATATG GTAGTAATGA CCATCATCGT GCTGAAAGCG CTTTAAATC
4441 TCTGGCTGTT GCCATGCGG CGGCTACTAG TCTTACTGGA AGTTCTGAAG TCCCAAGCAC
4501 GAAGGAGAGT TTGTAAGAT GAATGGATT ATGTCAGGAA AAGAACGACA ATTTTGCATC
4561 CAATATGTCT AAATTTAGA GTTGCTTGA AACAATAGAA CCTTACTGCT TTTATTAATA
4621 CGTTAATTAG AAGCGTATC TCGTGAAGGA ATATAGTAGG TAGCCGTATA AATTGAATTG
4681 AATGTTGAGC TTATAGAATA GAGACACTTT GCTGTTCAAT CGCTGCTCAC TATCCATCT
4741 CACTTTATTA TACGACTTTA AGTATAACT CCGCGGTAT GTTAAATTA ATGATGCACA
4801 AAGCTCCGAT TCCATATGGG TACACTACAA TTAATACTT TTAAGCTGAT CCCCACACA
4861 CCATAGCTTC AAAATGTTT TACTCTTTT TTACTCTTCC AGATTTTCTC GGCATCCGCG
4921 CATGCGCGTA CCACCTCAA ACACCAAGC ACAGCATACT AAATTTTCCC TCTTCTCTCC
4981 TCTAGGGTGT CGTTAATTAC CCGTACTAAA GGTGGAAGAA AGAAAAAGA GACCGCTCG
5041 TCTCTTTTTC TTGCTCGAAA AAGGCAATAA AAATTTTAT CAGCTTCTT TTTCTTGA
5101 TTTTTTTTTT TAGTTTTTTT CTCTTCTAGT GACCTCCATT GATATTAAAG TTAATTAACG
5161 GCTTCTCAAT TCTCAAGTTT CAGTTTCAAT TTTCTGTTC TATTACAAC TTTTACTT
5221 CTGTCTCAAT AGAAAGAAAG CATAGCAATC TAATCTAAGG CGCGGTGTGA CAATTAATCA
5281 TCGCATAGT ATATCGGCAT AGTATAATAC GACAAGTGA GGAACATAAC CATGGCCAAG
5341 TTGACCAAGT COGTTCGGT GCTCACGCG CGCGAGCTCG CCGGAGCGGT CGAGTCTG
5401 ACCGACCGGC TCGGTTCTC CCGGACTTC GTGGAGGACG ACTTCGCGG TGTGTCGG
5461 GACGAGGTGA COCTGTTTAT CAGCGCGTTC CAGGACGAGG TGTGCGCGGA CAACACCTCG
5521 GCCTGCTGT GGTGCGCGG CCGGACGAG CTGTACGCG AGTGTCGGA GGTGCTGTC
5581 ACAGAACTTC GGGAGCGCTC CCGGCGCGCC ATGACCGAGA TCGCGAGCA GCGCTGGGG
5641 CCGGAGTTCG COCTGCGGA CCGGCGCGC AACTCGCTGC ACTTCGTGC CGAGGAGCAG
5701 GACTGACAGC TCGGACGCG GCCACGGGT CCGAGCGCTC GGAGATCCGT CCCCCTTTTC
5761 CTTTGTGAT ATCATGTAAT TAGTTATGTC ACCTTACAT TCACGCGCTC CCCCACATC
5821 CGCTCTAACC GAAAGGAAG GAGTTAGACA ACCTGAAGTC TAGGTCCTTA TTTATTTTT
5881 TATAGTTATG TTAGTATTA GAACGTTATT TATATTCAA ATTTTCTTT TTTTCTGTA
5941 CAGACCGGAG CTTCOCAGTA AATGTCAT CTGCTAGGCA GAAACCGTT CCCCCTAGG
6001 GTCTCTCTCT TGGCTCTCT TCTAGGTCGG GCTGATTGCT CTTGAAGCTC TCTAGGGGG
6061 CTCACACCAT AGGCAGATAA CGTTCCCCAC CGGCTGCGCT CGTAAGCGCA CAAGGACTGC
6121 TCCCAAGAT CTTAGGCGGG ATTTTGGCGA TTTGCGCTA AAGGAACCGG AACACGTAGA
6181 AAGCGAGTCC GCAGAAACGG TGCTGACCCC GGATGAATGT CAGCTACTGG GCTATCTGGA
6241 CAAGGGAATA GCGAAGCGCA AAGAGAAAGC AGGTAGCTTG CAGTGGCTT ACATGGCGAT
6301 AGCTAGACTG GCGGTTTTTA TGGACAGCAA GCGAACCGGA ATTGCGAGCT GGGCGGCCCT
6361 CTGCTAAGT TGGGAAGCCC TGCAAGTAA ACTGGATGGC TTTCTTCCG CCAAGGATCT
6421 GATGGCGCAG GGGATCAAGA TCTGATCAAG AGACAGGATG AGGATCGTT CCGATGATTG
6481 AACAGATGCG ATTGCACGCA GGTCTCCGG CCGCTTGGT GGAGAGGCTA TTCGCTATG
6541 ACTGGGCACA ACAGACAATC GGTGCTCTG ATGCGCGCT GTTCGCGCTG TCAGCGCAGG
6601 GCGCGCGGT TCTTTTGTG AAGACCGACC GTGCGGTG CCGAATGAA CTCGAGACG
6661 AGGCGCGCG GCTATCTGG GTGCGCACGA CGGCGGTTC TTGCGAGCT GTGCTCGAGC
6721 TTGTCACTGA AGCGGAGAG GACTGGCTGC TATTGGCGA AGTCCCGGG CAGGATCTCC
6781 TCTCATCTCG OCTTCTCTCT GCGAGAAAG TATCCATCAT GGTGATGCA ATGCGGGGCG
6841 TGCAATACGT TGATCCGCT ACCTGCCAT TCGACACCA AGCCAAACAT CCGATCGAGC
6901 GAGCAGTAC TCGGATGGAA CCGGCTCTG TCGATCAGGA TGATCTGGAC GAAGGACATC
6961 AGGGGCTCGC GCGAGCGGAA CTGTTGCGCA GGCTCAAGGC GCGCATSCCC GACGCGGAGG

도면15c

7021 ATCTCGTCTG GATCCATGGC GATGCTGCT TGCCGAATAT CATSGTGGA AATGGCGCT
7081 TTTCTGGATT CAACGACTGT GCGCGGCTGG GTGTGGCGGA CCGCTATCAG GACATAGCGT
7141 TGGATACCGG TGAATATGCT GAAGAGCTTG GCGCGAATG GGCTGACCG TTTCTGCTGC
7201 TTTACGGTAT GCGCGCTCCC GATTGCGAGC GCATCGCTT CTATCGCTT CTTGACGAGT
7261 TCTTCTGAAT TGAAAAAGGT ACCAAGTTTA CTATATATA CTTAGATTG ATTTAAACT
7321 TCATTTTTAA TTTAAAAGGA TCTAGTGAA GATCCTTTT GATAATCTCA TGACCAAAAT
7381 CCCTTAACGT GAGTTTTCGT TCCACTGAGC GTGAGACCC GTAGAAAGA TCAAGGATC
7441 TTCTTGAGAT CTTTTTTTTC TGCGCGTAAT CTGCTGCTG CAACAAAAA AACCAACGCT
7501 ACCAGCGGTG GTTTGTTTGC CGGATCAAGA GCTACCAACT CTTTTCGGA AGGTAACTGG
7561 CTTCAGCAGA GCGCAGATAC CAAATACGT CTTCTAGTG TAGCGTAGT TAGGCGACCA
7621 CTTCAGAAAC TCTGTAGCAC CGCTACATA CCTCGCTCT CTAATCTGT TACGAGTGG
7681 TGCTGCGAGT GCGGATAAGT CGTGTCTTAC CGGTTGGAG TCAAGACGAT AGTTACCGGA
7741 TAAGGCGCAG CGGTGCGGCT GAACGGGGGG TTGCTGCACA CAGCCAGCT TGGAGCGAAC
7801 GACTACACC GAATGAGAT ACCTACAGCG TTAGCATTTA GAAAGCGCCA CGCTCCCGA
7861 AGGAGAGAA GCGGACAGGT ATCCGGTAAG CCGCAGGCT GGAACAGGAG AGCGCACGAG
7921 GAGGCTTCCA GGGGAAACG CTTGATCTT TTAGTCTCT GTCGGTTTC GCCACCTCTG
7981 ACTTGAGCGT CGATTTTTGT GATGCTCTG AGGGGGGCG AGCCTATGGA AAAACGCCAG
8041 CAACGCGGCC TTTTACGGT TCTTGGCTT TTGCTGCTC TTTGCTCACA TGTTCTTTTC
8101 TGCGTTATCC CTTGATCTG TGGATACCG TATTACCGCC TTTGAGTCAG CTGATACCGC
8161 TCGCGCGAGC CGAAGCAGCG AGCGCAGCGA G

(SEQ ID NO:11)

도면16

```

1  GAATTCAAAA CAAATCTGT GCAACCTCCT CCCAGTTTAC TCAGATTACC GAGCATATTT
61  CTGGACGATC TGCTAACTAC CAGCGGAAAC TTTGGAACTT TGAGTTTCTC CACTCTCTCG
121 AAAATGACCT GAGGTGGAA AAGCTCGAGG AGAAGGCGAC CAAACTCGAG GAGSAGSTGC
181 GATGTATGAT CAACAGAGTT GACACCCAAC CCCTGTCTTT GCTSGAGCTG ATCGACGATG
241 TGCAGCGGTT GGGTTTGACT TATAAATTCG AGAAGGACAT TATCAAGGCA CTGGAGAACA
301 TTGTCTCTCT CGACGAGAAC AAGAAGAACA AGTCTGATCT TCACGCTACC SCTCTCTCTT
361 TCCGACTTCT TCGACACAC GGCCTCGAGG TGTCCGAGGA CGTCTTGGAG AGATTTRAAGG
421 ACAAGGAGGG AGGATTTAGC GGCAGGCTGA AGGGAGACGT TCAGGGTCTT CTCTCCTTGT
481 ACCAGGCGTC CTACCTGGGA TTCGAGGGAG AGAACTCTCT GGAGGAAGCT CGTACATTTT
541 CCATCACTCA CCTTAAGAAAT AACCTTAAGG AGGGAATTAA CACCAAGGTG GCCGAGCAGG
601 TTTCTCAGCG CCTGGAGCTC CCCTACCACC AACGGCTCCA TAGACTGGAG GTCGTTGGT
661 TCCTGGAACA ATATGAGCCA AAGGAGCCTC ATCATCAGTT GCTGTTGGAG TTGGCCAAAGC
721 TGACATTCAA TATGTTTCAG ACGCTGCACC AAAAGGAGTT GCAGGACCTG TCTCGATGGT
781 GGACGGAGAT GGGATTGGCC TCGAAGCTGG ATTTTGTCCTG TGACCGACTT ATGAGGCTCT
841 ATTTTGGGG CCTTGAATG GCGCTGACC CCCAGTTCGG AGAGTGCCGG AAGGCGGTGA
901 CGAAGATGTT CGGTCTTCTG ACTATCATCG ACCAGCTCTA CGATGCTCTA GGCACACTCG
961 ACGAGTTGCA GCTGTTCACT GACGCGTGG AGCGATGGGA TGTGAACGCC ATTAATACTC
1021 TCCCTGACTA TATGAAGCTG TGCTTCCTGG CTCTGTACAA CACTGTCAAC GATACCTCGT
1081 ACTCTATCCT CAAGGAGAAG GGACACAACA ATCTCTCCTA CTTGACCAA TCTGGCGGAG
1141 AACGTGTCAA GCGTTTCTG CAGGAGGCTA ATGGTCCAA TAACAGACTT ATTCCTGCTT
1201 TTCTTAAATA CTGGAATAAT GCGTCGGTGT CGAGCTCTGG CGTCGCCCTT CTGGCCCTTT
1261 CCACTTCTCT CGCTGCCCAG CAGCAGGAGG ATATTTCCGA TCATGCTCTT AGATCGCTGA
1321 CCGATTTTCA CGGCTCTGTC CGACTTCTCT GCGTGATTTT TCGGTTGTGT AATGACCTTG
1381 CGACTCTGTC TGCTGAGCTG GAACGAGGCG AGACTACAAA TTCCATTATT TCTTACATGC
1441 ACGAATAACA TGGAACAATCT GAAGAACAGG CTAGAGAGGA ACTGCGAAGG TTGATCCGAGC
1501 CCGAGTGGAA GAGATTGAAC AGAGAGCGGG TGTCCGACTC TACCTGCTT CCCAAGGCCT
1561 TCATGGAGAT CGCCGTGAAC ATGGCTCGAG TTTCCCATTT TACTTACCAG TACGGTGACG
1621 GCTTGGGTGG TCCGGACTAC GCTACAGAGA ACCGAATCAA GCTGCTGCTC ATCGACCCCT
1681 TCCCTATCAA CCAATTGATG TACGTGTAAT AGCTAGAGG ATCC

```

(SEQ ID NO:12)

도면17

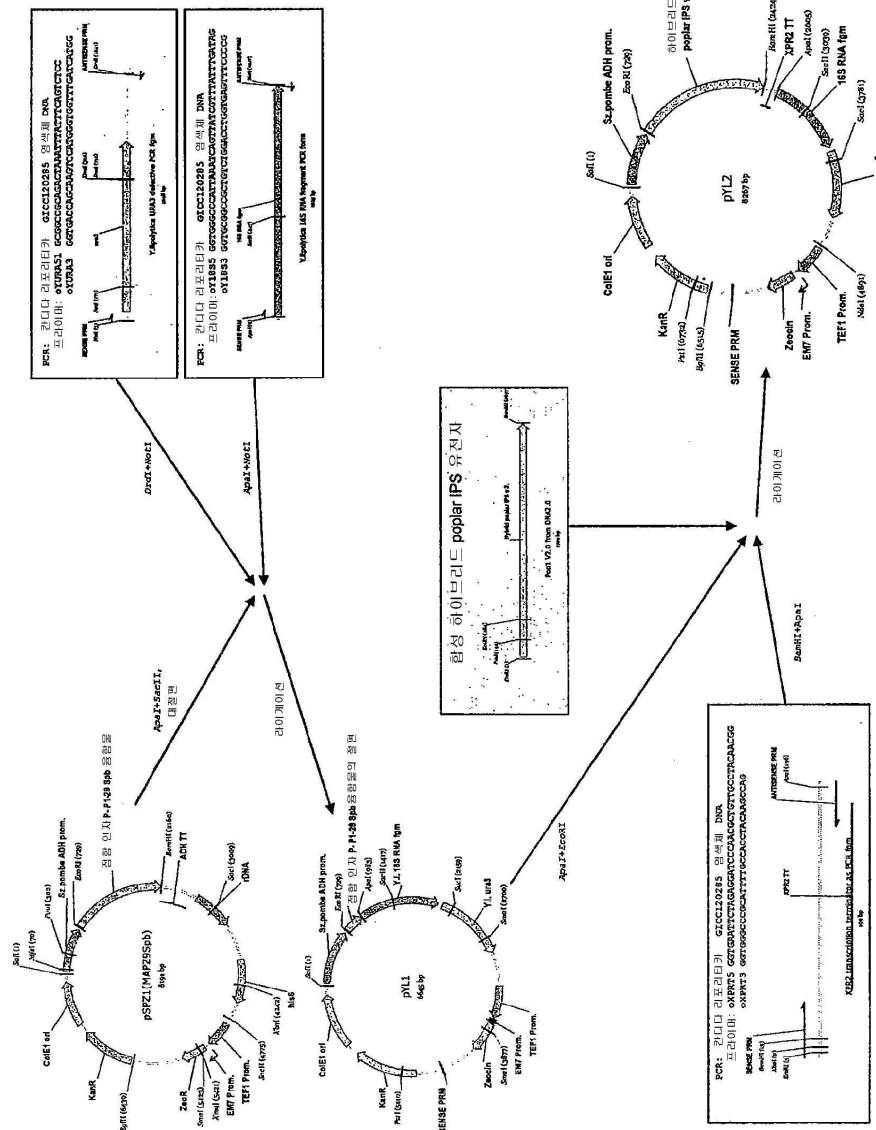
```

1  GAATTCACAA AAAATGTGCT CTGTTTCCAC TGAGAACCTG TCCTTTACTG AGACTGAGAC
61  TGAAGCACGT AGAAGCGCCA ACTACGAACC CAACTCCTGG GATTATGACT TTCTGCTGTC
121 TTCTGACACC GACGATCGA TCGAGGTTTA TAAGGATAAG GCCAAGAAAC TTGAGGCCGA
181 GGTGACAGCA GAGATTAAAC ACGAGAAGGC CGAGTTCTTG ACCCTTCTTG AGCTGATCGA
241 CAACGTTCAA CGACTTGGTC TTGGTTACCG TTTCGAATCC GATATCCGAC GTGCAATTGA
301 TCGAATTGTC TCGTCCGGAG GTTTCGATGG TGTGACTAAG ACGTCGCTGC ACGCCACAGC
361 TCTTTCTTTC AGACTGTTGC GGCAGCATGG ATTTGAGGTT TCCGAGGAAG CCTTTTCTGG
421 TTTCAAGGAT CAGAACGGAA ACTTTTGGGA GAATCTCAAG GAGGACCCA AGGCCATCCT
481 GTGCTTGAT GAGGCTCGT TCCTGCTCTT TGAGGGCGAG AATAATCTGG ATGAGGCTCG
541 GGTTTTCTCT ATTTGCGACC TGAAGGAGTT GTGCGAGGAA AAGATCGAA AGGAATCGGC
601 CGAGCAGGTC AACCATGCAC TTGAACCTCC CTGCACTCGA CGTACCCAGC GACTGGAGGC
661 CSTGTGGAGC ATCGAGGCGT ACAGAAAAAA GGAGGATGCT AATCAGGTTT TGCTGGAAC
721 CGCTATCCTC GACTATAACA TGATTCAAGAG CGTGTACCAG CGTGACTTGC GAGAGACAAG
781 CCGGTGGTGG CGACGGGTGG GACTGGCCAC GAAGTCCAC TTTGCTAAAG ATCGATTGAT
841 TGAATGCTTC TACTGGGCGG TGGGTGTGGC CTTTGAGCCT CAGTACTCCG ACTGCCGAAA
901 CTCGTTGCA AAGATGTTTT CTTTGTGCAC TATCATCGAC GACATCTACG ATGTTTACGG
961 CACTCTCGAT GAATCGAAC TCTTCACGGA CGCTGTGAG CGATGGGATG TGAATGCCAT
1021 TAATGATCTG CCAGATTATA TGAAGTTGTG TTTCTTGGCG CTCTACAAAC CAATTAAATGA
1081 AATTGCTTAC GACCACTCA AGGACAAGGG AGAGAACATT CTGCCCTACC TTAATAANGC
1141 CTGGGCGGAC CTGTGTAACG CCTTTTGGCA GGAAGCCAAAG TGCGCTATA ACAATCTTAC
1201 TCTTACATTT GATGACTACT TCGGCAACGC TTGGAAGTCT TCGAGCGGCC CTCTCCAGTT
1261 GATCTTCGCT TACTTTGCAG TGGTCCAGAA CATCAAGAA GAGGAGATTG AGAACCCTCA
1321 GAGATATCAC GACATCATCT CCGGACCTTC GCACATCTTT CAGCTGTGCA ATGACCTTGC
1381 CTCGCACTCC GCTGAGATTG CCGGAGGAGA AACCAACCAAT TCTGTGCTGT GTTACATGCG
1441 TACAAAGGGC ATCTCCGAGG AGCTGGCTAC CGAGTCTCTG ATGAACCTGA TCGATGAAC
1501 CTGTAAAGAG ATGAACCAAG AGAAACTGGG CGGTCTCTCT TTCCGCCAAC CATTGTTTGA
1561 AACCGGATC AATCTGGCTC GTCACTCTCA TTGTACTTAC CATACAGGTG ACGGCGCAC
1621 TTCGCGGAC GAATTCACCC GTAAGCGTGT GCTTCTGCTG ATTACCGAGC CGATCCTGCG
1681 GTTCGAAAGA TATAGGATC C

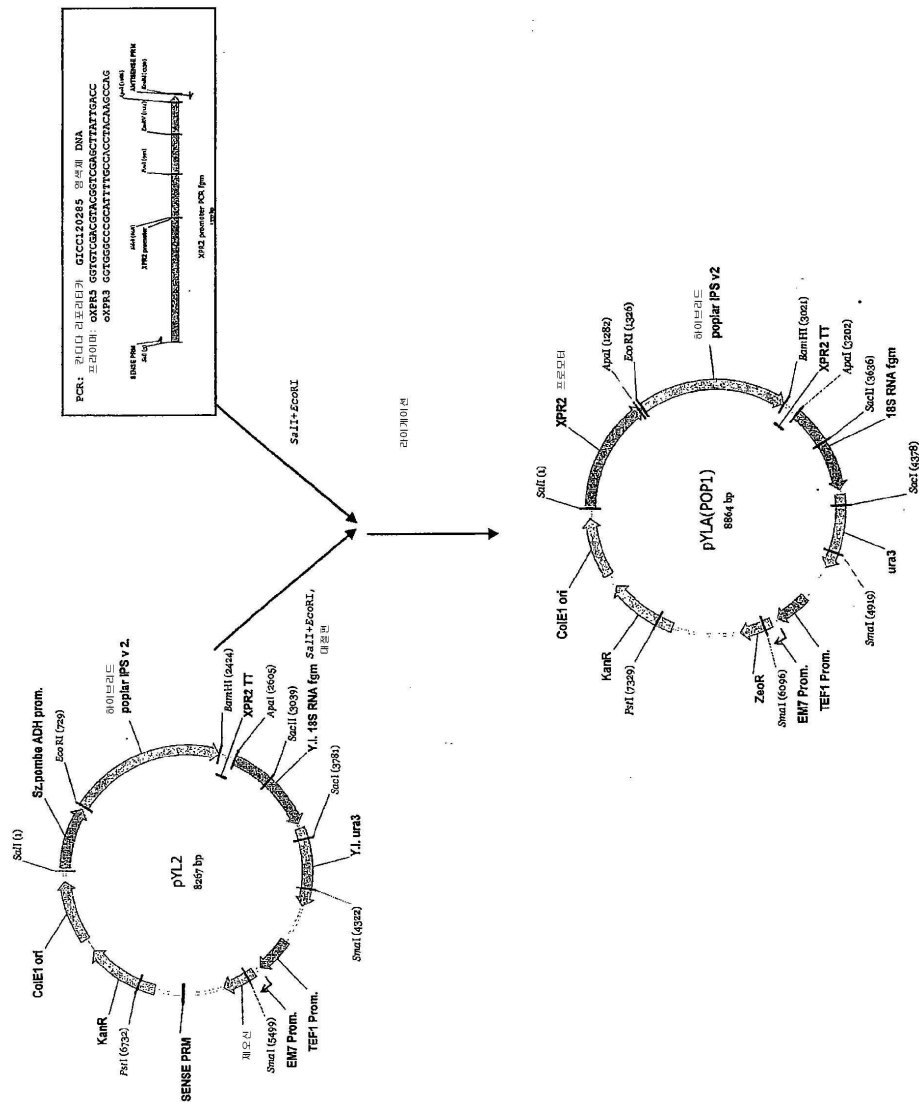
```

(SEQ ID NO:13)

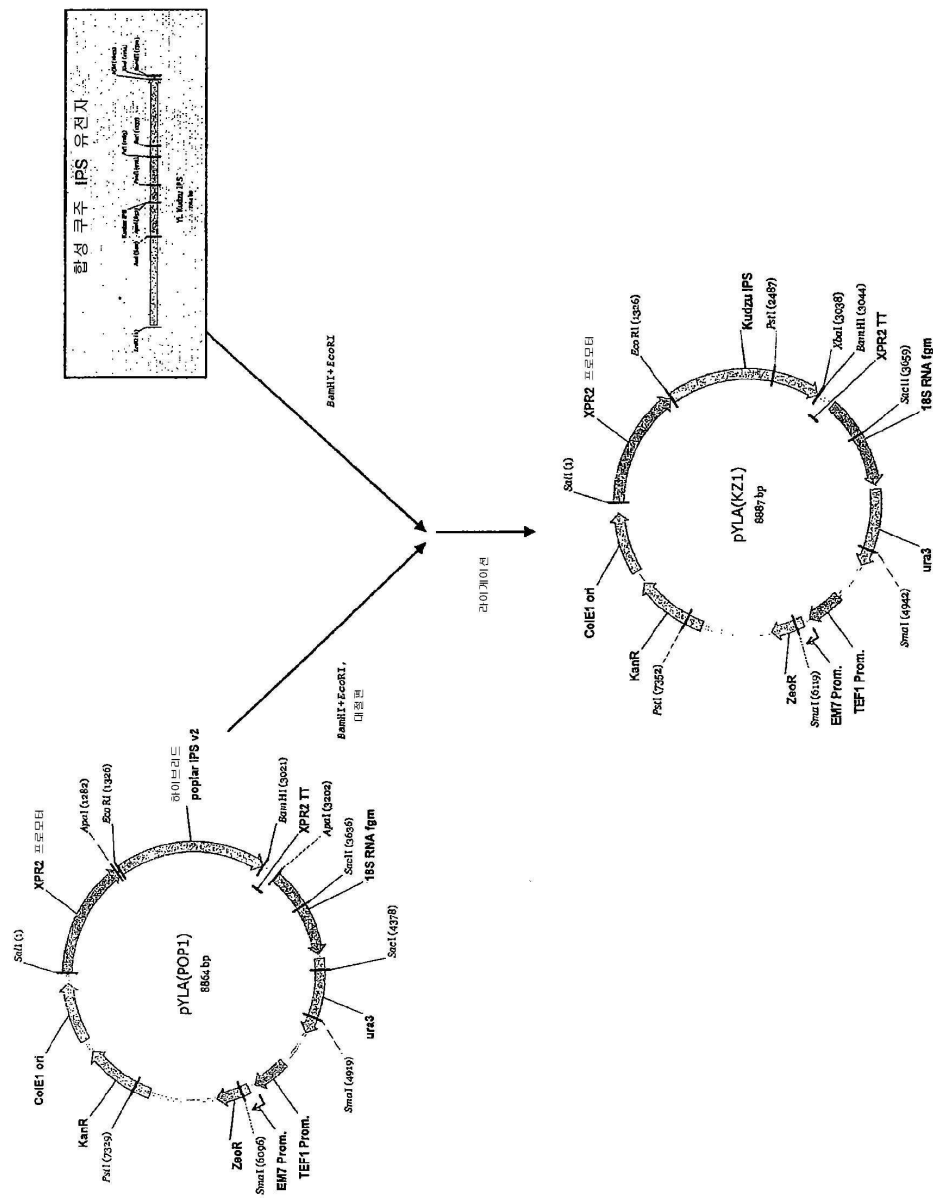
도면18a



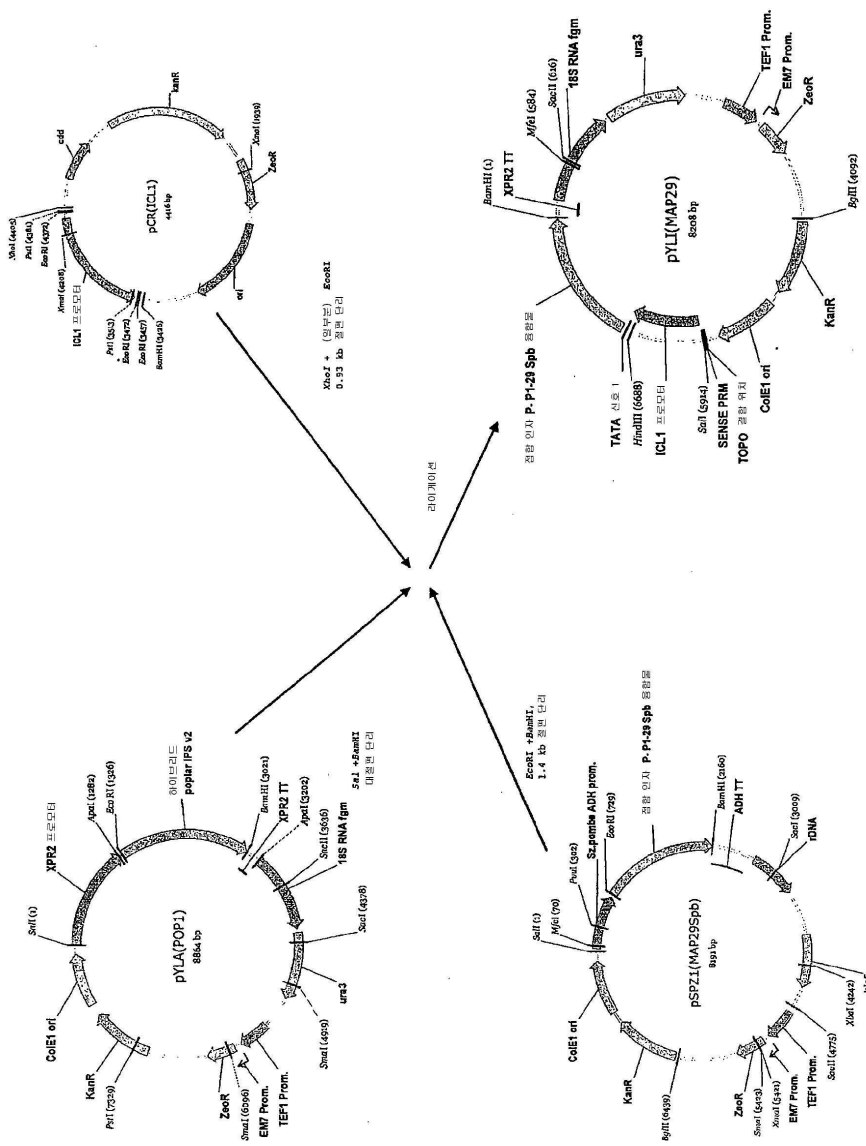
도면18b



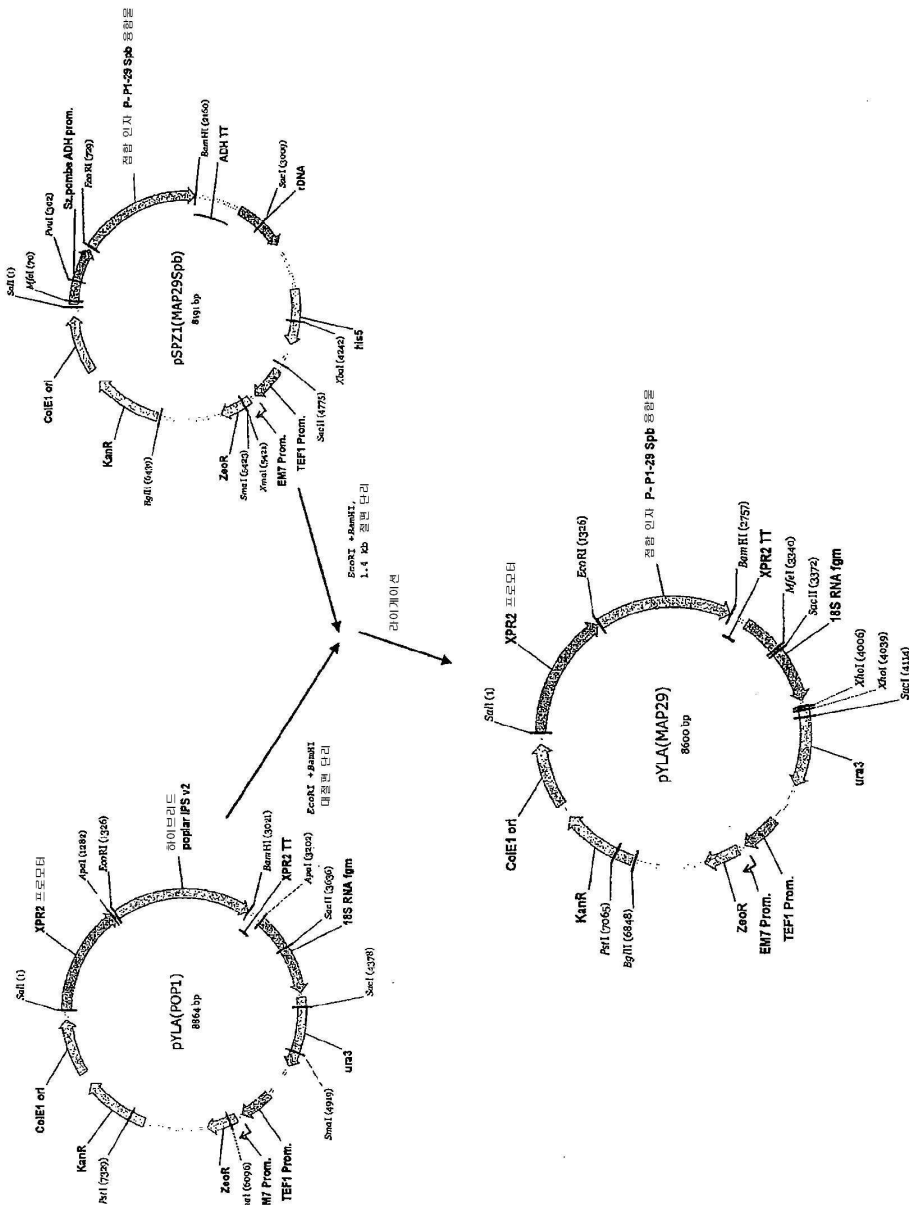
도면18c



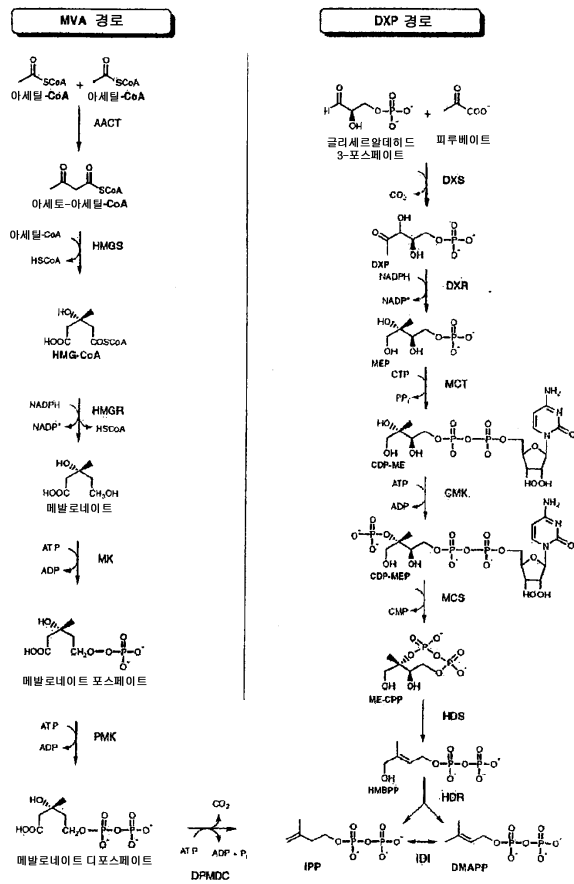
도면18e



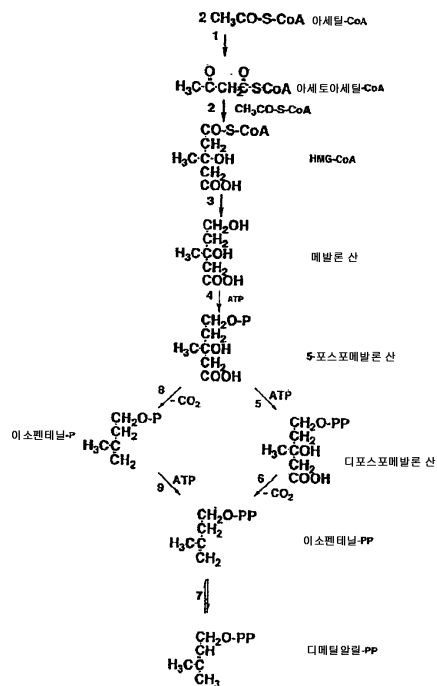
도면18f



도면19a

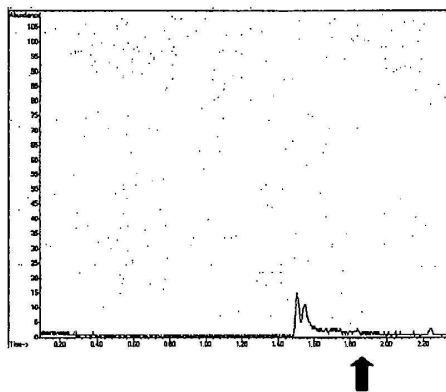


도면19b

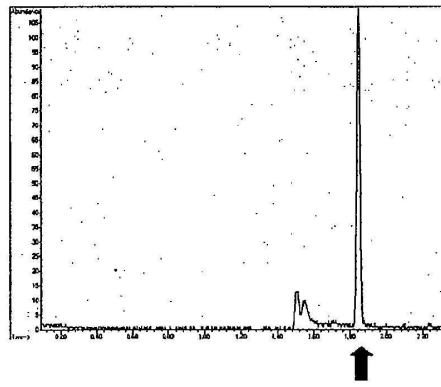


도면20

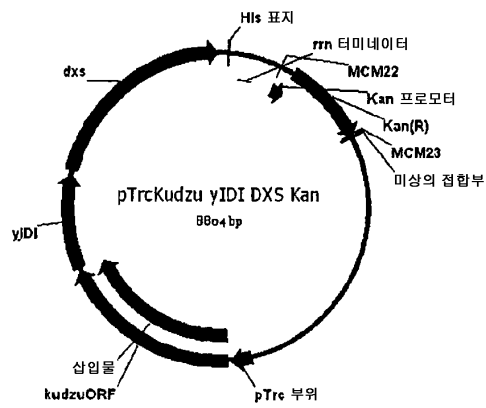
Y. 리포리티카 CLIB122:: pYLA(MAP29)



Y. 리포리티카 CLIB122:: pYLA(KZ1)



도면21



도면22a

1-

gctggtaccatatgggaattcgaagctttctagaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaa
tagcgccgtcgaccatcatcatcatcattgagtttaaacggtctccagcttggctgttttg
cggtatgagagaagattttcagcctgatacagattaaatcagaacgcagaagcggtctgataaa
acagaatttgctggcgagtagcggtggtccacctgacccatgcccgaactcagaagt
aaacgccgtagcgccgatggtagtgtgggtctcccatgcgagagtagggaaactgccagcat
caataaaaaaagagctcagtcgaagactggcctttcgttttatctgtttgttcggtga
acgctctcctgagtaggacaaatcccgccggagcggtttgaacgttgccgaagcaacggccgg
agggtagcgggcaggacgccccataaaactgccagcatcaaatgaagcagaaggccatctg
acggatggcctttttcggtttctacaaaactctttttgtttatttttctaaatcattcaaatat
gtatccgcttaaccggaattgccagctggggcgccctctggttaaggttgggaagccctgcaaag
taaacgtgtaggctttctcgccccaaggatctgatggcgaggggatcaagctctgatcaaga
gacaggatgaggatcgtttcgcatgattgaacaagatggattgcacgaggttctccggccgct
tgggtggagaggctattccgctatgactgggcacaacagacaatcggtctctgatgccgccc
tgttccggtctgtagcgagggggcgcccggtctttttgtcaagaccgacctgtccggtgccct
gaatgaactgcaagacgagcgagcgcggtatctggtggtggccacgagcggttcccttgccga
gctgtgctcgagcttgctcactgaagcgggaaggagactggctgctattgggcgaagtgcggggc
aggatctctgtcatctcacttgctcctgccgagaaagtatccatcatggctgatgcaatgcg
gcggtgcatacgcttgatccggtcactgccattcgaccaccaagcgaaacatcgcatcgag
cgagcagctactcggtatggaagcgggtcttgctcagatcaggatgatctggacgaagagcatcagg
ggctcgcccgacccgaactgttcgacggctcaaggcgagcatgcccgacggcgaggatctcgt
cgtgacccatggcgatgctgcttgccgaatatcatggtggaataatggccgctttcttggtatc
atcgactgtggccggctgggtgtggcggaacgctatcaggacatagcgttggctaccggtgata
ttgctgaagagcttgccggcgaatgggtgacgcttccctcgtgctttacgggtatcgccgctcc
cgattcgacgcatcgcttctatcgcttcttgacgagttctctgacatgacaaaaatccc
ttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccctgagaaaagatcaaggatcttcttga
gatcctttttctcgcgtaactctgctgcttgcaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtgg
ttgttttcgggatcaagagctaccaactcttttcgaaggtaactgggttcagcagagcgca
gataccaaatactgtccttctagtgtagccgtagttagccaccacttcaagaactctgtagca
ccgctacatacctcgctctgctaactctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtctg
gtcttaccgggttggaactcaagacgatatgttaccggataaggcgacggtcgggctgaacggg
gggttcgtgcacacagccagcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgt
gagctatgagaaagcgccacgcttccgaaggagaaaggcggaaggtatccggtgaagcgga
gggtcggaacaggagagcgacgagggagcttccagggggaacgctggtatctttatagtc
tgtcggttttcgcccactctgacttgagcgtcgattttgtgatgctcgtcagggggcgagc
ctatggaaaaacggcagcaacgcgccctttttacggttccctggccttttgctggccttttgctc
acatgttctttctcgcttatccctgattctgtggataaccgtattaccgctttgagtgagc
tgataccgctcgccgagccgaacgacggcagcgagtcagtgagcgaggaagcggaagag
cgctgatgcggtattttctcttacgcatctgtgcggtatttcacaccgcatatggtgcactc
tcagtacaatctgctgatgcccgatagttaagccagtatacactccgctatcgctacgtgac
tgggtcatggctgccccgacacccgccaacacccgctgacgcgcctgacgggttgtctgc
tcccgcatccgcttacagacaagctgtgacgctctccgggagctgcatgttcagaggttttc
accgtcatcaccgaaacgcgcgagcgagcatcaattccgcgcgaaggcgaagcgcatgca
tttacgttgacaccatcgatggtgcaaacctttcgcggtatggcatgatagcccggaaga

도면22b

gagtcattcagggtggatgtgaaccagtaaacgttatagcatgtcgagagtatgccggt
gtctcttatcagaccgtttcccggtgggaaccaggccagccagctttctgcgaaaacgcggg
aaaaagtggagcggcgatggcgagctgaattacattcccaaccgcgtggcacaacaactggc
gggcaaacagtcgtttgctgattggcgttgccacctccagcttgccctgcacgcgcgtcgcaa
attgtcgcggcgattaaatctcgcgcgatcaactgggtgccagcgtgggtgtcgatggtag
aacgaagcggcgtcgaagcctgtaaagcggcgtgcacaatcttctcgcgcacgcgtcagtg
gctgatcattaaactatccgctggatgaccaggatgccattgctgtggaagctgctgcactaat
gttccggcgttatttctgtatgtctctgaccagacacccatcaacagtattatttctccatg
aagacggtacgcgactggcggtggagcatctggtcgcatgggtcaccagcaaatcgcgctgtt
agcgggcccattaaagtctctcgcgcgcgtctgcgtctggctggcgtggcataaatatctcact
cgcaatcaaaatcagccgatagcggaaacgggaaggcagctggagtgcctgtcgggttttcaac
aaacatgcgaatgctgaatgagggcatcgttcccgctgcgatgctggttgccacgatcagat
ggcgtggcgcaatgcgcgcattaccgagtcggggtgcgcgttggtgcggatatctcggt
gtgggatacgcgactaccgaagacagctcatgttatcccgccgtcaaccacatcaaacagg
atttctcgctgctggggcaaacagcgtggaccgcttgcgcgaactctctcaggggcaggcgg
gaagggaatcagctgttgcgcgtctcactggtgaaaagaaaaaccacccctggcgccaatac
caaacgcctctcccgcgcttggcgatctcatatgagctggcagcaggtttcccgac
tggaagcggcgatgagcgaacgcaatgaatgtgagtagcgcgaattgatctggtttgaca
gcttatcatcgactgacgggtgcacaaatgcttctggcgtcaggcagccaatcggaagctgtggt
atggctgtgcaggtcgttaatacctgcataatcgtgtcgtcgaaggcgcactcccgcttctgga
taattgttttgcgcgcgacatcataacggttctggcaaatattctgaaatgagctgtgacaat
taatacgcgcgtctataatgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaaacagc
gccgctgagaaaaagcgaagcggcactgctcttaacaatttatcagacaatctgtgtgggcac
tcgaccggaattatcgattaaactttattataaaaattaaagggttatataatgtatcgat
taataaggaggaataaacatgtgtgcgacctcttctcaatttactcagattaccgagcataa
ttcccgctgcttccgcaaacctatcagccaaacctgtggaatttcgaattcctgcaatccctggag
aacgacctgaaagtggaaaagctggaggagaaagcgacaaactggaggaaaggttcgctgca
tgatcaaccgtgtgacacccagccgctgtccctgctggagctgatcgagatgtgcagccct
gggtctgacctacaaatttgaaaaagacatcattaaagccctggaaaacatcgtaactgctggac
gaaaacaaaagaacaaatctgacctgcacgcaaccgctctgtcttccgtctgctgcgtcagc
acggtttcgaggtttctcaggatgtttttgagcgtttcaaggataaagaaggtggtttcagcgg
tgaaactgaaaggtgagctccaaggcctgctgagcctgtatgaaagcgtcttacctgggtttcgag
ggtgagaacctgctggaggagcgctaccttttccatcacccacctgagaacaacctgaaag
aaggcattaataccaaggttgacagaacagtgagccacgcccgtggaactgccatatcaccagcg
tctgcaccgtctggaggcagcttgggttccctggataaatacgaaccgaaagaaacgcgatcaccag
ctgctgctggagctggcgaagctggattttaacatggtacagacctgcaccagaaagagctgc
aagatctgtcccgctgggtggaccgagatgggcctggctagcaaacctggattttgtacgcgaccg
octgatggaagtttatcttctggcactgggtatggcgccagaccgcagtttggtgaatgtcgc
aaagctgttactaaaatgtttggtctggtgacgatcatcgatgacgtgtatgacgtttatggca
ctctggacgaactgcaactgttcaccgatgctgtagagcgtgggacgttaacgctattaacac
octgcccgaactatataaaactgtgttccctggcactgtacaacacggttaacgacacgtcctat
tctattctgaaagagaaaggtcataacaacctgtcctatctgacgaaaagctggcgtgaactgt
gcaagcctttctgcaagaggcgaatggtccaacacaaaattatcccggtttctccaagta
cctggaaaaacgcagcgtttccctcccggtgtagcgtgctggcgccgtcttacttttccgta

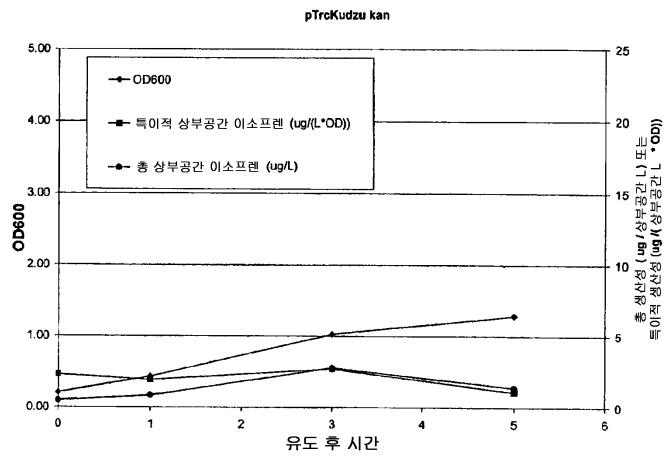
도면22c

tgcagcagcaggaagacatctccgaccacgcgctgcggttcctgaccgacttccatggctctgg
tgcgttctagctgcgttatcttccgcctgtgcaacgatctggccacctctcgccggagctgga
acgtggcgagactaccaattctatcattagctacatgcacgaaacgatggtaccagcgaggaa
caggcccgcgagaactgcgtaaactgatcgacgcggaatggaaaaagatgaatcgtgaacg
ttagcgactccacctgctgcctaaagcgttcatggaaatcgacgttaacatggcacgtgttcc
ccactgcacctaccagtatggcgatggctctgggtcgcccgactacgcgaactgaaaccgcac
aaactgctgctgattgacctttcccgattaccagctgatgtatgtctaactgcacgcctt
aggaggtaaaaaaatgactgcccgaacaatagtatgcccattggtgcagtatctagttag
ccaaattagtgcaaaaccaaaccctgaagacatttggagagtttccctgaaattattccatt
acaacaaagacctaatacccgatctagtgcacgtcaaatgacgaaagcgagaaacatgtttt
tctggctatgatgaggagcaaaattaagttaataatgaaatgtattgttttggattgggacg
ataatgctattggtgcggtaccaagaaagtgtgtcatttaatggaaaaattgaaaaagggtt
actacatcgtgcatttccgtcttttattttcaatgaacaagggtgaattacttttacaacaaaga
gccactgaaaaaataactttccctgatcttggactaacacatgctgctctcatccactatgta
ttgatgcgaatttaggttgaagggttaagctagacgataagattaaggcgctattactgcggc
ggtgagaaaaactagatcgaattaggtattccagaagatgaaactaagacaaggggttaagttt
cactttttaaaccagaatccattacatggcaccagcaatgaacatggggtgaacatgaaattg
attacatcctattttataagatcaacgctaaagaaaaacttgactgtcaacccaacgtcaatga
agtttagagacttcaaatgggttccacaaatgattlgaaaactatgtttgctgacccaagttac
aagtttacgcctgggtttaagattatttgcgagaattacttattcaactggtgggagcaattag
atgaccttctgaagtggaaaaatgacaggcaaatcatagaatgctataacacgcgctcctgca
ttcgcccttaggaggtaaaaaacatgagtttgcatttgcacaaataccgcacctggcactgg
tcgactccaccaggagttacgactgttgcgaaagagagtttaccgaaactctgcgacgaact
gcgcgctatttactcgacagcglgagccgttccagcgggcacttcgcctccgggctgggacg
gtcgaactgaccgtggcgctgcactatgtctacaacaccccgtttgaccaattgatttgggatg
tggggcctcaggcttatccgcataaaatttgcggaacgcgcgcgacaaaaatcggaacctccg
tcagaaaggcggtctgcacccgttcccggtggcgcggaagcgaatataagcgtatgaagcgtc
gggcattcatcaacctccatcagtgccgaattgggtattgcggttgcgcgaaaaagaaggca
aaaatcgccgcacgtctgtgtcattggcgatggcgcataccgcaggcatggcgttgaagc
gatgaatcacgcggcgcatatccgtcctgatagctggtgattctcaacgacaatgaaatgtcg
atttccgaaaaatgtcggcgcgctcaacaacctctggcacagctgcttccggtaagctttact
cttcaactgcgcgaaggcggaaaaaagtttctctggcggtgccgcaattaaagagctgctcaa
acgcacgaagaacatattaaaggcatggtagtgctggcacgttgtttgaagagctgggcttt
aactacatcgcccggtggacggtcacgatgtgctgggcttatccaccgcgtaaagaacatgc
gcgacctgaaaggcccgagttcctgcatacatgacaaaaaaggctcgtggttatgaacgggc
agaaaaagaccgatcactttccacgcgctgcctaaatttgatccctccagcggttgtttgcg
aaaagttagcgcggttgcgagctattcaaaaatcttggcgactggttgcgaaacggcgag
cgaagacaacaagctgatggcgattactccggcgatgcgtgaagttccggcatggtcgagtt
ttcacgtaaattcccgatcgctacttgcacgtggcaattgcgagcaacacgcggtgaccttt
gctgcgggtctggcgattggtgggtacaaacccattgtcgcgatttactccactttcctgcaac
gcgcctatgatcaggtgctgcatagcgtggcgattcaaaagcttccggctcgttgcgcatcga
ccgcggggcatgtgtggtgctgacggtcaaacccatcaggggtgcttttgatctctcttacctg
cgctgcataccggaatggtcattatgaccccgagcgatgaaacgaatgtcgccagatgctct
ataccggctatcactataacgatggcccgctcagcggtgcgctacccgcgtggcaacgcggtcgg

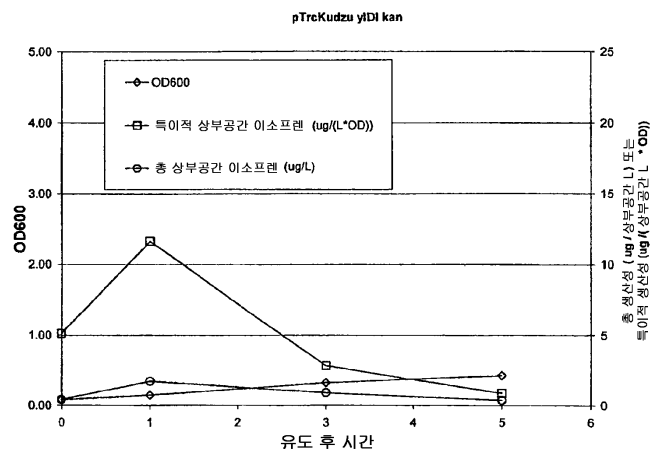
도면22d

cgtggaactgacgcgctggaaaaaactaccaattggcaaggcattgtgaagcgtcgtggcgag
aaactggcgatccttaactttggtacgctgatgccagaagcgcgaaagtgcggaatcgctga
acgccaacgctggcgatagcgttttggtaaacgcttgatgaagcgttaattctggaaatggc
cgccagccatgaagcgtggtcaccgtagaagaaaacgcattatggcgggcgaggcagcggc
gtgaacgaagtgcgtgatggccatcgtaaaccagtaccgctgctgaacatlgcctgccggact
tctttattccgcaaggaaactcaggaagaaatgcgcgcggaactcgccctcgatgcccgtggtat
ggaagccaaaatcaaggcctggctggcataactgca
(SEQ ID NO:20)

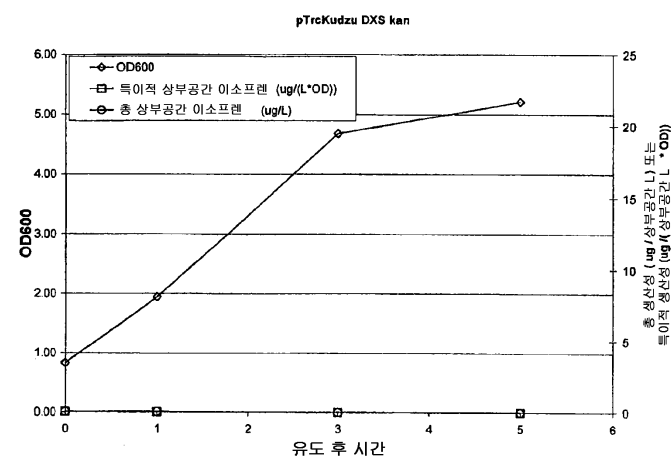
도면23a



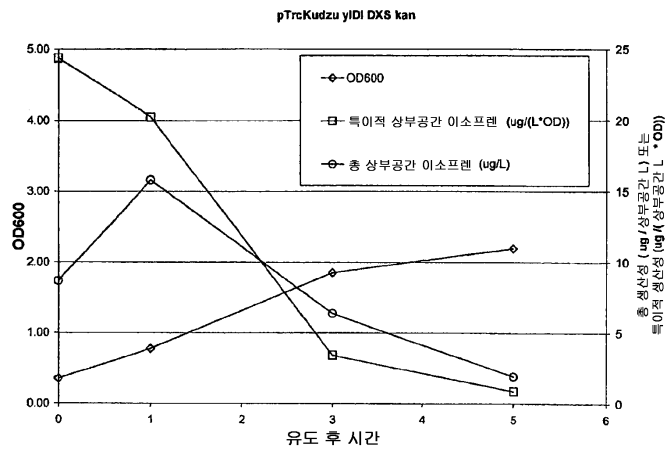
도면23b



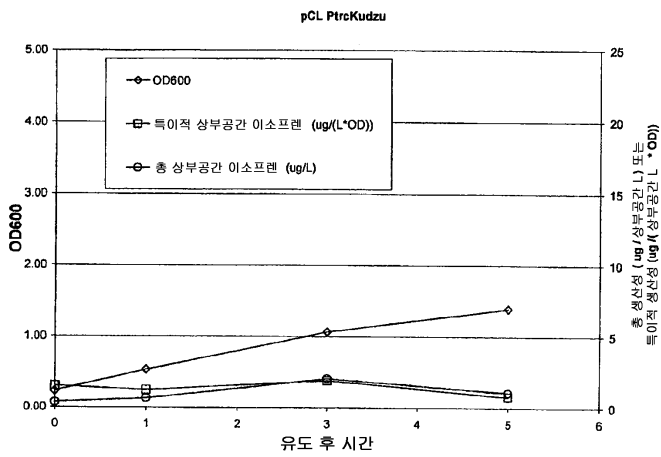
도면23c



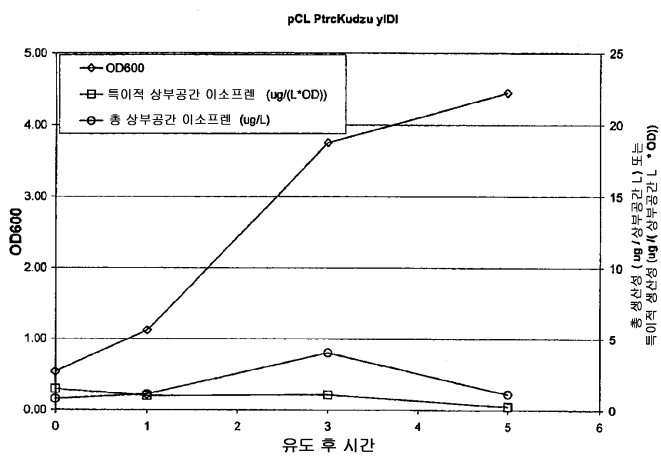
도면23d



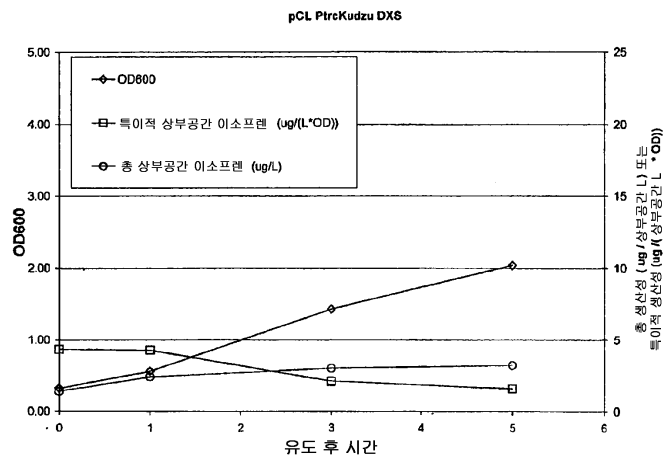
도면23e



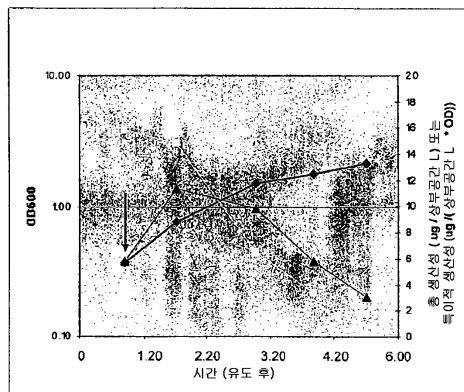
도면23f



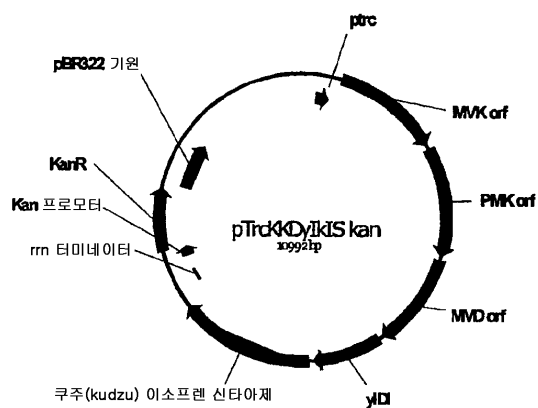
도면23g



도면23h



도면24



도면25a

5' -

gtttgacagcttatcatcgactgcacggtgcaccaatgcttctggcgctcaggcagccatcggaa
gctgtggtatggctgtgcaggtcgtaaatcactgcataatctgtgtcgctcaaggcgactccc
gttctggataatgttttttgcgcgacatcataacggttctggcaaatattctgaaatgagctg
ttgacaattaatcatccggtcgtataatgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacag
gaaacagcgccgctgagaaaaagcgaaagcggtcgtcttttaacaatttatcagacaatctgt
gtgggcactcgaccggaattatcgattaaactttattttaaaaaataaagaggtatatattaat
gtatcgattaaataagggaggaataaaccatggatccgagctcggatccactagtaacggccgcc
agtgtgctggaattcggccttaggaggtaaaaaacatgtcattaccgttcttaacttctgcac
cggaaggttattatttttggagaacactctgctgtgtacaacaagcctgccgtcgctgctag
tgtgtctcgctgtgagaacctacctgctaataagcgagtcactctgcaccagatactattgaattg
gacttcccggacattagctttaatcataagtggtccatcaatgatttcaatgccatcaccgagg
atcaagttaaactcccaaaaattggccaaggctcaacaagccaccgatggcttgtctcaggaact
cgtagtcttttggatccgttgttagctcaactatccgaatccttccactaccatgcagcggtt
tgtttcctgtatatgtttgttgcctatgcccccatgccagaatattaaagtttctttaaagt
ctactttacccatcggtgctgggttgggtcgaagcgctctatttctgtatcactggccttagc
tatggcctacttgggggggttaataaggatctaagcttggaagctgtcagaaaacgataag
catatagtgaaatcaatgggccttcataagtgaaaagtgtattcacggtaacccttcaggaaatag
ataacgctgtggccacttatgttaatgccctgctatttgaaaaagactcacataatggaacaat
aaacacaaaacttttaagttcttagatgatttccagccattccaatgatcctaactataact
agaattccaaggtctacaaaagatcttgttgcctcgcttctgtgtgttggtcaccgagaaatttc
ctgaagttatgaagccaaattctagatgccatgggtgaatgtgccctacaaggttagagatcat
gactaagtttaagtaaatgtaaaggcaccgatgacgaggtgtgagaaactaataatgaactgtat
gaacaactattggaattgataagaataaatcatggactgcttctcaatcggtgtttctcatc
ctggattagaacttataaaaaatctgagcgatgatttgagaattggctccacaaaacttaccgg
tgctgggtggcggttgctctttgactttgttacgaagagacattactcaagagcaaatggac
agcttcaaaaagaaattgcaagatgatttttagttacgagacatttgaaacagacttgggtggga
ctggctgctgtttgttaagcgcaaaaaatttgaataaagatcttaaaatcaaatccctagtatt
ccaattatttgaataaaaactaccacaaagcaaaaattgacgatctattattgccaggaaac
acgaatttaccatggacttcataagctaatttgcgataggcctgcacccttaaggaggaaaaaa
acatgtcagagttgagagccttcagtgccccagggaagcggttactagctgggtggaatttagt
tttagatacaaaaatgaagcattttagtgcgattatcggaagaaatgcatgctgtagcccat
ccttacggttcattgcaaggtgtctgataagtttgaaagtcggtgtgaaaagtaaacatttaaag
atggggagtggtgtaccatataagtcctaaaagtggttcatttctgtttcgataggcggatc
taagaaccctttcattgaaaaagttatcgctaactgatttagctactttaaacctaacatggac
gactactgcaatagaaacttgttcgttatgtatatttctctgatgatgcctaccattctcagg
aggatagcgttacccaacatcggtggcaacagaagattgagttttcattcgcacagaattgaaga
agttcccaaacagggtcggtcctcctcggcagggttagtcacagttttaactacagctttggcc
tcctttttgtatcggaacctggaaaaataatgtagacaaatatagagaagttattcataatttag
cacaagttgctcattgtcaagctcagggttaaaattggaagcggtttgatgtagcggcgagc
atatggatctatcagatatagaagattcccaccgcattaatctctaatttgccagatatggga
agtgtacttacggcagtaaaactggcgcatttggttgatgaagaagactggaatattacgatta
aaagtaaccatttaccttcgggatttaactttatggatgggcgatattagaatggttcagaaac
agtaaaactgggtccagaaggtaaaaaatttggtatgattcgcatatgccagaaagcttgaataa

도면25b

tatacagaactcgatcatgcaaattctagatttatggatggactatctaaactagatcgcttac
acgagactcatgacgattacagcgatcagatatttgagctctcttgagaggaatgactgtacctg
tcaaaagtatcctgaaatcacagaagttagagatgcaggtgccacaatttagacgttcoctttaga
aaaataactaaagaattctgggtccgatatcgaaacctcccgtaaaaactagcttattggatgatt
gccagaccttaaaaggagttcttacttgcttaataacctgggtgctgggttatgacgccattgc
agtgattactaagcaagatgttgatcttagggctcaaacccgctaatgacaaaagattttctaag
gttcaatggctggatgtaactcaggctgactgggtggttaggaaagaaaaagatccggaacctt
atcttgataaataacttaaggtagctgcacgcagattcgcccttaaggaggaaaaaaaatga
ccgtttacacagcatccgttacccgaccccgtaacatcgcaaccttaagtattgggggaaaaag
ggacacgaagtgaatctgcccaccaattcgctccatcatcagtgactttatcgcaagatgacctc
agaacgttgacctctgcccgtactgcacctgagtttgaacgcgacactttgtggttaaatggag
aaccacacagcatcgacaatgaaagaactcaaaattgtctgcgcgacctacgccaattaagaaa
ggaaatggaatcgaggacgcctcattgccacattatctcaatggaaactccacattgtctcc
gaaaaataactttcctacagcagctggttttagcttcccgctgctggctttgctgcattggttc
ctgcaattgctaatgtataccaattaccacagtcacacttcagaaatatctagaatagcaagaaa
gggtctggttcagcttgtagctggttggcggatcgtggcctgggaaatgggaaaaagct
gaagatggtcatgattccatggcagtaacaaatcgagacagctctgactggcctcagatgaaag
cttggtctctagttgtcagcgatattaaaaaggatgtgagttccactcagggatgcaattgac
cgtggcaacctccgaactatttaagaaagaattgaacatgtcgtacaaaagagatttgaagtc
atgcgtaaagccattgttgaaaaagatttcgccacctttgcaaaggaaacaaatgatggattcca
actctttccatgccacatgtttggactctttccctccaattttctacatgaatgacacttccaa
gcgtatcatcagttggtgccacaccattaatcagttttacggagaaaacactcgttgcatcacg
tttgatgcagggtccaaatgctgtgttgtaactacttagctgaaaatgagtcgaaactctttgcat
ttatctataaattgtttgctctgttccctggatgggacaagaaatttactactgagcagcttga
ggctttcaaccatcaatttgaatcatctaaactttactgcacgtgaattggatcttgagttgcaa
aaggatgttgccagagtgttttaactcaagtcggttcaggcccaagaacaaacgaatctt
tgattgacgcaagactggtctaccaagggaataagatcaattcgtgcacgccttagggagg
taaaaaaaatgactgccgacaacaatagtatgcccctggtgcagtatctagttacgccaaat
tagtgcaaaacaaacacctgaagacattttggaagagtttccgaaattattccattacaaca
aagacctaatcccgatctagtgagacgtcaaatgacgaaagcggagaaacatgtttttctggt
catgatgaggagcaaatgaattgaatgaaatgtattgttttggtttgggacgataatg
ctattggtgccggtcccaagaaagttgtcatttaattgaaaaatattgaaaagggtttactaca
tcgtgcattctccgtctttattttcaatgaacaagggtgaattacttttacaacaaagagccact
gaaaaataactttccctgatctttggactaacacatgctgctctcatccactatgtattgatg
acgaattaggtttgaagggttaagctagacgataagattaaaggcgctattactgcggcggtgag
aaaactagatcatgaattaggtattccagaagatgaaactaagacaaggggttaagtttcaactt
ttaaacagaatccattacatggcaccagcaatgaaccatggggtgaacatgaaattgattaca
tcctattttataagatcaacgctaaagaaaacttgactgtcaacccaaacgtcaatgaagttag
agacttcaaatgggtttcaccaaatgatttgaaaactatgtttgctgacccaagttacaagttt
acgccttggtttaagattatttgcgagaattactattcaactggtgggagcaattagatgacc
ttctgaagtggaataatgacaggcaaatccatagaatgctataacaacgcgtcctgcattcgcc
cttaggaggttaaaaaacatgtgtgcgacctcttctcaatttactcagattaccgagcataatt
ccgctcgtttccgcaaacatcagccaaacctgtggaatttcgaattcctgcaatccctggagaa
cgacctgaaagtggaaaagctggaggagaaagcgaccaaacctggaggagaagttcgtcgtcatg

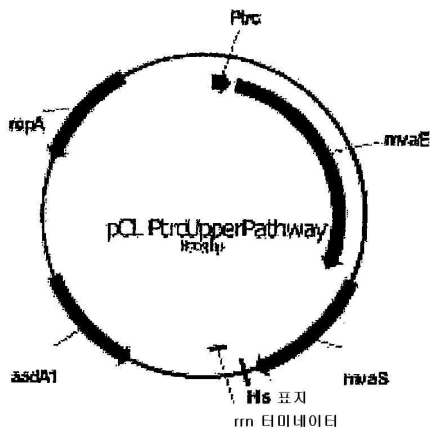
도면25c

atcaaccgtgtagacacccagccgtgtccctgctggagctgatcgacgatgtgcagcgccctgg
gtctgacctacaaatttgaaaaagacatcattaaagccctggaaaacatcgtactgctggacga
aaacaaaaagaacaaatctgacctgcacgcaaccgctctgtctttccgtctgctgcgtcagcac
ggtttcgaggtttctcaggatgtttttgagcggtttcaaggataaagaagggtggtttcagcggtg
aactgaaaggtgacgtccaaggcctgctgagcctgtatgaagcgtcttacctgggtttcagagg
tgagaacctgctggaggaggcgctaccttttccatcacccacctgaagaacaacctgaaagaa
ggcattaataccaaggttgacagaacaagtgcacacgcccctggaaactgccatataccagcgctc
tgcaccgtctggaggcacgttggttcctggataaatacgaaccgaaagaaccgcatcaccagct
gctgctggagctggcgaagctggattttaacatggtacagacctgcaccagaaagagctgcaa
gatctgtcccgtggtggaccgagatggcctggctagcaaacctggattttgtacgacgacccgc
tgatggaagtttatttctgggcactgggtatggcgccagacccgcagtttggatgtcgcaa
agctgttactaaatgtttggctggtgacgatcatcgatgacgtgtatgacgtttatggcact
ctggacgaactgcaactgttcaccgatgctgtagagcgctgggacgttaacgctattaacaccc
tgccggactatataaaactgtgtttcctggcactgtacaacacgttaacgacacgtctctattc
tattctgaaagagaaggtcataaacacctgtctctatctgacgaaaagctggcgtgaactgtgc
aaagcctttctgcaagaggcgaatgttccaacaacaaattatcccggctttctccaagtacc
tggaacacgccagcgtttctcctccggtgtagcgctgctggcgccgtcttacttttccgtatg
ccagcagcagggaagacatctccgaccacgctgctgcttccctgaccgactccatggctggtg
cgctctagctgctgttatcttccgctgtgcaacgatctggccacctctgcgccgagctggaac
gtggcgagactaccaattctatcattagctacatgcacgaaaacgatggtaccagcaggaaca
ggcccgcaagaactgcgtaaactgatcgacgcccgaatggaaaagatgaatcgtaacgcgtt
agcgaactccaccctgctcctaaagcgttcatggaatcgagttacatggcagcgtgtttccc
actgcacctaccagtatggcgatggtctgggtcgccagactacgcgactgaaaaccgcatcaa
actgctgctgattgacctttcccgattaacagctgatgtatgtctaaactgcagctggtacca
tatgggaattcgaaagctttctagaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaatagcgccgtc
gaccatcatcatcatcatcattgagtttaaacggtctccagcttggtgttttggcgatgaga
gaagattttcagcctgatagattaaatcagaacgcagaagcggtctgataaaacagaatttg
cctggcgcgagtagcgcggtggtcccacctgaccccatgccgaactcagaagtgaacgcgta
gcgccgatggtagtgtgggtctcccatgcgagagtgggaactgccaggcatcaataaaac
gaaaggctcagtcgaaagactggcctttcgttttatctgttgttgcgtgtaacgctctcct
gagtaggacaaatccgcggggagcggtttgaacgttgcgaagcaacggcccgagggtggcgg
gcaggacgcccgccataaaactgccaggcatcaaattaagcagaaggccatcctgacggatggcc
tttttgcgtttctacaaactcttttgtttattttttaaatacattcaaatatgtatccgctt
aacggaaattgccagctggggcgccctctggttaaggttgggaagccctgcaaatgaaactggt
ggctttctcgccgcaaggatctgatggcgaggggatcaagctctgatcaagagacaggatga
ggatcgtttcgcgatgattgaacaaagatggattgcacgcaggttctccggccgcttgggtggaga
ggctattcggctatgactgggcacaaacagacaatcggtgctctgatgccgcccgtgttccggct
gtcagcgagggggcgcccggttcttttgcagacgacctgtccggtgcccgaatgaactg
caagacgaggcagcgcggtatcgtggctggccacgacgggcgttccctgcgagctgtgctcg
acgttgtcactgaagcgggaagggactggctgctattggcggaagtgcggggcaggtatctcct
gtcatctcaccttgcctcgcgagaaaagtatccatcatggctgatgcaatgcggcggtgcat
acgcttgatccgctacctgccattcgaccaccaagcgaaacatcgcatcgagcgagcacgta
ctcggtggaagccggtcttgtcgatcaggatgatctggacgaagagcatcaggggctcgcgcc
agccgaactgttcgcccggctcaaggcgagcatgcccgacggcgaggtctcgtcgtgacccat

도면25d

ggcgatgcctgcttgcgaatatcatggaggaaatggccgcttttctggattcatcgactgtg
gcggctgggtgtggcgaccgctatcaggacatagcgttggctaccgctgatattgctgaaga
gcttggcggaatgggtgacgccttccctgctgctttacggatcgccgctcccgattccgag
cgcatcgcttctatcgcttcttgacgagttcttctgacgcgatgacaaaaatccctaacgtg
agttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatcctt
ttttctgcgctaatactgctgcttgcacacaaaaaaccacgcctaccagcggtgggttgggtg
ccggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgagataccaa
atactgtccttctagtgtagccgtagttagggccaccacttcaagaactctgtagcacgcctac
atacctcgctctgctaatcctgttaccagtggtgctgcccagtgccgataagtctgtcttacc
gggttggactcaagacgatagttaccggataaggcgagcggtcggtgacgggggttcgt
gcacacagcccagcttggagcgaaacgacctacaccgaactgagataacctacagcgtgagctatg
agaaagcgccacgcttcccgaagggaagggcgagcaggtatccggtaagcgcgaggtcgga
acaggagagcgacgagggagcttccaggggaaacgcctggatcttatagtcctgtcggt
ttcgccacctctgacttgagcgtcgatttttgtgatgctcgtcagggggcgagcctatggaa
aaacggcagcaacgcggtcttttacgggttccgtggtctttgtggtcctttgtcacaatgttc
tttctcgcttcttccctgattctgtgataaccgtattaccgcttttgagtgaactgataccg
ctcgccgacgcgaacgacgagcgagcagtgagtgagcgaggaagcggaagagcgctgat
gcgggtattttctccttacgcatctgtcggtatttccacacgcgatatggtgcaactcagta
atctgctctgagtcgcatagttaagccagatatacactccgctatcgctacgtgactgggtcat
ggctcgcccccgcaccccgccaaaccccgctgacgcgcccgtgacgggcttctgctcctccgga
tccgcttacagcaacgctgtgacgctctccggagctgcatgtgtcagaggttttcacgctcat
caccgaacgcgcgagggcagcagatcaattcgcgcgcgaaggcgaagcgcatgcatttacgtt
gacacatcgcaatgggtgcaaaaaccttccgggtatggcatgatagcgcccggaagagatcaat
tcagggtggtgaatgtgaaccagtaacgttatacgaatgtcgcagagtatgcgggtgtctctta
tcagaccgtttcccgctggtgaaccaggccagccagctttctgcgaaacgcgggaaaaagt
gaagcgcgatggcgagctgaattacattcccaaccgctggcacaacaactggcgggcaaac
agtcgttgcgtattggcgttgcacacctcagctctggccctgcacgcgcctcgcaaatgtcgc
ggcgattaaatctcgcccgatcaactgggtgccagcgtgggtggtgctgagtgtagaacgaagc
ggcgtcgaaacctgtaagcgcggtgcaaatcttctcgcgcaacgcgtcagtggtgctgatca
ttaactatccgctggatgaccaggtgccattgctgtggaagctgctgcaactaatgttccggc
gttattcttgatgtctctgaccagacacccatcaacagttattttctccatgaagacggt
acgcgactggcggtggagcatctggtcgattgggtcaccagcaaatcgcgctgttagcgggcc
cattaagtctctgctcgcgctctgctgctggtggtggcataaatatctcactcgcaatca
aattcagccgatagcggaacgggaaggcgactggagtgcctgctccggttttcaacaaacctg
caaatgctgaatgagggcatcgttcccaactgcgatgctggttgccaaagatcagatggcgctgg
gcgaatgcgcgccattaccagctccgggctgcgcgttgggtgcggaatatctcggtagtgggata
cgacgataccgaagacagctcatgttatatcccgccgtcaaccacctcaaacaggattttcgc
ctgctggggcaaacagcggtggaccgcttgcgtcaactctctcagggccagggcggtgaaggga
atcagctgttgcgcgtctcactggtgaaagaaaaaccacccctggcgcccaatacgcaaacgc
ctctcccgcgcttggccgattcattaatgagctggcagcagaggttcccgactggaaagc
ggcgagtgagcgcaacgaattaatgtgagttagcgcaattgatctg
(SEQ ID NO:33)

도면26



도면27a

5' -

cccgctcttactgtcgggaattcgcgttggccgattcattaatgcagattctgaaatgagctgtt
gacaattaatcatccggctcgtataatgtgtggaattgtgagcgataacaatttcacacagga
aacagcgccgctgagaaaaagcggaagcgccactgctctttaacaatttatcagacaattctgtgt
gggcactcgcgggaattatcgattaaatttattattaaaaattaaagaggtatatattaatgt
atcgattaaataaggaggaataaacatggatccgagctcaggaggtaaaaaacatgaaaaca
gtagttattattgatgcattacgaacaccaattggaaaataaaaggcagcttaagtcaagtaa
gtgccgtagacttaggaacacatgttacaacacaaacttttaaaaagacattccactatttctga
agaaattgatcaagtaattctttggaatgttttacaagctggaaatggccaaaatcccgcacga
caaattagcaataaacacagcggtttgtctcatgaaattcccgaatgacgggttaatgaggtctgcg
gatcaggaatgaaggccgttattttggcgaacaattgattcaattaggagaagcggaagtttt
aattgctggcggttgagaatattgtcccagcacctaaattacaacgttttaattacgaaaca
gaaagctacgatgcgccttttctagtattgatgtatgatggattaacggatgcctttagtggtc
aggcaatgggcttaactgctgaaaaatgtggccgaaaagtatcattgaactagagaagagcaaga
tcaattttctgtacattcaaatgaaagcagctcaagcacaagcagaagggtattcgcgtgac
gaaatagcccattagaagtatcaggaaacgcttgggagaagatgaagggtatcgccctaatt
cgagcgttgagaagctaggaacgcttaaaacagtttttaagaagacggtactgtaacagcagg
gaatgcatacaaccattaatgatgggctctgctttgattattgcttcacaagaatatgccgaa
gcacacggtcttccctattttagctatttctgagacagtggtgaagtcggtattgatccagcct
atatgggaattttcgcgattaaagccattcaaaaactgttagcgcgcaatcaacttactacgga
agaaattgatctgtatgaaatcaacgaagcatttgcagcaacttcaatcgtgggtccaaagagaa
ctggctttaccagagggaaggtcaacatttattgggtggcggtatttcattaggtcatcgattg
gtgccacaggtgctcgtttattaaacaggtttaagttatcaattaaatcaaaaagaaaagaaata
tggagtggctctttatgtatcggcggtggcttaggactcgctatgctactagagagacctcag
caaaaaaaacagccgattttatcaaatgagtcctgaggaaacgctggcttctcttctaatg
aaggccagatttctgctgatacaaaaaagaatttgaaaatacggctttatcttcgcagattgc
caatcatatgattgaaaatcaaatcagtgaaacagaagtgccgatggcggttggttacattta
acagtggaacgaactgattatttggtaaccaatggcgacagaagagccctcagttattcgcgctt
tgagtaattgggtgcaaaaatagcacaaaggatttaaaacagtgaaatcaacaacgcttaattgcgtgg
acaaatcgtttttacgatgttgcagatcccagagtcattgattgataaaactacaagtaagagaa
gcggaagtttttcaacaagcagagttaagttatccatctatcgttaaacggggcggtggttaa
gagatttgcaatatcgtacttttgatgaatcatttctgtatctgcgactttttagtagatgttaa
ggatgcaatgggggcaaatatcgttaacgctatgttggaaggtgtggccgagttgttccgtgaa
tggtttgccgagcaaaaagattttattcagttatttaagtaattatgccacggagtcggttgtta
cgatgaaaaacggctattccagtttcacgtttaagtaaggggagcaatggccgggaaattgctga
aaaaattgttttagcttcacgctatgcttcattagatccttatcgggcagtcacgcatacaaaa
ggaatcatgaatggcattgaagctgtagtttttagctacaggaaatgatcacgcgctgttagcg
cttcttgctcatgcttttgcggtgaagggaaggtcgctaccaaggcttgactagttggacgctgga
tgccgaacaactaattgggtgaaatttcagttccgcttgctttagccacgggtggcggtgccaca
aaagtcctacctaataatctcaagcagctgctgatttttagcagtgacggatgcaaaaagaactaa
gtcgagtagtagcggtgttggtttggcacaaaatttagcggcggttacgggccttagtctctga
aggaaattcaaaaaggacacatggctctacaagcacgttctttagcgatgacgggtcgagctact
ggtaaagaagttagggcagtcgctcaacaattaaaacgtcaaaaaacgatgaaccaagaccgag
ccatggctatttttaattgatttaagaaaaaataaaggaggtaaaaaacatgacaattgggat

도면27b

tgataaaattagttttttgtgcccccttattatattgatatgacggcactggctgaagccaga
aatgttagacctggaaaaatttcatattggtattgggcaagaccaaatggcggtgaacccaatca
gccaagatattgtgacatttgcagccaatgccgcagaagcgatcttgaccaaagaagataaaga
ggccattgatatgggtattgtcgggactgagtcagatcgatgagtcaaaagcgccgagtt
gtcttacatcgtttaattggggattcaacctttcgctcgctcttgcgaatcaaggaagcttgtt
acggagcaacagcaggtttacagttagctaaagaatcacgtagccttacatccagataaaaaagt
cttggtcgtagcggaagattgcaaaatatggcttaaatctggcggtgagcctacacaagga
gctggggcggttgcaatggttagttgctagtgaaacggcgcattttggtttaaaagaggataatg
tgatgctgacgaagatatctatgacttttggtcgccacagggccacccgtatcctatgggtcga
tggtcctttgtcaaacgaaacctacatccaatctttgcccgaagtctgggatgaacataaaaa
cgaaacggctcttgattttgcagattatgatgcttttagcgttccatattccttacacaaaaatgg
gcaaaaaagccttatttagcaaaaatctccgacaaaactgaagcagaacaggaaacgaatttttagc
ccgttatgaagaaagtatcgctctatagtcgtcgctaggaacttggtatacgggttcaactttat
ctgggactcatttcccttttagaaaaatgcaacgactttaaccgcaggccaatcaaattggtttat
tcagttatgggtctggtgctgctgctgaattttcactggtgaattagtagctggttatcaaaa
tcatttacaaaaagaaactcatttagcactgctggataatcggaacagaactttctatcgctgaa
tatgaagccatgtttgcagaaactttagacacagacattgatcaaacggttagaagatgaattaa
aatatagttattctgctatttaataataccgttcgttcttatcgaaactaagagatctgcagctg
gtaccataggggaattcgaaagcttgggccgaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaata
gcccgtcgaccatcatcatcatcattgagtttaaacggtctccagcttggtgttttggtc
ggatgagagaagattttcagcctgatacagattaaatcagaacgcagaagcggtctgataaaac
agaatttgctggcgagtagcgcggtggtccacactgaccccatgccgaactcagaagtga
acggcgtagcgccgatggtagtggtggtctcccatgcgagagtgggaactgccaggcatca
aataaaacgaaaggctcagtcgaaagactgggcctttcggttttatctggtgttgctggtgaac
gctctcctgagtaggacaaatccgcccgggagcggaatttgaacgttgcaagcaacggcccgag
ggtggcgggcaggacgcccgcataaaactgccaggcatcaaatgaagcagaaggccatcctgac
ggatggcctttttcggtttctcaaaaactcttttggtttattttctaaatcatttcaaatatgt
atccgctcatgagacaataaacctgataaatgcttcaataatctggcgtaatagcgaagaggcc
cgacccgatcgcccttcccaacagttgcgcagcctgaatggcgaatggcgctgatcggtatt
ttctccttacgcatctgtcggtatttcacaccgcatatggtgcactctcagtaacaatctgctc
tgatgccgcatagtttaagccagccccgacaccgccaacccgctgacgagcttagtaagcc
ctcgctagatttttaatgcggtatgttgcatcttcgccaactattcgataacaagaaaaagc
cagcctttcatgatatatctcccaatttggttagggcttattatgcacgcttaaaaaataaaa
agcagacttgacctgatagtttggtgtgagcaattatgtgcttagtgcatctaacgcttgagt
taagccgcgcgcgaagcggtcggttgaaacgaattgttagacattatttgccgactacctt
ggtgatctcgcttttcaagtagtggaacaaattcttccaactgatctgcgcgagggccaagcga
tcttctcttggtccaagataagcctgtctagcttcaagtagacgggctgatactgggcccga
ggcgctccattggccagtcggcagcgacatccttcggcgcgattttgccggttactgcgctgta
ccaaatgcgggacaacgtaagcactacatttctgctcatcgccagccagtcgggcccgcgagttc
catagcgttaaggtttcatttagcgcctcaaatagatcctgttcaggaaacgggatcaaaagatt
cctccgcgctggacatccaaggcaacgctatggtotcttgcttttgtagcaagatagccag
atcaatgtcgatcggtggtcgaagatacctgcaagaatgtcattgcgctgccattctcca
aattgcagttcgcgcttagctggataacgccacgggaatgatgtcgctgcacacaatggtga
cttctacagcgcggaagaatctcgctctctccaggggaagcgaagtttccaaaaggtcgttgat

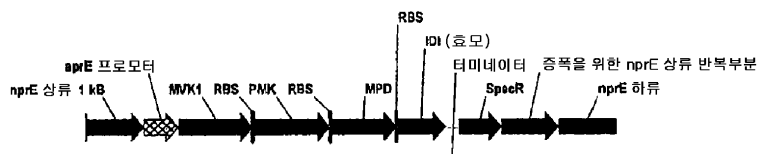
도면27c

caaagctc'gccgcgtgtgtttcatcaagccttacggtcacgcgaaccagcaaatcaatatcactg
tgtggcttcaggccgccatccactgaggagccgtacaaatgtacggccagcaacgctcggttcga
gatggcgctcgatgacgccaaactacctctgatagttgagtgogatacttcggcgatcacccgcttc
cctcatgatgtttaactttgttttagggcgactgcctgctgcgtacacatcgtttgctgctccat
aacatcaaacatcgaccacggcgtaacgcgcttgctgcttggatgcccagggcatagactgta
ccccaaaaaacagtcataacaagccatgaaaacggccactgcccgttacaccgctcggttc
ggtcaagggttctggaccagttgctgagcgcatacgctacttgcatcacagcttacgaaccgaa
caggcttatgtccactgggttcgtgccttcatccgtttccacgggtgtgcgtcacccggcaacct
tgggcagcagcaagtcgagggcatttctgtcctggctggcggaacgagcgcaaggtttcggctc
cacgcatcgtcaggcatggcgcccttgctgttcttctacggcaagggtgctgtgcacggatctg
cctggcttcaggagatcggaagacctcgccgctcgccgcttgccgggtggtgctgacccgg
atgaagtgttcgcatcctcggttttctggaaggcgagcatcgtttgttcgccacgcttctgt
tggaacggcgcatcgcatcagtgagggtttgcaactgcgggtcaaggatctggatttcgatcac
ggcacgatcatcgtgcgggagggcaagggtccaaggatcgggccttgatgttacccgagagct
tggcaccacgctgcgcgagcaggggaattaatccacgggtttgtgctcccgcaaacgggct
gttctgggtgtgctagtttgttcatcagaatcgagatccggcttcagccggtttgcccgtgaa
agcgctatttctccagaattgccatgatttttccccacgggagggctcactggctcccggt
tgtcggcgactttgatctgataagcagcatcgctgtttcaggctgtctatgtgtgactgttg
gctgttaacaagtgtgtcaggtgttcaatttcagtgttctagttgttttactgggttccac
ctgttctattaggtgttacatgctgttcatctgttacattgtcgatctgttcatggtgaaacagc
tttgaatgcacaaaaactcgtaaaagctctgatgtatctatctttttacaccggttttcatct
gtgcatatggacagttttccctttgatgtgtaacgggtgaacagttgttctacttttgtttgtta
gtcttgatgcttcaactgatagatacaagagccataagaacctcagatccctccgtattttagcca
gtatgttctctagtgtggttcggttttttgcgtgagccatgagaacgaacattgagatcata
cttactttgcatgtcactcaaaaattttgcctcaaaaactggtagctgaatttttgcagttaaa
gcacgtgtagtggttttcttagtccgttatgtaggtaggaaatctgatgtaattgtttgttgta
ttttgtcaccatttcttttctggtgttctcaagttcgggttacagatccatttgtctatc
tagttcaactttggaatacaacgtatcagtcggcgccctgccttatcaaccaccaatttcata
ttgtctgaagtgtttaaatcttacttattgttttcaaaaacccattggttaagccttttaact
catggtagtattttcaagcattaaacatgaacttaattcatcaaggctaatctctatatttgc
cttgtaggttttctttgtgttagttcttttaataaccactcataaatcctcatagagtatttg
ttttcaaaagacttaacatgttccagattatattttatgaatttttttaactggaaaagataag
gcaatatctctcactaaaaactaatctaattttgcgttgagaacttggcatagttgtcca
ctggaaaatctcaaaagcctttaaccaaaggattcctgatttccacagttctcgtcatcagctct
ctggttgcttttagctaaatacaccataagcattttccctactgatgttcatcatctgagcgtatt
ggttataagtgaacgataacgctccgttcttctcttgtaggggttttcaatcgtaggggttagtag
tgccacacagcataaaaattagcttggtttcatgctccgttaagtcatacgactaatcgctagt
tcatttgcctttgaaaacaaactaattcagacatacatctcaattgggtcaggtgattttaacac
tataccaattgagatgggctagtcaatgataattactagtccttttcttgagtgtgggtat
ctgtaaatctctgtagaccttgcgtggaaaactgttaaatctctgtagacacctgttaaatcc
gctagacctttgtgtgtttttttgtttatattcaagtgggttataattttatagaataaagaaag
aataaaaaagataaaaaagaatagatcccagccctgtgtataactcactactttagtcagttcc
gcagtattacaaaaggatgtcgcaaacgctgtttgctcctctacaaaacagaccttaaaacct
aaaggcttaagttagcaccctcgcaagctcgggcaaatcgctgaatttcttttgcctccgacc

도면27d

Atcaggcacctgagtcgctgtcttttctgtgacattcagttcgctcgcgtcacggctctggcag
tgaatgggggttaaatggcactacaggcgcccttttatggattcatgcaaggaaactacccataat
acaagaaaagcccgctcacgggcttctcagggcggttttatggcggtctgctatgtgggtgctatc
tgacttttgcgtgttcagcagttcctgcctctgattttccagttcagccacttcggattatcc
cgtgacaggctattcagactggcctaagcaccagtaaggcagcggtatcatcaacaggctta
(SEQ ID NO:46)

도면28



하위 경로 바실러스 카세트
9371 bp

도면29a

5' -

tgtaacctttgctttcaaatgagtagaataatgcacatccatgtttgtatcgtgcaaataaag
tgtttcatccgtaggaaaaaatgacttttagtatctgttccgctttttctgatgaaatgtgctcc
ccgacaaaattgaatgaatcatggacatttgcctggctttgatcacgcaaaagcagccgttctta
tgttatatatcggttttaacagcaggacaaaaaacacatgacagccatcgtcaccacttatt
cacacgcacataaacctttctgacttttggaaacagatgatagctcatcaaaaatcccgccatt
gccaaataaatcgatatatggcattactgcaccataatcttttgagatttgattgggatatggcg
caagcagcaagacaagcagtcgataatcagcgtataaaaataagcctagtaagatcttatccgt
tctccaatacagcttgaaaaacactacattcaacgcaatgggaagagtgatgatgaaaaacaga
aacacgaatgcaatcggtccatcccatccgggtattccttccaatacgaagaaactaaaaa
tcatttgtacgatcggaactgacaacagcaaggtcgaacgtataaaaacttaccctttccgcc
atgatcacgcggcatcagcatatagtgaagccgtcagcagcacatatccgtatacaaaaaa
tgacgagcgccgagcaggttcttttccgtcctctcttaagtaagcgtggtgaagtttgttgatt
gcacctgggtgaataagttcaacagacactcccgccagcagcaccaatccgcaatataacaccgc
caagaacattgtgcgctgccggtttattttgggatgatgcacaaaagatatagcccgccaga
acaacaattgaccattgaatcagcaggggtgctttgtctgcttaataaaaaaacgttcgaaat
gcaatacatataatgactgaataaactccaacagcaacaacaactccattttctctgctatcaaaa
taacagactcgtgattttccaacagagctttcaaaaaagcctctgcccttgcataatcggtatgc
ctgtctataaaaattcccgatatttgggttaaacagcgccgcaatggcgccgcatctgatgtcttt
gcttggcgaaatgttcatottattttctctccctctcaataattttttcattctatcccttttc
tgtaaagttttattttcagaatacttttatcatcatgctttgaaaaaatatcacgataatatcc
attgttctcacggaagcacacgcaggtcatttgaacgaatttttgcacaggaatttgcggga
ctcaggagcatttaacctaaaaaagcatgacatttcagcataatgaacatttactcatgtctat
tttcgttctttctgtatgaaaatagttatttcgagtcctacggaaatagcgagagatgatat
acctaaatagagataaaatcatctcaaaaaaatgggtctactaaaaatatttccatctattac
aataaattcacagaatagttcttttaagtaagtcactctgaatttttttaaaaggagagggttaa
agagtgctattaccgttcttaactctgcacccggaaaagggtattatttttgggtgaacactctg
ctgtgtacaacaagcctgcgctgcgtgctagtgtgtctgcgttgagaacctacctgctaataag
cgagtcactgcaccagatactattgaattggacttcccgacattagctttaatacataagtgg
tccatcaatgatttcaatgccatcacggaggatcaagtaaacctccaaaaatggccaaggctc
aacaagccaccgatggctgtctcaggaactcgttagtcttttggatccgttgttagctcaact
atccgaatccttccactaccatgcagcgttttgtttctgtatatgtttgtttgctatgcccc
catgccaagaatatagtttttctttaagttctactttaccatccgtgctgggttgggctcaa
ggcctctatttctgtatcactggccttagctatggcctacttgggggggttaataggatctaa
tgacttggaaaagctgcagaaaaacgataagcatatagtgaaatcaatgggccttcataggtgaa
aagtgattcacgggtacccttccaggaatagataaacgctgtggccacttatggtaatgccctgc
tatttgaaaaagactcacataalggaaacaataaacacaaacaattttaagttcttagatgattt
cccagccattccaatgatcctaactatactagaattccaaggtctacaaaagatcttgttgct
cgcttctgtgtgttggtcacccagaaaatttctgaagttatgaagccaattctagatgccatgg
gtgaatgtgccctacaaggcttagagatcatgactaagtttaagtaaatgaaaggcaccgatga
cgaggctgtagaaaactaataatgaactgtatgaacaactattggaattgalaagaataaatcat
ggactgcttctcaatcggtgtttctcatcctggattagaacttattaaaaatctgagcgatg
atttgagaaltggctccacaaaacttaccggtgctggtggcgcggttgcctttgactttgtt
acgaagagacattactcaagagcaaattgacagcttcaaaaagaaattgcaagatgalttttagt

도면29b

tacgagacatttgaacagacttgggtgggactggctgctgtttgttaagcgcaaaaaatttga
ataaagatcttaaaatcaaatccctagttatccaattatttgaataaaaactaccacaagca
acaaattgacgatctattattgcccaggaaacacgaattttaccatggacttcataaaaggagag
gtgtcagagttgagagccttcagtgccccagggaagcggttactagctggtggatatttagttt
tagatacaaaatagaagcattttagtgcgattatcggcaagaatgcatgctgtagcccatcc
ttacggttcattgcaagggctctgataagtttgaagtgctgtgaaaagtaaacatttaagat
ggggagtggtgtaccatataaagtcctaaaagtggcttcattcctgtttogataggcggatcta
agaaccctttcattgaaaaagttatcgtaacgtatttagctactttaaacctaaccatggacga
ctactgcaatagaaacttgttcgttattgatattttctctgatgatgcctaccattctcaggag
gatagcgtttaccgaacatcgtggcaacagaagattgagttttcattcgcaacagaattgaagaag
ttcccaaacagggctgggctcctcggcagggttagtcacagttttaactacagctttggcctc
cttttttgtatcggacctggaaaataatgtagacaaatatagagaagttattcataatttagca
caagttgtcattgtcaagctcagggtaaaattggaagcgggtttgatgtagcggcggcagcat
atggatctatcagatatagaagattcccccccgcatatctctaatgttgcagatattggaag
tgctacttcaggcagtaaaactggcgcatttgggtgatgaagaagactggaattattacgattaaa
agtaaacattttaacctcgggattaaactttatggatggcgatattaagaatgggttcagaacag
taaaactggtccagaaggtaaaaaattgggtatgattcgcatatgccagaaagcttgaaaata
tacagaactcgatcatgcaaatcttagatttatggatggactatctaactagatcgcttaac
gagactcatgacgattacagcgatcagatatttagtctcttgagaggaatgactgtacctgtc
aaaagtatcctgaaatcacagaagttagagatgcagttgccacaattagacgttctttagaaa
ataaactaaagaatctgggtccgatatcgaaacctcccgtaacaaactagcttattggatgattgc
cagaccttaaaaggagttcttacttgccttaaacctgggtgctgggttatgaagccattgcag
tgattactaagcaagatgttgatcttagggctcaaacgcctaatagacaaaagattttctaagg
tcaatggctggatgtaactcaggctgactgggtgttaggaaagaaaaagatccggaaacttat
cttgataaaataaaaggaggggtgacctttacacagcatccgttaccgcacccgtcaacatcg
caaccttaagtattgggggaaaaaggacacgaagttgaatctgcccaccaattcgtccatatc
agtgaactttatcgcaagatgacctcagaacgttgacctctgcgctactgcacctgagtttgaa
cgcgacactttgtggttaaatggagaaccacacagcatcgacaatgaaagaactcaaaattgtc
tgccgacctaagccaatgaagaaaggaaatggaatcgaaggacgcctcattgcccacattatc
tcaatggaaactccacattgtctccgaaaaataactttcctacagcagctgggttagcttctcc
gctgctggctttgtctgattggtctctgcaattgctaagttataccaattaccacagtcactt
cagaaatatctagaatagcaagaaagggtctggttcagctttagatcgttgtttggcggata
cgtggcctgggaaatgggaaaagctgaagatggtcatgattccatggcagtaacaaatcgagac
agctctgactggcctcagatgaaagcttgtgtcctagttgtcagcgatattaaaaaggatgtga
gttccactcagggtatgcaattgacgtggcaacctcgaactatttaaaagaaagaattgaaca
tgtcgtaccaaagagatttgaagtcacgttgatgcaaggtccaaatgctgtgtgtactacttagct
gaaaatgagtcgaaactctttgcatttatctataaaattgtttggctctgttccctggatgggaca
agaaatttactactgagcagcttgagggtttcaaccatcaatttgaatcatctaactttactgc
acgtgaatttgatcttgagttgcaaaaggatgttgccagagtgattttaactcaagtcggttca
ggcccaagaagaacaaacgaatcttgattgacgcaagactggtctaccaaggaataaaagg
agagggtgactgccgacaacaatagtatgcccattggtgcagtatctagttacgccaaattagt

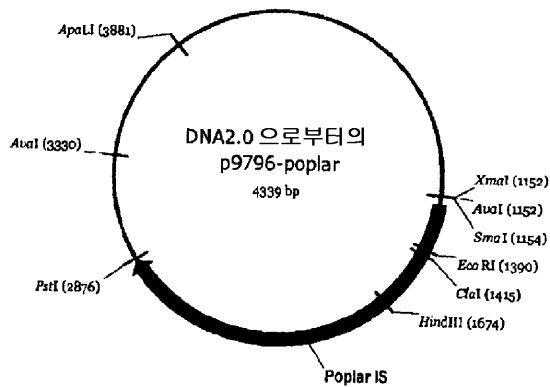
도면29c

gcaaaacaaacacotgaagacatttttgaagagtttctgaaattattccattacaacaaga
cctaatacccgatctagtgaagcgtcaaatgacgaaagcggaagaaacatgttttctggtcatg
atgaggagcaaatatagttaatgaatgaaaattgtattgttttgattgggacgataatgctat
tggtgccggtaccaagaaagtgtgcattttaattggaataattgaaaagggtttactacatcgt
gcattctcgtcttttttcaatgaacaaggtgaattacttttacaacaagagccactgaaa
aaaaactttccctgatctttggactaacacatgctgctctcatccactatgtattgatgacga
attaggttttgaagggttaagctagacgataagattaagggcgctattactgcgggcggtgagaaaa
ctagatcatgaatttaggtattccagaagatgaaactaagacaagggttaagtttcaacttttaa
acagaatccattacatggccaagcaatgaacatgggggtaacatgaaattgattacatcct
attttataagatcaacgctaagaaaaacttgactgtcaacccaaacgtcaatgaagttagagac
ttcaaatgggtttcaccaaatgatttgaactatgtttgctgacccaagttacaagtttacgc
cttggttttaagattatttgcgagaattacttattcaactgggtgggagcaattagatgacctttc
tgaagtggaaaatgacaggcaaatcatagaatgctataaaaaaacggccttgccccggcg
gtttttttatttttctcctccgcatgttcaatccgctccataatcgacggatggctcctc
tgaaaaattttaaagagaaacggcggttgacccggctcagtcctgaacggccaagtcctgaaa
cgtctcaatcgccgcttcccggtttccggctcagctcaatgccgtaacggtcgggcggtttcc
tgataccgggagacggcattcgtaatttgaaatacatacgaaacaaatataaagtgaaaaaat
acttcggaacatttataaaataaccttatttggtacttacatgtttggatcaggagttagaggt
ggactaaaacaaatagtgatcttgactttttagtcgctgatactgaacatttgacagatcaaa
gtaaaagaaatacttatcaaaaaaattagacattttcaaaaaaataaggagataaaagcaactt
acgatataatgaattacaattatttcaagcaagaaatggtagcgtggaatcatcctcccaaa
caagaatttattttaggaatgggtacaagagctttatgaacaggatgacattcctcagaagg
aattaaattcagatttaaccataatgctttaccaagcaaaacgaaaaataaaagatatagcg
aaattatgacttagaggaattactacctgatattccattttctgatgtgagaagagccattatg
gattcgtcagaggaattatagataattatcaggatgatgaaacaaactctatattaactttat
gccgtatgatttttaactatggacacgggtaaaatcataccaaaagatatgcccggaaatgcagt
ggctgaatcttctccattagaacatagggagagaattttgttagcagttcgtaqttatcttggg
gagaattatgaatggactaatgaaaatgtaatttactataaactatttaaatacagatttaa
aaaaattataatgtaacctttgctttcaaatgagtagaaataatgcacatccatgtttgtatcg
tgcaaataaagtgtttcatccgtaggaaaaaatgacttttagtatctgttccgctttttctgatg
aaatgtgctcccgacaaaattgaatgaatcattggacatttgcgtggcttgatacagcgaaagc
agccgttccatgttatatatatcggttttaacagcaggacaaaaacacccatgacagccatcgtc
accacttattcacagccacataaaacctttctgacttttggaacagatgatagctcatcaaaa
atcccgcatgtgcaaaataatcgtatatggcattactgcaccataatcttttgagatttgatt
gggatattggcgcaagcagcaagacagcagtcctgataatcagcgtataaaataagcctagtaag
atcttatccgttttccaatacagcttgaaaaaactacattcaacgcaatgggaagagtatga
tgaaaaacagaaacagcaatgcaatcggtccatccatccgggtatttcttccaatacgaaaa
gaaactaaaaatcatttgtacgatcggcaaaactgacaacagcaagggtcgaacgtataaaactta
ccctttccgcatgatcagcgccatcagcatatagtgaagccgtcagcagcacatatcgt
atacaaaaaatgacagcagcgagcaggttctttccgtcctctcttaagtaagcgctgggtgaa
gtttgtgattgcacctggtgaataagttcaacagacactcccgccagcagcaaatccgcaat
ataacacccgccaagaacattgtgcgtgcccgtttattttgggatgatgacacaaaagata
agcccgccagaaacaattgacattgaatcagcagggtgctttgtctgcttaataataaata
acgttcgaaatgcaatacataatgactgaataactccaacagcaacaaaagtgccatttt

도면29d

Ataaaagctaatgattcagtcacataattgatagacgaattctgctacaggtcacgtggctat
gtgaaggatcgcgctccagtttaagagcaaaacattgacaaaaaatttatttattgctaaaat
ttactattaatatatttgtatgtataataagattctcctggccaggggaatcttattttttgtg
gaggatcatttcatgaggaataatgagtcagcttaacgtctctaatttcagcttttgcctg
catatcacagccgatgacacacctcttatttttgatgattttatcgcaaaagatctcattaa
cgaaaaagagtttatcgacatcagtaaaaatgattcaagaaatcgtttttcaacaaagag
atcgccgaacgtcttcaaaatgatcctgaaaaaatattaaatgggttgcaaaaatccagctgt
ctccaaagccctagcagctgcttcttatttgtaaaaagtcttgcaaacgaattaatcctggg
ggcaaaacagtatgtcattcttgagcgggactggatactttctgctttcgccatccgaatta
gaaaacagcttacaggttttgcaggttgatcctcgccacacagcaattgaaaaaaaataagc
tgaggatgcaaatctgacaattccgggtcatcttcttttgcctatggattttacccaaaac
gttttgcgtatgactctcttagatgaaggatttaaaaacacaaaaacattctcagccttctc
ggagtgcttattatgtaacacgggaagaaaatgcaagcttgatcagcaatttattttctcatg
tcccgcttggagctctattgttttgattatgaggacgaaacactttttacagcaaaaggac
gtcgaatcagttgaacatattgtgaagatggctgcccgaagcggggaaccgatgaaatcatgt
ttcacttatcaagagattgaacatctg
(SEQ ID NO:47)

도면30



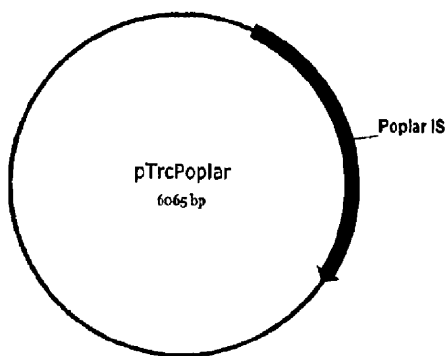
도면31a

5' -
tagaaaaactcatcgagcatcaaatgaaactgcaatttattcatatcaggattatcaataccat
atllttgaaaaagccgtttctgtaatgaaggagaaaaactcaccgagggcagttccataggatggc
aagatcctgggtatcggtctcgacttcgactcgtccaacatcaatacaacctattaatttcccc
tcgtcaaaaaataaggttatcaagtgaagaatcaccatgagtgacgactgaatccggtgagaatg
gcaaaaagtttatgcatttcttccagactgttcaacaggccagccattacgctcgtcatcaaa
atcactcgcatcaaccaaaccgttattcattcgtgattgcgcctgagcgaggcgaaatcacgga
tcgctgttaaaaggacaattacaacacagggaatcgagtgcaaccggcgaggaacactgccagcg
catcaacaatattttcacctgaatcaggatattcttctaataacctggaacgctgttttccggg
gatcgagtggtgagtaaccatgcacatcaggagtagcgataaaatgcttgatggtcggaagt
ggcataaattccgctcagccagtttagtctgaccatctcatctgtaacatcatggcaacgctac
ctttgccatgtttcagaaacaactctggcgcatcgggcttccatacaagcgatagattgtcgc
acctgattgcccagacattatcgcgagccatttataccatataaatcagcatccatgttgga
tttaatcgccggcctcgacgtttcccggtgaatatggctcatattcttcccttttcaatattatt
gaagcatttatcagggttattgtctcatgagcgatacatattgaatgtatttagaaaaataa
acaaataggggtcaggtgtacaaccaatttaaccaattctgaacattatcgcgagccatttata
cctgaatatggctcataaaccccttgtttgcctggcgagtagcgcggtggtccacactgac
cccatgccgaactcagaagtgaacgcccgtagcgccgatggtagtgtggggactcccatgcga
gagtaggggaactgccaggcatcaaataaaacgaaaggctcagtcgaaagactgggctttcgcc
cgggctaatttaggggtgtcgccctttagtcgctgaacatgtgctctgtttctacggagaacgt
ttccttctactgagacggaacccgagggcacgtcgtagcggaactacgagccgaatagctgggac
tacgatttcctgctgtcttccgatactgacgaatctattgaggtgtacaaagacaaagcaaga
aactggaggtgaagtgcgcgcgaaatcaacaacgagaaagctgaattcctgactctgctgga
gctgatcgataacgtacagcgcttgggtctgggttacgcttcgaatctgatatccgtcgccga
ctggatcggttccgtgaagcagcgccgtttcgatggcgtagccaaaacgagccgtgcacgctaccg
cgctgtccttccgtctgctcgtcagcacggcttcgaagtttctcagggaagcattctccggttt
caaagatcaaaacggtaacttctggaaaacctgaaagaagacactaaggcgatcctgagcctg
tatgaggcaagctttctggccctggagggtgagaacatcctggatgaggcgcgctattcgcca
tctcccatctgaaagagctgtctgaagagaaaaatcggttaagggaactggcagagcaggttaata
cgcaactggaactgccgctgcacgtcgtacccagcgtctggaggcggtttgggtccatcgaagcg
taccgcaaaaaggaggatgctaaccaggttctgctggaactggccatcctggactacaacatga
tccagtcctgtttaccagcgtgatctgcgtgaacactcccggttggtggcgcgctgtgggctggc
gacaaactgcacttcgctaaggaccgctgattgagctttttactgggcagtcggcgcttgctg
ttcgaacctcagttattctgactgccgttaacagcgttgcgaaaatgttcagcttcgttactatta
tcgacgacatctacagcgtttacggtaactctggacgagctggaactgtttacgagcgtgtcga
acgttgggatgttaacgccatcaacgatctgcctgactacatgaaactgtgcttccgtggcactg
tataaacgatcaacgaaattgcatacgacaacctgaaagacaaaggtgaaaaacatcctgccgt
acctgactaaagcgtggcggtatctgtgaacgcttttctgcaagaagcgaaatggctgtataa
caaatccactccgacctttgacgattatttcggcaatgcctggaaatccagctctggcccgctg
caactgatcttcgcttattttcggttgcctcaaaacatcaaaaaggaggaaattgaaaaacctgc
aaaaataccacgatcatctagccgtccttctcatatcttccgctgtgcaacgacctggcaag
cgcgctccgagagatcgacgtggcgaaacgctaactctgttccgtgctacatgcgcaccaag
ggcatttccgaagagctggcaaccgagagcgtaataatctgatcgacgaaacctgtaagaaaa
tgaacaaagaaaaactgggtggctcctgttcgctaaccgcttcgtagagactgctattaacct

도면31b

ggcacgtcagagccactgcacctaccacaatggtgacgcacatactagcccgatgaactgact
cgtaaacgtgtactgtctgttatcccgaaacgattctgocggttogaacgttaactgcagcgtc
aatcgaaaaggcgacacaaaatttattctaaatgcataataaatactgataacatcttatagtt
tgtattatattttgtattatcggtgacatgtataattttgatatcaaaaactgattttcccttt
attattttcgagattttttcttaattctctttaacaaactagaaatattgtatatacaaaaa
atcataaataatagatgaatagtttaattataggtgttcacatcaatcgaaaaagcaactatctt
atttaaagtgcgttgctttttctcatttataagggttaataattctcatatatcaagcaaat
gacaggcgcccttaaatattctgacaaatgctctttccctaaactcccccataaaaaaacccg
ccgaagcgggttttacgttatttgccgattaacgattactcgttatcagaacccgcccaggggg
cccagcgttaagactggcgtcggtttacaacacagaaagagtttgtagaaacgcaaaaaggcc
atccgtcaggggccttctgcttagtttgatgcctggcagttccctactctcgcttccgcttcc
tcgctcactgactcgctcgctcggtcggttcggtcgccgagcggtatcagctcactcaaagg
cggtaatcaggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaaagaacatgtgagcaaaaggcca
gcaaaaggccagggaacccgtaaaaaggccgcttgctggcgtttttccataggctccgccccct
gacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgacaggactataaagat
accaggcgtttcccccgggaagctccctcgctgcgtctcctgttccgacctgcccgttaccgg
atacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgtttctcatagctcacgctgtaggtat
ctcagttcgggtgtaggtcgctcgctccaaagctgggtgtgtgcacgaaccccccggttcagccg
accgctgcgcttatccggttaactatcgctcttgagtcacacccggtaagacacgacttatcgcc
actggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgaggtatgtaggcggtgctacagagttc
ttgaagtgggtgggttaactacggctacactagaagaacagttttggtatctgcgctctgctga
agccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaaacaaacccgctggtag
cggtggtttttttgttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcct
ttgatctttctacgggtctgacgctcagtggaacgacgcgcgctaaactcaggttaagggtat
tttggtcatgagcttgcccgctcccgtaagtcagcgtaatgctctgcttt
(SEQ ID NO:48)

도면32



도면33a

5' -

gtttgacagcttatcatcgactgcacgggtgcaccaatgcttctggcgtaggcagccatcggaagctgtgggtatggctgtgcaggtcgtaaatcactgcataattcgtgtcgctcaaggcgactcccgttctggataaatgttttttgcgcgcacatcataacggttctggcaaatattctgaaatgagctgttgacaattaatcatccggctcgtataatgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaacagcgccgctgagaaaaagcgaagcggcactgctctttaacaatttatcagacaattctgtgtgggcactcgaccggaattatcgattaaactttattttaaaaattaaagggtatatattaatgtatcgattaaaaagaggagaataaaacctgtgctctgtttctaccgagaacgtttccttcaactgagacggaaaccgaggcacgtcgtagcgcgaactacgagccgaatagctgggactacgatttccgtgtcttccgatactgacgaatctattgaggtgtacaaagacaaagcaaaactggaggctgaagtgcgccgcgaattaaacacgagaagctgaattcctgactctgtggagctgatcgataacgtacagcgctgggtctgggttacgccttcgaatctgatccgtcgcgcactggatcgttccgtaagcagcgccggttctcgatggcgtagccaaaacgagccctgcacgctaccgcgctgtcctccgtctgctgcgtcagcaacggcttcgaagtttctcaggaagcatttcccggttccaaagatcaaacggtaacttctcggaaaaacctgaaagaagacactaaggcgatcctgagcctgtatgaggcaagcttctggccctggagggtgagaacatcctggatgaggcgcgctattcgccatctcccatctgaaagagctgtctgaagagaaaaatcggttaaggaaactggcagagcaggttaatcacgcactggaaactgcgcgtcgtatcgtgtaaccacgcctcgtggaggcggtttgggtccatcgaagcgtaccgcaaaaaggagtagctaacagggttctgctggaactggccatcctggactacaacatgatccagtcctgttaccagcgtgatctgcgtgaaacctcccggttggtggcgccgtgtggccctggcgaccaaactgcacttcgctaaaggacgcgcctgataggatcttttactgggcagtcggcggttgcgttgcgaacctcagatattctgactgccgtaacagcgttgcgaaaaatgttcagcttctgttactattatcgacgacatctacgacgtttacggtaactctgcgtgaaactgtttaccgacgctgtcgaacgttgggatgttaacgccatcaacgatctgcctgactacatgaaactgtgcttccctggcactgtataacacgatacaacgaaattgcatacgaacacctgaaagacaaagggtgaaaacatcctgccgtacctgactaaagcgtggcgcggtctgtgttaacgcttttctgcaagaagcgaatggctgtataacaaatccactccgacctttgacgattatttccgcaatgcctggaatccagctctggcccgctgcaactgatcttcgcttattttgcggttgtccaaaaacatcaaaaaggaggaattgaaaacctgcaaaaataccacgatatcattagccgctctctcatatcttctgcctgtgcaacgacctggcaagcgcgctccgagagatcgacgctggcgaacccgctaactctgtttcctgctacatgcgcaccaagggcatttccgaagagctggcaaccgagagcgtaataatctgatcgacgaaacctgtaagaaaaatgaacaaagaaaaactgggtggctccctgttcgctaaacccgttcgtagagactgctattaacctggcagctcagagccactgcacctaccacaatggtagcgcacatactagcccgatgaactgactcgtaaacgtgtactgtctgttatcccgaaaccgattctgcggttcgaacgttaactgcagctggtaaccatatgggaattcgaagctttctagaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaatagcgccgtcgacctcatcatcatcattgagtttaaacggctctccagcttggctgttttggcggatgagagaagattttcagcctgatacagattaaatcagaacgcagaagcggtctgataaaacagaatttgcctggcgcgagtacgcgcgtgtgtccacctgaccccatgccgaactcagaagtgaacgcgctagcgccgatggtagtgtgggtctccccatgcgagagtagggaactgccaggcatcaataaaacgaaaggtcagtcgaaagactgggccttctgtttatctgttgttgcgtgaaacgctctcctgagtaggacaaaactccgcgggagcggtttgaacgttgcgaagcaacggccggagggtggcgggcaggacgcccgcataaaactgccaggcatcaaatgaagcagaaggccatcctgacggatggccttttgcgtttctacaaaactcttttgtttattttctaaatacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataattgaaaaaggagagtaggtattcaacatttc

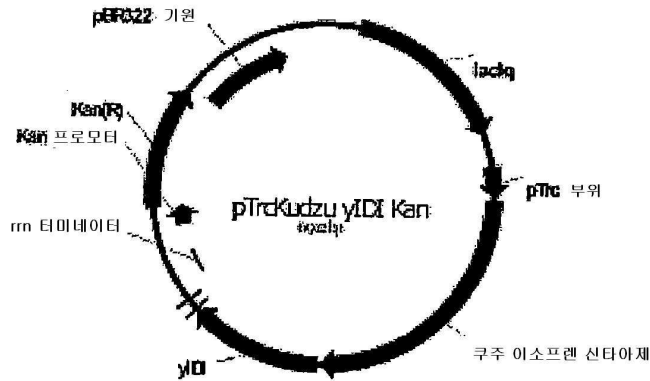
도면33b

cgtgtcgcccttattcccttttttgcggcattttgccttctgtttttgtctcaccagaaacgc
tgggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggttacatcgaactggatct
caacagcggtgaagatccttgagagttttcgccccgaagaacgttttccaatgatgagcactttt
aaagtctgtctatgtggcgcggtattatcccggtgttgacgcggggcaagagcaactcggtcgcc
gcatacactattctcagaatgacttgggtgagtactaccagtcacagaaaagcatcttacgga
tggcatgacagtaagagaattatgcagtgctgccataaccatgagtgataaacactcgggccaac
ttacttctgacaacgatcgaggaccgaaggagctaacgcgtttttgcacaacatgggggac
atgtaactcgcttgatcgttgggaaccggagctgaatgaagccataccaaacgacgagcgtga
caccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaacatttaactggcgaaactacttact
ctagcttcccggaacaatttaatagactggatggaggcggaataaagtgcaggaccacttctgc
gctcgcccttccggctggctggtttatgtctgataaaactggagcgggtgagcgtgggtctcg
cgggtatcattgcagcactggggccagatggttaagccctcccgatctcgtagttatctacacgacg
gggagtcaggcaactatggatgaacgaaatagacagatcgctgagataggtgcctcactgatta
agcattggtaactgtcagaccaagtttactcatatatacttttagattgatttaaaacttcat
ttaatttaaaaggatctaggtagaagatccttttgataatctcatgacaaaatcccttaacgt
gagttttcgttccactgagcgtcagacccgtagaaaagatcaaaggatctcttgagatcctt
tttttctgcggttaactcgtctgttgcaaaaaaaaccacgcgtaccagcgggtggtttgttt
gccggtacagagctaccaactcttttccgaaggtaactggctcagcagagcgagataacca
aataactgtccttctagtgtagccgtagttaggccaccactcaagaactctgtagcaccgcct
catacctcgctctgtaactcctgttaccagtggtgctgctgccagtgccgataagtcgtgtctac
cgggttggactcaagacgatagttaccggataaaggcgacggtcgggtgaacggggggttcg
tgacacagccagcgttggagcgaaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctat
gagaagcgccacgcttccgaagggaagggcggaacaggtatccggttaagcggcagggtcgg
aacaggagagcgacagaggagcttccagggggaacgcctggtatctttatagtcctgtcggg
tttcgccacctctgacttgagcgtcgtttttgtgagtcgtcgtcagggggcgagcctatgga
aaaaacgcagcaacgcggccttttacgggttctggccttttgcgtggttttgcacatgtt
ctttcctgcgttatccctgattctgtggataaacggtattacgcctttgagtgcgtgatacc
gctcgcgcagccgaacgacccgagcgcagcagtcagtgagcgaggaagcggaagcgccctga
tgcggtatttttctccttacgcatctgtgcggtatttcacacgcgcatatggtgcactctcagta
aatctgctctgatgcgcgatagtttaagccagtatatacctccgctatcgtcactgagtggtca
tggtcgcgcgcgaccccgcaacacccgcgtgacgcgcctgacgggcttgtctgctccggc
atccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgcagaggttttaccgctca
tcaccgaacgcgcgaggaagcagatcaattcgcgcggaaggcgaagcgccatgcatttacgt
tgacacccatcgaatgggtgcaaacctttcgcggtatggcatgatagcggcggaagagagtc
ttcagggtggtgaatgtgaaccagtaacggttatagcatgtgcagagtatgcgggtgtctctt
atcagaccgttltcccgctgggtgaaccaggccagccagcttctgcgaaaaacggggaaaaagt
ggaagcgccgatggcgagctgaattacattcccaaccgcgtggcacaacaactggcgggcaaa
cagtcggttgcgtgattggcgttggccacctccagctctggccctgcacgcgcgtgcgaattgtcg
cggcgattaaatctcgcgcgatcaactggglgccagcgtgggtggtgctgatggtagaacgaag
cggcgctogaagcctgtaaaagcgcggtgcacaatcttctcgcgcaacgcgtcagtgggctgatc
attaactatccgctggatgaccaggatgccattgctgtggaagctgcctgcactaatgttccgg
cgttatttcttgatgtctctgaccagaccccatcaacagttatttttctccatgaagacgg
tacgcgactggcggtggagcatctggtcgattgggtcaccagcaaatcgcgctgttagcgggc
ccattaagttctgtctcggcgctctgctgtggtggctggcataaatatctcactcgcaatc

도면33c

aaattcagccgatagcggaacgggaaggcgactggagtgccatgtccggttttcaacaaccat
gcaaatgctgaatgagggcatcgttccactgcgatgctggttgccacgatcagatggcgctg
ggcgcaatgcgcgcattaccagtcggggtgcgcgttgggtcgggatatctcggtagtggat
acgacgataccgaagacagctcatgttatccgcggtcaaccacatcaaacaggattttcg
cctgctggggcaaacagcgtggaccgttctgcgaactctctcaggggcaggcggtgaagggc
aatcagctgttgccgctctcactggtgaaaagaaaaaccacctggcgcccaatagcgaacccg
cctctcccgcgcttggcgattcattaatgcagctggcagcaggttcccgactggaaag
cgggcagtgagcgcaacgaattaatgtgagttagcgcaattgatctg
(SEQ ID NO:49)

도면34



도면35a

5' -
 ttgtctgctccggcgcacgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcag
 aggttttccacggtcatcacgaaacgcgcgagggcagcagatcaattcgcgcggaagcggaagc
 ggcacgtttacgtttgacacccatcgaatggtgcaaaaccttccgcggtatggcatgatagcgc
 ccggaagagagtgcaattcaggggtggtgaatgtgaaaccagtaacgttatacgtatgtcgcagagt
 atgcgggtgtctcttatcagacgcttcccgcggtggtgaaccaggccacgcttctgcgaa
 aacgcgggaaaaagtggaaagcgcgcgagtgccggaagctgaattacattcccaaccgctggcaca
 caactggcgggcaaacagtcgttgcgtgattggcgttgccacctccagtcctggccctgcacgcgc
 cgtcgcaaatgtcgcgcgattaaatctcgcgccgatacaactgggtgcccagcgtgggtgtc
 gatggttagaacgaagcgcgcgtcgaaagcctgtaaacgcggcggtgcacaattctctcgcgcaacgc
 gtcagtggtgctgatcattactatccgctggatgaccaggatgccattgctgtggaagctgcct
 gcactaatgttcggcgcttatttcttgatgtctctgaccagacacccatcaacagtattatttt
 ctcccatgaagacggtacgcgactggcgctggagcatctggtcgcatgggtcaccagcaaatc
 gcgctgttagcgggccattaaagtctgtctcgcgcgctctgcgtctggctggctggcataaat
 atctcactcgcaatcaaatccagccgatagcggaacgggaagcgactggagtgccatgtccgg
 ttttcaacaacccatgcaaatgctgaatgagggcatcgttccactgcgctgctggttgccaac
 gatcagatggcgctggcgcaatgcgcgcattaccgagtcggcggtgcgcgttggcgcgata
 tctcggtagtggtgatacgcgataccgaagacagctcatgttatcccgcgctcaaccacat
 caaacaggattttcgctgctggggcaaacagcgtggaccgcttgcgtgcaactctctcagggc
 caggcggtgaagggcaatcagctgttgcccgctcactggtgaaaagaaaaaccaccctggcg
 ccaatacgcaaacgcctctcccgcgcgcttgcccgattcattaatgcagctggcagcaggt
 tttccgactggaagcgggcagtgagcgcaacgcaattaatgtgagttagcgcaattgatctg
 gtttgacagcttatcatcgactgcacggtgcaccaatgcttctggcgctcaggcagccatcggaa
 gctgtggtatggctgtgcaggtcgtaaatcactgcataattcgtgtcgctcaggcgcaactccc
 gttctggataatgtttttcgcgccgacatcataacggttctggcaaatattctgaaatgagctg
 ttgacaattaatcatccgctcgataatgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacag
 gaaacagcgccgctgagaaaaagcgaagcggcactgctcttaacaatttatcagacaatctgt
 gtgggcactcgaccgggaattatcgattactttattataaaaattaaagaggtatatataat
 gtatcgattaaaataaggaggaataaaccatgtgtgcgacctctctcaatttactcagattacc
 gagcalaattcccgctggttcggcaaacatcagccaaacctgtggaatttcgaattcccgcaat
 ccctggagaacgacctgaaagtggaaaagctggaggagaaaagcgaccaactggaggaaagagt
 tcgctgcatgatcaaccgtglagacaccagccgctgtccctgctggagctgatcgacgatgtg
 cagcgccctgggtctgacctacaaatttgaaaaagacatcattaaagccctggaaaacatcgta
 ctgctggacgaaaaaagaaacaaatctgacctgcacgcaaccgctctgtcttccgtctgct
 gcgtcagcagcgtttcgagggttctcaggatgttttgagcggttcaaggataaagaaggtgg
 ttacgcggtgaaactgaaaggtgacgtccaaggcctgctgagcctgtatgaagcgtcttacctgg
 gtttcgagggtgagaacctgctggaggagcgctacctttccatcaccacccctgaagaacaa
 cctgaaagaagcattaatccaaggttgagaacaagtgcagccacccctggaactgccatat
 caccagcgtctgcacgctggaaggcagcttggttccctggataaatcgaacccgaaagaacgc
 atcaccagctgctgctggagctggcgaagctggattttaacatggtacagaccctgcaccagaa
 agagctgcaagatctgtcccgctggtggaccgagatgggcctggctagcaaacctggattttgta
 cgcgacgcgctgatggaagttattttcgggcactgggtatggcgccagaccgcagtttggtg
 aatgtcgcaagcgtgtactaaaatgtttgggtcgtggtgacgatcatcgatgacgtgtatgacgt

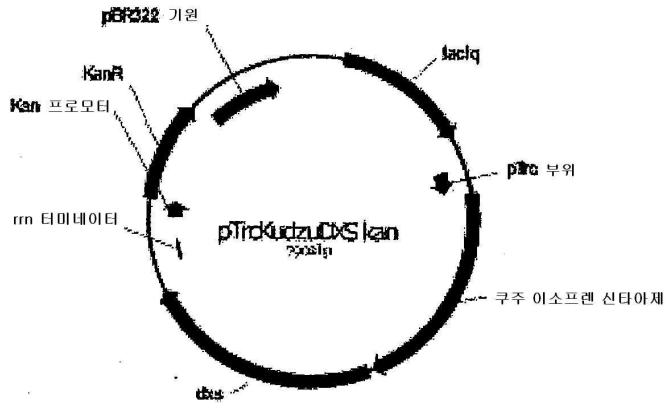
도면35b

tatatggcactctggacgaactgcaactgttcaccgatgctgtagagcgctgggacgttaacgct
attaacaccctgccggactatatgaaactgtgtttcctggcactgtacaacaccgttaacgaca
cgtcctattctattctgaaagagaaaggtcataacaacctgtcctattctgacgaaaagctggcg
tgaactgtgcaaaagcctttctgcaagagcgcaaatggtccaacaacaaaattatcccgctttc
tccaagtacctggaaaacgccagcgtttcctctccgggtgtagcgctgctggcgccgtcttact
tttccgtatcccagcagcaggaagacatctccgaccacgcgctgcttccctgaccgacttcca
tggtctgggtgcttctagctgcttcttccgctgtgcaacgatctggccacctctgcgcg
gagctggaaacgtggcgagactaccaattctatcattagctacatgcacgaaaacgatggtacca
gagaggaacagggcccgcaagaactgcgtaaactgatcgacgcgcaatggaaaaagatgaatcg
tgaacgcgttagcgactccaccctgctgcctaaagcgttcattggaaatcgaggttaacatggca
cgtgtttccactgcacctaccagtatggcgatgggtctgggtgccccagactacgcgactgaaa
accgcatcaaacgtgctgctgattgacctttcccgatttaaccagctgatgtatgtctaactgca
tcgccccttaggaggttaaaaaaaatgactgcccgaacaatagtatgccccatgggtgcagtac
tagttacgccaatttagtgcaaaaccaaacaactgaagacattttggaagagtttccgtgaaatt
attccattacaacaaagacctaatacccgatctagtgcagctcaaatgacgaaaagcgagaaa
catgtttttctggctcatgatgaggagcaaatgaattgaatgaaaattgtattgttttggga
ttgggacgataaatgctatttgggtgcccgtaccaagaagtttgctatttaaggaaaatttgaa
aagggtttactacatcgtgcattctccgtctttattttcaatgaacaggtgaattacttttac
aacaagagccactgaaaaaaataactttccctgatctttggactaacacatgctgctctatcc
actatgtattgatgacgaattagggttgaagggttaagctagacgataagatttaaggcgctatt
actgcgcggtgagaaaaactagatcatgaattagggtattccagaagatgaaactaagacaagg
gtaagtttctacttttaaacagaatccattacatggcaccagaatgaaccatggggtgaaca
tgaaattgattacatcctattttataagatcaacgctaaagaaaacttgactgtcaacccaaac
gtcaatgaagtttagagacttcaaatgggtttcaccaaatgatttgaactatgtttgctgacc
caagttacaagtttacgccttggtttaagattatttgcgagaattactatttcaactgggtggga
gcaattagatgacctttctgaagtggaatgacagcgcaaatcatagaatgctataacaacgc
gtcctgcagctggtacatattgggaattcgaagctttctagaacaaaaactcatctcagaagag
gatctgaatagcgcgctgcacatcatcatcatcattgagtttaaacgggtctccagcttgg
ctgttttggcggtgagaggaagattttcagcctgatacagattaaatcagaacgcgagagcggt
ctgataaaacagaatttgcctggcgcgtagcgcggtggtcccactgacccatgcccgaact
cagaagtgaacgcgctagcgccgatggtagtggtggtctccccatgcgagagtagggaaactg
ccaggcatcaaataaaacgaaaggctcagtcgaagactgggccttctgttttactgtgtgtt
gtcggtgaacgctctcctgagtaggacaaatccgcgggagcggtatttgaacgttgcaagcaa
cgcccgcgaggtggcgggcagagcggcccaataaactgccaggcatcaaatgaagcagaagg
ccactcctgacgatggccttttgcgtttctacaaactcttttgtttatttttctaaatcat
tcaaatatgtaaccgcttaaccggaattgccagctggggcgccctctggttaaggttggaagcc
ctgcaaatgaaactggatggctttctgcgcgcaaggatctgagcgcgagggtatcaagctct
gatcaagagacaggtgaggtctgttctgcagtgattgaacaaagatggattgcacgcaggttctc
cgccgcttgggtggagaggtctattcggtatgactgggcacacagacaaatcggtgctctga
tgccgcgctgttccggctgtcagcgagggcgcccggttcttttgcagacgcagctgtcc
gggtccctgaaatgaactgaaagacgagcgagcggtctatcgtgctggccacgagcggttcc
cttgccgagctgtgctgcagcttgtcactgaagcgggagggagctggtgctatttggcggaat
gcggggcgaggtatcctgtcatctcaccttgctcctgccgagaaagtatccatcatggctgat

도면35c

gcaatgcggcggtgcatacgttgcacggctacgtgccatttcgaccaccaagcgaaacatc
gcacgcagcgagcagctactcggatggaagccggtcttgcgatcaggatgatctggacgaaga
gcacaggggctcgcgcagccgaactgttcgcaggtcaaggcgagcatgcccgacggcgag
gatctcgtcgtgacccatggcgatgcctgcttgcgaatatcatggtggaaaatggccgctttt
ctggattcatcagactgtggccggtgggtgtggcgaccgctatcaggacatagcgttggctac
ccgtgatattgctgaagagcttggcgccgaatgggctgaccgcttccctgctgtttacggtatc
gccgctcccgatcgcagcgcacgcttctatcgcttcttgacgagttctctgacatgacc
aaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaggat
cttcttgagatcctttttctgcgctaatctgctgcttgcacaaaaaaaccccgctacc
agcggtggtttgttgcggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggttccagc
agagcgagatacaaatactgtccttctagtgtagcgttagttaggccaccacttcaagaact
ctgtagcaccgctacatacctcgtctgctaatcctgttaccagtggtgctgccagtgccga
taagtctgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgagcggtcgggc
tgaacgggggttcgtgcacacagccagcttggagcgaaacgacctacacgaactgagatacc
tacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggaagggcgaggtatccggt
aagcgcgaggtcggaacagagagcgacgagggagcttccaggggaaacgctggtatctt
tatagctcgtcgggtttcgcacacctctgacttgagcgtcgatttttgcagctcgtcagggg
ggcgagcctatggaaaaacgccgaacgcggccttttaccggttccgtggttttgcgtggcc
tttctgcacatgttcttctcgttatccctgattctgtggataaccgtattaccgctttt
gagtgagctgataccgctcgcgcagccgaacgagcgagcgagtcagtgagcgaggaag
cggaagagcgctgatgggtattttctccttacgcatctgtgcggtatttcaacccgcatatg
gtgcactctcagtaaatctgctctgatgcccatagtttaagccagtatacactccgctatcgc
tacgtgactgggtcaggtgcgccccgacacccgcaacacccgctgacgcgacctgacgggc
(SEQ ID NO:50)

도면36



도면37a

5'-
 ttgtctgtctcccgccatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcag
 aggttttcaccgtcatcaccgaaacgcgcgagcagcagatcaattcgcgcggaaggcgaagc
 ggcatgcatttacgttgacaccatcgaaatgggtgcaaaaccttccgcggtatggcatgtagcgc
 ccggaagagagtgcaattcaggggtggtgaatgtgaaaccagtaacgttatagcatgtcgcagagt
 atgcccgtgtctcttatcagaccgtttcccgctggtgaaccagggccagccacgtttctgcgaa
 aacgcgggaaaaagtggaagcggcgatggcggagctgaattacattcccaaccgcgtggcaca
 caactggcgggcaaacagtcgttgcgtgatggcgttgccacctccagtcctggccctgcacgcgc
 cgtcgcaaaatgtgcgcggcgattaaatctcgcgcgcatcaactgggtgccagcgtggtggtgc
 gatggtagaacgaagcggcgctgaagcctgtaaagcggcggtgcacaattctcgcgcaacgc
 gtcagtggtgctgatcattaaactatccgctggatgaccaggatgccattgctgtggaagctgcct
 gcactaatgttccggcgllatttcttgatgtctctgaccagacacccatcaacagttattttt
 ctcccatgaagacggtaacgcgactggcgctggagcatctggtcgcatgggtcaccagcaaatc
 gcgctgttagcgggcccattagttctgtctcgcgcgctctgcgtctggctggctggcataaat
 atctcactcgcaatcaaatcagccgatagcggaaacgggaaggcgaactggagtgcctatgtccg
 ttttcaacaaacctgcaaatgctgaatgagggcactgttccactgcgatgctggttgccaac
 gatcagatggcgctggcgcaatgcgcgccattaccgagtcgggctgcgcgttggtgcgga
 tctcgtgtagtggaatgcgacgataccgaagacagctcatgttatccgcgcgtcaaccacat
 caaacaggaatttctgcctgctggggcaaacacgcgtggaccgctgctgcaactctctcagggc
 caggcgtgaagggaatcagctgttgcccgctcactggtgaaaagaaaaaccacctggcgc
 ccaatcgcgaacccgctctcccgcgcttgcccgatcattaatgcagctggcagcagaggt
 tcccgactggaaagcggcgactgagcgcaacgcgaattaatgtgagttagcgcgaattgatctg
 gtttgacagcttatcactgcactgcacggtgcaccaatgcttctggcgctcaggcagccatcgga
 gctgtggtatggctgtgcaggtcgtaaatcactgcataatctgtgtcgctcaaggcgcaactccc
 gttctggataatgtttttgcccgcacatcataacggttctggcaaatattctgaaatgagctg
 ttgacaattaatcatccggctcgtataatgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacag
 gaaacagcgcgctgagaaaaagcgaagcggcactgctcttaacaatttatcagacaattctgt
 gtgggcactcgaccggaattatcgattactttattattaaaaataaagaggtatatattaat
 gtatcgattaaataaggaggaataaaacctgtgtgcgacctctctcaatttactcagattacc
 gagcataattcccgctgttccgcaaacatcagccaaacctgtggaatttcgaattcctgcaat
 cctggagaacgcactgaaagtggaaaagctggaggagaaagcgaccaaactggagggaagaat
 tgcgtgcatgatcaaccgtgtgacacccagccgctgtccctgctggagctgacgacgatgtg
 cagcgcctgggtctgacctacaaatttgaagagacatcattaaagcctggaaaacatcgtac
 tgctggacgaaaaaacaagaacaaatctgacctgcacgcaaccgctctgtcttccgctctgct
 gcgtcagcacggtttcagaggtttctcaggtatgttttgagcgtttcaaggataaagaagggtgt
 ttacagcgtgaaactgaaaggtgacgtccaagcctgctgagcctgtatgaagcgtcttacctgg
 gtttcgaggggtgagaacctgctggaggaggcgcgtaccttttccatcaccacctgaagaacaa
 cctgaaagaaggcatttaatacgaaggttgacagaacaagtgaaccaagcctggaaactgccat
 caccagcgtctgcaccgtctggaggcagcttggttctcggataaatcgaaccgaaagaaccgc
 atcaccagctgctgctggagctggcgaagctggattttaacatggtacagaccctgcaccagaa
 agagctgcaagatctgtcccgctggtggaccgagatggcctggctagcaaaactggattttgta
 cgcgaccgcctgatggaagtttatttctggcactgggtatggcgccagaccgcagtttggtg
 aatgtcgcaagctgttactaaaatgttggctggtgacgatcatcgatgacgtgtatgacgt
 ttatggcactctggacgaactgcaactgttcaccgatgctgtagagcgtgggaacgttaacgct

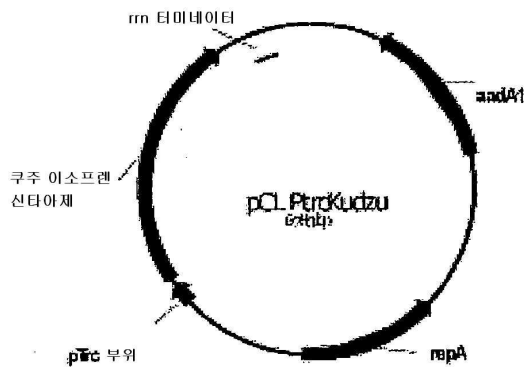
도면37b

at taacacccctgccggactatatgaaactgtgtttcctggcactgtacaacacogttaaagcaca
cgctcctattctattctgaaagagaaaggtcataacaacogtgcctatctgacgaaaagctggcg
tgaactgtgcaaaagcctttctgcaagaggcgaatggtccaacaacaaaattatccgggtttc
tccaagtacctggaaaaacgccagcggtttcctcctccgggtgtagcgctgctggcgccgtcttact
tttccgtatgccagcagcaggaagacatctccgaccacgcgtgcgttccctgaccgacttcca
tggtctggtgctgttctagctgctgttacttccgctgtgcaacgatctggccacctctgcgcg
gagctggaaacgtggcgagactaccaattctatcattagctacatgcacgaaaacgatggtacca
gogaggaacaggcccggaagaactgcgtaaactgatcgacgcogaatggaaaaagatgaatcg
tgaacgcgttagcgactccacctgctgctaaagcggtcatggaaaatcgagttaaacatggca
cggttttcccactgcacctaccgatggcgatggtctgggtcgccagactacgcgactgaaa
accgcatcaaaactgctgctgattgacctttcccgattaaaccagctgatgtatgtctaactgca
ttcgcccttaggaggtaaaaaacatgagttttgatattgcaaaataccggacctggcactgg
tcgactccaccaggttacgactgttgccgaaagagagtttaccgaaactctgcgacgaact
gcgcgctatttactcgacagcgtgagcgttccagcgggcacttcgctccgggtgggcacg
gtcgaaactgacgtggcgctgactatgtctacaacccccgtttgaccaattgatttgggatg
tggggcatcaggtcttatccgcataaaaattttgaccggacgcgcgcaaaaatcgccaccatccg
tcagaaaggcggtctgcaccgttcccggtggcgcgcgaaagcgaatatgacgtattaaagcgtc
gggcattcatcaactccatcagtgccggaattggtattgcggttgctgcccgaaaaagagcga
aaaatcgccgacccgtctgtgtcattggcgatggcgcgattaccgcaggcatggcggtttgaagc
gatgaatcacgcgggcgatatacgtcctgatagctggtgattctcaacgacaatgaaatgtcg
atttccgaaaatgtcgcgcgctcaacaacccatctggcacagctgcttccggtaagctttact
cttactgcgcgaaggcggaaaaaagttttctctggcggtgcccgaattaaagagctgctcaa
acgcaccgaagaacatattaaaaggcatggtagtcctggcacgttgtttgaagagctgggcttt
aactacatcgcccggtggacggtcacgatgtgctggggcttatccacacgctaaagaacatgc
gcgacctgaaaggcccgagttcctgcataatcatgacaaaaaaggtcgtggttatgaaccggc
agaaaaagaccgatcactttccacgcccgtgcctaaatttgatccctccagcggttgtttgcg
aaaagttagcgcggtttgcccagctattcaaaaatctttggcgactggttgctgcgaaacggcag
cgaaagacaacaagctgatggcgattactccggcgatgctgaaggttccggcatggtcgagtt
ttcacgtaaaattcccggtcgctacttcgacgtggcaattgcccagcaacacgcgggtgaccttt
gctcggggtctggcgattggtgggtacaaacccatgtcgcgatttactccactttcctgcaac
gcgcctatgatcaggtgctgcatgacgtggcgattcaaaagcttccggctcctgttcgccatcga
ccgcgcggttgttgggtgctgacggtcaaacccatcaggggtgcttttgatctctcttacctg
cgctgcataccggaaatggtcattatgaccccgagcgatgaaaacgaatgtcgccagatgctct
ataccggctatcactataacgatggcccgctcagcggtgctaccccggtggcaacgcggtcgg
cgtggaaactgacgcgcgtggaaaaactaccaattggcaaggcattgtgaagcgtcgtggcgag
aaactggcgatccttaactttggtacgctgatgccagaagcgcggaagtcgccgaatcgctga
acgccacgctggtcgatatgcgttttgtgaaacgcgttgatgaagcgttaattctggaaatggc
cgccagccatgaagcgctggtcaccgtagaagaaaaacgccattatggcgcgcgagcgagcggc
gtgaacgaagtgtgatggcccatcgtaaacagtaaccgctgctgaacattggcctgccggact
tctttattccgcaaggaaactcaggaagaaatgcgcgccgaactcgccctcgatgcgcgtggtat
ggaagccaaaaatcaaggcctggctggcataactgcagctggtacccatgggaattcgaagctt
ctagaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaatagcgccgtcgaccatcatcatcatcat
cattgagtttaaacgggtctccagcttggctgttttggcggtgagagaagattttcagcctgat
acagattaaatcagaacgcagaagcggtctgataaaacagaatttgcccgcgcgagtagcgcg

도면37c

gtgggtcccacctgaccccatgccgaactcagaagtgaacgcgcgtagcgcgatggtagtgtgg
 ggtctccccatgacgagagttagggaactgccagcatcaaataaaacgaaaggctcagtcgaaag
 actgggacctttcgtttatctgttgttgcggtgaacgctctcctgagtaggacaaatccgcc
 gggagcggatttgaacggttcgaagcaacggcccgagggtggcgggcaggacgcccgcataa
 actgccaggcatcaaatgaagcagaaggccatcctgacggatggcctttttcgctttctacaaa
 ctctttttgtttatttttctaaatacattcaaatatgtatccgcttaaccggaattgccagctg
 gggcgccctctggtaagggttgggaagccctgcaaagttaaactggatggctttctcgccgccaag
 gatctgatggcgaggggatcaagctctgatcaagagacaggatgaggatcgctttcgcatgatt
 gaacaagatggattgacacgaggttctccggcgcttgggtggagaggctattcggtatgact
 gggcacaacagacaatcggtgctctgatgccgcggtgttcggctgtcagcgagggggcgccc
 ggttctttttgtcaagaccgacctgtccggtgccctgaatgaactgcaagacgaggcagcgcg
 ctatcggtggctggccacgacggcgcttcccttgccgagctgtgctcgacgttgtcactgaagcgg
 gaagggaactggctgctatttggcggaagtgcggggcaggatctcctgtcatctcacttgctcc
 tgccgagaaagtatccatcatggctgatgcaatgcggcggtgcatacgcttgatccggctacc
 tgcccatcgacacccaagcgaacatcgcatcgagcgagcagctactcggtggaagcgggtc
 ttgtcgatcaggatgatctggacgaagagcatcaggggctcgcgccagccgaactgttcgccag
 gctcaaggcgagcatgcccagcgcgaggatctcgtcgtgacccatggcgatgctgcttgcg
 aatcatggtggaaatggccgctttctggattcatcgactgtggcggctgggtgtggcg
 accgctatcaggacatagcgttggctacccgtgatattgctgaagagcttggcgcggaatgggc
 tgaccgcttctcgtgctttacggtatcgccgctcccgattcgacgcatcgcttctatcg
 ctcttgaagagtcttctgacgcatgacaaaatcccttaacgtgagtttctgctccactgag
 cgctcagaccccgtagaaaaagatcaaaaggatcttcttgagatccttttttctgcgctaatctg
 ctgcttgcaaacaaaaaacaccgctaccagcggtgggttgggttgcggatcaagagctacca
 actcttttccgaaggttaactggctcagcagagcgagataccaaatactgtccttctagtgt
 agccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtagcaccgctacatacctcgctctgctaat
 cctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtctgtcttaccgggttggactcaagacga
 tagttaccggataaaggcgacggctcggtggaacgggggttcgtgcacacagccagcttgg
 agcgaaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttc
 cgaaggagaaaaggcgacaggtatccggtgaagcgcgagggtcggaacaggagagcgacgagg
 gagcttccagggggaacgcctgggtatctttatagtcctgtcggtttcgccacctgacttg
 agcgtcgatttttgtgatgctcgtcagggggcgagcctatgaaaaacgccagcaacgcggc
 ctttttacgggttctggccttttgcgtggccttttgcacatgttcttctcgcttatccct
 gattctgtggataaccgtattaccgctttgagtgagctgataccgctcgccgacgccaacga
 ccgagcgacgagtgagtgagcgagggaagcggaagagcgctgatgcggtattttctccttac
 gcatctgtgcggtattttcacaccgcatatggtgcaactctcagtaaatctgctctgatgccga
 tagttaagccagtatcacctccgctatcgctacgtgactgggtcatggctgcgccccgacacc
 gccaacaccgctgacgcgccctgacgggc
 (SEQ ID NO:51)

도면38



도면39a

5' -

ctggcgtaatagcgaagaggccgcaccgatcgcccttcccaacagttgcgagcctgaatggc
gaatggcgccctgalgcggtatlttctccttaacgcacatctgtgcggtatltcacaccgcataatgg
gcactctcagtagcaaatctgctctgatgccgcatagttaagccagcccgacaccgccaacacc
cgctgacgagcttagtaaagccctcgctagattttaatgcggatgttgcgattacttcgccaac
tattgcgataacaagaaaaagccagcctttcatgatataatctcccaatttgtgtagggttatt
atgcacgcttaaaaaataataaaagcagacttgacctgatagtttgctgtgagcaattatgtgc
ttagtgcatctaacgcttgagttaagccgcgcgcgaagcggcgtcggttgaaacgaattgtta
gacattatlttgcgactaccttggtgatctcgctttcacgtagtggacaaattcttccaactg
atctgcgcgcgaggccaagcgatcttcttctgtccaagataagcctgtctagcttcaagtatg
acgggctgatactggggcgcgagcgctccattgccagtcggcagcgacatccttcggcgca
ttttgcgggttactgcgctgtaccaaatgcgggacaacgtaagcactacatttcgctcatcgcc
agccagtcgggcgcgaggttccataagcgttaagggttcatlttagcgctcaaatagatcctgt
tcaggaaacgggatcaaaaggttctccgcgctggacctaccaaggcaacgctatgttctcttg
cttttgcagcaagatagccagatcaatgtcgatcgtggctggctcgaagatacctgcaagaat
gtcatgtcgctgccatttccaaattgcagttcgcgcttagctggataacgccacgggaatgatg
tcgctgtgcacaacaatggtgacttctacagcgcggagaatctcgctctctccagggggaagccg
aagtttccaaaaggtcggtgatcaagctcgccgctgttttcatcaagccttacggctcaccgt
aaccagcaaatcaatatacactgtgtggttcaggccgcgcacactcgcgagccgtacaaatgt
acggccagcaacgtcggttcgagatggcgctcgatgacgccaactacctctgatagttgagtcg
atacttcggcgatcacccgttccctcatgatgtttaactttgttttagggcgactgcccctgctg
cgtaacatcgttgctgctccataaacatcaaacatcgacccacggcgtaacgcgcttgctgctg
gatgcccaggcatagactgtaccccaaaaaacagtcataacaagccatgaaaaacggccactg
cgccgttaccacgcgctgcttccgtcaaggttctggaccagttgcgtgagcgcatagctactt
gcattacagcttacgaaccgaacaggttatgtccactgggttcgtgccttcacgcttccac
gggtgtcgctcacccggcaaccttgggcagcagcgaagtcgaggcatlttctgtcctggctggcga
acgagcgcgaaggtttcggtctccacgcacgtcaggcatgtggcgcccttgctgttcttctacgg
caaggtgctgtgcacggatctgcctggcttcaggagatcggaagacctcgccgctcgcgcgcc
ttgcgggtggtgctgaccccgatgaagtgggtcgcacctcggttttctggaaggcgagcatc
gtttgttcgcccagcttctgtatggaacgggcacgtcaggatcagtgagggtttgcaactgcgggt
caaggatctggatttcgatcacggcacgatcatcggtcgggagggcaagggtccaaggatcgg
gccttgatgttacccgagagcttggcaccacgcctgcgcgagcaggggaattaatcccacggg
ttttgctgcccgaacgggctgttctggtgtgctagtttgttatcagaatcgagatccggc
ttcagccggtttgcggctgaaagcgctatttctccagaattgccatgatttttcccaagg
gaggcgtcactggctcccggtgtgtcggcagctttgatcagataagcagcatcgccgtttcag
gctgtctatgtgtgactgttgagctgtaacaagttgtctcaggtgttcaatttcattgttctagt
tgctttgttttactgggttccacctgttctattaggtgttacatgctgttcatctgttacattgt
cgatctgttcatggtgaacagctttgaatgcacaaaaactcgtaaaagctctgatgtatctat
cttttttacaccggttttcatctgtgcataatggacagttttccctttgatatgtaacggtgaaca
gttgttctacttttgtttgttagtcttgatgcttactgatagatacaagagccataagaacct
cagatccttccgtatttagccagtatgttctctagtggttcgtttgttttgctgagccatg
agaacgaaccattgagatcatacttactttgcatgtcaactcaaaaattttgctcaaaactggt
gagctgaattttgcagttaaagcatcgtgtagtgttttcttagtccgttatgtaggtaggaa
tctgatgtaatggttgttggtattttgcaccattcattttatctggttgttctcaagttcgg

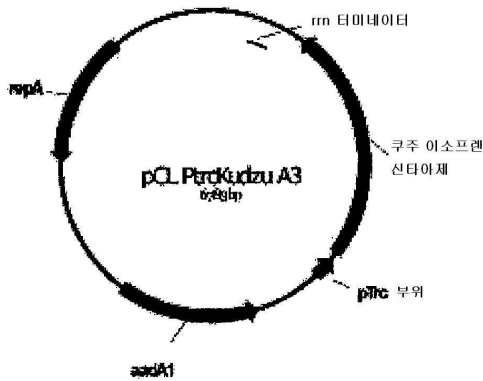
도면39b

ttacgagatccatttgtctatctagtccaacttggaatacaacgtatcagtcggcgccctcg
cttatcaaccaccaatttcatattgctgtaagtgtttaaatctttacttattgggttcaaaacc
cattgggttaagccttttaaacatcaggtagttattttcaagcattacatgaacttaaatcat
caaggctaattctctatatttgccttgtaggttttcttttgtgttagttcttttaataaccactc
ataaatcctcatagagtatttgttttcaaaagacttaacatgttccagattatattttatgaat
ttttttaactggaaagataaggcaatatcttctactaaaaactaattctaattttgcgttg
agaacttggcatagtttgtccactggaaaatctcaagcctttaaccaaggattcctgatttc
cacagttctcgtcatcagctctctggttgcttttagctaatacaccataagcattttccctactg
atgttcatcatctgagcgtattggttataagtgaacgataaccgtccgttcttctctgtagggt
tttcaatcgtgggttgtagtagtgccacacagcataaaaattagcttgggttcatgctccgttaa
gtcatagcgactaatcgtagttcatttgccttgaaaacaactaattcagacatacatctcaat
tggtctaggtgattttaactatataccaattgagatgggctagtcaatgataattactagtcc
tttctcttgagttgtgggtatctgtaaattctgctagaccttggctggaaaacttgtaaattc
tgctagacctctgtaaattccgctagaccttgggtgttttttgtttatattcaagtggtt
ataatttatagataaagaaagataaaaaagataaaaaagatagatccagccctgtgtata
actcactacttttagtcagttccgcagatttacaagaaggtgtgcgaacagcgttttgcctct
acaaaacagaccttaaaacccctaaaggcttaagtagacctcgaagctcgggcaaatcgctg
aatattctctttgtctccgacctcagggcagctgagtcgctgtcttttctgtgacattcagttc
gctgcgtcagcgtctggcagtgaaatgggggttaattggcactacagcgcccttttatggattc
atgaaggaaactaccataataacaagaaagccctcagcgggtctcagggcgttttatggc
gggtctgctatgtgtgctatctgacttttgcgttgcagcagttcctgccctctgattttcca
gtctgaccacttcggattatcccgtagcaggtcattcagactggctaatgcaccagtaaggca
cggttatcatcaacgggttaccgctcttactgtcgggaattcgcgttggcgtattcattaatg
cagattctgaaatgagctgttgacaattaatcatccggctcgtataatgtgtggaattgtgagc
ggataacaatttcacacaggaacagcgcctgtgagaaaaagcgaagcggcagctgtctttaac
aatttatcagacaattctgtgtgggactcagccgaattatcgattaaactttattattaaaaat
taagaggttatattaatgtatcgattaaataaggaggaataaacattgtgtgcgacctcttc
tcaatttactcagattaccgagcataattcccgtcgttccgcaaatatcagccaaacctgtgg
aatttcgaattcctgcaattccctgggaacgacgtgaaagtggaaaagctggaggagaaagcga
ccaaactggaggaagaagttcgcgtgatgatcaaccgtgtagacaccagccgctgtccctgct
ggagctgatcgagatgtgcagcgctgggtctgacctacaaatttgaaaaagacatcatataa
gccctggaaaacatcgtagctgtggacgaaaacaaaagaacaaatcgacctgcacgcaaccg
ctctgtctttccgtctgctgcgtcagcacgggttcgaggtttctcaggatgtttttgagcgttt
caaggataaagaaggtgggtttcagcgggtgaactgaaaggtgacgtccaaggcctgctgagcctg
tatgaagcgtcttaccgtgggtttcgaggggtgagaaactgctggaggaggcgctaccttttcca
tcacccacctgaagaacaacctgaaagaaggcatataaccaagggtgcagaacaagtgcagca
cgccctggaaactgccatataccagcgtctgcacccgtctggaggcagcttggttccctggataaa
tacgaaccgaaagaaccgcatcaccagctgctgctggagctggcgaagctggattttaacatgg
tacagacctgcaccagaaagagctgcaagatctgtcccgtgggtggacccgagatgggctggc
tagcaaaactggattttgtacgcgacctgctggaagtttatttctgggcaactgggtatggcg
ccagaccgcagtttgggtgaatgtcgcaagctgttactaaaaatgttgggtctggtagcagatca
tcgatgacgtgtatgacgtttatggcactctggacgaactgcaactgttaccgagctgctgtaga
gcgctgggacgttaacgctattaacacctgcgggactatataaactgtgtttcctggcactg
tacaacaccttaacgacagctcctatttctattctgaaagagaaggtcataaacacctgtcct

도면39c

atctgacgaaaagctggcgtgaactgtgcaagcctttctgcaagaggcgaatgggtccaacaa
caaaattatccggctttctccaagtacctggaaaacgccagcgtttcctcctcgggtgtagcg
ctgctggcccgctcttacttttccgtatgccagcagcaggaagacatctccgaccacgcgctgc
gttccctgaccgacttccatggtctggtgcgttctagctgcgttatcttccgctgtgcaacga
tctggccacctctgcggcgagctggaacgtggcgagactaccaattctatcattagctacatg
cacgaaaacgagtggtaccagcgaggaacaggcccgcaagaactgctlaaactgatcgacgcgg
aatggaaaaagatgaatcgtgaacgcgttagcgactccacctgctgcctaaagcgttcatgga
aatcgagtttaacatggcagctgtttccactgcacctaccagtatggcgatggtctgggtcgc
ccagactacgcgactgaaaaccgcatcaactgctgctgattgacctttcccgattaacagc
tgatgtatgtctaactgcagctggtaccatattgggaattcgaagctttctagaacaaaaactca
tctcagaagaggatctgaatagcgcgctcgacctcatcatcatcattgattttaacggt
ctccagcttggctgttttggcggtgagagaagattttcagcctgatacagattaaatcagaac
gcagaagcggctctgataaaacagaatttgcctggcggttagcgcgggtggtccacctgaccc
catgccgaactcagaagtgaacgcgctagcgcggtggttagtggtgggtctccccatgcgaga
gtagggaactgccaggcatcaataaaaacgaaaggctcagtcgaaagactgggcctttcgtttt
atctgttgtttgtcggtgaacgctctcctgagtaggacaaatccgcgggagcggatttgaacg
ttgcgaagcaacggccggaggtggcgggcagcgcggccataaactgccaggcatcaaat
taagcagaagccatcctgacggatggccttttgcgtttctacaaactcttttgtttatttt
tctaataacattcaaatatgtatccgctcatgagacaataacctgataaattgcttcaataat
(SEQ ID NO:52)

도면40



도면41a

5' -
 cccgtcttactgtcgggaattcgcgttggccgattcattaatgcagattattgaagca-
 aggggtattgtctcatgagcggalacatatattgaatgtatttagaaaaataacaaaaagagtt
 tgtagaacgcacaaaaggccatccgtcaggatggccttctgcttaatttgatgcctggcagttt
 atggcgggcgtcctgccgccacccctccgggcggttgccttcgcaacggttcaaatccgctcccg
 cggatttgcctactcaggagagcggttcaccgacaaaacacagataaaacgaaaggccagctct
 ttcgaactgagccttctgttttatttgatgcctggcagttccctactctcgcatggggagacccc
 acactaccatcgggcgtacggcggtttcacttctgagttcgcatggggcaggtgggaccaccg
 cgctactgcgcggcaggcaaatctgttttatcagaccgcttctgcgttctgatttaactctgat
 caggctgaaaatcttctctcatccgccaacacagccaagctggagaccggttaaactcaatgat
 gatgatgatggtgcagcggcgtattcagatcctctctgagatgagttttgttctagaaa
 gcttcgaattcccatatgggtaccagctgcagtttagacatacatcagctgggttaatcgggaaagg
 gtcaatcagcagcagtttgatgcggttttcagtcgcgtagctcgggcgaccagaccatcgcca
 tactggtaggtgcagtgggaaacacgctgccatgttaactgcgatttccatgaacgctttaggca
 gcagggtggagtcgctaaagcggttcacgatttcatttttccattcggcgctcgatcagtttaacg
 cagttcttcgcgggcgtgttctcgtggtaccatcgttttctgcatgtagctaatgatagaa
 ttggtagtcctgccacggttcagctccgcgcgagaggtggccagatcgttgcacaggcggaaga
 taacgcagctagaacgcacacagaccatggaagtgcgtcagggaacgcagcgcgtggtcggagat
 gtcttctcgtcgtggcatacggaaaagtaagacggcgccagcagcgtacacgggaggaggaa
 acgctggcggttttcaggtaacttggagaaagccgggataattttgtgttggaaccatttcgcct
 cttgcgaaaaggctttgcacagtttcacgcagcttttctcgtcagataggacaggttgttatgacc
 tttctcttccagaatagaataggacgtgtcgttaacgggtgttgtagctgacaggaacacagtt
 tcatatagtcggcagggtgttaatagcgttaacgtccagcgtctacagcatcgttgaaaca
 gttgcagttcglccagagtgccataaacgtcatacacgtcatcgatgatcgtcaccagaccaa
 catttttagtaacagcttttcgcacattcaccaaacgtcgggtctggcgccataccagtgccag
 aaataaacttccatcaggcggtcgcgtacaaaatccagtttgcagccaggcccatctcggctcc
 accagcgggacagatcttgcagctcttctcgtgaggggtctgtaccatgttaaatccagctt
 cggcagctccagcagcagctggtgatgcggttcttccggttcgtatttatccaggaaccaacgt
 gcctccagacggtgcagacgctggtgatatggcagttccagggcggtgctcacttgttctgcaa
 ccttgggtattaatgccttcttccaggttgttcttcaggtgggtgatggaaaaggtaacgcgcctc
 ctccagcaggttctcaccctcgaaacccaggttaagacgcttctacaggtcagcagcgttgg
 acgtcaccttccagttcacgcgtgaaacaccttcttctccttgaacgcgtcaaaaacatcct
 gagaaaacctcgaaacgcgtgctgacgcagcagacggaagacagagcggttcggtgcaggtcaga
 ttgtgtcttttgttttgcgtccagcagtagatgtttccagggtttaaagtgatgtcttttca
 aattttaggtcagacccaggcgctgcacatcgtgatcagctccagcagggaacagcggtggg
 tgtctacagcgttgatcatgcagcgaacttcttccctcagtttgggtcgttttctcctccagctt
 ttccactttcaggtcgttctccagggttgcaggaattcgaaattccacaggtttggtgatag
 tttgcggaacgacgggaattatgctcggtaatctgagtaaatgagaagaggtcgcacacatgg
 tttattctccttattttaaatacgatacattaatatatacctcttatttttaataataaagtta
 atcgataaattccggtcaggtgccacacagattgtctgataaattgttaagagcagtgccgct
 tcgctttttctcagcggcgctgttctcgtgtgaaattgttatccgctcacaattccacacatt
 atacgagccggatgatttaattgtcaacagctcatttcagaatctggcgtaatagcgaagaggcc
 cgcacccgatcgccttcccaacagttgcgcagcctgaatggcgaatggcgctgatgcggtatt
 ttctccttacgcatcgtgcggtatttcacaccgcataatggtgcactctcagtaaatctgctc

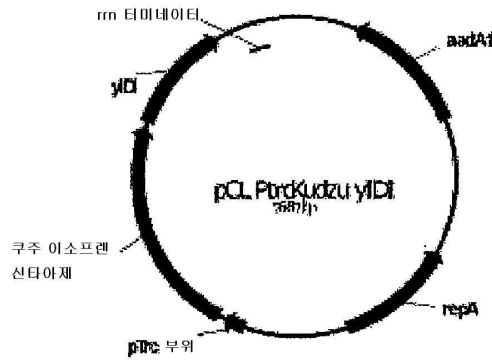
도면41b

tgatgccgcatagtttaagccagcccgacacccgccacacccgctgacgagcttagtaaaagcc
ctcgctagatttttaagcggatgttgccgattacttcgccaaactattcgcataacaagaaaaagc
cagcctttcatgatataatctccaatttgtgtagggtttattatgcacgcttaaaaaataataaa
agcagacttgacctgatagtttggtgtgagcaattatgtgcttagtgcatctaacgcttgagt
taagccgcgcgcgaagcggtcggtcggtgaacgaattgttagacattatttgccgactacctt
ggtgatctcgctttcaagtagtggaacaaattctccaactgatctgcgcgcgagggccaagcga
tcttcttcttgcagataaagcctgtctagcttcaagtagacgggctgatactgggcccga
ggcgtccattgcccagtcggcagcagacatcttcggcgcgattttgcgggttactgcgctgta
ccaaatgcgggacaacgtaagcactacatttcgctcatcgccagccagtcgggcccaggttc
catagcgttaaggtttcatttagcgctcaaatagatcctgttcaggaaaccggatcaaaaggtt
cctccgcgcgtggacctaacaaggcaacgctatgttctcttgcgttttgcagcaagatagccag
atcaatgtcgatcgtggctggtcgaagatacctgcaagaatgtcattgcgctgccattctcca
aattgcagtttcgcgcttagctggataacgccacggaaatgatgtcgctgcgcacaacaatggtga
ctttacagcgcggagaatctcgctctctccagggaagccgaagtttccaaaaggctcggtgat
caaagctcgccgctgtgttcatcaagccttacgggtcacgtaaccagcaaatcaatatcactg
tgtggcttcaggcccgccatccactgcggagccgtacaaatgtacggccagcaacgtcggttga
gatggcgtcgatgacgccaactacctctgatagttgagtcgatacttcggcgatcacccgttc
cctcatgatgtttaactttgttttagggcgactgccctgtcggttaacatcgttgcgtgccat
aacatcaaacatcgaccccgccggttaacgcgcttgcgttggatgcccgagggcatagactga
ccccaaaaaacagtcataacaagccatgaaaaccgccaactgcgcgcttaccacgcgtgcgttc
ggtcaaggttctggaccagttgcgtgagcgcatagctacttgcatcacagcttacgaaccgaa
caggcttatgtccactgggttcgtgccttcactcgtttccacgggtgcgtcacccggcaacot
tgggcagcagcgaagtgcaggcatttctgctcgtggcgaacgagcgcaaggttccggtctc
cacgcatcgccagcattggcgcccttgcgttctctacggcaaggtgcgtgcacggatctg
cctggcttcaggagatcggaagaccccgccgctcgccgcttcggcggtggtgctgacccgg
algaagtgttcgcatcctcggttttctggaaggcgagcatcgtttgttcgcccagcttctgta
tggaacgggcatgcggatcagtgagggtttgcaactgcgggtcaaggatctggatttcgatcac
ggcagcatcactgctgcggaggggcaagggtccaaggatcgggccttgatgttaccgagagct
tgccaccagcctgcgcgagcaggggaattattccacgggtttgtgcgcgcgaacgggct
gtctgtgtgttcgtatgtttatcagaatcgagatccggttcagccggtttgcggctgaa
agcgtatcttcttcagaattgcctgatttttcccaaggcggtcactggtcctcggtgt
tgtcgccagctttgatcgataagcagcatcgctgtttcaggctgtctatgtgtgactgttga
gctgtaacaagttgtctcagggtttcaatttcattgttctagttgcttgtttactggtttcac
ctgttctatagggtgttcactgctgttcattgttactgtcgatctgttcatggtgaacagc
tttgaatgcacccaaaactcgtaaaagctcgtgatctatctttttacacggttttcatct
gtgcataatggacagttttccctttgatatgtaacggtgaacagttgttctactttgtttgtta
gtcttgatgcttactgatagatacaagagccataagaacctcagatccttcggtatttagcca
gtatgttctctagtggtgttcgtgttttgcgtgagccatgagaacgaacatttgagatcata
cttactttgcagtgctactcaaaaatttgcctcaaaaactggtgagctgaattttgcagttaaa
gcatcgtgtagtggttttcttagtccgttatgtaggtaggaaatctgatgtaatggtgttggt
tttgcacacattcatttttctgtgttctcaagtcgggttacgagatccatttgcctatc
tagttcaacttggaataacacgtatcagtcggcgccctcgcttatcaaccaccaatttcata
ttgctgtaagtgtttaaatcttacttattggtttcaaaaccatgggttaagccttttaaat
catggtagttattttcaagcattaacatgaactaaattcatcaaggctaactctctattttgc

도면41c

cttgtgagttttctttgtgttagttcttttaataaccactcataaatcctcatagagtattg
ttttcaaaagacttaacatgttccagattatattttatgaatttttttaactggaaaagataag
gcaatatctcttcaataaaactaattctaatttttcgcttgagaacttgccatagtttgccta
ctggaaaatctcaaaagcctttaacaaaaggatttccacagttctcgtcatcagctct
ctgggttgccttagtctaataacaccataagcattttccctactgatgttcatcatctgagcgtatt
ggttataagtgaacgataccgtccgttcttctctgtagggttttcaatcgtgggttgagtag
tgccacacagcataaaaattagcttggtttcatgctccgttaagtcatacgactaatcgctagt
tcatttgcctttgaaaacaactaattcagacatacatctcaattgggtcaggtgatttttaacac
tataccaattgagatgggctagtcaatgataattactagtccttttctcttgagttgtgggtat
ctgtaaatctcgtcagacctttgctggaaaacttgtaaatctcgtcagacccctcgtgaattcc
gctagacctttgtgtgttttttttttatattcaagtggttataatttatagaataaagaaag
aataaaaaaagataaaaagaatagatcccgccctgtgtataactcactactttagtcagttcc
gcagttattacaaaaggatgtcgcaaacgctgttgcctcctacaaaacagaccttaaacct
aaaggcttaagtagcacctcgcaagctcgggcaaatcgctgaatattccttttgcctccgacc
atcaggcacctgagtcgctgtcttttgcgtgacattcagttcgctgcgctcacggctctggcag
tgaatgggggttaaatggcactacagcgccctttatggattcatgcaaggaaactaccataat
acaagaaaagcccgctcacgggcttctcagggcggttttatggcggtctgctatgtggtgctatc
tgacttttgcgtgttcagcagttcctgcctctgattttccagctcagaccacttcggattatcc
cgtgacaggtcattcagactggctaattgcaccagtaaggcagcggtatcatcaacaggtta
(SEQ ID NO:53)

도면42



도면43a

5'-
ctggcgtaatagcgaagaggccgcacccgatcgcccttcccaacagttgcccagcctgaatggc
gaatggcgccctgagtcgggtattttctccttacgcacatctgtgcccgtatttcacaccgcacatggt
gcactctcagtaacaatctgctctgatgccgcacatagtttaagccagcccccacaccgcgaacacc
cgctgacgagcttagtaaaagccctcgctagatttttaagcggatgttgcgattacttcgccaaac
tattgcgataaacaagaaaaagccagcctttcatgatatactcccaatttgtgtaggccttatt
atgcacgcttaaaaaataaaaaagcagacttgacctgatagtttggctgtgagcaattatgtgc
ttagtgcatctaacgcttgagtttaagccgcgcgcgaagcggcgtcggttgaaacgaattgtta
gacattatttgcgcactacottgggtgatctcgcccttcacgtagtggacaaattcttccaactg
atctgcgcgcgagggccaagcgatcttcttcttccaagataagcctgtctagcttcaagtatg
acgggctgatactggcgccgcgagcgctccattgccagtcggcagcgacatccttcggcgcgga
ttttgcccgttactgcgctgtaccaaagtcgggacaacgtaagcactacatttcgctcatcgcc
agccagtcgggcgcgagttccatagcgttaagggttccatttagcgccctcaaatagatcctgt
tcaggaaacggatcaaagagttcctccgcgcgtggacctaccaaggcaacgctatgttctcttg
cttttgcagcaagatagccagatcaatgtcgatcgtggctggctcgaagatacctgcaagaat
gtcattgcgctgccattctccaaattgcagttcgcgcttagctggataacgccacggaatgatg
tcgctcgtgcacaaatggtgacttctacagcgcggagaatctcgctctctccagggggaagccg
aagtttccaaaaggctcgttgatcaaaagctcgccgcgttgtttcatcaagccttacgggtcacggt
aaccagcaaatcaatatcactgtgtggcttcaggccgcacccactgcggagccgtacaaatgt
acggccagcaacgctcgggttcagatggcgctcgatgacgcaactacctctgatagttgagtcg
atacttcggcgatcacccgcttccctcatgatgtttaacttggtttagggcgactgcctgctg
cgtaacatcgttgctgctccataacatcaaacatcgacccacggcgtaacgcgcttgctgcttg
gatgcccaggcatagactgtaccccaaaaaacagtcataacaagccatgaaaaccgccactg
cgccgttaccacccgctgcgttcgggtcaaggttctggaccagttgcgtgagcgcatacgcctactt
gcattacagcttacgaaccgaacaggttatgtccactgggttcgtgccttcatccgtttccac
ggtgtgcgtcacccggcaaccttgggcagcagcgaagtcgaggtattctgctcctggctggcga
acgagcgcgaaggttccggttccacgcacatcgtcaggcatggcgcccttgcgttcttctacgg
caaggtgctgtgcacggatctgccctggcttcaggagatcggaagacctcgccgctcgccgcgc
ttgcccgttggctgaccccgatgaagtgggttcgcatcctcggttttctggaaggcgagcatc
gtttgttcgcccagcttctgtatggaacgggcacgagatcagtgagggtttgcaactgcgggt
caaggatctggatttcgatccacggcacgatcatcgtgcgggagggcaagggtccaaggatcgg
gccttgatgttaccggagagcttggcaccagcctgcgcgagcaggggaatttaattcccacggg
ttttgctgcccgcaaacgggctgttctggtgttgcagtttgttatcagaatcgagatccggc
ttcagccgggttgccgggtgaaagcgctatttctccagaattgcoatgatttttcccaagg
gagcgctcactggctcccggtgttgcggcagcttgcattcgataagcagcatcgctgtttcag
gctgtctatgtgactgttgagctgtaacaagttgtctcaggtgttcaatttcatgttctagt
tgctttgttttactgggttccactgttctatttaggtgttacatgctgttcatctgttacattgt
cgatctgttcatggtgaacagcttgaatgcacaaaaactcgtaaaagctctgatgtatctat
ctttttacaccggttttcatctgtgcataatggacagtttccctttgatatgtaacggtgaaca
gttgttctacttttgggttttagtcttgatgcttcaactgatagatacaagagccataagaacct
cagatccttccgtatttagccagtatgttctctagtgtggttcgttgttttgcgtgagccatg
agaacgaaccattgagatcatacttactttgcatgtaactcaaaaatttgcctcaaaaactggt
gagctgaatttttgcagttaaagcatcgtgtagtgttttcttagtcggttatgttaggtaggaa
tctgatgtaatggttgttgggtatttgcaccattcatttttactcgtgtgttctcaggttcgg

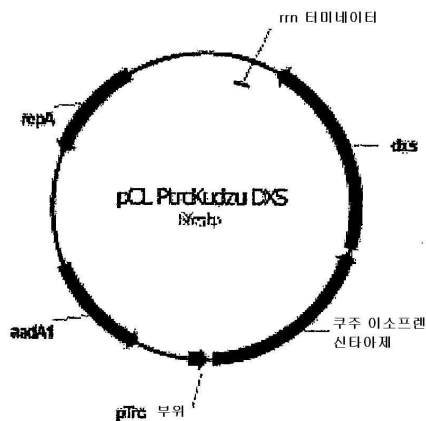
도면43b

ttacgagatccatttgtctatctagttcaacttggaaaatcaacgtatcagtcggggcgccctcg
 ctatcaaccaccaatttcatattgctgtaagtgtttaaactcttactatttggtttcaaaacc
 cattgggttaagccttttaaaactcatggtagttattttcaagcatttaacatgaacttaaatcat
 caaggctaattctctatatttgcttgtagtatttcttttggtagttcttttaataaccactc
 ataaatcctcatagagtatttgttttcaaaagacttaacatgttcagattatattttatgaat
 ttttttaactggaaaagataaggcaatatctcttcaactaaaaactaattctaattttctgcttg
 agaacttggcatagtttgtccactggaaaatctcaaacgcttttaaccaaggattctcgatttc
 cacagttctcgtcatcagctctctggttgccttttagctaatacaccataagcattttccctactg
 atgttcatcatctgagcgtattggttataagtgaacgataccgctcgttcttctctgtagggg
 tttcaatcgtggggttgagtagtgccacacagcataaaaattagcttggtttcatgctcgttaa
 gtcatagcgactaatcgctagttcatttgcctttgaaaacaactaattcagacatacatctcaat
 tgggtcagggtgattttaatcactataccaattgagatgggctagtcattgataatttaactagtc
 ttttctcttgagttgtgggtatctgtaaattctgctagacctttgctggaaaacttgtaaattc
 tgctagacctctgtaaattccgctagacctttgtgtgtttttttgtttatattcaagtggtt
 ataatttatagaaataagaaagataaaaaagataaaaaagataagatccagccctgtgtata
 actcactacttttagtcagttccgagctattacaaaaggatgtcgcaaacgctgtttgctcctct
 acaaaacagaccttaaaacctaaaggcttaagtagcaccctcgcaagctcgggcaaatcgctg
 aatattctctttgtctccgacctcagggcactgagtcgctgtcttttctgtgacattcagttc
 gctgcgctcacggctctggcagtgaaatgggggttaaaggcactacagggccttttatggattc
 atgcaaggaaaactaccataatacaagaaaagccgctcaggggtctctcagggcggttttatggc
 gggctctgctatgtgtgtctatctgactttttgtctgttcagcagttctctgocctctgattttcca
 gtctgaccacttcggattatccgctgacaggtcattcagactggcctaatgcaccagtaaggca
 gcggtatcatcaacaggcttaccgctcttactgtcggaattcgcttgcccgattcattaatg
 cagattctgaaatgagctgttgacaattaatcatccggctcgtataatgtgtggaattgtgagc
 ggataacaatttcacacaggaaacagcgccgctgagaaaaagcgaagcggaactgctctttaac
 aatttatcagacaattctgtgtgggactcgaccggaattatcgatlaactttattattaaaaat
 taaaggagtataattatgtatcgattaaataaggaggaataaaccatgtgtgcgacctcttc
 tcaatttactcagattaccgagcataattcccgctcgttccgcaaacatcagccaaacctgtgg
 aatttcgaattcctgcaatccctggagaacgacctgaaagtggaaaagctggaggagaagcga
 ccaactggaggagaagttcgctgcatgatcaacgctgtagacaccagccgctgtccctgct
 ggagctgatcgacgatgtgcagcgctgggtctgacctacaaatttgaaaagacatcattaaa
 gccctggaaaacatcgctactgctggacgaaaacaaaagaacaaatctgacctgcacgcaaccg
 ctctgtctttccgctctgctgcgtcagcacggtttcgaggtttctcaggatgttttgagcggtt
 caaggataaagaaggtggtttcagcggtgaaactgaaaggtgacgtccaaggcctgctgagcctg
 tatgaagcgtcttacctgggtttcgaggggtgagaacctgctggaggaggcgctgaacctttcca
 tcaaccacctgaagaacaacctgaaagaaggcatataaccaaggttgagacaagtgagcca
 cgccctggaactgccatataccagcgctgcaccgctctggaggcagctgggttctctggataaa
 tacgaaccgaaagaaccgcatcaccagctgctgctggagctggcgaagctggattttaacatgg
 tacagacctgacccagaaagagctgcaagatctgtcccgctggtggaccgagatgggctggc
 tagcaaaactggattttgtacgcgaccgctgtggaagttttttctgggcaactgggtatggcg
 ccagaccgaggtttgggtgaatgtcgcaagctgttactaaaaatgtttggtctggtgacgatca
 tcgatgacgtgtatgacgtttatggcactctggacgaactgcaactgttcaccgatgctgtaga
 gcgctgggacgttaacgctatttaacacctgccggactatatgaaactgtgtttcctggcactg
 tacaacaccttaacgacacgtcctattctattctgaaagagaaggctataacaacctgtcct

도면43c

atctgacgaaaagctggcgtgaactgtgcaaagcctttctgcaagaggcgaaatggtccaacaa
 caaaattatcccggtttctccaagtacctggaaaacgccagcgtttcctcctccggtgtagcg
 ctgctggcgccgtcttacttttccgtatgccagcagcaggaagacatclccgaccacgcgctgc
 gttccctgaccgacttccatggtctggtgctgttagctgctgttatcttccgctgtgcaacga
 tctggccacctctcgccgagctggaacgtggcgagactaccaattctatcattagctacatg
 cagcaaacgagtggtaccagcgaggaacaggcccgcaagaactgcgtaaactgatcgacgccg
 aatggaaaaagatgaatcgtgaacgcgttagcgactccaccctgctgcctaaagcgttcatgga
 aatcgaggttaacatggcacgtgtttccactgcacctaccagtatggcgatggtctgggtcgc
 ccagactacgcgactgaaaaccgcatcaaacgtgctgctgattgacctttcccgattaccagc
 tgatgtatgtctaactgcatcgcccttaggaggtaaaaaaaatgactgcccgaacaacaatagta
 tgcccccaggtgcagtatctagttacgccaaattagtgcaaaaccaaaccctgaagacatttt
 ggaagagtttccctgaaattattccattacaacaaagacctaatacccgatctagtgaagcgtca
 aatgacgaaaagcggagaaacatgtttttctggtcatgatgaggagcaaatgaagttaatgaatg
 aaaattgtattgttttggattgggacgataatgctattggtgcccgtaccaagaaagtgtgtca
 tttaatggaaaaatttgaaaagggtttactacatcgtgcatctccgctctttatttcaatgaa
 caaggtgaattacttttacaacaaagagccactgaaaaataactttccctgatctttggacta
 acacatgctgctctcatccactatgtattgatgacgaattaggtttgaagggtgaagctagacga
 taagattaaggcgctattactgcggcggtgagaaaaactagatcatgaattaggtattccagaa
 gatgaaactaagacaagggtgaagtttcaacttttaaacagaatccattacatggcaccgaagca
 atgaaccatgggtgaacatgaaattgattacatcctattttataagatcaacgctaagaaaa
 cttgactgtcaacccaacgtcaatgaagttagagacttcaaatgggtttcaccaaatgatttg
 aaaactatgtttgctgacccaagttacaagtttacgccttgggttaagattatttgcgagaatt
 acttattcaactgggtgggagcaattagatgacctttctgaagtggaaaatgacaggcaaatca
 tagaatgtatataacgacgcgtcctgcagctggtaccatagggaaattcgaaagctttctagaacg
 aaaactcatctcagaagaggatctgaatagcgccgtcgaccatcatcatcatcatcttgattt
 taacgggtctccagcttggctgttttggcggatgagagaagattttcagcctgatacagattaa
 atcagaacgcgagaagcgtctgataaaacagaatttgcctggcggcagtagcgcggtggtccca
 cctgaccccatgccgaactcagaagtgaacgcgttagcgcgatggtagtgtgggtctcccc
 atcgagagtaggggaactgccagggcatcaataaaacgaaaggctcagtcgaaagactgggcct
 ttcgttttatctgtgttttgcgggtgaacgctctcctgagtaggacaaatccgcccggagcgga
 tttgaacgttgcgaagcaacggcccgagggtggcgggcaggacgccgcataaaactgccagg
 catcaaatgaagcagaaggccatcctgacggatggccttttgcgtttctacaaactcttttg
 tttattttctaatacatctcaaatatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgctt
 caataat
 (SEQ ID NO:54)

도면44



도면45a

5'-
ccccctcttactgtcgggaattcgcgttggccgattcattaatgcagattattgaagcatttattc
agggcttattgtctcatgagcgggatacatatttgaatgtatttagaaaaataacaaaaagagtt
tgtagaaaacgcaaaaaggccatccgtcaggatggccttctgcttaatttgatgcctggcagttt
atggcggggtcctcctccgccaccctccgggcccgttgccttcgcaacggttcaaatccgctcccg
cggatttgtcctaactcaggagagcgttcaccgacaaacaacagataaaaacgaaaggccagttct
ttcgactgagcctttcgttttatttgatgcctggcagttccctactctcgcatggggagacccc
acactaccatcggcgctacggcgtttcacttctgagttcggcatggggtcaggtgggaccaccg
cgctaactgccgccaggcaaatctctgttttatcagaccgcttctgcgttctgatttaattctgtat
caggctgaaaaatcttctctcatccgcaaaacagccaagctggagaccgtttaaactcaatgat
gatgatgatgatggtcgacggcgctattcagatcctctctgagatgagtttttgttctagaaa
gcttcgaattcccatatggtaccagctgcagttatgccagccaggccttgattttggcttccat
accagcgcatcgagggcaggttcggcgcgcatttcttctgagttccttgcggaataaagaag
tccggcaggccaattgttcagcaggggtactggtttacgatgggcatcagcaacttcttcacgc
cgtgcttgcgcggcccaataatggcggtttcttctacgggtgaccagcgcttcatggctggcggc
catttccagaattaaacgcttcatcaagcgggttcacaaaacgcataatcgaccagcgtggcggtc
agcgattcggcgacttccgcgcttctggcatcagcgtaccaaagttaaggatcgccagtttct
cgccacgacgcttcaaatgcctttgccaatggtagttttccagcggcgctcagttccacgcc
gacggcggttgcacgcgggttagcgacccgctgacgggcatcggttatagtgatagccggtatag
agcatctggcgacattcgttttcatcgctcggggtcataatgacatttccggtatgcagcgca
ggtaaagagagatcaaaagcaccctgatgggtttgaccgtcagcaccaacaatgcccgcgcggtc
gatggcggaacaggacgggaagcttttgaatcgccacgtcatgcagcacctgatcataggcggt
tgcaggaaagtggagtaaatcgcgacaatgggtttgtaccaccaatcgccagacccgcagcaa
aggtcaccgctgttgcctcggaattgccacgtcgaagttagcgatccgggaatttactgaaaa
ctcgaccatgcgggaaccttcacgcatcgccggagtaatcgccatcagcttgttgtcttctgct
gccgtttcgcaaccagtcgccaagatttttgaatagctcggcaaacggccgctaactttcg
gcaaaacacgcgtggagggtcaaattaggcacggcggtggaagtgtcgggtcttttctgc
cggttcataaccacgaccttttttggtcatgatatgcaggaaactgcgggcttccaggtcgcgc
atgttctttagcgtggtgataagccccagcacatcgtgacggtccacgggcccagtgtagttaa
agccagctcttcaaacacgtgccaggcactaccatgcctttaatattgttcttgcgtgcttt
gagcagctctttaaattggcgccacgcagagaaaaactttttccgccttcgcgcagtgaaagag
taaaagcttaccggaagcagctgtgcccagatggttgttgagcgccgcgacatttccggaatcg
acatttcatgtcgttgagaatcaccagcatatcaggacggatcgcggcggtgatcctcgc
ttcaaacgccatgcctgcggtaatcgcgccatcgccaatgacacagacggtgcggcgattttg
ccttcttttccgagcaaacgcaataaccaattccggcactgatggaggttgatgaatgccga
cgcttaataacgtcatattcgtttccgcgcgcacgggaacgggtgcagaccgcttcttgacg
gatggtgccgattttgtcggcggtcgggtcaaaattttatgaggataagcctgatgccccaca
tccccaaatcaattggtcaaacggggtgtgtagacatagtgacggccacgggtcagttcgaccg
tgcccagccggaggcggaagtgcggcgtggaacgggtcaccgctgcagtaaatagcggcgag
ttcgtcgcagagtttcggtaaactctcttccggcaacagtcgtaactcctgggtggagtcgacc
agtgcagggtcgggtatttgcaatatcaaaactcatgttttttacctcctaaggcgcaatg
cagtttagacatacatcagctggttaatcgggaaagggtcaatcagcagcagtttgatgcgggtt
tcagtcgcgtagtctggcgacccagaccatcgccatactggtaggtgcagtgggaaacacgtg
ccatgttaactcgcgatttccatgaacgcttttaggcagcagggtggagtcgctaaccgcttcacg

도면45b

attcatctttttccattcggcgctcgatcagtttacgcagttcttcgcgggcctgttccctcgctg
gtaccatcgttttcgtgcatgtagctaataatgtagtaattggtagtctcgccacgttccagctccg
ccgcagaggtggccagatcgttgccacaggcggaagataaacgcagctagaacgcaccagaccatg
gaagtcggtcagggaacgcagcgctggcgagatgtcttccctgctgctggcatacggaaaag
taagacggcgccagcagcgctacacggaggaggaacgcctggcggtttccaggtacttgaga
aagccgggataattttgtgttggaaccttcgcctcttcgcagaaaggctttgcacagttcacg
ccagcttttcgtcagataggacaggttggtatgacctttctcttcagaatagaataggacgtg
tcgttaacgggtgtgtacagtgccaggaacacagtttcatatagtcggcgagggtgttaatag
cggttaacgtcccagcgctctacagcatcggtgaacagttgcagttcgtccagagtgccataaac
gtcatcacgctcatcgatgatcgtcaccagaccaaacttttagtaacagctttgcgacattca
ccaaactcggggtctggcgccataccagtgccagaaaataaaacttccatcaggcggtcgcgta
caaaatccagtttgcgtagccaggcccatctcggtccaccagcgggacagatcttcgacgtcttt
ctgggtcagggtctgtaccatgtttaaataccagcttcgcagctccagcagcagctggtgatgc
ggttctttcgggtctgtattttatccaggaaccaactgctccagacgggtgcagacgctggtgat
atggcagttccaggcgctggtcactgtttctgcaaccttggtattaatgccttcttcaggtt
gttcttcagggtgggtgatggaaaaggtagcgctctccagcaggttctcaccctcgaaaacc
aggtaagacgcttcatacaggctcagcaggccttgagcgtcaccttccagttcacgcgtgaaac
caccttcttctatccttgaacgctcaaaaacatcctgagaaacctcgaaacctgctgacgcag
cagacggaaagacagagcggttgctgacgggtcagatttggcttttcttcgttccagcagct
acgatgttttccagggtttaaagtgcttttcaaatgttaggtcagaccaggcgctgca
catcgctgatcagctccagcagggaacagcggtgggtgtctacacggttgatcatgcagcgaa
ttcttctccagtttggtcgctttctcctccagcttttccacttccaggtcggttctccaggat
tgcagggaattcgaaattccacaggtttggctgatagtttgcggaacgacgggaattatgctcgg
taatctgagtaaatgagaagaggtcgacacatggtttatcctccttatttaatcgatacat
taatatatacctctttaaattttaataataaagttaatcgataattccggctcgagtgccacac
agattgtctgataaatgtttaagagcagtgccgcttgccttttctcagcggcgctgttctc
gtgtgaaattgttatccgctcacaattccacacattatacagagccggatgattaattgtcaaca
gctcatttcagaatctggcgtaatagcgaagaggccgcaccgatcgcccttcccaacagttgc
gcagcctgaatggcgaaatggcgctgatgcggtattttctccttacgcactctgtgcggtattc
acaccgcatatggtgcactctcagtaacaatctgctctgatgccgcatagtttaagccagcccg
caccgcgaacacccgctgacgagcttagtaaaagcctcgctagattttaatgcggtgttgcg
attacttcgccaactattgcgataacaagaaaaagccagccttccatgatatactcccaattt
gtgtagggttattatgcacgcttaaaaataataaagcagacttgacctgatagtttggtgtg
gagcaattatgtgcttagtgcatctaacgcttgagttaaagccgcgcgcgaagcggtcggt
tgaacgaattgttagacattatttgccgactaccttggtgatctcgcttccacgtagtggaca
aattcttccaactgatctgcgcgcgagggccaagcgatcttcttctgtccaagataagcctgtc
tagcttcaagtatgacgggctgatactgggcccggcaggcgctccattgccagtcggcagcgac
atccttcggcgcgattttgcgggttactgcgctgtaccaaatacggggacaacgtaagcactaca
tttcgctcatcgccagccagtcgggcccgcgagttccatagcgttaagggtttcatttagcgct
caaatagatcctgttcaggaaacggatcaaagagttcctccgcccgtggacctaccaaggcaac
gctatgttctcttctgtttgtcagcaagatagccagatcaatgtcgatcgtggctggctcgaag
atacctgcaagaatgtcattgcgctgccattctccaaattgcagttcgcgcttagctggataac
gccacggaatgatgtcgtcgtcacaacaatggtgacttctacagcgcggaatctcgctctc
tccaggggaagccgaagtttccaaaaggtcggtgatcaaagctcgccgctgtttcatcaagc

도면45c

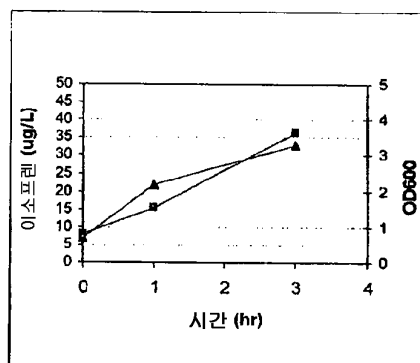
cttacgggtacccgtaaccagcaaatcaatatcactgtgtggcttcaggccgcatccactgcgg
agccgtacaaaatgtacggccagcaacgctcggttcgagatggcgctcgatgacgccaaactacctc
tgatagttgagtcgatacttcggcgatcacogcttccctcatgatgtttaactttgttttaggg
cgactgccctgctgcgttaacatcgttgctgctccataacatcaaacatcgaccacggcgtaac
gcgcttgctgcttgatgcccagggcatagactgtacccccaaaaaacagtcataacaagccat
gaaaaccgccaactgcgcgttacaccgcgtgcgttcgggtcaagggttcggaccagttgcgtgag
cgcatacgctacttgattacagcttacgaaccgaaacaggttatgtccactgggttcgtgcct
tcatccgtttccacggtgtgcgtcacccggcaaccttgggcagcaggaagtcgaggcatttct
gtcctggctggcggaacgagcgcaagggttcgggttcacacgcatcgtcaggcattggcgcccttg
ctgttcttctacggcaagggtgctgtgcacggatctgcctggcttcaggagatcggaagacctc
ggccgtcgcggcgcttgccgggtggtgctgaccccgatgaaggttcgcatcctcggttttct
ggaaggcgagcatcgtttgttcgcccagcttctgtatggaacgggcattcggtatcagtgagggt
ttgcaactgcgggtcaaggatctggatttcgatcacggcacgcatcatcgtgcggggaggcaagg
gctccaaggatcgggccttgatgttaaccgagagccttggcaccagcctgcgcgagcaggggaa
ttaattccacgggttttgcgtcccgcaaacgggctgttctgggtgttgctagtgtttatcaga
atcgagatccggcttcagccggtttgcggctgaaagcgctatttctccagaattgcatga
tttttcccccaggaggcgtcactggctcccgltgtgtcggcagctttgattcgataagcagc
atcgctgtttcaggctgtctatgtgtgactgttgagctgtaacaagtgtctcaggtgttcaa
ttcatgttctagtgttcttgggtttacgtgttccactgttctattaggtgttacatgctgttc
atctgttacattgtcgatctgttcattggtgaacagctttgaatgcacaaaaactcgtaaaagc
tctgatgtatctatctttttacacgggttttcatctgtgcataaggacagtttccctttgata
tgtaacggtgaacagttgttctactttgtttgttagtcttgatgcttcactgatagatacaag
agccataagaacctcagatccttccgtatttagccagtatgttctctagtgtggttcgttgttt
ttgctgagccatgagaacgaaccattgagatcatacttactttgcatgtcactcaaaaattt
gcctcaaaactgggtgagctgaatttttgcagttaaagcatcgtgtagtgttttcttagtccgt
tatgtaggttaggaactcgtgatgaatggttgggtattttgtcaccattcattttatctggtt
gttctcaagttcggttacgagatccatttgtctatctagtccaacttgaaaatcaacgtatca
gtcggcgccctcgcttcaaccaccaatttcatattgctgtaagtgtttaaactcttactta
ttggtttcaaaaccattgggttaagccttttaactcatggtagtattttcaagcatatacat
gaacttaaatcatcaaggctaatctctatatttgccttgtagtgtttctttgtgttagttct
tttaataaccactcataaatctcatagagtatttgttttcaaaagacttaacatgttccagat
tatattttatgaatttttttaactggaaaagataaggcaatatctcttcaactaaaaactaatc
taatttttgccttgagaacttggcatagtttgtccactggaaaatctcaagcctttaacaaa
ggattcctgatttccacagttctcgtcatcagctctctggttgcctttagctaatacaccataag
cattttccctactgatgttcatcatctgagcgtattggttataagtgaacgataccgtccgttc
ttccttgtaggggttttcaactcgtgggttgagtagtgccacacagcataaaattagcttggt
tcatgctccgttaagtcatagcgactaatcgtagtctcatttgcctttgaaaacaactaattcag
acatcatctcaattgggtcaggtgattttaatcactataccaattgagatgggtcagtcagt
ataattactagtcttttcccttgagtttggtgtatctgtaattctgctagacctttgctgga
aaacttgtaattctgctagacctctgttaattccgctagacctttgtgtgtttttttgttt
atatcaagtggttataaatttatagaataaagaaaagataaaaaagataaaaaagataagatcc
cagccctgtgtataactcactacttttagtcagttccgcagatttcaaaaaggatgtcgcaaacg
ctgtttgctcctctcaaaaacagaccttaaaacctaaaggcttaagtagcacctcgcaagct
cgggcaaatcgctgaatatctctttgtctccgaccatcaggcacctgagtcgctgtctttttc

도면45d

Gtgacattcagttcgctgcgctcacggctctggcagtgaaatgggggtaaatggcactacaggcg
ccttttatggattcatgcaaggaaactaccataatacaagaaaagcccgctcacgggcttctca
ggcggttttatggcggtctgctatgtggtgctatctgactttttgctgttcagcagttcctgc
cctctgattttccagctcgaccacttcggattatcccgtagacaggtcattcagactggcctaag
caccagtaaggcagcggtatcatcaacaggctta
(SEQ ID NO:55)

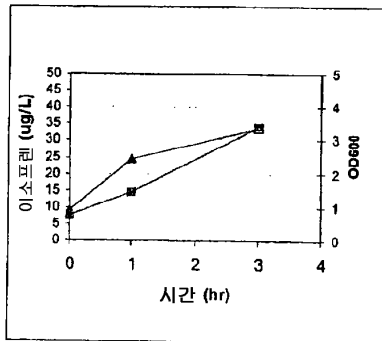
도면46a

A.



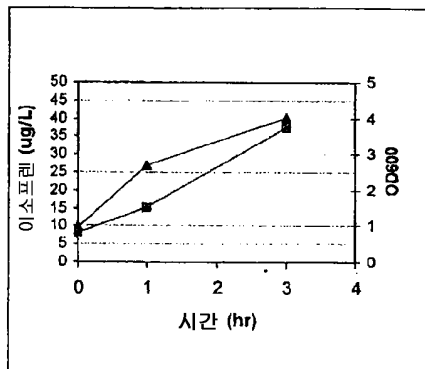
도면46b

B.



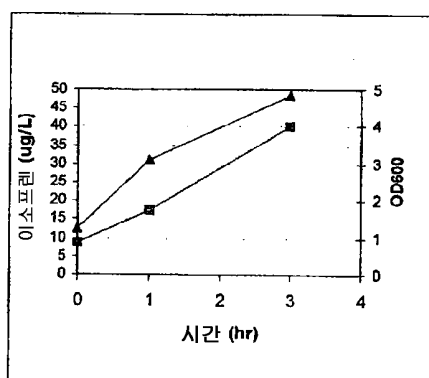
도면46c

C.



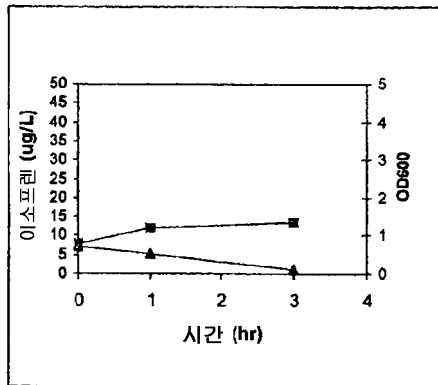
도면46d

D.

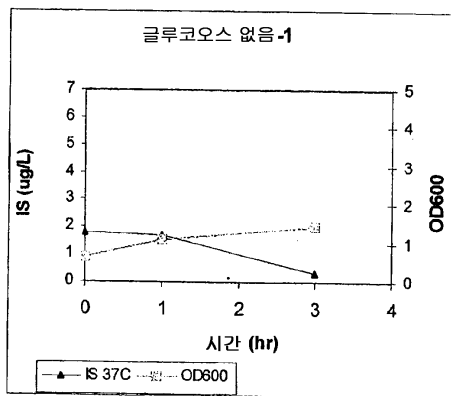


도면46e

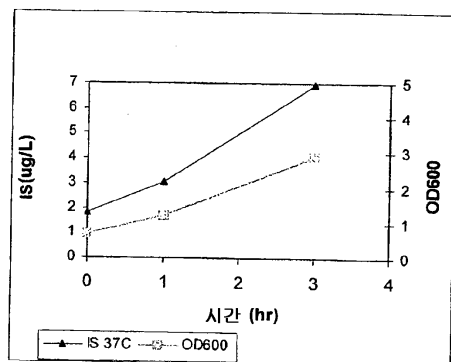
E.



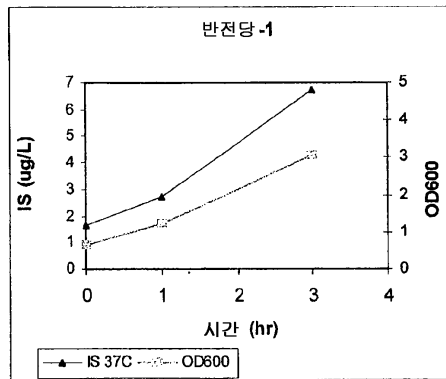
도면47a



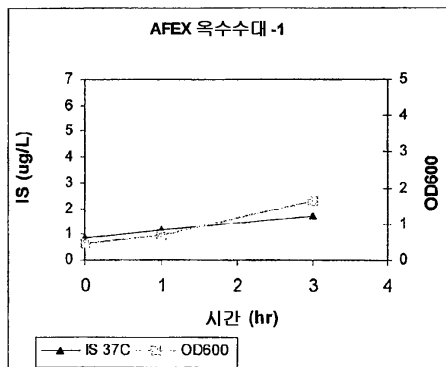
도면47b



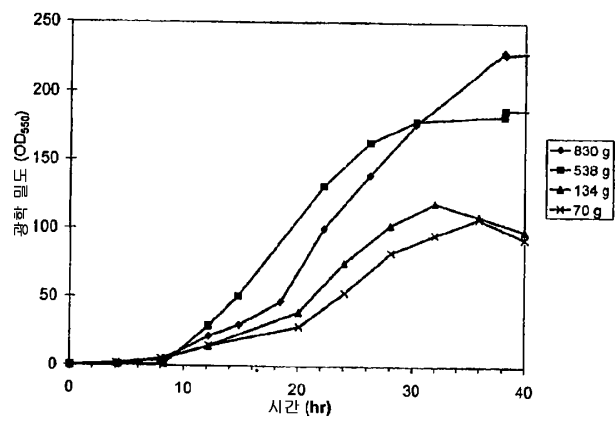
도면47c



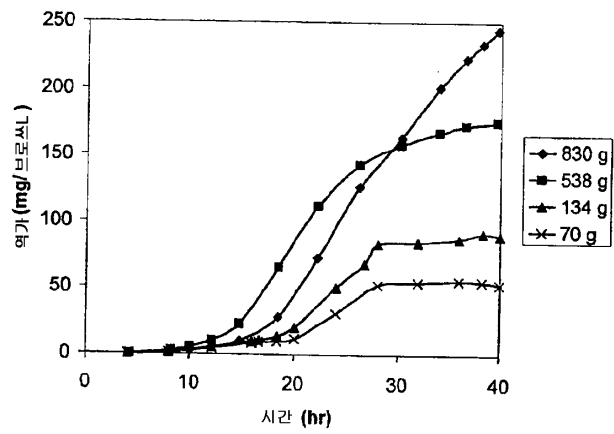
도면47d



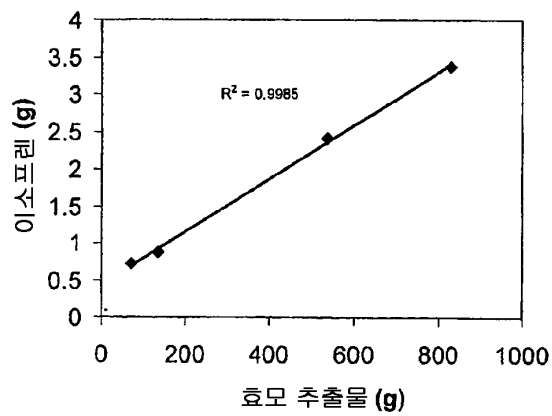
도면48a



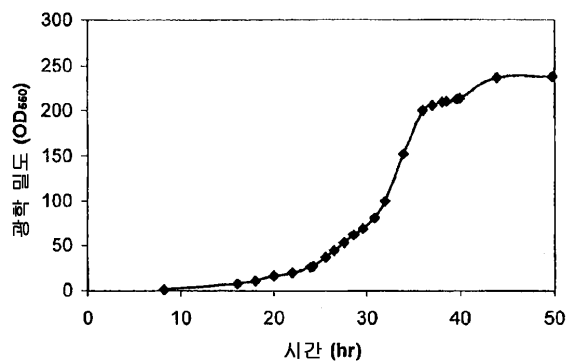
도면48b



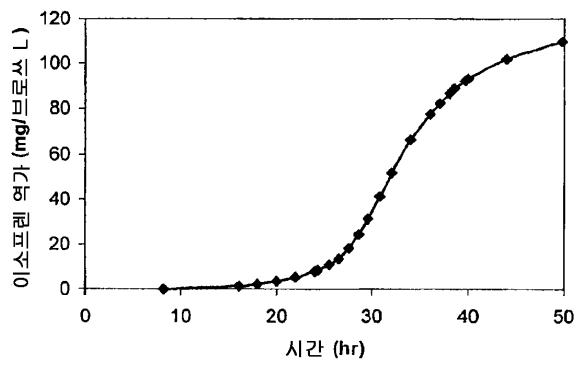
도면48c



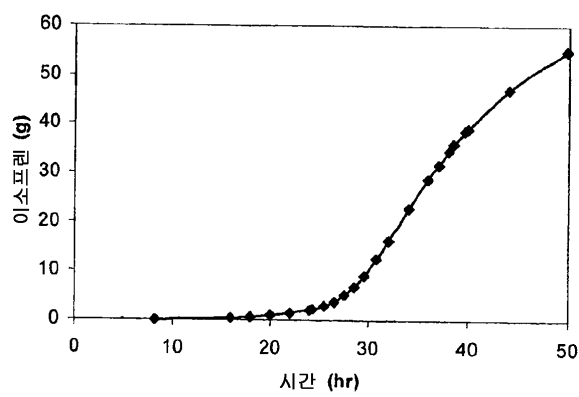
도면49a



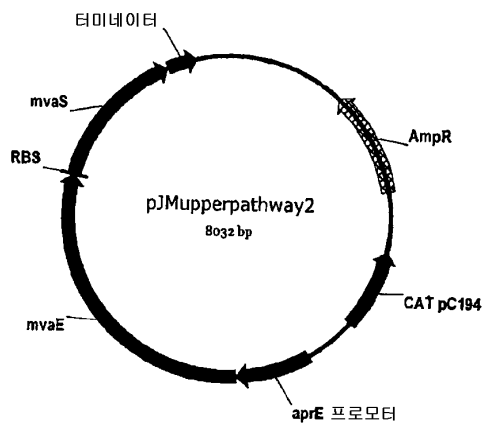
도면49b



도면49c



도면50



도면51a

5' -
 tcgctgcgctcggtcggtcggtcggtcggtcggtatcagctcactcaaagggcggttaatacgggt
 tatccacagaatcaggggataacgcaggaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccag
 gaacogtaaaaaggccggttgctggcggttttccataggctccgccccctgacgagcatcac
 aaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgacaggaactataaagataccaggcggttc
 cccctggaagctccctcgctgcgctctcctgttccgaccctgccgcttacgggatccctgtccgc
 ctttctccctcggtgaagctggcggttttctcatagctcagctgtaggatctcagttcggtg
 taggtcggttcgctccaagctgggtgtgtgcacgaacccccgttcagccccgacgctgcgct
 tatccggtaactatcgctcttgagtccaacccggtaagacacgaacttatcgccactggcagcagc
 cactggtaacaggattagcagagcgaggtatgtaggcggtgtacagagttcttgaagtgggtg
 cctaactacggctacactagaagaacagttatttggtatctgcgctctgctgaagccagttacct
 tcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaaacacccgctggtagcggtggtttttt
 tgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttct
 acgggggtctgacgctcagtggaacgaaaaactcacgttaagggtatttggtcatgagattatcaa
 aaaggtatcttcacctagatccttttaaatataaaatgaagtttttaaatcaatctaaagtata
 tgagttaacttggctgcagagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgt
 ctatttcgttcatccatagttgctgactccccgtcggtgtagataactacgatacgggagggt
 taccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgagacccacgctcaccggctccagatttatc
 agcaataaacccagccagccggaaggccgagcgagagtggtcctgcaactttatccgctcc
 atccaggtctattaattgttgcgggaagctagagtaagtagttgccagtttaagtttgcgca
 acgttgttgccattgctacagcagctgtgtgtgcagctcgctcggttggttaggcttattcag
 ctccggttcccaacgatcaaggcgaggttacatgatcccccatgttgcaaaaaagcggttagc
 tcttccggtcctccgatcggtgtcagaagtaagttggccgagtggtatcactcatggttatgg
 cagcactgcataattctcttactgtcatgcoactccgtaagatgcttttctgtgactggtgagta
 ctcaaccaagtcattctgagaatagtgtagtggtgagccgaggttgctcttgcggcggtcaata
 cgggataataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgtcatcattggaacacgttcttcgg
 ggcaaaaactctcaaggtatctaccgctgttgagatccagttcgatgtaacccactcgtgcacc
 caactgatcttcagcatcttttacttccaccagcggttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaa
 aatgccgcaaaaaagggaataaggggcgacacgggaatgttgaatactcatactcttcttttc
 aatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggtatcatatttgaatgtattta
 gaaaaataaacaatagggttccgcgcacatttcccgaaaaagtgccacctgacgtctaagaa
 accattattatcatgacattaacctataaaaataggcggtatcacgagggcctttcgtctcgcg
 gtttcggtgatgacggtgaaaaactctgacacatgcagctcccgagacggtcacagcttgtct
 gtaagcggtatccgggagcagacaagcccgtcagggcgcggtcagcggtgttggcggtgtcgg
 ggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgacccatagatctggagctg
 taatataaaaaccttcttcaactaacggggcaggttagtgacattagaaaaacgactgtaaaaa
 gtacagtcggcattatctcatattataaaaagccagtcattaggcctatctgacaattcctgaat
 agagttcataaaacactcgtcatgataaccatcacaaacagaatgatgtacctgtaaagatagc
 ggtaaatatattgaattacctttatgaatgaattttcctgctgtaataatgggtagaaggtaat
 tactattattatgatatttaagttaaacccagtaaatgaagtcattggaataatagaagaga
 aaaagcattttcaggtatagggtgttttgggaaacaatttccccgaaccattatatttctotaca
 tcagaaagggtataaatcataaaaactctttgaagtcattctttacaggagtcacaaataccagaga
 atgttttagatacccatcaaaaattgtataaaagtggtcttaacttatcccaataacctaactc
 tccgtcgctattgtaacaggtctcaaaagctgtatttgagtttatcacccttgctactaagaaa
 ataaatgcagggtataaaatttatatccttctgttttatgtttc

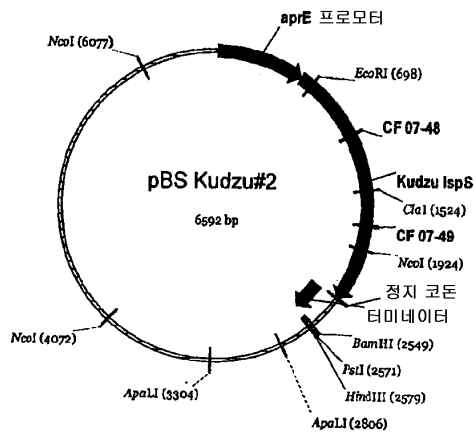
도면51b

ggtataaaacactaatatcaatttctgtggttatactaaaagtcgtttgttggttcaaataatg
 attaaatatctctttctctccaattgtctaaatcaattttattaaagttcatttgatatgcc
 tcctaaatttttatctaaagtgaatttaggaggttacttgtctgctttcttcattagaatcaa
 tccttttttaaaagtcaatatctgttaacataaatatataattttaaaaataatccactttatc
 caattttcgtttgttgaaactaatgggtgcttttagttgaagaataaaagacctatgagggtgaa
 ataccgcacagatgcgtaaggagaaaaataccgcacatcaggcgccattcgccattcagggtgca
 actgttgggaaggcgatcgtgtgagggtcctctcgctattacgccagctggcgaaaaggggatg
 tgcgtcaaggcgatgaagtgggtaacgccagggttttccagtcacgacgttgtaaaacgacg
 gccagtgccaaagcttgcagtcctgcactccattttctctgctatcaaaaacagactcgtga
 ttttccaaacagactttcaaaaaagcctctgccccttgcaaatcgagtcctgtctataaaatt
 cccgatattgggttaaacagcgccgaatggcgccgcacatctgatgtctttgcttgccgaatgtt
 catcttatttcttccctctcaataatttttcttctctatccctttctgtaaagtttattt
 ttcagaatacttttatcatcatgctttgaaaaaatatcacgataatccattggtctcacgga
 agcacacgcaggtcatttgaacgaatttttgcacaggatattgcccgggactcaggagcattta
 acctaaaaagcatgacattttagcagataatgaacatttactcatgtctattttcgttctttct
 gtatgaaaaatagtattttcgagtcctctacggaataagcgagagatgatatacctaaatagagat
 aaaatcatctcaaaaaatgggtctactaaaatattattccatctattacaataaattcacaga
 atagttcttttaagttaagtctactctgaatttttttaaaaggagagggtaaaagagtgaacacgt
 agttattattgtatgcatcagaaacaccaaattggaaaaataaaaggcagcttaagtcaagtaagt
 gccgtagacttaggaacacatgttacaacacaaacttttaaaagacattccactatttctgaag
 aaattgatcaagtaattcttggaaatgttttacaagctggaaatggccaaaaatcccgacacga
 aatagcaataaaacagcggtttgtctcatgaaattcccgcaatgacgggttaagtgaaggtctgcgga
 tcaggaatgaaggccgttattttggcgaaacaattgatcaattaggagaagcggaagttttaa
 ttgctggcggttgagaatattgtcccaagcacctaaattacaacggttttaattacgaacaga
 aagctacgatgcgcctttttctagtatgatgtatgatgatttaacggatgcctttagtggtcag
 gcaatgggttaactgctgaaaatgtggcgaaaagtatcatgtaactagagaagagcaagatc
 aattttctgtacattcacaattaaaagcagctcaagcacaagcagaagggatattcgtgacga
 aatagccccattagaagtatcaggaacgcttgggagaaagatgaagggttcgccctaattcg
 agcgttgagaagctaggaacgcttaaaacagtttttaaaagagcggtaactgtaacagcaggga
 atgcatcaaccattaatgatggggcttctgctttgattattgcttcacaagaatatgccgaagc
 acacggtcttcttatttagctattattcgagacagtggtggaagtcggtattgatccagcctat
 atgggaatttcgccgattaaagccattcaaaaactgttagcgcgcaatcaacttactacggaag
 aaattgatctgtatgaaatcaacgaagcatttgcagcaacttcaatcgtggtccaaagagaact
 ggctttaccagaggaaggtcaacatttatgggtggcggtatttcttaggtcatgcatggtt
 gccacaggtgctcgtttattaacgagtttaagttatcaattaaatcaaaaagaaaagaaatag
 gagtggcttctttatgtatcgcggtggcttaggactcgctatgctactagagagacctcagca
 aaaaaaaaacagccgattttatcaaatgagtcctgaggaacgcctggcttctcttctaatgaa
 ggccagatttctgctgatacaaaaaaagaatttgaaaatacggctttatcttcgcagattgcca
 atcatatgattgaaaatcaaatcagtgaaacagaagtgcgatggcggttggttcaatttaac
 agtggacgaaactgatttttggtaccaatggcgacagaagagccctcagttattgcggtttg
 agtaatggtgcaaaaatagcacaggttttaaaacagtgaaatcaacaacgcttaatgctggac
 aaatcggttttttaogatgttgagatcccgagtcattgaltgataaaactacaagtaagagaagc
 ggaagtttttcaacaagcagagtttaagttatccatctatcgttaaacggggcgcggttaaga
 gatttgcaatatcgtaacttttgatgaatcatttgatctgtcgacttttagtagatgctaaagg
 atgcaatgggggcaaatatcgttaacgctatgttggaaggtgtg

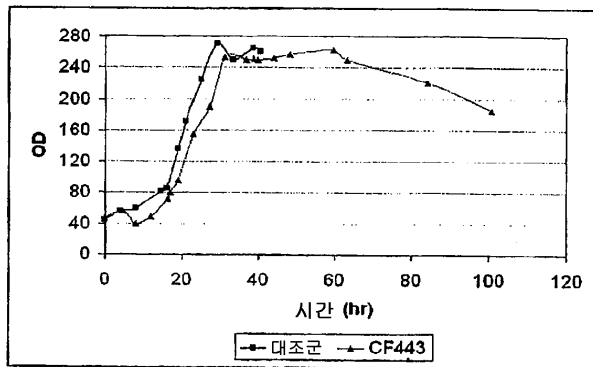
도면51c

gccgagttgttccgtgaatggtttgaggagcaaaagattttattcagtttttaagtaattatg
ccacggagtcgggtgttacgatgaaaacggctattccagtttcacgtttaagtaaggggagcaa
tggccgggaaattgctgaaaaaattgttttagcttcacgctatgcttcattagatccttatcgg
gcagtcacgcataacaaaggaatcatgaatggcattgaagctgtagtttttagctacaggaatg
atacacgcgctgttagcgttcttgcacgttttgcgggtgaaggaggtcgctaccaaggctt
gactagttggacgctggatggcgaacaactaatggtgaaatttcagttccgcttgctttagcc
acggttggcggtgcccacaaaagtcttacctaaaactcaagcagctgctgattttagcagtgga
cggatgcaaaaagaactaagtcgagtagtagcgtgttggttttggcacaataatttagcggcgtt
acgggccttagctctgaaggaattcaaaaaggacacatggctctacaagcagcttctttagcg
atgacggctggagctactggttaagaagttgagcgagtcgctcaacaattaaaacgtcaaaaaa
cgatgaaccaagaccgagccatggctattttaaatgatttaagaaaacaataaaaggagagggt
gacaattgggattgataaaattagttttttgtgcccccttatataattgatatgacggcactg
gctgaagccagaaatgtagaccctggaaaatttcataattgggtattgggcaagaccaaaggcgg
tgaacccaatcagccaagatattgtgacatttgcagccaatgccgcagaagcgatcttgaccaa
agaagataaaggagccattgatatggtgattgtcgggactgagtcagatcgatgagtcaaaa
gcggccgaggtgtgtcttacatcggttaattgggattcaacctttcgctcgctcttgcgaatca
aggaagcttgttacggagcaacagcaggcttacagttagctaagaatcacgtagccttacatcc
agataaaaaagtcttggtcgtagcgcagatattgcaaaatatggcttaaatcttgccgggtgag
cctacacagggagctggggcggttgcaatgttagttgctagtgaaccgcgcattttgcttttaa
aaggagataatgtgatgctgacgcaagatattatgacttttgccgtccaacagccaccgcta
tcctatggtcgatggctcctttgtcaaacgaaacctacatccaatcttttgcccaagctgggat
gaacataaaaaacgaacccggtcttgattttgcagattatgatgcttttagcgttccatattcctt
acacaaaaatgggcaaaaaagccttattagcaaaaatctccgacaaaactgaagcagaacagga
acgaatttttagccgttatgaagaaagtatcgtctatagtcgctgaggaacttgataacg
ggttcactttatctgggactcatttcccttttagaaaatgcaacgactttaaccgcaggcaatc
aaattggtttattcagttatggttctggtgctgctgaattttcactggtgaattagtagc
tggttatcaaaatcatttacaaaaagaaactcatttagcactgctggataatcggaacagactt
tctatcgctgaatatgaagccatggttgcaaaaactttagacacagacattgatcaaacgttag
aagatgaattaaaatatagttattctgctattaataataccggttcgttcttatcgaaaactaaa
aaaaccggttcggcccgccggttttttatttttcttccctccgcatgttcaatccgctcc
ataatcgacggatggctccctctgaaaattttaacgagaaacggcggttgaccgggtcagtc
cgttaacggccaagtctgaaacgtctcaatcgccgcttcccggtttccggtcagctcaatgcc
gtaacggctcgccggcggttttctgataccgggagacggcattcgtaacgggatcccggttac
cgagctgaattcgtaatacatgctcatagctgttccgtgtgaaattgttatccgctcacaatt
ccacacaacatacagacgggaagcataaaagtgtaaagcctggggtgcctaatgagtgagctaac
tcacattaatcgcttgctgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgca
ttaatgaatcgcccaacgcgcggggagagggcggtttgcgtattggcgctcttccgcttccctcg
ctcactgac
(SEQ ID NO:56)

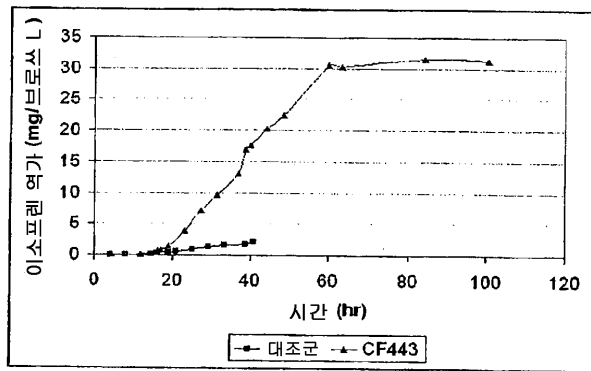
도면52



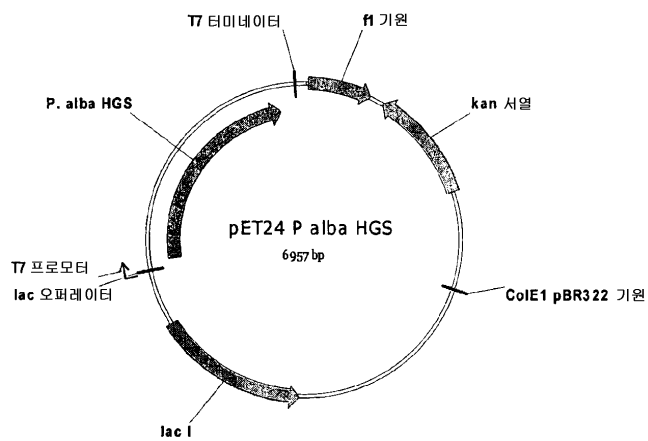
도면53a



도면53b



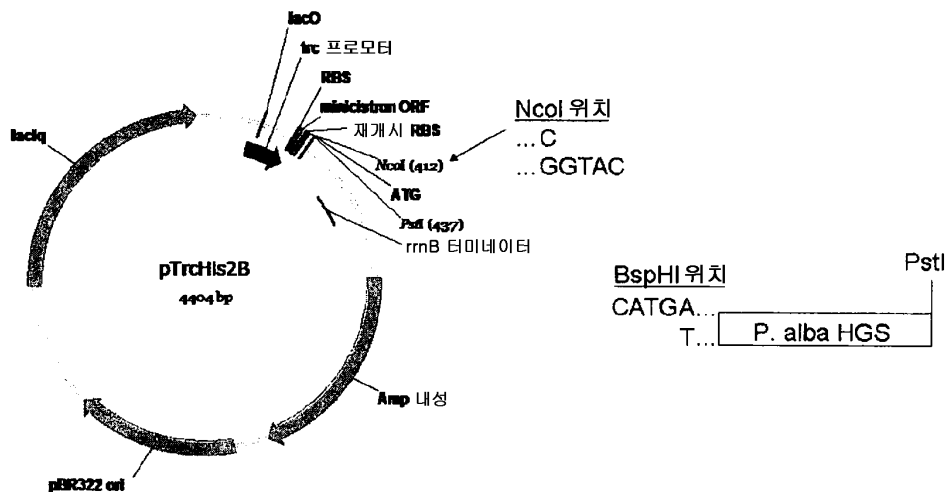
도면54



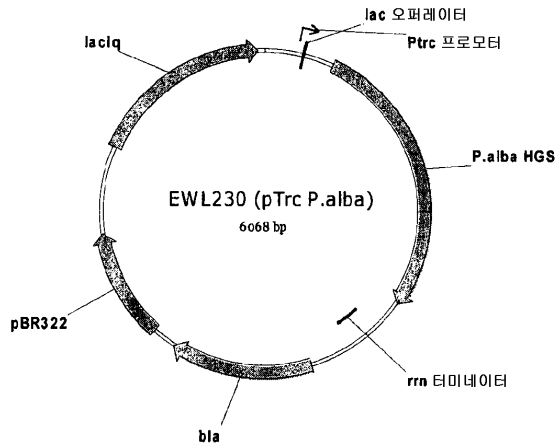
도면55b

ccagccagacgcagacgcccagacagaactaatgggcccgttaacagcgcgatttctggtgacccaatgcgaccagatgctccac
gcccagtcgcgtaccgtctcatgggagaaaataatcigtgtgggtgtctgggicagagacatcaagaaataacgcccgaacattagtgc
aggcagctccacagcaatggcatcctgtgtcatccagcggatagtaatgatcagccacagcgttgcgcgagaagattgtgcaccgc
cgctttacaggcttcgacgcgcgttcttaccatcgacaccacacgcctggcaccagttgatcgccgagatttaacgcccgcgacaa
tttgcgacggcgcgttcgagggccagactggaggtggcaacccaatcagcaacgactgttgcgccagttgtgtccacgcggttgg
gaatgtaattcagctccgcatcgcggttccacttttccgcgttttcgcagaaacgtggtggttgcaccacgcgggaaacggtct
gataagagacaccggcatactctgcgacatcgtataacgttactgtttcattaccaccctgaattgactcttccggcgctatcatgc
cataccgcgaaaggttttgcgccaatcgatgggtgcccgggactcgcagctctcccttatgcgactcctgcattaggaagcagcccagtagta
ggttgaggccgttgacaccgccgccgaaggaatggtgcatgcaaggagatggcgcccaacagtcccccggccacggggcctgcc
ccataccacgcgcgaaacagcgtcatgagccggaagtgccgagccgatcttccccatcggtgatgctggcgatagggccgacga
accgacatgtggcgccgtgatgcccgcacgatgcgtccggcgtagaggatcgagatctcgalcccgcgaaattaacgactcacta
taggggaattgtagcggaataaattccctctagaataaattttgttaactttaagaaaggagatatacatatgcgtttagcgtgtccaccg
aaaatgtgtcttaccgaaactgaaccgaagctcgtctgttctgcgaactacgaacctaacagctgggactatgattactgtctcccca
cacggacgagtcacatgaagtatacaagacaaagcgaagaaagctgggaagcgaagttcgcgcgagattaataacgaaaagcagaat
ttctgacctgtgtggaactgattgacaacgtccacgcgcctggcctgggttaccgtttcagtgatgataccgtgtgcgtggatcgtcttct
ttctccggcggttcgatggtgtaaccaagacttccctgcacggtacggcactgtcttccgtcgtcgtcgtcaacacggtttgaggtttctc
agggaagcgttcagcggttcgaagacaaaacgcgaacttccgtggagaacctgaaggagatatacaagctatcctgagccgtacgag
ccagcttctggtctggaagcgaagaaacatcctggacgagggcgaaggttttgcgaatctctcatctgaagaactgtctgaagaaaagatc
ggtaaaagagctggcagaacagggtgaacctggaactgcaactgcacgcgcgtactcagcgtctggaagcagtagtgcgtatcag
gcctaccgtaaaaaggagggacgcgaatcaggttctgctggagctggcaattctgattacaacatgatccagctgtataccagcgtgatct
gcgtgaaacgtccgttgggtggtcgtgtgtgtgtggtcggcaccacactgacattgtctgtgaccgcctgattgagagcttctactggccg
tgggtgtagcattcgaaccgcaatactccgactcgcgttaactccgtcgaataatgttttcttctgaacattatcgacgatactacgaigtat
acggcacccctggacgaactggagctgttactgatgcagttgagcgttgggacgtaaacgccatcaacgacctgcccggattatcgaact
gtgctttctggtctgtataacactatgaacgaactcgcctacgacaacctgaaagataaaggtagaacaatcctgcgtatctgaccaaagc
ctggcgtgacctgtgcaacgtttctcgaagaagcgaagtggtgtgatacaaatctactcgcacatttgcgactacttcggcaacgcatg
gaaatcctctctgcccgtgcaactgtgttgcgttacttgcgtgctgcagaaacattaaaaagggaagagatgaaaacgtcgaataata
ccatgacacatctctctgcttcccatatcttccgtgtgcaatgacctggtcgtgcgtctgcggaaattgcgctgtgtgaaaccgcaaat
agcgtttctgttacctgcgcactaaaggtatctccgaagaactggtclaccgaaagcgtgatgaatctgacgatgaaacctggaaaagatg
aacaaggaaaaactgggtgtagcctgttcgcgaacccgttcgtgaaaccgcgatcaacctgcacgtcaatctcactgcactatcataa
ggcgacgcgcatactctccggatgagctgacccgcaaacgcgttctgtctgtatcactgaaccgatttgcgttgaacgctaaaggat
ccgaattcagctccgtcgcgaacgttcggtccgacactcagaccaccaccaccactgagatccggtcgttaacaaagcccgaaa
ggagcgtgagtggtgtgtccacgcgtgagcaataactagcataacccttggggccttaaacgggtcttgagggtttttgtgtaa
gaggaaactatccgcat (SEQ ID NO:87)

도면56



도면57



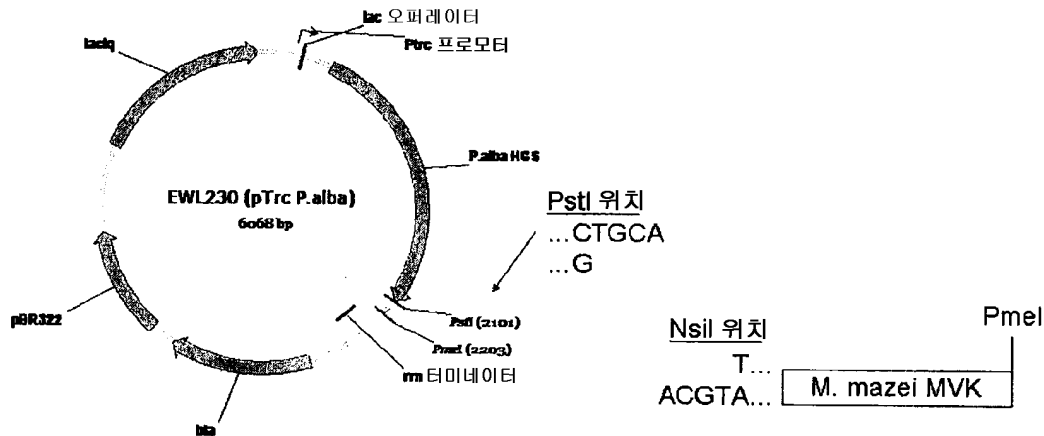
도면58a

1-
 gtttgacagcttatcatcgactgcacgggtgcaccaatgcttctggcgtcaggcagccatcggaagctgtggtatggctgtgcaggtcgtaaat
 cactgcataattcgtgctcgaagcgccacccggtctggataatgttttgcgcgcacatcataacgggtctggcgaatattctgaaatgag
 ctgttgacaattaatcatccggctcgtataatgtgtggaattgtgagcggataacaatttcacacaggaacagcgccgctgagaaaaagcg
 aagcggcactgctcttaacaattatcagacaactcgtgtgggcactcgaccggaattatcgattaaactttatttaaaaaattaaagggtatat
 attaatgtatcgattaaataaggaggaataaaacatgagatgtagcgtgtccaccgaaaatgtgtcttcaccgaaactgaaaccgaagctcg
 tctgttcggaactacgaacctaacagctgggacatgattacgtgtgtcctccgacacggagcagtcacatcgaaagtatacaaaagacaaag
 cgaaaaagctgggaagccgaagttcgtcgcgagatttaaacgaaaaagcagaatttctgaccctgctggaaactgattgacaacgtccagcg
 cctgggcccgggttaccgtttcagtgctgataatcgtgggtgcgtgacgctcgtttctccggcggccttgatgcgtaaccaagacttcc
 ctgcacggtacggcactgtcttccgtcgtcgtcaacacgggtttgaggtttctcaggaaagcgttcagcggctcaaaagacaaaacggc
 aacttctcggaagacctgaaggaagatacaaaagctatcctgagcctgtacgagccagcttccgtcgtggaagcgaaaaacatcctgg
 acgagcggaaggttttcgaactctctatctgtaaaagactgtctgaagaaaaagatcggttaaaagagctggcagaacaggtgaacctgact
 ggaactgccactgcacggcttactacgctgtggaagcagatgtgtatcagagccctaccgtaaaaaggaggacgcaatcaggtttctg
 ctggagctggcaattctggaattacaacatgacatcgtgtatcaccagcgtgatctcgtgaaacgtcccggttggtggcgtgtgtgtggtctg
 gcgacaaaactgcactttgctcgtaccgctgatgagagcttctactgggcccgtgggtgtagcattcgaaccgcaatacctcgactgcc
 taactccgtgcgaataatgtttcttctgaacattatcgacgatactacgaltatcagccctggacgaactggagctgtttactgatgc
 agttgagcgttgggacgttaaacgccatcaacgacctgcccggattacatgaactgtgctttctggtcgtgtataaacatttaacgaaatcgc
 tacgacaacctgaaagataaagggtgagaacctcctgccgatctgaccaaagcctgggctgacctgtgcaacgttctcgtcgaagaaagcca
 agtggctgtacacaacaaactactcgcacgttgcacactactcggcaacgcatggaatcctcttctggcccgtgcaactgggtgttcgtta
 ctctgctgtcgtgcagaacattaaaaaggagagatcgaaaactgcgaataatgacacctctctcgtccttcccatatcttccgtctg
 tgaatgacctgctagcgcgtctgcggaattgcgcgtgtggaaccgcaaatagcgtttctgttaccatgcgcactaaaggatctccgaa
 gaactggctaccgaaagcgtgatgaatctgatgatgaacctggaagaaagatgaacaaggaaaaactgggtggtagcctgttcgcaaaa
 ccgttctgtggaacccgcatcaactgggcacgtcaatctcactgcacttatacaacggcgacgcgcatacctctccgagtagcgtgaccc
 gcaaacgcgttctgtctgaatcactgaaccgattctccgtttgaacgtaactgcagctgtaccatattggaattcgaagcttctagaac
 aaaaactatctcagaagaggtatgtaagcgcctgcacacatcatcatcattgattaaacggtctccagcttggcgtgttttggcg
 gatgagagaagattttcagcctgatacagattaaatcagaacgcgaagcggctcgataaaacagaatttgcctggcggcagtagcgcggt
 ggtcccactgaccccatgcgaactcagaagtgaaacggcgtagcgcgcatggtatgtgtgggtctcccatgcgagagtagggaaact
 gccaggtacataaaagcgaaggctcagtcgaagacgtggcctttcgtttatctgtttgttcggtgaacgctctcctgagtaggacaa
 atccgcccggagcggaattgaacgttgcgaagcaacggcccgagggtggcgccgagacgcccgcataaaactgccaggtacataaat
 taagcagaagccatctcgaagcgtggtccttttgcgtttctacaactcttttgtttatttttcaaatatcaaatatgataccgctcatgaga
 caataacctgataaatgtctcaataattgaaaaaggagagtagatgattcaacatttccgtgtcccttattcccttttttgcgcattttg
 ccttctgttttgcctaccagaacgctggtgaaagtaaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggtttacatcgaactgcatctc
 aacagcggtaagatcttgagagttttcccccgaagaacgtttccaatgatgacacttttaagttctgtatgtggcggttattatcccg
 ttttgacccggcgaagagcaactcgtgctccgcatcactattctcagaatgacttgggtgagtagtaccaggtacagaaaagcatcttac
 ggatggcatgacagtaagaaattatcagtgctgccataacctgagtgataacactcgggccaacttacttgcacaacgatcgaggga
 ccgaaggagctaacccgtttttgcacacaatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctaatgaagccataccaaa
 cgacgagcgtgacaccacgatgcctgtagcaatggcaacaacgttgcgcaaaactaataactggcgaactacttacttagctcccggcaac
 aattaatagactggatggagcggtataaagtgcaggaaccacttctgcgtcgcgtccctccgctggcgtgtttattgtctgataaatctggag
 ccggtgagcgtgggtctcgcggtatcattgcagcactggggccagatgtaagccctcccgtatcgtatgtatctacacgacggggagtca
 ggcaactatgagtaagcaaatagacagatcgtgagataggttcctcactgattaaagcattgtaactgtcagacgaagcttactatata
 cttagattgatttaaaacttatttttaatttaaaaggatcaggtgaaagatccttttgataatcctcatgaccaaaaccccttaacgtgattttcgtt
 ccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaaggatcttctgagatcctttttctgcgtgataatcgtctgttcgcaaaaaaacca
 ccgctaccagcgtgtgtttgttgcgggatcaagagctaccaactcttttccgaaggttaactggcttcagcagagcgagataccaataact
 gctccttctagttagcgttagtagggccaccactcaagaactctgtgaccgcctacatacctcgtctgtaactcgtttaccagtggctgc

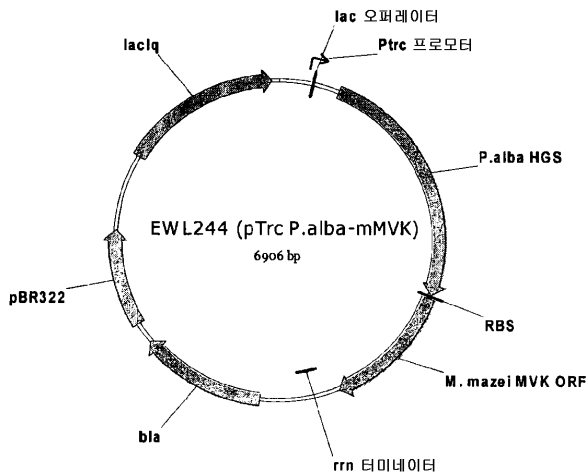
도면58b

tgccagtgccgataagtcgtgtctaccgggtggactcaagacgalatgaccgataaggccagcgggtcggaacgggggttc
gtgcacacagcccagcttgaggcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcggcagctcccgaag
ggagaaaggccgagcaggtatccggtaagcggcagggtcggaaacaggagagcgcacgaggggagctccaggggaaacgcctgggtat
ctttatagtcctgctgggtttcggccacctctgacttgagcgtcgaatttttgatgctcgtcagggggcggagcctatggaaaaacgccagca
acgcggccttttaccggttccctggccttttctggccttttctcacatgttcttctcgtttatccctgattcttggataaccgtattaccgct
ttgagtgagctgataccgctcggccgagccgaacgaccgagcgcagcagtcagtcagcaggaagcgggaagagcgcctgatcggt
atttctccttacgcaictgtgctgtatttcacaccgcatatggtgcactctcagtaacatctgctctgatccgcatagtaagccagtatacact
ccgctatcgtactgactgggtgctgctgccccgacaccgcccaacaccgctgacgcgcctgacgggcttctctcctccggca
tccgcttacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagaggttttaccgctacaccgaaacgcgcgaggcagcagatca
attcgccgcgaaggcgaagcggcgaatgacacccatgaatggtgcaaaacctttcgggtatggcatgatagcggccggaa
gagagtcattcagggtggtgaatgaaaccagtaacgttatagatgtcgcagagatgccggtgtctcttatcagaccgttcccgctg
gtgaaccagggccagccagcttttctcgaaaacgcgggaaaaagtgaagcggcgatggcggagctgaattacattcccaaccgcgtggc
acaacaactggcgggcaaacagctgttctgctgattggcgttgcacacctcagctcgtccctgcacgcgcctcgcaaatgtcgcggcgatt
aaatctcgccgatcaactgggtgcccagcgtgtgtgtgtcgtatgtagaacgaagcggcgtcgaagcctgtaaagcggcggtgcacaa
tcttctcgcccaacgcctgagtggtgatcatttaactatccgctggatgaccagagtgccattgctgtggaagctgcctgcactaatgttcg
gcgttatttctgctgtctcagaccacacccatcaacagtatttttcccatgaagacggtacgcgactgggctgtgagcatctgtctgc
attgggtaccagcaaatcgcgtgttagcggccattaaagtctgtctgcgcgtctgctgtgctgtgctgataataatctcactcg
caatcaaatcagccgatagcgggaacgggagcggactggagtgccatgtccggttttcaacaacatgcaaatgctgaatgagggcac
gttccactgcgatgctgttggcaacgatcagatggcgtggcgcaatgcgcgcattaccgagtcgggctgcgcgtgtgtgctggat
atctcggtagtgggatacagcagataccgaagacagctcatgttatatccgccgtcaaccacatcaaacaggattttcgcctgctgggca
aacccagcgtggaccgctgtgtcgaactctcagggccagcgtgtgaaggcgaatcagctgttcccgtctcactgtgaaagaaaaac
caccctggcgcccaatagcaaacggcctctccccgcgctgtggccgattcattaatgcagctggcagacaggtttcccgactggaaagc
ggcagtgagcgaacgaattatgtgagtagcgcgaattgatctg (SEQ ID NO:88)

도면59



도면60



도면61a

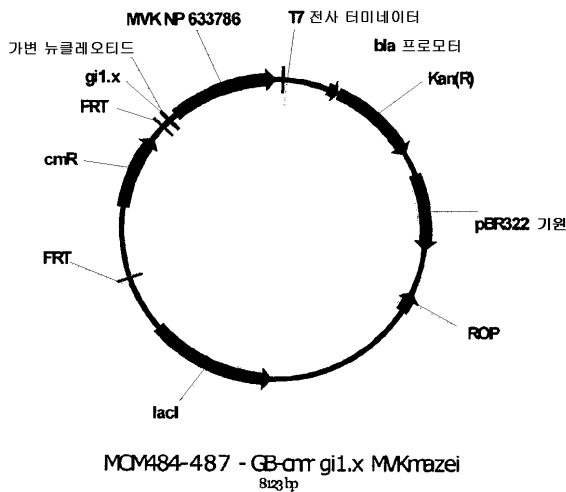
1-

gtttgacagcttatcatcgactgcacgggtgacccaatgcttctggcgtcaggcagccatcggaaagctgtggtatggctgtgcaggtcgtaat
 cactgcataatctgtgctcagggcgcactccgcttctggataatgttttgcgcgcacatcataacgggttctggcaaatctgaaatgag
 ctgttgacaataatcatccggctctgataatgtgtggaattgtgagcggataacaattcacacagaaacagcgcctgagaaaaagcg
 aagcggcactgctcttaacaattatcagacaatctgtgtggcactcgaccggaattatcgataactttattttaaaatgaagggtat
 ataatgtatcgataaataaggaggaataaacatgagatgtagcgtgtccaccgaaaatgtgtcttaccgaaactgaaccggaagctc
 tcttctgcgaactacgaacctaaacagctgggactatgattacctgtgtctccgcacacggagctccatcgaagtatacaagacaaag
 cgaaaaagctggaaagccgaagttctgtcgcagattaataacgaaaaagcagaatttctgacctgtggaactgattgacaacgtccagc
 cctgggctgggttaccgttccagtgatgtatccgtgggtgcgtggatcgtcttctccggcggcttcgatgctgaaccaagactcc
 ctgcacggtacggcactgtcttccgtctgtcgtcaacacgggtttgaggtttctcaggaagcgttcagcggctcaagacaaaagcgc
 aactctcgggaacctgaaggagaatacaaaagctatctgagcctgtacgagccagctctcgtgctggaaagcgaaaacatcctgg
 acgagcgggaaggttttgcgaactctcatctgaaagaactgtctgaagaaaaagatcggtaaaagagctggcagaacaggtgaacctgact
 ggaactgccactgcatgccgtactcagctgtggaagcagtatgtctatcagggcctaccgtaaaaaggaggacggaatcagggttctg
 ctggagctggcaattctggattacaacatgatccagctgtataccagcgtgatctcgtgaaacgtccgttggtggcgtctgtgtgggtctg
 ggcacaaactgcacttctgtgaccgctgatgagagcttctactgggcccgtgggtgtagcattcgaaccgaatactccgactccg
 taactccgtcgcaaaatgttttctgttaaccattatcgacgatactacgatgtatcagccctggacgaaactggagctgtttactgatgc
 agttgagcgttgggacgtaaacgccataacgacctgcccggattacatgaaactgtcttctggctctgtataacactattaacgaaatcgc
 tacgacaacctgaagataaagggtgagaacctctccgtatctgacaaagcctgggctgacctgtgcaacgttcttcgcaagaagcca
 agtggctgtacaacaaactactccgaccttggacactctggcaacgcatggaatcctcttctggcccgctcgaactgggtgttcgctta
 ctctgtctgtgcagaacataaaagggaagagatcgaaaaactgcataaataaccatgacacctctctctctctcccatctctccgtctg
 tgaatgactgtgctagcgcgtctgcggaatttgcgcgtgtggaacccgcaaatagcgtttctgttactgcgcactaaaggatctccgaa
 gaactggctaccgaaagcgtgatgaatctgatcgatgaacacctggaagaaagatgaacaggaacactgggtggtagcctgttcgcaaaa
 ccgttctgtggaacccgcgatcaacctggcacgtcaatctcactgcacttatcataacggcgacgcgcataacctccggatgagctgaccc
 gcaaacgcgttctgtctgtaactactgaacacgattctccgtttgaacgtaactgcataaaggaggtaaaaaaacatggtatctgttctgcg
 ccgggtgaagattacctgtctgtgtaacacgcgtagttatggcgaaactgcaattgctgtgctggaactgcgtaccctgttctgcgcg
 gaactcaatgactctatcattatcagagccagatcgccgcaccggctgtgatttcgaaaaagcacccttatgtctgcggtaattgagaaa
 atgcgcaaatctattctattaacgggttttctgtaccgtcgattccgacatcccggtggctccgtctgggtagcagcgacgcgcttactat
 cgcgtctattgtgtgcgtgaacgagctgttggcttggcctcagcctgcaagaaatcgctaaactgggccacgaaatcgaataaagtac
 aggggtgcgcgtcccaacccgatactgtatgttctaccttccggcggtgttaccatcccggaaactgcgaaactcgaactccggactg
 cggcatgtgattggcgataaccggcgttttctcctcccaagagtttagtgaactacgtacgtcgcgcaagctaccggatttgat
 cgaaccgctgatgacctctatttggcaaatctctctgtatcggcgaaacactggttctgtctgctgactacgcatccatcgcccgctgatga
 cgtcaaccaggggtctcctggacgccctggcggttaacatctagaactgagccagctgatctatccgctcgtcggcaggtgtggttggcg
 ctaaaatcacggcgctggcggtgtgctgtatgttgcgtgaccgctccggaaaaatgcaaccaggtggcagaagcggtagcagcg
 gctggcggttaagtgactatcataaacgaccgagcaaggtctgaagtagattaaagtctagttaaagtttaaacggctctccagcttggct
 gtttggcggtgagagaagattttcagcctgatacagattaaatcagaacgcagaagcgtctgataaaacagaatttgcctggcgaggt
 agcgcgtgtgtcccaactgaccccatgccgaactcagaagtgaaacgcgtagcgcgagtgatgtgtgggtctcccatgcgagaggt
 agggaaactgcacgcatcaataaaacgaaaggctcagtcgaaagactgggcttctgtttatctgtttgtgtgtggaacgctctcctgag
 taggacaaatccgcccggagcgttgaacgttgcgaagcaacggccgggggtggtggcgaggacgcccgcataaactccag
 gcatcaaatgaagcagaagccatcctgacggatggccttttgcgtttctacaaactcttttgtttttttaaatacttcaataatgtatccg
 ctcatgagacaataacccgtataatgtcttaataatgtgaaaaaggagagtagtattcaacatttccgtgtcgccttattccctttttg
 cggcattttgccttctgttttctcaccgagaaacgctggtgaaagttaaagatgctgaagatcagttgggtgcacgagtggtttacatcga
 actggtatcacaacgggtgaagactcttgagagtttcccccgaagaacgttttccaatgatgagcacattttaaagtctgtctgtgtggcg
 gtattatccgtgttgacgcggggcgaagagcaactcgtcgcggcgcatactattctcagaatgacttggtagtactaccagtcacagaa
 aagcatctacgtagtgcagtagaagaattatgcagtgctgccataacctgagtgataacactcggccaacttactctgacaacg

도면61b

atcggaggaccgaaggagctaaccgctttttgcacaacatgggggatcatgtaactgccttgatcgttgggaaccggagctgaatgaag
ccataccaacgacgagcgtgacaccacgatgctgtagcaatggcaaacggtgcgcaaacctattaactggcgaactacttacttagct
tccggcaacaattaatagactggatggagcgggataaagtgcaggaccacttctgcgctcggccctccggctggctgtttattgctgat
aaatctggagccgggtgagcgtgggtctgcggtatcattgcagcactggggccagatgggtaagccctccgtaactgtatctacacgac
ggggagtcaggcaactatggaatgaacgaataagacagatcgtgagatagtgccctactgattaagcattgtaactgtcagaccaagttt
actcatatatacttagattgatttaaaactcattttaatttaaaaggatctaggtgaagatccttttgataatctcatgaccaaaatcccttaacgt
gagttttcttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaggatctcttgagatcctttttctgcgctaactctgtcgttgcacaaca
aaaaaacaccgctaccagcgggtgtttgttgcggatcaagagctaccaactcttttccgaaggtaactggcttcagcagagcgagat
accaaatactgtccttctagtgtagccgtagtttagccaccactcaagaactctgtagcaccgcctacatactcgtctgtctaatctgttac
cagtggtcgtcgtccagtggcgataagtcgtgttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataaggcgagcgggtcgggtgaa
cgggggggttcgtgcacacacccagctggagcgaacgacctacaccgaactgagatactacacgtgagctatgagaaagcgccac
gttcccggaaggagaaaggcgacaggtatccggtaagcggcaggggtcggaaacaggagagcgcacgaggagcttccagggggaa
acgctcgtatcttatagtctgtcgggttccaccctctgacttgagcgtcgtatgttctgtagctcgtcaggggggcgagcgtatgaaa
aacggcgaacacggccttttaccgttctgtgcctttgtcgtcctttgtcacatgttcttctcgttatccctgattctggtgataacc
gtattaccgcttggagtgagctgacacccgctgcggcagccgaacgaccgagcgcagcagtgagtgagcaggaagcggaagcgcg
cctgatgcgtattttctcctacgcatctgtgcgtatttcacaccgcatatgtgcactctcagtaaatctgtctgtatccgcatagtttaag
ccagtatacactccgtatcgtacgtgactgggtcagtgctgccccgacaccgccaacaccgctgacgcgcctgacggcgtgt
ctgtcccgatccgcttaccagacaagctgtgaccgtctcgggagctgcatgtgtcagaggttttaccgtatcaccgaaacgcgcga
ggcagcagatcaattcgcgcgaaggcgaagcggcatgcaattacgttgacaccatcgaatggtgcaaaacctttcgggtatggcatga
tagcggccggaagagagtaactacagggtgtggaatgtgaacacagtaacgtatatacgtatgcagagatgccggtgtctctatcagac
cgtttcccggtgtgtaaccaggccagccactttctgcgaaacgcgggaaagtggaagcggcgtatggcggagctgaattacattcc
caaccgctgtgcacaacaactggcgggcaaacagctgtgctgattggcgttgccacctccagtcgtgcccctgcacgcgcgtcgcgaatt
gtcgcggcgatataatctcgcgcgatcaactgggtgccagcgtgtgtgtcgtatggttagaacgaagcggcgtcgaagcctgtaaacg
gcggtgcacaatcttctcgcgaacgcgtcagtggtgatcattactcctggtgagcagagatgccattgctgtggaagctgcctg
cactaatgttccggcgtattttctgtatgtctctgaccagacaccatcaacagttatttttcccatgaagacggtacgcgactggcgtg
agcatctgtcgcgcaatgggtgacacgaatcgcgtgttagcgggcccattaaagtctgtctcggcgcgtctgtcgtctgtgctgtgcata
aatatctcactcgaatcaattcagcgtatgcggaacggggaagcgcactggagtgccatgtcgggttttcaacaaacatgcaaatgctg
aatgagggcatcgttccactgcatgctgttgcgaacgatcagatggcgtggcgcaatgctgcgccattaccgagtcgggctgcgc
gttgggtgcgatatctcgtatgtggatagcagcgaacgagctcatgttatatcccgcgtcaccaccatcaaacaggattttcgc
ctgctggggcaaacacgctggaccgttgcgtgcaactctcagggccagcggggaagggcaatcagctgttcccgtctcactggtg
aaaagaaaaaccaccctggcggcccaatcagcaaacccctctcccgcgcgttggccgattcattatgacgtggcacgacaggtttccc
gactggaaaagcggcagtgagcgaacgaattatgtgagttagcgcgaattgatctg (SEQ ID NO: 89)

도면62



도면63a

1-

aaggcgagctcaacgatccggctgctaacaagcccgaagggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataacc
 ccttggggcctctaaccgggcttggagggtttttgctgaaggagggaactatataccggatataccgcaaggccggcagtagccgat
 aaccaagcctatgctacagcatccagggtgacgggtccgagagtgacgatgagcgattgttagatttatacacgggtcctgactcggt
 agcaatttaactgtgataaactaccgcatataagcttatacgatgataagctgtcaaacatgagaatttaattctgaagacgaaggccctgtg
 atacgccattttttaggttaattgtatcgtataataatggtttcttagacgtcaggtggcaattttcggggaaatgtgcggaacccctattgtt
 attttctaatacatcaataatgtatccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaagggaagatgtattgaacaa
 gatggattgcacgcaggttctccggccgttgggtggagaggctattcggctatgactgggcacaaactgacaatcggctctctgatccg
 ccgtgttcggctgctacagcgagggggcccggttcttttgaagaccgacctgtccgggtccctgaaatgaactgcaggacgaggcagc
 gcggtatcgtgctgcccacgacggggttcttgcgcagctgtgctcagctgttctacgtgaagcgggaaggagctggctctattggg
 cgaagtgcggggcgagatctctgtcatcaccctgtcctcgcgagaaagtatccatgagctgcatgcaatgcccggctgcatcagc
 ttgatccggctaccctgccattcgaccaccaagcgaaacatcgcatcgagcgggcacgtactcggatggaaaggccgttctgtcatcagga
 tgatctggcgaagagcatcaggggctcgcgccacccgaactgttccaggctcaaggcgcatgcccgcagggcgaggatctcgtc
 gtgacacatggcgatccgtcttgcgaataatcatggtgaaatggccgctttctggattcatgactgtgcccgtggtgtggtggcga
 ccgtatcaggacataagctgtgctaccctgtatattgtgaagagcttggcggaatgggtgaccgttctcgtgtttacgggtatcgc
 cgctcccgattcgcagcgcacgtccctctatcgccttctgacgagttcttctgagcgggactctgggttcgaatgaccgaccaagcgac
 gccaaactctgacaccaagttaactcatatatacttagattttaaaacttattttaaaaggatctagggtgaagatccttttgataatct
 catgaccaaaactccttaacgtgatttctgtccactgagcgtcagaccccgtagaanaagatcaaaagatcttctgagatcctttttctgcg
 cgtaatctgtgcttgcacaacaaaaaacccaccgctacagcgggtgtgttcttgcggatcaaggagctaccaactcttttccgaaggtaact
 ggcttcagcagagcgcatatacaatactgtcttcttagttagccgtatgtagccaccactcaagaactctgtgacaccgctcatatc
 ctgctctgtaactcctgttaccagtggtcgtcgtccagtgccgataagctgtcttaccgggttggactcaagacgatattaccggataag
 gcgcagcgggtcgggtgtaacggggggttctgtcacacagcccagctgtgagcgaaacgacctacaccgaactgagatcctacagctg
 agctatgagaaagcgccacgtctccgaaggagaaaggcgacaggtatccggttaagcggcaggggtcggaacagagagcgccagc
 agggagcttccagggggaacgcctgggtatctttagtctgtcgggttccaccctctgactgagcgtcgtatgttctgtatgctcgtcagg
 gggcgggagcctatggaaaaacgcagcaacgcggccttttaccggttcttgcgttcttctgacatgttcttctcgtat
 cccctgattctgtgataaccgtattaccgctttagtgagctgataccgctcgcgcagccgaacgaccgagcgcagcgagtagtgag
 cgaggaagcggaagagcgccctgatcggttatttctcttaccgcatctgtcgggtatttccacaccgcaatgggtgcaactctcagtacaatctgct
 ctgatccgcatagttaagccagtatacactcgcctacgtctacgtgactgggtcatggtcgcgcccgcacaccgccaacaccgctgac
 gcgccctgacgggcttctgtctccgggcatccgtctacagacaagctgtgaccgtctccgggagctgcatgtgtcagaggtttaccgtc
 atcaccgaacggcgagcgagctgcgttaaaagctcatcagcgtgtgtcgtgaagcgattcacagatgtctgctgttcatccgctccagc
 tctgtgagtttctccagaagcgttaattgtctggtctgataaaaggcccatgttaaggggcggttttttctgttgggtactgagctcctcgt
 aagggggatttctgtcatgctgggttaattgataccgatgaacgagagagagatgctcacgatacgggttactgatgatgaacatgccgggtta
 ctggaacgtgtgtgagggtaaacactggcggtatgagtgccgggaccagagaaaaatcactcagggctcaatgccagcgtctgttatt
 acagatgtaggtgttccacagggttagccagcagcatcctgcgatgcagatccggaacataatgtgcaaggcgctgacttccggtttcca
 gactttacgaacacggaacccaagaccattcatgttgtctcaggctgcagacgttttgcagcagcagtcgtctacgttctcgtcgtgta
 tctgtgtattctgtctaaccagttaaggcaaccccgccagcctagccgggtcctcaacgacagagcagcatcgcacccgtgccc
 aggacccaacgctgccgagatgcgcgcgtgctgctggagatggcggacgcgagatgttctccaagggttgggttgcgcat
 tcacagttctccgcaagaattgattgcttcaatcttggagtggtgaaatccgttagcagagtgccggcggttccattcaggtcgaggtggc
 ccggctcatgcaccgcgacgcaacgcgggggagcgacagaaggtataggcgccctacaatccatgccaacccgttccatgtgtc
 gccgagggcgccataatcgtcgtgacgatcagcgttccaatgatcgaagttaggctgtgaagacccgcgagcgatcctgaagctgtccc
 tgatgtctgtcatctactcgtcgtgacagctgacctgcaacgcgggcatcccgatgccgggaagcgagaagaatcataatggggaa
 ggccatccagcctcgtcgcgaacgcagcgaagacgtagcccagcgcgtcggcccatgccggcgataatggcctgttctcgtccg
 aaacgtttgtggcgggaccagtgcgaaggtcgtgagcggcggtgcaagattccgaataccgcaagcgacagggcgtatcgtcgc
 gctccagcgaaagcgctctcgcggaaatgaccagcagcgtgcgggcacctgtctacgagttgcatgataaagaagacagtcataag

도면64a

1-

aaggcgagctcaacgatccggctgctaaacagccgaaaggagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactagcataacc
 ccttggggccttaaacgggtctttaggaggtttttgctgaaggaggaactatataccgatalaccgcaaggccggcagtagccgcat
 aaccaagcctatgctcaccagcagcaggggtgacgggtgacggatgacgagcattgttagatttcatacacgggtgctgactgcgtt
 agcaatttaactgtataaactaccgcatlaaagcttaicgatgataagctgtcaacatgagaattattcttgaagacgaaaggccctctg
 atacgctatctttttaggttaatgcatgataaataatggttcttagacgctcaggtggcacttttggggaaatgtgcgaggaaacccctattgtt
 atttttcaatacattcaaatatgtaicgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatattgaaaaggagagtagattgaacaa
 gatgattgcacgaggttctccggccgcttgggtggagaggctattcggctatgactgggcacaaactgacaatcgctgctctgatccg
 ccgtgttcggctgtcagcgaggggccggttcttttgaagaccgacgttccgggtgcccgaatgaactgcaggacgaggcagc
 ggggtatcgtggtggccacgaggggttcttgcgagctgtgctgacgtgtgactgaagcgggaaggagtagctgtctattggg
 cgaagtgcggggcaggtatcctgtcatctaccttgcctcggcgaagatccatcatggtgcatgcaatgcggcgctgcatacgc
 ttgatccggtacctgccattcgaccaccaacgcaacatcgcatcgagcgggcacgtatcggatggaagccggttctgctgatcagga
 tgatctgacgaagagcatcaggggctcgcgccacccgaacgttccgagcctcaaggcgcgcatgcccgacggcgaggatctcgtc
 gtgacacatggcgatgctgctgcccgaatatcgttggaatggccgcttttctggtatcagcactgtgcccggctgggtgtgcccga
 ccgctatcaggacatagcgttggctaccgtgataatgctgaagagcttggcggcgaatgggtgacccgttctcgtgttcttaccggtatcgc
 cgtctccgattcgacgcatcgcttctatcgccttctgacgagttcttctgagcgggactctgggttcgaaatgaccgaccaagcgac
 gcctaactgtcagaccgaagtattcatatatactttagattgatttaaaactcatttttaattlaaaaggatcaggtgaagatccttttgaatact
 catgaccaaaactccttaacgtgagtttcttccactgagcgtcagacccttagaanaagatcaaggatcttctgagatccttttttctgcg
 cgtaatctgctgttgcacaacaaaaaacccacgctacacgggtggttcttccggtcaagagctaccaactcttttccgaaggtaact
 ggcttcagcagagcgagataccataactgtcttcttagtagcgttagtgccaccactcaagaactctgtagcaccgcctacatac
 ctgctctgctactcctgttaccagtggtgtcgtccagtgccgataagctgtgttaccgggttggactcaagacgatattaccggataag
 gcgcagcgggtcgggctgaacgggggttctgtgcacacagccagcttggagcgaacgacctacacgaactgagatacctacagcgtg
 agctatgagaagcgccacgcttcccgaaggagaaaggcgcaggtatccgtaagcggcagggctggaaacaggagagcgcacg
 agggagcttccaggggaaacgctgtatctttatagtcctgtcgggttccgaccctctgacttgagcgtcgaattttgtgatgctcgtcagg
 gggcgggagcctatgaaaaacgccagcaacgcggccttttaccggttctgctgcttctgctgcccctttgtctacatgttcttctgcgtat
 cccctgattctgttgataaccgttattaccgctttagtgagctgataccgctcgcggcagccgaacgaccgagcgcagcagtgatgag
 cgaggaaagcggaagagcgctgatgcggtatttctcttaccgcatctgtcgggtatttcacaccgcaatgggtcactctcagtaacatctgct
 ctgatgccgataagccaggtatacctcgcctacgctactgactgggtcatggtcgcggccgacaccgcccaacaccgctgac
 gcggcctgacgggctgtctgtcctccgcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctcgggagctgcatgtgtcagaggttttaccgct
 atcaccgaacgcgcgagcgagctgcggtaagctcatcagcgtgtctggaagcgatcacagatgtctgctgttaccgctcagc
 ctgttgatttctccagaagcgtaattgtctgcttctgataaaagcgggccatgtlaaggcggttcttctgttgggtcactgatccctcgtgt
 aagggggatttctgttcatggtgggttaatgataccgatgaacgagagaggtatgctacgatacgggttactgatgatgaacatgccgggtta
 ctggaacgttgtgagggttaacaaactggcggtatggatgcggcgggaccagagaaaaatcactcagggtcaatgccagcgcttctgtaat
 acagatgtatgtgttccacagggtagccagcagcatcctgcgatgcagatccggaacataatgtgtcaggggcgctgacttccggtttcca
 gactttacgaacacggaacccgaagaccattcatgttgttctcaggtgcagacgttctcagcagcagtcgttccacgttctcgtcgtgta
 tcggtgatttctgttaaccagtaaggaaccccgccagcctagccgggtcctcaacgacagggagcagcatcgcgacccgtggcc
 aggaccacacgctgcggagatgcggcggtgcgtgctgctgagatggcgagcggatggatattgttctccaaagggttgggttgcgcat
 tcacagttctccgaagattgattggctccaattcttggaggtgtgaaatccgttagcagggtgcccgggttccattcaggtcaggttggc
 ccggctcatgcaccgcgacgcaacgcggggagggcagacaaggtataggcgggcctacaatccatgccacccgcttcatgtgctc
 gccgagggcgccataaactgccgtgacgatcagcgggtccaatgacgaagttaggctgtgtaagagccgcgagcagatccitgaagctgtcc
 tgatgtctcatctacctgctgacagcatggcgtcaacgcgggcatcccgatgccgggaagcgaagaagaatcataatggggaa
 ggccatcagcctcgcgtcgcgaacgccagacgtagccagcgcgtcggccgcatgccggcgaataatggcctgtctcgtccg
 aaacgtttgtggcgggaccagtgacgaagcgttgagcagggcggtgcaagattccgaataccgaagcgacagggccgatcatcgtcgc
 gctccagcgaaagcggtctcgcggaaaaatgaccagagcgtcggcgacctgtctacgagttgcatgataaagaagacagtcataag

도면65a

1-

aaaggcgagctcaacgatccggtgctgtaacaaagcccgaaggagctgagttgctgctgccaccgctgagcaataactagcataacc
ccttggggccctctaaacgggctctgagggagtttttctgaaaggagggaactatataccggatataccgcaaggagccggcagtagccgat
aaccaagcctatgctacagcatccagggtgacgggtgcccggatgacgatgagcgattgttagattacacacgggtgctgactgcgtt
agcaatttaactgtgataaactccgcattaaagcttatacgtgataagctgtcaaacatgagaatttaattctgaaagacgaaaggccctcgtg
atacgcctattttataggttaaaigcatgataataatggttcttagacgtcagggtggcacttttcggggaaatgtgcgcggaacccctatttctt
attttctaaatacatcaaatatgtatccgctcatgagacaataacccgtataaatgcttcaataatgaaaaagggaagagatgattgaacaa
gatggattgcacgcaggtgtctcggccgttgggtggagaggctattcggctatgactgggcacaaactgacaatcggctgctctgatccg
ccgtgttccggctgctgacgcgaggggccgcccgttctttgtcaagaccgacctgtccggtgacctgaatgaactgcaggacgaggcagc
gcggctatcgtggtgctgccacgacggggttcttgcgcagctgtgctgcacgttgtcactgaagcgggaaggagctggtgctatggg
cgaagtgcggggcagatctcgtctatcactgtgctcctgcccagaaagtatccatcatggtgatgcaatgcggcggtgctgcatagc
ttgatccggctaccctgccattcgaccaccaagcgaaacatcgatcgagcgggcacgtactcggatggaagccggtcttctgcatcaggga
tgatctgacgaagagcatcagggtgctgcgccagccgaactgttcggcaggtcaaggcgcgcgatgccgacggcgaggatctcgtc
gtgacacatggcgatgcttgccttgcgaataatcatggtggaaaalggccgttcttctggaattcactgactgtgcccgtggtgtggtcggga
ccgctatcaggacatagctgttgctaccctgtgatattgtgaagagcttggcgcggaatgggctgaccgcttctcgtgttttaccggtatcgc
cgctccggtatcgcagcgccttctatcgccttcttgacgagttcttgagcgggactcgggttgcgaatgaccgaccaagcgac
gcttaactgtcagacaaggttactcatatatactttagttgatttaaaacttcattttaatttaaaagatctaggtgaagatccttttgaataat
catgacaaaatcccttgaacgtgagtttcttccactgagcgtcagaccccgtaaaaaagatcaaaaggatcttctgagatcctttttctgcg
cgtaatctgctgtctgcaacaaaaaaacccagcgtaccagcgggtgttcttgcggatcaaggactaccactcttttccgaaggtaact
ggcttcagcagagcgcagatacacaataactgtctcttagttagccgttagttagccaccacttcaagaactctgtagcaccgcctacatac
ctcgtctgttaactcgttaccagtggtgctgctccagtggtgcgataagctgtgttaccgggtgactcaagacgatagttaccgataag
gctgcagcgggtggtgtaacgggggtgctgacacagcccagcttgagcgaacgacctacaccgaactgagatcctacagcgtg
agctatgagaagcggccacgttcccgaaaggggagaaaggcgcagaggtatccggttaagcggcaggggtcggaacagggagagcgcacg
agggagcttcagggggaaacgctgtatctttagtctgtcgggttccgacctctgacttgagcgtcgtattttgtgatgctcgtcagg
ggggcgaggcctatggaaaaacgccagcaacgcggccttttaccggttctggtcgttcttctgacatgttcttctgctgtat
cccctgattctgtgataaccgtattaccgctttagtgagctgataccgctcggcagccgaacgaccgagcgcagcagtcagtgag
cgaggaagcgggaagagcgtgatgctgttcttcttaccgcatctgtgctgtatttcacacgcgaalgggtgactctcagtacaactctgct
ctgatccgcatagttaaaggcagatacactccgctatcgtactgactgggtcatgctgcgcccgcacaccgcccaacaccgctgac
gcgccctgacggggttctgtctccggcgtcgttaccagacaagctgtgacgctcgggagctgcatgtgtcagaggtttaccgtc
atcacggaaacgcgcgagcgagctgctggttaaagctcatcagcgtgtgtcgtgaagcgattcacagatgtctgcttctcctccgctccagc
tctgtgagtttctccagaagcgttaattgtctgcttctgataaagcgggcccgtttaaaggcggttttctggttggctactgatcctccgtgt
aagggggtatttctgtcatgggggttaattgataccgataaagcagagaggtgctcacgatacgggttactgatgatgaacatgccgggtta
ctggaaggttgtgagggtaaaactggcggtatgagcggcgggaccagagaaaaaacactcagggtcaatgccagcgttctgttaat
acagatgtaggtgttccacagggtgacagcagctctgctgagatccggaaacataatggtgcaggcgctgacttccggttcca
gactttacgaacacggaaacggaaacacattcatgttgtgctcaggtcgcagacgttttgcagcagcagctgcttccgctcgtcgtcgt
tcggtgtattctgtctaaacgataaggcaaccccgccagcctagccgggttctcaacgacagagcagcatatcgccacccgtggcc
aggacccaacgctgcccagatgcccgcgtgctgctgagatggcgagcgcgatgatagttctgccaagggttgggttgcgcat
tcacagttctccgaagaattgattggctccaattctggagtggtgaaatccgttagcgaggtgcccggcttccattcaggtcaggtggc
ccggctccatgcacgcgcgcaacgcggggagcagacaaggatagggcgccctacaatccatgccaaaccgttccatgtgctc
gccgagggcgataaactgcgtgacgatcagcgttccaatgatcgaagttagctgtaaggccgagcgcgatccttgaagctgtccc
tgatgctgtcatctacttgcctggacagcatggcctgcaacgcggcatcccgatccggcggaaagcagagaagaatcataatggggaa
ggccatccagcctcgtcgtcgaacgccagcaagcgtgcccagcgcgtcggccgatgccgagataatggcctgttctcgtccg
aaacgttgggtggcgaccagtgacgaaggcttgagcggaggcgtgcaagattccgaataccgaaagcagagccgatcatcgtcgc
gtccagcgaagcgggtcctcgcggaataatgacccagagcgtgcccggcactgtctacgattgcatgataaagagacagtcataag

도면66a

1-

aaggggcagctcaacgatccggctgctaacaagcccgaaggagctgagttggctgctccaccgctgagcaataactgcataacc
ccttggggccttaaacgggtcttgaggagtttttctgaaaggaggaaactatataccgatatccgcaaggcccgagctaccggcat
aaccaagcctatgectacagcatccagggtgacgggtccgaggatgacgatgagcgattgttagattcatacacgggtgctgactcgtt
agcaatttaactgtgataaactaccgcatfataagcttctcgtatgataagctgtcaaacatgagaattattctgaaagcgaaggccctcgtg
atacgctattttatagggttaatgcatgataataatggttcttagacgtcaggtggcacttttcgggaaatgtgcgcggaaccctattgttt
atttttcaaatcattcaaatatgtaiccgctcatgagacaataaccctgataaatgcttcaataatftgaaaagggaagagtattgaacaa
gatgalltgacacgaggttctccggccgcttgggtggagaggctattcggtatgactgggcacaaactgacaatcggtgctctgatccg
ccgtgttccggctgctcagcgagggcgcccggttcttttctcaagaccgacctgtccggttgccttgaatgaactgcaggacgagcgacg
gcggctatctgctgctgcccagacggcggttcttgcgcagctgtgctcgtgactgaaagggaaggagctgctgtattggg
cgaagtgcggggcaggatctcctgcatctcacttgcctctgccgagaagtatccatcatgctgatgcaatgcggcggtgcatacgc
ttgatccggtactcctccatcggaccaccaagcgaacatcgcacgagcgggcagctactcggatggaagccggtcttctcgtatcaggga
tgatctggacgaagacatcaggggctcgcgcagccgaactgttcgacggctcaaggcgcatgcccagcgagggatctcgtc
gtgacacatggcgatgctgcttgcgaatfatcgttggaatggccgttttctggattcactgactgcccggctgggtgtgctgga
ccgctatcaggacatagcgttggctaccctgatalgtctgaagagcttggcggaatgggtgaccgcttctcgtctttacgggtatcgc
cgctccgattcgcagcgctcgttcttctcgttcttgcaggttcttgcagcgggactctgggttgcgaatgaccgaccaagcgac
gcctaactgtcagaccaaagttaactatatacttttagattgatttaaaacttcttttaatttaaaaggatctagggtgaagatcttttgaatct
catgaccaaaatccctaacgtgagtttcttccactgagcgtcagaccctgtagaanaagatcaaaagatcttctgagatcttttttctcgc
cgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccccgctaccagcggtgtgttcttgcggatcaagagctaccacacttcttccgaaggtaact
ggcttcagcagagcgagataccaataactgtcttctagtgtagccgttagtgtagccaccacttcaagaactctgtagaccgctacatac
ctcgtctcgtactcgttaccagtgtgctgctcgcagataagctgtgtcttaccgggttgactcaagacgatagttaccggataag
gcgcagcggtcgggtgacgggggttctgtcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccgaactgagatacctacagctg
agctatgagaaaagcgcacgcttcccgaaggagaaaagcgagacaggtatccggttaagcggcagggtcggaaacagagagcgacac
agggagcttccaggggaaacgcctgttatctttagtctgtcgggttccgacctctgacttgagcgtcgtatgtttgtatgctcgtcagg
ggggcgagcctatgtaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttctcgtcgttcttctcgtcgttcttctcgttcttctcgttct
cccgtgattctgttgataaccgtattaccgctttagtgagctgataccgctcgcgcagccgaacgaccgagcgagctcgtcgtatgag
cgaggaaagcggaagagcgctgagtcggtatttcttcttctacgcatctgtgcgttatttcacaccgcaatggtgcactctcagtacaatctgct
ctgatccgcatagttaagccagataactccgctatcgtactggttcatgctgcgccccgacaccgccaaacacccgctgac
gcgcccgtacggcctgtctcctccgcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctccggagctgcatgtgtcagagggttttaccgtc
atcacgaaaacgcgcgagcgagctgcggtaaacctcatcagcgtgtcgtgaagcgattcacagatgtctgctgttcatccgctccagc
tcgttgagtttctccagaagcgttaattgtctgcttctgataaaagcgggcctatgtaaggcggtttttctctgttggctactgatccctcgtgt
aagggggatttctgttcatggggttaatgataccgatgaacgagagaggtgtcacgatacgggttactgatgaatgacatgcccgtta
ctggaacgttgtaggggtaaacactgcgggtatgtagggcgagacgagaaaaatcactcagggtcaatgccagcgcttcgttaat
acagatgtagggttccacagggtagccagcagcatctcgtatgcagatccggaacataatggtgcaggcgctgacttccgcttcca
gactttacgaaacacggaaaccgaagaccattcatgttgttctcaggtcgcagacgttttgacgacgagtcgcttcacgttctcgtcgt
tcggtgattcttctgtaaacagtaaggcaacccccagccctagccgggtcctcaacgacagagcacgatcgcgcaccgtgccc
aggaccacacgctccccgagatgcgcgcgtgcggctgtggagatggcgacgcgatggatgttctgccaagggtgtgttgcgcgt
tcacagttctccgcaagattgattggctccaattcttggagtggtgaatccgttagcgaggtgccggcgcttccattcaggtcgaagtggc
ccggctccatgcaccgcgacgcaacgcgggagggcagacaaggataggcgccctacaatccatgccaaccgttccatgtgtc
gccgagggcgataaatcgccgtgacgatcagcgggtccaatgatcgaagttaggtgtaagaccgcgagcgatccttgaagctgtccc
tgatggtctctatctactcgtcgtgacagcagtgccgtgcaacgcgggcacccgatcccggaagcgagaagaataataatggggaa
ggccatccagcctcgcgtcgcgaacgcagcaagacgtagccagcgcgtcggccgcatgccggcgataatggcctgcttctcgcgc
aaacgtttgttgcgggaccagtgacgaagcgttgagcgaggcggtgcaagattccgaataccgcaagcgacaggccgatcgtcgc
gctccagcgaaagcggtcctcgcggaatgaccagagcgctgcggcacctgtctacgagtgatgataaagaagacagtcataag

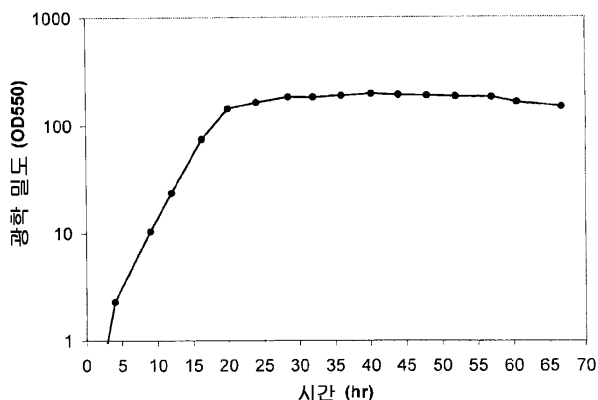
도면 66b

[illegible]

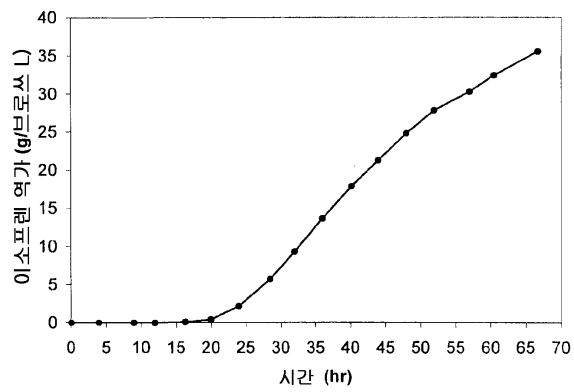
도면 66c

tgcgctgaccgctccggaaaaatgcaaccaagtggcagaaagcggtagcaggcgctggcggtaaagtgactatcactaaaccgaccgag
caaggtctgaaagtagattaa (SEQ ID NO:93)

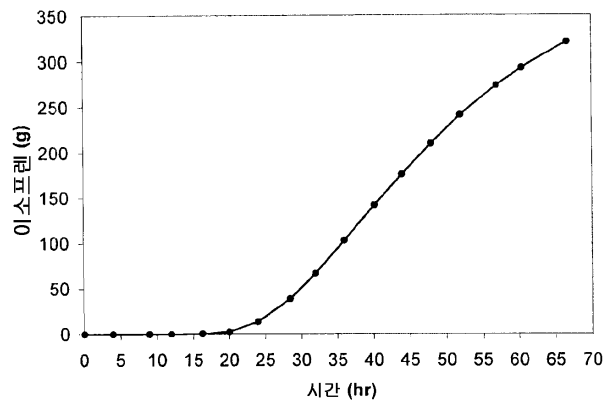
도면67a



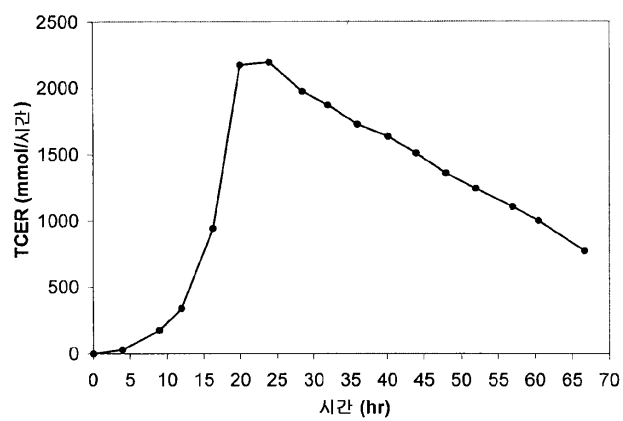
도면67b



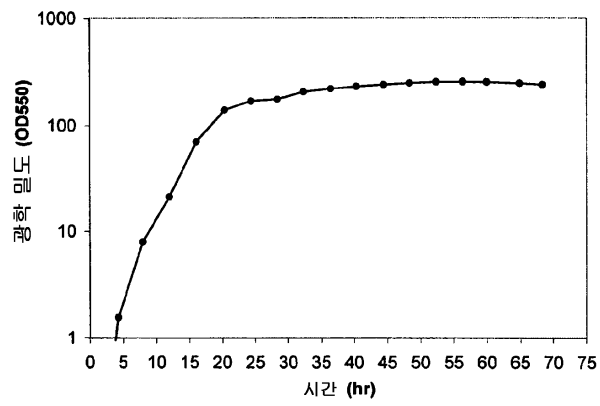
도면67c



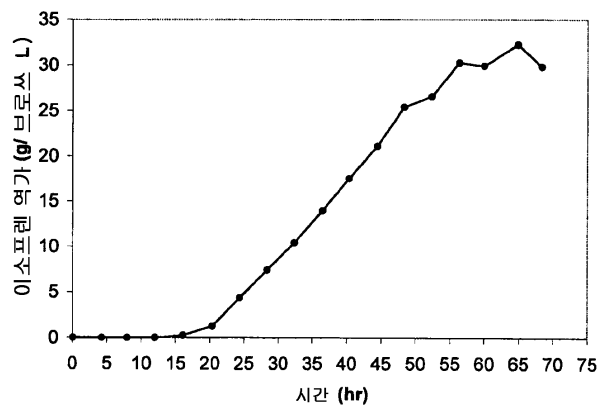
도면67d



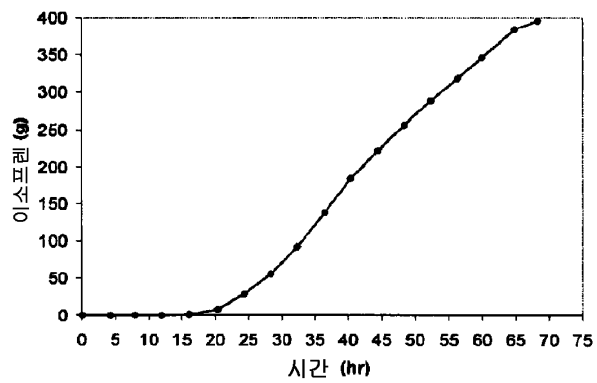
도면68a



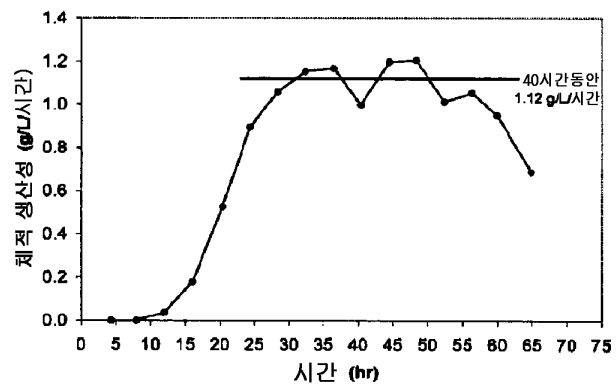
도면68b



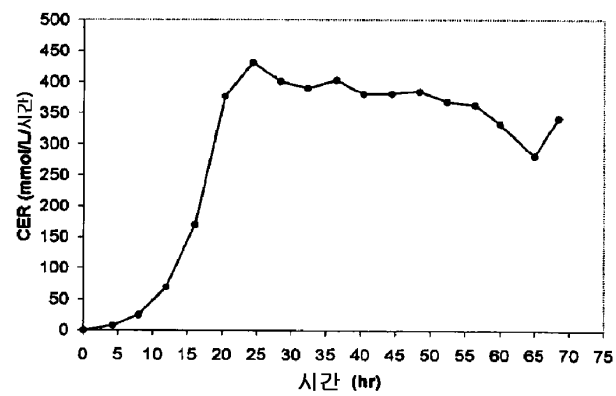
도면68c



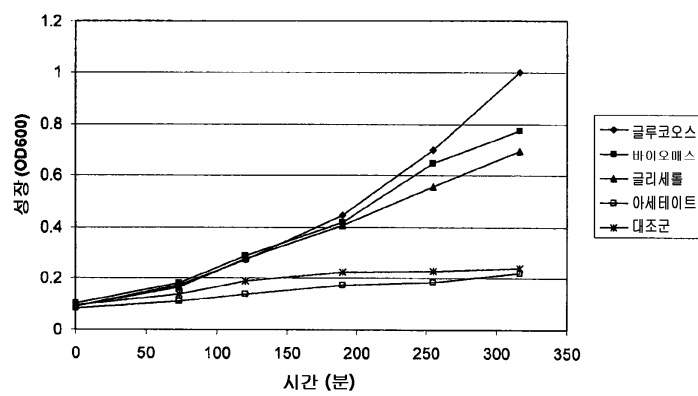
도면68d



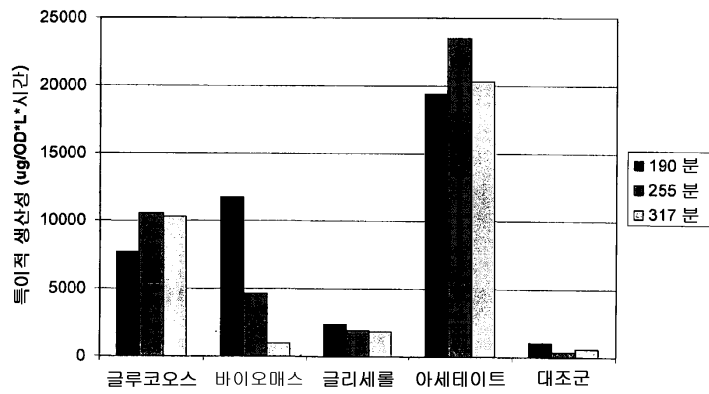
도면68e



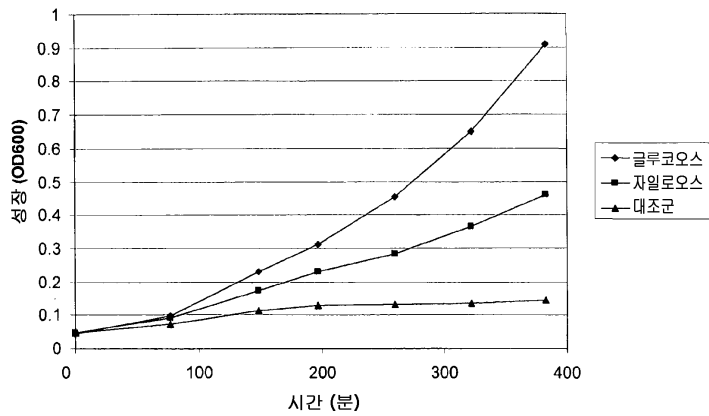
도면69a



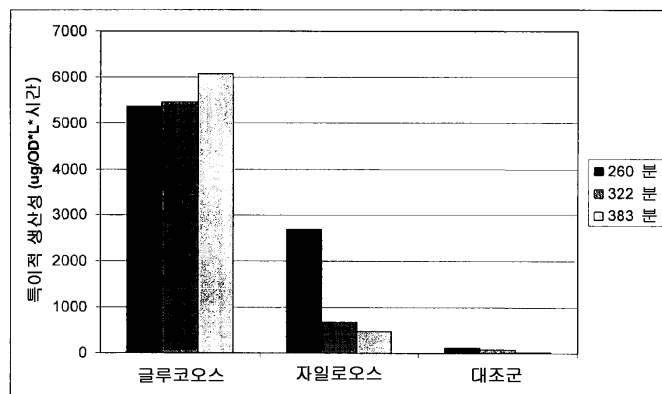
도면69b



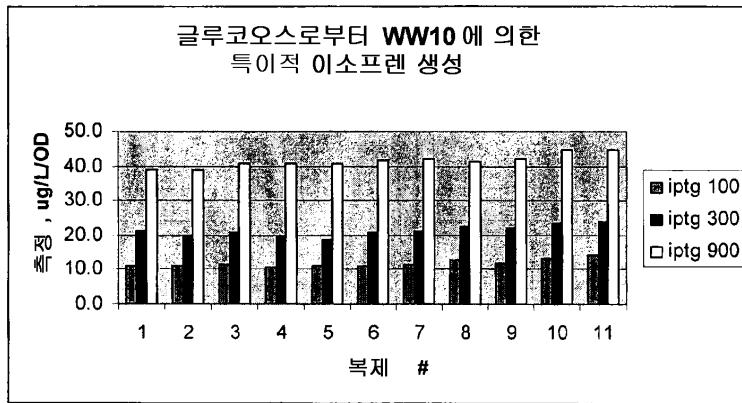
도면69c



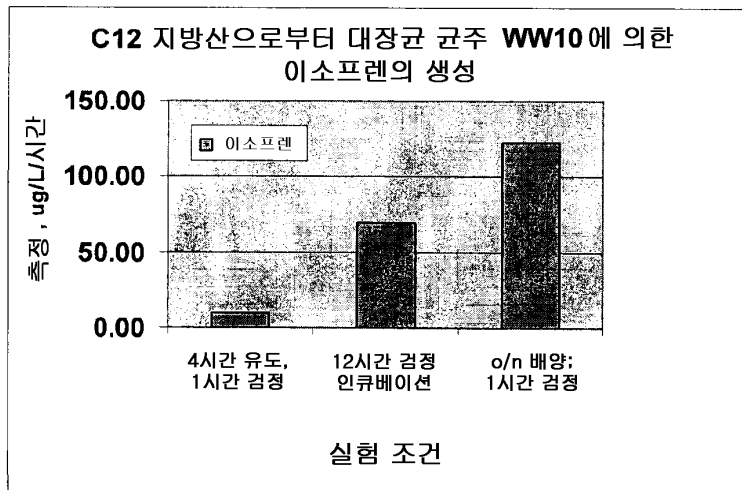
도면69d



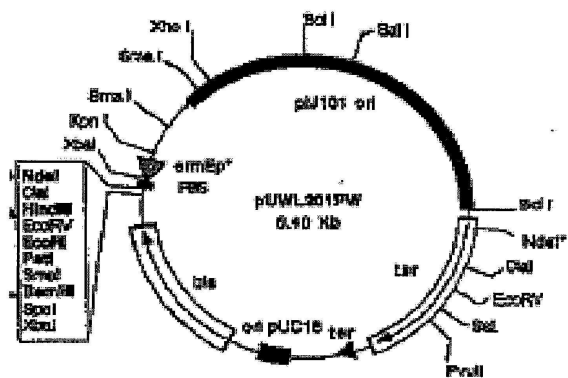
도면70a



도면70b



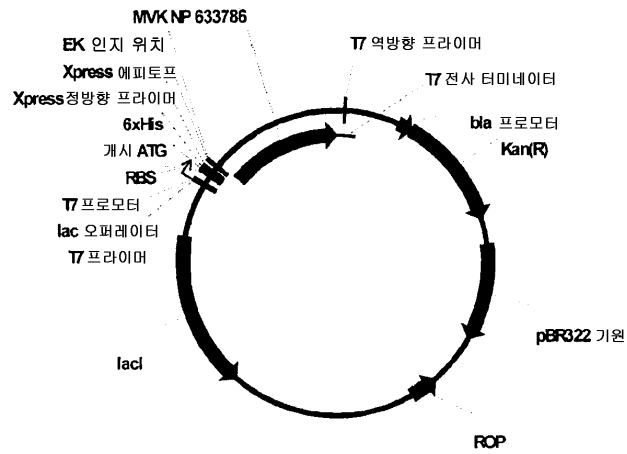
도면71



도면73c

cctgcacaactctccagtagtggttaactggtggacccggaatacctggagcagcggttttaacgtaaggacctctcctg
ccgggcaacgctctgtaagcttcaacgcgtctacaataaaaaaggcacgtcagatgacgtgcctttttctgtctaga
(SEQ ID NO:113)

도면74a



M.마제이 고세균성 Lowerin pET200D로부터의 MCM376 - MMK
6647 bp

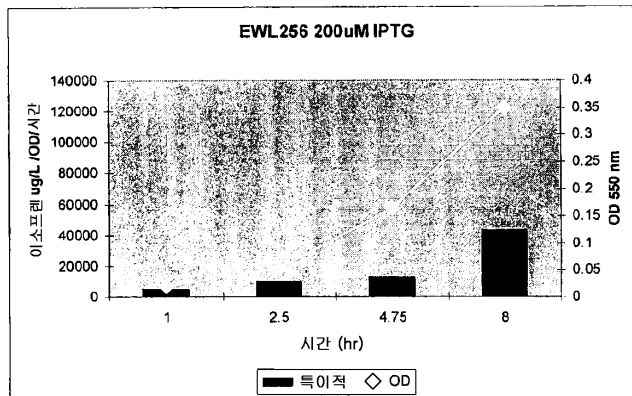
도면74b

aaaggcgcagctcaacgatccggctgctaacaagcccgaagggaagctgagttggctgctgccaccgctgagcaataactag
cataaccccttggggcctctaacaagggtcttgaggagtttttctgaaggagggaactatatccggatatcccgcaaggaggccc
ggcagtlaccggcataaccaagcctatgctacagcatccagggtgacgggtgccggaggatgacgatgagcgcatgtttagatttc
atacacgggtgacctgactgcgttagcaatttaactgtgataaactaccgattaaagcttatcgatgataagctgcaaacatgagaa
ttaattcttgagacgaaaaggccctctgatacgcctattttataggtaatgtcatgataaataatggtttcttagacgtaggttgca
cttttcggggaatgtgcgcgggaacccctatttgtttttctaaatacatcattcaaatatgatccgctcatgagacaataacccctgat
aatgcttcaataatattgaaaaagggaagagatgattgaacaagatggattgcacgaggttctccggccgcttgggtggagag
gctatttcggctatgactgggcacaactgacaatcgctgctctgatccgccgtgttccggctgtcagcgagggggcccggt
tctttttgcaagaccgacctgtccgtgcccgaatgaactgcagggacgagggcagcgccgctatggtgctggccacgacgg
cggttcttcctgcgagctgtgctgcaggttgactgaagcgggaaggagctggtctgattggcggaagtggcgggcaggat
ctcctgtcatctcacttgcctcctgccgagaagatccatcatggctgatgcaatcgcgcgctgcatacgttgcctcggctac
ctgcccattcgaccaccaagcgaaacatcgatcgagcgggcacgtactcggatggaagccggcttctgcatcaggatgatct
ggacgaagagcatcaggggctcgcgccagccggaactgttcgccagcgctcaaggcgccgcatgcccagcgcgaggatctcgt
cgtgacacatggcgatgctgcttgcgaatatcatgttggaataatggccgttttctgattcatcagctgtgcccggctgggtg
tggcggaaccgtatcaggacatagcgttggctaccctgtgattgtcgaagagcttggcggaatgggctgaccgcttccctgt
gctttacgtatcgccgctcccgttgcagcgcatcgcttctalcgcttcttgacgagttcttctgagcgggactctggggttc
gaaatgaccgaccaagcgacgcttaactgtcagaccaagtttactcatatatactttgattgattttaaacttattttaaataa
ggaatcaggtgaagatccttttgataatctatgaccaaaatcccttaacgtgagtttcttccactgagcgtcagaccccgtaga
aaagatcaaaagatcttcttgagatcccttttttctgcgctaaactgtgcttgcgaacaaaaaacaccgctaccagcggtggtt
tgtttgccggatcaagagctaccgaactcttttccgaaggtaactggttcagcagagcgagataccaaatctgtccttctagtgt
agccgtatgttagccaccactcaagaactctgtagcaccgctacatacctcgtctgctaactcgtttaccagtggtcgtcgtcc
agtgcgataaagtcgttcttaccgggttgactcaagacgatagttaccgataaggcgacggtcgggtgaaacggggg
gttcgtgacacagccagcttgagcggaacgacctacaccgaactgagatactacagcgtagctatgagaagcgccac
gcttcccgaaggagaaaggcgacaggtatccgtaagcggcaggggtcgaacaggagagcgacagggagcttcca
gggggaaacgctgtatctttatagtcctgtcgggttccacccctgactgagcgtcgtatttttgatgctcgtcagggggg
cggaacctatgaaaaacgccagcaacgcgctttttacgggttcttggccttttgcgtggttcttcttcttctcgtt
atccctgattctgtgataaccgtattaccgctttagtgagctgataccgctcggcagccgaacgaccgagcgacgga
gtcagtgagcgagggaagcggaagcgccgtgatgctgtatttctccttacgcatctgtcgggtatttcacaccgcaatggtgca
ctctcagtacaatctgctctgatccgcatagtttaagccagtataactccgctatcgtacgtgactgggtcatggtcgtcggccc
gacacccgccaacaccgctgacgcgcccgtgacgggcttgcgtcctccggcatccgcttacagacaagctgtgaccgtctcc
gggagctgcatgtgtcagagggtttaccgtcatcaccgaaacgcgcgagggcagctgcggttaaagctcatcagcgtggtcgtg
aagcgattcacagatgctcgttcttaccgctcagcgtcgttgaagtttctcagaagcggttaatgtctggttctgataaagg
gccaatgtaaggggcggttttttctgttggctactgacccctcgtgtaaggggggaatttctgttcatggggtaatgataccgatga
aacgagagaggatgctcagatacgggttactgatgatgaacatgcccgttactggaacgttgtgagggttaaacactggcg
gtatggatgcggcgaccagagaaaaatcactcagggtcaatgccagcgcttctgtaatacagatgtaggtgttccacagggt
agccagcagcatcctgcgatcagatccggaaacataatgggtgcagggcgctgacttccggtttccagactttacgaaacacgg
aaaccgaagaccattcatgttgttctcaggtgcagacgttttgcagcagcagtcgttccagcttgcgtcgtcgtatcgggtattca
ttctgtaaccagtaaggcaaccccgccagcctagccgggtcctcaacgacagggacacgatcatgcgacccgtggccagg
acccaacgctgcccagatgcggcgctgtgaggatggcgagcgcgatgataatgttctgccaagggttgggttgc
gcattcacagtctccgcaagaattgattggctccaattcttggagtgggaatccgttagcgagggtgcccggcttccattcagg
tcgagggtggcccggctccatgcaccggcagcgaacgcggggagggagacaaggtataggcgcgccctacaatccatgcc
aacccgttccatgtgctcggcgaggcgcataatcgccgtgacgatcagcggttccaatgacgaagttaggctgtgaagac
cgcgagcgtatcctgaagctgtccgtgatgtcgtcatctacctgctggacagcatggcctgcaacggggcatcccgatgcc
gccggaagcgagaagaataatggggaaggccatccagcctcgcgtcgcgaacgccagcaagacgtagcccagcgct

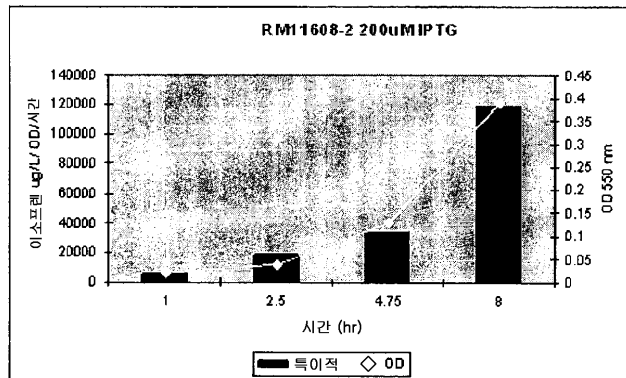
도면74c

cgccgccatgccggcgataatggcctgcttcgccgaaacgttgggtggcgggaccagtgacgaaggcttgagcgagggc
gtgcaagattccgaataccgcaagcgacaggccgatcatcgtcgcctccagcgaaagcggtcctgccgaaatgacccag
agcgtgccggcacctgtctacaggttgcatgataaagacagtcataagtgccggcgacgatagtcaccccgcccca
ccggaaggagctgactgggtgaaggctctcaaggcgcatcggtcgagatccgggtgctaagtgagtgtaacttacattaatt
gctgttcgctcactgcccgcttccagtcgggaaacctgtcgtccagctgcatatgaatggccaacgcgggggagagg
cggtttgcgtatggcgccagggtgggttttctttaccagtgagacgggcaacagctgattgccctcaccgctggccctga
gagagttgcagcaagcggtccacgctggttgcgccagcggaatactgtttgatgtgttaacggcggggataaacat
gagctgtcttcggtatcggtatccactaccgagatattccaccaacgcgcagccggactggtaatggcgcgcatggcg
cccagcgccatgatgttgcaaccagcatcgagtggaacgatgccctcattcagcattgcatggtttgtgaaaaccgg
acatggcactccagtcgcttccgctatcggtgaatttgatggagtgatattatccagccagccagacgcaga
cgcgccgagacagaactaatggcgccgctaacagcgcgatgttggtgacccaatgcgacagatgctccagccagtcg
cgtaaccgtcttcagggagaaaaataactgttgatgggtgtgtgtcagagacatcaagaaataacgcgggaacattagtgcag
gcagcttccacagaatggcatcctgtcatccagcgatagttaatgatcgccactgacgcgttgcgcgagaagattgtgc
accgcgcttaccaggttcgacgcgcttcttaccatcgacaccacgcgtggcaccagtgatcgcgcgagatttaa
tcgcgcgcgacaattggcgacggcggtgcagggccagactggaggtggcaacgccaatcagcaacgactgtttgccgccag
ttgtttgccacgcgggtgggaatgaattcagctccgccatcgccgttccacttttcccgcttttcgcgagaacgtggctggc
ctggctcaccacgcgggaaacggtctgataagagacaccggcctacatctgcgacatctgataacgttactgttccacattacca
ccctgaattgactcttccggcgctatcatgccataccgcgaaaggttttgcgcattcaggtgttcgggatctcgacgtct
cccttatgcgactcctcattaggaagcagccagtagtaggttgaggccgttgagcaccgcggccgcaaggaaatggtgcag
caaggagatggcgcccaacagtccccggccacggggcctgccaccataccacgcggaacaagcgctcatgagccga
agtggcgagcccgatcttccccatgggtgatgtcggcgatagcgccagcaaccgcactgtggcgccggtgatccggc
cacgatgcgtccgctgtagggatcgagatctgatcccgaaatatacgaactcactatagggaattgtgagcggaataac
aatccccctagaaaataattttgtaacttaagaaggagatatacatatgcccgggttctcatcatcatcatcatggtatggcta
gcatgactggtggacagcaaatgggtcgggatctgtacgacgatgacgataaggatcatccctaccatggtatcctgttctgc
gccgggtaagatttaccgttgcgtgaacacgcgtatgttatggcgaaactgcaattgcgtgtgcgttggaactgcgtaccgt
gttcgcgcggaaactcaatgactctatcattcagagccagatcgccgcaccgggttgattcgaaaagcacccttatgtgtc
tgccgtaattgagaaaatgcgcaaatctattcctattaacgggtgtttcttgaccgtcgattccgacatccgggtgggtccggtctg
ggttagcagcgacggcttactatcgctctattgggtgcgtgaacgagctgttcggcttggcctcagcctcgaagaaatgccta
aactgggcccagaatgaaataaagtacaggggtgccgctcccaaccgatacgtatgtttctaccttccggcggtgtgttac
catcccgggaacgtcgcaaaactgaaactccgactcgggcattgtgattggcgataccggcgttttctcctccaccaagagtta
gtagctaacgtatcgtcgtcggaagctacccggatgtgacacggctgatgacctctattggcaaaatctctctgtatcgg
cgaaacactgtgttcgtcgtgcgactacgcatccatcgcccgctgatgaacgtcaaccagggtctcctgacgcccgtggcggt
taacatctagaactgagccagctgatctattccgtcgtgcgcagggtgcgtttggcgctaaaatcacggcgctggcgccggt
ggctgtatgttcgctgaccgctccggaaaaatgcaaccaagtgggcagaagcggtgacggcgctggcggtaaaagtgactat
cactaaaccgaccgagcaaggtctgaaagttagataa
(SEQ ID NO:114)

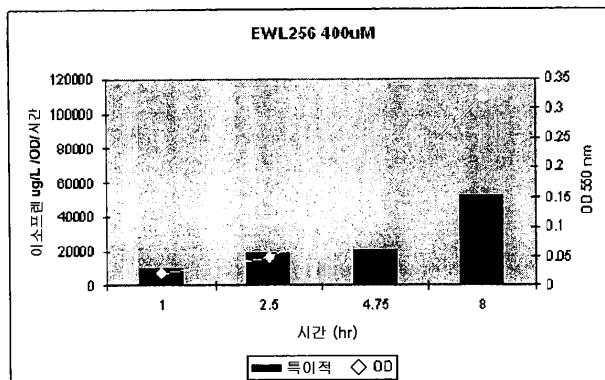
도면75a



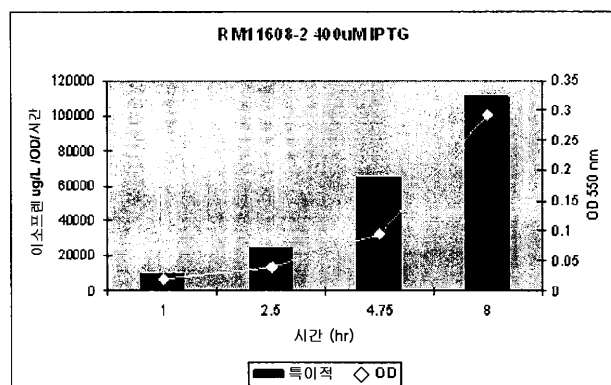
도면75b



도면75c



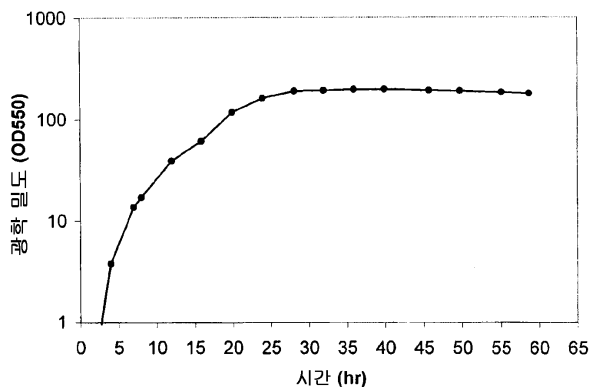
도면75d



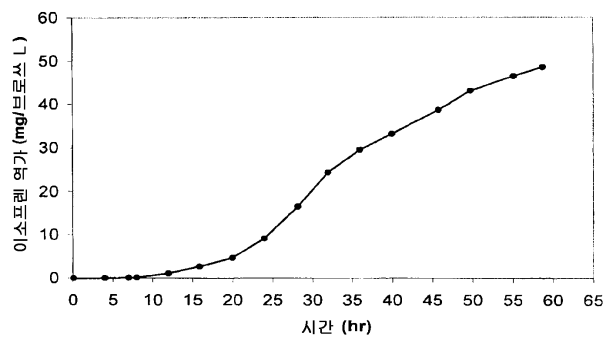
도면77b

ccggtagatattgacggaatggcaaccgtccagccctcgaccacatcgacgacgccactggcagggccatctccagacgcttacgc
tcacgttacccgcatgtaagaacctacaagaacaaactgcccctggatcggtgggaataatgctcggaactaccggcagcgacagctc
tgcggcaaaagtcagtcgcatctgctcgggcgatagatacgcagacgacgcaaaactcaggcgcaacaccaatagagataacgt
ttgtccgggctgaccacacatcgctgacactgcccggcacatcgacaacctgtgtagcgtcagtgccctcatgattcagattccagac
gtgaattgtgctcctcagggtggcgatataaactgtttgttcgaatgctcctttgggttacctccgggaaacgcggttgattgtttagt
gttgaaattatttgcacagatggcgatagtcaggcgctgacgctgctaatacaactcactatagggtcaggaattcttatacttcta
gagaataggaaactccgcccgcacacaaaaacacacagatcatgaaaataaagctctttattgttacgaattccagggagct
ctcagagctcgttggctggtctttatcgaaacccagagtcctgctacgcccgcctgcccactatcgagctactgttgtaattcattaagc
attctgccacatggaagccatcacaacggcatgaaactgaatcgcacggcgatcagcaccttgcgccttgcgtataatattgccc
atggtgaaaaacggggcgaggaagtgtccatattggccacgtttaaataaaaactgtgaaactcaccagggttgctgagacgaaaa
acatattctcaataaacctttagggaataggccaggttttaccgtaacacgccacatcttgcgaatatatgttagaaactgcccgaatc
gtcgtgttattcactccagagcatgaaaaactgttgcgtatggaacgggtgtaacaagggtgaacactatccatatacagctc
accgtcttcatgccaacggaaactccgcatgagcattcatcaggcggaagaatgtaataaaggccgataaaactgtgctttttct
ttacggtctttaaaggccgtaataccagctgaacggctgtgttataggatgacactgacgaaatgctcaaaatgttctttacg
gccaattggatatacaacgtgtgtatatccagtgatgtttttctcatggttttagttctcactctgtctattatactatgagataatgctg
atgattaattgtcaacacgtctgtcaggtcgaaaggccggagatgaggaaaggagaacagcgccgagacgtgcgttttgaag
cgtgcagaaatgcccggcctccggagacgttgcggcccccgccttgagcccccctgagcccggcccccggagcccccctt
ccagcctctgagccgaagggcgaaggagcaagctgtattggcctgccccaaaggcctacccgttccattgctcagcggtgctg
tccatctgcagagactagtggagcgtgctacttccattgtcacgtctgcacgacgagctgcggggcgggggggaacttctgacta
ggggaggagtggaagggtggcggaaggggccacaaaggaacggagccgttggcgctaccgggtgagtggaatgtgtgcgaggc
cagagggccacttgtgtagcccaagtcaccagcggggctgclaaagcgcatgctccagactgcttgggaaaaagcgcctccctaccg
gtagaatgaagtcttctatcttagagaataggaaactgcggccgccccttagtgagggttaattcaactgactgtaacagctaaaattagt
cgttttggcgtaaggcgcaattccagcacactggcgccgttactagtgtatccgagctcgttaccagcttgatgcaggaaatcgat
caagcttatcgataccgtcgactcgaggggggcccggtaccagctttgttccctttagtgagggttaattgcccgttgcgtatcatg
gtcatagctgtttctgtgtaattgttatcgctcacaattccacacatacagcggaagcataaagtgtlaaagcctggggtgcctaa
tgagttagcttaactacataattgcgttgcgtcactgcccgttccagtcgggaacctgtcgtgccaactgcaattatgaatcggccaac
gcgcggggagagcggttgcgtattggcgcatgataaaactgttgaattcattaagcattctgccacatggaagccatcacaacg
gcatgataacacgaatcgcagcgccgcatcagcacttgcgccttgcgtataatattgccaatggagcagacacgttgaagcgatgaa
ggcacgaacccagtgacataagcctgttcggttcgtaaaactgtaatgcaagtagcgtatgcgtcacgcaactggtccgaaccttgaccg
aacgcagcggtgtaacggcgagtgccggttttcatggtgttatgactgtttttgtacagcttatgctcggcgatccaagcagcaagc
gcgttacccgttggtgctgatgtttgatgttatggagcagcaacgatgttacgcagcagcaacgatgttacgcagcagggcagtcgccc
aacaagttagggtgctcaagatgggcatcattcgacatgtaggctcggccctgaccaagtcaaatccatgagggtgctctgtgactttt
gtcgtgagttcggagacgtagccacctactcccaacatcagccggactccgattacctcgggaacttgcctcgtagtaagacattatcgc
gcttgcgtccttgaccaagaagcggttggcgctctcgcggttacgttctgcccaggttggagcagccgtagtgagatctatctat
gatctcgactctccgagcagccggagggcaggttgcacccgcgtcatcaatctcctcaagcatgagcccaacgcgttgggtgct
tatgtgatctacgtgaagcagattacgtgacgatcccagtggtctctatacaaaattgggcatacgggaagagtgatgcacttggat
atcgaccaagtagccacctaacaattcgttcaagccgagatcggttcccggccgaggtgttgggttaattgtcacaacgccccc
agggtggcacttttgggaaatgtgcgcggcggttctgctgctggtggcgttcttctggcgctgagacttcccgttccgtcagcag
cttttgcacacggccttgatgatcgcgcccttggcctgcatatccgattcaacggccccaggcggtccgaacgggcttcagcgcc
tccgaaggt (SEQ ID NO:122).

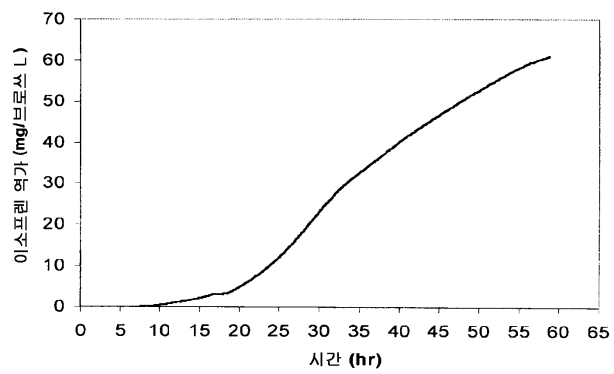
도면78a



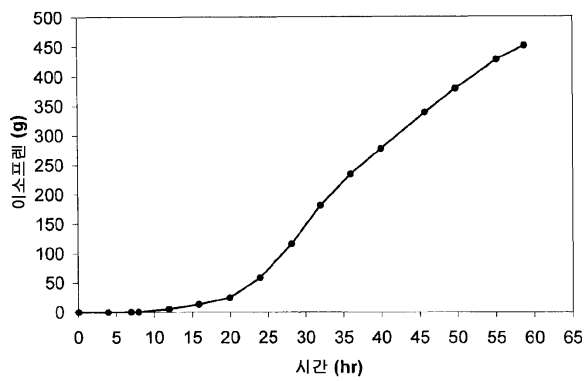
도면78b



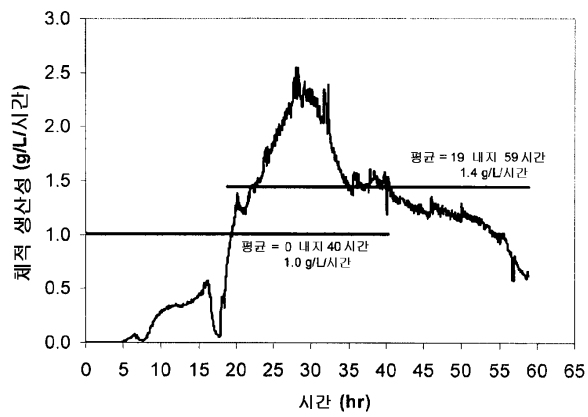
도면78c



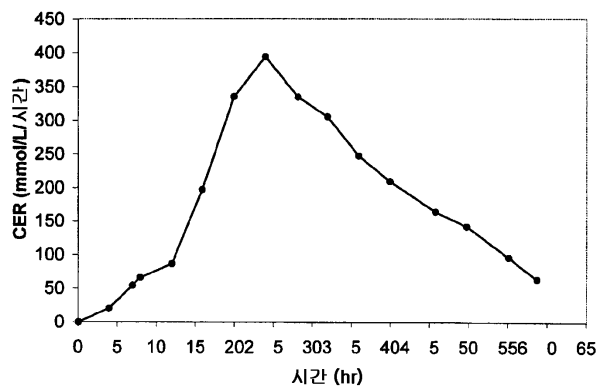
도면78d



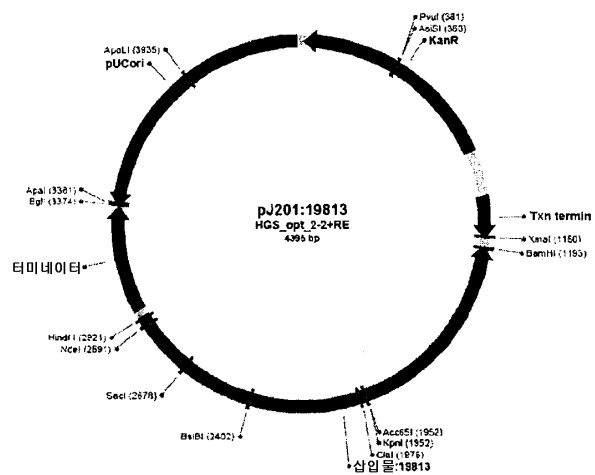
도면78e



도면78f



도면79a



FEHER, Frank J.
 PUHALA, Aaron S.
 MIASNIKOV, Andrei
 ALDOR, Ilana S.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS FOR PRODUCING ISOPRENE
 <130> 643842000249
 <150> PCT/US2008/086869
 <151> 2008-12-15

<150> US 61/013,574
 <151> 2007-12-13
 <160> 123
 <170> FastSEQ for Windows Version 4.0
 <210> 1
 <211> 1701
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 1

atgtgtgcga cctcttctca atttactcag attaccgagc ataattcccg tcgttccgca 60
 aactatcagc caaacctgtg gaatttcgaa ttcctgcaat ccctggagaa cgacctgaaa 120
 gtggaaaagc tggaggagaa agcgacaaa ctggaggaag aagttcgctg catgatcaac 180
 cgtgtagaca cccagccgct gtcctgctg gagctgatcg acgatgtgca gcgcctgggt 240

ctgacctaca aatttga aaa agacatcatt aaagccctgg aaaacatcgt actgctggac 300
 gaaaacaaaa agaacaatc tgacctgcac gcaaccgctc tgtctttccg tctgctgcgt 360
 cagcacgggt tgcaggtttc tcaggatggt tttagcggt tcaaggataa agaaggtggt 420
 ttcagcgggt aactgaaagg tgacgtccaa ggctgtgta gcctgtatga agcgtcttac 480
 ctgggtttcg agggtgagaa cctgctggag gaggcgcgta ccttttccat caccacctg 540
 aagaacaacc tgaaagaagg cattaatacc aaggttgag aacaagtga ccacgcctg 600
 gaactgcat atcaccagc tctgcaccgt ctggaggcac gttggttcct ggataaatac 660

gaaccgaaag aaccgcatca ccagctgctg ctggagctgg cgaagctgga ttttaacatg 720
 gtacagacc tgcaccagaa agagctgcaa gatctgtccc gctggtggac cgagatgggc 780
 ctggctagca aactggattt tgtacgcgac cgctgatgg aagtttattt ctgggcactg 840

ggatatggcgc cagacccgca gtttggtgaa tgtcgcaaag ctgttactaa aatgtttggt	900
ctggtgacga tcatcgatga cgtgtatgac gtttatggca ctctggacga actgcaactg	960
ttcaccgatg ctgtagagcg ctgggacgtt aacgtatta acaccctgcc ggactatatg	1020
aaactgtgtt tcttggcact gtacaacacc gttaacgaca cgtcctattc tattctgaaa	1080
gagaaaggtc ataacaacct gtcttatctg acgaaaagct ggctggaact gtgcaaagcc	1140
tttctgcaag aggcgaaatg gtccaacaac aaaattatcc cggttttctc caagtacctg	1200
gaaaacgcca gcgtttcttc ctccggtgta gcgctgctgg cgccgtctta cttttccgta	1260
tgccagcagc aggaagacat ctccgaccac gcgctgctgt ccctgaccga cttccatggt	1320
ctggtgcgtt ctagctgcgt tatcttccgc ctgtgcaacg atctggccac ctctgcggcg	1380
gagctggaac gtggcgagac taccaattct atcattagct acatgcacga aaacgatggt	1440
accagcgagg aacaggcccc cgaagaactg cgtaaactga tcgacgccga atggaaaaag	1500
atgaatcgtg aacgcgttag cgactccacc ctgctgccta aagcgttcat ggaaatcgca	1560
gttaacatgg cactgttttc ccactgcacc taccagtatg gcgatggtct gggtcgccca	1620
gactacgca ctgaaaaccg catcaaaactg ctgctgattg accctttccc gattaaccag	1680
ctgatgtatg tctaactgca g	1701
<210> 2	
<211> 6080	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 2	
gtttgacagc ttatcatcga ctgcacggtg caccaatgct tctggcgtca ggcagccatc	60
ggaagctgtg gtatggctgt gcaggtcgta aatcactgca taattcgtgt cgctcaaggc	120
gcactcccg tctggataat gttttttgcg ccgacatcat aacggttctg gcaaatattc	180
tgaaatgagc tgttgacaat taatcatccg gctcgtataa tgtgtggaat tgtgagcgga	240
taacaatttc acacaggaaa cagcgccgct gagaaaaagc gaagcggcac tgctctttaa	300
caatttatca gacaatctgt gtgggcactc gaccggaatt atcgattaac tttattatta	360
aaaattaaag aggtatatat taatgtatcg attaaataag gaggaataaa ccatgtgtgc	420
gacctcttct caatttactc agattaccga gcataattcc cgtcgttccg caaactatca	480
gccaaacctg tggaatttcg aattcctgca atccctggag aacgacctga aagtggaaaa	540
gctggaggag aaagcgacca aactggagga agaagttcgc tgcatgatca accgtgtaga	600

caccagccg ctgtccctgc tggagctgat cgacgatgtg cagcgccctgg gtctgaccta	660
caaatttgaa aaagacatca ttaaagccct ggaaaacatc gtactgctgg acgaaaacaa	720
aaagaacaaa tctgacctgc acgcaaccgc tctgtctttc cgtctgctgc gtcagcacgg	780
tttcgagggtt tctcaggatg ttttgagcgt tttcaaggat aaagaagggtg gtttcagcgg	840
tgaactgaaa ggtgacgtcc aaggcctgct gagcctgtat gaagcgtctt acctgggttt	900
cgagggtgag aacctgctgg aggaggcgcg taccttttcc atcaccacc tgaagaacaa	960
cctgaaagaa ggcattaata ccaaggttgc agaacaagtg agccacgccc tggaaactgcc	1020
atatcaccag cgtctgcacc gtctggaggc acgttgggtc ctggataaat acgaaccgaa	1080
agaaccgcat caccagctgc tgctggagct ggcgaaagctg gatitttaaca tggtagacac	1140
cctgcaccag aaagagctgc aagatctgtc ccgctgggtg accgagatgg gcctggctag	1200
caaatggat ttgtacgcg accgctgat ggaagtttat tttcgggcac tgggtatggc	1260
gccagacccg cagtttggtg aatgtcgcaa agctgttact aaaatgtttg gtctggtgac	1320
gatcatcgat gacgtgtatg acgtttatgg cactctggac gaactgcaac tgttcaccga	1380
tgctgtagag cgctgggacg ttaacgctat taacacccctg ccggactata tgaaactgtg	1440
tttcctggca ctgtacaaca ccgttaacga cagctcctat tctattctga aagagaaagg	1500
tcataacaac ctgtcctatc tgacgaaaag ctggcgtgaa ctgtgcaaag cttttctgca	1560
agaggcgaaa tggccaaca acaaaattat cccggcttcc tccaagtacc tggaaaacgc	1620
cagcgtttcc tctcgggtg tagcgtgct ggccgctct tacttttccg tatgccagca	1680
gcaggaagac atctccgacc acgcgtgctg ttcctgacc gacttccatg gtctggtgcg	1740
ttctagctgc gttatcttcc gcctgtgcaa cgatctggcc acctctgcgg cggagctgga	1800
acgtggcgag actaccaatt ctatcattag ctacatgcac gaaaacgatg gtaccagcga	1860
ggaacaggcc cgcaagaac tgcgtaaact gatcgacgcc gaatggaaaa agatgaatcg	1920
tgaacgcgtt agcgactcca ccctgctgcc taaagcgttc atggaaatcg cagttaacat	1980
ggcacgtgtt tccactgca cctaccagta tggcgatggt ctgggtcgcc cagactacgc	2040
gactgaaaac cgcatcaaac tgctgctgat tgacctttc ccgattaacc agctgatgta	2100
tgtctaactg cagctggtag catatgggaa ttcgaagctt tctagaacaa aaactcatct	2160
cagaagagga tctgaatagc gccgtcgacc atcatcatca tcatcattga gtttaaaccg	2220
tctccagctt ggctgttttg gcggatgaga gaagattttc agcctgatac agattaaatc	2280
agaacgcaga agcggctcga taaaacagaa ttgcctggc ggtagtagcg cgggtgtccc	2340
acctgacccc atgccgaact cagaagtga acgccgtagc gccgatggta gtgtggggtc	2400
tccccatgcg agagtaggga actgccaggc atcaaataaa acgaaaggct cagtcgaaag	2460

actgggcctt tcgttttatac tgtttttgt cggatgaacgc tctcctgagt aggacaaatc	2520
cgccgggagc ggatttgaac gttgcgaagc aacggcccgg agggatggcgg gcaggacgcc	2580
cgccataaac tgccaggcat caaattaagc agaaggccat cctgacggat ggcctttttg	2640
cgtttctaca aactcttttt gtttatTTTT ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat	2700
gagacaataa cctgataaa tgcctcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca	2760
acatttccgt gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttcctg tttttgctca	2820
cccagaaacg ctggatgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta	2880
catcgaactg gatctcaaca gcggttaagat ccttgagagt tttcgccccg aagaacgttt	2940
tccaatgatg agcactttta aagtctgct atgtggcgcg gtattatccc gtgttgacgc	3000
cgggcaagag caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc	3060
accagtcaca gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtctgc	3120
cataaccatg agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa	3180
ggagctaacc gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg atcgttggga	3240
accggagctg aatgaagcca taccaaagca cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat	3300
ggcaacaacg ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca	3360
attaatagac tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgt cgcccttcc	3420
ggctggctgg tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat	3480
tgcagcactg gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag	3540
tcaggcaact atggatgaac gaaatagaca gatcgctgag ataggtgcct cactgattaa	3600
gcattggtaa ctgtcagacc aagtttactic atataactt tagattgatt taaaacttca	3660
tttttaattt aaaagatct aggtgaagat cttttttgat aatctcatga ccaaaatccc	3720
ttaacgtgag ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc	3780
ttgagatcct ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc	3840
agcggatggtt tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt	3900
cagcagagcg cagataccaa atactgtcct tctagttag ccgtagttag gccaccactt	3960
caagaactct gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc	4020
tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg gtggactca agacgatagt taccggataa	4080
ggcgcagcgg tcgggctgaa cgggggggtt gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac	4140
ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcggcacgc ttcccgaagg	4200

gagaaaggcg gacaggtatc cggtaaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga	4260
gcttccaggg gaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact	4320
tgagcgtcga tttttgtgat gtcctgcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa	4380
cgcggccttt ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc	4440
gttatccctt gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gactgagctg ataccgctcg	4500
ccgcagccga acgaccgagc gcagcagagc agtgagcgag gaagcggag agcgcctgat	4560
gcggtatctt ctccttacgc atctgtgcgg tatctcacac cgcatatggt gcactctcag	4620
tacaatctgc tctgatgccg catagttaag ccagtataca ctccgctatc gctacgtgac	4680
tgggtcatgg ctgcgccccg acaccgcga acaccgctg acgcgccctg acgggcttgt	4740
ctgctcccgg catccgctta cagacaagct gtgaccgtct ccgggagctg catgtgtcag	4800
aggtttttac cgtcatcacc gaaacgcgcg aggcagcaga tcaattcgcg cgcgaaggcg	4860
aagcggcatg catttacgtt gacaccatcg aatgggtcaa aacctttcgc ggtatggcat	4920
gatagcgccc ggaagagagt caattcaggg tggatgaatgt gaaaccagta acgtttatcg	4980
atgtcgcaga gtatgccgtt gtctctttatc agaccgtttc ccgctgggtg aaccaggcca	5040
gccacgtttc tgcgaaaacg cgggaaaaag tggaaagcggc gatggcggag ctgaattaca	5100
ttccaaccg cgtggcaca caactggcgg gcaaacagtc gttgctgatt ggcgttgcca	5160
cctccagtct ggccctgcac gcgccgtcgc aaattgtcgc ggcgattaaa tctcgcgccg	5220
atcaactggg tgccagcgtg gtgtgtcga tggtagaacg aagcggcgtc gaagcctgta	5280
aagcggcggg gcacaatctt ctgcgcgaac gcgtcagtgg gctgatcatt aactatccgc	5340
tggatgacca ggatgccatt gctgtggaag ctgcctgcac taatgttccg gcgttatctc	5400
ttgatgtctc tgaccagaca cccatcaaca gtattatctt ctccatgaa gacggtacgc	5460
gactggcggt ggagcatctg gtcgcattgg gtcaccagca aatcgcgctg ttagcgggcc	5520
cattaagtgc tgcctcggcg cgtctgcgtc tggctggctg gcataaatat ctcaactgca	5580
atcaaattca gccgatagcg gaacgggaag gcgactggag tgccatgtcc ggttttcaac	5640
aaaccatgca aatgctgaat gagggcatcg ttccactgc gatgctggtt gccaacgac	5700
agatggcgct gggcgcaatg cgcgccatta ccgagtcagg gctgcgcgtt ggtgcggata	5760
tctcggtagt gggatagcag gataccgaag acagctcatg ttatatcccg ccgtcaacca	5820
ccatcaaaaa ggattttcgc ctgctggggc aaaccagcgt ggaccgcttg ctgcaactct	5880
ctcagggccg ggcggtgaag ggcaatcagc tgttgcccgt ctcaactggtg aaaagaaaaa	5940

ccaccctggc gcccaatacg caaacgcct cccccgcgc gttggccgat tcattaatgc	6000
agctggcacg acaggtttcc cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg	6060
agtttagcgcg aattgatctg	6080
<210> 3	
<211> 37	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 3	
cgtgagatca tatgtgtgcg acctcttctc aatttac	37
<210> 4	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
><223> Synthetic Construct	
<400> 4	
cggtcgacgg atccctgcag ttagacatac atcagctg	38
<210> 5	
<211> 7404	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 5	
ttctcatgtt tgacagctta tcatgataa gctttaatgc ggtagtttat cacagttaa	60
ttgctaacgc agtcaggcac cgtgtatgaa atctaacaat gcgctcatcg tcatcctcgg	120
caccgtcacc ctggatgctg taggcataagg cttaggttatg ccggtactgc cgggcctctt	180
gcgggatatc cggatatagt tctcctttc agcaaaaaac ccctcaagac ccgtttagag	240
gccccaaagg gttatgctag ttattgctca gcggtggcag cagccaactc agcttccttt	300
cgggctttgt tagcagccgg atccctgcag ttagacatac atcagctggt taatcgggaa	360
agggtcaatc agcagcagtt tgatgcggtt ttcagtgcg tagtctgggc gaccagacc	420
atgccatac tggtaggtgc agtgggaaac acgtgccatg ttaactgcga tttccatgaa	480
cgctttaggc agcagggtgg agtcgctaac gcgttcacga ttcattcttt tccattcggc	540
gtcgatcagt ttacgcagtt cttcgcgggc ctgttcctcg ctggtaccat cgttttcgtg	600

catgtagcta atgatagaat tggtagtctc gccacgttcc agctccgccg cagaggtggc	660
cagatcgttg cacaggcgga agataacgca gctagaacgc accagaccat ggaagtcggt	720
cagggaaacgc agcgcggtgt cggagatgtc ttcctgtctc tggcatacgg aaaagtaaga	780
cggcgccagc agcgctacac cggaggagga aacgctggcg tttccaggt acttgagaa	840
agccgggata atttgttgt tggaccattt cgcctcttgc agaaaggctt tgcacagttc	900
acgccagctt ttcgtcagat aggacaggtt gttatgacct ttctctttca gaatagaata	960
ggacgtgtcg ttaacggtgt tgtacagtgc caggaaacac agtttcatat agtccggcag	1020
ggtgttaata gcgttaacgt cccagcgctc tacagcatcg gtgaacagtt gcagttcgtc	1080
cagagtgcc taaacgtcat acacgtcatc gatgatctc accagaccaa acattttagt	1140
aacagctttg cgacattcac caaactgcgg gtctggcgcc ataccagtg cccagaaata	1200
aacttccatc agcggtctgc gtacaaaac cagtttgcta gccaggccca tctcggtcca	1260
ccagcgggac agatcttgca gctctttctg gtgcagggtc tgtaccatgt taaaatccag	1320
cttcgccagc tccagcagca gctggtagtg cggttctttc ggttcgtatt tatccaggaa	1380
ccaacgtgcc tccagacggt gcagacgtg gtgatatggc agttccaggg cgtggctcac	1440
ttgttctgca accttggtat taatgccttc ttccaggttg ttcttcaggt gggtgatgga	1500
aaaggtacgc gccctctcca gcaggttctc acctcgaaa cccaggtgag acgttcata	1560
caggctcagc aggccttggg cgtcaccttt cagttcaccc ctgaaaccac cttctttatc	1620
cttgaacgc taaaaaac cctgagaaac ctgaaaccg tctgacgca gcagacggaa	1680
agacagagcg gttgcgtgca ggtagatatt gttctttttg ttttcgtcca gcagtacgat	1740
gttttccagg gctttaatga tgtctttttc aaattttag gtacagacca ggcgctgcac	1800
atcgtcagc agtccagca gggacagcgg ctgggtgtct acacggttga tcatgcagcg	1860
aacttcttc tccagtttgg tcgttttctc ctccagcttt tccactttca ggtcgttctc	1920
cagggattgc aggaattcga aattccacag gtttggtga tagtttgcgg aacgacggga	1980
attatgctcg gtaatctgag taaattgaga agaggtcgca cacatatgac gaccttcgat	2040
atggccgctg ctgtgatgat gatgatgat atgatgatga tggcccatgg tatatctcct	2100
tcttaaagtt aaacaaaatt atttctagag gggaattgtt atccgctcac aattccccta	2160
tagtgagtcg tattaatttc gcgggatcga gatctcagc ctctacgccg gacgcatcgt	2220
ggccggcatc accggcgcca cagggtcggt tcttgccgcc tatatgccg acatcaccga	2280
tggggaagat cgggctcgcc acttcgggct catgagcgct tgtttcggcg tgggtatggt	2340

ggcaggcccc gtggccgggg gactgttggg cgccatctcc ttgcatgcac cattccttgc	2400
ggcggcggtg ctcaacggcc tcaacctact actgggctgc ttcctaagtc aggagtcgca	2460
taagggagag cgtcgagatc ccggacacca tcgaatggcg caaaaccttt cgcggtatgg	2520
catgatagcg cccggaagag agtcaattca gggtgggtgaa tgtgaaacca gtaacgttat	2580
acgatgtcgc agagtatgcc ggtgtctctt atcagaccgt ttcccgcgtg gtgaaccagg	2640
ccagccacgt ttctgcgaaa acgcgggaaa aagtgggaagc ggcgatggcg gagctgaatt	2700
acattcccaa ccgcgtggca caacaactgg cgggcaaaca gtcgttgctg attggcgttg	2760
ccacctccag tctggccctg cagcgccgt cgcaaattgt cgcggcgatt aaatctcgcg	2820
ccgatcaact ggggtccagc gtgggtggtg cgatggtaga acgaagcggc gtcgaagcct	2880
gtaaagcggc ggtgcacaat cttctcgcgc aacgcgtcag tgggctgac attaactatc	2940
cgttgatga ccaggatgcc attgtgtggt aagctgcctg cactaatgtt ccggcgttat	3000
ttcttgatgt ctctgaccag acacccatca acagtattat tttctccat gaagacggta	3060
cgcgactggg cgtggagcat ctggtcgcat tgggtcacca gcaaatcgcg ctgttagcgg	3120
gcccattaag ttctgtctcg gcgcgtctgc gctggctgg ctggcataaa tatctcactc	3180
gcaatcaaat tcagccgata gcggaacggg aaggcgactg gaggccatg tccggttttc	3240
aacaaacct gcaaatgctg aatgagggca tcgttccac tgcgatgctg gttgccaacg	3300
atcagatggc gctgggcgca atgcgcgcca ttaccgagtc cgggctgcgc gttggtgcgg	3360
atatctcgtt agtgggatac gacgataccg aagacagctc atgttatatc ccgccgttaa	3420
ccaccatcaa acaggatttt cgctgctgg ggcaaaccag cgtggaccgc ttgctgcaac	3480
tctctcaggg ccaggcggtg aagggaatc agctgttgcc cgtctcactg gtgaaaagaa	3540
aaaccacctt ggcgcccaat acgcaaaccg cctctccccg cgcgttgcc gattcattaa	3600
tgcagctggc acgacaggtt tcccactgg aaagcgggca gtgagcgcaa cgcaattaat	3660
glaagtagc tactcatta ggcaccggga tctcgaccga tgcccttgag agccttcaac	3720
ccagtacgt cttccggtg ggccggggc atgactatcg tcgccgact tatgactgtc	3780
ttctttatca tgcaactcgt aggacaggtg ccggcagcgc tctgggtcat ttccggcgag	3840
gaccgctttc gctggagcgc gacgatgac ggctgtcgc ttgcggtatt cggaatcttg	3900
cacgccctcg ctcaagcctt cgtcactggt cccgccacca aacgtttcgg cgagaagcag	3960
gccattatcg ccggcatggc ggccgacgcg ctgggctacg tcttgctggc gttcgcgacg	4020
cgaggttgga tggccttccc cattatgatt cttctcgtt ccggcggcat cgggatgccc	4080
gcgttgagg ccatgctgtc caggcaggta gatgacgacc atcagggaca gcttcaagga	4140
tcgctcgcgg ctcttaccag cctaacttcg atcactggac cgctgatcgt cacggcgatt	4200

tatgccgcct cggcgagcac atggaacggg ttggcatgga ttgtaggcgc cgccctatac	4260
cttgtctgcc tccccgcgtt gcgtcgcggt gcatggagcc gggccacctc gacctgaatg	4320
gaagccggcg gcacctcgct aacggattca ccaactccaag aattggagcc aatcaattct	4380
tgcggagaac tgtgaatgcg caaaccaacc cttaggcagaa cataatccatc gcgtccgcca	4440
tctccagcag ccgcacgcgg cgcattctcg gcagcgttgg gtcttgcca cgggtgcgca	4500
tgatcgtgct cctgtcgttg aggacccggc taggctggcg gggttgcctt actggttagc	4560
agaatgaatc accgatacgc gagcgaacgt gaagcgactg ctgctgcaa acgtctgcga	4620
cctgagcaac aacatgaatg gtcttcggtt tccgtgtttc gtaaagtctg gaaacgcgga	4680
agtcagcgcc ctgcaccatt atgttccgga tctgcatcgc aggatgctgc tggctaccct	4740
gtggaacacc tacatctgta ttaacgaagc gctggcattg accctgagtg atttttctct	4800
ggteccgcgg catccatacc gccagtgtt tacctcaca acgttccagt aaccgggcat	4860
gttcatcatc agtaaccgt atcgtgagca tcctctctcg tttcatcggt atcattaccc	4920
ccatgaacag aaatccccct tacacggagg catcagtgac caaacaggaa aaaaccgccc	4980
ttaacatggc ccgttttacc agaagccaga cattaacgt tctggagaaa ctcaacgagc	5040
tggacgcgga tgaacaggca gacatctgtg aatcgcttca cgaccacgct gatgagcttt	5100
accgcagctg cctcgcgct ttcggtgatg acggtgaaaa cctctgacac atgcagctcc	5160
cggagacggt cacagcttgt ctgtaagcgg atgccgggag cagacaagcc cgtcagggcg	5220
cgtcagcggg tgttgccggg tgctggggcg cagccatgac ccagtcacgt agcgatagcg	5280
gagtgtatac tggttaact atgcggcatc agagcagatt gtactgagag tgcaccatat	5340
atgcggtgtg aaataaccga cagatgcgtg aggagaaaat accgcatcag gcgtctttcc	5400
gcttctctgc tcaactgactc gctgcgctcg gtcttccggc tgcggcgagc ggtatcagct	5460
caactaaagg cgtaatacgt gttatccaca gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg	5520
tgagcaaaag gccagcaaaa ggccagggaac cgtaaaaagg ccgctgtgct ggcgtttttc	5580
catagctcc gccccctga cgagcatcac aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga	5640
aaccgcagag gactataaag ataccaggcg tttccccctg gaagctccct cgtgcgtctt	5700
cctgttccga cctgcccgt taccggatac ctgtccgctt ttctcccttc gggaagcgtg	5760
gcgttttctc atagctcacg ctgtaggtat ctcagttcgg ttaggtcgt tcgtccaag	5820
ctgggctgtg tgcacgaacc cccgtttcag cccgaccgt gcgccttacc cggtaactat	5880
cgtcttgagt ccaaccgggt aagacacgac ttatgccac tggcagcagc cactggtaac	5940
aggattagca gagcgaggta ttagggcgt gctacagagt tcttgaagtg gtggcctaac	6000
tacggctaca ctagaaggac agtatattggt atctgcgctc tgctgaagcc agttaccttc	6060

ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc aaacaaacca ccgctggtag cggtggtttt	6120
tttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc	6180
ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac gaaaactcac gttaagggat tttggtcatg	6240
agattatcaa aaaggatctt cacctagatc cttttaaat aaaaatgaag ttttaaatca	6300
atctaaagta tatatgagta aacttggctc gacagttacc aatgcttaat cagtgaggca	6360
cctatctcag cgatctgtct atttcgttca tccatagtig cctgactccc cgtcgtgtag	6420
ataactacga tacgggaggg cttaccatct ggccccagtg ctgcaatgat accgcgagac	6480
ccacgctcac cggctccaga tttatcagca ataaaccagc cagccggaag ggccgagcgc	6540
agaagtggtc ctgcaacttt atccgcctcc atccagtcta ttaattgttg ccgggaagct	6600
agagtaagta gttcgccagt taatagtttg cgcaacgttg ttgccattgc tgcaggcatc	6660
gtggtgtcac gctcgtcgtt tggtatggct tcattcagct ccggttccca acgatcaagg	6720
cgagttacat gatccccat gttgtgcaaa aaagcggtta gtccttccgg tcctccgac	6780
gttgtcagaa gtaagtggc cgcagtgta tcactcatgg ttatggcagc actgcataat	6840
tctcttactg tcatgccatc cgtaagatgc ttttctgtga ctggtgagta ctcaaccaag	6900
tcattctgag aatagtgtat gcggcgaccg agttgctctt gcccggcgtc aacacgggat	6960
aataccgcgc cacatagcag aactttaaaa gtgctcatca ttggaaaacg ttcttcgggg	7020
cgaaaactct caaggatctt accgctgttg agatccagtt cgatgtaacc cactcgtgca	7080
cccaactgat cttcagcatc ttttactttc accagcgttt ctgggtgagc aaaaacagga	7140
aggcaaatg ccgcaaaaaa gggaataagg gcgacacgga aatgttgaat actcatactc	7200
ttcctttttc aatattattg aagcatttat cagggttatt gtctcatgag cggatacata	7260
tttgaatgta tttagaaaaa taaacaaata ggggttccgc gcacatttcc ccgaaaagt	7320
ccacctgacg tctaagaaac cattattatc atgacattaa cctataaaaa taggcgtatc	7380
acgaggccct ttcgtcttca agaa	7404
<210> 6	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 6	
catatgaaag cttgtatcga ttaaataagg aggaataaac c	41
<210> 7	

<211> 6266

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 7

cccgctttac tgcgggaat tgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cagcacaggt	60
ttcccactg gaaagcgggc agtgagcgca acgcaattaa tgtgagttag ctcactcatt	120
aggcacccca ggctttacac tttatgcttc cggtcgtat gttgtgtgga attgtgagcg	180
gataacaatt tcacacagga aacagctatg accatgatta cgccaagctt gtatcgatta	240
aataaggagg aataaacat gtgtgcgacc tcttctcaat ttactcagat taccgagcat	300
aattcccgtc gttccgcaaa ctatcagcca aacctgtgga atttcgaatt cctgcaatcc	360
ctggagaacg acctgaaagt ggaaaagctg gaggagaaag cgaccaaact ggaggaagaa	420
gttcgctgca tgatcaaccg ttagacacc cagccgctgt ccctgctgga gctgatcgac	480
gatgtgcagc gcctgggtct gacctacaaa ttgaaaaag acatcattaa agccctggaa	540
aacatcgtag tgcaggacga aaacaaaaag aacaaatctg acctgcacgc aaccgctctg	600
tctttccgtc tgcgctgca gcacggtttc gaggtttctc aggatgtttt tgagcgtttc	660
aaggataaag aagggtgttt cagcggtgaa ctgaaagggt acgtccaagg cctgctgagc	720
ctgtatgaag cgtcttacct gggtttcgag ggtgagaacc tgctggagga ggcgcgtacc	780
ttttccatca cccacctgaa gaacaacctg aaagaaggca ttaataccaa ggttgcagaa	840
caagtgagcc acgcccggga actgccatat caccagcgtc tgcaccgtct ggaggcacgt	900
tggttcctgg ataaatacga accgaaagaa ccgcatacc agctgctgct ggagctggcg	960
aagctggatt ttaacatggt acagaccctg caccagaaag agctgcaaga tctgtcccgc	1020
tggtaggacc agatgggcct ggctagcaaa ctggattttg tacgagaccg cctgatggaa	1080
gtttatttct gggcactggg tatggcgcca gaccgcagt ttggtgaatg tcgcaaagct	1140
gttactaaaa tgtttggtct ggtgacgac atcgatgacg tgtatgacgt ttatggcact	1200
ctggacgaac tgcaactgtt caccgatgct gtagagcgt gggacgttaa cgctattaac	1260
acctgccgg actatatgaa actgtgtttc ctggcactgt acaacaccgt taacgacacg	1320
tcctattcta ttctgaaaga gaaaggtcat aacaacctgt cctatctgac gaaaagctgg	1380
cgtagaactgt gcaaagcctt tctgcaagag gcgaaatggt ccaacaacaa aattatcccg	1440
gttttctcca agtacctgga aaacgccagc gtttctctct ccggtgtagc gctgctggcg	1500
ccgtcttact ttccgtatg ccagcagcag gaagacatct ccgaccacgc gctgcgttcc	1560

ctgaccgact tccatggctt ggtgcgttct agctgcgtta tcttccgcct gtgcaacgat	1620
ctggccacct ctgcggcgga gctggaacgt ggcgagacta ccaattctat cattagctac	1680
atgcacgaaa acgatggtac cagcgaggaa caggccccgc aagaactgcg taaactgatc	1740
gacgccgaat ggaaaaagat gaatcgtgaa cgcgttagcg actccaccct gctgcctaaa	1800
gcgttcatgg aaatcgcatg taacatggca cgtgtttccc actgcaccta ccagtatggc	1860
gatggctctgg gtcgcccaga ctacgcgact gaaaaccgca tcaaactgct gctgattgac	1920
cctttcccga ttaaccagct gatgtatgtc taactgcagg tcgactctag aggatccccg	1980
ggtaccgagc tcgaattcac tggccgtcgt ttacaaactg cgtgactggg aaaaccctgg	2040
cgttacccaa cttaatcgcc ttgcagcaca tcccccttc gccagctggc gtaatagcga	2100
agaggcccg accgatcgcc cttcccaaca gttgcgcagc ctgaatggcg aatggcgctt	2160
gatgcggtat tttctcctta cgcactctgt cggattttca caccgcatat ggtgcactct	2220
cagtacaatc tgctctgatg ccgcatagtt aagccagccc cgacacccgc caacacccgc	2280
tgacgagctt agtaaagccc tcgctagatt ttaatgcgga tgttgcgatt acttcgcaa	2340
ctattcgcat aacaagaaaa agccagcctt tcatgatata tctcccaatt tgtgtagggc	2400
ttattatgca cgcttaaaaa taataaaagc agacttgacc tgatagtgtg gctgtgagca	2460
attatgtgct tagtgcactt aacgcttgag ttaagccgag ccggaagcg gcgtcggtt	2520
gaacgaattg ttagacatta ttgcccact accttggtga tctcgcttt cacgtagtgg	2580
acaaattctt ccaactgatc tgcgcgcgag gccaaagcat cttcttcttg tccaagataa	2640
gcctgtctag cttcaagtat gacgggctga tactgggccc gcaggcgctc cattgcccag	2700
tcggcagcga catccttcgg cgcgattttg ccggttactg cgctgtacca aatgcgggac	2760
aacgtaagca ctacatttcg ctcatcgcca gccagtcgg gcggcgagtt ccatagcgtt	2820
aaggtttcat ttagcgctc aaatagatcc tgttcaggaa ccggatcaaa gagttcctec	2880
gccgctggac ctaccaagc aacgctatgt tctcttgctt ttgtcagcaa gatagccaga	2940
tcaatgtcga tcgtggctgg ctggaagata cctgcaagaa tgtcattgcg ctgccattct	3000
ccaaattgca gttcgctt agctggataa cgccacggaa tgatgtcgtc gtgcacaaca	3060
atggtgactt ctacagcgcg gagaatctcg ctctctccag gggaagccga agtttccaaa	3120
aggtcgttga tcaaagctcg ccggttgtt tcatcaagcc ttacggtcac cgtaaccagc	3180
aaatcaatat cactgtgtgg cttcaggccg ccatccactg cggagccgta caaatgtacg	3240
gccagcaacg tcggttcgag atggcgctcg atgacccaa ctacctctga tagttgagtc	3300
gatacttcgg cgatcacccg ttccctcatg atgtttaact ttgttttagg gcgactgccc	3360
tgctgcgtaa catcgttgct gctccataac atcaaacatc gaccacggc gtaacgcgt	3420

tgctgcttgg atgcccagg catagactgt accccaaaaa aacagtcata acaagccatg	3480
aaaaccgcca ctgcgccgtt accaccgtg cgttcggtca aggttctgga ccagttgcgt	3540
gagcgatac gctacttgca ttacagctta cgaaccgaac aggttatgt cactgggtt	3600
cgtgccttca tccgtttcca cgggtgtcgt caccggcaa ccttgggcag cagcgaagtc	3660
gaggcatttc tgtcctggct ggcgaacgag cgcaagttt cggctccac gcatcgtcag	3720
gcattggcgg ccttgcgtt cttctacggc aagggtgtgt gcacggatct gccctggctt	3780
caggagatcg gaagacctcg gccgtcgcgg cgcttgcgg tgggtctgac cccggatgaa	3840
gtggttcgca tctcggttt tctggaaggc gagcatcgtt tgttcgcca gcttctgtat	3900
ggaacgggca tgcggatcag tgagggtttg caactgcggg tcaaggatct ggatttcgat	3960
cacggcacga tcatcgtcgg ggagggaag ggctccaagg atcgggcctt gatgttacc	4020
gagagcttgg caccagcct gcgcgagcag gggaattaat tcccacgggt ttgtctgcc	4080
gcaaacgggc tgttctgggt ttgctagtgt gttatcagaa tcgcagatcc ggcttcagcc	4140
ggtttgccgg ctgaaagcgc tatttcttcc agaattgcca tgatttttc cccacgggag	4200
gcgtcactgg ctcccggtt gtcggcagct ttgattcgat aagcagatc gcctgtttca	4260
ggctgtctat gtgtgactgt tgagctgtaa caagtgtct caggltgtca atttcatgtt	4320
ctagtgtctt tgttttactg gtttcacctg ttctattagg tgttacctg tgttcatctg	4380
ttacattgtc gatctgttca tggatgaacag ctttgaatgc accaaaaact cgtaaaagct	4440
ctgatgtatc tatctttttt acaccgtttt catctgtgca tatggacagt ttccctttg	4500
atatgtaacg gtgaacagtt gttctacttt tgtttgttag tcttgatgct tcaactgatag	4560
atacaagagc cataagaacc tcagatcctt ccgtatttag ccagtatgtt ctctagtgtg	4620
gttcgttgtt ttgctgtgag ccatgagaac gaaccattga gatcatactt actttgcatg	4680
tcaactcaaaa attttgctc aaaactggtg agctgaattt ttgcagttaa agcatcgtgt	4740
agtgtttttc ttagtccgtt atgtaggtag gaatctgatg taatggttgt tggatatttg	4800
tcaccattca tttttatctg gttgttctca agtccgttca cgagatccat ttgtctatct	4860
agttcaactt ggaaaatcaa cgtatcagtc gggcggcctc gcttatcaac caccaatttc	4920
atattgctgt aagtgtttaa atctttactt attggtttca aaaccattg gtttaagcctt	4980
ttaaactcat ggtagtatt ttcaagcatt aacatgaact taaattcacc aaggctaate	5040
tctatatttg cctgtgagt tttcttttgt gttagtctt ttaataacca ctcataaatc	5100
ctcatagagt atttgtttc aaaagactta acatgttcca gattatattt tatgaatttt	5160

tttaactgga aaagataagg caatatctct tcactaaaaa ctaattctaa tttttcgctt 5220
gagaacttgg catagtttgt ccaactggaaa atctcaaagc cttaaccaa aggattcctg 5280
atttccacag ttctcgtcat cagctctctg gttgcttttag ctaatacacc ataagcattt 5340
tccctactga tgitcatcat ctgagcgtat tggttataag tgaacgatac cgtccgttct 5400
ttcctttagg ggitttcaat cgtgggggtg agtagtgcca cacagcataa aattagcttg 5460
gtttcatgct ccgttaagtc atagcgacta atcgctagtt catttgcttt gaaaacaact 5520
aattcagaca tacatctcaa ttggcttagg tgattttaat cactatacca attgagatgg 5580

gctagtcaat gataattact agtccttttc ctttgagttg tgggtatctg taaattctgc 5640
tagacctttg ctggaaaact tgtaaattct gctagacct ctgtaaattc cgctagacct 5700
ttgtgtgttt tttttgttta tattcaagtg gttataattt atagaataaa gaaagaataa 5760
aaaaagataa aaagaataga tcccagccct gtgtataact cactacttta gtcagttccg 5820
cagtattaca aaaggatgct gcaaacgctg tttgctctc tacaaaacag accttaaac 5880
cctaaaggct taagtagcac cctcgcaagc tcgggcaaat cgctgaatat tccttttgct 5940
tccgaccatc aggcacctga gtcgctgtct ttttcgtgac attcagttcg ctgcgtcac 6000

ggctctggca gtgaatgggg gtaaatggca ctacaggcgc cttttatgga ttcattgcaag 6060
gaaactaccc ataatacaag aaaagcccg caggggcttc tcagggcgtt ttatggcggg 6120
tctgctatgt ggtgctatct gactttttgc tgttcagcag ttcttgcct ctgattttcc 6180
agtctgacca cttcggatta tcccgtaga ggtcattcag actggctaata gcaccagta 6240
aggcagcggg atcatcaaca ggctta 6266

<210> 8

<211> 1695

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 8

atgtgtgcaa cctcctccca gtttactcag attaccgagc ataattctcg acgatctgct 60
aactaccagc cgaaccttg gaactttgag tttctccagt ctctcgaaaa tgacctgaag 120
gtggaaaagc tcgaggagaa ggcgaccaa ctcgaggagg aggtgcgatg tatgatcaac 180
agagttgaca cccaaccct gtctttgctg gagctgatcg acgatgtgca gcggttgggt 240
ttgacttata aattcgagaa ggacattatc aaggcactgg agaacattgt gctcctcgac 300
gagaacaaga agaacaagtc tgatcttcac gctaccgctc tctctttccg acttcttcga 360

caacacggct tcgaggtgtc gcaggacgtc ttcgagagat ttaaggacaa ggaggaggga	420
tttagcggcg agctgaaggg agacgttcag ggtcttctct ccttgtaga ggcgtcctac	480
ctgggattcg agggagagaa cctcctggag gaagctcgta cattttccat cactcacctt	540
aagaataacc ttaaggaggg aattaacacc aaggtggccg agcaggtttc tcacgcctg	600
gagctccctt accaccaacg gctccataga ctggaggctc gttggttcct ggacaaatat	660
gagccaaagg agcctcatca tcagttgctg ttggagttgg ccaagctgga cttcaatatg	720
gttcagacgc tgcacaaaaa ggagttgcag gacctgtctc gatggtggac cgagatggga	780
ttggcctcga agctggattt tgtccgtgac cgacttatgg aggtctattt ttgggcctt	840
ggaatggcgc ctgaccccca gttcggagag tgccggaagg cggtagacga gatgttcggt	900
cttgtgacta tcatcgacga cgtctacgat gtctacggca cactcgacga gttgcagctg	960
ttcactgacg ccgtcgagcg atgggatgtg aacgccatta ataactctcc tgactatatg	1020
aagctgtgct tcttggctct gtacaacact gtcaacgata cctcgtactc tatcctcaag	1080
gagaagggac acaacaatct ctctacttg accaaatcct ggcgagaact gtgcaaggct	1140
tttctgcagg aggtctaatg gtccaataac aagatcattc ctgctttttc taaatacctg	1200
gaaaatgcct cgggtgtcag ctctggcgct gcccttctgg ccccttcccta cttctccgtc	1260
tgccagcagc aggaggatat ttccgatcat gctcttagat cgctgaccga ttttcacggc	1320
ctcgtcgcat ctctctgctt gatttttcgg ttgtgtaatg accttgcgac ctctgctgct	1380
gagctggaac gaggcgagac tacaaattcc attatttctt acatgcacga aaacgatgga	1440
acatctgaag aacaggetag agaggaactg cgaaagtga tcgacgccga gtggaagaag	1500
atgaacagag agcgggtgtc cgactctacc ctgcttccca aggccttcat ggagatcgcc	1560
gtgaacatgg ctcgagtttc ccattgtact taccagtacg gtgacggcct gggtcgtccg	1620
gactacgcta cagagaaccg aatcaagctg ctgctcatcg acccttccca tatcaaccaa	1680
ttgatgtacg tgtaa	1695
<210> 9	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 9	
gcttatggat cctctagact attacacgta catcaattgg	40
<210> 10	

<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	10	
caccatgtgt gcaacctcct cccagtttac		30
<210>	11	
<211>	8191	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	11	
tcgaccggtg agaagaacag catcgggaca agggaaggaa gaacaaagac aaagaaaaca		60
aaagaaagca attgaaaaca aaacaaaaca attttcattc cttctcttat cattcctttt		120
cttttctttt ctctcattca acgcactcca tcgtatccgt attcctctta tttttctct		180
ttctctatat ccatttcttt ctctctaggt gtgtcctctc tctctcttca atttctctac		240
tccgcattcc aacgcactct tcccccaacc tcccatttcc tccttacggc ccgatatcgga		300
tcgtctttcc ctgcctatca ctgcgtaccg gccctcctc tgcaccgtaa cctcctacgt		360
atttaccata tcataaagtt ttttccgacg cttatcgtg accccctgtc gccctcctat		420
tggtttccgg attatcttct tgtccataag gtgatccatg cttctgaag attcccgaag		480
tgtgtccact ttggcgggga atcattccat ccatttcttt ctctctcgct ttctcattc		540
ggcgctcccc ttccgcgtct catttggtctt ccgtccgtt tttgctttgc cgatgttact		600
tggggagagg tgcgataatc ctttcgcaaa aactcggttt gacgcctccc atggatataa		660
tagtgggtgg tggacagggt ctttcgcttt tctttaagca agagaatccc attgtcttga		720
ctatcacgaa ttcacataca ttatgaagat caccgctgtc attgcccttt tattctcact		780
tgctgctgcc tcacctattc cagttgccga tcttgggtgtg gtttcagtta gcaagtcata		840
tgctgatttc cttcgtgttt accaaagttg gaacactttt gctaatectg atagacccaa		900
ccttaagaag agaaatgata cacctgcaag tggatatcaa gttgaaaaag tcgtaatfff		960
gtcacgtcac ggtgttaggg cccctacaaa aatgactcaa accatgcgtg atgtcactcc		1020
taatacatgg ccagaatggc ccgttaaat aggatatatt acaccaagag gtgaacactt		1080
gatatcactt atgggcggtt tttaccgtca aaaattccag caacaaggaa tcctttctca		1140

gggtcctgt cctactccta actccatata tgtctgggct gacgtcgatc agcgtacttt	1200
aaaaactggt gaagcattcc ttgctggttt ggcaccacaa tgtggcttga caattcatca	1260
ccaacaaaat cttgagaaag ctgatcctct ttttcatccc gttaaagctg gaacctgctc	1320
tatggataaa actcaagttc aacaagctgt tgagaaggag gcacaaactc ctatagataa	1380
tttgaatcaa cattacatcc cttttttagc tttaatgaat acaacattaa attttagtac	1440
ttctgcctgg tgccaaaaac actctgctga taaatcctgt gacctaggtt tatccatgcc	1500
ttctaaattg tcataaaaag ataatggtaa caaggtcgca ttggatggag ctattggtct	1560
atcctctact ttggccgaga tttttcttct tgaatatgct caaggcatgc ctcaagctgc	1620
ttggggtaac atccactcag agcaagagtg ggcttccttg ctaaagttgc ataatttca	1680
attcgatttg atggcccgaa cacttataat tgctcgacat aacggtactc ctttattgca	1740
agctatatca aatgccetta atcccaacgc cactgaatca aaacttcag atatttcacc	1800
tgataacaaa atattgttca ttgcaggtca tgacacaaat attgctaata tagccggcat	1860
gttaaatatg cgttggacat taccaggtca accagataat actcctccag gtggtgccct	1920
agtatttgaa cgtcttctg ataaaagtgg aaaacaatat gtttctgtat ctatggttta	1980
tcaaacacta gaacaacttc gatcacagac tccccttct ctaaatcagc ctgccggatc	2040
tgttcaactt aaaattccag gttgcaatga tcaaacagcc gagggttact gtcctctttc	2100
cacttttaca agagtgtgtt cccaatctgt tgaacctgga tgccaacttc aataatgagg	2160
atccaagtaa gggaatgaga atgtgatcca cttttaattc ctaatgaata catgcctata	2220
gttcttttct tttgttcttt atgtcgtttt tcgatggtac ggccgttgc aatctcagtt	2280
tgtgtgcttg gttgcagctt ggtttcaaat ctgttcatct catgaatctt ttaccatttc	2340
accacagctt tatacattc tctcatagaa tcttcatcaa accatctcgg ggttagagtg	2400
gaaagaaagt cttgttcttt tatttccttt ttccatctt caaggctttt cttttcttcc	2460
tcctcctcgt tcactttgag gtttgacgtg tctgtttaga attttagct gttgcagcat	2520
cttatttttt gttttgcgaa aacgaagcgc ttactctct tcactcgtt gacgattgta	2580
ccittgaaaa ccaactactt ttgcatgttt tglatagaaa tcaatgatat tagaatccca	2640
tcctttaatt tctttcaaag tagttgagct atagttaagt gtaagggcc tactgcgaaa	2700
gcatttgcca aggatgtttt cattaatcaa gaacgaaagt taggggatcg aagacgatca	2760
gataccgtcg tagtcttaac cataaactat gccgactagg gatcgggcaa tgtttcattt	2820
atcgacttgc tcggcacctt acgagaaatc aaagtctttg ggttccgggg ggagtatggt	2880

cgcaaggctg aaacttaaaag gaattgacgg aagggcacca caatggagtg gagcctgcgg	2940
cttaatttga ctcaacacgg ggaaactcac caggtccaga catagtaagg attgacagat	3000
tgagagctct ttcttgattc tatgggtggt ggtgcatggc cgttcttagt tgggtgagtg	3060
atttgtctgc ttaattgcga taacgaacga gaccttaacc tgctaaatag ctggatcagc	3120
cattttggct gatcattagc ttcttagagg gactattggc ataaagccaa tggaagtttg	3180
aggcaataac aggtctgtga tgcccttaga tgttctgggc cgcacgcgcg ctacactgac	3240
ggagccaacg agttgaaaaa aatcttttga ttttttatcc ttggccggaa ggtctgggta	3300
atcttgtaa actccgtcgt gctggggata gagcattgca attattgcgg ccgtcctca	3360
attcgatgtt gcagatttta caagttttta aaatgtatct cattattact ttttatatgc	3420
ctaataaaaa agccatagtt taatctatag ataacttttt ttccagtga ctaacggacg	3480
ttacattccc atacaaaact gcgtagttaa agctaaggaa aagttaatat catgttaatt	3540
aaatacgcta ttacaataa gacattgaac tcatttatat cgttgaatat gaataaccaa	3600
tttcagcgaa ttttaacaa acatcgttca cctcgtttaa ggatatcttg tgtatggggt	3660
gttgacttgc tttatcgaat aattaccgta cctgtaattg gcttgctgga tatagcggt	3720
gtctaataatc tagcaaaaaat cttttgggtg aaaaggcttg caatttcacg acaccgaact	3780
atttgcatt ttttaataag gaagttttcc ataaattcct gtaattctcg gttgatctaa	3840
ttgaaaagag tagttttgca tcacgatgag gagggctttt gtagaaagaa atacgaacga	3900
aacgaaaatc agcgttgcca tcgctttgga caaagctccc ttacctgaag agtcgaattt	3960
tattgatgaa cttataactt ccaagcatgc aaacaaaag ggagaacaag taatccaagt	4020
agacacggga attggattct tggatcacat gtatcatgca ctggctaaac atgcaggctg	4080
gagcttacga ctttactcaa gaggtgattt aatcatcgat gatcatcaca ctgcagaaga	4140
tactgetatt gcaattggta ttgcattcaa gcaggctatg ggtaactttg ccggcgtaa	4200
aagatttgga catgcttatt gtccacttga cgaagctctt tctagaagcg tagttgactt	4260
gtcgggacgg ccctatgctg ttatcgattt gggattaaag cgtgaaaagg ttggggaatt	4320
gtcctgtgaa atgatecctc acttactata ttccttttcg gtagcagctg gaattacttt	4380
gcatgttacc tgcttatatg gtagtaatga ccatcatcgt gctgaaagcg cttttaaatc	4440
tctggctgtt gccatgcgcg cggctactag tcttactgga agttctgaag tcccaagcac	4500
gaagggagtg ttgtaaagat gaattggatt atgtcaggaa aagaacgaca attttgcac	4560
caaattgtct aaattttaga gttgcttgaa aacaatagaa ccttacttgc tttataatta	4620
cgtaatttag aagcgttacc tcgtgaagga atatagtacg tagccgtata aattgaattg	4680
aatgttcagc ttatagaata gagacacttt gctgttcaat gcgtcgtcac ttaccatact	4740

cactttatta tacgacttta agtataaact ccgcggttat ggtaaaatta atgatgcaca	4800
aacgtccgat tccatatggg tacactacaa ttaaatactt ttaagctgat cccccacaca	4860
ccatagcttc aaaatgtttc tactcctttt ttactcttcc agattttctc ggactccgcg	4920
catcgccgta ccacttcaaa acaccaagc acagcatact aaattttccc tctttcttcc	4980
tctagggtgt cgttaattac ccgtactaaa ggtttggaaa agaaaaaaga gaccgcctcg	5040
tttctttttc ttcgtcgaaa aaggcaataa aaatttttat cacgtttctt tttcttgaaa	5100
tttttttttt tagttttttt ctctttcagt gacctccatt gatatttaag ttaataaacg	5160
gtcttcaatt tctcaagttt cagtttcatt tttcttggtc tattacaact ttttttactt	5220
cttggtcatt agaagaaaag catagcaatc taatctaagg gcggtgttga caattaatca	5280
tcggcatagt atatcgcat agtataatac gacaaggatga ggaactaac catggccaag	5340
ttgaccagtg ccgttccggt gctcaccgcg cgcgacgtcg ccggagcggg cgagttctgg	5400
accgaccggc tcgggttctc ccgggacttc gtggaggacg acttcgccgg tgtggtccgg	5460
gacgacgtga cctgtttcat cagcgcggtc caggaccagg tgggtgccga caacaccctg	5520
gcctgggtgt ggggtgcgcg cctggacgag ctgtacgccg agtggtcgga ggtcgtgtcc	5580
acgaacttcc gggacgcctc cgggcccggc atgaccgaga tcggcgagca gccgtggggg	5640
cgggagttcg cctgcgcga cccggccggc aactgcgtgc acttcgtggc cgaggagcag	5700
gactgacacg tccgacggcg gccacgggt cccaggcctc ggagatccgt ccccttttc	5760
ctttgtcgat atcatgtaat tagttatgtc acgtttacat tcacgccctc cccccacatc	5820
cgctctaacc gaaaaggaag gagttagaca acctgaagtc taggtcccta tttatttttt	5880
tatagtatg ttagtattaa gaacgttatt tatatttcaa atttttcttt tttttctgta	5940
cagacgcgag ctccccagta aatgtgccat ctgtaggca gaaaacggtt ccccgtagg	6000
gtctctctct tggcctcctt tctaggtcgg gctgattgct cttgaagctc tctagggggg	6060
ctcacacat aggcagataa cgttccccac cggctgcct cgtaagcgca caaggactgc	6120
tcccaaagat ctaggcggg attttgccga ttctggccta aaggaaccgg aacacgtaga	6180
aagccagtcc gcagaaacgg tgctgacccc ggatgaatgt cagctactgg gctatctgga	6240
caaggga aaa cgcaagcgca aagagaaagc aggtagcttg cagtgggctt acatggcgat	6300
agctagactg ggcggtttta tggacagcaa gcgaaccgga attgccagct ggggcgcctt	6360
ctggtaaggt tgggaagccc tgcaaagtaa actggatggc tttcttgccg ccaaggatct	6420
gatggcgag gggatcaaga tctgatcaag agacaggatg aggatcggtt cgcattgattg	6480
aacaagatgg attgcacgca ggttctccgg ccgcttgggt ggagaggcta ttcggctatg	6540
actgggcaca acagacaatc ggctgctctg atgccgccgt gttccggctg tcagcgagg	6600

ggcgccccgt tctttttgtc aagaccgacc tgtccggtgc cctgaatgaa ctgcaggacg 6660

aggcagcgcg gctatcgtgg ctggccacga cgggcgttcc ttgcgcagct gtgctcgacg 6720

ttgtcactga agcgggaagg gactggctgc tatgggcga agtgccgggg caggatctcc 6780

tgtcatctcg ccttgctcct gccgagaaag tatccatcat ggctgatgca atgcggcggc 6840

tgcatacgct tgatccggt acctgcccac tgcaccacca agcgaaacat cgcacgcgac 6900

gagcacgtac tcggatggaa gccggtcttg tcgatcagga tgatctggac gaagagcatc 6960

aggggctcgc gccagccgaa ctgttcgcca ggctcaaggc gcgcatgcc gacggcgagg 7020

atctcgtcgt gatccatggc gatgcctgct tgccgaatat catggtggaa aatggccgct 7080

tttctggatt caacgactgt ggccggctgg gtgtggcgga ccgctatcag gacatagcgt 7140

tggatacccg tgatattgct gaagagcttg gcggcgaatg ggctgaccgc ttcctcgtgc 7200

tttacggtat cgcgcgtccc gattcgcagc gcatcgccct ctatcgccct cttgacgagt 7260

tcttctgaat tgaaaaagg accaagttta ctcatatata ctttagattg atttaaaact 7320

tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgacaaaat 7380

cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc 7440

ttcttgagat ctttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaa aaccaccgct 7500

accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggtaactgg 7560

cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt ctttctagt tagccgtagt taggccacca 7620

cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt taccagtggc 7680

tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga 7740

taaggcgtag cggtcgggt gaacggggggg ttctgtcaca cagcccagct tggagcgaac 7800

gacctacac gaactgagat acctacagcg tgagcattga gaaagcgcca cgcttcccga 7860

agggagaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag 7920

ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggttcc gccacctctg 7980

acttgagcgt cgatttttgc gatgctcgtc aggggggcgg agcctatgga aaaacgccag 8040

caacgcggcc tttttacggt tcctggccct ttgctggcct tttgtcaca tgttctttcc 8100

tcggttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagttag ctgataccgc 8160

tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga g 8191

<210> 12

<211> 1724

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 12

gaattcaaaa caaatgtgt gcaacctcct cccagtttac tcagattacc gagcataatt	60
ctcgacgac tgctaactac cagccgaacc ttggaactt tgagtttctc cagtctctcg	120
aaaatgacct gaaggtggaa aagctcgagg agaaggcgac caaactcgag gaggaggtgc	180
gatgtatgat caacagagtt gacaccaac cctgtcttt gctggagctg atcgacgatg	240
tgcagcggtt gggtttgact tataaattcg agaaggacat tatcaaggca ctggagaaca	300
ttgtgtcct cgacgagaac aagaagaaca agtctgatct tcacgtacc gctctctctt	360
tccgacttct tcgacaacac ggcttcgagg tgcgcagga cgtcttcgag agatttaagg	420
acaaggaggg aggathtagc ggcgagctga agggagacgt tcagggtctt ctctccttgt	480
acgaggcgctc ctacctggga ttcgaggag agaacctcct ggaggaagct cgtacatctt	540
ccatcactca ccttaagaat aaccttaagg aggaattaa caccaagtg gccgagcagg	600
tttctcagc cctggagctc cctaccacc aacggctcca tagactggag gctcgttggt	660
tcctggacaa atatgagcca aaggagctc atcatcagtt gctgttgag ttggccaagc	720
tggacttcaa tatggttcag acgctgcacc aaaaggagtt gcaggacctg tctcgatggt	780
ggaccgagat gggattggcc tcgaagctgg atttgtccg tgaccgactt atggaggtct	840
atttttgggc ccttgaatg gcgcctgacc cccagttcgg agagtgccgg aaggcggatga	900
cgaagatgtt cggctcttg actatcatcg acgacgtcta cgatgtctac ggcacactcg	960
acgagtigca gctgttact gacgccgtcg agcgatggga tgtgaacgcc attaatactc	1020
tcctgacta taigaagctg tgcttcctgg ctctgtacaa cactgtcaac gatacctcgt	1080
actctatcct caaggagaag ggacacaaca atctctcta cttgacaaa tcctggcgag	1140
aactgtgcaa ggcctttctg caggaggcta aatggtccaa taacaagatc attcctgctt	1200
tttctaata cctggaaaat gcctcgggtg cgagctctgg cgtcgccctt ctggccctt	1260
cctacttctc cgtctgccag cagcaggagg atatttccga tcatgctctt agatcgtga	1320
ccgattttca cggcctcgtg cgatcttctt gcgtgatctt tcggttgtgt aatgaccttg	1380
cgacctctgc tgctgagctg gaacgaggcg agactacaaa ttccattatt tcttacatgc	1440
acgaaaacga tggaacatct gaagaacagg ctagagagga actgcgaaag ttgatcgacg	1500
ccgagtggaa gaagatgaac agagagcggg tgcgcgactc taccctgctt cccaaggcct	1560
tcatggagat cgcctgaac atggctcgag ttcccatg tacttaccag tacggtgacg	1620

gcctgggtcg tccggactac gctacagaga accgaatcaa gctgctgctc atcgaccctt	1680
tcctatcaa ccaattgatg tacgtgtaat agtctagagg atcc	1724
<210> 13	
<211> 1701	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 13	
gaattcaaca aaaatgtgct ctgtttccac tgagaacgtg tcctttactg agactgagac	60
tgaagcacgt agaagcgcca actacgaacc caactcctgg gattatgact ttctgctgct	120
ttctgacacc gacgagtcga tcgaggttta taaggataag gccaaagaaac ttgaggccga	180
ggtcagacga gagattaaca acgagaaggc cgagttcctg acccttcttg agctgatcga	240
caacgttcaa cgacttggtc ttggttaccg tttcgaatcc gatatccgac gtgcattgga	300
tcgatttgct tcgtccggag gtttcgatgg tgtgactaag acgtcgctgc acgccacagc	360
tctttccttc agactgttgc ggcagcatgg atttgaggtt tcccaggaag ctttttctgg	420
tttcaaggat cagaacggaa actttttgga gaatctcaag gaggacacca aggccatcct	480
gtcgttgat gaggcctcgt tcctggctct tgaggcgag aatattctgg atgaggctcg	540
ggttttcgct atttcgcacc tgaaggagtt gtcggaggaa aagatcggaa aggaactggc	600
cgagcaggtc aaccatgcac ttgaacttcc cctgcatcga cgtacccagc gactggaggc	660
cggtgtggagc atcgaggcgt acagaaaaaa ggaggatgct aatcaggttc tgctcgaact	720
cgctatcctc gactataaca tgattcagag cgtgtaccag cgtgacttgc gagagacaag	780
ccggtgggtg cgacgggtgg gactggccac gaagctccac tttgctaaag atcgattgat	840
tgagtcgttc tactggcgac tgggtgtggc ctttgagcct cagtactccg actgccgaaa	900
ctccgttgca aagatgtttt cttttgtcac tatcatcgac gacatctacg atgtttacgg	960
cactctcgat gaactcgaac tcttcacgga cgtgtcagc cgatgggatg tgaatgcat	1020
taatgatctg ccagattata tgaagttgtg tttcttggcg ctctacaaca caattaatga	1080
aattgcctac gacaacctca aggacaaggg agagaacatt ctgccctacc ttactaaagc	1140
ctgggcccgc ctgtgtaacg cttttttgca ggaagccaag tggctctata acaaatctac	1200
tcctacattt gatgactact tcggcaacgc ttggaagtct tccagcggcc ctctccagtt	1260
gatcttcgct tactttgcag tggtcagaa catcaagaaa gaggagattg agaacctcca	1320
gaagtatcac gacatcatct cccgaccttc gcacatcttt cgactgtgca atgaccttgc	1380

ctccgcatcc gctgagattg cccgaggaga aacagccaat tctgtgtcgt gttacatgcg 1440
tacaaagggc atctccgagg agctggctac cgagtctgtg atgaacctga tcgatgaaac 1500

ctgtaagaag atgaacaaag agaaactggg cggttctctg ttcgccaaac catttgttga 1560
aaccgcgac aatctggctc gtcagtctca ttgtacttac cataacgggtg acgcgcacac 1620
ttcgccggac gaattgaccc gtaagcgtgt gctttcgggtg attaccgagc cgatcctgcc 1680
gttcgaaaga taataggatc c 1701

<210> 14
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 14
gatcaagctt aaccggaatt gccagctg 28

<210> 15
<211> 33
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 15
gatccgatcg tcagaagaac tcgtcaagaa ggc 33

<210> 16
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 16
catcaatgca tcgcccttag gaggtaaaaa aaaatgac 38

<210> 17
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct

<400>	17	
ccttctgcag gacgcgttgt tatagc		26
<210>	18	
<211>	60	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	18	
gatcatgcat tcgcccttag gaggtaaaaa aacatgagtt ttgatattgc caaataccgc		60
		60
<210>	19	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	19	
catgctgcag ttatgccagc caggccttga		30
<210>	20	
<211>	8804	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	20	
gctggtacca tatgggaatt cgaagctttc tagaacaaaa actcatctca gaagaggatc		60
tgaatagcgc cgtcgaccat catcatcatc atcattgagt ttaaaccggtc tccagcttgg		120
ctgttttggc ggatgagaga agattttcag cctgatacag attaaatcag aacgcagaag		180
cggctctgata aaacagaatt tgcctggcgg cagtagcgcg gtgggtccac ctgaccccat		240
gccgaactca gaagtgaac gccgtagcgc cgatggtagt gtggggtctc cccatgcgag		300
agtagggaac tgccaggcat caaataaaac gaaaggctca gtcgaaagac tgggcctttc		360
gttttatctg ttgtttgtcg gtgaacgctc tctgagtag gacaaatccg ccgggagcgg		420
atttgaacgt tgcgaagcaa cggcccgag ggtggcgggc aggacgccg ccataaactg		480
ccaggcatca aattaagcag aaggccatcc tgacggatgg cttttttgcg tttctacaaa		540
ctctttttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgttaacc ggaattgcc		600

gctggggcgc cctctggtaa ggttgggaag ccttgcaaag taaactggat ggctttctcg	660
ccgccaagga tctgatggcg caggggatca agctctgac aagagacagg atgaggatcg	720
tttcgcatga ttgaacaaga tggattgcac gcaggtttctc cggccgcttg ggtggagagg	780
ctattcggct atgactgggc acaacagaca atcggctgct ctgatgccgc cgtgttccgg	840
ctgtcagcgc agggggcgccc ggttcttttt gtcaagaccg acctgtccgg tgcctgaat	900
gaactgcaag acgaggcagc gcggtatcg tggctggcca cgacgggcgt tccttgcgca	960
gctgtgctcg acgttgtcac tgaagcggga agggactggc tgctattggg cgaagtgccg	1020
gggcaggatc tctgtcatc tcaccttgct cctgccgaga aagtatccat catggctgat	1080
gcaatcgggc ggctgcatc gcttgatccg gctacctgcc cattcgacca ccaagcgaaa	1140
catcgcatcg agcgagcacg tactcggatg gaagccggtc ttgtcgatca ggatgatctg	1200
gacgaagagc atcaggggct cgcccgagcc gaactgttcg ccaggctcaa ggcgagcatg	1260
cccagcggcg aggatctcgt cgtgacctat ggcatgcct gcttgccgaa tatcatggtg	1320
gaaaatggcc gcttttctgg attcatcgac tgtggccggc tgggtgtggc ggaccgctat	1380
caggacatag cgttggtcac ccgtgatatt gctgaagagc ttggcggcga atgggctgac	1440
cgcttctcgc tgccttacgg tatcgccgct ccgattcgc agcgcatcgc cttctatcgc	1500
cttcttgacg agttcttctg acatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg	1560
agcgtcagac cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt tcttgcgcgt	1620
aatctgctgc ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca	1680
agagctacca actcttttct cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac	1740
tgtccttcta gttagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac	1800
atactcgcct ctgctaattc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct	1860
taccgggttg gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg	1920
gggttcgtgc acacagccca gcttgagcgc aacgacctac accgaactga gatactaca	1980
gcgtgagcta tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt	2040
aagcggcagg gtcggaacag gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta	2100
tctttatagt cctgtcgggt ttgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc	2160
gtcagggggg cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac ggttcttgcc	2220
cttttgctgg ccttttgctc acatgttctt tcttgcgtta tccccgatt ctgtggataa	2280
ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag	2340

cgagtcagtg agcgaggaag cggaagagcg cctgatgcgg tattttctcc ttacgcatct	2400
gtgcggtatt tcacaccgca tatgggtgcac tctcagtaca atctgctctg atgccgcata	2460
gttaagccag tatacactcc gctatcgcta cgtgactggg tcatggctgc gccccgacac	2520
ccgccaacac ccgctgacgc gccctgacgg gcttgtctgc tcccggcatc cgcttacaga	2580
caagctgtga ccgtctccgg gagctgcatg tgtcagaggt tttcacgctc atcacgaaa	2640
cgcgcgaggc agcagatcaa ttccgcgcgc aaggcgaagc ggcatgcatt tacgttgaca	2700
ccatcgaatg gtgcaaaacc tttcgcggta tggcatgata gcgcccggaa gagagtcaat	2760
tcagggtggt gaatgtgaaa ccagtaacgt tatacgaatg cgcagagtat gccggtgtct	2820
cttatcagac cgtttccgc gtggtgaacc aggccagcca cgtttctgcg aaaacgcggg	2880
aaaaagtgga agcggcgatg gcggagctga attacattcc caaccgcgtg gcacaacaac	2940
tggcgggcaa acagtcgttg ctgattggcg ttgccacctc cagtctggcc ctgcacgcgc	3000
cgtcgcaaat tgtcgcggcg attaaatctc gcgccgatca actgggtgcc agcgtggtgg	3060
tgtcgaatgt agaacgaagc ggctgcgaag cctgtaaagc ggcggtgcac aatcttctcg	3120
cgcaacgcgt cagtgggctg atcattaact atccgctgga tgaccaggat gccattgctg	3180
tggaagctgc ctgcactaat gttccggcgt tatttcttga tgtctctgac cagacacca	3240
tcaacagtat tattttctcc catgaagacg gtacgcgact gggcgtggag catctggtcg	3300
cattgggtca ccagcaaatc gcgctgttag cgggccatt aagtctctgc tcggcgcgtc	3360
tgcgtctggc tggttgcat aaatatctca ctgcgaatca aattcagccg atagcgaac	3420
gggaaggcga ctggagtcc atgtccggtt ttcaacaaac catgcaaatg ctgaatgagg	3480
gcatcgttcc cactgcgatg ctggttgcca acgatcagat ggcgctgggc gcaatgcgcg	3540
ccattaccga gtccgggctg gcggttggtg cggatatctc ggtagtggga tacgacgata	3600
ccgaagacag ctcatgttat atcccgccgt caaccacat caaacaggat tttcgctgc	3660
tggggcaaac cagcgtggac cgcttgctgc aactctctca gggccaggcg gtgaaggga	3720
atcagctgtt gccgctctca ctggtgaaaa gaaaaaccac cctggcgccc aatacgcaaa	3780
ccgcctctcc ccgcgcgttg gccgattcat taatgcagct ggcacgacag gtttcccgac	3840
tggaaagcgg gcagtgcgc caacgaatt aatgtgagtt agcgcgaatt gatctggttt	3900
gacagcttat catcgactgc acgggtgcacc aatgcttctg gcgtcaggca gccatcgga	3960
gctgtggtat ggctgtgcag gtcgtaaatc actgcataat tcgtgtcgct caaggcgac	4020
tcccgttctg gataatgttt tttgcgccga catcataacg gttctggcaa atattctgaa	4080

atgagctgtt gacaattaat catccggctc gtataatgtg tggaattgtg agcggataac	4140
aatttcacac aggaaacagc gccgctgaga aaaagcgaag cggcactgct ctttaacaat	4200
ttatcagaca atctgtgtgg gcactcgacc ggaattatcg attaaacttta ttattaaaaa	4260
ttaaagaggt atatattaat gtatcgattt aataaggagg aataaacat gtgtgcgacc	4320
tcttctcaat ttactcagat taccgagcat aattcccgtc gttccgcaa ctatcagcca	4380
aacctgtgga atttcgaatt cctgcaatcc ctggagaacg acctgaaagt ggaaaagctg	4440
gaggagaaag cgaccaaact ggaggaagaa gtccgctgca tgatcaaccg ttagacacc	4500
cagccgctgt cctgctgga gctgatcgac gatgtgcagc gcctgggtct gacctacaaa	4560
tttgaaaag acatcattaa agccctggaa aacatcgta tgctggacga aaacaaaag	4620
aacaaatctg acctgcacgc aaccgctctg tctttccgtc tgctgcgtca gcacggttc	4680
gaggtttctc aggatgtttt tgagcgtttc aaggataaag aagtggttt cagcgtgaa	4740
ctgaaaggtg acgtccaagg cctgctgagc ctgtatgaag cgtcttacct gggtttcgag	4800
ggtgagaacc tgctggagga ggcgcgtacc ttttccatca ccacctgaa gaacaacctg	4860
aaagaaggca ttaataccaa gggtgcagaa caagtgagcc acgccctgga actgccatat	4920
caccagcgtc tgcaccgtct ggaggcacgt tggttcctgg ataaatacga accgaaagaa	4980
ccgcatcacc agctgctgct ggagctggcg aagctggatt ttaacatggt acagaccctg	5040
caccagaaag agctgcaaga tctgtccgc tggtaggacc agatgggcct ggctagcaaa	5100
ctggattttg tacgcgaccg cctgatggaa gtttatttct gggcactggg tatggcgcca	5160
gaccgcagct ttggtgaatg tcgcaaagct gttactaaaa tgtttggtct ggtgacgac	5220
atcgtgacg tgiatgacgt ttatggcact ctggacgaac tgcaactgtt caccgatgct	5280
gtagagcgtt gggacgttaa cgctattaac accctgccgg actatatgaa actgtgtttc	5340
ctggcactgt acaacaccgt taacgacacg tctatttcta ttctgaaaga gaaaggtcat	5400
aacaacctgt cctatctgac gaaaagctgg cgtgaactgt gcaaagcctt tctgcaagag	5460
gcgaaatggt ccaacaacaa aattatcccg gctttctcca agtacctgga aaacgccagc	5520
gtttctctct cgggtgtagc gctgctggcg ccgtcttact tttccgtatg ccagcagcag	5580
gaagacatct ccgaccacgc gctgcgttcc ctgaccgact tccatggtct ggtgcgttct	5640
agctgcgtta tcttccgct gtgcaacgat ctggccacct ctgcggcgga gctggaacgt	5700
ggcgagacta ccaattctat cattagctac atgcacgaaa acgatggtac cagcgaggaa	5760
caggccccgc aagaactgcg taaactgatc gacgccgaat ggaaaaagat gaatcgtgaa	5820
cgcgttagcg actccacct gctgcctaaa gcgttcatgg aaatcgagc taacatggca	5880
cgtgtttccc actgcaccta ccagtatggc gatggtctgg gtcgcccaga ctacgcgact	5940

gaaaaccgca tcaaaactgct gctgattgac cctttcccga ttaaccagct gatgtatgtc	6000
taactgcacg gcccttagga ggtaaaaaaa aatgactgcc gacaacaata gtatgcccc	6060
tgggtgcagta tctagttagc ccaaattagt gcaaaaccaa acacctgaag acattttgga	6120
agagtttcct gaaattattc cattacaaca aagacctaat acccgatcta gtgagacgtc	6180
aaatgacgaa agcggagaaa catgtttttc tggatcatgat gaggagcaaa ttaagttaat	6240
gaatgaaaat tgtattgttt tggattggga cgataatgct attggtgccg gtaccaagaa	6300
agttttgcat ttaatggaaa atattgaaaa gggtttacta catcgtgcat tctccgtctt	6360
tattttcaat gaacaagggt aattactttt acaacaaaga gccactgaaa aaataacttt	6420
ccctgatctt tggactaaca catgctgctc tcatccacta tgtattgatg acgaattagg	6480
tttgaagggt aagctagacg ataagattaa gggcgctatt actgcggcgg tgagaaaact	6540
agatcatgaa ttaggtattc cagaagatga aactaagaca aggggtaagt ttcacttttt	6600
aaacagaatc cattacatgg caccaagcaa tgaacctagg ggtgaacatg aaattgatta	6660
catcctatct tataagatca acgctaaaga aaacttgact gtcaacccaa acgtcaatga	6720
agtttagagac ttcaaatggg ttccacccaa tgatttgaaa actatgtttg ctgacccaag	6780
ttacaagttt acgccttggt ttaagattat ttgcgagaat tacttattca actgggtggga	6840
gcaattagat gacctttctg aagtggaaaa tgacaggcaa attcatagaa tgctataaca	6900
acgcgtcctg cattcgccct taggaggtaa aaaaacatga gttttgatat tgccaaatac	6960
ccgaccttgg cactgggtcga ctccaccag gagttacgac tgttgccgaa agagagtta	7020
ccgaaactct gcgacgaact gcgcgcgtat ttactcgaca gcgtgagccg ttccagcggg	7080
cacttcgcct ccgggctggg cacggtcgaa ctgacctggg cgctgacta tgtctacaac	7140
accccgtttg accaattgat ttgggatgtg gggcatcagg cttatccgca taaaattttg	7200
accggacgcc gcgacaaaaat cggcaccatc cgtcagaaag gcggtctgca cccgttcccg	7260
tggcgcggcg aaagcgaata tgacgtatta agcgtcgggc attcatcaac ctccatcagt	7320
gccggaattg gtattgcggt tgctgccgaa aaagaaggca aaaatcgccg caccgtctgt	7380
gtcattggcg atggcgcgat taccgcaggc atggcgtttg aagcgatgaa tcacgcgggc	7440
gatatccgtc ctgatatgct ggtgattctc aacgacaatg aaatgtcgat ttccgaaaat	7500
gtcggcgcgc tcaacaacca tctggcacag ctgctttccg gtaagcttta ctcttcactg	7560
cgcaaggcg ggaaaaaagt tttctctggc gtgccgcaa ttaagagct gctcaaacgc	7620
accgaagaac atattaaagg catggtagtg cctggcacgt tgtttgaaga gctgggcttt	7680
aactacatcg gcccggttga cggtcacgat gtgctggggc ttatcaccac gctaaagaac	7740
atgcgcgacc tgaaaggccc gcagttcctg catatcatga ccaaaaaagg tcgtggttat	7800

gaaccggcag aaaaagaccc gatacatttc cacgccgtgc ctaaatttga tccctccagc 7860

ggttggtttgc cgaagagtag cggcggtttg ccgagctatt caaaaatctt tggcgactgg 7920

ttgtgcgaaa cggcagcgaa agacaacaag ctgatggcga ttactccggc gatgcgtgaa 7980

ggttccggca tggtcgagtt ttcacgtaaa ttcccggatc gctacttcga cgtggcaatt 8040

gccgagcaac acgcggtgac ctttctctgc ggtctggcga ttggtgggta caaacccatt 8100

gtcgcgattt actccacttt cctgcaacgc gcctatgac aggtgctgca tgacgtggcg 8160

attcaaaagc ttccggtcct gttcgccatc gaccgcgcgg gcattgttgg tgctgacggt 8220

caaacccatc aggtgtcttt tgatctctct tacctgcgct gcataccgga aatggtcatt 8280

atgaccccga gcgatgaaaa cgaatgtcgc cagatgctct ataccggcta tcactataac 8340

gatggcccggt cagcgggtgc ctaccgcgt ggcaacgcgg tcggcgtgga actgacgccg 8400

ctggaaaaac taccaattgg caaaggcatt gtgaagcgtc gtggcgagaa actggcgatc 8460

cttaactttg gtacgctgat gccagaagcg gcgaaagtcg ccgaatcgct gaacgccacg 8520

ctggtcgata tgcgttttgt gaaaccgctt gatgaagcgt taattctgga aatggccgcc 8580

agccatgaag cgtggtcac cgtagaagaa aagccatta tggcgggcgc aggcagcggc 8640

gtgaacgaag tgctgatggc ccatcgtaaa ccagtaccg tgctgaacat tggcctgccg 8700

gacttcttta ttccgcaagg aactcaggaa gaaatgcgcg ccgaactcgg cctcgatgcc 8760

gtggtgatgg aagccaaaat caaggcctgg ctggcataac tgca 8804

<210> 21

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 21

aggaggtaaa aaaacatgtc attaccgttc ttaacttctg c 41

<210> 22

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 22

atggctgcag gcctatcgca aattagctta tgaagtccat ggtaaattcg tg 52

<210>	23	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	23	
	gaattcgccc ttctgcagct acc	23
<210>	24	
<211>	38	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	24	
	cgactgggtgc acccttaagg aggaaaaaaaa catgtcag	38
<210>	25	
<211>	25	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	25	
	gtgctggaat tcgcccttct gcagc	25
<210>	26	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	26	
	gtagatgcat gcagaattcg cccttaagga gg	32
<210>	27	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	27	

ccttctgcag gacgcgttgt tatagc	26
<210> 28	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 28	
catcaatgca tcgcccttag gaggtaaaaa aaaatgac	38
<210> 29	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 29	
gtgtgatgga tatctgcaga attcg	25
<210> 30	
<211> 36	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 30	
catcaatgca tcgcccttag gaggtaaaaa aacatg	36
<210> 31	
<211> 60	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 31	
gatcatgcat tcgcccttag gaggtaaaaa aacatgtgtg cgacctcttc tcaatttact	60
	60
<210> 32	
<211> 38	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 32

cggtcgacgg atccctgcag ttagacatac atcagctg 38

<210> 33

<211> 10992

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 33

gtttgacagc ttatcatcga ctgcacgggtg caccaatgct tctggcgtca ggcagccatc 60

ggaagctgtg gtatggctgt gcaggtcgta aatcactgca taattcgtgt cgctcaaggc 120

gcactcccggt tctggataat gttttttgctg ccgacatcat aacggttctg gcaaatttc 180

tgaaatgagc tgttgacaat taatcatccg gctcgtataa tgtgtggaat tgtgagcgga 240

taacaatttc acacaggaaa cagcgccgct gagaaaaagc gaagcggcac tgctctttaa 300

caatttatca gacaatctgt gtgggcactc gaccggaatt atcgattaac tttattatta 360

aaaattaaag aggtatatat taatgtatcg attaaataag gaggaataaa ccatggatcc 420

gagctcggat ccactagtaa cggccgccag tgtgctggaa ttcgccctta ggaggtaaaa 480

aaacatgtca ttaccgttct taacttctgc accgggaaag gttattatit ttggtgaaca 540

ctctgctgtg tacaacaagc ctgccgtcgc tgctagtgtg tctgcgttga gaacctacct 600

gctaataagc gagtcatctg caccagatac tattgaattg gacttcccgg acattagctt 660

taatcataag tgggccatca atgatttcaa tgccatcacc gaggatcaag taaactccca 720

aaaattggcc aaggctcaac aagccaccga tggcttgtct caggaactcg ttagtctttt 780

ggatccgttg ttagctcaac taccgaatc ctccactac catgcagcgt ttgttttct 840

gtatatgttt gtttgctat gcccccatgc caagaatatt aagttttctt taaagtctac 900

tttaccatc ggtgctgggt tgggtcaag cgctctatt tctglatcac tggccttagc 960

tatggcctac ttgggggggt taataggatc taatgacttg gaaaagctgt cagaaaacga 1020

taagcatata gtgaatcaat gggccttcat aggtgaaaag tgtattcag gtaccccttc 1080

aggaatagat aacgctgtgg ccattatgg taatgccctg ctatttgaaa aagactcaca 1140

taatggaaca ataaacacaa acaattttta gttcttagat gatttcccag ccattccaat 1200

gatcctaacc tatactagaa ttccaaggct tacaaaagat cttgttgctc gcgttcgtgt 1260

gttggtcacc gagaaatttc ctgaagttat gaagccaatt ctagatgcc a tgggtgaatg	1320
tgccctacaa ggcttagaga tcatgactaa gttaagtaaa tgtaaaggca ccgatgacga	1380
ggctgtagaa actaataatg aactgtatga acaactattg gaattgataa gaataaatca	1440
tggactgctt gtctcaatcg gtgtttctca tcttgatta gaacttatta aaaatctgag	1500
cgatgatttg agaattggct ccacaaaact taccgggtgct ggtggcggcg gttgctcttt	1560
gactttgtta cgaagagaca ttactcaaga gcaaattgac agcttcaaaa agaaattgca	1620
agatgatattt agttacgaga catttgaaac agacttgggt gggactggct gctgtttgtt	1680
aagcgcaaaa aatttgaata aagatcttaa aatcaaatcc ctagtattcc aattatttga	1740
aaataaaact accacaaagc aacaaattga cgatctatta ttgccaggaa acacgaattt	1800
accatggact tcataagcta atttgcgata ggctgcacc ctttaaggagg aaaaaacat	1860
gtcagagttg agagccttca gtgccccagg gaaagcgta ctagctggtg gatatttagt	1920
tttagatata aaatatgaag cattttagt cggattatcg gcaagaatgc atgctgtagc	1980
ccatccttac ggttcattgc aagggtctga taagtttgaa gtgcgtgtga aaagtaaca	2040
atttaaatg ggggagtggc tgtaccatat aagtcctaaa agtggcttca ttcctgtttc	2100
gataggcgga tctaagaacc ctttcattga aaaagtatc gctaacgtat ttagctactt	2160
taaacctaac atggacgact actgcaatag aaacttgctt gttattgata ttttctctga	2220
tgatgcctac cattctcagg aggatagcgt taccgaacat cgtggcaaca gaagattgag	2280
ttttcattcg cacagaattg aagaagttcc caaacaggg ctgggctcct cggcaggttt	2340
agtcacagtt ttaactacag ctttggcctc cttttttgta tcggacctgg aaaataatgt	2400
agacaaatat agagaagtta ttcataattt agcacaagtt gctcattgtc aagctcaggg	2460
taaaattgga agcgggtttg atgtagcggc ggcagcatat ggatctatca gatatagaag	2520
attcccaccc gcattaatct ctaatttggc agatattgga agtgcactt acggcagtaa	2580
actggcgcat ttggttgatg aagaagactg gaatattacg attaaaagta accatttacc	2640
ttcgggatta actttatgga tgggcgatat taagaatggt tcagaaacag taaaactggt	2700
ccagaaggta aaaaattggt atgattcgca tatgccagaa agcttgaaaa tatatacaga	2760
actcgatcat gcaaattcta gatttatgga tggactatct aaactagatc gcttacacga	2820
gactcatgac gattacagcg atcagatatt tgagtctctt gagaggaatg actgtacctg	2880
tcaaaagtat ccigaaatca cagaagttag agatgcagtt gccacaatta gacgttcctt	2940
tagaaaaata actaaagaat ctggtgccga tatcgaaact cccgtacaaa ctagcttatt	3000
ggatgattgc cagaccttaa aaggagttct tacttgcctt atacctggtg ctggtggtta	3060
tgacgccatt gcagtgatta ctaagcaaga tgttgatctt agggctcaaa ccgctaatga	3120

caaaagattt tctaaaggttc aatggctgga tgtaactcag gctgactggg gtgttaggaa	3180
agaaaaagat ccggaaactt atcttgataa ataacttaag gtagctgcat gcagaattcg	3240
cccttaagga ggaaaaaaaa atgaccgttt acacagcatc cgttaccgca cccgtcaaca	3300
tcgcaaccct taagtattgg gggaaaaggg acacgaagtt gaatctgccc accaattcgt	3360
ccatatcagt gactttatcg caagatgacc tcagaacgtt gacctctgcg gctactgcac	3420
ctgagtttga acgcgacact ttgtggttaa atggagaacc acacagcatc gacaatgaaa	3480
gaactcaaaa ttgtctgctg gacctacgcc aattaagaaa ggaaatggaa tcgaaggacg	3540
cctcattgcc cacattatct caatggaaac tccacattgt ctccgaaaat aactttccta	3600
cagcagctgg ttiagcttcc tccgctgctg gctttgctgc attggtctct gcaattgcta	3660
agttatacca attaccacag tcaacttcag aaatatctag aatagcaaga aaggggtctg	3720
gttcagcttg tagatcgttg ttggcggat acgtggcctg ggaaatggga aaagctgaag	3780
atggtcatga ttccatggca gtacaaatcg cagacagctc tgactggcct cagatgaaag	3840
cttgtgtcct agttgtcagc gatattaaaa aggatgtgag ttccactcag ggtatgcaat	3900
tgaccgtggc aacctccgaa ctattttaaag aaagaattga acatgtcgta ccaaagagat	3960
ttgaagtcac gcgtaaagcc attgttgaag aagatttcgc cacctttgca aaggaaacaa	4020
tgatggattc caactcttc catgccacat gtttggaactc tttccctcca atattctaca	4080
tgaatgacac ttccaagcgt atcatcagtt ggtgccacac cattaatcag ttttacggag	4140
aaacaatcgt tgcatacag ttgatgcag gtccaaatgc tgtgtgttac tacttagctg	4200
aaaatgagtc gaaactcttt gcatttatct ataaattgtt tggtctgtt cctggatggg	4260
acaagaaatt tactactgag cagcttgagg ctttcaacca tcaatttgaa tcacttaact	4320
ttactgcacg tgaattggat cttgagttgc aaaaggatgt tgccagagtg attttaactc	4380
aagtcggttc aggcccacaa gaaacaaacg aatctttgat tgacgcaaag actggtctac	4440
caaaggaata agatcaattc gctgcatcgc ccttaggagg taaaaaaaa tgactgccga	4500
caacaatagt atgccccatg gtgcagtatc tagttacgcc aaattagtgc aaaaccaaac	4560
acctgaagac attttggaag agtttcctga aattattcca ttacaacaaa gacctaatc	4620
ccgatctagt gagacgtcaa atgacgaaag cggagaaaca tgtttttctg gtcattgatga	4680
ggagcaaatt aagttaatga atgaaaattg tatgttttg gattgggacg ataattctat	4740
tgggtccggt accaagaaag ttgtcattt aatggaaaat attgaaaagg gtttactaca	4800
tcgtgcattc tccgtcttta ttttcaatga acaaggtgaa ttacttttac aacaaagagc	4860

cactgaaaaa ataactttcc ctgatctttg gactaacaca tgctgctctc atccactatg	4920
tattgatgac gaattaggtt tgaagggtta gctagacgat aagattaagg gcgctattac	4980
tgcgcggtg agaaaactag atcatgaatt aggtattcca gaagatgaaa ctaagacaag	5040
gggtaagttt cactttttaa acagaatcca ttacatggca ccaagcaatg aacctgggg	5100
tgaacatgaa attgattaca tctatttta taagatcaac gctaaagaaa acttgactgt	5160
caacccaaac gtcaatgaag ttagagactt caaatgggtt tcaccaaag atttgaaaac	5220
tatgtttgct gacccaagtt acaagtttac gccttggtt aagattattt gcgagaatta	5280
cttattcaac tggtagggagc aattagatga cttttctgaa gtggaaaatg acaggcaaat	5340
tcatagaatg ctataacaac gcgtcctgca ttcgccctta ggaggtaaaa aaacatgtgt	5400
gcgacctctt ctcaatttac tcagattacc gagcataatt cccgtcgttc cgcaactat	5460
cagccaaacc tgtggaattt cgaattcctg caatccctgg agaacgacct gaaagtggaa	5520
aagctggagg agaaagcgac caaactggag gaagaagttc gctgcatgat caaccgtgta	5580
gacaccacgc cgctgtccct gctggagctg atcgacgatg tgcagcgctt gggcttgacc	5640
tacaaatttg aaaaagacat cattaagacc ctggaaaaca tcgtactgct ggacgaaaac	5700
aaaaagaaca aatctgacct gcacgcaacc gctctgtctt tccgtctgct gcgtcagcac	5760
ggtttcgagg ttctcagga tgttttgag cgtttcaagg ataaagaagg tggtttcagc	5820
ggtgaactga aaggtgacgt ccaaggcctg ctgagcctgt atgaagcgtc ttacctgggt	5880
ttcgagggtg agaacctgct ggaggaggcg cgtacctttt ccatcaccca cctgaagaac	5940
aacctgaaag aaggcattaa taccaaggtt gcagaacaag tgagccacgc cctggaactg	6000
ccatatcacc agcgtctgca ccgtctggag gcacgttgggt tccctggataa atacgaaccg	6060
aaagaaccgc atcaccagct gctgtctggag ctggcggaagc tggattttta catggtacag	6120
acctgcacc agaaagagct gcaagatctg tcccgtgggt ggaccgagat gggcctggt	6180
agcaactgg atttgtacg cgaccgcctg atggaagttt atttctgggc actgggtatg	6240
gcgccagacc cgagtttgg tgaatgtgc aaagctgtta ctaaaatgtt tggctctggtg	6300
acgatcatcg atgacgtgta tgacgtttat ggcactctgg acgaactgca actgttcacc	6360
gatgctgtag agcgctggga cgttaacgct attaacaccc tgccggacta tatgaaactg	6420
tgtttcctgg cactgtacaa caccgttaac gacacgtcct attctattct gaaagagaaa	6480
ggtcataaca acctgtccta tctgacgaaa agctggcgtg aactgtgcaa agcctttctg	6540
caagaggcga aatggtccaa caacaaaatt atcccggctt tctccaagta cctggaaaac	6600

gccagcgttt cctcctccgg tgtagcgctg ctggcgccgt cttacttttc cgtatgccag	6660
cagcaggaag acatctccga ccacgcgctg cgttcctga ccgacttcca tggcttggtg	6720
cgttctagct gcgttatctt ccgcctgtgc aacgatctgg ccacctctgc ggcggagctg	6780
gaacgtggcg agactacca tttatcatt agctacatgc acgaaaacga tggtagcagc	6840
gaggaacagg cccgcgaaga actgcgtaaa ctgatcgacg ccgaatggaa aaagatgaat	6900
cgtgaacgcg ttagcgactc caccctgctg cctaaagcgt tcatggaaat cgcagttaac	6960
atggcacgtg ttccctactg cacctaccag tatggcgatg gtcgggtcg cccagactac	7020
gcgactgaaa accgcatcaa actgctgctg attgacctt tcccattaa ccagctgatg	7080
tatgtctaac tgcagctggt accatatggg aattcgaagc tttctagaac aaaaactcat	7140
ctcagaagag gatctgaata gcgccgtcga ccatcatcat catcatcatt gaggtttaac	7200
ggtctccagc ttggctgttt tggcggatga gagaagattt tcagcctgat acagattaaa	7260
tcagaacgca gaagcggctt gataaaacag aatttgcctg gcggcagtag cgcggtggtc	7320
ccacctgacc ccatgccgaa ctcagaagtg aaacgccgta gcgccgatgg tagtgtgggg	7380
tctcccatg cgagagtagg gaactgccag gcatcaaata aaacgaaagg ctcatcgaa	7440
agactgggcc ttctgtttta tctgttgttt gtcggtgaac gctctcctga gtaggacaaa	7500
tccgccggga gcggatttga acgttgcgaa gcaacggccc ggagggtggc gggcaggacg	7560
cccgccataa actgccaggc atcaaattaa gcagaaggcc atcctgacgg atggcctttt	7620
tgcgtttcta caaactcttt ttgtttattt ttctaaatac attcaaatat gtatccgctt	7680
aaccggaatt gccagctggg gcgccctctg gtaagggttg gaagccctgc aaagtaaaact	7740
ggatggcttt ctgcgccca aggatctgat ggcgagggg atcaagctct gatcaagaga	7800
caggatgagg atcgtttcgc atgattgaac aagatggatt gcacgcaggt tctccggccg	7860
cttgggtgga gaggctattc ggctatgact gggcacaaca gacaatcggc tgctctgatg	7920
ccgccgtgtt ccggctgtca gcgcaggggc gcccggttct ttttgtcaag accgacctgt	7980
ccggtgccct gaatgaactg caagacgagg cagcgcggt atcgtggctg gccacgacgg	8040
gcgttccttg cgcagctgtg ctgcagttg tctactgaagc gggaaggac tggctgctat	8100
tgggcgaagt gccggggcag gatctcctgt catctcacct tgctcctgcc gagaaagtat	8160
ccatcatggc tgatgcaatg ggcgggtgc atacgcttga tccggtacc tgccattcg	8220
accaccaagc gaaacatgc atcgagcgag cacgtactcg gatggaagcc ggtcttgtcg	8280
atcaggatga tctggacgaa gagcatcagg ggctcgccc agccgaactg ttcgccaggc	8340
tcaaggcgag catgcccgac ggcgaggatc tcgtcgtgac ccatggcgat gcctgcttgc	8400
cgaatatcat ggtggaaaaa ggccgctttt ctggattcat cgactgtggc cggctgggtg	8460

tgccggaccg ctatcaggac atagcgttgg ctacccgtga tattgctgaa gagcttggcg	8520
gcgaatgggc tgaccgcttc ctctgtcttt acggtatcgc cgctcccgat tcgcagcgca	8580
tcgccttcta tcgccttctt gacgagttct tctgacgcat gacaaaaatc ccttaacgtg	8640
agttttcgtt ccactgagcg tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc	8700
cttttttctt gcgcgtaatc tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcgggtg	8760
tttgtttgcc ggatcaagag ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag	8820
cgcagatacc aaatactgtc cttctagtgt agccgtagt ttgccaccac ttcaagaact	8880
ctgtagcacc gcctacatac ctctgtctgc taatcctgtt accagtggct gctgccagt	8940
gcgataagtc gtgtcttacc gggttggact caagacgata gttaccggat aaggcgcagc	9000
ggtcgggctg aacggggggg tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg	9060
aactgagata cctacagcgt gagctatgag aaagcgccac gcttcccgaa gggagaaagg	9120
cggacaggta tccggtaaag ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacgagg gagcttcag	9180
ggggaaacgc ctggtatctt tatagtcctg tcgggtttcg ccacctctga ctgagcgtc	9240
gatttttgtg atgctcgtca ggggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct	9300
ttttacgggt ccaggccttt tgctggcctt ttgctcact gttctttcct gcgttatccc	9360
ctgattctgt ggataaccgt attaccgctt ttgagtgagc tgataccgct cgccgcagcc	9420
gaacgaccga gcgcagcgag tcagtgagcg aggaagcgga agagcgctg atgcggtatt	9480
ttctccttac gcatctgtgc ggtatttcac accgcatatg gtgcactctc agtacaatct	9540
gctctgatgc cgcatagtta agccagtata cactccgcta tcgtacgtg actgggtcat	9600
ggctgcgccc cgacaccgc caacaccgc tgacgcgccc tgacgggctt gtctgtctcc	9660
ggcatccgct tacagacaag ctgtgaccgt ctccgggagc tgcatgtgtc agaggttttc	9720
accgtcatca ccgaaacgcg cgaggcagca gatcaattcg gcgcggaagg cgaagcgca	9780
tgcatttacg ttgacacat cgaatgggtc aaaaccttc gcggtatggc atgatacgcc	9840
ccggaagaga gtcaattcag ggtggtgaat gtgaaaccag taacgttata cgatgtcgca	9900
gagtatgccg gtgtctctta tcagaccgtt tcccgcgtgg tgaaccaggc cagccacgtt	9960
tctgcgaaaa cgcgggaaaa agtgaagcg gcgatggcgg agctgaatta cattcccaac	10020
cgcgtggcac aacaactggc gggcaaacag tcgttgctga ttggcgttgc cactccagt	10080
ctggccctgc acgcgccgtc gcaaatgtc gcggcgatta aatctcgccg cgatcaactg	10140
ggtgccagcg tgggtgtgtc gatggtagaa cgaagcggcg tcgaagcctg taaagcggcg	10200
gtgcacaatc ttctcgcca acgcgtcagt gggctgatca ttaactatcc gctggatgac	10260
caggatgccca ttgtgtgga agctgcctgc actaatgttc cggcgttatt tcttgatgtc	10320

tctgaccaga caccatcaa cagtattatt ttctccatg aagacgtac gcgactgggc 10380

giggagcatc tggtcgcatt gggtcaccag caaatcgcg tgtagcggg cccattaagt 10440

tctgtctcgg cgcgtctcgg tctggctggc tggcataaat atctcactcg caatcaaatt 10500

cagccgatag cggaacggga aggcgactgg agtgccatgt ccggttttca acaaaccatg 10560

caaatgctga atgagggcat cgttccact gcgatgctgg ttgccaacga tcagatggcg 10620

ctgggcgcaa tgcgcgcat taccgagtcc gggctgcgcg ttggtgcgga tatctcgga 10680

gtgggatacg acgataccga agacagctca tgttatatcc cgccgtcaac caccatcaaa 10740

caggattttc gctgctggg gcaaaccagc gtggaccgct tgctgcaact ctctcagggc 10800

caggcggtag agggcaatca gctgttgccc gtctcactgg tgaaaagaaa aaccaccctg 10860

gcgccaata cgcaaaccgc ctctccccgc gcgttgccg attcattaat gcagctggca 10920

cgacaggttt cccgactgga aagcgggcag tgagcgcaac gcaattaatg tgagttagcg 10980

cgaattgac tg 10992

<210> 34

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 34

gagacatgag ctcaggaggt aaaaaaacat gaaaacagta gttattatt 49

<210> 35

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 35

tttatcaatc ccaattgca tgttttttta cctcctttat tgttttctta aatc 54

<210> 36

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 36

gatttaagaa aacaataaag gaggtaaaaa aacatgacaa ttgggattga taaa	54
<210> 37	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 37	
gacatgacat agatctttag ttctgataag aacgaacggt	40
<210> 38	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 38	
atgaaaacag tagttattat tgatgc	26
<210> 39	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 39	
atgttattgt tttcttaa at catttaaat agc	33
<210> 40	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 40	
atgacaattg ggattgataa aattag	26
<210> 41	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Synthetic Construct

<400> 41

ttagtttcga taagaacgaa cggt 24

<210> 42

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 42

gaaatagccc cattagaagt atc 23

<210> 43

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 43

ttgccaatca tatgattgaa aatc 24

<210> 44

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 44

gctatgcttc attagatcct tatcg 25

<210> 45

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 45

gaaacctaca tccaatcttt tgccc 25

<210> 46

<211> 8703

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 46

```

cccgtcttac tgcgggaat tcgcgttggc cgattcatta atgcagattc tgaaatgagc      60
tgttgacaat taatcatccg gtcgtataa tgtgtggaat tgtgagcgga taacaatttc      120
acacaggaaa cagcgccgct gagaaaaagc gaagcggcac tgctctttaa caatttatca      180

gacaatctgt gtgggcactc gaccggaatt atcgattaac tttattatta aaaattaaag      240
aggtatatat taatgtatcg attaaataag gaggaataaa ccatggatcc gagctcagga      300
ggtaaaaaaa catgaaaaca gtagttatta ttgatgcatt acgaacacca attggaaaat      360
ataaaggcag cttaatgcaa gtaagtgcg tagacttagg aacacatgtt acaacacaac      420
ttttaaaaag acattccact atttctgaag aaattgatca agtaatcttt ggaaatgttt      480
tacaagctgg aaatggccaa aatcccgcac gacaaatagc aataaacagc ggtttgtctc      540
atgaaattcc cgcaatgacg gttaatgagg tctgcggatc aggaatgaag gccgttattt      600

tggcgaaaca attgattcaa ttaggagaag cggaagtgtt aattgctggc gggattgaga      660
atatgtccca agcacctaaa ttacaacgtt ttaattacga aacagaaaagc tacgatgcgc      720
ctttttctag tatgatgat gatggattaa cggatgcctt tagtggtcag gcaatgggct      780
taactgctga aaatgtggcc gaaaagtatc atgtaactag agaagagcaa gatcaatttt      840
ctgtacattc acaattaaaa gcagctcaag cacaagcaga agggatatc gctgacgaaa      900
tagccccatt agaagtatca ggaacgcttg tggagaaaga tgaagggatt cgccctaatt      960
cgagcgttga gaagctagga acgcttaaaa cagtttttta agaagacggt actgtaacag     1020

cagggaatgc atcaaccatt aatgatgggg cttctgcttt gattattgct tcacaagaat     1080
atgccgaagc acacggtctt ccttatcttag ctattattcg agacagtgtg gaagtcggta     1140
ttgatccagc ctatatggga atttcgccga ttaaagccat tcaaaaactg ttagcgcgca     1200
atcaacttac tacggaagaa attgatctgt atgaaatcaa cgaagcattt gcagcaactt     1260
caatcgtggt ccaaagagaa ctggctttac cagaggaaaa ggtcaacatt tatggtggcg     1320
gtatttcatt aggtcatcg attggtgcca caggtgctcg tttattaacg agtttaagtt     1380
atcaattaaa tcaaaaagaa aagaaatatg gattggcttc tttatgtatc ggccgttggt     1440

taggactcgc tatgtacta gagagacctc agcaaaaaaa aaacagccga ttttatcaaa     1500
tgagtctga ggaacgctg gcttctcttc ttaatgaagg ccagatttct gctgatacaa     1560
aaaaagaatt tgaaatacg gctttatctt cgcagattgc caatcatatg attgaaaatc     1620

```

aaatcagtga aacagaagtg ccgatgggcg ttggcttaca tttaacagtg gacgaaactg	1680
attatttggg accaatggcg acagaagagc cctcagttat tgcggctttg agtaatgggtg	1740
caaaaatagc acaaggattt aaaacagtga atcaacaacg cttaatgcgt ggacaaatcg	1800
ttttttacga tgttgcagat cccgagtcac tgattgataa actacaagta agagaagcgg	1860
aagtttttca acaagcagag ttaagttatc catctatcgt taaacggggc ggcggcttaa	1920
gagatttgca atatcgtact ttgatgaat catttgatc tgcgacttt ttagtagatg	1980
ttaaggatgc aatgggggca aatatcgtta acgctatgtt ggaagggtgtg gccgagttgt	2040
tccgtgaatg gtttgcggag caaaagattt tattcagtat ttttaagtaat tatgccacgg	2100
agtcggttgt tacgatgaaa acggctattc cagtttcacg ttttaagtaag gggagcaatg	2160
gccgggaaat tgctgaaaaa attgttttag cttcacgcta tgcttcatta gatccttacc	2220
gggcagtcac gcataacaaa ggaatcatga atggcattga agctgtagtt ttagctacag	2280
gaaatgatac acgcgctgtt agcgtttctt gtcatgcttt tgcgggtgaag gaaggtcgct	2340
accaaggctt gactagttag acgctggatg gcgaacaact aattgggtgaa atttcagttc	2400
cgcttgcttt agccacgggt ggcggtgcca caaaagtctt acctaaatct caagcagctg	2460
ctgatttggt agcagtgacg gatgcaaaag aactaagtcg agtagtagcg gctgttggtt	2520
tggcacaaaa tttagcggcg ttacgggcct tagtctctga aggaattcaa aaaggacaca	2580
tggtcttaca agcacgttct ttagcgatga cggtcggagc tactggtaaa gaagttgagg	2640
cagtcgctca acaattaaaa cgtcaaaaaa cgatgaacca agaccgagcc atggctattt	2700
taaatgattt aagaaaacaa taaaggaggt aaaaaaacat gacaattggg attgataaaa	2760
ttagtttttt tgtgccccct tatttatattg atatgacggc actggctgaa gccagaaatg	2820
tagaccctgg aaaatttcat attggtattg ggcaagacca aatggcgggtg aacccaatca	2880
gccaagatat tgtgacattt gcagccaatg ccgcagaagc gatcttgacc aaagaagata	2940
aagaggccat tgatatgggtg attgtcggga ctgagtcag tatcgatgag tcaaaagcgg	3000
ccgcagttgt cttacatcgt ttaatgggga ttcaaccttt cgctcgtctt ttcgaaatca	3060
aggaagcttg ttacggagca acagcaggct tacagttagc taagaatcac gtagccttac	3120
atccagataa aaaagtcttg gtcgtagcgg cagatatgac aaaatatggc ttaaattctg	3180
gcggtgagcc tacacaagga gctggggcgg ttgcaatgtt agttgctagt gaaccgcgca	3240
ttttggcttt aaaagaggat aatgtgatgc tgacgcaaga tatctatgac ttttggcgtc	3300
caacaggcca cccgtatcct atggtcgatg gtcctttgtc aaacgaaacc tacatccaat	3360
cttttgccca agtctgggat gaacataaaa aacgaaccgg tcttgatttt gcagattatg	3420
atgcttttagc gticcatatt ccttacacaa aaatgggcaa aaaagcctta ttagcaaaaa	3480

tctccgacca aactgaagca gaacaggaac gaatttttagc ccgttatgaa gaaagtatcg	3540
tctatagtcg tcgcgtagga aacttgata cgggttcact ttatctggga ctcatattccc	3600
ttttagaaaa tgcaacgact ttaaccgcag gcaatcaaat tggtttattc agttatggtt	3660
ctggtgctgt cgctgaattt ttcactggig aattagtagc tggttatcaa aatcatttac	3720
aaaaaagaaac tcatttagca ctgctggata atcggacaga actttctatc gctgaatatg	3780
aagccatgtt tgcagaaact ttagacacag acattgatca aacgttagaa gatgaattaa	3840
aatatagtat ttctgctatt aataataaccg ttctgttctta tcgaaactaa gagatctgca	3900
gctggtacca tatgggaatt cgaagcttgg gcccgaaaca aaactcatct cagaagagga	3960
tctgaatagc gccgtcgacc atcatcatca tcatcattga gtttaaaccg tctccagctt	4020
ggctgttttg gcggatgaga gaagattttc agcctgatac agattaaatc agaacgcaga	4080
agcggcttga taaaacagaa ttgacctggc ggcagtagcg cggtgggtccc acctgacccc	4140
atgccgaact cagaagtga acgccgtagc gccgatggta gtgtggggtc tccccatgcg	4200
agagtaggga actgccaggc atcaataaaa acgaaaggct cagtcgaaag actgggcctt	4260
tcgttttate tgttgtttgt cggatgaacgc tctctgagt aggacaaatc cgccgggagc	4320
ggatttgaac gtgcgaagc aacggccccg aggggtggcgg gcaggacgcc cgccataaac	4380
tgccaggcat caaattaagc agaaggccat cctgacggat ggcccttttg cgtttctaca	4440
aactcttttt gtttatTTTT ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa	4500
ccctgataaa tgcttcaata atctggcgta atagcgaaga ggcccgacc gatcgccctt	4560
cccaacagtt gcgcagcctg aatggcgaat ggcgctgat gcggtatttt ctccttacgc	4620
atctgtgcgg tatttcacac cgcatatggt gcaactctag tacaatctgc tctgatgccg	4680
catagttaag ccagccccga caccgccaa caccgctga cgagcttagt aaagccctcg	4740
ctagatttta atgcggatgt tgcgattact tcgccaacta ttgcgataac aagaaaaagc	4800
cagcctttca tgatatact cccaatttgi ttagggctta ttatgcacgc ttaaaaaataa	4860
taaaagcaga cttgacctga tagtttggct gtgagcaatt atgtgcttag tgcattctaac	4920
gcttgagtta agccgcgccg cgaagcggcg tcggcttgaa cgaattgtta gacattattt	4980
gccgactacc ttggtgatct cgcctttcac gtagtggaca aattcttcca actgatctgc	5040
gcgcgaggcc aagcgatctt cttcttgtcc aagataagcc tgtctagctt caagtatgac	5100
gggctgatac tgggccggca ggcgtccat tgcccagtcg gcagcgacat ctttcggcgc	5160
gattttgccg gttactgcgc tgtaccaa at gcgggacaac gtaagcacta catttcgctc	5220

atcgccagcc cagtcgggcg gcgagttcca tagcgtaaag gtttcattta ggcctcaaaa	5280
tagatcctgt tcaggaaccg gatcaaagag ttcttcgcc gctggaccta ccaaggcaac	5340
gctatgttct cttgcttttg tcagcaagat agccagatca atgtcgatcg tggctggctc	5400
gaagatacct gcaagaatgt cattgcgctg ccattctcca aattgcagtt cgcgcttagc	5460
tggataacgc cacggaatga tgtcgtcgtg cacaacaatg gtgacttcta cagcgcggag	5520
aatctcgctc tctccagggg aagccgaagt ttccaaaagg tcgttgatca aagctcgccg	5580
cgttgtttca tcaagcctta cggtcaccgt aaccagcaaa tcaatatcac tgttggtt	5640
caggccgcca tcactgcgg agccgtacaa atgtacggcc agcaacgtcg gttcgagatg	5700
gcgtcgatg acgccaacta cctctgatag ttgagtcgat acttcggcga tcaccgttc	5760
cctcatgatg tttaactttg ttttagggcg actgccctgc tgcgtaacat cgttgctgct	5820
ccataacatc aaacatcgac ccacggcgta acgcgcttgc tgcctggatg cccgaggcat	5880
agactgtacc ccaaaaaaac agtcataaca agccatgaaa accgccactg cgccgttacc	5940
accgctgcgt tcggtcaagg ttctggacca gttgcgtgag cgcatacgt acttgatta	6000
cagcttacga accgaacagg cttatgtcca ctgggttcgt gccttcatcc gtttcacgg	6060
tgtgcgtcac ccggcaacct tgggcagcag cgaagtcgag gcatttctgt cctggctggc	6120
gaacgagcgc aaggtttcgg tctccacgca tcgtcaggca ttggcggcct tgctgttctt	6180
ctacggcaag gtgctgtgca cggatctgcc ctggcttcag gagatcggaa gacctcggcc	6240
gtcgcggcgc ttgccgttgg tgcgtacccc ggatgaagtg gttcgcaccc tcggttttct	6300
ggaaggcgag catcgtttgt tgcgccagct tctgtatgga acgggcatgc ggatcagtga	6360
gggtttgcaa ctgcgggtca aggatctgga ttctgatcac ggcacgatca tcgtgcggga	6420
gggcaagggc tccaaggatc gggccttgat gttaccgag agcttggcac ccagcctgcg	6480
cgagcagggg aattaattcc cacgggtttt gctgcccgca aacgggctgt tctggtgttg	6540
ctagtttgtt atcagaatcg cagatccggc ttacgccgtt ttgccggctg aaagcgtat	6600
ttcttccaga attgccatga ttttttcccc acgggaggcg tcactggctc ccgtgttgct	6660
ggcagctttg attcgataag cagcatcgcc tgtttcaggc tgtctatgtg tgactgttga	6720
gctgtaacaa gttgtctcag gtgttcaatt tcatgttcta gttgctttgt tttactgggt	6780
tcacctgttc tattaggtgt tacatgctgt tcatctgtta cattgtcgat ctgttcatgg	6840
tgaacagctt tgaatgcacc aaaaactcgt aaaagctctg atgtatctat cttttttaca	6900
ccgttttcat ctgtgcatat ggacagtttt ccttttgata tgtaacggtg aacagttgtt	6960
ctacttttgt ttgttagtct tgatgcttca ctgatagata caagagccat aagaacctca	7020
gatccttccg tatttagcca gtatgttctc tagtgtggtt cgttgttttt gcgtgagcca	7080

tgagaacgaa ccattgagat catacttact ttgcatgtca ctcaaaaatt ttgcctcaaa	7140
actggtgagc tgaatttttg cagttaaagc atcgtgtagt gtttttctta gtccgttatg	7200
taggtaggaa tctgatgtaa tggttgttgg tattttgtca ccattcattt ttatctggtt	7260
gttctcaagt tcggttacga gatccatttg tctatctagt tcaacttgga aaatcaacgt	7320
atcagtcggg cggcctcgct tatcaaccac caatttcata ttgctgtaag tgtttaaatc	7380
tttacttatt ggtttcaaaa cccattgggt aagcctttta aactcatggt agttattttc	7440
aagcattaac atgaacttaa attcatcaag gctaactctt atatttgcct tgtgagtttt	7500
cttttgtgtt agttctttta ataaccactc ataaatcttc atagagtatt tgttttcaaa	7560
agacttaaca tgttccagat tatattttat gaattttttt aactggaaaa gataaggcaa	7620
tatctcttca ctaaaaacta attctaattt ttcgcttgag aacttggcat agtttgtcca	7680
ctggaaaatc tcaaagcctt taaccaaagg attcctgatt tccacagttc tcgtcatcag	7740
ctctctgggt gcittagcta atacaccata agcattttcc ctactgatgt tcatcatctg	7800
agcgtatttg ttataagtga acgataccgt ccgttctttc cttgtagggt tttcaatcgt	7860
gggggttgagt agtgccacac agcataaaat tagcttgggt tcatgctccg ttaagtcata	7920
gcgactaatc gctagttcat ttgctttgaa aacaactaat tcagacatac atctcaattg	7980
gtctaggtga ttttaatcac tataccaatt gagatgggct agtcaatgat aattactagt	8040
ccttttcctt tgagtgttgg gtatctgtaa attctgctag acctttgctg gaaaacttgt	8100
aaattctgct agaccctctg taaattccgc tagacctttg tgtgtttttt ttgtttatat	8160
tcaagtgggt ataatttata gaataaagaa agaataaaaa aagataaaaa gaatagatcc	8220
cagccctgtg tataactcac tactttagtc agttccgcag tattacaaaa ggatgtcgca	8280
aacgctgttt gctcctctac aaaacagacc ttaaaaccct aaaggcttaa gtagcacctt	8340
cgcaagctcg ggcaaatcgc tgaatattcc ttttgtctcc gaccatcagg cacctgagtc	8400
gctgtctttt tcgtgacatt cagttcgctg cgctcacggc tctggcagtg aatgggggta	8460
aatggcacta caggcgctt ttatggattc atgcaaggaa actaccata atacaagaaa	8520
agcccgtcac gggtttctca gggcgtttta tggcgggtct gctatgtgtt gctatctgac	8580
tttttctgt tcagcagttc ctgccctctg attttccagt ctgaccactt cggattatcc	8640
cgtgacaggt cattcagact ggctaatagca ccagtaagg cagcgggtatc atcaacaggc	8700
tta	8703
<210> 47	
<211> 9371	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 47

tgtaaccttt gctttcaaat gagtagaaat aatgcacatc catgtttgta tcgtgcaaat	60
aaagtgtttc atccgtagga aaaaatgact ttagtatctg ttccgctttt tctgatgaaa	120
tgtgctcccc gacaaaattg aatgaatcat ggacatttgc tggttttgat acagcgaaag	180
cagccgttcc tatgttatat atcggattta acagcaggac aaaaaacacc atgacagcca	240
tcgtcaccca cttattcaca cgcacataaa cttttcctga cttttggaac agatgatagc	300
tcatcaaaaa tcccgccatt gccaaataaa tcgtatatgg cattactgca ccataatctt	360
ttgagatttg attgggatat ggcgcaagca gcaagacaag cagtccgata atcagcgtat	420
aaaataagcc tagtaagatc ttatccgttc tccaatacag cttgaaaaac actacattca	480
acgcaatggg aagagtgatg atgaaaaaca gaaacacgaa tgcaatcggc tccatcccat	540
ccgggtattc cttccaatac gaaaagaaac taaaaatcat ttgtacgac ggcaaaactga	600
caacagcaag gtcgaacgta taaaacttac cttttccgcc atgacacgc ggcatcagca	660
tatagtgaag agccgtcagc agcacatatc cgtataacaa aaaatgcagc agcggcagca	720
gttcttttcc gtcctctctt aagtaagcgc tggatgaagt ttgttgattgc acctggtgaa	780
taagtccaac agacactccc gccagcagca caatccgcaa tataacaccc gccagaacaa	840
ttgtgcgctg ccggtttatt ttgggatgat gcacaaaag atataagccc gccagaacaa	900
caattgacca ttgaatcagc aggggtgctt gtctgcttaa tataaaataa cgttcgaaat	960
gcaatacata atgactgaat aactccaaca cgaacaacaa ctccattttc ttctgctatc	1020
aaaataacag actcgtgatt ttccaaacga gctttcaaaa aagcctctgc cccttgcaaa	1080
tcggatgcct gtctataaaa ttcccgatat tggttaaaca gcggcgcaat ggccggccgca	1140
tctgatgtct ttgcttggcg aatgttcac ttatttcttc ctccctctca ataattttt	1200
cattctatcc cttttctgta aagtttatct ttccagaatac ttttatcacc atgctttgaa	1260
aaaatatcac gataatatcc attgttctca cggaagcaca cgcaggtcat ttgaacgaat	1320
tttttcgaca ggaatttgcc gggactcagg agcatttaac ctaaaaaagc atgacatttc	1380
agcataatga acatttactc atgtctatct tcgttctttt ctgtatgaaa atagttatct	1440
cgagtctcta cggaatatgc gagagatgat atacctaat agagataaaa tcatctcaaa	1500
aaaatgggtc tactaaaaata ttattccatc tattacaata aattcacaga atagtctttt	1560
aagtaagtct actctgaatt tttttaaaag gagagggtaa agagtgtcat taccgttctt	1620
aacttctgca ccgggaaagg ttattatttt tggatgaacac tctgtgtgt acaacaagcc	1680

tgccgtcgct gctagtgtgt ctgcgttgag aacctacctg ctaataagcg agtcatctgc	1740
accagatact attgaattgg acttcccggga cattagcttt aatcataagt ggtccatcaa	1800
tgatttcaat gccatcacccg aggatcaagt aaactcccaa aaattggcca aggctcaaca	1860
agccaccgat ggcttgtctc aggaactcgt tagtcttttg gatccgttgt tagctcaact	1920
atccgaatcc ttccactacc atgcagcgtt ttgtttcctg tataatgtttg ttgacctatg	1980
cccccatgcc aagaatatta agttttcttt aaagtctact ttacccatcg gtgctgggtt	2040
gggctcaagc gcctctattt ctgtatcact ggccttagct atggcctact tgggggggtt	2100
aataggatct aatgacttgg aaaagctgtc agaaaacgat aagcatatag tgaatcaatg	2160
ggccttcata ggtgaaaagt gtattcacgg tacccttca ggaatagata acgctgtggc	2220
cacttatggt aatgccctgc tatttgaaaa agactcacat aatggaaca taaacacaaa	2280
caattttaag ttcttagatg atttcccagc cattccaatg atcctaacct atactagaat	2340
tccaaggctc aaaaagatc ttgttgctcg cgttcgtgtg ttggtcaccg agaaatttcc	2400
tgaagtatg aagccaattc tagatgccat gggatgaatgt gccctacaag gcttagagat	2460
catgactaag ttaagtaaat gtaaaggcac cgtgacgag gctgtagaaa ctaataatga	2520
actgtatgaa caactattgg aattgataag aataaatcat ggactgcttg tctcaatcgg	2580
tgtttctcat cctggattag aacttattaa aaatctgagc gatgatttga gaattggctc	2640
cacaaaactt accggtgctg gtggcggcgg ttgctctttg actttgttac gaagagacat	2700
tactcaagag caaattgaca gcttcaaaaa gaaattgcaa gatgatttta gttacgagac	2760
atttgaaca gacttgggtg ggactggctg ctgtttgtta agcgcaaaaa atttgaataa	2820
agatcttaaa atcaaatccc tagtatcca attattttaa aataaaacta ccacaaagca	2880
acaaattgac gatctattat tgccaggaaa cacgaattta ccatggactt cataaaagga	2940
gagggtgtca gattgagag ccttcagtgc cccagggaaa gcgttactag ctggtggata	3000
tttagtttta gatacaaaat atgaagcatt ttagtcgga ttatcgcaa gaatgcatgc	3060
tgtagcccat ccttacggtt cattgcaagg gtctgataag tttgaagtgc gtgtgaaaag	3120
taaacaattt aaagatgggg agtggctgtt ccatataagt cctaaaagtg gcttcattcc	3180
tgtttcgata ggcggatcta agaacccttt cattgaaaaa gttatcgcta acgtatttag	3240
ctactttaaa cctaacatgg acgactactg caatagaaac ttgttcgtta ttgatatttt	3300
ctctgatgat gcctaccatt ctgaggagga tagcgttacc gaacatcgtg gcaacagaag	3360
attgagtttt cattgcaca gaattgaaga agttcccaa acagggtgg gtcctcggc	3420

aggtttagtc acagttttaaa ctacagcttt ggcctccttt tttgtatcgg acctggaaaa	3480
taatgtagac aaatatagag aagttattca taatttagca caagttgctc attgtcaagc	3540
tcagggtaaa attggaagcg ggtttgatgt agcggcggca gcatatggat ctatcagata	3600
tagaagattc ccacccgcat taatctctaa ttgccagat attggaagtg ctacttacgg	3660
cagtaaaactg gcgcatttgg ttgatgaaga agactggaat attacgatta aaagtaacca	3720
tttaccttcg ggattaactt tatggatggg cgatattaag aatggttcag aaacagtaaa	3780
actgggccag aaggtaaaaa attggtatga ttgcgatatg ccagaaagct tgaaaatata	3840
tacagaactc gatcatgcaa attctagatt tatggatgga ctatctaaac tagatcgctt	3900
acacgagact catgacgatt acagcgatca gatatttgag tctcttgaga ggaatgactg	3960
tacctgtcaa aagtatcctg aaatcacaga agttagagat gcagttgcca caattagacg	4020
ttcctttaga aaaataacta aagaatctgg tgccgatatc gaacctcccg tacaaactag	4080
cttattggat gattgccaga ccttaaaagg agttcttact tgcttaatac ctgggtctgg	4140
tggttatgac gccattgcag tgattactaa gcaagatgtt gatcttaggg ctcaaaccgc	4200
taatgacaaa agattttcta aggttcaatg gctggatgta actcaggctg actggggtgt	4260
taggaaagaa aaagatccgg aaacttatct tgataaataa aaggagaggg tgaccgttta	4320
cacagcatcc gttaccgcac ccgtcaacat cgcaaccctt aagtattggg ggaaaaggga	4380
cacgaagtgg aatctgcccc ccaattcgtc catatcagtg actttatcgc aagatgacct	4440
cagaacgttg acctctgcgg ctactgcacc tgagtttgaa cgcgacactt tgtggttaaa	4500
tggagaacca cacagcatcg acaatgaaag aactcaaaat tgtctgcgac acctacgcca	4560
attaagaaag gaaatggaat cgaaggacgc ctcatgccc acattatctc aatggaaact	4620
ccacattgtc tccgaaaata actttcctac agcagctggg ttagcttcct ccgctgctgg	4680
ctttgctgca ttggtctctg caattgctaa gttataccaa ttaccacagt caacttcaga	4740
aatatctaga atagcaagaa aggggtctgg ttcagcttgt agatcgttgt ttggcggata	4800
cgtggcctgg gaaatgggaa aagctgaaga tggatcatgat tccatggcag tacaaatcgc	4860
agacagctct gactggcctc agatgaaagc ttgtgtccta gttgtcagcg atattaaaaa	4920
ggatgtgagt tccactcagg gtatgcaatt gaccgtggca acctccgaac tatttaaaga	4980
aagaattgaa catgtcgtac caaagagatt tgaagtcatg cgtaaagcca ttgttgaaaa	5040
agatttcgcc acctttgcaa aggaacaat gatggattcc aactctttcc atgccacatg	5100
tttgactct ttcctccaa tattctacat gaatgacact tccaagcgta tcatcagttg	5160

gtgccacacc attaatcagt tttagcgaga aacaatcggt gcatacacgt ttgatgcagg	5220
tccaaatgct gtgtgtact acttagctga aaatgagtcg aaactctttg cttttatcta	5280
taaattgttt ggctctgttc ctggatggga caagaaatct actactgagc agcttgaggc	5340
tttcaacat caatttgaat catctaactt tactgcacgt gaattggatc ttgagttgca	5400
aaaggatgtt gccagatga ttttaactca agtcgggtca ggcccacaag aaacaaacga	5460
atctttgatt gacgcaaaga ctggctctacc aaaggaataa aaggagaggg tgactgccga	5520
caacaatagt atgccccatg gtgcagatc tagttacgcc aaattagtc aaaaccaaac	5580
acctaagac attttggaag agtttctga aattattcca ttacaacaaa gacctaatc	5640
ccgatctagt gagacgtcaa atgacgaaag cggagaaaca tgtttttctg gtcagtatga	5700
ggagcaaatt aagttaatga atgaaaattg tattgttttg gattgggacg ataatgctat	5760
tgggtccggt accaagaaa tttgtcattt aatggaaaat attgaaaagg gtttactaca	5820
tcgtgcattc tccgtcttta tttcaatga acaaggtaga ttacttttac aacaaagagc	5880
cactgaaaa ataactttcc ctgatctttg gactaacaca tgctgctctc atccactatg	5940
tattgatgac gaattaggtt tgaagggtaa gctagacgat aagattaagg gcgctattac	6000
tgccgcggtg agaaaactag atcatgaatt aggtattcca gaagatgaaa ctaagacaag	6060
gggtaagttt cactttttaa acagaatcca ttacatggca ccaagcaatg aacctgggg	6120
tgaacatgaa attgattaca tcctatttta taagatcaac gctaaagaaa acttgactgt	6180
caacccaaac gtcaatgaag ttagagactt caaatgggtt tcaccaaagc atttgaaaac	6240
tatgtttgct gacccaagtt acaagtttac gccttggttt aagattattt gcgagaatta	6300
cttattcaac tgggtgggagc aattagatga cttttctgaa gtggaaaatg acaggcaaat	6360
tcatagaatg ctataaaaaa aaccggcctt ggcccccccg gttttttatt atttttcttc	6420
ctccgcatgt tcaatccgct ccataatcga cggatggctc cctctgaaaa ttttaacgag	6480
aaacggcggg ttgacccggc tcagtcctgt aacggccaag tcctgaaacg tctcaatcgc	6540
cgttcccggt tttccggtca gctcaatgcc gtaacggctg gcggcggttt cctgataccg	6600
ggagacggca ttcgtaattt gaatacatc gaacaaatta ataaagtga aaaaatactt	6660
cggaaacatt taaaaataa cttatttggc acttacatgt ttggatcagg agttgagagt	6720
ggactaaaac caaatatga tcttgacttt ttagtcgtcg tatctgaacc attgacagat	6780
caaagtaaag aaatacttat acaaaaaatt agacctattt caaaaaaat aggagataaa	6840
agcaacttac gatatatga attaacaatt attattcagc aagaaatggt accgtggaat	6900
catctccca aacaagaatt tatttatgga gaatggttac aagagcttta tgaacaagga	6960
tacattcctc agaaggaatt aaattcagat ttaaccataa tgctttacca agcaaacga	7020

aaaaataaaa gaatatatcg aaattatgac ttagaggaat tactacctga tattccattt	7080
tctgatgtga gaagagccat tatggattcg tcagaggaat taatagataa ttatcaggat	7140
gatgaaacca actctatatt aactttatgc cgtatgattt taactatgga cacgggtaaa	7200
atcataccaa aagatatgtc gggaaatgca gtggctgaat cttctccatt agaacatagg	7260
gagagaattt tgttagcagt tcgtagttat ctggagaga atattgaatg gactaatgaa	7320
aatgtaaatt taactataaa ctatttaa ataacagattaa aaaaattata atgtaacctt	7380
tgctttcaaa tgagtagaaa taatgcacat ccatgtttgt atcgtgcaaa taaagtgttt	7440
catccgtagg aaaaatgac tttagtatct gtccgcttt tctgatgaa atgtgctccc	7500
cgacaaaatt gaatgaatca tggacatttg ctggctttga tacagcgaaa gcagccgttc	7560
ctatgttata tatcggtttt aacagcagga caaaaacac catgacagcc atcgtcaccc	7620
acttattcac acgcacataa acctttctg acttttggaa cagatgatag ctcatcaaaa	7680
atcccgccat tgccaaataa atcgtatatg gcattactgc accataatct tttagattt	7740
gattgggata tggcgcaagc agcaagacaa gcagtcgat aatcagcgta taaaataagc	7800
ctagtaagat cttatccgtt ctccaataca gcttgaaaaa cactacattc aacgcaatgg	7860
gaagagtgat gatgaaaaac agaaacacga atgcaatcgg ctccatcca tccgggtatt	7920
ccttccaata cgaaaagaaa ctaaaaatca ttgtacgat cggcaactg acaacagcaa	7980
ggtcgaacgt ataaaactta cctttccgc catgatcac cggcacagc ataatgtgaa	8040
aagccgtcag cagcacatat ccgtataaca aaaaatgcag cagcggcagc agttcttttc	8100
cgctctctct taagtaagcg ctggtgaagt ttgttgattg cacctggtga ataagttcaa	8160
cagacactcc cgccagcagc acaatccgca atataacacc cgccaagaac attgtgcgct	8220
gccggtttat ttgggatga tgcacaaaaa gatataagcc cgccagaaca acaattgacc	8280
attgaatcag cagggtgctt tgtctgctta atataaaata acgttcgaaa tgcaatacat	8340
aatgactgaa taactccaac acgaacaaca aaagtgcga ttttataaaa gctaatgatt	8400
cagtccacat aattgataga cgaattctgc tacaggtcac gtggctatgt gaaggatcgc	8460
gcgtccagtt aagagcaaaa acattgacaa aaaaatttat ttatgctaaa atttactatt	8520
aatatatttg tatgtataat aagattctcc tggccagggg aatcttattt ttgtggagg	8580
atcatttcat gaggaaaaat gagtccagct taactctct aatttcagct ttgcccgtg	8640
catatcacag ccgatatgac acacctctta tttttgatga ttttatcgca aaagatctca	8700
ttaacgaaaa agagtttctc gacatcagta aaaatatgat tcaagaaata tcgtttttca	8760
acaaagagat cgccgaacgt cttcaaaatg atcctgaaaa aatatataaa tgggttgcac	8820
aaatccagct gtctccaacg cccctagcac gtgcttctta ttgtgaaaaa gtcttgacac	8880

acgaattaat cctgggggca aaacagtatg tcattcttgg agcgggactg gatactttct	8940
gctttcggca tccagaatta gaaaacagct tacaggtttt cgaggttgat catccggcca	9000
cacagcaatt gaaaaaaaaat aagctgaagg atgcaaatct gacaattccg ggtcatcttc	9060
atTTtGttcc taTggatttc accaaaacgt tttcgtatga tcctctctta gatgaaggat	9120
ttaaaaaacac aaaaacattc ttcagccttc tcggagtgtc ttattatgta acacgggaag	9180
aaaatgcaag cttgatcagc aatttatttt ctcattgtccc gcctggaagc tctattgttt	9240
ttgattatgc ggacgaaaca ctttttacag caaaaggac gtcgaatcga gttgaacata	9300
tggTgaagat ggctgccgca agcggggaac cgatgaaatc atgtttcact tatcaagaga	9360
ttgaacatct g	9371
<210> 48	
<211> 4339	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 48	
tagaaaaact catcgagcat caaatgaaac tgcaatttat tcatatcagg attatcaata	60
ccatatTTTT gaaaaagccg tttctgtaat gaaggagaaa actcacccgag gcagttccat	120
aggatggcaa gatcctggta tcggctgcg attccgactc gtccaacatc aatacaacct	180
attaatttcc cctcgtcaaa aataaggTTa tcaagtgaga aatcaccatg agtgacgact	240
gaatccggtg agaatggcaa aagtttatgc atttctttcc agacttgTtc aacaggccag	300
ccattacgct cgtcatcaaa atcactcgca tcaaccaaac cgttattcat tcgtgattgc	360
gcctgagcga ggcgaaatc gcgatcgctg ttaaaaggac aattacaaac aggaatcgag	420
tgcaaccggc gcaggaacac tgccagcgca tcaacaatat tttcacctga atcaggatat	480
tcttctaata cctggaacgc tgTTTTtccg gggatcgag tggTgagTaa ccatgcatca	540
tcaggagtac ggataaaatg cttgatggTc ggaagtggca taaattccgt cagccagttt	600
agtctgacca tctcatctgt aacatcattg gcaacgctac ctttgccatg tttcagaaac	660
aactctggcg catcgggctt cccatacaag cgatagattg tcgcacctga ttgcccgaca	720
ttatcgcgag cccatttata cccatataaa tcagcatcca tgttTgaatt taatcgcggc	780
ctcgacgttt cccgttgaat atggctcata tTcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt	840
tatcagggtt attgtctcat gagcggatc atatttgaat gtatttagaa aaataaacia	900
atagggtTca gtgttacaac caattaacca attctgaaca ttatcgcgag cccatttata	960

cctgaatatg gtcataaca ccccttggtt gcctggcggc agtagcgcgg tgggccacc	1020
tgaccccatg ccgaactcag aagtgaacg ccgtagcgcc gatggtagtg tggggactcc	1080
ccatgcgaga gtagggaact gccaggcatc aaataaaacg aaaggctcag tcgaaagact	1140
gggccttttcg cccgggctaa ttagggggtg tcgcccttta gtcgctgaac atgtgctctg	1200
tttctaccga gaacgtttcc ttcactgaga cggaaaccga ggcacgtcgt agcgcgaact	1260
acgagccgaa tagctgggac tacgatitcc tgcgtcttcc cgatactgac gaatctattg	1320
aggtgtacaa agacaaagca aagaactgg aggtcgaagt gcgccgcgaa attaacaacg	1380
agaaagctga attcctgact ctgctggagc tgatcgataa cgtacagcgc ctgggtctgg	1440
gttaccgctt cgaatctgat atccgtcgcg cactggatcg tttcgtaacg agcggcggtt	1500
tcgatggcgt gacaaaaacg agcctgcacg ctaccgcgt gtccttcgt ctgctgcgtc	1560
agcacggctt cgaagtctt caggaagcat tctccggttt caaagatcaa aacggtaact	1620
tcctgaaaaa cctgaaagaa gacactaagg cgatcctgag cctglatgag gcaagctttc	1680
tggccctgga gggtagaac atcctggatg aggcgcgcgt attcgccatc tcccatctga	1740
aagagctgtc tgaagagaaa atcggtaagg aactggcaga gcaggtaat cacgcactgg	1800
aactgccgtc gcatcgtcgt acccagcgtc tggaggcggg ttgggccatc gaagcgtacc	1860
gcaaaaagga ggatgctaac caggttctgc tggaaactggc catcctggac tacaacatga	1920
tccagtcgtt ttaccagcgt gatctgcgtg aaacctcccg ttggtggcgc cgtgtgggcc	1980
tggcgaccaa actgcacttc gctaaggacc gcctgattga gtccttttac tgggcagtcg	2040
gcgttgcgtt cgaacctcag tattctgact gccgtaacag cgttgcgaaa atgttcagct	2100
tcgttactat tatcgacgac atctacgacg ttacggtagc tctggacgag ctggaactgt	2160
ttaccgacgc tctgaacgt tgggatgtta acgccatcaa cgatctgcct gactacatga	2220
aactgtgctt cctggcactg tataaacagc tcaacgaaat tgcatacgac aacctgaaag	2280
acaaaggtga aaacatcctg ccgtacctga ctaaagcgtg ggcggatctg tgtaacgctt	2340
ttctgcaaga agcgaatgg ctgtataaca aatccactcc gaccttgac gattatttcg	2400
gcaatgcctg gaaatccagc tctggccgcg tgcaactgat cttcgcttat ttgcggttg	2460
tccaaaacat caaaaaggag gaaattgaaa acctgcaaaa ataccacgat atcattagcc	2520
gtccttctca tatctttcgc ctgtgcaacg acctggcaag cgcgtccgca gagatcgac	2580
gtggcgaaac cgtaactct gtttctgct acatgcgcac caagggcatt tccgaagagc	2640
tggcaaccga gagcgtaatg aatctgatcg acgaaacctg taagaaaatg aacaaagaaa	2700

aactgggtgg ctccctgttc gctaaaccgt tcgtagagac tgctattaac ctggcacgtc 2760

agagccactg cacctaccac aatggtgacg cacatactag cccggatgaa ctgactcgta 2820

aacgtgtact gtctgttate accgaaccga ttctgcccgtt cgaacgttaa ctgcagcgtc 2880

aatcgaaagg gcgacacaaa atttattcia aatgcataat aaatactgat aacatcttat 2940

agtttgtatt atattttgta ttatcggtga catgtataat ttgatataca aaaactgatt 3000

ttccctttat tattttcgag atttattttc ttaattctct ttaacaaact agaaatattg 3060

tatatacaaa aaatcataaa taatagatga atagtttaat tatagggtgtt catcaatcga 3120

aaaagcaacg tatcttattt aaagtgcgtt gcttttttct catttataag gttaaataat 3180

tctcatatat caagcaaagt gacaggcgcc cttaaataatt ctgacaaatg ctctttccct 3240

aaactcccc cataaaaaaa cccgccgaag cgggttttta cgttatttgc ggattaacga 3300

ttactcgta tcagaaccgc ccagggggcc cgagcttaag actggcgtc gttttacaac 3360

acagaaagag tttagataaa cgcaaaaagg ccatccgtca ggggccttct gcttagtttg 3420

atgcctggca gtccctact ctgccttcc gcttcctcgc tcactgactc gctgcgtcgc 3480

gtcgttcggc tgcggcgagc ggtatcagct cactcaaagg cgtaataacg gttatccaca 3540

gaatcagggg ataacgcagg aaagaacatg tgagcaaaag gccagcaaaa ggccaggaac 3600

cgtaaaaagg ccgcgttgcg ggcgtttttc cataggctcc gccccctga cgagcatcac 3660

aaaaatcgac gctcaagtca gaggtggcga aacccgacag gactataaag ataccaggcg 3720

tttccccctg gaagctccct cgtgcgtctc cctgttccga ccctgccgt taccggatac 3780

ctgtccgctt ttctcccttc gggaagcgtg gcgctttctc atagctcacg ctgtaggtat 3840

ctcagttcgg tgiaggctgt tcgtccaag ctgggctgtg tgcacgaacc ccccgttcag 3900

cccgaccgct gcgccttate cggtaactat cgtcttgagt ccaacccggt aagacacgac 3960

ttatcgccac tggcagcagc cactggtaac aggattagca gagcgaggta ttaggcgggt 4020

gctacagagt tcttgaagtg gtgggctaac tacggctaca ctagaagaac agtatttgggt 4080

atctgcgtc tgctgaagcc agttaccttc ggaaaaagag ttggtagctc ttgatccggc 4140

aaacaaacca ccgctggtag cgggtggtttt ttgtttgca agcagcagat tacgcgcaga 4200

aaaaaaggat ctcaagaaga tcctttgatc ttttctacgg ggtctgacgc tcagtggaac 4260

gacgcgcgcg taactcacgt taagggtattt tggcatgag cttgcgccgt cccgtcaagt 4320

cagcgtaatg ctctgcttt 4339

<210> 49

<211> 6065

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 49

gtttgacagc ttatcatcga ctgcacggtg caccaatgct tctggcgtca ggcagccatc 60
ggaagctgtg gtatggctgt gcaggtcgta aatcactgca taattcgtgt cgctcaaggc 120
gcactcccg tctggataat gttttttgcg ccgacatcat aacggttctg gcaaatttc 180
tgaaatgagc tgttgacaat taatcatccg gctcgtataa tgtgtggaat tgtgagcgga 240
taacaatttc acacagggaaa cagcgccgct gagaaaaagc gaagcggcac tgctctttaa 300
caatttatca gacaatctgt gtgggcactc gaccggaatt atcgattaac tttattatta 360

aaaattaaag aggtatatat taatgtatcg attaaataag gaggaataaa ccatgtgctc 420
tgtttctacc gagaacgttt ctttactga gacggaaacc gaggcacgtc gtagcgcgaa 480
ctacgagccg aatagctggg actacgattt cctgctgtct tccgatactg acgaatctat 540
tgagggtgac aaagacaaa caaagaaact ggaggctgaa gtgcgccgag aaattaacaa 600
cgagaaagct gaattcctga ctctgctgga gctgatcgat aacgtacagc gcctgggtct 660
gggttaccgc ttcgaatctg atatccgtcg cgcactggat cgtttcgtaa gcagcggcgg 720
tttcgatggc gtgacaaaa cgagcctgca cgtaccgagc ctgtccttcc gtctgctgag 780

tcagcacggc ttcgaagttt ctcaggaagc attctccggt ttcaaagatc aaaacggtaa 840
cttcttgaa aacctgaaag aagacactaa ggcgatcctg agcctgtatg aggcaagctt 900
tctggccctg gagggtgaga acatcctgga tgaggcgcgc gtattcgcca tctcccatct 960
gaaagagctg tctgaagaga aaatcggtaa ggaactggca gagcaggtta atcacgcact 1020
ggaactgccg ctgcatcgct gtaccagcagc tctggaggcg gtttgggtcca tcgaagcgta 1080
ccgcaaaaag gaggatgcta accaggttct gctggaactg gccatcctgg actacaacat 1140
gatccagtcg gtttaccagc gtgatctgag tgaacctcc cgttgggtggc gccgtgtggg 1200

cctggcgacc aaactgcaat tcgctaagga ccgctgatt gagtcttttt actgggcagt 1260
cggcgttgag ttcgaacctc agtattctga ctgccgtaac agcgttgaga aaatgttcag 1320
cttcgttact attatcgacg acatctacga cgtttacggt actctggagc agctggaact 1380
gtttaccgac gcgtcgaaac gttgggatgt taacgccatc aacgatctgc ctgactacat 1440
gaaactgtgc ttcttgacac tgtataacac gatcaacgaa attgcatacg acaacctgaa 1500
agacaaaggt gaaaacatcc tgccgtacct gactaaagcg tgggcggatc tgtgtaacgc 1560

ttttctgcaa gaagcgaaat ggctgtataa caaatccact ccgacctttg acgattat	1620
cggcaatgcc tggaaatcca gctctggccc gctgcaactg atcttcgctt attttgcggt	1680
tgtccaaaac atcaaaaagg aggaaattga aaacctgcaa aaataccacg atatcattag	1740
ccgtccttct catatctttc gcctgtgcaa cgacctggca agcgcgtccg cagagatcgc	1800
acgtggcgaa accgctaact ctgtttcctg ctacatgcgc accaagggca tttccgaaga	1860
gctggcaacc gagagcgtaa tgaatctgat cgacgaaacc tgtaagaaaa tgaacaaaga	1920
aaaactgggt ggctccctgt tcgctaaacc gttagtagag actgctatta acctggcacg	1980
tcagagccac tgcacctacc acaatggtga cgcacatact agcccgatg aactgactcg	2040
taaactgtga ctgtctgtta tcaccgaacc gattctgccg ttcgaacgtt aactgcagct	2100
ggtaccatat gggaattcga agctttctag aacaaaaact catctcagaa gaggatctga	2160
atagcgccgt cgaccatcat catcatcatc attgagttaa aacggtctcc agcttggctg	2220
ttttggcgga tgagagaaga ttttcagcct gatacagatt aaatcagaac gcagaagcgg	2280
tctgataaaa cagaatttgc ctggcggcag tagcgcggtg gtccacctg accccatgcc	2340
gaactcagaa gtgaaacgcc gtagcgccga tggtagtgtg gggtctcccc atgcgagagt	2400
agggaaactgc caggcatcaa ataaaacgaa aggcctcagtc gaaagactgg gcctttcgtt	2460
ttatctgttg ttgtcggtg aacgctctcc tgagtaggac aaatccgccg ggagcggatt	2520
tgaacgttgc gaagcaacgg cccggagggt ggcgggcagg acgcccgcga taaactgcc	2580
ggcatcaaat taagcagaag gccatcctga cggatggcct ttttgcgtt ctacaaactc	2640
tttttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg	2700
ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc	2760
ccttattccc tttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag aaacgtgggt	2820
gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct	2880
caacagcgggt aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttcaa tgatgagcac	2940
ttttaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccggtt gacgccgggc aagagcaact	3000
cggtcgccgc atacactatt ctgagaatga cttggttag tactcaccag tcacagaaaa	3060
gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga	3120
taacactcgc gccaaactac ttctgacaac gatcgaggga ccgaaggagc taaccgtttt	3180
tttgcaaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga	3240
agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttcg	3300

caaaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat	3360
ggaggcggat aaagttagcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg gctggtttat	3420
tgtgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggg atcattgcag cactggggcc	3480
agatggtaag cctccccga tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg caactatgga	3540
tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc	3600
agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcatTTTT aatttaaaag	3660
gatctagggtg aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac gtgagttttc	3720
gttcactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctTTTT	3780
tctgcgcgta atctgctgct tgcaaaaaaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgggt	3840
gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat	3900
accaaatact gtcttcttag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc	3960
accgcctaca tactctgctc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa	4020
gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg	4080
ctgaacgggg ggctcgtgca cacagcccag ctgggagcga acgacctaca ccgaactgag	4140
atacttacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa aggcggacag	4200
gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa	4260
cgcttggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt	4320
gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg	4380
gttcttgccc ttttctggc cttttgtca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc	4440
tgtggataac cgtattaccg cctttgagt agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac	4500
cgagcgcagc gactcagtg gcgaggaagc ggaagagcgc ctgatgcggg attttctct	4560
tacgcatctg tgcggtatTT cacaccgat atggtgcact ctcaataaa tctgctctga	4620
tgccgcatag ttaagccagt atacactccg ctatcgtac gtgactgggt catggctgcg	4680
ccccacacc cgccaacacc cgctgacgcg cctgacggg cttgtctgct cccggcatcc	4740
gcttacagac aagctgtgac cgtctccggg agctgcatgt gtcagagggt ttcaccgtca	4800
tcaccgaaac gcgcgaggca gcagatcaat tcgcgcgca aggcgaagcg gcatgcattt	4860
acgttgacac catcgaatgg tgcaaaacct ttcgcggtat ggcatgatag cccccggaag	4920
agagtcaatt cagggtgggtg aatgtgaaac cagtaacgtt atacgatgtc gcagagtatg	4980
ccggtgtctc ttatcagacc gtttcccgcg tggatgaacca ggccagccac gtttctgca	5040
aaacgcggga aaaagtggaa gcggcgatgg cggagctgaa ttacattccc aaccgcgtgg	5100
cacaacaact ggccgggcaaa cagtcgttgc tgattggcgt tgccacctcc agtctggccc	5160

tgcacgcgcc gtcgcaaatt gtcgcggcga ttaaattctcg cgccgatcaa ctgggtgccca 5220
gcgtgggtgt gtcgatggta gaacgaagcg gcgtcgaagc ctgtaaagcg gcggtgcaca 5280
atcttctcgc gcaacgcgtc agtgggctga tcattaacta tccgctggat gaccaggatg 5340
ccattgctgt ggaagctgcc tgcactaatg ttccggcggtt atttcttgat gtctctgacc 5400

agacacccat caacagtatt attttctccc atgaagacgg tacgcgactg ggcgtggagc 5460
atctggtcgc attgggtcac cagcaaatcg cgtgtttage gggccatta agttctgtct 5520
cggcgctctt gcgtctggct ggctggcata aatatctcac tcgcaatcaa attcagccga 5580
tagcggaacg ggaaggcgac tggagtgccca tgtccggttt tcaacaaacc atgcaaatgc 5640
tgaatgaggg catcgttccc actgcgatgc tggttgccaa cgatcagatg gcgctgggcg 5700
caatgcgcgc cattaccgag tccgggctgc gcgttggtgc ggatatctcg gtagtgggat 5760
acgacgatac cgaagacagc tcatgttata tcccgccgctc aaccaccatc aaacaggatt 5820

ttcgctgctt ggggcaaacc agcgtggacc gcttctgca actctctcag ggccaggcgg 5880
tgaagggcaa tcagctgttg cccgtctcac tggtgaaaag aaaaaccacc ctggcgccca 5940
atacgaaac cgctctccc cgcgcttgg cgtattcatt aatgcagctg gcacgacagg 6000
tttccgactt ggaagcggg cagtgcgcgc aacgcaatta atgtgagtta gcgcgaattg 6060
atctg 6065

<210> 50

<211> 6912

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 50

ttgtctgctc ccggcatccg cttacagaca agctgtgacc gtctccggga gctgcatgtg 60
tcagaggttt tcaccgtcat caccgaaacg cgcgaggcag cagatcaatt cgcgcgcgaa 120
ggcgaagcgg catgcattta cgttgacacc atcgaatggt gcaaaacctt tcgcggtatg 180
gcatgatagc gcccgaaga gagtcaattc aggggtggtga atgtgaaacc agtaacgtta 240
tacgatgtcg cagagtatgc cgggtgtctct tatcagaccg tttcccgctt ggtgaaccag 300
gccagccacg ttcttgcgaa aacgcgggaa aaagtggaag cggcgatggc ggagctgaat 360
tacattccca accgcgtggc acaacaactg gcgggcaaac agtcgttgct gattggcggtt 420

gccacctcca gtctggccct gcacgcgccg tcgcaaatg tcgcggcgat taaatctcgc 480
gccgatcaac tgggtgccag cgtggtggtg tcgatgtag aacgaagcgg cgtcgaagcc 540

tgtaaagcgg cggtgcacaa tcttctcgcg caacgcgtca gtgggctgat cattaactat	600
ccgctggatg accaggatgc cattctgttg gaagctgcct gcactaatgt tccggcggtta	660
tttcttgatg tctctgacca gacacccatc aacagtatta ttttctccca tgaagacggt	720
acgcgactgg gcgtggagca tctggctgca ttgggtcacc agcaaatcgc gctgttagcg	780
ggcccattaa gttctgtctc ggcgcgctctg cgtctggctg gctggcataa atatctcact	840
cgcaatcaaa ttcagccgat agcggaacgg gaaggcgact ggagtgccat gtccggtttt	900
caacaaacca tgcaaatgct gaatgagggc atcgttccca ctgcgatgct ggttgccaac	960
gatcagatgg cgctgggcgc aatgcgcgcc attaccgagt ccgggctgcg cgttggtgcg	1020
gatatctcgg tagtgggata cgacgatacc gaagacagct catgttatat cccgccgtca	1080
accaccatca aacaggattt tcgcctgctg gggcaaacca gcgtggaccg cttgctgcaa	1140
ctctctcagg gccaggcgtg gaagggaat cagctgttgc ccgtctcact ggtgaaaaga	1200
aaaaccaccc tggcgcccaa tacgcaaac gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta	1260
atgcagctgg cagcacaggt ttcccactg gaaagcgggc agtgagcgca acgcaattaa	1320
tgtgagttag cgcgaattga tctggtttga cagcttatca tcgactgcac ggtgcaccaa	1380
tgcttctggc gtcaggcagc catcggaagc tltgggtatgg ctgtgcaggt cgtaaatcac	1440
tgcataattc gtgtcgtca aggcgcactc ccgttctgga taatgttttt tgcgccgaca	1500
tcataacggt tctggcaaat attctgaaat gagctgttga caattaatca tccggtcgt	1560
ataatgtgtg gaattgtgag cggataacaa ttccacacag gaaacagcgc cgctgagaaa	1620
aagcgaagcg gcaactgctc ttaacaattt atcagacaat ctgtgtgggc actcgaccgg	1680
aattatcgat taactttatt attaaaaatt aaagaggtat atattaatgt atcgattaaa	1740
taaggaggaa taaacctgt gtgcgacctc ttctcaattt actcagatta ccgagcataa	1800
ttcccgtcgt tccgcaaaat atcagccaaa cctgtggaat ttcgaattcc tgcaatccct	1860
ggagaacgac ctgaaagtgg aaaagctgga ggagaaagcg accaaactgg aggaagaagt	1920
tcgtgcatg atcaaccgtg tagacacca gccgtgtcc ctgctggagc tgatcgacga	1980
tgtgcagcgc ctgggtctga cctacaaatt tgaaaaagac atcattaaag ccctggaaaa	2040
catcgtactg ctggacgaaa acaaaaagaa caaatctgac ctgcacgcaa ccgtctgtc	2100
tttccgtctg ctgcgtcagc acggtttcga ggtttctcag gatgtttttg agcgtttcaa	2160
ggataaagaa ggtggtttca gcggtgaact gaaagtgac gtccaaggcc tgctgagcct	2220
glatgaagcg tcttacctgg gtttcgaggg tgagaacctg ctggaggagg cgcgtacctt	2280
ttccatcacc cacctgaaga acaacctgaa agaaggcatt aataccaagg ttgcagaaca	2340
agtgaaccac gccctggaac tgccatatca ccagcgtctg caccgtctgg aggcacgttg	2400

gttcctggat aaatacgaac cgaaagaacc gcatcaccag ctgctgctgg agctggcgaa	2460
gctggatfff aacatggtag agaccctgca ccagaaagag ctgcaagatc tgtcccgtg	2520
gtggaccgag atgggcctgg ctagcaaaact ggatfffgtg cgcgaccgcc tgatggaagt	2580
ttatfffctgg gcactgggta tggcgccaga cccgcagfff ggtgaatgtc gcaaagctgt	2640
tactaaaatg fttggctcgg tgacgatcat cgatgacgtg tatgacgtff atggcactct	2700
ggacgaactg caactgttca ccgatgctgt agagcgctgg gacgttaacg ctattaacac	2760
cctgccggac tatatgaaac tgtgtffctt ggcactgtac aacaccgtta acgacacgtc	2820
ctatffctatt ctgaaagaga aaggtcataa caacctgtcc tatctgacga aaagctggcg	2880
tgaactgtgc aaagcctfff tgcaagaggc gaaatggtcc aacaacaaaa ttatcccggc	2940
ttffctcaag tacttgaaa acgccagcgt ffctctctcc ggtgtagcgc tgctggcgcc	3000
gtcttactff fccgtatgcc agcagcagga agacatctcc gaccacgcgc tgcgtffctt	3060
gaccgacttc catggctcgg tgcgtfftag ctgcgtffatc ffccgcctgt gcaacgatct	3120
ggccacctct gcggcggagc tggaacgtgg cgagactacc aattctatca ttagctacat	3180
gcacgaaaa gatggtacca gcgaggaaca gggccgcgaa gaactgcgt aactgatcga	3240
cgccgaatgg aaaaagatga atcgtgaacg cgttagcgac tccaccctgc tgcctaaagc	3300
gttcatggaa atcgcagtta acatggcacg tgtffccac tgcacctacc agtatggcga	3360
tggtctgggt cgccagact acgcgactga aaaccgcac aaactgctgc tgattgacct	3420
fffcccgatt aaccagctga tgtatgtcta actgcatgc ccttaggagg taaaaaaaaa	3480
tgactgccga caacaatagt atgccccatg gtgcagtatc tagttacgcc aaattagtgc	3540
aaaaccaaac acctgaagac atfftggaag agffctctga aattattcca ttacaacaaa	3600
gacctaatc ccgatctagt gagacgtcaa atgacgaaag cggagaaaaca tgtffftctg	3660
gtcatgatga ggagcaaatt aagttaatga atgaaaattg tattgtfftg gattgggacg	3720
ataatgctat tggtgccggt accaagaaag fffgtcattt aatggaaaat attgaaaagg	3780
gtttactaca tctgcatc fccgtctffa fffcaatga acaaggtgaa ttactfftac	3840
aacaaagagc cactgaaaa ataactffcc ctgatctffg gactaacaca tgctgctctc	3900
atccactatg tattgatgac gaattaggff tgaagggtaa gctagacgat aagattaagg	3960
gcgctattac tgcggcggtg agaaaaactag atcatgaatt aggtattcca gaagatgaaa	4020
ctaagacaag gggtaagfff cactffftaa acagaatcca ttacatggca ccaagcaatg	4080
aacctgggg tgaacatgaa attgattaca ffctatffa taagatcaac gctaaagaaa	4140

acttgactgt caacccaaac gtcaatgaag ttagagactt caaatgggtt tcaccaaag	4200
atttgaaac tatgtttgct gaccaagtt acaagtttac gccttgggtt aagattattt	4260
gcgagaatta cttattcaac tgggtgggagc aattagatga cttttctgaa gtggaaaatg	4320
acaggcaaat tcatagaatg ctataacaac gcgtcctgca gctggtagca tatgggaatt	4380
cgaagctttc tagaacaaaa actcatctca gaagaggatc tgaatagcgc cgtcgaccat	4440
catcatcacc atcattgagt ttaaaccgtc tccagcttgg ctgttttggc ggatgagaga	4500
agattttcag cctgatacag attaaatcag aacgcagaag cggctctgata aaacagaatt	4560
tgcttggcgg cagtagcgcg gtgggtccac ctgaccccat gccgaactca gaagtgaaac	4620
gccgtagcgc cgatggtagt gtgggtcttc cccatgcgag agtagggaac tgccaggcat	4680
caataaaac gaaaggctca gtcgaaagac tgggcctttc gttttatctg ttgtttgtcg	4740
gtgaacgctc tctgagtag gacaaatccg ccgggagcgg atttgaacgt tgcgaagcaa	4800
cggcccggag ggtggcgggc aggacgccc ccataaactg ccaggcatca aattaagcag	4860
aaggccatcc tgacggatgg cttttttgcg ttctacaaa ctctttttgt ttatttttct	4920
aaatacatc aaatatgtat ccgttaacc ggaattgcca gctggggcgc cctctggtaa	4980
ggttgggaag ccctgcaaag taaactgat ggcttttctc cgcgaagga tctgatggcg	5040
caggggatca agctctgac aagagacagg atgaggatcg tttcgcatga ttgaacaaga	5100
tggattgcac gcaggttctc cggccgcttg ggtggagagg ctattcggct atgactgggc	5160
acaacagaca atcggtgct ctgatgccgc cgtgttccgg ctgtcagcgc aggggcgccc	5220
ggttcttttt gtcaagaccg acctgtccgg tgccctgaat gaactgcaag acgaggcagc	5280
gcggctatcg tggctggcca cgacgggctt tccttgcga gctgtgctcg acgtttcac	5340
tgaagcggga agggactggc tgctattggg cgaagtgccg gggcaggatc tcctgtcatc	5400
tcaccttgct cctgccgaga aagtatccat catggctgat gcaatgcggc ggctgcatac	5460
gcttgatccg gctacctgcc cattcgacca ccaagcgaac catcgcatcg agcgagcacg	5520
tactcggatg gaagccggtc ttgtcgatca ggatgatctg gacgaagagc atcaggggct	5580
cgcgccagcc gaactgttcg ccaggctcaa ggcgagcatg cccgacggcg aggatctcgt	5640
cgtgacccat ggcgatgcct gcttgccgaa tatcatggtg gaaaaaggcc gcttttctgg	5700
attcatgcac tgtggccggc tgggtgtggc ggaccgctat caggacatag cgttggctac	5760
ccgtgatatt gcigaagagc ttggcggcga atgggctgac cgcttctcgc tgctttacgg	5820
tatcgccgct cccgattcgc agcgcatcgc cttctatcgc cttcttgacg agttcttctg	5880

acatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa	5940
agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaacia	6000
aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca actctttttc	6060
cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt	6120
agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgt ctgctaatec	6180
tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac	6240
gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca	6300
gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatactaca gcgtgagcta tgagaaagcg	6360
ccacgcttc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag	6420
gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggt tctttatagt cctgtcgggt	6480
ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgtc gtcagggggg cggagcctat	6540
ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc	6600
acatgttctt tctgctgta tccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt	6660
gagctgatac cgtcgcgcgc agccgaacga ccgagcgag cgagtcagt agcaggaag	6720
cggaagagcg cctgatgcgg tatcttctcc ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccga	6780
tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg atccgcata gtttaagccag tataactec	6840
gtatcgtcta cgtgactggg tcatggctgc gcccgcacac ccgccaacac ccgtgacgc	6900
gccctgacgg gc	6912
<210> 51	
<211> 7902	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 51	
ttgtctgtc ccggcatccg cttacagaca agctgtgacc gtctccggga gctgcatgtg	60
tcagaggttt tcaccgtcat caccgaaacg cgcgaggcag cagatcaatt cgcgcgcgaa	120
ggcgaagcgg catgcattta cgttgacacc atcgaatggt gcaaaacctt tcgcggtatg	180
gcatgatagc gcccggaaga gagtcaattc aggggtgtga atgtgaaacc agtaacgtta	240
tacgatgtcg cagagtatgc cgggtgtctct tatcagaccg tttcccgcgt ggtgaaccag	300
gccagccacg tttctgcgaa aacgcgggaa aaagtgaag cggcgatggc ggagctgaat	360
tacattccca accgcgtggc acaacaactg gcgggcaaac agtcgttgct gattggcgtt	420

gccacctcca gtctggccct gcacgcgccg tcgcaaattg tcgcggcgat taaatctcgc	480
gccgatcaac tgggtgccag cgtggtggtg tcgatggtag aacgaagcgg cgtcgaagcc	540
tgtaaagcgg cgggtgcaca tcttctcgcg caacgcgtca gtgggctgat cattaaactat	600
ccgctggatg accaggatgc cattgctgtg gaagctgcct gcaactaatgt tccggcgttta	660
tttcttgatg tctctgacca gacacccatc aacagtatta ttttctccca tgaagacggt	720
acgcgactgg gcgtggagca tctggtcgca ttgggtcacc agcaaatcgc gctgttagcg	780
ggcccattaa gtctgtctc ggcgctctg cgtctggctg gctggcataa atatctcact	840
cgcaatcaaa ttcagccgat agcggaacgg gaaggcgact ggagtgccat gtccggtttt	900
caacaaacca tgcaaatgct gaatgagggc atcgttccca ctgcgatgct ggttgccaac	960
gatcagatgg cgctgggcgc aatgcgcgcc attaccgagt ccgggctgcg cgttggtgcg	1020
gatatctcgg tagtgggata cgacgatacc gaagacagct catgttatat cccgccgtca	1080
accaccatca aacaggatgt tgcctgtctg gggcaaaacca gcgtggaccg cttgtctcaa	1140
ctctctcagg gccaggcggg gaagggaat cagctgttgc ccgtctcact ggtgaaaaga	1200
aaaaccaccc tggcgcccaa tacgcaaac gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta	1260
atgcagctgg cagcacaggt ttcccgaatg gaaagcgggc agtgagcgca acgcaattaa	1320
tgtgagttag cgcgaattga tctggtttga cagcttatca tcgactgcac ggtgcaccaa	1380
tgcttctggc gtcaggcagc catcggaagc tgtggtatgg ctgtgcaggt cgtaaatcac	1440
tgcataatc gtgtcgtca aggcgcactc ccgttctgga taatgttttt tgcgccgaca	1500
tcataacggt tctggcaaat attctgaaat gagctgttga caattaatca tccggtcgt	1560
ataatgtgtg gaattgtgag cggataacaa ttccacacag gaaacagcgc cgctgagaaa	1620
aagcgaagcg gcaactgtct ttaacaattt atcagacaat ctgtgtgggc actcgaccgg	1680
aattatcgat taactttatt attaaaaatt aaagaggtat atattaatgt atcgattaaa	1740
taaggaggaa taaacatgt gtgcgacctc ttctcaattt actcagatta ccgagcataa	1800
ttcccgtcgt tccgcaaat atcagccaaa cctgtggaat ttcgaattcc tgcaatccct	1860
ggagaacgac ctgaaagtgg aaaagctgga ggagaaagcg accaaactgg aggaagaagt	1920
tcgtgcatg atcaaccgtg tagacacca gccgtgtcc ctgctggagc tgatcgacga	1980
tgtgcagcgc ctgggtctga cctacaaatt tgaaaaagac atcattaaag ccctggaaaa	2040
catcgtactg ctggacgaaa acaaaaagaa caaatctgac ctgcacgcaa ccgctctgtc	2100
tttccgtctg ctgcgtcagc acggtttcga ggtttctcag gatgtttttg agcgtttcaa	2160

ggataaagaa ggiggtttca gcggtgaact gaaaggtgac gtccaaggcc tgctgagcct	2220
glatgaagcg tcttacctgg gtttcgaggg tgagaacctg ctggaggagg cgcgtacctt	2280
ttccatcacc cacctgaaga acaacctgaa agaaggcatt aataccaagg ttgcagaaca	2340
agttagccac gccctggaac tgccatatca ccagcgtctg caccgtctgg aggcacgttg	2400
gttctctggat aaatacgaac cgaaagaacc gcatcaccag ctgctgctgg agctggcgaa	2460
gctggatfff aacatggfac agacctgca ccagaaagag ctgcaagatc tgtcccgtg	2520
gtggaccgag atgggcctgg ctagcaaact ggattttgta cgcgaccgcc tgatggaagt	2580
ttatttctgg gcactgggta tggcgccaga cccgcagttt ggtgaatgic gcaaagctgt	2640
tactaaaatg ttigtctgg tgacgatcat cgtgacgtg tatgacgttt atggcactct	2700
ggacgaactg caactgttca ccgatgctgt agagcgtctg gacgttaacg ctattaacac	2760
cctgcccggac tatatgaaac tgtgtttcct ggcactgtac aacaccgtta acgacacgtc	2820
ctattctatt ctgaaagaga aaggtcataa caacctgtcc tatctgacga aaagctggcg	2880
tgaactgtgc aaagcctttc tgcaagaggc gaaatggtcc aacaacaaaa ttatcccggc	2940
tttctccaag tacctggaaa acgccagcgt ttctctctcc ggtgtagcgc tgctggcgcc	3000
gtcttacttt tccgtatgcc agcagcagga agacatctcc gaccacgcgc tgcgttcctt	3060
gaccgacttc catggtctgg tgcgttctag ctgcgttacc ttccgctgt gcaacgatct	3120
ggccacctct gcggcggagc tggaacgtgg cgagactacc aattctatca ttagctacat	3180
gcacgaaaac gatggtacca gcgaggaaca ggcccgcgaa gaactgcgta aactgatcga	3240
cgccgaatgg aaaaagatga atcgtgaacg cgttagcgac tccacctgc tgcctaaagc	3300
gttcatggaa atcgagttta acatggcacg tgtttccac tgcacctacc agtatggcga	3360
tggctctgggt cggccagact acgcgactga aaaccgcac aaactgctgc tgattgacct	3420
tttcccgatt aaccagctga tgtatgtcta actgcattcg cccttaggag gtaaaaaaac	3480
atgagttttg atattgcaa ataccgacc ctggcactgg tgcactccac ccaggagtta	3540
cgactgttgc cgaaagagag ttaccgaaa ctctgcgacg aactgcgccg ctatttactc	3600
gacagcgtga gccgttccag cgggcacttc gcctccgggc tgggcacggt cgaactgacc	3660
gtggcgctgc actatgtcta caacaccccg ttgaccaat tgatttgga tgtggggcat	3720
caggcttacc cgataaaat ttgaccgga cgcgcgaca aaatcggcac catccgtcag	3780
aaaggcggtc tgcacctgtt cccgtggcgc ggcgaaagcg aatatgacgt attaacgctc	3840
gggcattcat caacctccat cagtgccgga attggtattg cggttgctgc cgaaaaagaa	3900
ggcaaaaatc gccgcaccgt ctgtgtcatt ggcatggcg cgattaccgc aggcattggcg	3960
tttgaagcga tgaatcacgc gggcgataac cgtcctgata tgctgggtgat tctcaacgac	4020

aatgaaatgt cgattttccga aaatgtcggc gcgctcaaca accatctggc acagctgctt	4080
tccggtaaagc ttactcttc actgcgcgaa ggcgggaaaa aagttttctc tggcgtgccg	4140
ccaattaaag agctgctcaa acgcaccgaa gaacatatta aaggcatggt agtgcctggc	4200
acgttgtttg aagagctggg ctttaactac atcggcccg tggacggtca cgatgtgctg	4260
gggcttatca ccacgctaaa gaacatgcgc gacctgaaag gcccgcagtt cctgcatatc	4320
atgacaaaaa aaggctgtgg ttatgaaccg gcagaaaaag acccgatcac tttccacgcc	4380
gtgcctaaat ttgatccctc cagcggttgt ttgccgaaaa gtagcggcgg tttgccgagc	4440
tattcaaaaa tctttggcga ctggttgtgc gaaacggcag cgaaagacaa caagctgatg	4500
gcgattactc cggcgatgcg tgaaggttcc ggcatggtcg agttttcacg taaattcccg	4560
gatcgctact tcgacgtggc aattgccgag caacacgcgg tgacctttgc tgcgggtctg	4620
gcgattggtg ggtacaaaacc cattgtcgcg atttactcca ctttcctgca acgcgcctat	4680
gatcagggtgc tgcatgacgt ggcgattcaa aagcttccgg tccgtttcgc catcgaccgc	4740
gcgggcattg ttggtgctga cgggtcaaacc catcagggtg cttttgatct ctcttacctg	4800
cgctgcatac cgaaaatggt cattatgacc ccgagcgatg aaaacgaatg tcgccagatg	4860
ctctataccg gctatcacta taacgatggc ccgtcagcgg tgcgtaccc gcgtggcaac	4920
gcggtcggcg tggaactgac gccgctggaa aaactaccaa ttggcaaagg cattgtgaag	4980
cgctgtggcg agaaactggc gatccttaac tttggtacgc tgatgccaga agcggcgaaa	5040
gtcgccgaat cgctgaacgc cagctggtc gatatgcgtt ttgtgaaacc gcttgatgaa	5100
gcgttaattc tggaatggc cgccagccat gaagcgtgg tcaccgtaga agaaaacgcc	5160
attatggcgc gcgcaggcag cggcgtgaac gaagtgtga tggcccatcg taaaccagta	5220
cccgtgctga acattggcct gccggacttc tttattccgc aaggaaactca ggaagaaatg	5280
cgcgccgaac tcggcctcga tgccgctggt atggaagcca aaatcaaggc ctggctggca	5340
taactgcagc tggtaaccata tgggaattcg aagctttcta gaacaaaaac tcatctcaga	5400
agaggatctg aatagcgccg tcgaccatca tcatcatcat cattgagttt aaacggtctc	5460
cagcttggct gttttggcgg atgagagaag attttcagcc tgatacagat taaatcagaa	5520
cgcagaagcg gtctgataaa acagaatttg cctggcggca gtagcgcgtt ggtcccacct	5580
gaccccatgc cgaactcaga agtgaaacgc cgtagcgccg atggtagtgt ggggtctccc	5640
catgcgagag tagggaactg ccaggcatca aataaaacga aaggctcagt cgaaagactg	5700
ggcctttcgt tttatctgtt gtttgtcggt gaacgctctc ctgagtagga caaatccgcc	5760
gggagcggat ttgaacgttg cgaagcaacg gcccgagggg tggcgggcag gacgcccgcc	5820
ataaactgcc aggcatacaa ttaagcagaa ggccatcctg acggatggcc tttttgcgtt	5880

tctacaaact ctttttgttt atttttctaa atacattcaa atatgtatcc gcttaaccgg	5940
aattgccagc tggggcgccc tctggtaagg ttgggaagcc ctgcaaagta aactggatgg	6000
ctttctcgcc gccaaaggatc tgatggcgca ggggatcaag ctctgatcaa gagacaggat	6060
gaggatcggt tcgcatgatt gaacaagatg gattgcacgc aggttctccg gccgcttggg	6120
tggagaggct attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct gatgccgccg	6180
tgttcggct gtcagcgagc gggcgcccgg ttctttttgt caagaccgac ctgtccggtg	6240
ccctgaatga actgcaagac gaggcagcgc ggctatctg gctggccacg acgggcgttc	6300
cttgcgcagc tgtgctcgac gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg ctattgggcg	6360
aagtgccggg gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa gtatccatca	6420
tggctgatgc aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacttgcca ttcgaccacc	6480
aagcgaaca tcgcatcgag cgagcacgta ctcgatgga agccggtctt gtcgatcagg	6540
atgatctgga cgaagagcat caggggctcg cgccagccga actgttcgcc aggcctcaagg	6600
cgagcatgcc cgacggcgag gatctcgtcg tgacctatgg cgatgcctgc ttgccgaata	6660
tcatggtgga aaatggccgc ttttctggat tcatcgactg tggccggctg ggtgtggcgg	6720
accgctatca ggacatagcg ttggctacct gtgatatgct tgaagagctt ggccggcgaat	6780
gggctgaccg cttcctcgtg ctttacggta tcgccgtcc cgattcgag cgcctcgct	6840
tctatcgctt tcttgacgag ttctctgac gcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt	6900
cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt	6960
ttctgcggt aatctgctgc ttgcaaaaa aaaaaccacc gctaccagcg tgggtttgtt	7020
tgccggatca agagctacca actctttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga	7080
taccaataac tgtccttcta gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag	7140
caccgcctac atacctcgct ctgctaattc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata	7200
agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg	7260
gctgaacggg gggttcgtc acacagccca gcttggagcg aacgacctac accgaactga	7320
gataacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca	7380
ggatatccgt aagcggcagg gtcggaacag gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa	7440
acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt ttgccacct ctgacttgag cgtcgatttt	7500
tgtgatgctc gtcagggggg cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac	7560
ggttcctggc cttttgctgg ccttttgctc acatgttctt tctgcgtta tcccctgatt	7620

ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga 7680
 ccgagcgagc cgagtcagtg agcgaggaag cggaagagcg cctgatgcgg tattttctcc 7740
 ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccgca tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg 7800
 atgccgcata gtttaagccag tatacactcc gctatcgcta cgtgactggg tcatggctgc 7860
 gccccgacac ccgccaacac ccgctgacgc gccttgacgg gc 7902

<210> 52

<211> 6783

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 52

ctggcgtaat agcgaagagg cccgcaccga tcgcccttcc caacagttgc gcagcctgaa 60
 tggcgaatgg cgctgatgc ggtattttct ccttacgcat ctgtgcgta tttcacaccg 120
 catatggtgc actctcagta caatctgctc tgatgccgca tagttaagcc agccccgaca 180
 cccgccaaca cccgctgacg agcttagtaa agccctcgct agattttaat gcggatgttg 240
 cgattacttc gccaaactatt gcgataacaa gaaaaagcca gcctttcatg atatatctcc 300
 caatttgtgt agggcttatt atgcacgctt aaaaataata aaagcagact tgacctgata 360
 gtttggtgtg gagcaattat gtgcttagtg catctaacgc ttgagttaag ccgcgcgcgcg 420

aagcggcgtc ggcttgaacg aattgttaga cattatttgc cgactacctt ggtgatctcg 480
 cctttcacgt agtggacaaa ttcttccaac tgatctgcgc gcgaggccaa gcgatcttct 540
 tctttgccaa gataagcctg tctagcttca agtatgacgg gctgatactg ggccggcagg 600
 cgctccattg cccagtcggc agcgacatcc ttggcgcgca ttttgccggt tactgcgctg 660
 taccaaatgc gggacaacgt aagcactaca ttctgctcat cgccagccca gtcgggcggc 720
 gatttcata gcgttaaggt ttcatcttagc gcctcaaata gatcctgttc aggaaccgga 780
 tcaaagagtt cctccgccgc tggacctacc aaggcaacgc tatgttctct tgcttttgc 840

agcaagatag ccagatcaat gtcgatctg gctggctcga agatacctgc aagaatgtca 900
 ttgcgctgcc attctcaaa ttgcagttcg cgcttagctg gataacgcca cggaatgatg 960
 tcgtctgca caacaatggt gacttctaca gcgcggagaa tctcgctctc tccaggggaa 1020
 gccgaagttt caaaaggctc gttgatcaaa gctcgccgcg ttgtttcatc aagccttacg 1080
 gtcaccgtaa ccagcaaate aatatcactg tgtggcttca ggccgccatc cactgcggag 1140
 ccgtacaaat gtacggccag caacgtcggg tcgagatggc gctcgatgac gccaaactacc 1200

tctgatagtt gagicgatac ttccggcgatc accgcttccc tcatgatgtt taactttgtt	1260
ttagggcgac tgccttgcgtg cgtaacatcg ttgctgtctc ataacatcaa acatcgaccc	1320
acggcgtaac gcgcttgcgtg cttggatgcc cgaggcatag actgtacccc aaaaaaacag	1380
tcataacaag ccatgaaaac cgccactgcg ccgttaccac cgctgcgttc ggtcaagggtt	1440
ctggaccagt tgcgtgagcg catacgtac ttgcattaca gcttacgaac cgaacaggct	1500
tatgtccact gggttcgtgc cttcatccgt ttccacgggtg tgcgtcaccc ggcaaccttg	1560
ggcagcagcg aagtcgaggc atttctgtcc tggctggcga acgagcgcaa ggtttcggtc	1620
tccacgcacg gtcaggcatt ggccgccttg ctgttcttct acggcaaggt gctgtgcacg	1680
gatctgccct ggcttcagga gatcggaaga cctcggccgt cgcggcgctt gccggtggtg	1740
ctgaccccg atgaagtgtg tcgcatcctc ggttttctgg aaggcgagca tcgtttgttc	1800
gcccagcttc tgtatggaac gggcatgcgg atcagtgagg gtttgcaact gcgggtcaag	1860
gatctggatt tcgatcacgg caccatcatc gtgcgggagg gcaagggctc caaggatcgg	1920
gccttgatgt taccgagag cttggcacc agcctgcgcg agcaggggaa ttaattccca	1980
cgggttttgc tgcccgcaa cgggctgttc tgggtgtgct agtttgttat cagaatcgca	2040
gatccggctt cagccggttt gccgctgaa agcgtatatt cttccagaat tgccatgatt	2100
ttttccccac gggaggcgtc actggctccc gtgttgctgg cagctttgat tcgataagca	2160
gcatcgcttg tticaggctg tctatgtgtg actgttgagc tgtaacaagt tgtctcaggt	2220
gttcaatttc atgttctagt tgccttggtt tactggtttc acctgttcta ttaggtgtta	2280
catgctgttc atctgttaca ttgtcgatct gttcatgggtg aacagctttg aatgcaccaa	2340
aaactcgtaa aagctctgat gtatctatct tttttacacc gtttcatct gtgcatatgg	2400
acagttttcc cttgatatg taacggtgaa cagttgttct acttttgttt gttagtcttg	2460
atgcttcaat gatagatata agagccataa gaacctcaga tccttcgta tttagccagt	2520
atgttctcta gtgtggttcg ttgtttttgc gtgagccatg agaacgaacc attgagatca	2580
tacttacttt gcatgtcact caaaaatttt gcctcaaaac tggtagctg aatttttgca	2640
gttaaagcat cggtagtggt ttttcttagt ccgttatgta ggtaggaatc tgatgtaatg	2700
gttgttggtt tttgtcacc attcattttt atctggttgt tctcaagttc ggttacgaga	2760
tccattgtgc tatctagtgc aacttggaaa atcaacgtat cagtcgggag gcctcgtta	2820
tcaaccacca atttcatatt gctgtaagtg tttaaatctt tacttattgg tttcaaaacc	2880
cattggttaa gccttttaaa ctcatggtag ttattttcaa gcattaacat gaacttaaat	2940

tcaccaaggc taatctctat atttgccttg tgagttttct tttgtgtag ttttttaaat	3000
aaccactcat aaatcctcat agagtatttg tttcaaaag acttaacatg ttccagatta	3060
tattttatga atttttttaa ctggaaaaga taaggcaata tctcttact aaaaactaat	3120
tctaattttt cgcttgagaa ctggcatag tttgtccact ggaaaatctc aaagccttta	3180
accaaaggat tcttgatttc cacagtctc gtcacagct ctctggttg tttagctaat	3240
acaccataag cttttccct actgatgttc atcatctgag cgtattggtt ataagtgaac	3300
gataccgtcc gtcttttct ttaggggtt tcaatcgtgg ggttagtag tgccacacag	3360
cataaaatta gcttggtttc atgctccgtt aagtcatagc gactaatcgc tagttcattt	3420
gctttgaaaa caactaattc agacatacat ctcaattggt ctaggtgatt ttaactacta	3480
taccaattga gatgggctag tcaatgataa ttactagtcc ttttctttg agttgtgggt	3540
atctgtaaat tctgctagac ctttctgga aaacttgtaa attctgtag accctctgta	3600
aattccgcta gacctttgtg tgtttttttt gtttatattc aagtggttat aatttataga	3660
ataaagaaag aataaaaaaa gataaaaaga atagatccca gccctgtgta taactacta	3720
ctttagttag ttccgcagta ttacaaaagg atgtcgcaaa cgctgtttgc tcctctacaa	3780
aacagacctt aaaaccctaa aggcttaagt agcacctcg caagctcggg caaatcgctg	3840
aatatctctt ttgtctccga ccatcaggca cctgagtcgc tgtctttttc gtgacattca	3900
gttcgtcgc ctcacggctc tggcagtga tgggggtaaa tggcactaca ggcgctttt	3960
atggattcat gcaaggaac taccataat acaagaaaag cccgtcacgg gcttctcagg	4020
gcgttttatg gcgggtctgc tatgtggtgc tatctgactt tttgctgttc agcagttcct	4080
gccctctgat ttccagctc gaccacttcg gattatcccg tgacaggtca ttcagactgg	4140
ctaattgcacc cagtaaggca gcggtatcat caacaggctt accgtctta ctgtcgggaa	4200
ttcgcgttgg ccgattcatt aatgcagatt ctgaaatgag ctgttgacaa ttaatcatec	4260
ggctcgtata atgtgtggaa ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagcgccgc	4320
tgagaaaaag cgaagcgga ctgctcttta acaatttata agacaatctg tgtgggcact	4380
cgaccggaat tatcgattaa ctttattatt aaaaattaaa gaggtatata ttaatgtatc	4440
gattaaataa ggaggaataa accatgtgtg cgacctcttc tcaatttact cagattaccg	4500
agcataattc ccgtcgttc gcaactatc agccaaacct gtggaatttc gaattcctgc	4560
aatccctgga gaacgacctg aaagtggaaa agctggagga gaaagcgacc aaactggagg	4620
aagaagttcg ctgcatgac aaccgtgtag acaccagcc gctgtccctg ctggagctga	4680
tcgacgatgt gcagcgctg ggtctgacct acaaatgtga aaaagacatc attaaagccc	4740
tggaatacat cgtactgctg gacgaaaaca aaaagaacaa atctgacctg cacgcaaccg	4800

ctctgtcttt ccgtctgctg cgtcagcacg gtttcgaggt ttctcaggat gtttttgagc	4860
gtttcaagga taaagaaggt ggtttcagcg gtgaactgaa aggtgacgtc caaggcctgc	4920
tgagcctgta tgaagcgtct tacctgggtt tgcagggtga gaacctgctg gaggaggcgc	4980
gtaccttttc catcacccac ctgaagaaca acctgaaaga aggcattaat accaaggttg	5040
cagaacaagt gagccacgcc ctggaactgc catatcacca gcgtctgcac cgtctggagg	5100
cacgttggtt cctggataaa tacgaaccga aagaaccgca tcaccagctg ctgctggagc	5160
tggcgaagct ggattttaac atggtacaga ccttcaccca gaaagagctg caagatctgt	5220
cccgtggtg gaccgagatg ggcctggcta gcaaaactgga tttgtacgc gaccgcctga	5280
tggaagtta tttctgggca ctgggtatgg cgccagaccc gcagtttggg gaatgtcgca	5340
aagctgttac taaaatgttt ggtctgggtga cgatcatcga tgacgtgtat gacgtttatg	5400
gcactctgga cgaactgcaa ctgttcaccg atgctgtaga gcgctgggac gttaacgcta	5460
ttaacacctt gccggactat atgaaactgt gtttcctggc actgtacaac accgttaacg	5520
acacgtccta ttctattctg aaagagaaaag gtcataacaa cctgtcctat ctgacgaaaa	5580
gctggcgtga actgtgcaaa gcctttctgc aagaggcgaa atggtccaac aacaaaatta	5640
tcccggcttt ctccaagtac ctggaaaacg ccagcgtttc ctctccgggt gtagcgctgc	5700
tggcgccgtc ttacttttcc gtatgccagc agcaggaaga catctccgac cacgcgctgc	5760
gttccctgac cgacttccat ggtctgggtgc gttctagctg cgttatcttc cgcctgtgca	5820
acgatctggc cacctctgcg gcggagctgg aacgtggcga gactaccaat tctatcatta	5880
gtacatgca cgaaaacgat ggtaccagcg aggaacaggc ccgcgaagaa ctgcgtaaac	5940
tgatcgacgc cgaatggaaa aagatgaatc gtgaacgcgt tagcgactcc accctgctgc	6000
ctaaagcgtt catggaaatc gcagttaaca tggcacgtgt ttccactgc acctaccagt	6060
atggcgatgg tctgggtcgc ccagactacg cgactgaaaa ccgcatcaaa ctgctgctga	6120
ttgaccttt cccgattaac cagctgatgt atgtctaact gcagctggta ccatatggga	6180
attcgaagct ttctagaaca aaaactcatc tcagaagagg atctgaatag cgccgtcgac	6240
catcatcatc atcatcatg agtttaaacg gtctccagct tggtgtttt ggccgatgag	6300
agaagatfff cagcctgata cagattaaat cagaacgcag aagcggctctg ataaaacaga	6360
atttgctgg cggcagtagc gcgggtgtcc cacctgaccc catgccgaac tcagaagtga	6420
aacgccgtag cgccgatggt agtgtggggt ctcccatgc gagagtaggg aactgccagg	6480
catcaataa aacgaaaggc tcagtcgaaa gactgggcct ttcgttttat ctgttgtttg	6540
tcggtgaacg ctctctgag taggacaaat ccgccgggag cggatttgaa cgttgcaag	6600
caacggcccc gaggggtggcg ggcaggacgc ccgccataaa ctgccaggca tcaaatgaag	6660

cagaaggcca tcctgacgga tggccttttt gcgtttctac aaactctttt tgtttatttt	6720
tctaaataca ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat	6780
aat	6783
<210> 53	
<211> 6783	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 53	
cccgtcttac tgtcgggaat tcgctgtggc cgattcatta atgcagatta ttgaagcatt	60
tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacia	120
aaagagtttg tagaaacgca aaaaggccat ccgtcaggat ggccttctgc ttaatttgat	180
gcctggcagt ttatggcggg cgctctgccc gccaccctcc gggccgttgc ttcgcaacgt	240
tcaaattcgc tcccggcgga ttgtctctac tcaggagagc gttcacgcac aaacaacaga	300
taaaacgaaa ggcccagctt ttcgactgag cctttcgttt tatttgatgc ctggcagttc	360
cctactctcg catggggaga cccacacta ccatcggcgc tacggcgttt cacttctgag	420
ttcggcatgg ggtcagggtg gaccaccgcg ctactgccgc caggcaaatt ctgttttacc	480
agaccgcttc tgcgttctga tttaattctgt atcaggctga aaatcttctc tcatccgcca	540
aaacagccaa gctggagacc gtttaaaactc aatgatgatg atgatgatgg tcgacggcgc	600
tattcagatc ctcttctgag atgagttttt gtcttagaaa gcttcgaatt cccataggt	660
accagctgca gttagacata catcagctgg ttaatcggga aagggtcaat cagcagcagt	720
ttgatcgggt ttccagtcgc gtagtctggg cgaccagac catcgccata ctggtaggtg	780
cagtgggaaa cacgtgccat gtttaactgcg atttccatga acgctttagg cagcagggtg	840
gagtcgctaa cgcgttcacg attcatcttt ttccattcgg cgtcgatcag ttacgcagt	900
tcttcgctgg cctgttcttc gctggtacca tcgttttctg gcatgtagct aatgatagaa	960
ttggtagtct cgccacgttc cagctccgcc gcagaggtgg ccagatcgtt gcacaggcgg	1020
aagataacgc agctagaacg caccagacca tggaagtctg tcagggaacg cagcgcgtgg	1080
tcggagatgt ctctctgctg ctggcatacg gaaaagtaag acggcgccag cagcgcctaca	1140
ccggaggagg aaacgtggc gttttccagg tacttggaga aagccgggat aattttgttg	1200
ttggaccatt tcgcctcttg cagaaaggct ttgcacagtt cacgccagct tttcgtcaga	1260
taggacaggt tgttatgacc tttctctttc agaatagaat aggacgtgtc gttaacggtg	1320

ttgtacagtg ccaggaaaca cagtttcata tagtccggca ggggtttaat agcgttaacg	1380
tcccagcgct ctacagcatc ggtgaacagt tgcagttcgt ccagagtgcc ataaacgtca	1440
tacacgtcat cgatgatcgt caccagacca aacatttttag taacagcttt ggcacattca	1500
ccaaactgcg ggtctggcgc cataccagct gccagaaat aaacttccat caggcggtcg	1560
cgtacaaaat ccagtttgcgt agccaggccc atctcggtcc accagcgga cagatcttgc	1620
agctctttct ggtgcagggt ctgtaccatg ttaaaatcca gcttcgccag ctccagcagc	1680
agctggatgat gcggttcttt cggttcgtat ttatccagga accaacgtgc ctccagacgg	1740
tgcagacgct ggtgatatgg cagttccagg gcgtggctca cttgttctgc aaccttggtg	1800
ttaatgcctt ctttcaggtt gttcttcagg tgggtgatgg aaaaggtacg cgcctctcc	1860
agcaggttct caccctcgaa acccaggtaa gacgttcat acaggctcag caggccttgg	1920
acgtcacctt tcagttcacc gctgaaacca cttcttttat ccttgaaacg ctcaaaaaca	1980
tcctgagaaa cctcgaaacc gtgctgacgc agcagacgga aagacagagc ggttgctgctc	2040
aggtcagatt tgttcttttt gttttcgtcc agcagtacga tgttttccag ggctttaatg	2100
atgtcttttt caaatgtga ggtcagaccc aggcgctgca catcgtcgat cagctccagc	2160
agggacagcg gcgggtgtc tacacgggtg atcatgcagc gaacttcttc ctccagtttg	2220
gtcgtttct cctccagctt ttccacttc aggtcgttct ccagggttg caggaattcg	2280
aaattccaca ggtttgctg atagtttgcg gaacgacggg aattatgctc ggtaatctga	2340
glaaattgag aagaggtcgc acacatggtt tattctctct tatttaatcg atacattaat	2400
atatacctct ttaattttta ataataaagt taatcgataa ttccggctga gtgccacac	2460
agattgtctg ataaattgtt aaagagcagt gccgttgcg ttttctcag cggcgtgtt	2520
tcctgtgtga aattgttacc cgtcacaaat tccacacatt atacgagcg gatgattaat	2580
tgtcaacagc tcatttcaga atctggcgta atagcgaaga ggccgcacc gatcgccctt	2640
cccaacagtt gcgcagcctg aatggcgaat ggcgctgat gcggtatatt ctccttacgc	2700
atctgtgagg tatttcacac cgcatatggt gcaactctcag tacaatctgc tctgatgccg	2760
catagttaag ccagccccga caccgcca caccgctga cgagcttagt aaagccctcg	2820
ctagatttta atgcggaigt tgcgattact tcgccaacta ttgcgataac aagaaaaagc	2880
cagcctttca tgatatact cccaatttgt gtagggtta ttatgcacgc ttaaaaaata	2940
taaaagcaga cttagactga tagtttggct gtgagcaatt atgtgcttag tgcattctaac	3000
gcttgagtta agccgcgccg cgaagcggcg tcggcttgaa cgaattgtta gacattattt	3060

gccgactacc ttggtgatct cgcctttcac gtagtggaca aattcttcca actgatctgc	3120
gcgcgaggcc aagcgatctt cttcttgtcc aagataagcc tgtctagctt caagtatgac	3180
gggctgatac tgggcgggca ggcgtccat tgcccagtcg gcagcgacat ctttcggcgc	3240
gattttgccg gttactgcgc tgtaccaaat gcgggacaac gtaagcacta catttcgctc	3300
atcgccagcc cagtcgggcg gcgagttcca tagcgttaag gtttcattta gcgcctcaaa	3360
tagatcctgt tcaggaaccg gatcaaagag ttcctccgcc gctggaccta ccaaggcaac	3420
gctatgttct cttgcttttg tcagcaagat agccagatca atgtcgatcg tggctggctc	3480
gaagatacct gcaagaatgt cattgcgctg ccattctcca aattgcagtt cgcgcttagc	3540
tggataacgc cacggaatga tgtcgtcgtg cacaacaatg gtgacttcta cagcgcggag	3600
aatctcgtc tctccagggg aagccgaagt ttccaaaagg tcgttgatca aagctcgccg	3660
cgtttgttca tcaagcetta cggtcaccgt aaccagcaaa tcaatatcac tgtgtggctt	3720
caggccgcca tccactgcgg agccgtacaa atgtacggcc agcaacgtcg gttcgagatg	3780
gcgctcgatg acgccaacta cctctgatag ttgagtcgat acttcggcga tcaccgcttc	3840
cctcatgatg ttttaactttg ttttagggcg actgccctgc tgcgtaacat cgttgcctgt	3900
ccataacatc aaacatcgac ccacggcgta acgcgcttgc tgcttggatg cccgaggcat	3960
agactgtacc ccaaaaaaac agtcataaca agccatgaaa accgccactg cgccgttacc	4020
accgctgcgt tcggtcaagg ttctggacca gttgcgtgag cgcatagct acttgcatca	4080
cagcttacga accgaacagg cttatgtcca ctgggttcgt gccttcatcc gtttcacgg	4140
tgtgcgtcac ccggcaacct tgggcagcag cgaagtcgag gcatttctgt cctggctggc	4200
gaacgagcgc aaggtttcgg tctccacgca tcgtcaggca ttggcggcct tgctgttctt	4260
ctacggcaag gtgctgtgca cggatctgcc ctggcttcag gagatcggaa gacctcggcc	4320
gtcgcggcgc ttgccggtgg tgctgacccc ggatgaagtg gttcgcatcc tcggttttct	4380
ggaaggcgag catcgtttgt tcgcccagct tctgtatgga acgggcatgc ggatcagtga	4440
gggtttgcaa ctgcgggtca aggatctgga ttctgatcac ggcacgatca tcgtgcggga	4500
gggcaagggc tccaaggatc gggccttgat gttaccgag agcttggcac ccagcctgcg	4560
cgagcagggg aattaattcc cacgggtttt gctgcccgca aacgggctgt tctggtgttg	4620
ctagtttgtt atcagaatcg cagatccggc ttacgccggt ttgccggtg aaagcgtat	4680
ttcttcaga atigccatga tttttcccc acgggaggcg tcaactggctc ccgtgtgtc	4740
ggcagctttg attcgataag cagcatcgcc tgtttcaggc tgtctatgtg tgactgttga	4800

gctgtaacaa gttgtctcag gtgttcaatt tcatgttcta gttgctttgt tttactgggt	4860
tcacctgttc tattagggtg tacatgctgt tcatctgtta cattgtcgat ctgttcatgg	4920
tgaacagctt tgaatgcacc aaaaactcgt aaaagctctg atgtatctat cttttttaca	4980
ccgttttcat ctgtgcatat ggacagtttt ccttttgata tgtaacgggtg aacagtgtgt	5040
ctacttttgt ttgttagtct tgatgcttca ctgatagata caagagccat aagaacctca	5100
gaccttccg tatttagcca gtatgttctc tagtgtggtt cgttgttttt gcgtgagcca	5160
tgagaacgaa ccattgagat catacttact ttgcatgtca ctcaaaaatt ttgcctcaaa	5220
actggtgagc tgaatttttg cagttaaagc atcgtgtagt gtttttctta gtccgttatg	5280
taggtaggaa tctgatgtaa tggttgttgg tattttgtca ccattcattt ttatctgggt	5340
gttctcaagt tcggttacga gatccatttg tctatctagt tcaacttgga aaatcaacgt	5400
atcagtcggg cggcctcgct tatcaaccac caatttcata ttgctgtaag tgtttaaatc	5460
tttacttatt gggttcaaaa cccattgggt aagcctttta aactcatggt agttattttc	5520
aagcattaac atgaacttaa attcatcaag gctaactctt atattgcct tgtgagtttt	5580
cttttgtgtt agttctttta ataaccactc ataaatcctc atagagtatt tgttttcaaa	5640
agacttaaca tgttccagat tataatttat gaattttttt aactggaaaa gataaggcaa	5700
tatctcttca ctaaaaacta attctaattt ttcgcttgag aacttggcat agtttgtcca	5760
ctggaaaaat tcaaagcctt taaccaaagg attcctgatt tccacagttc tcgtcatcag	5820
ctctctggtt gctttagcta atacaccata agcattttcc ctactgatgt tcatcatctg	5880
agcgtattgg ttataagtga acgataccgt cgttcttttc cttgtagggt tttcaatcgt	5940
ggggttgagt agtgccacac agcataaaat tagcttgggt tcatgctccg ttaagtcata	6000
gcgactaatc gctagttcat ttgctttgaa aacaactaat tcagacatac atctcaattg	6060
gtctaggtda ttttaatcac tataccaatt gagatgggct agtcaatgat aattactagt	6120
ccttttccct tgagtgttgg gtatctgtaa attctgctag accttgctg gaaaacttgt	6180
aaattctgct agaccctctg taaattccgc tagaccttg tgtgtttttt ttgtttatat	6240
tcaagtgggt ataatttata gaataaagaa agaataaaaa aagataaaaa gaatagatcc	6300
cagccctgtg tataactcac tactttagtc agttccgcag tattacaaaa ggatgtcgca	6360
aacgtgtttt gtcctctac aaaacagacc ttaaaacctt aaaggcttaa gtagaccctt	6420
cgcaagctcg ggcaaatcgc tgaatattcc ttttgtctcc gaccatcagg cacctgagtc	6480
gctgtctttt tcgtgacatt cagttcgtg cgctcacggc tctggcagtg aatgggggta	6540
aatggcacta caggcgctt ttatggattc atgcaaggaa actaccata atacaagaaa	6600
agccccacac gggcttctca gggcgtttta tggcgggtct gctatgtggt gctatctgac	6660

tttttctgt tcagcagttc ctgccctctg attttccagt ctgaccactt cggattatcc	6720
cgtgacaggt cattcagact ggctaatagca cccagtaagg cagcggtatc atcaacaggc	6780
tta	6783
<210> 54	
<211> 7687	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 54	
ctggcgtaat agcgaagagg cccgcaccga tcgcccttcc caacagttgc gcagcctgaa	60
tggcgaaatgg cgcctgatgc ggtatcttct ccttacgcat ctgtgcggtat tttcacaccg	120
catatggtgc acitctagta caatctgctc tgatgccgca tagttaagcc agccccgaca	180
cccgccaaca cccgctgacg agcttagtaa agccctcgct agattttaat gcggatgttg	240
cgattacttc gccaaactatt gcgataacaa gaaaaagcca gcctttcatg atatatctcc	300
caatttgtgt agggcttatt atgcacgctt aaaaataata aaagcagact tgacctgata	360
gtttggtctgt gagcaattat gtgcttagtg catctaacgc ttgagttaag ccgcgccgcg	420
aagcggcgctc ggcttgaacg aattgttaga cattatttgc cgactacctt ggtgatctcg	480
cctttcacgt agtggacaaa ttcttccaac tgatctgcgc gcgaggccaa gcgatcttct	540
tcttgccaa gataagcctg tctagcttca agtatgacgg gctgatactg ggccggcagg	600
cgctccattg cccagtcggc agcgacatcc ttccggcgca ttttgccggt tactgcgctg	660
taccaaagtc gggacaacgt aagcactaca ttctgctcat cgccagccca gtcgggcggc	720
gagttccata gcgttaaggt ttcatcttagc gcctcaaata gatcctgttc aggaaccgga	780
tcaaagagtt cctccgccgc tggacctacc aaggcaacgc tatgttctct tgcttttgtc	840
agcaagatag ccagatcaat gtcgatctg gctggctcga agatactgc aagaatgtca	900
ttgcgctgcc attctccaaa ttgcagttcg cgttagctg gataacgcca cggaatgatg	960
tcgtcgtgca caacaatggt gacttctaca gcgcggagaa tctcgtctc tccaggggaa	1020
gccgaagttt ccaaaggctc gttgatcaaa gctcggcgcg ttgtttcatc aagccttacg	1080
gtcacgtaa ccagcaaatc aatatcactg tgtggcttca ggccgccatc cactgcggag	1140
ccgtacaaat gtacggccag caacgtcggg tcgagatggc gctcgtatgac gccaaactacc	1200
tctgatagtt gattcgatac ttccggcatc accgcttccc tcatgatgtt taactttgtt	1260
ttagggcgac tgcctgctg cgtaacatcg ttgctgtccc ataacatcaa acatcgaccc	1320

acggcgtaac gcgcttgctg cttggatgcc cgaggcatag actgtacccc aaaaaaacag	1380
tcataacaag ccatgaaaa cgccactgcg ccgttaccac cgctgcgttc ggtcaaggtt	1440
ctggaccagt tgcgtgagcg catacgtac ttgcattaca gcttacgaac cgaacaggct	1500
tatgtccact gggttcgtgc cttcatccgt ttccacggtg tgcgtcaccc ggcaaccttg	1560
ggcagcagcg aagtcgaggc atttctgtcc tggctggcga acgagcgcaa ggtttcggtc	1620
tccacgcate gtcaggcatt ggccgccttg ctgtttctct acggcaaggt gctgtgcacg	1680
gatctgccct ggcttcagga gatcggaaga cctcgccgt cgccggcgctt gccggtggtg	1740
ctgaccccg atgaagtgt tgcatactc ggttttcttg aaggcgagca tcgtttgttc	1800
gccagcttc tgiatggaac gggcatgcgg atcagtgagg gtttgcaact gcgggtcaag	1860
gatctggatt tcgatcacgg cacgatcatc gtgcgggagg gcaagggtc caaggatcgg	1920
gccttgatgt taccgagag cttggcacc agcctgcgc agcaggggaa ttaattccca	1980
cgggttttgc tgcccgaaa cgggctgttc tgggtgttct agtttgttat cagaatcgca	2040
gatccggctt cagccggtt gccgctgaa agcgtatct cttccagaat tgccatgatt	2100
ttttcccaac gggaggcgtc actggctccc gtgttgctcg cagctttgat tcgataagca	2160
gcatcgccgt ttcaggctg tctatgttg actgttgagc tgtaacaagt tgtctcaggt	2220
gttcaatttc atgttctagt tgccttgttt tactggtttc acctgttcta ttaggtgtta	2280
catgctgttc atctgttaca ttgtcgatct gttcatggtg aacagcttg aatgcaccaa	2340
aaactcgtaa aagctctgat gtatctatct tttttacacc gttttcatct gtgcatatgg	2400
acagttttcc cttgatatg taacggtgaa cagttgttct acttttgttt gttagtcttg	2460
atgcttcaat gatagatata agagccataa gaacctcaga tccttccgta tttagccagt	2520
atgttctcta gtgtgggttc ttgtttttgc gtgagccatg agaacgaacc attgagatca	2580
tacttacttt gcatgtcact caaaaatttt gcctcaaaac tggtagctg aatttttgca	2640
gttaaagcat cgtgtagtgt ttttcttagt ccgttatgta ggtaggaatc tgatgtaatg	2700
gttgttggtt tttgtcacc attcattttt atctggttgt tctcaagttc ggttacgaga	2760
tccatttgc tatctagttc aacttggaat atcaacgtat cagtcgggcg gcctcgctta	2820
tcaaccacca atttcatatt gctgtaagt tttaaatct tacttattgg tttcaaaacc	2880
cattggttaa gccttttaaa ctcatggtag ttattttcaa gcattaacat gaacttaaat	2940
tcataaggc taatctctat atttgccttg tgagttttct tttgtgttag ttcttttaat	3000
aaccactcat aaatcctcat agagtatttg ttttcaaaag acttaacatg ttccagatta	3060
tattttatga atttttttaa ctggaaaaga taaggcaata tctcttact aaaaactaat	3120
tctaattttt cgcttgagaa cttggcatag ttgtccact ggaaaatctc aaagccttta	3180

accaaaggat tcttgatttc cacagttctc gtcacagct ctctggttgc tttagcta	3240
acaccataag cattttcctt actgatgttc atcatctgag cgtattgggtt ataagtgaac	3300
gataccgtcc gttctttcct tgtagggttt tcaatcgtgg gggtgagtag tgccacacag	3360
cataaaatta gcttggtttc atgctccgtt aagtcacagc gactaatcgc tagttcattt	3420
gctttgaaaa caactaatc agacatacat ctcaattggg ctagggtgatt ttaataccta	3480
taccaattga gatgggctag tcaatgataa ttactagtcc ttttcctttg agttgtgggt	3540
atctgtaaat tctgctagac ctttgctgga aaacttgtaa attctgctag accctctgta	3600
aattccgcta gacctttgtg tgtttttttt gtttatattc aagtggttat aatttataga	3660
ataaagaaag aataaaaaaa gataaaaaga atagatccca gccctgtgta taactccta	3720
ctttagtcag ttccgcagta ttacaaaagg atgtcgcaaa cgctgtttgc tcctctacaa	3780
aacagacctt aaaaccctaa aggcttaagt agcacctcgc caagctcggg caaatcgctg	3840
aataatcctt ttgtctccga ccatcaggca cctgagtcgc tgtcttttc gtgacattca	3900
gttcgctgcg ctacaggctc tggcagtgaa tgggggtaaa tggcactaca ggcgcctttt	3960
atggattcat gcaaggaac tacccataat acaagaaaag cccgtcacgg gcttctcagg	4020
gcgttttatg gcgggtctgc tatgtggtgc tatctgactt tttgctgttc agcagttcct	4080
gccctctgat tttccagtct gaccacttcg gattatcccg tgacaggtca ttcagactgg	4140
ctaatagcacc cagtaaggca gcggtatcat caacaggctt acccgtctta ctgtcgggaa	4200
ttcgcgttgg ccgattcatt aatgcagatt ctgaaatgag ctgttgacaa ttaatcatcc	4260
ggctcgtata atgtgtggaa ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagcggcgc	4320
tgagaaaaag cgaagcggca ctgctcttta acaatttatc agacaatctg tgtgggcact	4380
cgaccggaat tatcgattaa ctttattatt aaaaattaaa gaggtatata ttaatgtatc	4440
gattaaataa ggaggaataa accatgtgtg cgacctcttc tcaatttact cagattaccg	4500
agcataattc ccgtcgttcc gcaaaactat agccaaacct gtggaatttc gaattcctgc	4560
aatccctgga gaacgacctg aaagtggaaa agctggagga gaaagcgacc aaactggagg	4620
aagaagtctg ctgcatgac aaccgtgtag acaccagcc gctgtccctg ctggagctga	4680
tcgacgatgt gcagcgcctg ggtctgacct acaaatttga aaaagacatc attaaagccc	4740
tggaaaaacat cgtactgctg gacgaaaaca aaaagaacaa atctgacctg cagcaaccg	4800
ctctgtcttt ccgtctgctg cgtcagcacg gtttcgaggt ttctcaggat gttttgagc	4860
gtttcaagga taaagaaggt ggtttcagcg gtgaactgaa aggtgacgtc caaggcctgc	4920

tgagcctgta tgaagcgtct tacctgggtt tcgagggtga gaacctgctg gaggaggcgc	4980
gtaccttttc catcaccacac ctgaagaaca acctgaaaga aggcattaat accaaggttg	5040
cagaacaagt gagccacgcc ctggaactgc catatcacca gcgtctgcac cgtctggagg	5100
cacgttgggtt cciggataaa tacgaaccga aagaaccgca tcaccagctg ctgctggagc	5160
tggcgaagct ggattttaac atggtacaga cctgcacca gaaagagctg caagatctgt	5220
cccgtgggtg gaccgagatg ggcctggcta gcaaaactgga tttgtacgc gaccgcctga	5280
tggaagttaa tttctgggca ctgggtatgg cgccagacc gcagtttggg gaatgtcgca	5340
aagctgttac taaaatgttt ggtctgggtga cgatcatcga tgacgtgtat gacgtttatg	5400
gcactctgga cgaactgcaa ctgttcaccg atgctgtaga gcgctgggac gttaacgcta	5460
ttaacacctt gccggactat atgaaactgt gtttctggc actgtacaac accgttaacg	5520
acacgtccta ttctattctg aaagagaaaag gtcataacaa cctgtcctat ctgacgaaaa	5580
gctggcgtga actgtgcaaa gcctttctgc aagaggcgaa atgggtccac aacaaaatta	5640
tcccggcttt ctccaagtac ctggaaaacg ccagcgtttc ctctccggt gtagcgctgc	5700
tggcgccgtc ttacttttcc gtatgccagc agcaggaaga catctccgac cacgcgctgc	5760
gttccctgac cgacttccat ggtctgggtgc gttctagctg cgttatcttc cgcctgtgca	5820
acgatctggc cacctctcg cgaggagctgg aacgtggcga gactaccaat tctatcatta	5880
gtacatgca cgaaaacgat ggtaccagcg aggaacaggc ccgcaagaa ctgcgtaaac	5940
tgatcgacgc cgaatggaaa aagatgaatc gtgaacgcgt tagcgactcc accctgctgc	6000
ctaaagcgtt catggaaatc gcagttaaca tggcacgtgt tteccactgc acctaccagt	6060
atggcgtatg tctgggtcgc ccagactacg cgactgaaaa ccgcatcaaa ctgctgctga	6120
ttgacctttt cccgattaac cagctgatgt atgtctaact gcacgacct taggaggtaa	6180
aaaaaaaaatga ctgccgacaa caatagtatg ccccatgggtg cagtatctag ttacgcaaaa	6240
ttagtgcaaa accaaacacc tgaagacatt ttggaagagt ttcctgaaat tattccatta	6300
caacaaagac ctaatacccg atctagttag acgtcaaatg acgaaagcgg agaaacatgt	6360
ttttctggtc atgatgagga gcaaatgaag ttaatgaatg aaaattgtat tgttttggat	6420
tgggacgata atgctattgg tgccgggtacc aagaaagttt gtcatttaat ggaaaatatt	6480
gaaaagggtt tactacatcg tgcatcttcc gcttttattt tcaatgaaca aggtgaatta	6540
cttttacaac aaagagccac tgaaaaata actttccctg atctttggac taacacatgc	6600
tgctctcacc cactatgtat tgatgacgaa ttaggtttga agggtaagct agacgataag	6660

attaagggcg ctattactgc ggcggtgaga aaactagatc atgaattagg tattccagaa 6720
gatgaaacta agacaagggg taagtttcac tttttaaca gaatccatta catggcacca 6780
agcaatgaac catggggtga acatgaaatt gattacatcc tttttataa gatcaacgt 6840
aaagaaaact tgactgtcaa cccaaacgtc aatgaagtta gagacttcaa atgggtttca 6900
ccaaatgatt tgaaaactat gtttctgac ccaagttaca agtttacgcc ttggtttaag 6960
attatttgcg agaattactt attcaactgg tgggagcaat tagatgacct ttctgaagtg 7020
gaaaatgaca ggcaaattca tagaatgcta taacgacgcg tccitgcagct ggtaccatat 7080

gggaattcga agctttctag aacgaaaact catctcagaa gaggatctga atagcgccgt 7140
cgaccatcat catcatcatc attgagttta aacggctctcc agcttggctg ttttggcgga 7200
tgagagaaga ttttcagcct gatacagatt aaatcagaac gcagaagcgg tctgataaaa 7260
cagaatttgc ctggcggcag tagcgcggtg gtcccacctg accccatgcc gaactcagaa 7320
gtgaaacgcc gtagcgccga tggtagtgtg gggctctccc atgcgagagt agggaaactgc 7380
caggcatcaa ataaaacgaa aggtctcagtc gaaagactgg gcctttcggtt ttatctgttg 7440
tttgtcgggtg aacgctctcc tgagttaggac aaatccgccg ggagcggatt tgaacgttgc 7500

gaagcaacgg cccggagggt ggcgggcagg acgcccgcc taaactgcc ggcatcaaat 7560
taagcagaag gccatctga cggatggcct ttttgcgttt ctacaaactc tttttgttta 7620
tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataaatgctt 7680
caataat 7687

<210> 55
<211> 8675
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct
<400> 55

cccgtcttac tgtcgggaat tcgcttggc cgattcatta atgcagatta ttgaagcatt 60

tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaaca 120
aaagagtttg tagaaacgca aaaaggccat ccgtcaggat ggccttctgc ttaatttgat 180
gcctggcagt ttatggcggg cgtctctgcc gccaccctcc gggcgttgc ttcgcaacgt 240
tcaaatccgc tcccggcgga tttgtcttac tcaggagagc gttcaccgac aaacaacaga 300
taaaacgaaa ggcccagtct ttgactgag cctttcggtt tatttgatgc ctggcagttc 360
cctactctcg catggggaga cccacacta ccatcggcgc tacggcggtt cacttctgag 420

ttcggcatgg ggtcaggtgg gaccaccgcg ctactgccgc caggcaaatt ctgtttatc	480
agaccgttc tgcgttctga tttaatctgt atcaggtga aaatcttctc tcacccgcca	540
aaacagccaa gctggagacc gtttaaacctc aatgatgatg atgatgatgg tcgacggcgc	600
tattcagatc ctcttctgag atgagttttt gtcttagaaa gcttcgaatt cccatatggt	660
accagctgca gttatgccag ccaggccttg attttgctt ccataccagc ggcatcgagg	720
ccgagttcgg cgcgcatttc ttctgagtt ccttgcgga taaagaagtc cggcaggcca	780
atgttcagca cgggtactgg ttacgatgg gccatcagca cttcgttcac gccgtgcct	840
gcgccgcca taatggcgtt ttcttctacg gtgaccagcg cttcatggct ggccgccatt	900
tccagaatta acgtttcatc aagcggtttc acaaacgca tatcgaccag cgtggcgttc	960
agcgattcgg cgactttcgc cgcttctggc atcagcgtac caaagttaag gatcgccagt	1020
ttctcgccac gacgtttcac aatgcctttg ccaattgga gtttttcag cggcgtcagt	1080
tccacgccga ccgcgttgcc acgcgggtag cgcaccgtg acgggccatc gttatagtga	1140
tagccggtat agagcatctg gcgacattcg tttcatcgc tcggggtcac aatgaccatt	1200
tccggtatgc agcgcagga agagagatca aaagcacct gatgggtttg accgtcagca	1260
ccaacaatgc ccgcgcggtc gatggcgaac aggaccgga gcttttgaat cgccacgtca	1320
tgcagcacct gatcatagcg gcgttcgagg aaagtggagt aaatcgcgac aatgggtttg	1380
taccaccaa tcgccagacc cgcagcaaag gtcaccgct gttgctcgcc aattgccacg	1440
tcgaagtacg gatccgggaa ttacgtgaa aactcgacca tcgccgaacc ttcacgcac	1500
gccggagtaa tcgccatcag ctgttgtct ttctgtccg tttcgacaa ccagtcgcca	1560
aagatttttg aatagctcgg caaacgccg ctacttttcg gcaacaacc gctggaggga	1620
tcaaatttag gcacggcgtg gaaagtatc gggcttttt ctgccggttc ataaccagca	1680
cttttttttg tcattgatatg caggaaactgc gggcctttca ggtcgcgcat gttcttttagc	1740
gtggtgataa gccccagcac atcgtgaccg tcaccgggc cgatgtagtt aaagcccagc	1800
tcttcaaaca acgtgccagg cactaccatg cttttaatat gttcttcggt gcgtttgagc	1860
agctctttta ttggcggcac gccagagaaa acttttttcc cgccttcgcg cagtgaagag	1920
taaagcttac cggaaagcag ctgtgccaga tggttgttga gcgcgccgac attttcggaa	1980
atcgacattt cattgtcgtt gagaatcacc agcatatcag gacggatac gcccgctga	2040
ttcatcgctt caaacgccat gcctgcggta atcgcgccat cgccaatgac acagacggtg	2100
cggcgatttt tgccttcttt ttccgcagca accgcaatac caattccggc actgatggag	2160

gttgatgaat gcccgacgct taatacgtca tattcgcttt cgccgcgcca cgggaacggg	2220
tgcagaccgc ctttctgacg gatggtgccg attttgcgc ggctccggt caaaatttta	2280
tgcggataag cctgatgcc cacaaccaca atcaattggt caaacggggt gttgtagaca	2340
tagtgacgcg ccacggtcag ttcgaccgtg ccagcccgaggcgaagt cccgctggaa	2400
cggctcacgc tgcgagtaa atagcggcgc agttcgtcgc agagtctcgg taaactctct	2460
ttcggcaaca gtcgtaactc ctgggtggag tcgaccagtg ccagggtcgg gtatttgga	2520
atatcaaac tcatgtttt ttacctccta agggcgaatg cagttagaca tacatcagct	2580
ggttaatcgg gaaagggtca atcagcagca gtttgatcgc gtttccagtc gcgtagtctg	2640
ggcgaccag accatcgcca tactggtagg tgcagtggga aacacgtgcc atgttaactg	2700
cgatttccat gaacgcttta ggcagcaggg tggagtcgct aacgcgttca cgattcatct	2760
ttttccattc ggctcgatc agtttacgca gttcttcgcg ggctgttcc tcgctggtac	2820
catcgttttc gtgcatgtag ctaatgatag aattggtagt ctgccacgt tccagctccg	2880
ccgcagaggt ggccagatcg ttgcacaggc ggaagataac gcagctagaa cgcaccagac	2940
catggaagtc ggtcaggga cgcagcgcgt ggtcggagat gtcttctcgc tgcctggcata	3000
cggaaaagta agacggcgcc agcagcgcta caccggagga ggaaacgctg gcgttttcca	3060
ggtacttggg gaaagccggg ataattttgt tgttgacca tttcgctct tgcagaaagg	3120
ctttgcacag ttcacgccag cttttcgtca gataggacag gttgttatga cttttctctt	3180
tcagaataga ataggacgtg tcgttaacgg tgtgttacag tgccaggaaa cacagtcca	3240
tatagtcgg cagggtgtta atagcgttaa cgtccagcg ctctacagca tcggtgaaca	3300
gttcagttc gtccagagtg ccataaacgt catacacgtc atcgatgac gtcaccagac	3360
caaacatttt agtaacagct ttgcgacatt caccaactg cgggtctggc gccatacca	3420
gtgccagaa ataaacttcc atcaggcgggt cgcgtacaaa atccagtttg ctagccaggc	3480
ccatctcggg ccaccagcgg gacagatctt gcagctcttt ctggtgcagg gtcgttacca	3540
tgtaaaatc cagcttcgcc agctccagca gcagctggtg atgcggttct ttcggttcgt	3600
atttatccag gaaccaacgt gcctccagac ggtgcagacg ctggtgatat ggcagttcca	3660
gggcgtggct cactgttct gcaaccttgg tattaatgcc tttttcagg ttgttctca	3720
ggtgggtgat ggaaggtta cgcgcctct ccagcaggtt ctaccctcg aaaccaggt	3780
aagacgttc atacaggctc agcaggcctt ggacgtcacc tttcagttca ccgtgaaac	3840
caccttcttt atccttgaaa cgctcaaaaa catcctgaga aacctcgaaa ccgtgctgac	3900
gcagcagacg gaaagacaga gcggttgctg gcaggtcaga tttgttcttt ttgttttctg	3960
ccagcagtag gatgttttcc agggctttta tgatgtcttt ttcaaatttg taggtcagac	4020

ccaggcgctg cacatcgctg atcagctcca gcaggacag cggctgggtg tctacacggt	4080
tgatcatgca gcgaacttct tctccagt ttgctgcttt ctctccagc tttccactt	4140
tcaggctgtt ctccaggat tgcaggaatt cgaattcca caggtttggc tgatagtttg	4200
cggaacgacg ggaattatgc tcggtaatct gagtaaatg agaagaggtc gcacacatgg	4260
tttatctctc cttatttaat cgatacatta atatatacct ctttaatttt taataataaa	4320
gttaatcgat aattccggtc gaggccccc acagattgtc tgataaattg ttaaagagca	4380
gtgccgcttc gctttttctc agcggcgctg tttctgtgt gaaattgtta tccgctcaca	4440
attccacaca ttatacgagc cggatgatta attgtcaaca gctcatttca gaattctggc	4500
taatagcgaa gaggcccgca ccgacgccc ttcccaacag ttgcgcagcc tgaatggcga	4560
atggcgctg atgcggtatt ttctccttac gcactgtgc ggtatttcac accgcatatg	4620
gtgactctc agtacaatct gctctgatgc cgcatagtta agccagcccc gacacccgcc	4680
aacacccgct gacgagctta gtaaagccct cgctagattt taatgcggt gttgcgatta	4740
cttcgccaac tattgcgata acaagaaaaa gccagccttt catgatatat ctccaattt	4800
gtgtagggtt tattatgcac gcttaaaaat aataaaagca gacttgacct gatagtttgg	4860
ctgtgagcaa ttatgtgctt agtgcattca acgcttgagt taagccgcgc cgcgaagcgg	4920
cgtcggcttg aacgaattgt tagacattat ttccgacta ccttggtgat ctgcctttc	4980
acgtagtgga caaattcttc caactgatct gcgcgcgagg ccaagcgatc ttcttttgt	5040
ccaagataag cctgtctagc ttcaagtatg acgggctgat actgggcccgg caggcgctcc	5100
attgcccagt cggcagcgac atccttcggc gcgattttgc cggttactgc gctgtaccaa	5160
atgcgggaca acgtaagcac tacatttcgc tcatcgccag ccagtcggg cggcgagttc	5220
catagcgtta aggtttcatt tagcgctca aatagatcct gttcaggaac cggatcaaag	5280
agttctctcg ccgctggacc taccaaggca acgctatgtt ctcttgcttt tgtcagcaag	5340
atagccagat caatgtcgat cgtggctggc tcgaagatac ctgcaagaat gtcattgcgc	5400
tgccattctc caaattgcag ttgcgctta gctggataac gccacggaat gatgtcgtc	5460
tgcacaacaa tggtgacttc tacagcgagg agaattctgc tctctccagg ggaagccgaa	5520
gtttccaaaa ggtcgttgat caaagctgc cgcgttggtt catcaagcct tacggtcacc	5580
gtaaccagca aatcaatata actgtgtggc ttccaggccg catccactgc ggagccgtac	5640
aaatgtacgg ccagcaacgt cggttcgaga tggcgctcga tgacgccaac tacctctgat	5700
agttgagtcg atacttcggc gatcaccgct tcctcatga tgtttaactt tgttttaggg	5760
cgactgccct gctcgtaac atcgttgctg ctccataaca tcaaacatcg acccagggcg	5820
taacgcgctt gctgcttggg tgcccagggc atagactgta ccccaaaaa acagtcataa	5880

caagccatga aaaccgccac tgcgccgtta ccaccgtgc gttcggtaa gtttctggac	5940
cagttgcgtg agcgcatacg ctacttgcac tacagcttac gaaccgaaca ggcttatgtc	6000
cactgggttc gtgccttcat ccgtttccac ggtgtgcgtc acccggaac cttgggcagc	6060
agcgaagtcg aggcatctct gtcctggctg gcgaacgagc gcaagggttc ggtctccacg	6120
catcgtcagg cattggcggc cttgtgttc ttctacggca aggtgctgtg cacggatctg	6180
ccctggcttc aggagatcgg aagacctcgg ccgtcgggc gcttgccgtt ggtgctgacc	6240
ccggatgaag tggttcgcac cctcggtttt ctggaaggcg agcatcgtt gttcgcccag	6300
cttctgtatg gaacgggcat gcggatcagt gagggtttgc aactgcgggt caaggatctg	6360
gatttcgac acggcacgat catcgtgcgg gagggcaagg gctccaagga tcgggccttg	6420
atgttaccg agagcttggc acccagcctg cgcgagcagg ggaattaatt cccacgggtt	6480
ttgtgcccc caaacgggtt gttctggtgt tgcagtttg ttatcagaat cgcagatccg	6540
gcttcagccg gtttgccggc tgaaagcgtt atttcttcca gaattgcat gattttttcc	6600
ccacgggagg cgtcactggc tcccggttg tcggcagctt tgattcgata agcagcatcg	6660
cctgtttcag gctgtctatg tgtgactgtt gagctgtaac aagtgtctc aggtgttcaa	6720
tttcatgttc tagttgcttt gttttactgg ttccacctgt tctattaggt gttacatgct	6780
gttcatctgt tacattgtcg atctgttcat ggtgaacagc tttgaatgca ccaaaaactc	6840
gtaaaagctc tgatgtatct atctttttta caccgttttc atctgtgcat atggacagtt	6900
ttccctttga tatgtaacgg tgaacagttg ttctactttt gtttgtagt cttgatgctt	6960
cactgataga tacaagagcc ataagaacct cagatccttc cgtatttagc cagtatgttc	7020
tctagtgtgg ttctgtgttt ttgcgtgagc catgagaacg aaccattgag atcactacta	7080
ctttgcatgt cactcaaaaa ttttgccctc aaactggtga gctgaatttt tgcagttaaa	7140
gcacgtgtga gtgtttttct tagtccgtta ttaggtagg aatctgatgt aatggttgtt	7200
ggtattttgt caccattcat ttttatctgg ttgttctcaa gttcggttac gagatccatt	7260
tgtctatcta gttcaacttg gaaaatcaac gtatcagtcg ggcgccctcg cttatcaacc	7320
accaatttca tattgtctga agtggtttaaa tctttactta ttggtttcaa aaccattgg	7380
ttaagccttt taaactcatg gtagttatct tcaagcatta acatgaactt aaattcatca	7440
aggctaactc ctatatttgc cttgtgagtt ttctttgtg ttagttcttt taataaccac	7500
tcataaatcc tcatagagta ttgttttca aaagacttaa catgttccag attatatttt	7560
atgaattttt ttaactggaa aagataaggc aatctctct cactaaaaac taattcta	7620

ttttcgcttg agaacttggc atagtttgc cactggaaaa tctcaaagcc tttaaccaaa	7680
ggattcctga tttccacagt tctcgtcatc agctctctgg ttgcttttagc taatacacca	7740
taagcatttt ccctactgat gtccatcatc tgagcgtatt gggtataagt gaacgatacc	7800
gtccgttctt tctttgtagg gttttcaatc gtgggggttga gtagtgccac acagcataaa	7860
attagcttgg tttcatgctc cgtaaagtca tagcgactaa tcgctagttc atttgctttg	7920
aaaacaacta attcagacat acatctcaat tggctctaggt gattttaatc actataccaa	7980
ttgagatggg ctagtcaatg ataattacta gtccttttcc tttgagttgt gggtatctgt	8040
aaattctgct agacctttgc tggaaaactt gttaaattctg ctagaccctc tgtaaattcc	8100
gctagacctt tgtgtgtttt ttttgtttat attcaagtgg ttataattta tagaataaag	8160
aaagaataaa aaaagataaa aagaatagat ccagccctg tgtataactc actactttag	8220
tcagtctcgc agtattacaa aaggatgtcg caaacgtgtt ttgctcctct acaaaacaga	8280
ccttaaaacc ctaaaggctt aagtagcacc ctgcgaagct cgggcaaatc gctgaatatt	8340
ccttttgtct ccgaccatca ggcacctgag tcgctgtctt tttcgtgaca ttcagttcgc	8400
tcgctcagc gctctggcag tgaatggggg taaatggcac tacaggcgcc ttttatggat	8460
tcatgcaagg aaactacca taatacaaga aaagcccgtc acgggcttct cagggcgttt	8520
tatggcgggt ctgctatgtg gtgctatctg actttttgct gttcagcagt tctgcctc	8580
tgattttcca gtctgaccac ttccgattat ccctgacag gtcattcaga ctggctaata	8640
caccagtaa ggcagcggtt tcatcaacag gctta	8675
<210> 56	
<211> 8032	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 56	
tcgctgcgct cggtcgttcg gctgcggcga gcggtatcag ctcaactcaa ggcggttaata	60
cggttatcca cagaatcagg ggataacgca ggaaagaaca tgtgagcaaa aggccagcaa	120
aaggccagga accgtaaaaa ggccgcgttg ctggcgtttt tccataggct ccgccccct	180
gacgagcatc acaaaaaatcg acgtcaagt cagaggtagc gaaacccgac aggactataa	240
agataccagg cgtttcccc tggaagctcc ctctgtcgtc ctctgttcc gaccctgccg	300
cttaccggat acctgtccgc ttttctccct tcgggaagcg tggcgcttcc tcatagctca	360
cgctgtaggt atctcagttc ggtgtaggtc gttcgtcca agctgggctg tgtgcacgaa	420

ccccccgttc agccccgaccg ctgcgcctta tccggttaact atcgtcttga gtccaacccg	480
gtaagacacg acttatcgcc actggcagca gccactggta acaggattag cagagcgagg	540
tatgtaggcg gtgctacaga gttcttgaag tggtaggccta actacggcta cactagaaga	600
acagtatttg gtatctgcgc tctgctgaag ccagttacct tcggaaaaag agttggtagc	660
tcttgatccg gcaaacaaac caccgctggt agcggtaggt tttttgttg caagcagcag	720
attacgcgca gaaaaaagg atctcaagaa gatcctttga tcttttctac ggggtctgac	780
gctcagtggg acgaaaactc acgttaaggg attttgggtca tgagattatc aaaaaggatc	840
ttcacctaga tctttttaa ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag	900
taaacttggg ctgacagtta ccaatgctta atcagtgagg cacctatctc agcgatctgt	960
ctatttcgtt catccatagt tgcctgactc cccgtcgtgt agataactac gatacgggag	1020
ggcttaccat ctggccccg tgcgtcaatg ataccgcgag acccacgtc accggtcca	1080
gatttatcag caataaacca gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tctgcaact	1140
ttatccgcct ccattcagtc tattaattgt tgccgggaag ctagagtaag tagttcgcca	1200
gttaatatgt tgcgcaacgt tgttgccatt gctacaggca tcgtgggtgc acgctcgtcg	1260
tttggtagtg ctacattcag ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc	1320
atgttgtgca aaaaagcggg tagctccttc ggtcctccga tcgttgtcag aagtaagttg	1380
gccgcagtgt tatcactcat ggttatggca gcaactgcata attctcttac tgtcatgcca	1440
tccgtaagat gcttttctgt gactggtagg tactcaacca agtcattctg agaatagtgt	1500
atgcggcgac cgagttgtc ttgccccgcg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc	1560
agaactttaa aagtgtcat cattggaaaa cgttcttcgg ggcgaaaact ctcaaggatc	1620
ttaccgtgt tgagatccag ttcatgtaa cccactcgtg cacccaactg atcttcagca	1680
tcttttactt tcaccagcgt ttctgggtga gcaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa	1740
aagggaataa gggcgacacg gaaatgttga atactcatc tcttctttt tcaatattat	1800
tgaagcattt atcagggtta ttgtctcatg agcggataca tatttgaatg tatttagaaa	1860
aataaacaaa taggggttcc gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cgtctaagaa	1920
accattatta tcatgacatt aacctataaa aataggcgta tcacgaggcc ctttcgtctc	1980
gcgcgtttcg gtgatgacgg tgaaaacctc tgacacatgc agtcccggg gacggtcaca	2040
gcttgtctgt aagcggatgc cgggagcaga caagcccgtc agggcgcgtc agcgggtgtt	2100
ggcgggtgtc ggggctggct taactatgcg gcatcagagc agattgtact gagagtgcac	2160

catagatctg gagctgtaat ataaaaacct tcttcaacta acggggcagg ttagtgacat	2220
tagaaaaaccg actgtaaaaa gtacagtcgg cattatctca tattataaaa gccagtcatt	2280
aggcctatct gacaattcct gaatagagtt cataaacaat cctgcatgat aaccatcaca	2340
aacagaatga tgiacctgta aagatagcgg taaatatatt gaattacctt tattaatgaa	2400
ttttcctgct gtaataatgg gtagaaggta attactatta ttattgatat ttaagttaaa	2460
cccagtaaat gaagtcctatg gaataataga aagagaaaaa gcattttcag gtatagggtg	2520
tttgggaaac aatttcccg aaccattata ttctctaca tcagaaagggt ataaatcata	2580
aaactctttg aagtcattct ttacaggagt ccaaatacca gagaatgttt tagatacacc	2640
atcaaaaatt gtataaagtg gctctaactt atcccaataa cctaactctc cgtcgtatt	2700
gtaaccagtt ctaaaagctg tatttgagtt taccacctt gtcactaaga aaataaatgc	2760
agggtaaaat ttatatcctt ctgtttttat gtttcggtat aaaacactaa tatcaatttc	2820
tgtggttata ctaaaagtcg tttgttgggt caaataatga ttaaatatct cttttctctt	2880
ccaattgtct aaatcaattt tattaaagtt catttgatag gcctcctaaa tttttatcta	2940
aagtgaattt aggaggctta ctgtctgct ttcttcatta gaatcaatcc ttttttaaaa	3000
gtcaatatta ctgtaacata aatatatatt ttaaaaaat cccactttat ccaattttcg	3060
tttgttgaac taatgggtgc tttagttgaa gaataaaaga cctatgcggt gtgaaatacc	3120
gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgccat tcgccattca ggctgcgcaa	3180
ctgttgggaa gggcgatcgg tgcgggcctc ttgctatta cgccagctgg cgaaaggggg	3240
atgtgctgca aggcgattaa gttgggtaac gccagggttt tcccagtcac gacgttgtaa	3300
aacgacggcc agtgccaagc ttgcatgcct gcactccatt ttcttctgct atcaaaataa	3360
cagactcgtg attttccaaa cgagctttca aaaaagcctc tgccccttgc aaatcggatg	3420
cctgtctata aaattccga tatttggttaa acagcggcgc aatggcggcc gcactgatg	3480
tctttgcttg gcgaatgttc atcttatttc ttctccctc tcaataattt tttcattcta	3540
ttccctttct gtaaagtta ttttcagaa tacttttctc atcatgcttt gaaaaaatat	3600
cacgataata tcattgttc tcacggaagc acagcgaggt catttgaacg aattttttcg	3660
acaggaattt gccgggactc aggagcattt aacctaaaa agcatgacat ttcagcataa	3720
tgaacattta ctcatgtcta ttttcgttct ttctgtatg aaaatagtta tttcagctct	3780
ctacggaaat agcgagagat gatatactta aatagagata aaatcatctc aaaaaaatgg	3840
gtctactaaa atattattcc atctattaca ataaattcac agaatagtct ttttaagtaag	3900
tctactctga atttttttaa aaggagaggg taaagagtga aaacagtagt tattattgat	3960
gcattacgaa caccaattgg aaaatataaa ggcagcttaa gtcaagtaag tgccgtagac	4020

ttaggaacac atgttacaac acaactttta aaaagacatt ccactatttc tgaagaaatt	4080
gatcaagtaa tctttgaaa tgttttacaa gctggaaatg gccaaatcc cgcacgacaa	4140
atagcaataa acagcggttt gtctcatgaa attcccga tgcaggttaa tgaggctctgc	4200
ggatcaggaa tgaaggccgt tattttggcg aaacaattga ttcaattagg agaagcggaa	4260
gttttaattg ctggcgggat tgagaatatg tcccaagcac cttaaattaca acgttttaat	4320
tacgaaacag aaagctacga tgcgcctttt tctagtatga tgtatgatgg attaacggat	4380
gccttttagtg gtcaggcaat gggcctaact gctgaaaatg tggccgaaaa gtatcatgta	4440
actagagaag agcaagatca attttctgta cattcacaat taaaagcagc tcaagcacia	4500
gcagaaggga tattcgctga cgaaatagcc ccattagaag tatcaggaaac gcttgtggag	4560
aaagatgaag ggattcgccc taattcgagc gttgagaagc taggaacgct taaaacagtt	4620
tttaaagaag acggtactgt aacagcaggg aatgcatcaa ccattaatga tggggcttct	4680
gctttgatta ttgcttcaca agaatatgcc gaagcacacg gtcttcccta tttagctatt	4740
attcgagaca gtgtggaagt cggtatgat ccagcctata tgggaatttc gccgattaaa	4800
gccattcaaa aactgttagc gcgcaatcaa ctactacgg aagaaattga tctgtatgaa	4860
atcaacgaag catttgcagc aacttcaatc gtggtccaaa gagaactggc tttaccagag	4920
gaaaaggtea acatttatgg tggcgggtatt tcattaggtc atgcgattgg tgccacaggt	4980
gtctgtttat taacgagttt aagttatcaa ttaaatcaaa aagaaaagaa atatggagtg	5040
gcttctttat gtatcggcgg tggcttagga ctgctatgc tactagagag acctcagcaa	5100
aaaaaaaaa gccgatttta tcaaatgagt cctgaggaac gcctggcttc tcttcttaat	5160
gaaggccaga ttctgtctga tacaataaaa gaatttgaat atacggcttt atcttcgcag	5220
attgccaatc atatgattga aaatcaaatc agtgaaacag aagtccgat gggcgttggc	5280
ttacatttaa cagtggacga aactgattat ttggtaccaa tggcgacaga agagccctca	5340
gttattgcgg cttttagtaa tggtgcaaaa atagcacaag gattttaaac agtgaatcaa	5400
caacgcttaa tgcgtggaca aatcgttttt tacgatgttg cagatcccga gtcattgatt	5460
gataaactac aagtaagaga agcgggaagt tttcaacaag cagagttaag ttatccatct	5520
atcgttaaac ggggcggcgg cttaagagat ttgcaatatc gtacttttga tgaatcattt	5580
gtatctgtcg actttttagt agatgttaag gatgcaatgg gggcaaatat cgttaacgct	5640
atgttgaag gtgtggccga gttgttccgt gaatggtttg cggagcaaaa gattttattc	5700
agtattttaa gtaattatgc cacggagtgc gttgttacga tgaaaacggc tattccagtt	5760
tcacgtttaa gtaaggggag caatggccgg gaaattgctg aaaaaattgt tttagcttca	5820
cgctatgctt cattagatcc ttatcgggca gtcacgcata acaaaggaat catgaatggc	5880

attgaagctg tagtttttagc tacaggaaat gatacacgcg ctgttagcgc ttctttgcat	5940
gcttttgcgg tgaaggaagg tcgctaccaa ggcttgacta gttggacgct ggatggcgaa	6000
caactaattg gtgaaatttc agttccgctt gcttttagcca cggttggcgg tgccacaaaa	6060
gtcttaccta aatctcaagc agctgctgat ttgttagcag tgacggatgc aaaagaacta	6120
agtcgagtag tagcggctgt tggtttggca caaaatttag cggcgttacg ggccttagtc	6180
tctgaaggaa ttcaaaaagg acacatggct ctacaagcac gttcttttagc gatgacggtc	6240
ggagctactg gtaaagaagt tgaggcagtc gctcaacaat taaaacgtca aaaaacgatg	6300
aaccaagacc gagccatggc tattttaaat gatttaagaa aacaataaaa ggagagggtg	6360
acaattggga ttgataaaat tagttttttt gtgccccctt attatatga tatgacggca	6420
ctggctgaag ccagaaatgt agaccctgga aaatttcata ttggtattgg gcaagaccaa	6480
atggcggtag acccaatcag ccaagatatt gtgacatttg cagccaatgc cgcagaagcg	6540
atcttgacca aagaagataa agaggccatt gatatggtga ttgtcgggac tgagtccagt	6600
atcgatgagt caaaagcggc cgcagttgtc ttacatcgtt taatggggat tcaacctttc	6660
gtcgcgtctt tcgaaatcaa ggaagcttgt tacggagcaa cagcaggctt acagttagct	6720
aagaatcacg tagccttaca tccagataaa aaagtcttgg tcgtagcggc agatatgca	6780
aaatatggct taaattctgg cggtagcct acacaaggag ctggggcggg tgcaatgtta	6840
gttgctagtg aaccgcgcat tttagcttta aaagaggata atgtgatgct gacgcaagat	6900
atctatgact tttagcgtcc aacaggccac ccgtatccta tggctgatgg tcctttgtca	6960
aacgaaacct acatccaatc ttttgcccaa gtctgggatg aacataaaaa acgaaccggt	7020
cttgattttg cagattatga tgcttttagcg ttccatattc cttacacaaa aatgggcaaa	7080
aaagccttat tagcaaaaaa ctccgaccaa actgaagcag aacaggaacg aatttttagcc	7140
cgttatgaag aaagtatcgt ctatagtcgt cgcgtaggaa acttgtatac gggttcactt	7200
tatctgggac tcatttcctt tttagaaaat gcaacgactt taaccgcagg caatcaaatt	7260
ggttttattca gttatggttc tgggtctgtc gctgaatttt tctactggtga attagtagct	7320
ggttatcaaa atcatttaca aaaagaaact catttagcac tgctggataa tcggacagaa	7380
ctttctatcg ctgaatafga agccatgttt gcagaaactt tagacacaga cattgatcaa	7440
acgttagaag atgaattaaa atatagtatt tctgtatta ataataccgt tcgttcttat	7500
cgaaactaaa aaaaaccggc cttggccccg ccggtttttt attatttttc ttcctccgca	7560
tgttcaatcc gctccataat cgacggatgg ctccctctga aaattttaac gagaaacggc	7620

gggttgaccc ggctcagtc ccgtaacggcc aagtcctgaa acgtctcaat cgccgcttcc 7680
 cggtttccgg tcagctcaat gccgtaacgg tcggcgccgt tttcctgata cgggagacg 7740
 gcattcgtaa tcgggatccc cgggtaccga gctcgaattc gtaatcatgt catagctgtt 7800
 tcctgtgtga aattgttacc cgctcacaat tccacacaac atacgagccg gaagcataaa 7860
 gtgtaaagcc tggggtgcct aatgagtgag ctaactcaca ttaattgcgt tgcgtcact 7920
 gcccgcttcc cagtcgggaa acctgtcgtg ccagctgcat taatgaatcg gccaacgcgc 7980
 ggggagaggc gggttgcgta ttggcgctc ttcgcttcc tcgtcactg ac 8032

<210> 57

<211> 6592

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 57

gaattgctcc attttcttct gctatcaaaa taacagactc gtgattttcc aaacgagctt 60
 tcaaaaaagc ctctgccct tgcaaatcgg atgcctgtct ataaaattcc cgatattggt 120
 taaacagcgg cgcaatggcg gccgcactg atgtctttgc ttggcgaatg ttcactttat 180
 ttcttctcc ctctcaataa ttttttcatt ctatcccttt tctgtaaagt ttatttttca 240
 gaatactttt atcatcatgc ttgaaaaaa taccagata atatccattg ttctcacgga 300

agcacacgca ggtcatttga acgaattttt tcgacaggaa ttgcccggga ctcaggagca 360
 tttaacctaa aaaagcatga catttcagca taatgaacat ttactcatgt ctattttcgt 420
 tcttttctgt atgaaaatag ttatttcgag tctctacgga aatagcgaga gatgatatac 480
 ctaaataagag ataaaatcat ctcaaaaaaa tgggtctact aaaatattat tccatctatt 540
 acaataaatt cacagaatag tcttttaagt aagtctactc tgaatttttt taaaaggaga 600
 gggtaaagag tgtgtgcgac ctcttctcaa ttactcaga ttaccgagca taattcccgt 660
 cgttccgcaa actatcagcc aaacctgtgg aatttcgaat tctgcaatc cctggagaac 720

gacctgaaag tggaaaagct ggaggagaaa gcgaccaaac tggaggaaga agttcgtgc 780
 atgatcaacc gtgtagacac ccagccgtg tcctgtctgg agctgatcga cgatgtgcag 840
 cgctgggtc tgacctaaa atttgaaaaa gacatcatta aagccctgga aaacatcgta 900
 ctgctggacg aaaacaaaaa gaacaaatct gacctgcacg caaccgtctt gtctttccgt 960
 ctgctgcgtc agcacggttt cgaggtttct caggatgttt ttgagcgttt caaggataaa 1020
 gaagggtggtt tcagcgggtga actgaaaggt gacgtccaag gcctgctgag cctgtatgaa 1080

gcgtcttacc tgggtttcga gggtgagaac ctgctggagg aggcgcgtac cttttccatc	1140
accacactga agaacaacct gaaagaaggc attaatacca aggttgcaga acaagtgagc	1200
cacgccctgg aactgccata tcaccagcgt ctgcaccgtc tggaggcacg ttggttcctg	1260
gataaatacg aaccgaaaga accgcatcac cagctgctgc tggagctggc gaagctggat	1320
tttaacatgg tacagacct gcaccagaaa gagctgcaag atctgtcccg ctggtggacc	1380
gagatgggcc tggctagcaa actggatfff gtacgcgacc gcctgatgga agtttatffc	1440
tgggcactgg gtatggcgcc agaccgcag ttgggtgaat gtcgcaaagc tgttactaaa	1500
atgtttggtc tggtagcat catcgatgac gtgtatgacg tttatggcac tctggacgaa	1560
ctgcaactgt tcaccgatgc tgtagagcgc tgggacgtta acgctattaa caccctgccg	1620
gactatatga aactgtgttt cctggcactg tacaacaccg ttaacgacac gtcctattct	1680
attctgaaag agaaaggta taacaacctg tcttatctga cgaaaagctg gcgtgaactg	1740
tgcaaagcct ttctgcaaga ggcgaaatgg tccaacaaca aaattatccc ggctttctcc	1800
aagtacctgg aaaacgccag cgtttctctc tccggtgtag cgctgctggc gccgtcttac	1860
ttttccgtat gccagcagca ggaagacatc tccgaccacg cgctgcgttc cctgaccgac	1920
ttccatggtc tggtagcttc tagctgcgtt atcttccgcc tgtgcaacga tctggccacc	1980
tctgcggcgg agctggaacg tggcgagact accaattcta tcattagcta catgcacgaa	2040
aacgatggta ccagcgagga acaggcccg cgaagaactgc gtaaaactgat cgacgccgaa	2100
tggaaaaaga tgaatcgtga acgcgttagc gactccaccc tgctgcctaa agcgttcacg	2160
gaaatcgag ttaacatggc acgtgtttcc cactgcacct accagtatgg cgatggtctg	2220
ggtcgccag actacgcgac tgaaaaccgc atcaaactgc tgctgattga ccctttcccg	2280
attaaccagc tgatgtatgt ctaaaaaaaa cggccttgg ccccgccggt tttttattat	2340
ttttcttctt ccgcatgttc aatccgctcc ataatcgacg gatggctccc tctgaaaatt	2400
ttaacgagaa acggcgggtt gaccggctc agtcccgtaa cggccaagtc ctgaaacgtc	2460
tcaatcgccg ctccccggtt tccggtcagc tcaatgccgt aacggtcggc ggcgttttcc	2520
tgataccggg agacggcatt cgtaatcgga tcctctagag tcgacctgca ggcatgcaag	2580
ctttgcctcg cgcgtttcgg tgatgacggt gaaaacctct gacacatgca gctcccgag	2640
acggtcacag cttgtctgta agcggatgcc gggagcagac aagcccgta gggcgcgta	2700
gcgggtgttg gcgggtgtcg gggcgagacc atgaccagc cacgtagcga tagcggagt	2760
tatactggct taactatgag gcacagagc agattgtact gagagtgcac catatgcggt	2820

gtgaaatacc gcacagatgc gtaaggagaa aataccgcat caggcgctct tccgcttcct	2880
cgctcactga ctgctgcgc tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa	2940
aggcggtaat acggttatcc acagaatcag gggataacgc aggaagaac atgtgagcaa	3000
aaggccagca aaaggccagg aaccgtaaaa aggccgcgtt gctggcgttt tcccataggc	3060
tccgcccccc tgacgagcat cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccga	3120
caggactata aagataccag gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctcctgttc	3180
cgaccctgcc gcttaccgga tacctgtccg cttttctccc ttcgggaagc gtggcgcttt	3240
ctcaatgctc acgtgtagg tatctcagtt cgggttaggt cgttcgtcc aagctgggct	3300
gtgtgcacga accccccgtt cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg	3360
agtccaaccc ggtaagacac gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta	3420
gcagagcgag gtatgtaggc ggtgctacag agttcttgaa gtggtggcct aactacggct	3480
acactagaag gacagtatit ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcgaaaaa	3540
gagttggtag ctcttgatcc ggcaaaaaa ccaccgtgg tagcggtggt tttttgttt	3600
gcaagcagca gattacgcgc agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta	3660
cggggcttga cgctcagttg aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat	3720
caaaaaggat cgaagtcggt tcagaaaaag aaggatatgg atctggagct gtaatatata	3780
aaccttcttc aactaacggg gcaggttagt gacattagaa aaccgactgt aaaaagtaca	3840
gtcggcatta tctcatatta taaaagccag tcattaggcc tatctgacaa ttcctgaata	3900
gagttcataa acaatcctgc atgataacca tcacaaacag aatgatgtac ctgtaaagat	3960
agcggtaaat atattgaatt acctttatta atgaattttc ctgctgtaat aatgggtaga	4020
aggtaattac tattattatt gatatttaag ttaaaccag taaatgaagt ccatggaata	4080
atagaaagag aaaaagcatt ttcaggataa ggtgttttgg gaaacaattt aaaagaacca	4140
ttatatctct ctacatcaga aaggataaaa tcataaaact ctttgaagtc attctttaca	4200
ggagtccaaa taccagagaa tgtttttagat acaccatcaa aaattgtata aagtggctct	4260
aacttatecc aataacctaa ctctccgtcg ctattgtaac cagttctaaa agctgtatit	4320
gagtttatca ccttgtcac taagaaaata aatgcagggt aaaatttata tccttcttgt	4380
tttatgtttc ggtataaaac actaatatca atttctgtgg ttatactaaa agtcgtttgt	4440
tggttcaaat aatgattaaa tatctctttt ctcttccaat tgtctaaac aattttatta	4500
aagttcattt gatatgcctc ctaaattttt atctaaagtg aatttaggag gcttacttgt	4560
ctgctttctt cattagaatc aatctttttt taaagtcaat attactgtaa cataaatata	4620
tattttaaaa atatccact ttatccaatt ttcgttttgt gaactaatgg gtgctttagt	4680

tgaagaataa agaccacatt aaaaaatgtg gtcttttgtg tttttttaaa ggatttgagc	4740
gtacgcgaaa aatccttttc tttctttctt atcttgataa taagggtaac tattgccggt	4800
tgtccattca tggtgaact ctgcttcttc tgttgacatg acacacatca tctcaatc	4860
cgaatagggc ccatcagtc gacgaccaag agagccataa acaccaatag ccttaacatc	4920
atccccatat ttatccaata ttcgttctct aatttcatga acaatcttca ttctttcttc	4980
tctagtcatt attattggtc cttcactat tctcattccc tttcagata attttagatt	5040
tgcttttcta aataagaata tttggagagc accgttctta ttcagctatt aataactcgt	5100
cttctaagc atccttcaat ccttttaata acaattatag catctaact tcaacaaact	5160
ggccccgttg ttgaactact ctttaataaa ataatttttc cgttcccaat tccacattgc	5220
aataatagaa aatccatctt catcggttt ttcgtcatca tctglatgaa tcaaatcgcc	5280
ttcttctgtg tcatcaaggt ttaatttttt atgtatttct ttttaacaaac caccatagga	5340
gattaacctt ttacgggtga aaccttcttc caaatcagac aaacgtttca aattcttttc	5400
ttcatcatcg gtcataaaat ccgtatcctt tacaggatat tttgcagttt cgtcaattgc	5460
cgattgtata tccgatttat atttattttt cggtcgaatc atttgaactt ttacatttgg	5520
atcatagtct aatttcattg cttttttcca aaattgaatc cattgttttt gattcacgta	5580
gttttctgtt attctaaaat aagttaggtc cacacatacc attacatgca tgtgctgatt	5640
ataagaatta tctttattat ttattgtcac atccgttgca cgcataaaac caacaagatt	5700
tttattaatt tttttatatt gcatcattcg gcgaaatcct tgagccatat ctgtcaaact	5760
cttatttaat tcttcgcat cataaacatt tttactgtt aatgtgagaa acaaccaacg	5820
aactgttggc ttttgtttta taacttcagc aacaaccttt tgtgactgaa tgccatgttt	5880
cattgtcttc ctccagtgc acattggaca aagcctggat ttgcaaaacc aactcgata	5940
ccactttctt tcgcctgttt cacgattttg tttatactct aatatttcag cacaatcttt	6000
tactctttca gcctttttta attcaagaat atgcagaagt tcaaagtaat caacattagc	6060
gattttcttt tctctcatg gtctcacttt tccacttttt gtcttgcca ctaaaacct	6120
tgatttttca tctgaataaa tgctactatt aggacacata atattaaaag aaaccccat	6180
ctatttagtt atttgtttag tcaattataa ctttaacaga tgggggtttt ctgtgcaacc	6240
aattttaagg gttttcaata ctttaaaaca catacatacc aacacttcaa cgcacctttc	6300
agcaactaaa ataaaaatga cgttatttct atatgtatca agataagaaa gaacaagttc	6360
aaaaccatca aaaaaagaca ctttttcagg tgcttttttt attttataaa ctcattccct	6420
gatctcgact tcgttctttt tttaaccttc ggttatgagt tagttcaaat tcgttctttt	6480
taggttctaa atcgtgtttt tcttggaatt gtgctgtttt atcctttacc ttgtctacaa	6540

accctttaa aacgttttta aaggctttta agccgtctgt acgttcctta ag

6592

<210> 58

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 58

gacatcaatt gctccatttt cttctgctat c

31

<210> 59

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 59

attgagaaga ggtagcacac actctttacc ctctccttt

39

<210> 60

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 60

taaaaggaga gggtaaagag tgtgtgcgac ctcttctcaa t

41

<210> 61

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 61

ccaaggccgg ttttttttag acatacatca gctgggtaat c

41

<210> 62

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	62	
gattaaccag ctgatgtatg tctaaaaaaa accggccttg g		41
<210>	63	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	63	
gacatgacgg atccgattac gaatgccgtc tc		32
<210>	64	
<211>	31	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	64	
gacatcaatt gctccatttt cttctgctat c		31
<210>	65	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	65	
gacatgaatt cctccatttt cttctgc		27
<210>	66	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	66	
aggagagggt aaagagtgag		20
<210>	67	
<211>	22	

<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	67	
	cttttccatc acccacctga ag	22
<210>	68	
<211>	28	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	68	
	ggcgaaatgg tccaacaaca aaattatc	28
<210>	69	
<211>	51	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	69	
	ggtgaattca gtctactggg gattcccaaa tctatatata ctgcaggtga c	51
<210>	70	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	70	
	gcaggtggga aactatgcac tcc	23
<210>	71	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	71	
	cctgaattct gttggattgg aggattggat agtggg	36

<210>	72	
<211>	30	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	72	
	ggtgtcgacg tacggtcgag cttattgacc	30
<210>	73	
<211>	32	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	73	
	ggtgggcccg cattttgcc a cctacaagcc ag	32
<210>	74	
<211>	40	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	74	
	ggtgaattct agaggatccc aacgctgttg cctacaacgg	40
<210>	75	
<211>	36	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	75	
	ggtgcggccg ctgtctggac ctggtgagtt tccccg	36
<210>	76	
<211>	37	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	

<400> 76
 ggtgggccca ttaaatacagt tatcgtttat ttgatag 37
 <210> 77
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 77
 ggtgaccagc aagtcacatgg gtggtttgat catgg 35
 <210> 78
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 78
 ggtgcggccg cctttggagt acgactccaa ctatg 35
 <210> 79
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 79
 gcggccgcag actaaattta ttacagtctc c 31
 <210> 80
 <211> 7
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 80
 aggaggt 7
 <210> 81
 <211> 7
 <212>
 > DNA

<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	81	
aaggagg		7
<210>	82	
<211>	27	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	82	
gacatctgca gctccatttt cttctgc		27
<210>	83	
<211>	42	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	83	
caataataac tactgttttc actctttacc ctctcctttt aa		42
<210>	84	
<211>	42	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	84	
ttaaaaggag agggtaaaga gtgaaaacag tagttattat tg		42
<210>	85	
<211>	45	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	85	
cggggccaag gccggttttt tttagtttcg ataagaacga acggt		45
<210>	86	
<211>	45	

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct

<400> 86
 accgttcgtt cttatcgaaa ctataaaaaa ccggccttgg ccccg 45

<210> 87
 <211> 6957
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Construct
 <400> 87

tgcgcaatgg gacgcgcct gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg tggttacgcg 60
 cagcgtgacc gctacacttg ccagcgcct agcgcgcct ctttcgctt tcttccttc 120
 ctttcctgcc acgttcgcg gctttcccg tcaagctcta aatcgggggc tcccttagg 180
 gtccgattt agtgctttac ggcacctga ccccaaaaaa cttgattagg gtgatggttc 240

acgtagtggg ccacgcctt gatagacggt ttttcgcct ttgacgttgg agtccacgtt 300
 ctttaatagt ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aacctatct cggctctattc 360
 ttttgattta taagggattt tgccgatttc ggctatttgg ttaaaaaatg agctgattta 420
 acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgttt acaatttcag gtggcacttt 480
 tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttatttttc taaatacatt caaatatgta 540
 tccgctcatg aattaattct tagaaaaact catcgagcat caaatgaaac tgcaatttat 600
 tcatacagg attatcaata ccatattttt gaaaaagccg tttctgtaat gaaggagaaa 660

actcaccgag gcagttccat aggatggcaa gatcctggta tcggtctgcg attccgactc 720
 gtccaacatc aatacaacct attaatcttc cctcgtcaaa aataaggta tcaagtgaga 780
 aatcaccatg agtgacgact gaatccggtg agaatggcaa aagtttatgc atttctttcc 840
 agacttggtc aacaggccag ccattacgct cgtcatcaaa atcactcgca tcaaccaaac 900
 cgttattcat tcgtgattgc gcctgagcga gacgaaatac gcgatcgtg ttaaaaggac 960
 aattacaaac aggaatcgaa tgcaaccggc gcaggaacac tgccagcgca tcaacaatat 1020
 tttcacctga atcaggatat tcttctaata cctggaatgc tgttttcccg gggatcgag 1080

tggtgagtaa ccatgcatca tcaggagtac ggataaaatg cttgatggtc ggaagaggca 1140
 taaattccgt cagccagttt agtctgacca tctcatctgt aacatcattg gcaacgctac 1200

ctttgccatg tttcagaaac aactctggcg catcgggctt cccatacaat cgatagattg	1260
tcgcacctga ttgcccagaca ttatcgcgag cccatttata cccatataaa tcagcatcca	1320
tgttggaatt taatcgcggc ctagagcaag acgtttcccg ttgaatatgg ctcataaac	1380
cccttgattt acigtattatg taagcagaca gttttattgt tcatgaccaa aatcccttaa	1440
cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga	1500
gatacctttt ttctgcgcgt aatctgctgc ttgcaaaca aaaaaccacc gctaccagcg	1560
gtggtttgtt tgccgatca agagctacca actctttttc cgaaggtaac tggcttcagc	1620
agagcgagaca taccaaatac gtctcttcta gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag	1680
aactctgtag caccgcctac atacctcgt ctgctaatac tgttaccagt ggctgctgcc	1740
agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac gatagttacc ggataaggcg	1800
cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca gcttggagcg aacgacctac	1860
accgaactga gataacctaca gcgtgagcta tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga	1920
aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag gagagcgac gagggagctt	1980
ccagggggaa acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt ttgccacct ctgacttgag	2040
cgctgatttt tigtatgctc gtcagggggg cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg	2100
gcctttttac ggttcttggc cttttgctgg ctttttctc acatgttctt tcttgcgtta	2160
tccccgtatt ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac cgctcggcgc	2220
agccgaacga ccgagcgag cgagtcagt agcgaggaag cggaagagcg cctgatgcgg	2280
tattttctcc ttacgcctc gtgcgggtatt tcacaccgca tatatggtgc actctcagta	2340
caatctgctc tgatgccga tagttaagcc agtatacact ccgctatcgc tacgtgactg	2400
ggtcatggct gcgccccgac acccgccaac acccgctgac gcgcctgac gggcttgtct	2460
gtcccgga tccgcttaca gacaagctgt gaccgtctcc gggagctgca tgtgtcagag	2520
gttttaccg tcatcaccga aacgcgcgag gcagctgcgg taaagctcat cagcgtggtc	2580
gtgaagcgat tcacagatgt ctgcctgttc atccgcgtcc agctcgttga gtttctccag	2640
aagcgtaat gtctggcttc tgataaagcg ggccatgtta agggcggttt tttctgttt	2700
ggtcactgat gcctccgtgt aagggggatt tctgttcatg gggglaatga taccgatgaa	2760
acgagagagg atgtcacga tacgggttac tgatgatgaa catgcccgt tactggaacg	2820
ttgtgagggt aaacaactgg cggatggat gcggcgggac cagagaaaaa tcactcaggg	2880
tcaatgccag cgcttcgtta atacagatgt aggtgttcca cagggtagcc agcagcatcc	2940
tgcatgcag atccggaaca taatggtgca gggcgtgac ttccgcgttt ccagacttta	3000
cgaaacacgg aaaccgaaga ccattcatgt tgttgctcag gtcgcagacg ttttcagca	3060

gcagtcgctt cacgttcgct cgcgtatcgg tgattcattc tgctaaccag taaggcaacc	3120
ccgccagcct agccgggtcc tcaacgacag gacgacgac atgcgcaccc gtggggccgc	3180
catgccggcg ataatggcct gcttctcgcc gaaacgtttg gtggcgggac cagtgcagaa	3240
ggcttgagcg agggcggtga agattccgaa taccgcaagc gacaggccga tcatcgtcgc	3300
gctccagcga aagcggctct cgccgaaaat gaccagagc gctgccggca cctgtcctac	3360
gagttgcatg ataaagaaga cagtcataag tgcggcgacg atagtcatgc cccgcgcca	3420
ccggaaggag ctgactgggt tgaaggctct caaggcgatc ggtcgagatc ccggtgccta	3480
atgagtgagc taacttacat taattgcgtt gcgctcactg cccgctttcc agtcgggaaa	3540
cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg gggagaggcg gtttgcgtat	3600
tgggcgccag ggtggttttt cttttacca gtgagacggg caacagctga ttgcccttca	3660
ccgcttgccc ctgagagagt tgcagcaagc ggtccacgct ggtttgcccc agcaggcgaa	3720
aatcctgttt gatgggtggt aacggcggga tataacatga gctgtcttcg gtatcgtcgt	3780
atcccactac cgagatatcc gcaccaacgc gcagcccgga ctcggtaatg gcgcgcattg	3840
cgcccagcgc catctgatcg ttggcaacca gcatcgagc gggaaacgat ccttcattca	3900
gcatttgcac ggtttgtga aaaccggaca tggcactcca gtcgccttcc cgttccgcta	3960
tcggctgaat ttgattgcga gtgagatatt tatgccagcc agccagacgc agacgcgccg	4020
agacagaact taatgggccc gctaacagcg cgatttgctg gtgaccaat gcgaccagat	4080
gctccagccc cagtcgcgta ccgtcttcat gggagaaaat aatactgttg atgggtgtct	4140
ggtcagagac atcaagaaat aacgccggaa cattagtga ggcagcttcc acagcaatgg	4200
catcctggtc atccagcggga tagttaatga tcagcccact gacgcgttgc gcgagaagat	4260
tgtgcaccgc cgctttacag gcttcgacgc cgcttcgttc taccatcgac accaccacgc	4320
tggcaccagc ttgatcggcg cgagatttaa tcgccgcgac aatttgcgac ggcgcgtgca	4380
gggccagact ggaggtggca acgccaatca gcaacactg tttgcccgc agttgttgtg	4440
ccacgcggtt gggaatgtaa ttcagctccg ccacgcgcgc ttccactttt tcccgcgttt	4500
tcgcagaaac gtggctggcc tggttacca cgcgggaaac ggtctgataa gagacaccgg	4560
catactctgc gacatcgat aacgttactg gtttcacatt caccacctg aattgactct	4620
cttcggggcg ctatcatgcc ataccgcgaa aggttttgcg ccattcgatg gtgtccggga	4680
tctcgacgct ctcccttatg cgactcctgc attaggaagc agcccagtag taggttgagg	4740
ccgttgagca ccgccccgc aaggaaatgt gcatgcaagg agatggcgcc caacagtcgc	4800

ccggccacgg ggcttgccac cataccacg ccgaaacaag cgctcatgag cccgaagtgg	4860
cgagcccgat ctccccatc ggtgatgtcg gcgatatagg cgccagcaac cgcacctgtg	4920
gcgccggtga tgccggccac gatgcgtccg gcgtagagga tcgagatctc gatcccgga	4980
aattaatacg actcactata ggggaattgt gagcggataa caattcccct ctagaataa	5040
ttttgtttaa ctttaagaag gagatataca tatgcgttgt agcgtgtcca ccgaaaatgt	5100
gtctttcacc gaaactgaaa ccgaagctcg tcgtttctgcg aactacgaac ctaacagctg	5160
ggactatgat tacctgctgt cctccgacac ggacgagtcc atcgaagtat acaaagacaa	5220
agcgaaaaag ctggaagccg aagtctgtcg cgagattaat aacgaaaaag cagaatttct	5280
gacctgtctg gaactgattg acaacgtcca gcgcctgggc ctgggttacc gtttcgagtc	5340
tgatatccgt ggtgcgtcgg atcgtttcgt ttctctcggc ggcttcgatg cggtaaccaa	5400
gacttcctg cacggtacgg cactgtcttt ccgtctgtcg cgtcaacacg gttttgaggt	5460
ttctcaggaa gcgttcagcg gcttcaaaga ccaaacggc aacttcctgg agaacctgaa	5520
ggaagatatac aaagctatcc tgagcctgta cgaggccagc ttcttggtc tggaaggcga	5580
aaacatcctg gacgaggcga aggttttcgc aatctctcat ctgaaagaac tgtctgaaga	5640
aaagatcggg aaagagctgg cagaacaggt gaaccatgca ctggaactgc cactgcatcg	5700
ccgtactcag cgtctggaag cagtatggtc tatcgaggcc taccgtaaaa aggaggacgc	5760
gaatcagggt ctgctggagc tggcaattct ggattacaac atgatccagt ctgtatacca	5820
gcgtgatctg cgtgaaactg cccgttggtg gcgtcgtgtg ggtctggcga ccaaactgca	5880
ctttgctcgt gaccgcctga ttgagagctt ctactgggccc gtgggtgtag cattcgaacc	5940
gcaatactcc gactgccgta actccgtcgc aaaaatgttt tctttcgtaa ccattatcga	6000
cgatatctac gatgtatagc gcacctgga cgaactggag ctgtttactg atgcagttga	6060
gcgttgggac gtaaacgcca tcaacgacct gccggattac atgaaactgt gctttctggc	6120
tctgtataac actattaacg aaatcgcta cgacaacctg aaagataaag gtgagaacat	6180
cctgccgtat ctgaccaaag cctgggctga cctgtgcaac gctttctgc aagaagccaa	6240
gtggctgtac aacaaatcta ctccgacctt tgacgactac ttcggcaacg catggaaatc	6300
ctcttctggc ccgtgcaac tgggtttcgc ttacttcgct gtcgtgcaga acattaaaaa	6360
ggaagagatc gaaaacctgc aaaaatacca tgacaccatc tctcgtcctt cccatatctt	6420
ccgtctgtgc aatgacctgg ctacgcgtc tgcggaaatt gcgcgtgggtg aaaccgcaa	6480
tagcgtttct tgttacatgc gcactaaagg tatctccgaa gaactggcta ccgaaagcgt	6540

gatgaatctg atcgatgaaa cctggaaaaa gatgaacaag gaaaaactgg gtggtagcct 6600
gttcgcgaaa ccgttcgtgg aaaccgcgat caacctggca cgtcaatctc actgcactta 6660
tcataacggc gacgcgcata cctctccgga tgagctgacc cgcaaacgcg ttctgtctgt 6720
aatcactgaa ccgattctgc cgtttgaacg ctaaggatcc gaattcgagc tccgtcgaca 6780
agcttgcggc cgcactcgag caccaccacc accaccactg agatccggct gctaacaaag 6840
cccgaagga agctgagttg gctgctgcca ccgctgagca ataactagca taacccttg 6900
gggcctctaa acgggtcttg aggggttttt tgctgaaagg aggaactata tccggat 6957

<210> 88

<211> 6068

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 88

gtttgacagc ttatcatcga ctgcacgggtg caccaatgct tctggcgtca ggcagccatc 60
ggaagctgtg gtatggctgt gcaggtcgta aatcactgca taattcgtgt cgctcaaggc 120
gcactcccgt tctggataat gttttttgcg ccgacatcat aacggttctg gcaaatttc 180
tgaaatgagc tgttgacaat taatcatccg gctcgtataa tgtgtggaat tgtgagcgga 240
taacaatttc acacaggaaa cagcgccgct gagaaaaagc gaagcggcac tgctctttaa 300

caatttatca gacaatctgt gtgggcactc gaccggaatt atcgattaac tttattatta 360
aaaattaaag aggtatatat taatgtatcg attaaataag gaggaataaa ccatgagatg 420
tagcgtgtcc accgaaaatg tgtctttcac cgaaactgaa accgaagctc gtcgttctgc 480
gaactacgaa cctaacagct gggactatga ttacctgctg tctccgaca cggacgagtc 540
catcgaagta tacaagaca aagcgaaaaa gctggaagcc gaagtctgct gcgagattaa 600
taacgaaaaa gcagaatttc tgacctgct ggaactgatt gacaacgtcc agcgcttggg 660
cctgggttac cgtttcgagt ctgatatccg tggcgcgctg gatcgcttcg ttctctccgg 720

cggcttcgat gcggtaacca agacttcctt gcacggtagc gcactgtctt tccgtctgct 780
gcgtcaacac ggttttgagg ttctctcagga agcgttcagc ggcttcaaag accaaaacgg 840
caacttcctg gagaacctga aggaagatat caaagctatc ctgagcctgt acgaggccag 900
cttctggct ctggaaggcg aaaacatcct ggacgaggcg aaggttttcg caatctctca 960
tctgaaagaa ctgtctgaag aaaagatcgg taaagagctg gcagaacagg tgaacctgac 1020
actggaactg ccaactgcac gccgtactca gcgtctggaa gcagtatggt ctatcgaggc 1080

ctaccgtaaa aaggaggacg cgaatcaggt tctgctggag ctggcaattc tggattacaa	1140
catgatccag tctgtatacc agcgtgatct gcgtagaacg tcccgttggg ggcgtcgtgt	1200
gggtctggcg accaaactgc actttgctcg tgaccgcctg attgagagct tctactgggc	1260
cgtgggtgta gcattcgaac cgcaatactc cgactgccgt aactccgtcg caaaaatgtt	1320
ttctttcgta accattatcg acgatatact cgatgtatac ggccacctgg acgaactgga	1380
gctgtttact gatgcagttg agcgttggga cgtaaacgcc atcaacgacc tgccggatta	1440
catgaaactg tgctttctgg ctctgtataa cactattaac gaaatcgct acgacaacct	1500
gaaagataaa ggtgagaaca tctgcccgt tctgaccaa gcctgggctg acctgtgcaa	1560
cgctttcctg caagaagcca agtggctgta caacaaatct actccgacct ttgacgacta	1620
cttcggcaac gcatggaat cctcttctgg cccgtgcaa ctggtgttcg cttacttcgc	1680
tgctgtcgag aacattaaaa aggaagagat cgaaaacctg caaaaatacc atgacaccat	1740
ctctctcct tccataatct tccgtctgtg caatgacctg gctagcgcgt ctgcggaaat	1800
tgcgcgtggt gaaaccgcaa atagcgtttc ttgttacatg cgcactaaag gtatctccga	1860
agaactggct accgaaagcg tgatgaatct gatcgatgaa acctggaaaa agatgaacaa	1920
ggaaaaactg ggtggtagcc tgttcgcgaa accgttcgtg gaaaccgcga tcaacctggc	1980
acgtcaatct cactgcactt atcataacgg cgacgcgat acctctccgg atgagctgac	2040
ccgcaaacgc gtctgtctg taatcactga accgattctg ccgtttgaac gctaactgca	2100
gctggtacca tatgggaatt cgaagctttc tagaacaaaa actcatctca gaagaggatc	2160
tgaatagcgc cgtcgacct catcatcatc atcattgagt ttaaacggtc tccagcttgg	2220
ctgttttggc ggatgagaga agattttcag cctgatacag attaaatcag aacgcagaag	2280
cggctgata aaacagaatt tgcctggcgg cagtagcgcg gtgggtccac ctgaccccat	2340
gccgaactca gaagtgaac gccgtagcgc cgatggtagt gtggggtctc cccatgcgag	2400
agtagggaac tgccaggcat caaataaaac gaaaggctca gtcgaaagac tgggcctttc	2460
gttttatctg ttgtttgtcg gtgaacgctc tctgagtag gacaaatccg ccgggagcgg	2520
atttgaacgt tgcgaagcaa cggcccgag ggtggcgggc aggacgccc ccataaactg	2580
ccaggcatca aattaagcag aaggccatcc tgacggatgg ctttttgcg tttctacaaa	2640
ctcttttgt ttattttct aaatacttc aaatatgtat ccgtcatga gacaataacc	2700
ctgataaatg ctcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttccgtgt	2760
cgccttatt ccttttttg cggcattttg ctttctgtt tttgtcacc cagaaacgct	2820

ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca tcgaactgga	2880
tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc caatgatgag	2940
cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccggt gttgacgccg ggcaagagca	3000
actcggctgc cgcatacact attctcagaa tgacttgggt gactactcac cagtcacaga	3060
aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca taacatgag	3120
tgataacact gcggccaact tactttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc	3180
ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac cggagctgaa	3240
tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg caacaacgtt	3300
gcgcaaaact ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg	3360
gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg ctggctgggt	3420
tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctgc ggtatcattg cagcactggg	3480
gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc aggcaactat	3540
ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc attggttaact	3600
gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gatgattta aaacttcatt tttaatttaa	3660
aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt	3720
ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt	3780
ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag cgggtggtttg	3840
tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca	3900
gataccaaat actgtccttc tagttagacc gtagttaggc caccacttca agaactctgt	3960
agcacgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg ccagtggcga	4020
taagtctgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg cgcagcggtc	4080
gggctgaacg gggggttctg gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct acaccgaact	4140
gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaagcgga	4200
caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc ttccaggggg	4260
aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt	4320
tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt	4380
acggttctgt gccttttctt ggccttttgc tcacatgttc tttctgctg tatccctga	4440
ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgtcgcgc gcagccgaac	4500
gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgctgatgc ggtattttct	4560
ccttacgcat ctgtcgggta ttccacaccg catatggtgc actctcagta caatctgctc	4620
tgatgccgca tagttaagcc agtatacact ccgctatcgc tacgtgactg ggtcatggct	4680

gcgccccgac acccgccaac acccgctgac gcgccctgac gggcttgtct gctcccggca	4740
tccgcttaca gacaagctgt gaccgtctcc gggagctgca tgtgtcagag gttttcaccg	4800
tcatcaccga aacgcgcgag gcagcagatc aattcgcgcg cgaaggcgaa gcggcatgca	4860
tttacgttga caccatcgaa tgggtcaaaa cctttcgcgg tatggcatga tagcgcccgg	4920
aagagagtca attcagggtg gtgaatgtga aaccagtaac gttatacgat gtcgcagagt	4980
atgccggtgt ctcttatcag accgtttccc gcgtggtgaa ccaggccagc cacgtttctg	5040
cgaaaacgcg ggaaaaagtg gaagcggcga tggcggagct gaattacatt cccaaccgcg	5100
tggcacaaca actggcgggc aaacagtcgt tgctgattgg cgttgccacc tccagtcagg	5160
ccctgcacgc gccgtcgaa attgtcgcgg cgattaaatc tcgcgccgat caactgggtg	5220
ccagcgtggt ggtgtcgatg gtagaacgaa gcggcgtcga agcctgtaaa gcggcgggtgc	5280
acaatcttct cgcgcaacgc gtcagtgggc tgatcattaa ctatccgctg gatgaccagg	5340
atgccattgc tgtggaagct gcctgcacta atgttccggc gttatttctt gatgtctctg	5400
accagacacc catcaacagt attattttct cccatgaaga cggtagcga ctgggcgtgg	5460
agcatctggt cgcatgggt caccagcaaa tcgcgctgtt agcgggcca ttaagttctg	5520
tctcggcgcg tctgcgtctg gctggctggc ataaatatct cactcgcaat caaattcagc	5580
cgatagcga acgggaaggc gactggagtg ccatgtccgg ttttcaaca accatgcaaa	5640
tgctgaatga gggcatcgtt cccactgcga tgcgtgtgc caacgatcag atggcgtgg	5700
gcgcaatgcg cgccattacc gagtccgggc tgcgcgttgg tgcggatatc tcggtagtgg	5760
gatacgacga taccgaagac agctcatgtt atatccgcc gteaaccacc atcaaacagg	5820
attttcgcct gctggggcaa accagcgtgg accgcttgct gcaactctct cagggccagg	5880
cggatgaagg caatcagctg ttgccgtct cactggtgaa aagaaaaacc accctggcgc	5940
ccaatagca aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac	6000
aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagcgcgaa	6060
ttgatctg	6068
<210> 89	
<211> 6906	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 89	
gtttgacagc ttatcatcga ctgcacggtg caccaatgct tctggcgtca ggcagccatc	60

ggaagctgtg gtatggctgt gcaggtcgta aatcactgca taattcgtgt cgctcaaggc	120
gcactcccgt tctggataat gttttttgcg ccgacatcat aacggttctg gcaaatttc	180
tgaaatgagc tgttgacaat taatcatccg gctcgtataa tgtgtggaat tgtgagcgga	240
taacaatttc acacaggaag cagcgccgct gagaaaaagc gaagcggcac tgctctttaa	300
caatttatca gacaatctgt gtgggcactc gaccggaatt atcgattaac tttattatta	360
aaaattaaag aggtatatat taatgtatcg attaaataag gaggaataaa ccatgagatg	420
tagcgtgtcc accgaaaatg tgtctttcac cgaaactgaa accgaagctc gtcgttctgc	480
gaactacgaa cctaacagct gggactatga ttacctgctg tectccgaca cggacgagtc	540
catcgaagta tacaagaca aagcgaaaaa gctggaagcc gaagtctgc gcgagattaa	600
taacgaaaaa gcagaatttc tgacctgct ggaactgatt gacaacgtcc agcgctggg	660
cctgggttac cgtttcagct ctgatatccg tggcgcctg gatcgcttcg tttctccgg	720
cggttcgat gcggtaacca agacttcct gcacggtacg gactgtctt tccgtctgct	780
gcgtcaacac ggttttgagg tttctcagga agcgttcagc ggcttcaaag accaaaacgg	840
caacttctg gagaacctga aggaagatat caaagctatc ctgagcctgt acgaggccag	900
cttctggct ctggaaggcg aaaacatcct ggacgaggcg aaggttttcg caatctctca	960
tctgaaagaa ctgtctgaag aaaagatcgg taaagagctg gcagaacagg tgaacatgc	1020
actggaactg ccaactgcatc gccgtactca gcgtctggaa gcagtatggt ctatcgagc	1080
ctaccgtaaa aaggaggacg cgaatcaggt tctgctggag ctggcaattc tggattacaa	1140
catgatccag tctgtatacc agcgtgatct gcgtgaaacg tcccgttggg ggcgtcgtgt	1200
gggtctggcg accaaactgc actttgctcg tgaccgctg attgagagct tctactgggc	1260
cgtgggtgta gcattcgaac cgcaatactc cgactgccgt aactccgtcg caaaaatgtt	1320
ttctttcgta accattatcg acgatatcta cgatgtatac ggcaccctgg acgaactgga	1380
gctgtttact gatgcagttg agcgttggga cgtaaacgcc atcaacgacc tgccggatta	1440
catgaaactg tgctttctgg ctctgtataa cactattaac gaaatgcct acgacaacct	1500
gaaagataaa ggtgagaaca tcctgccgta tctgaccaa gcctgggctg acctgtgcaa	1560
cgctttcctg caagaagcca agtggtgta caacaaatct actccgacct ttgacgacta	1620
cttcggcaac gcatggaaat cctcttctgg cccgtgcaa ctggtgttcg cttacttcgc	1680
tgtcgtgcag aacattaaaa aggaagagat cgaaaacctg caaaaatacc atgacacat	1740
ctctcgtcct tcccatact tccgtctgtg caatgacctg gctagcgcgt ctgcggaat	1800
tgcgctgggt gaaaccgcaa atagcgtttc ttgttacatg cgactaaag gtatctccga	1860
agaactggct accgaaagcg tgatgaatct gatcgatgaa acctggaaaa agatgaacaa	1920

ggaaaaactg ggtagtagcc tgttcgcgaa accgttcgtg gaaaccgcga tcaacctggc	1980
acgtcaatct cactgcactt atcataacgg cgacgcgcgt acctctccgg atgagctgac	2040
ccgcaaacgc gttctgtctg taatcactga accgattctg ccgtttgaac gctaaactgca	2100
taaaggaggt aaaaaacat ggtatcctgt tctgcgccgg gtaagattta cctgttcggt	2160
gaacacgccg tagtttatgg cgaaactgca attgcgtgtg cgggtggaact gcgtaccctg	2220
gttcgcgcgg aactcaatga ctctatcact attcagagcc agatcggccg caccggtctg	2280
gatttcgaaa agcaccctta tgtgtctgcg gtaattgaga aaatgcgcaa atctattcct	2340
attaacggtg ttttcttgac cgtcgattcc gacatcccgg tgggctccgg tctgggtagc	2400
agcgcagccg ttactatcgc gtctattggt gcgctgaacg agctgttcgg ctttggcctc	2460
agcctgcaag aaatcgctaa actgggccac gaaatcgaat ttaaagtaca gggtagccgcg	2520
tccccaacgg atacgtatgt ttctaccttc ggccggtggt ttaccatccc ggaacgtcgc	2580
aaactgaaaa ctccgactg cggcattgtg attggcgata ccggcggttt ctcctccacc	2640
aaagagttag tagctaacgt acgtcagctg cgcgaaagct acccggtatt gatcgaaccg	2700
ctgatgacct ctattggcaa aatctctcgt atcggcgaac aactggttct gtctggcgac	2760
tacgcatcca tcggccgcct gatgaacgtc aaccagggtc tcctggacgc cctgggcgtt	2820
aacatcttag aactgagcca gctgatctat tccgctcgtg cggcaggtgc gtttggcgt	2880
aaaatcacgg gcgctggcgg cggtaggctgt atggttgcgc tgaccgctcc ggaaaaatgc	2940
aaccaagtgg cagaagcgtg agcaggcgct ggccggtaaag tgactatcac taaaccgacc	3000
gagcaaggtc tgaagtaga ttaaagtcta gttaaagttt aaacggctctc cagcttggt	3060
gttttggcgg atgagagaag attttcagcc tgatacagat taaatcagaa cgcagaagcg	3120
gtctgataaa acagaatttg cctggcggca gtacgcgggt ggtccacct gaccccatgc	3180
cgaactcaga agtgaaacgc cgtacgcgcg atggtagtgt ggggtctccc catgcgagag	3240
tagggaactg ccaggcatca aataaacga aaggctcagt cgaaagactg ggcctttcgt	3300
tttatctgtt gttgtcgggt gaacgtctc ctgagtagga caaatccgcc gggagcggat	3360
ttgaacgttg cgaagcaacg gcccggaggg tggcgggcag gacgcccgc ataaactgcc	3420
aggcatcaaa ttaagcagaa ggccatcctg acggatggcc tttttgcgtt tctacaaact	3480
ctttttgttt atttttctaa atacattcaa atatgtatcc gctcatgaga caataacct	3540
gataaatgct tcaataatat tgaaaaagga agagtatgag tattcaacat ttccgtgtcg	3600
cccttattcc cttttttgcg gcattttgcc ttctgtttt tgctcaccca gaaacgtgg	3660

tgaaagtaaa agatgctgaa gatcagttgg gtgcacgagt gggttacatc gaactggatc	3720
tcaacagcgg taagatcctt gagagttttc gccccgaaga acgttttcca atgatgagca	3780
cttttaaaagt tctgctatgt ggcgcggtat tatcccgtgt tgacgccggg caagagcaac	3840
tcggtcgccg catacactat tctcagaatg acttggttga gtactcacca gtcacagaaa	3900
agcatcttac ggatggcatg acagtaagag aattatgcag tgctgccata accatgagtg	3960
ataaacttgc ggccaactta cttctgacaa cgatcggagg accgaaggag ctaaccgctt	4020
ttttgcacaa catgggggat catgtaaact gccttgatcg ttgggaaccg gagctgaatg	4080
aagccatacc aaacgacgag cgtgacacca cgatgcctgt agcaatggca acaacgttgc	4140
gcaaactatt aactggcgaa ctacttactic tagcttcccg gcaacaatta atagactgga	4200
tggaggcggg taaagttgca ggaccacttc tgcgtcggc ccttccggct ggctggttta	4260
ttgctgataa atctggagcc ggtgagcgtg ggtctcggg tatcattgca gcaactgggc	4320
cagatggtaa gccctccgt atcgtagtta tctacacgac ggggagtcag gcaactatgg	4380
atgaacgaaa tagacagatc gctgagatag gtgcctcact gattaagcat tggtaactgt	4440
cagaccaagt ttactcatat atactttaga ttgatttaaa acttcatttt taatttaaaa	4500
ggatctaggt gaagatcctt ttgataatc tcatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt	4560
cgttccactg agcgtcagac cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt	4620
ttctgcgcgt aatctgtgc ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt	4680
tgccgatca agagctacca actctttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga	4740
taccaaatac tgtccttcta gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag	4800
caccgcctac atacctcgt ctgctaattc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata	4860
agtcgtgtct taccgggttg gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg	4920
gctgaacggg gggttcgtgc acacagccca gcttggagcg aacgacctac accgaactga	4980
gatactaca gcgtgagcta tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca	5040
ggtatccggt aagcggcagg gtcggaacag gagagcgac gagggagctt ccagggggaa	5100
acgcctggta tctttatagt cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt	5160
tgtgatgctc gtcagggggg cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gcctttttac	5220
ggttcctggc cttttgtgg ccttttctc acatgttctt tectgcgtta tccctgatt	5280
ctgtggataa ccgtattacc gcctttgagt gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga	5340
ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag cggaagagcg cctgatgcgg tattttctcc	5400

ttacgcatct gtgcggtatt tcacaccgca tatggtgcac tctcagtaca atctgctctg 5460
atgccgcata gtttaagccag tatacactcc gctatcgcta cgtgactggg tcatggctgc 5520
gccccgacac ccgccaacac ccgctgacgc gccctgacgg gcttgtctgc tcccggcatc 5580
cgcttacaga caagctgtga ccgtctccgg gagctgcatg tgtcagaggt tttcacctgc 5640
atcacgaaa cgcgcgaggc agcagatcaa ttcgcgcgcg aaggcgaagc ggcatgcatt 5700
tacgttgaca ccatcgaatg gtgcaaaacc tttcgcggta tggcatgata gcgcccggaa 5760
gagagtcaat tcagggtggt gaatgtgaaa ccagtaacgt tatacgtatg cgcagagtat 5820

gccggtgtct cttatcagac cgtttccgc gtggtgaacc aggccagcca cgtttctgcg 5880
aaaacgcggg aaaaagtga agcggcgatg gcggagctga attacattcc caaccgcgtg 5940
gcacaacaac tggcgggcaa acagtcgttg ctgattggcg ttgccacctc cagtctggcc 6000
ctgcacgcgc cgtcgcaaat tgtcgcggcg attaaatctc gcgccgatca actgggtgcc 6060
agcgtggtgg tgtcgatggt agaacgaagc ggctcgaag cctgtaaagc ggcggtgcac 6120
aatcttctcg cgcaacgcgt cagtgggctg atcattaact atccgtgga tgaccaggat 6180
gccattgctg tggaagctgc ctgcactaat gttccggcgt tatttcttga tgtctctgac 6240

cagacacca tcaacaglat tattttctcc catgaagacg gtacgcgact gggcgtggag 6300
catctggctg cattgggtca ccagcaaac gcgctgttag cgggccatt aagttctgtc 6360
tcggcgcgtc tgcgtctggc tggctggcat aaatatctca ctcgcaatca aattcagccg 6420
atagcggaac gggaaggcga ctggagtgc atgtccggtt ttcaacaac catgcaaatg 6480
ctgaatgagg gcatcgttcc cactgcgatg ctggttgcca acgatcagat ggcgctgggc 6540
gcaatgcgcg ccattaccga gtccgggctg cgcgttggtg cggatatctc ggtagtggga 6600
tacgacgata ccgaagacag ctcatgttat atcccgcgt caaccacat caaacaggat 6660

tttcgcctgc tggggcaaac cagcgtggac cgttctctgc aactctctca gggccaggcg 6720
gtgaagggca atcagctgtt gccgctctca ctggtgaaa gaaaaaccac cctggcgccc 6780
aatacgcaaa ccgctctcc ccgcgcgttg gccgattcat taatgcagct ggcacgacag 6840
gtttcccgac tggaaagcgg gcagtgcgcg caacgcaatt aatgtgagtt agcgcgaatt 6900
gatctg 6906

<210> 90

<211> 8123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 90

aaggcgagc tcaacgatcc ggctgctaac aaagcccga aggaagctga gttggctgct	60
gccacgctg agcaataact agcataaacc cttggggcct ctaaacgggt cttgaggagt	120
tttttctga aaggaggaac tataatccga tatcccga gagggccggc agtaccggca	180
taaccaagcc tatgcctaca gcatccagg tgacgggtgcc gaggatgacg atgagcgcat	240
tgtagattt catacacggt gcctgactgc gttagcaatt taactgtgat aaactaccgc	300
attaaagctt atcgatgata agctgtcaaa catgagaatt aattcttgaa gacgaaaggg	360
cctcgtgata cgcctatfff tataggttaa tgcctgata ataatggfff cttagacgtc	420
agggtggcact tticggggaa atgtgcgagg aaccctatt tgtttatfff tctaaataca	480
ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa	540
aaggaagagt atgattgaac aagatggatt gcacgcagg tctccggcgg cttgggtgga	600
gaggctattc ggctatgact gggcacaact gacaatcggc tgctctgatg ccgccgtgtt	660
ccggctgtca gcgcaggggc gcccggttct ttttgtcaag accgacctgt ccggtgccct	720
gaatgaactg caggacgagg cagcgaggct atcgtggctg gccacgacgg gcgttccttg	780
cgcagctgtg ctgcagttg tcaatgaagc gggaaggac tggctgctat tggcggaagt	840
gccggggcag gatctcctgt catctcacct tgctcctgcc gagaaagtat ccatcatggc	900
tgatgcaatg cggcggctgc atacgttga tccggctacc tgccattcg accaccaagc	960
gaaacatcgc atcgagcggg cactactcg gatggaagcc ggtcttgtcg atcaggatga	1020
tctggacgaa gagcatcagg ggctcgcgcc agccgaactg ttccccaggc tcaaggcgcg	1080
catgcccgcg ggcgaggatc tcgtcgtgac acatggcgat gccctgttgc cgaatatcat	1140
ggtggaaaat ggccgctfff ctggattcat cgactgtggc cggctgggtg tggcggaccg	1200
ctatcaggac atagcgttgg ctaccgtga tattgtgaa gagcttggcg gcgaatgggc	1260
tgaccgttc ctctgcttt acggtatcgc cgctccgat tcgcagcgca tcgcttcta	1320
tcgcttctt gacgagttct tctgagcggg actctggggc tcgaaatgac cgaccaagcg	1380
acgcctaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaattcatt	1440
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt	1500
aacgtgagtt ttctgtccac tgagcgtcag acccctaga aaagatcaaa ggatcttctt	1560
gagatccttt tttctgcgc gtaactctgt gcttgcaaac aaaaaacca ccgtaccag	1620
cgggtggttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca	1680

gcagagcgca gataccaaat actgtccttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca	1740
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg	1800
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg	1860
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct	1920
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga	1980
gaaagcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc	2040
tccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg	2100
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggccggagcct atggaaaaac gccagcaacg	2160
cgcccttttt acggttcttg gccttttgc ggccctttgc tcacatgttc tttctgctg	2220
tatccctga tttgtggat aaccgtatta ccgctttga gtgagctgat accgctcgcc	2280
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcctgatgc	2340
ggatatttct cttacgcat ctgtcggta tttcacaccg caatgggtgca ctctcagtac	2400
aatctgctct gatgccgat agttaagcca gtataactc cgctatcgct acgtgactgg	2460
gtcatggctg cgccccgaca cccgccaaca ccgctgacg cgccctgacg ggcttgtctg	2520
ctcccgcat ccgcttacag acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg	2580
ttttcacctg catcacgaa acgcgcgagg cagctgcggt aaagctcatc agcgtggctg	2640
tgaagcgatt cacagatgtc tgcctgttca tccgcgtcca gctcgttagg tttctccaga	2700
agcgttaatg tctggcttct gataaagcgg gccatgttaa gggcggtttt ttcctgtttg	2760
gtcactgatg cctccgtgta agggggattt ctgttcatgg gggtaatgat accgatgaaa	2820
cgagagagga tgctcacgat acgggttact gatgatgaac atgcccgtt actggaacgt	2880
tgtgagggtg aacaactggc ggtatggatg cggcgggacc agagaaaaat cactcagggt	2940
caatgccagc gcttcgttaa tacagatgta ggtgttcac agggtagcca gcagcatcct	3000
gcgatgcaga tccggaacat aatggtgcag ggcgtgact tccgcttgc cagactttac	3060
gaaacacgga aaccgaagac cattcatgtt gttgctcagg tcgcagacgt ttgcagcag	3120
cagtcgcttc acgttcgctc gcgtatcggg gattcattct gctaaccagt aaggcaaccc	3180
cgccagccta gccgggtcct caacgacagg agcacgatca tgcgcacccg tggccaggac	3240
ccaacgtgc ccgagatgcg ccgctgctgg ctgctggaga tggcggacgc gatggatatg	3300
ttctgccaag ggttggtttg cgcattcaca gttctccga agaattgatt ggctccaatt	3360
cttggagtgg tgaatccgtt agcgagggtc cgccggcttc cattcaggtc gaggtggccc	3420
ggctccatgc accgcgacgc aacgcgggga ggcagacaag gtataggcg gcgcctacaa	3480
tccatgcaa cccgttccat gtgctcgccg aggcggcata aatcgccgtg acgatcagcg	3540

gtccaatgat cgaagttagg ctggtaagag ccgcgagcga tccttgaagc tgtccctgat	3600
ggctgtcatc tacctgcctg gacagcatgg cctgcaacgc gggcatcccg atgccgccgg	3660
aagcgagaag aatcataatg gggaaggcca tccagcctcg cgtcggaac gccagcaaga	3720
cgtagcccag cgcgtcggcc gccatgccgg cgataatggc ctgcttctcg ccgaaacgtt	3780
tggtggcggg accagtgcg aaggcttgag cgagggcgtg caagattccg aataccgcaa	3840
gcgacaggcc gatcatcgtc gcgtccagc gaaagcggtc ctgccgaaa atgaccaga	3900
gcgtgccgg cacctgtcct acgagttgca tgataaagaa gacagtcata agtgcggcga	3960
cgatagtcac gcccgcgcc caccggaagg agctgactgg gttgaaggct ctcaaggga	4020
tcggtcgaga tcccggtgcc taatgagtga gctaacttac attaattgcg ttgcgtcac	4080
tgccgcttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg	4140
cggggagagg cggtttgcgt attgggcgcc aggggtggtt ttcttttcac cagtgcgacg	4200
ggcaacagct gattgccctt caccgcctgg ccctgagaga gttgcagcaa gcggtccacg	4260
ctggtttgcc ccagcaggcg aaaatcctgt ttgatggtgg ttaacggcgg gatataacat	4320
gagctgtctt cggatcgctc gtatccact accgagatat ccgcaccaac gcgcagcccg	4380
gactcggtaa tggcgcgcac tgcgccagc gccatctgat cgttggaac cagcatcgca	4440
gtgggaacga tgcctcatt cagcatttgc atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc	4500
cagtcgcctt cccgttcgc tatcggtga atttgattgc gattgagata tttatgccag	4560
ccagccagac gcagacgcgc cgagacagaa cttaatgggc ccgctaacag cgcgatttgc	4620
tggtgaccea atgcgaccag atgtccacg cccagtcgag taccgtcttc atgggagaaa	4680
ataaactgt tgatgggtgt ctggtcagag acatcaagaa ataacgccgg aacattagt	4740
caggcagctt ccacagcaat ggcacccctg tcatccagc gatagttaat gatcagccca	4800
ctgacgcgtt gcgcgagaag attgtgcacc gccgttttac aggtctcgac gccgttcgt	4860
tctaccatcg acaccaccac gctggcacc agttgatcgg cgcgagattt aatcgccgcg	4920
acaatttgcg acggcgcgtg caggccaga ctggaggtgg caacccaat cagcaacgac	4980
tgtttgcccg ccagttgttg tgccacgcgg ttgggaatgt aattcagctc cgccatcgcc	5040
gcttcactt tttccgcgt tttcgcagaa acgtggctgg cctggttcac caccgggaa	5100
acggtctgat aagagacacc ggcatactct gcgacatcgt ataacgttac tggtttcaca	5160
ttcaccacc tgaattgact ctcttcggg cgtatcatg ccataccgcg aaaggttttg	5220
cgccattcga tgggtgccg gatctcgac ctctccctta tgcgactcct gcattaggaa	5280
gcagcccagt agtaggttga ggccgttgag caccgccgc gcaaggaatg gtgcatgcaa	5340
ggagatggcg cccaacagtc ccccgccac ggggcctgcc accatacca cgccgaaca	5400

agcgctcatg agccccgaagt ggcgagcccg atcttcccca tcggtgatgt cggcgatata	5460
ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgccggcc acgatgcgtc cggcgtagag	5520
gategagatc tcgateccgc gaaattaata cgactcacta taggggaatt gtgagcgat	5580
aacaattccc ctctagaaat aattttgttt aactttaaga aggagatata catatgaatt	5640
aacctcact aaagggcggc cgcgaagttc ctattctcta gaaagtatag gaacttcatt	5700
ctaccgggta ggggaggcgc ttttccaag gcagtctgga gcatgcgtt tagcagcccc	5760
gctgggcact tggcgctaca caagtggcct ctggcctcgc acacattcca catccaccgg	5820
taggcgcaa cgggtccgt tctttggtgg ccccttcgcg ccacattcca ctctccct	5880
agtcaggaag ttccccccg ccccgagct cgcgtcgtgc aggacgtgac aaatggaagt	5940
agcacgtctc actagtctcg tgcagatgga cagcaccgt gagcaatgga agcggtagg	6000
cctttggggc agcggccaat agcagctttg ctcttcgct ttttgggctc agaggtggg	6060
aaggggtggg tccggggcg ggctcagggg cgggctcagg ggcggggcgg gcgccgaag	6120
gtctccgga ggcccgcat tctgcacgt tcaaaagcgc acgtctgcc cgctgttctc	6180
ctcttctca tctccgggc tttcgacctg cagcagcacg tgttgacaat taatcatcg	6240
catagtatat cggcatagta taatacgaca aggtgaggaa ctaaacatg gagaaaaaa	6300
tcactggata taccaccgtt gatataccc aatggcatcg taaagaacat tttaggcat	6360
ttcagtcagt tgctcaatgt acctataacc agaccgttca gctggatatt acggcctttt	6420
taaagaccgt aaagaaaaa aagcacaagt ttatccggc ctttattcac attcttccc	6480
gcctgatgaa tgctcatccg gaattccgta tggcaatgaa agacggtgag ctggtgatat	6540
gggatagtgt tcaccttgt tacaccgttt tccatgagca aactgaaacg ttttcatcg	6600
tctggagtga ataccacgac gatttccggc agtttctaca catatattcg caagatgtgg	6660
cgtgttacgg tgaaaacctg gcctatttcc ctaaagggtt tattgagaat atgttttctg	6720
tctcagcaa tccttgggtg agtttcacca gttttgattt aaactggcc aatatggaca	6780
acttcttcgc cccgttttc acctgggca aatattatac gcaaggcgac aaggtgctga	6840
tgccgtggc gattcaggtt catcatgccg tttgtgatgg cttccatgtc ggcagaatgc	6900
ttaatgaatt acaacagtac tgcgatgagt ggcaggcgcg ggcgtaagcg ggactctggg	6960
gttcgaataa agaccgacca agcgacgtct gagagctccc tggcgaattc ggtaccaata	7020
aaagagcttt attttcatga tctgtgtgtt ggtttttgtg tgcggcgcg aagttcctat	7080
tctctagaaa gtataggaa ttcctcgagc cctatagtga gtcgtattag atcgcggccg	7140

cgcccttgac aatgccacat cctgagcaaa taattcaacc actaattgtg agcggataac	7200
aaaggaggta aaaaaacatg gtatcctgtt ctgcgccggg taagatttac ctgttcggtg	7260
aacacgccgt agtttatggc gaaactgcaa ttgcgtgtgc ggtggaactg cgtaccctg	7320
ttcgcgcgga acicaatgac tctatcacia ttcagagcca gatcgccgc accggctcgg	7380
atttcgaaaa gcacccttat gtgtctgcgg taattgagaa aatgcgcaaa tctattccta	7440
ttaacgggtg tttcttgacc gtgcattccg acatcccggg gggtccgggt ctgggtagca	7500
gcgcagccgt tactatcgcg tctattgggt cgctgaacga gctgttcggc ttggcctca	7560
gcctgcaaga aatcgctaaa ctgggccacg aaatcgaat taaagtacag ggtgccgct	7620
ccccaaccga tacgtatgtt tctaccttcg gcggcgtggt taccatccg gaacgtcgca	7680
aactgaaaac tccggactgc ggcatgtga ttggcgatac cggcgttttc tctccacca	7740
aagagttagt agctaacgta cgtcagctgc gcgaaagcta cccggatttg atcgaaccgc	7800
tgatgacctc tattggcaaa atctctcgta tcggcgaaca actggttctg tctggcgact	7860
acgcatccat cggccgcctg atgaacgtca accagggtct cctggacgcc ctgggcgtta	7920
acatcttaga actgagccag ctgatctatt ccgtcgtgc ggaggtgctg ttggcgcta	7980
aaatcacggg cgctggcggc ggtggctgta tggttgcgt gaccgctccg gaaaaatgca	8040
accaagtggc agaagcggtg gcaggcgtg gcggtaaagt gactatcact aaaccgaccg	8100
agcaaggtct gaaagtagat taa	8123
<210> 91	
<211> 8123	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 91	
aaggcgagc tcaacgatcc ggctgctaac aaagcccga aggaagctga gttggctgct	60
gccaccgtg agcaataact agcataacc cttggggcct ctaaaccgggt cttagaggat	120
tttttctga aaggaggaac tataccgga tatcccgca gagggccggc agtaccggca	180
taaccaagcc tatgctaca gcatccaggg tgacgggtgcc gaggatgacg atgagcgcat	240
tgtagattt catacacggt gcctgactgc gttagcaatt taactgtgat aaactaccgc	300
attaaagctt atcgatgata agctgtcaaa catgagaatt aattcttgaa gacgaaaggg	360
cctcgtgata cgcctatfff tatagggtta tgcatgata ataatggttt cttagacgtc	420
aggtggcact tticggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatfff tctaaataca	480

ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa	540
aaggaagagt atgattgaac aagatggatt gcacgcaggt tctccggccg cttgggtgga	600
gaggctattc ggctatgact gggcacaact gacaatcggc tgctctgatg cgcctgtgtt	660
cggctgtca gcgcaggggc gcccggttct ttttgtcaag accgacctgt cgggtgccct	720
gaatgaactg caggacgagg cagcgcggct atcgtggctg gccacgacgg gcgttccttg	780
cgcagctgtg ctgcagcttg tactgaagc gggaaggac tggtctgtat tgggcgaagt	840
gccggggcag gatctcctgt catctcacct tgctcctgcc gagaaagtat ccatcatggc	900
tgatgcaatg cggcggctgc atacgcttga tccggctacc tgccattcg accaccaagc	960
gaaacatcgc atcgagcggg cacgtactcg gatggaagcc ggtcttgtcg atcaggatga	1020
tctggacgaa gagcatcagg ggctcgcgcc agccgaactg ttcgccaggc tcaaggcgcg	1080
catgcccgcg ggcgaggatc tcgtcgtgac acatggcgat gcctgcttgc cgaatatcat	1140
ggtggaaaat ggccgctttt ctggattcat cgactgtggc cggctgggtg tggcggaccg	1200
ctatcaggac atagcgttgg ctaccctga tattgtgaa gagcttggcg gcgaatgggc	1260
tgacccttc ctctgtcttt acggtatcgc cgtcccgat tcgcagcgca tcgccttcta	1320
tcgccttctt gacgagttct tctgagcggg actctggggt tcgaaatgac cgaccaagcg	1380
acgcctaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt	1440
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt	1500
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag acccctaga aaagatcaaa ggatcttctt	1560
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgtaccag	1620
cgggtggttg ttigccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca	1680
gcagagcgca gataccaaat actgtccttc tagttagcc gtagttaggc caccattca	1740
agaactctgt agcacgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg	1800
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg	1860
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct	1920
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga	1980
gaaaggcga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgaggagc	2040
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg	2100
agcgtcgatt ttigtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg	2160
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggcttttgc tcacatgttc tttcctgcgt	2220

tatccccga ttctgtggat aaccgtattt cgcctttga gtgagctgat accgctcgcc	2280
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcctgatgc	2340
ggatattttct ccttacgcat ctgtgcggta ttccacaccg caatgggtgca ctctcagtac	2400
aatctgctct gatgccgcat agttaagcca gtatacactc cgctatcgct acgtgactgg	2460
gtcatggctg cgcggcgaca cccccaaca cccgctgacg cgcctgacg ggcttgtctg	2520
ctcccgcat ccgtttacag acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg	2580
ttttaccgt catcaccgaa acgcgcgagg cagctgcggg aaagctcatc agcgtggctc	2640
tgaagcgatt cacagatgtc tgctgttca tccgcgtcca gctcgttgag ttctccaga	2700
agcgttaatg tctggcttct gataaagcgg gccatgttaa gggcggtttt ttcctgtttg	2760
gtcactgatg cctccgtgta agggggattt ctgttcattg gggtaatgat accgatgaaa	2820
cgagagagga tgctcacgat acgggttact gatgatgaac atccccgtt actggaacgt	2880
tgtgagggtg aacaactggc ggtatggatg cggcgggacc agagaaaaat cactcagggt	2940
caatgccagc gtttcgttaa tacagatgta ggtgttccac agggtagcca gcagcatcct	3000
gcgatgcaga tccggaacat aatgggtgcag ggcgtgact tccgcgttcc cagactttac	3060
gaaacacgga aaccgaagac cattcatgtt gttgctcagg tcgcagacgt ttgcagcag	3120
cagtcgttc acgttcgtc gcgtatcggg gattcattct gctaaccagt aaggcaaccc	3180
cggcgccta gccgggtcct caacgacagg agcacgatca tgcgcacccg tggccaggac	3240
ccaacgtgc ccgagatgcg ccgctgctgg ctgctggaga tggcggacgc gatggatatg	3300
ttctgccaag ggttggtttg cgcattcaca gttctccga agaattgatt ggctccaatt	3360
cttggagtgg tgaatccgtt agcgagggtc cgcggcttc cattcaggtc gaggtggccc	3420
ggctccatgc accgcgacgc aacgcgggga ggcagacaag gtataggcg gcgcctaaa	3480
tccatgcaa ccgttccat gtgctgcgcg aggcggcata aatcgccgtg acgatcagcg	3540
gtccaatgat cgaagttagg ctggttaagag ccgcgagcga tccttgaagc tgtccctgat	3600
ggctgctatc tacctgcctg gacagcatgg cctgcaacgc gggcatcccg atgccgccg	3660
aagcgagaag aatcataatg gggaaggcca tccagcctcg cgtcgcaac gccagcaaga	3720
cgtagcccag cgcgtcgcc gccatgccgg cgataatggc ctgcttctcg ccgaaacgtt	3780
tggtaggggg accagtacg aaggcttgag cgagggcgtg caagattccg aataccgcaa	3840
gcgacaggcc gatcatgctc gcgtccagc gaaagcggc ctgcggaaa atgaccaga	3900
gcgtgcccgg cacctgtcct acgagttgca tgataaagaa gacagtcata agtgcggcga	3960
cgatagtcat gcccgcgcc caccggaagg agctgactgg gttgaaggct ctcaaggcga	4020
tcggtcgaga tcccggtgcc taatgagtga gctaacttac attaatgctg ttgcgtcac	4080

tgcccgcctt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg	4140
cggggagagg cggtttgcgt attgggcgcc aggggtggtt tcttttcac cagtgcagacg	4200
ggcaacagct gattgccctt caccgcctgg cctgagaga gttgcagcaa gcggtccacg	4260
ctggtttgcc ccagcaggcg aaaatcctgt ttgatggtgg ttaacggcgg gatataacat	4320
gagctgtctt cggtatcgtc gtatccact accgagatat ccgcaccaac gcgcagcccg	4380
gactcggtaa tggcgcgcat tgcgccagc gccatctgat cgttggcaac cagcatcgca	4440
gtgggaacga tgcctcatt cagcatttgc atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc	4500
cagtgcctt cccgttccgc tatcggtga atttgattgc gattgagata tttatgccag	4560
ccagccagac gcagacgcgc cgagacagaa cttaatgggc ccgtaacag cgcgatttgc	4620
tggtagacca atgcgaccag atgctccacg cccagtcgcg taccgtcttc atgggagaaa	4680
ataatactgt tgatgggtgt ctggtcagag acatcaagaa ataacgccgg aacattagt	4740
caggcagctt ccacagcaat ggcatcctgg tcatccagcg gatagttaat gatcagccca	4800
ctgacgcgtt gcgcgagaag attgtgcacc gccgctttac aggccttcgac gccgcttcgt	4860
tctaccatcg acaccaccac gctggcacc agttgatcgg cgcgagattt aatcgccgcg	4920
acaatttgcg acggcgcgtg cagggccaga ctggagggtg caacgccaat cagcaacgac	4980
tgtttgccg ccagttgttg tgccacgcgg ttgggaatgt aattcagctc cgccatcgcc	5040
gtttccactt ttccccgct ttctgcagaa acgtggctgg cctggttcac cacgcgggaa	5100
acggtctgat aagagacacc ggcatactct gcgacatcgt ataacgttac tggtttcaca	5160
ttcaccacc tgaattgact ctcttcggg cgtatcatg ccataccgcg aaaggttttg	5220
cgccattcga tgggtgccg gatctgcagc ctctccctta tgcgactcct gcattaggaa	5280
gcagcccagt agtaggttga ggccgttgag caccgccgcc gcaaggaatg gtgcatgcaa	5340
ggagatggcg cccaacagtc ccccgccac ggggcctgcc accatacca cgccgaaaca	5400
agcgtcatg agcccgaagt ggcgagcccg atcttccca tcggtgatgt cggcgatata	5460
ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgccggc acgatgcgtc cggcgtagag	5520
gatcgagatc tgateccgc gaaattaata cgactcacta taggggaatt gtgagcgat	5580
aacaattccc ctctagaaat aattttgttt aactttaaga aggagatata catatgaatt	5640
aacctcact aaagggcggc gcggaagttc ctattctcta gaaagtatag gaacttcatt	5700
ctaccgggta ggggaggcgc ttttccaag gcagtctgga gcatgcgctt tagcagcccc	5760
gctgggcact tggcgtaca caagtggcct ctggcctcgc acacattcca catccaccgg	5820
taggcgcaa ccggctccgt tctttggtgg ccccttcgcg ccaccttcca ctctccccct	5880
agtcaggaag ttcccccccg cccgcagct gcgctcgtgc aggacgtgac aatggaagt	5940

agcacgtctc actagtctcg tgcagatgga cagcacgcgt gagcaatgga agcgggtagg	6000
cctttggggc agcggccaat agcagctttg ctcttctgct ttctgggctc agaggctggg	6060
aaggggtggg tccgggggcg ggctcagggg cgggctcagg ggcggggagg gcgcccgaag	6120
gtctccgga ggcccggcat tctgcacgt tcaaaagcgc acgtctgccg cgctgttctc	6180
ctcttctca tctccgggccc ttctgacctg cagcagcacg tgttgacaat taatcatcgg	6240
catagtatat cgccatagta taatacgaca aggtgaggaa ctaaaccatg gagaaaaaaa	6300
tacttgata taccaccgtt gatataccc aatggcatcg taaagaacat tttagggcat	6360
ttcagtcagt tgctcaatgt acctataacc agaccgttca gctggatatt acggcctttt	6420
taaagaccgt aaagaaaaat aagcacaagt ttatccggc ctttattcac attctgccc	6480
gcctgatgaa tgctcatccg gaattccgta tggcaatgaa agacggtag ctggtgatat	6540
gggatagtgt tcaccttgt tacaccgttt tccatgagca aactgaaacg ttctcatcgc	6600
tctggagtga ataccacgac gatttccggc agtttctaca catatattcg caagatgtgg	6660
cgtgttacgg tgaaaacctg gcctatttcc ctaaagggtt tattgagaat atgttttctg	6720
tctcagcaa tccctgggtg agtttcaaca gttttgattt aaacgtggcc aatatggaca	6780
acttcttgc ccccgtttt accatgggca aatattatac gcaaggcgac aaggtgctga	6840
tgccgtggc gattcaggtt catcatgccg ttgtgatgg ctccatgtc ggcagaatgc	6900
ttaatgaatt acaacagtac tgcgatgagt ggcaggcggg ggcgtaagcg ggactctggg	6960
gttcgaataa agaccgacca agcgacgtct gagagctccc tggcgaattc ggtaccaata	7020
aaagagcttt attttcatga tctgtgtgtt ggtttttgtg tgcggcggg aagttcctat	7080
tctctagaaa gtataggaa ttcctcgagc cctatagtga gtcgtattag atcgcgcccg	7140
cgccttgac catgccacat cctgagcaaa taattcaacc actaattgtg agcggataac	7200
aaaggaggta aaaaaacatg gtatcctgtt ctgcgcggg taagatttac ctgttcggtg	7260
aacacgccgt agtttatggc gaaactgcaa ttgcgtgtgc ggtggaactg cgtaccctg	7320
ttcgcgga actcaatgac tctatcacta ttcagagcca gatcgccgc accggtctgg	7380
atttcgaaa gcaccttat gtgtctgcgg taattgagaa aatgcgaaa tctattccta	7440
ttaacggtgt ttcttgacc gtcgattccg acatccggg gggctccgg ctgggtagca	7500
gcgcagccgt tactatcgg tctattggtg cgtgaacga gctgttcggc ttggcctca	7560
gcctgcaaga aatcgctaaa ctggccacg aaatcgaaat taaagtacag ggtgccgcgt	7620
cccaaccga tacgtatgtt tctaccttcg gcggcgtggt taccatccg gaacgtcgca	7680

aactgaaaac tccggactgc ggcatgtga ttggcgatac cggcgttttc tcctccacca	7740
aagagttagt agctaacgta cgtcagctgc gcgaaagcta cccggatttg atcgaaccgc	7800
tgatgacctc tattggcaaa atctctcgta tcggcgaaca actggttctg tctggcgact	7860
acgcatccat cggccgcctg atgaacgtca accagggtct cctggacgcc ctgggcgtta	7920
acatcttaga actgagccag ctgatctatt ccgctcgtgc ggcaggtgcg ttggcgcta	7980
aaatcacggg cgtggcggc ggtggctgta tggttgcgt gaccgctccg gaaaaatgca	8040
accaagtggc agaagcggtg gcaggcgctg gcggtaaagt gactatcact aaaccgaccg	8100
agcaaggtct gaaagtagat taa	8123
<210> 92	
<211> 8123	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 92	
aaggcgagc tcaacgatcc ggctgctaac aaagcccgaa aggaagctga gttggctgct	60
gccaccgctg agcaataact agcataacc cttggggcct ctaaaccggg cttgaggagt	120
tttttctga aaggaggaac tatatccgga tatccgcaa gaggcccggc agtaccggca	180
taaccaagcc tatgcctaca gcatccaggg tgacggtgcc gaggatgacg atgagcgcat	240
tgtagattt catacacggt gcctgactgc gttagcaatt taactgtgat aaactaccgc	300
attaaagctt atcgatgata agctgtcaaa catgagaatt aattcttgaa gacgaaaggg	360
cctcgtgata cgcctatitt tataggttaa tgcatgata ataatggttt cttagacgtc	420
aggtggcact tttcggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatitt tctaaataca	480
ttcaaataatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa	540
aaggaagagt atgattgaac aagatggatt gcacgcaggt tctccggccg cttgggtgga	600
gaggctattc ggctatgact gggcacaact gacaatcggc tgctctgatg ccgccgtgtt	660
ccggctgtca gcgcaggggc gcccggttct ttttgtcaag accgacctgt ccggtgccct	720
gaatgaactg caggacgagg cagcgcggct atcgtggctg gccacgacgg gcgttccttg	780
cgcagctgtg ctcgacgttg tcaactgaagc gggaaggac tggtctgat tggcggaagt	840
gccggggcag gatctcctgt catctcacct tgctcctgcc gagaaagtat ccatcatggc	900
tgatgcaatg cggcggctgc atacgcttga tccggctacc tgccattcg accaccaagc	960
gaaacatcgc atcgagcggg cacgtactcg gatggaagcc ggtcttgtcg atcaggatga	1020

tctggacgaa gagcatcagg ggctcgcgcc agccgaactg ttcgccaggc tcaaggcgcg	1080
catgccccgac ggcgaggatc tcgtcgtgac acatggcgat gcctgcttgc cgaatatcat	1140
ggtggaaaat ggccgctttt ctggattcat cgactgtggc cggtctgggtg tggcggaccg	1200
ctatcaggac atagcgttgg ctaccctga tattgctgaa gagcttggcg gcgaatgggc	1260
tgaccgttc ctcgtgcttt acggtatgc cgtccccgat tcgcagcgca tcgccttcta	1320
tcgccttctt gacgagtctt tctgagcggg actctggggt tcgaaatgac cgaccaagcg	1380
acgcctaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt	1440
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt	1500
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt	1560
gagatccttt tttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgtaccag	1620
cgggtggtttg tttgccggtat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca	1680
gcagagcgca gataccaaat actgtccttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca	1740
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg	1800
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccgataagg	1860
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct	1920
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga	1980
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc	2040
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg	2100
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg	2160
cggccttttt acggttctct gccttttgc ggccttttgc tcacatgttc tttctgcgt	2220
tatccctga tttctgtgat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc	2280
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcctgatgc	2340
ggtattttct ccttacgcat ctgtgcggta tttcacaccg caatggtgca ctctcagtac	2400
aatctgctct gatgccgat agttaagcca gtatacactc cgctatcgt acgtgactgg	2460
gtcatggctg cgccccgaca cccgccaaca cccgtgacg cgcctgacg ggcttgtctg	2520
ctccccgcat ccgttacag acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg	2580
ttttcacct catcaccgaa acgcgcgagg cagctgcggt aaagctcatc agcgtggtcg	2640
tgaagcgatt cacagatgtc tgcctgttca tccgcgtcca gctcgttag tttctccaga	2700
agcgttaatg tctggcttct gataaagcgg gccatgttaa gggcggtttt ttcctgtttg	2760

gtcactgatg cctccgtgta aggggggattt ctgttcatgg gggtaaatgat accgatgaaa	2820
cgagagagga tgctcacgat acgggttact gatgatgaac atgcccgggtt actggaacgt	2880
tgtgagggta aacaactggc ggtatggatg cggcgggacc agagaaaaat cactcagggt	2940
caatgccagc gcttcgttaa tacagatgia ggtgttccac agggtagcca gcagcatcct	3000
gcgatgcaga tccggaacat aatggtgcag ggcgtgact tccgcgtttc cagactttac	3060
gaaacacgga aaccgaagac cattcatgtt gttgctcagg tcgcagacgt ttigcagcag	3120
cagtcgcttc acgttcgctc gcgtatcggg gattcattct gctaaccagt aaggcaaccc	3180
cgccagccta gccgggtcct caacgacagg agcacgatca tgcgcacccg tggccaggac	3240
ccaacgctgc ccgagatgcg ccgctgtcgg ctgctggaga tggcggacgc gatggatatg	3300
ttctgccaag ggttggtttg cgcattcaca gttctccgca agaattgatt ggctccaatt	3360
cttggagtgg tgaatccgtt agcgaggtgc cgcggccttc cattcaggtc gaggtggccc	3420
ggctccatgc accgcgacgc aacgcgggga ggcagacaag gtatagggcg gcgcctacaa	3480
tccatgcaa cccgttccat gtgctcgccg aggcggcata aatcgccgtg acgatcagcg	3540
gtccaatgat cgaagttagg ctggtaagag ccgcgagcga tccttgaagc tgtccctgat	3600
ggctgctatc tacctgcctg gacagcatgg cctgcaacgc gggcatcccg atgccgccgg	3660
aagcgagaag aatcataatg gggaaggcca tccagcctcg cgtcgcaac gccagcaaga	3720
cgtagcccag cgcgtcgcc gccatgccgg cgataatggc ctgcttctcg ccgaaacgtt	3780
tgggtggcgg accagtgcag aaggcttgag cgagggcgtg caagattccg aataccgcaa	3840
gcgacaggcc gatcatcgtc gcgtccagc gaaagcggc ctcgccgaaa atgaccaga	3900
gcgtgcccgg cacctgtcct acgagttgca tgataaagaa gacagtcata agtcggcgca	3960
cgatagtcat gccccgcgc caccggaagg agctgactgg gttgaaggct ctcaagggca	4020
tcggtcgaga tcccgtgcc taatgagtga gtaacttac attaatgctg ttgcgtcac	4080
tccccgttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg	4140
cggggagagg cggtttgcgt attgggcgcc aggggtgttt ttcttttcac cagtgcagc	4200
ggcaacagct gattgccctt caccgcctgg cctgagaga gttgcagcaa gcggtccacg	4260
ctggtttgcc ccagcaggcg aaaatcctgt ttgatggtgg ttaacggcgg gatataacat	4320
gagctgtctt cggtatcgtc gtatcccact accgagatat ccgcaccaac gcgcagccc	4380
gactcggtaa tggcgcgcat tgcgccagc gccatctgat cgttggaac cagcatcgca	4440
gtgggaacga tgccctcatt cagcatttgc atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc	4500
cagtcgcctt cccgttccgc tatcggtga atttgattgc gagtgagata ttatgccag	4560
ccagccagac gcagacgcgc cgagacagaa cttaatgggc ccgctaacag gcgatttgc	4620

tggtgaccca atgcgaccag atgctccacg cccagtcgcg taccgtcttc atgggagaaa	4680
ataatactgt tgatgggtgt ctggtcagag acatcaagaa ataacgccgg aacattagt	4740
caggcagctt ccacagcaat ggcatcctgg tcatccagcg gatagttaat gatcagccca	4800
ctgacgcgtt gcgcgagaag attgtgcacc gccgctttac aggcttcgac gccgcttcgt	4860
tctaccatcg acaccaccac gctggcacc agttgatcgg cgcgagattt aatcgccg	4920
acaatttgcg acggcgctgt cagggccaga ctggaggtgg caacgccaat cagcaacgac	4980
tgtttgcccg ccagttgttg tgccacgcgg ttgggaatgt aattcagctc cgccatcgcc	5040
gcttccactt tttccgcgt tttcgcagaa acgtggctgg cctggttcac cacgcgggaa	5100
acggtctgat aagagacacc ggcatactct gcgacatcgt ataacgttac tggtttcaca	5160
ttcaccacc tgaattgact ctcttcgggg cgctatcatg ccataccgag aaaggttttg	5220
cgccattcga tgggtgtccgg gatctcgacg ctctccctta tgcgactcct gcattaggaa	5280
gcagcccagt agtaggttga ggccgttgag caccgccgcc gcaaggaatg gtgcatgcaa	5340
ggagatggcg cccaacagtc ccccgccac ggggcctgcc accatacca cgccgaaaca	5400
agcgctcatg agccgaagt ggagagcccg atcttcccca tcggtgatgt cggcgatata	5460
ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgccggcc acgatgcgtc cggcgtagag	5520
gatcgagatc tcgatccgc gaaattaata cgactcacta taggggaatt gtgagcggat	5580
aacaattccc ctctagaaat aattttgttt aactttaaga aggagatata catatgaatt	5640
aaccctcact aaagggcggc gcggaagttc ctattctcta gaaagtatag gaacttcatt	5700
ctaccgggta ggggaggcgc ttttccaag gcagtctgga gcatgcgtt tagcagcccc	5760
gctgggcact tggcgctaca caagtggcct ctggcctcgc acacattcca catccaccgg	5820
taggcgcaa ccggctccgt tctttggtgg ccccttcgcg ccacctcca ctctccct	5880
agtcaggaag tcccccccg cccgcagct cgcgtcgtgc aggacgtgac aaatggaagt	5940
agcagcttc actagtctcg tgcagatgga cagcaccgt gagcaatgga agcggtagg	6000
cctttggggc agcgccaat agcagctttg ctcttcgct tctgggctc agaggtggg	6060
aaggggtggg tccggggcg ggctcagggg cgggctcagg ggcgggcg gcgccgaag	6120
gtctccgga ggcccggcat tctgcagct tcaaaagcgc acgtctgcc cgctgttctc	6180
ctcttctca tctccgggc tttcgacctg cagcagcag tgttgacaat taatcatcg	6240
catagtatat cggcatagta taatcgaca aggtgaggaa ctaaacatg gagaaaaaa	6300
tcactggata taccaccgtt gatatatccc aatggcatcg taaagaacat tttgagcat	6360
ttcagtcagt tgcataatgt acctataacc agaccgttca gctggatatt acggcctttt	6420
taaagaccgt aaagaaaaat aagcacaagt tttatccggc ctttattcac attcttcccc	6480

gcctgatgaa tgctcatccg gaattccgta tggcaatgaa agacggtgag ctggtgatat 6540

gggatagtgt tcacccttgt tacaccgttt tccatgagca aactgaaacg ttttcatcgc 6600

tctggagtga ataccacgac gatttccggc agtttctaca catatattcg caagatgtgg 6660

cgtgttacgg tgaaaacctg gcctatttcc cttaaagggtt tattgagaat atgtttttcg 6720

tctcagccaa tccctgggtg agtttcacca gttttgattt aaacgtggcc aatatggaca 6780

actttctcgc ccccgttttc accatgggca aatattatac gcaaggcgac aaggtgctga 6840

tgccgctggc gattcaggtt catcatgccg ttgtgatgg cttccatgtc ggcagaatgc 6900

ttaatgaatt acaacagtac tgcgatgagt ggcagggcgg ggcgtaagcg ggactctggg 6960

gttcgaataa agaccgacca agcgacgtct gagagctccc tggcgaattc ggtaccaata 7020

aaagagcttt attttcatga tctgtgtgtt ggtttttgtg tgcggcgcgg aagttcctat 7080

tctctagaaa gtataggaac ttctcagac cctatagtga gtcgtattag atcgcgcccg 7140

cgcccttgac gatgccacat cctgagcaaa taattcaacc actaattgtg agcggataac 7200

aaaggaggta aaaaaacatg gtatcctgtt ctgcgccggg taagatttac ctgttcggtg 7260

aacacgccgt agtttatggc gaaactgcaa ttgcgtgtgc ggtggaactg cgtaccctg 7320

ttcgcgcgga actcaatgac tctatcacia ttcagagcca gatcgccgc accggtctgg 7380

atttcgaaaa gcacccttat gtgtctgcgg taattgagaa aatgcgcaaa tctattccta 7440

ttaacggtgt ttctttgacc gtcgattccg acatcccgtt gggctccgtt ctgggtagca 7500

gcgcagccgt tactatcgcg tctattggtg cgctgaacga gctgttcggc ttggcctca 7560

gcctgcaaga aatcgctaaa ctgggccacg aaatcgaaat taaagtacag ggtgccgcgt 7620

ccccaaccga tacgtatgtt tctaccttcg gcggcgtggt taccatcccg gaacgtcgca 7680

aactgaaaac tccggactgc ggcattgtga ttggcgatac cggcgttttc tcctccacca 7740

aagagttagt agctaacgta cgtcagctgc gcgaaagcta cccggatttg atcgaaccgc 7800

tgatgacctc tattggcaaa atctctcgta tcggcgaaca actggttctg tctggcgact 7860

acgcatccat cgccgcctg atgaacgtca accagggtct cctggacgcc ctgggcgtta 7920

acatcttaga actgagccag ctgatctatt ccgctcgtgc ggcaggtgcg ttggcgcta 7980

aaatcacggg cgctggcggc ggtggctgta tggttgcgt gaccgtccg gaaaaatgca 8040

accaagtggc agaagcggtg gcaggcgtg gcggtaaagt gactatcact aaaccgaccg 8100

agcaaggtct gaaagtagat taa 8123

<210> 93

<211> 8123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 93

aaggcgagc tcaacgatcc ggctgctaac aaagcccgaa aggaagctga gttggctgct 60
gccaccgtg agcaataact agcataaacc ctggggcct ctaaacgggt ctgaggagt 120
tttttctga aaggaggaac tataatccga tatcccgaa gagggccggc agtaccggca 180
taaccaagcc tatgcctaca gcatccaggg tgacgggtgcc gaggatgacg atgagcgcat 240
tgtagattt catacacggg gcctgactgc gtagcaatt taactgtgat aaactaccgc 300
attaaagctt atcgatgata agctgtcaaa catgagaatt aattcttgaa gacgaaaggg 360

cctcgtgata cgctatattt tataggttaa tgcctgata ataatggttt cttagacgtc 420
aggtggcact tticggggaa atgtgcgagg aaccctatt tgtttatttt tctaaataca 480
ttcaaatatg tatccgctca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa 540
aaggaagagt atgattgaac aagatggatt gcacgcaggt tctccggccg ctgggtgga 600
gaggctattc ggctatgact gggcacaact gacaatcggc tgctctgatg ccgccgtgtt 660
ccggctgtca ggcgaggggc gcccggttct ttttgtcaag accgacctgt ccggtgccct 720
gaatgaactg caggacgagg cagcgcggt atcgtggctg gccacgacgg gcgttccttg 780

cgcagctgtg ctgcagttg tcaactgaagc gggaaggagc tggctgctat tgggcgaagt 840
gccggggcag gatctcctgt catctcacct tgcctcgtcc gagaaagtat ccatcatggc 900
tgatgcaatg cggcggtctg atacgttga tccggctacc tgccattcg accaccaagc 960
gaaacatcgc atcgagcggg cagctactcg gatggaagcc ggtcttgtcg atcaggatga 1020
tctggacgaa gagcatcagg ggctcgccc agccgaactg ttccgagcg tcaaggcgcg 1080
catccccgac ggcgaggatc tcgtcgtgac acatggcgat gcctgcttgc cgaatatcat 1140
ggtggaaaat ggccgctttt ctggattcat cgaactgtgc cggtgggtg tggcggaccg 1200

ctatcaggac atagcgttgg ctaccgtga tattgctgaa gagcttggcg gcgaatgggc 1260
tgaccgttc ctctgcttt acggtatcgc cgctccgat tcgcagcgca tcgcttcta 1320
tcgcttctt gacgagttct tctgagcggg actctgggt tcgaaatgac cgaccaagcg 1380
acgcctaact gtcagaccaa gtttactcat atatactta gattgattta aaattcatt 1440
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 1500
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag acccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 1560

gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca cgcctaccag	1620
cggtgggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca	1680
gcagagcgca gataccaaat actgtccttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca	1740
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg	1800
ccagtggcga taagtctgtt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg	1860
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct	1920
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga	1980
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc	2040
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtctcgccac ctctgacttg	2100
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg	2160
cggccttttt acggttcttg gccttttgc ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt	2220
tatccccga tttctgtggt aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc	2280
gcagccgaac gaccgagcgc agcaggtcag tgagcgagga agcggaagag cgcctgatgc	2340
ggtattttct ccttacgcat ctgtcgggta tttcacaccg caatggtgca ctctcagtac	2400
aatctgctct gatgccgcat agttaagcca gtatacactc cgctatcgct acgtgactgg	2460
gtcatggctg cgccccgaca cccgccaaca cccgtgacg cgcctgacg ggcttgtctg	2520
ctcccgcat ccgcttacag acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg	2580
ttttaccgt catcaccgaa acgcgcgagg cagctgcggt aaagctcatc agcgtggtcg	2640
tgaagcgatt cacagatgtc tgctgttca tccgcgtcca gctcgttgag tttctccaga	2700
agcgttaatg tciggttct gataaagcgg gccatgttaa gggcggtttt ttcctgtttg	2760
gtcactgatg cctccgtgta agggggattt ctgttcattg gggtaatgat accgatgaaa	2820
cgagagagga tgctcacgat acgggttact gatgatgaac atgcccggtt actggaacgt	2880
tgtgagggta aacaactggc ggtatggatg cggcgggacc agagaaaaat cactcagggt	2940
caatgccagc gcttcgttaa tacagatgta ggtgttcac agggtagcca gcagcatcct	3000
gcgatgcaga tccggaacat aatggtgcag ggcgtgact tccgctttc cagactttac	3060
gaaacacgga aaccgaagac cattcatgtt gttgctcagg tcgcagacgt tttgcagcag	3120
cagtcgttcc acgttcgtc gcgtatcggg gattcattct gctaaccagt aaggcaacct	3180
cgccagccta gccgggtcct caacgacagg agcacgatca tgcgcaccg tggccaggac	3240
ccaacgctgc ccgagatgcg ccgcgtgcgg ctgctggaga tggcggacgc gatggatatg	3300

ttctgccaaag ggttggtttg cgcattcaca gttctccgca agaattgatt ggctccaatt	3360
cttggagtgg tgaatccgtt agcgaggtgc cgcgggttc cattcaggtc gaggtggccc	3420
ggctccatgc accgcgacgc aacgcgggga ggcagacaag gtatagggcg gcgcctacaa	3480
tccatgcaa cccgttccat gtgctcgccg aggcggcata aatcgccgtg acgatcagcg	3540
gtccaatgat cgaagttagg ctggttaagag ccgcgagcga tccttgaagc tgtccctgat	3600
ggctgctatc tacctgcctg gacagcatgg cctgcaacgc gggcatcccg atgccgccgg	3660
aagcgagaag aatcataatg gggaaggcca tccagcctcg cgtcgcgaa gccagcaaga	3720
cgtagcccag cgcgtcgcc gccatgccgg cgataatggc ctgcttctcg ccgaaacgtt	3780
tgggtggcggg accagtgcg aaggcttgag cgagggcgtg caagattccg aataccgcaa	3840
gcgacaggcc gatcatcgtc gcgctccagc gaaagcggc ctcgccgaaa atgaccaga	3900
gcgctgccgg cacctgtcct acgagttgca tgataaagaa gacagtcata agtgcggcga	3960
cgatagtcat gccccgcgcc caccggaagg agctgactgg gttgaaggct ctcaaggga	4020
tcggtcgaga tcccgtgcc taatgagtga gctaacttac attaattgcg ttgcgctcac	4080
tgcccgttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg	4140
cggggagagg cggtttgcgt attgggcgcc aggttggttt ttcttttcac cagtgcagc	4200
ggcaacagct gattgccctt caccgcctgg cctgagaga gttgcagcaa gcggtccacg	4260
ctggtttgcc ccagcaggcg aaaatcctgt ttgatggtgg ttaacggcgg gatataacat	4320
gagctgtcct cggtatcgtc gtatccact accgagatat ccgcaccaac gcgcagccc	4380
gactcggtaa tggcgcgcat tgcgccagc gccatctgat cgttggcaac cagcatcgca	4440
gtgggaacga tgcctcatt cagcatttgc atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc	4500
cagtcgcctt cccgttccgc tatcggtga atttgattgc gagtgcagata ttatgccag	4560
ccagccagac gcagacgcgc cgagacagaa cttaatgggc ccgtaacag cgcgatttgc	4620
tggtagacca atgcgaccag atgctccacg ccagtcgcg taccgtcttc atgggagaaa	4680
ataatactgt tgatgggtgt ctggtcagag acatcaagaa ataacgccg aacattagt	4740
caggcagctt ccacagcaat ggcatcctgg tcatccagcg gatagttaat gatcagcca	4800
ctgacgcgtt gcgcgagaag attgtgcacc gccgtttac aggccttcgac gccgttcgt	4860
tctaccatcg acaccaccac gctggcacc agttgatcgg cgcgagattt aatcgccgcg	4920
acaatttgcg acggcgcgtg cagggccaga ctggaggtgg caacgccaat cagcaacgac	4980
tgtttccccg ccagttgttg tgccacgcgg ttgggaatgt aattcagctc cgccatcgcc	5040
gcttccactt ttcccgctt ttctgcagaa acgtggctgg cctggttcac cagcgggaa	5100
acggtctgat aagagacacc ggcatactct gcgacatcgt ataacgttac tggtttcaca	5160

ttcaccaccc tgaattgact ctcttccggg cgtatcatg ccataccgcg aaaggttttg	5220
cgccattcga tgggtgccgg gatctcgacg ctctccctta tgcgactcct gcattaggaa	5280
gcagcccagt agtaggttga ggccgttgag caccgccgcc gcaaggaatg gtgcatgcaa	5340
ggagatggcg cccaacagtc ccccgccac ggggcctgcc accatacca cgccgaaaca	5400
agcgctcatg agcccgaagt ggcgagcccg atcttcccca tcggtgatgt cggcgatata	5460
ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgccggcc acgatgcgtc cggcgtagag	5520
gatcgagatc tcgatccgc gaaattaata cgactcacta taggggaatt gtgagcggat	5580
aacaattccc ctctagaaat aattttgttt aactttaaga aggagatata catatgaatt	5640
aacctcact aaagggcggc cgcaagtgc ctattctcta gaaagtatag gaattcatt	5700
ctaccgggta ggggaggcgc ttttccaag gcagtctgga gcatgcgctt tagcagcccc	5760
gctgggcact tggcgctaca caagtggcct ctggcctcgc acacattcca catccaccgg	5820
taggcgcaa ccggtccgt tctttggtgg ccccttcgcg ccacattcca ctctccct	5880
agtcaggaag ttcccccccg ccccgagct cgcgtcgtgc aggacgtgac aaatggaagt	5940
agcacgtctc actagtctcg tgcagatgga cagcacgct gagcaatgga agcgggtagg	6000
cctttggggc agcggccaat agcagctttg ctcttcgct tctgggctc agaggctggg	6060
aaggggtggg tccggggcg ggctcagggg cgggctcagg ggcgggcg gcgcccgaag	6120
gtctccgga ggcccgcat tctgcacgt tcaaaagcgc acgtctgccg cgctgttctc	6180
ctcttctca tctccgggc tttcgacctg cagcagcag tgttgacaat taatcatcgg	6240
catagtatat cgcatagta taatacgaca aggtgaggaa ctaaaccatg gagaaaaaa	6300
tactggata taccaccgtt gatataccc aatggcatcg taaagaacat tttaggcat	6360
ttcagtcagt tgcataatgt acctataacc agaccgttca gctggatatt acggcctttt	6420
taaagaccgt aaagaaaaat aagcacaagt tttatccgc ctttattcac attcttccc	6480
gcctgatgaa tgctcatccg gaattccgta tggcaatgaa agacggtgag ctggtgat	6540
gggatagtgt tcaccttgt tacaccgttt tccatgagca aactgaaacg ttttcatcgc	6600
tctggagtga ataccacgac gatttccggc agtttctaca catatattcg caagatgtgg	6660
cggtttacgg tgaaaacctg gcctatttcc ctaaagggtt tattgagaat atgttttctg	6720
tctcagcaa tccctgggtg agtttcacca gttttgattt aaacgtggcc aatatggaca	6780
acttcttcgc cccggttttc accatgggca aatattatac gcaaggcgac aaggtgctga	6840
tgccgtggc gattcaggtt catcatgccg tttgtgatgg cttccatgtc ggcagaatgc	6900
ttaatgaatt acaacagtac tgcgatgagt ggcaggcgcg ggcgtaagcg ggactctggg	6960
gttcgaataa agaccgacca agcgacgtct gagagctccc tggcgaattc ggtaccaata	7020

aaagagcttt attttcatga tctgtgtgtt ggtttttgtg tgcggcgcgg aagttcctat 7080

tctctagaaa gtataggaac ttctcgcgc cctatagtga gtcgtattag atcgcggccg 7140

cgcccttgac tatgccacat cctgagcaaa taattcaacc actaattgtg agcggataac 7200

aaaggaggta aaaaaacatg gtatcctgtt ctgcgccggg taagatttac ctgttcggtg 7260

aacacgccgt agtttatggc gaaactgcaa ttgcgtgtgc ggtggaactg cgtaccctg 7320

ttcgcgcgga actcaatgac tctatcacta ttcagagcca gatcgccgc accggtctgg 7380

atttcgaaaa gcacccttat gtgtctgcgg taattgagaa aatgcgcaaa tctattccta 7440

ttaacggtgt tttcttgacc gtcgattccg acatcccggg gggctccggg ctgggtagca 7500

gcgagccgt tactatcgcg tctattggig cgtgaacga gctgttcggc ttggcctca 7560

gcctgaaga aatcgctaaa ctgggccacg aaatcgaat taaagtacag ggtgccgcgt 7620

ccccaaccga tacgtatgtt tctaccttcg gcggcgtggt taccatcccg gaacgtcgca 7680

aactgaaaac tccggactgc ggcatgtga ttggcgatac cggcgttttc tcctccacca 7740

aagagttagt agctaacgta cgtcagctgc gcgaaagcta cccggatttg atcgaaccgc 7800

tgatgacctc tattggcaaa atctctcgta tcggcgaaca actggttctg tctggcgact 7860

acgcattcat cggccgcctg atgaacgtca accagggtct cctggacgcc ctgggcgtta 7920

acatcttaga actgagccag ctgatctatt ccgtcgtgc ggcaggtgcg ttggcgcta 7980

aaatcacggg cgctggcggc ggtggctgta tggttgcgt gaccgctccg gaaaaatgca 8040

accaagtggc agaagcggtg gcagcgctg gcggtaaagt gactatcact aaaccgaccg 8100

agcaaggtct gaaagtagat taa 8123

<210> 94

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 94

accaattgca cccggcaga 19

<210> 95

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400>	95	
gctaaagcgc atgtccaga c		21
<210>	96	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	96	
gactggcctc agatgaaagc		20
<210>	97	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	97	
caaacatgtg gcatgaaag		20
<210>	98	
<211>	52	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	98	
gggcccgttt aaactttaac tagactctgc agttagcgtt caaacggcag aa		52
<210>	99	
<211>	38	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	99	
cgcattcatg tcatgagatg tagcgtgtcc accgaaaa		38
<210>	100	
<211>	22	
<212>	DNA	

<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	100	
	acaatttcac acaggaaaca gc	22
<210>	101	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	101	
	ccaggcaaat tctgttttat cag	23
<210>	102	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	102	
	gcactgtctt tccgtctgct gc	22
<210>	103	
<211>	66	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	103	
	gcgaacgatg cataaaggag gtaaaaaaac atggtatcct gttctgcgcc gggtagatt	60
	tacctg	66
<210>	104	
<211>	48	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	104	
	gggcccgttt aaactttaac tagacttta tctactttca gaccttgc	48

<210>	105	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	105	
	gataagtaacg gctgcgctgc tacc	24
<210>	106	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	106	
	gacagcttat catcgactgc acg	23
<210>	107	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	107	
	caccatggta tcctgttctg cg	22
<210>	108	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	108	
	ttaatctact ttcagacctt gc	22
<210>	109	
<211>	81	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	109	

aaagtagccg aagatgacgg tttgtcacat ggagttggca ggatgtttga ttaaaagcaa	60
ttaaccctca ctaaagggcg g	81
<210> 110	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 110	
gatatacata tgaattaacc ctactaaag g	31
<210> 111	
<211> 125	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<220><221> misc_feature	
<222> (80)	
<223> n = A,T,C or G	
<400> 111	
gcatgcatga catgtttttt tacctccttt gttatccgct cacaattagt ggttgaatta	60
tttgctcagg atgtggcatn gtcaagggcg cggccgcgat ctaatacgac tcactatagg	120
gctcg	125
<210> 112	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 112	
aggctctcaa ctctgacatg ttttttctt ccttaagggt gcaggcctat cgcaaattag	60
cttaatctac tttcagacct tgctcgg	87
<210> 113	
<211> 3913	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Synthetic Construct

<400> 113

gcggccgcgc ccttgacgat gccacatcct gagcaaataa ttcaaccact aattgtgagc	60
ggataacaca aggaggaaac agccatggta tctgtttctg cgccgggtaa gatttacctg	120
ttcgggtgaac acgccgtagt ttatggcgaa actgcaattg cgtgtgcggt ggaactgcgt	180
accctgttgc gcgcggaact caatgactct atcactattc agagccagat cggccgcacc	240
ggtctggatt tcgaaaagca cccttatgtg tctgcggtaa ttgagaaaat gcgcaaatct	300
attcctatta acggtgtttt cttgaccgtc gattccgaca tcccgggtggg ctccggtctg	360
ggtagcagcg cagccgttac tatcgcgtct attggtgcgc tgaacgagct gttcggcttt	420
ggcctcagcc tgcaagaaat cgctaaactg ggccacgaaa tcgaaattaa agtacagggt	480
gccgcgtccc caaccgatac gtatgtttct accttcggcg gcgtggttac catcccggaa	540
cgtcgcaaac tgaaaactcc ggactgcggc attgtgattg gcgataccgg cgttttctcc	600
tccaccaaag agttagtagc taacgtacgt cagctgcgcg aaagctaccc ggatttgatc	660
gaaccgtga tgacctctat tggcaaaatc tctcgatcgc gcgaacaact ggttctgtct	720
ggcgactacg catccatcgg ccgcctgatg aacgtcaacc agggctctct ggacgcctg	780
ggcgttaaca tcttagaact gagccagctg atctattccg ctctgctggc aggtgcgttt	840
ggcgctaaaa tcacgggcgc tggcggcggt ggtgttatgg ttgcgctgac cgctccggaa	900
aaatgcaacc aagtggcaga agcggtagca ggcgctggcg gtaaagtac tatcactaaa	960
ccgaccgagc aaggtctgaa agtagattaa gccttgactt aatagctgct tatttcgccc	1020
ttatgttacc tagtaggagg aaaaaacat ggaaatgcgt caaccggctg tcgcaggtca	1080
attctacca ctgcgttgcg agaacctgga aaacgaactg aaacgtgct tcgaaggcct	1140
ggagatccgc gaacaagaag tgctgggcgc agtctgtccg cagccgggtt atatgtactc	1200
tggcaaaagt gcggcgcacg tctatgccac tctgccgga gctgatacct acgtaatctt	1260
cggcccgaac cacaccggt acggtagccc tgtctctgtg agccgtgaaa cttggaagac	1320
cccgttgggc aatatcgatg ttgacctgga actggcggac ggcttcctgg gttccatcgt	1380
agatgcggat gaactcggtc acaaatagca aactctatc gaagttcagc tgccgtttct	1440
gcaataccgt tttagacgag atttcaaaat tctgccaatc tgcatgggta tgcaagacga	1500
agaaaccgag gtcgaagtag gtaacctgct ggcgatctg atcagcgagt ccggtaaacg	1560
tgctgtgatc atcgcaagct ctgatttcac ccactatgag acggctgaac gtgccaagaa	1620
aatcgattcc gaagttattg attctatcct gaactttgac atctctggca tgtacgatcg	1680

cctgtatcgc cgtaacgcct ctgtttgcgg ttacggcccg atcaccgcta tgctgacggc	1740
aagcaaaaag ctgggcggct ctctgtcgac ttgtctgaaa tacgcaaaca gcggtgacgt	1800
gtccggtgat aaagacgctg tgggtgggcta cgccgccatc atcgttgagt aagctgatta	1860
aaggttgaac agataggatt tcgtcatgga tcctacaagg aggaaaaaaa catgaatgct	1920
tctaataaac cggtagttct gaaactgggt ggctctgcta ttaccgacaa aggtgcctac	1980
gaaggcgtag ttaaggaagc tgatttgctg cgcacgcac aggaagttag cggtttccgt	2040
ggcaagatga tcgtggttca tgggtctggt agcttcggcc atacgtacgc gaagaaatac	2100
ggcctggacc gtaccttcga cccagagggc gcaattgtta ctcatgaatc tgttaaaaag	2160
ctcgctcca aagttgtagg tgctctgaat agcttcggcg tgcgtgctat cgcggtgcat	2220
cctatggact gcgcagtatg ccgtaacggt cgtatcgaac cgatgtatct ggactccatc	2280
aagttaatgc tggaaaaagg tctggtgccg gttctgcacg gcgacgtcgc aatggatatt	2340
gaactgggca ctgtatcct gtccggtgat caaatcgttc cttacctggc caaagaactg	2400
ggatctccc gcctcggcct gggcagcgca gaggatggtg tgctggatat ggagggcaaa	2460
cctgtaccgg aaatcacccc agaaactttc gaagagtcc gccactgcat cgggtgttct	2520
ggttctactg atgtaaccgg tggcatgctg ggcaaagtgc tggaacttct ggaattgagc	2580
aaaaattctt ccattactag ctacattttc aacgtggta aagcagacaa catctaccgc	2640
tttctgaatg gtgagtcct cggcactcgc atcagcccgg acaagcgtgt ttaagctagt	2700
tattaaccta aatgctctaa accagttatg agctctacaa ggaggaaaaa aacatgatta	2760
acactaccag ccgccgcaaa attgaacacc tgaacctctg cgcagaatcc ccggttgaag	2820
cgcgtcaggt atctgccggc tttagaacg ttactctgat ccaccgcgt ttaccggagc	2880
tgaacatgga tgaactggac ctacagcttg atttctggg taaacgcac aaagcgcgt	2940
tcctgattgc gtctatcacg ggtggtcacc cagataccat cccggttaac gctgcgttg	3000
cagctgctgc tgaggagctg ggtgttgga tcggcgttgg ctctcagcgc gcggccattg	3060
atgatccgag ccaggaagac agcttcctgt tagtgctga tgaagccca gatgcgtttg	3120
tttatggcaa cgtcggcgca gcacagatcc gtcagtatgg tgttgaaggt gttgaaaaac	3180
tgatcgaat gattgacga gatgccttg caatccacct gaactttctg caagaagcgg	3240
tccaaccgga aggtgaccgc gacgcgaccg gtgacctgga catgattacc gaaatttct	3300
ctcagattaa aactccggtg atcgtgaaag aaaccggtgc aggcattagc cgtgaagatg	3360
cgattctgtt ccagaaagct ggcgtgagcg caatcgacgt tggcggcgcg ggcggcacct	3420

cctgggctgg cgtcagagtc taccgtgcta aagaaagccg tgactctgtt agcgagcgtt	3480
taggtgagct gttttgggat ttccggcattc cgacggtagc ttctctgatt gaatcccgcg	3540
tttcttggc gctgatcgca accggcggta tccgtaacgg tctggacatt gctaaaagca	3600
ttgctctcgg cgcaagcgtt gccagcgccg ctctgccgtt cgttgggtccg tccctggagg	3660
gcaaagaatc cgttgtacct gtgctgagct gcatgctgga agaattttaa gcagcaatgt	3720
ttttgtgcgg ttgcggcaac atcaaagacc tgcacaactc tccagtagtg gtaactggtt	3780
ggaccgcga atacctggag cagcgcgggt ttaacgttaa ggacctctcc ctgccgggca	3840
acgtctgta agcttcaacg cgtctacaaa taaaaaaggc acgtcagatg acgtgccttt	3900
tttcttgtct aga	3913
<210> 114	
<211> 6648	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 114	
aaggcgagc tcaacgatcc ggctgctaac aaagcccgaa aggaagctga gttggctgct	60
gccaccgtg agcaataact agcataaccc cttggggcct ctaaacgggt cttaggaggt	120
tttttctga aaggaggaac tataccgga tatcccgaa gaggcccggc agtaccggca	180
taaccaagcc tatgcctaca gcatccaggg tgacgggtgcc gaggatgacg atgagcgcat	240
tgtagattt catacacggt gcctgactgc gtagcaatt taactgtgat aaactaccgc	300
attaaagctt atcgatgata agctgtcaaa catgagaatt aattcttgaa gacgaaaggg	360
cctcgtgata cgcctatfff tataggttaa tgcctgata ataattggtt cttagacgtc	420
aggtggcact tticggggaa atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatfff tctaaataca	480
ttcaaatatg tatccgtcca tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa	540
aaggaagagt atgattgaac aagatggatt gcacgcaggt tctccggccg cttaggtgga	600
gaggctattc ggctatgact gggcacaact gacaatcggc tgctctgatg ccgccgtgtt	660
ccggctgtca gcgcaggggc gcccggttct ttttgtcaag accgacctgt ccggtgccct	720
gaatgaactg caggacgagg cagcgcggct atcgtggctg gccacgacgg gcgttccttg	780
cgcagctgtg ctgcacgtt tcaactgaag gggaaggac tggctgctat tgggcgaagt	840
gccggggcag gatctctgt catctcact tgctctgcc gagaaagtat ccatcatggc	900
tgatgcaatg cggcggctgc atacgttga tccggctacc tgccattcg accaccaagc	960

gaaacatcgc atcgagcggg cacgtactcg gatggaagcc ggtcttgtcg atcaggatga	1020
tctggacgaa gagcatcagg ggctcgcgcc agccgaactg ttcgccaggc tcaaggcgcg	1080
catgccccgac ggcgaggatc tcgtcgtgac acatggcgat gcctgcttgc cgaatatcat	1140
ggtggaaaat ggccgctttt ctggattcat cgactgtggc cggctgggtg tggcggaccg	1200
ctatcaggac atagcgttgg ctaccctga tattgctgaa gagcttggcg gcgaatgggc	1260
tgaccgcttc ctctgtcttt acggtatcgc cgctcccgat tcgcagcgca tcgccttcta	1320
tcgccttctt gacgagtctt tctgagcggg actctggggg tcgaaatgac cgaccaagcg	1380
acgcctaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt	1440
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt	1500
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt	1560
gagatccctt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgtaccag	1620
cgggtggtttg ttgcccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca	1680
gcagagcgca gataccaaat actgtccttc tagttagacc gtagttaggc caccacttca	1740
agaactctgt agcacccct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg	1800
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg	1860
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct	1920
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga	1980
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc	2040
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg	2100
agcgtcgatt ttigtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg	2160
cggccttttt acggttcttg gccttttgct ggctttttgc tcacatgttc tttctgcgt	2220
tatccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc	2280
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcgggaagag cgcctgatgc	2340
ggtattttct ctttacgat ctgtcgggta ttacacacg caatgggtga ctctcagtac	2400
aatctgctct gatgccgat agttaagcca gtatacactc cgctatcgct acgtgactgg	2460
glatggctg cggcccgaca cccccaaca cccgtgacg cgccctgacg ggcttgtctg	2520
ctcccgcat ccgcttacga acaagctgtg accgtctccg ggagctgcat gtgtcagagg	2580
ttttaccgt catcaccgaa acgcgcgagg cagctgcggg aaagctcatc agcgtggtcg	2640
tgaagcgatt cacagatgtc tgcctgttca tccgcgtcca gctcgttag tttctccaga	2700

agcggttaatg tctggcttct gataaagcgg gccatgttaa gggcgggtttt ttcctgtttg	2760
gtcactgatg cctccgtgta aggggggattt ctgttcatgg gggtaatgat accgatgaaa	2820
cgagagagga tgctcacgat acgggttact gatgatgaac atgcccgggtt actggaacgt	2880
tgtgagggtg aacaactggc ggtatggatg cggcggggacc agagaaaaat cactcagggt	2940
caatgccagc gcttcgttaa tacagatgta ggtgttccac agggtagcca gcagcatcct	3000
gcgatgcaga tccggaacat aatggtgcag ggcgtgact tccgcgtttc cagactttac	3060
gaaacacgga aaccgaagac cattcatgtt gttgctcagg tcgcagacgt ttgacagcag	3120
cagtcgcttc acgttcgctc gcgtatcggg gattcattct gctaaccagt aaggcaaccc	3180
cgccagccta gccgggtcct caacgacagg agcacgatca tgcgcaccgg tggccaggac	3240
ccaacgctgc ccgagatgcg ccgctgtcgg ctgctggaga tggcggacgc gatggatatg	3300
ttctgccaa ggttggtttg cgcattcaca gtctccgca agaattgatt ggctccaatt	3360
cttggagtgg tgaatccgtt agcgagggtc cgcggcttc cattcaggtc gaggtggccc	3420
ggctccatgc accgcgacgc aacgcgggga ggcagacaag gtataggcg gcgcctacaa	3480
tccatgccaa cccgttccat gtgctcgccg aggcggcata aatcgccgtg acgatcagcg	3540
gtccaatgat cgaagttagg ctggtaagag ccgcgagcga tccttgaagc tgtccctgat	3600
ggtcgtcatc tacctgcctg gacagcatgg cctgcaacgc gggcatcccg atgccgccg	3660
aagcgagaag aatcataatg gggaaggcca tccagcctcg cgtcgcaac gccagcaaga	3720
cgtagcccag cgcgtcgcc gccatgccgg cgataatggc ctgcttctcg ccgaaacgtt	3780
tgggtggcggg accagtgcg aaggcttgag cgagggcgtg caagattccg aataccgcaa	3840
gcgacaggcc gatcatcgtc gcgtccagc gaaagcggc ctcgccgaaa atgaccaga	3900
gcgtgccgg cacctgtcct acgagttgca tgataaagaa gacagtcata agtgcggcga	3960
cgatagtcat gccccgcgc caccggaagg agctgactgg gttgaaggt ctcaaggga	4020
tcggtcgaga tcccgtgccc taatgagtga gctaacttac attaatgctg ttgcgtcac	4080
tgcccgcttt ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg	4140
cggggagagg cggtttgcgt attgggcgcc aggggtggtt ttcttttcac cagtgcagc	4200
ggcaacagct gattgccctt caccgcctgg cctgagaga gttgcagcaa gcggtccacg	4260
ctggtttgcc ccagcaggcg aaaatcctgt ttgatgttgg ttaacggcgg gatataacat	4320
gagctgtctt cggatcgtc gtatccact accgagatat ccgcaccaac gcgcagcccc	4380
gactcggtaa tgccgcgcat tgcgcccagc gccatctgat cgttggcaac cagcatcgca	4440
gtgggaacga tgcctcatt cagcatttgc atggtttgtt gaaaaccgga catggcactc	4500
cagtcgcctt cccgttccgc tatcggtga atttgattgc gattgagata ttatgccag	4560

ccagccagac gcagacgcgc cgagacagaa cttaatgggc ccgctaacag cgcgatttgc	4620
tggtagacca atgcgaccac atgtccacg cccagtcgcg taccgtcttc atgggagaaa	4680
ataatactgt tgatgggtgt ctggtcagag acatcaagaa ataacgccgg aacattagt	4740
caggcagctt ccacagcaat ggcatcctgg tcatccagcg gatagttaat gatcagccca	4800
ctgacgcgtt gcgcgagaag attgtgcacc gccgctttac aggccttcgac gccgcttcgt	4860
tctaccatcg acaccaccac gctggcacc agttgatcgg cgcgagattt aatcgccgcg	4920
acaatttgcg acggcgcggtg cagggccaga ctggagggtg caacccaat cagcaacgac	4980
tgtttgcccc ccagttgttg tgccacgcgg ttgggaatgt aattcagctc cgccatcgcc	5040
gcttccactt ttccccgctt ttctgcagaa acgtggctgg cctggttcac cacgcgggaa	5100
acggtctgat aagagacacc ggcatactct gcgacatcgt ataacgttac tggtttcaca	5160
ttcaccaccc tgaattgact ctcttcgggg cgctatcatg ccataccgcg aaaggttttg	5220
cgccattcga tgggtgtcgg gatctcgacg ctctccctta tgcgactcct gcattaggaa	5280
gcagcccagt agtaggttga ggccgttgag caccgccgcc gcaaggaatg gtgcatgcaa	5340
ggagatggcg cccaacagtc ccccgccac ggggcctgcc accatacca cgccgaaaca	5400
agcgctcatg agcccgaagt ggagagcccg atcttccca tcggtgatgt cggcgatata	5460
ggcgccagca accgcacctg tggcgccggt gatgccggcc acgatgcgtc cggcgtagag	5520
gatcgagatc tcgatccgc gaaattaata cgactcacta taggggaatt gtgagcggat	5580
aacaattccc ctctagaaat aattttgttt aactttaaga aggagatata catatgcggg	5640
gttctcatca tcatcatcat catggtatgg ctagcatgac tggtagacag caaatgggtc	5700
gggatctgta cgacgatgac gataaggatc atcccttcac catggtatcc tgttctgcgc	5760
cgggtaagat ttacctgttc ggtgaacacg ccgtagttaa tggcgaaact gcaattgcgt	5820
gtgcggtgga actgcgtacc cgtgttcgcg cggaactcaa tgactctatc actattcaga	5880
gccagatcgg ccgcaccggt ctggatttcg aaaagcacc ttatgtgtct gcggtaatg	5940
agaaaatgcg caaatctatt cctattaacg gtgttttctt gaccgtcgat tccgacatcc	6000
cggtagggctc cggctcgggt agcagcgag ccgttactat cgcgtctatt ggtgcgtga	6060
acgagctgtt cggttttggc ctacgcctgc aagaaatgc taaactgggc cacgaaatcg	6120
aaattaaagt acagggtgcc gcgtcccaa ccgatacgtg tgtttctacc ttcggcgggc	6180
tggttacat cccggaacgt cgcaactga aaactccgga ctgcggcatt gtgattggcg	6240
ataccggcgt tttctctcc accaaagagt tagtagctaa cgtacgtcag ctgcgcgaaa	6300
gtacccgga tttgatcga ccgctgatga cctctattgg caaaatctct cgtatcgcg	6360
aacaactggt tctgttctgg cgactacgca tccatcggcc gcctgatgaa cgtcaaccag	6420

ggctctcctgg acgccctggg cgtaaacatc ttagaactga gccagctgat ctattccgct 6480

cgtagcggcag gtgcgttttg cgctaaaatc acgggcgctg gcggcggtgg ctgtatggtt 6540

gcgctgaccg ctccggaaaa atgcaaccaa gtggcagaag cggtagcagg cgctggcggc 6600

aaagtgacta tcactaaacc gaccgagcaa ggtctgaaag tagattaa 6648

<210> 115

<211> 67

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 115

accgccaaaa gcgactaatt ttagctgtta cagtcagttg aattaaccct cactaaaggg 60

cggccgc 67

<210> 116

<211> 152

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 116

gctggcgata taaactgttt gcttcatgaa tgctccttg ggttacctcc gggaaacgcg 60

gttgatttgt ttagtggttg aattatttgc tcaggatgtg gcatagtcaa gggcgtgacg 120

gctcgctaat acgactcact atagggctcg ag 152

<210> 117

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 117

cttgatatct tagtgtgcgt taaccaccac 30

<210> 118

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	118	
cgtgaatttg ctggctctca g		21
<210>	119	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	119	
ggtttagttc ctcaccttgt c		21
<210>	120	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	120	
actgaaacgt tttcatcgct c		21
<210>	121	
<211>	26	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	121	
accgcaaaa gcgactaatt ttagct		26
<210>	122	
<211>	7519	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	Synthetic Construct	
<400>	122	
ctcgggccgt ctcttgggct tgatcgccct tcttgcat ctcacgcgt cctgcggcgg		60
cctgtagggc aggtcatatac ccctgccgaa ccgcttttgt cagccggtcg gccacggctt		120
ccggcgtctc aacgcgttt gagattcca gcttttcggc caatccctgc ggtgcatagg		180

cgctggctc gaccgcttgc gggctgatgg tgacgtggcc cactgggtggc cgctccaggg	240
cctcgtagaa cgctgaatg cgctgtgac gtgccttgc gccctcgatg ccccggttga	300
gccctagatc ggccacagcg gccgcaaagc tggctctggc gcgggtcatc tgcgctttgt	360
tgccgatgaa ctcttggcc gacagcctgc cgtcctgcgt cagcggcacc acgaacgcgg	420
tcatgtgcgg gctggtttcg tcacggtgga tgcggccgt cagcatgcga tccgccccgt	480
acttgccgc cagccacttg tgcgccttct cgaagaacgc cgctgctgt tcttgctgg	540
ccgacttcca ccattccggg ctggccgtca tgacgtactc gaccgccaac acagctcct	600
tgcgccgtt ctctggcagc aactcgcga gtgcggccat cgcttcacg gtgctgctgg	660
ccgccagtg ctgcttctt ggcgtcctgc tggcgtcagc gttgggcgtc tcgcgtcgc	720
ggtaggcgtg cttagactg gccgccacgt tgccatttt cgccagcttc ttgcatcga	780
tgatcgcta tgcgccatg cctgccctc ctttttggtg tccaaccgac tcgacggggg	840
cagcgcaagg cgtgacctc ggcgggccac tcaatgcttg agtatactca ctagactttg	900
cttcgcaaag tcgtgaccgc ctacggcggc tgcggcggc tacgggcttg ctctccgggc	960
ttcgccctgc gcggtegtg cgctcccttg ccagcccggtg gatatgtgga cgatggccgc	1020
gagcgccac cggtggctc gcttcgctcg gcccggtgac aacctgctg gacaagctga	1080
tggacaggct gcgctgccc acgagcttga ccacagggat tgcccaccgg ctaccagcc	1140
ttcgaccaca taccacagg ctccaactgc gcggcctgcg gccttgcccc atcaattttt	1200
ttaattttct ctggggaaaa gcctccggc tgcggcctgc gcgcttcgt tgcgggttg	1260
acaccaagtg gaaggcgggt caaggctgc gcagcgaccg cgcagcggt tggccttgac	1320
gcgctggaa cgacccaagc ctatgcgagt gggggcagtc gaaggcgaag cccgcccgcc	1380
tgcccccgga gcctcacggc ggcgagtgcg ggggttccaa gggggcagcg ccaccttggg	1440
caaggccgaa ggccgcgcag tcgatcaaca agccccggag gggccacttt ttgccggagg	1500
gggagccgcg ccgaaggcgt gggggaacct cgcagggtg cccttctttg ggcaccaaag	1560
aactagatat agggcgaaat gcgaaagact taaaaatcaa caacttaaaa aaggggggta	1620
cgcaacagct cattgcggca cccccgcaa tagctcattg cgtaggttaa agaaaatctg	1680
taattgactg ccacttttac gcaacgata attgtgtcg cgctgccgaa aagttgcagc	1740
tgattgcga tggtgccga accgtgcggc accctaccgc atggagataa gcatggccac	1800
gcagtccaga gaaatcgga ttcaagccaa gaacaagccc ggtcactggg tgcaaacgga	1860
acgcaaagcg catgaggcgt gggccgggct tattgcgagg aaaccacgg cggcaatgct	1920
gtgcatcac ctctggcgc agatgggcca ccagaagcc gtggtggtca gccagaagac	1980
actttccaag ctcatcgac gttctttgcg gacggtccaa tacgcagtca aggacttgg	2040

ggccgagcgc tggatctccg tcgtgaagct caacggcccc ggcaccgtgt cggcctacgt	2100
ggtcaatgac cgcgtggcgt ggggccagcc ccgcgaccag ttgcgcctgt cgggtgttcag	2160
tgccgccgtg gtggttgatc acgacgacca ggacgaatcg ctgttggggc atggcgacct	2220
gcgccgcatac ccgacctgt atccgggcga gcagcaacta ccgaccggcc ccggcgagga	2280
gccgcccagc cagccccgga ttccgggcat ggaaccagac ctgccagcct tgaccgaaac	2340
ggaggaatgg gaacggcgcg ggcagcagcg cctgccgatg cccgatgagc cgtgttttct	2400
ggacgatggc gagccgttgg agccgccgac acgggtcacg ctgccgcgcc ggtagcactt	2460
gggttgcga gcaaccgta agtgcgctgt tccagactat cggctgtagc cgcctcgccg	2520
ccctatacct tgctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga	2580
cctgaatgga agccggcggc acctcgctaa cggattcacc gttttatca ggctctggga	2640
ggcagaataa atgatcatat cgtcaattat tacctccacg gggagagcct gagcaaaactg	2700
gcctcaggca ttigagaagc acacggtcac actgcttccg gtagtcaata aaccggtaaa	2760
ccagcaatag acataagcgg ctatttaacg accctgcct gaaccgacga ccgggtcgaa	2820
tttgctttcg aatttctgcc attcatccgc ttattatcac ttattcaggc gtagcaccag	2880
gcgtttaagg gcaccaataa ctgccttaaa aaaattacgc cccgccctgc cactcatcgc	2940
agtcggccta ttggttaaaa aatgagctga ttaacaaaa atttaacgcg aattttaaca	3000
aaatattaac gcttacaatt tccattcgcc attcaggctg cgcaactgtt gggaaggcg	3060
atcggtgccg gcctcttcgc tattacgcca gctggcgaaa gggggatgtg ctgcaaggcg	3120
attaagttgg gtaacgccag ggttttccca gtcacgacgt tgtaaacga cggccagtga	3180
gcgcgcgtaa tacgactcac tataggcgga attggagctc caccgcggtg gcggccgctc	3240
tagaactagt ggatccccg ggctgcatgc tcgagcggcc gccagtgtga tggatatctg	3300
cagaattcgc cttctttgat atcttagtgt gcgttaacca ccaccacat tggteccctgc	3360
ccgaccgcat agcggccttt ttcattgcagt agcccctgct cgccaacaat ttcgtatacc	3420
gagatgtggt gagatttttg cccggcggca atcagatact tgccgctgtg atcaacattg	3480
aagccgcgcg gctgggtttc cgttggctgg aagccttctt tactcaacac gctgccatct	3540
tccgaaacgc tgaaacggg aatcaggctg gcggtacggt cgcaggcgta taaatggcga	3600
ccatccgggg tgatatgaat atcagccgcc caacgggtgt cggagaagtt ttccggcatc	3660
atatccagcg tciggacaca ttcgatattia ccgtgcggat ctttcagttc ccagacatcc	3720
actgagctgt ttaactcatt gacgaatac gcataattgt cgtttggatg gaataccata	3780
tgacgcgggc cgccccctc aacggtggtc acttccgcag ggtcctgcgc cacgagatga	3840

ccatcatcgc tgaccgtaaa caggcaaatg cgatcctgct ttaatgccgg aaccacagc	3900
gtacggttgt ccggtgagat attggcggaa tggcaaccgt ccagcccctc gaccacatcg	3960
acgacgcca ctggcaggcc atcttccaga cgcgttacgc tcacgttacc cgcattgtaa	4020
gaacctacaa agacaaactg cccctgggtga tcggtggaaa tatgcgtcgg actaccggc	4080
agcgagact ctgcggcaaa ggtcagtcgc ccatcgtccg gggcgatacg atacgccagg	4140
acgcgaaact cagggcgaac accaacaatag agataacgtt tgtccgggct gaccaccatc	4200
ggctgcacct gccccggcac atcgacaacc tgtgtcagcg tcagtcgcc ttcattgattc	4260
agattccaga cgtgaatttg ctggctctca gggctggcga tataaactgt ttgcttcattg	4320
aatgctcctt tgggttacct ccgggaaacg cgggttgattt gtttagtggt tgaattattt	4380
gctcaggatg tggcatagtc aagggcgtga cgctcgccta atacaactca ctatagggt	4440
cgaggaaagt cctatacttt ctagagaata ggaacttccg cgccgcacac aaaaaccaac	4500
acacagatca tgaataaaa gctcttttat tggtagcgaa ttcgccaggg agctctcaga	4560
cgtcgcttgg tcggtcttta ttcgaacccc agagtccgc ttacgccccg cctgcccact	4620
catcgagta ctgttgtaat tcattaagca ttctgccgac atggaagcca tcacaaacgg	4680
catgatgaac ctgaatcgcc agcggcatca gcacctgtc gccttgcgta taatatttgc	4740
ccatggtgaa aacgggggag aagaagttgt ccatattggc cacgtttaaa tcaaaactgg	4800
tgaactcac ccagggattg gctgagacga aaaacatatt ctcaataaac ctttaggga	4860
aatagccag gttttcaccg taacacgcca catcttgcga atatatgtgt agaaactgcc	4920
ggaaatcgtc gtggtattca ctccagagcg atgaaaacgt ttcagtttgc tcatggaaaa	4980
cgggtgaaca aggggtgaaca ctatccata tcaccagctc accgtcttcc attgccatac	5040
ggaattccgg atgagcattc atcaggcggg caagaatgtg aataaaggcc ggataaaact	5100
tgtgcttatt tttctttacg gtctttaaaa aggcctgaat atccagctga acggtctggt	5160
tataggtaca ttgagcaact gactgaaatg cctcaaatg ttccttacga tgccattggg	5220
atatatcaac ggtggtatat ccagtattt tttctccat ggtttagtcc ctacattgt	5280
cgtattatac tatgccgata tactatgccg atgattaatt gtcaacacgt gctgctcag	5340
gtcgaaaggc ccggagatga ggaagaggag aacagcgcgg cagacgtgcg cttttgaagc	5400
gtgcagaatg ccgggctccc ggaggacctt cgggcgcccg cccgcccct gagccgccc	5460
ctgagccgc ccccgaccac acccttccc agcctctgag ccagaaaagc gaaggagcaa	5520
agctgctatt ggccgtgcc ccaaaggcct acccgcttcc attgctcagc ggtgctgtcc	5580

atctgcacga gactagttag acgtgctact tccatttgtc acgtcctgca cgacgcgagc	5640
tgcggggcgg gggggaactt cctgactagg ggaggagtgg aaggtggcgc gaaggggcca	5700
ccaaagaacg gagccggttg ggcctaccg gtggatgttg aatgtgtgcg aggccagagg	5760
ccacttgtgt agcgccaagt gcccgagcgg gctgctaaag cgcatgctcc agactgcctt	5820
gggaaaagcg cctcccctac ccggtagaat gaagttccta tactttctag agaataggaa	5880
cttcgcggcc gccctttagt gagggttaat tcaactgact gtaacagcta aaattagtcg	5940
cttttggcgg taaggcgaa ttccagcaca ctggcgccg ttactagtgg atccgagctc	6000
ggtaccaagc ttgatgcagg aattcgatat caagcttata gataccgtcg acctcgaggg	6060
ggggcccggt acccagcttt tgttcccttt agtgagggtt aattgcgcgc ttggcgtaat	6120
catggtcata gctgtttcct gtgtgaaatt gttatccgct cacaattcca cacaacatac	6180
gagccggaag cataaagtgt aaagcctggg gtgcctaatg agtgagctaa ctacattaa	6240
ttgcgttgcg ctactgccc gctttccagt cgggaaacct gtcgtgccag ctgcattaat	6300
gaatcgcca acgcgcgggg agagcggtt tgcgtattgg gcgcatgcat aaaaactgtt	6360
gtaattcatt aagcattctg ccgacatgga agccatcaca aacggcatga tgaacctgaa	6420
tcgccagcgg catcagcacc ttgtgcctt gcgtataata tttgcccatg gacgcacacc	6480
gtggaaacgg atgaaggcac gaaccagtt gacataagcc tgttcggttc gtaaaactgta	6540
atgcaagtag cgtatgcgt cagcaactg gtccagaacc ttgaccgaac gcagcggtgg	6600
taacggcgca gtggcggtt tcatggcttg ttatgactgt tttttgtac agtctatgcc	6660
tcgggcatcc aagcagcaag cgcgttacgc cgtgggtcga tgtttgatgt tatggagcag	6720
caacgatgtt acgcagcagc aacgatgtta cgcagcaggg cagtgcctt aaaacaaagt	6780
taggtggctc aagtatgggc atcattcgca catgtaggct cggccctgac caagtcaat	6840
ccatgcgggc tgcctttgat cttttcggtc gtgagttcgg agacgtagcc acctactccc	6900
aacatcagcc ggactccgat tacctcggga acttgctccg tagtaagaca ttcacgcgc	6960
ttgtgcctt cgaccaagaa gcggttgttg gcgtctcgc ggcttacgtt ctgccaggt	7020
ttgagcagcc gcgtagttag atctatatct atgatctgc agtctccgc gagcaccgga	7080
ggcagggcat tgccaccg ctcacatc tctcaagca tgaggccaac gcgttgggtg	7140
cttatgtgat ctacgtgaa cgagattacg gtgacgatcc cgcagtggct ctctatacaa	7200
agttgggcat acgggaagaa gtgatgcact ttgatatcga cccaagtacc gccacctaac	7260
aattcgttca agccgagatc ggcttcccgg ccgcggagtt gttcggtaaa ttgtcacaac	7320
gccgccaggt ggcacttttc ggggaaatgt gcgcgccgc gttcctgctg gcgtgggccc	7380
tgtttctggc gctggacttc ccgtgttcc gtcagcagct tttcgccac gcccttgatg	7440

atcgcgccgg ccttggcctg catatcccga ttcaacggcc ccagggcgtc cagaacgggc	7500
ttcaggcgct cccgaaggt	7519
<210> 123	
<211> 4395	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400>	
123	
tagaaaaact catcgagcat caaatgaaac tgcaatttat tcatatcagg attatcaata	60
ccatatTTTT gaaaaagccg tttctgtaat gaaggagaaa actcaccgag gcagttccat	120
aggatggcaa gatcctggta tcggtctgcg attccgactc gtccaacatc aatacaacct	180
attaatttcc cctcgtcaaa aataagggtta tcaagtgaga aatcaccatg agtgacgact	240
gaatccggtg agaattggcaa aagtttatgc atttctttcc agacttggtc aacaggccag	300
ccattacgct cgtcatcaaa atcactcgca tcaaccaaac cgttattcat tcgtgattgc	360
gcctgagcga ggcgaaatac gcgatcgctg ttaaaaggac aattacaaac aggaatcgag	420
tgcaaccggc gcaggaacac tgccagcgca tcaacaatat tttcacctga atcaggatat	480
tcttctaata cctggaacgc tgtttttccg gggatcgagc tggtagtaa ccatgcatca	540
tcaggagtac ggataaaatg cttgatggtc ggaagtggca taaattccgt cagccagttt	600
agtctgacca tctcatctgt aacatcattg gcaacgctac ctttgccatg tttcagaaac	660
aactctggcg catcgggctt cccatacaag cgatagattg tcgcacctga ttgcccgaca	720
ttatcgcgag cccatttata cccatataaa tcagcatcca tgttggattt taatcgcggc	780
ctcgacgttt cccgttgaat atggctcata ttcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt	840
tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaaca	900
ataggggtca gtgttacaac caattaacca attctgaaca ttatcgcgag cccatttata	960
cctgaatatg gtcataaca ccccttggtt gcctggcggc agtagcgcg tggteccacc	1020
tgaccccatg ccgaactcag aagtgaacg ccgtagcgcc gatggtagtg tggggactcc	1080
ccatgcgaga gtagggaact gccaggcatc aaataaaacg aaaggctcag tcgaaagact	1140
gggcctttcg cccgggctaa ttaggggtg tcgcccttcg attgacggtt acgggatcct	1200
cacacgtaca tcagctggtt gatggggaac gggtcgatga gcagcagctt gatgcggttc	1260
tcggtggcgt aatccgggcg gccagcccg tccccatatt ggtaggtgca gtggctcacg	1320
cgggccatgt tcacggcgat ctccatgaac gccttcggca gcagggtgct gtccgacacg	1380

cgctcgcggt tcattttctt ccactcggcg tcgatcagct tgcgcagctc ttcgcgggcc	1440
tgttcctcgc tcgtgccgc gttctcgtgc atgtagctga tgatgctgtt ggtggtttcg	1500
ccgcgttcga gttccgccgc cgaggtcgcc agatcgttgc acagccgaaa gatcacgcag	1560
gacgagcgca ccaggccgtg gaagtcggtc agggagcgga gggcgtggtc cgagatatct	1620
tcctgtctgt ggcagaccga gaagtagctc ggcgccagca gcgcgacccc gctggaggac	1680
acgctggcgt tctccaggta cttgctgaag gcggggatga tcttgttatt gctccacttg	1740
gcttcttgca ggaaggcctt gcacagtctc cgccagcttt tggtcagata gtcagggtta	1800
ttgtggccct tctccttcag gatggagtag gacgtgtcgt tcacggtgtt gtacagggcc	1860
aggaagcaca gcttcatata gtcgggcagc gtgttgatgg cgttcacgtc ccagcgttcc	1920
accgcgtcgg tgaagagctg cagttcgtcc agggtagcgt acacgtcata gacgtcatcg	1980
ataatggtga ccagaccgaa catcttggtg acggccttgc ggcatcgcga gaactcgggg	2040
tccggcgcca tgcccagcgc ccagaagtac acttccatca ggcggtcccg cacgaaatcc	2100
agcttgctgg cgaggcccat ctcggtccac caccggctca ggtcctgcag ctctttttgg	2160
tgcagggtct ggacatgtt gaaatcgagt ttggccagtt ccagcagcag ctggtgatgc	2220
ggctccttgg gttcgtactt gtccagaaac caccgcgcct ccaggcggtg caggcgttga	2280
tgatacgga gctccagcgc gtgggacacc tgctcgcca ccttcgtgtt gatccctcc	2340
ttgaggttgt tcttcagatg ggtgatgctg aaggtagcgg cctcctccag cagattttcg	2400
ccttcgaaac cgagatagct ggccctgtac aggtctagca ggccctgcac gtcacccttc	2460
agttccccgg agaagcccc tctttgtcc ttgaagcgt cgaacacgtc ctggtcacc	2520
tcaaagccat gctgccgcag caggcggaag ctcaggcggtg tcgctgcag atcgcttttg	2580
ttcttcttat tctcgtccag caggacgatg ttctccagcg ccttgatgat atctttctca	2640
aacttgtagg tcaggccag gcgctgcacg tcgtcgatga gctccagcag gtcaggggc	2700
tgggtgtcca cccggttgat catgcaacgc acctcctct ccagcttggt ggcttctct	2760
tcgagcttct ccaccttcag gtcgttttcc aggtctgca ggaactcgaa gttccacagg	2820
ttgggtggt agttcgcgga ccgacggcta ttatgctcgg tgatctgggt gaactggctg	2880
ctggtggcgc acatatgtat atctccttct taaagttaa caagcttaag atgttcagcg	2940
acaagggcga cacaaaattt attctaaatg cataataaat actgataaca tcttatagtt	3000
tgtattatat ttgtattat cgttgacatg tataattttg atatcaaaaa ctgattttcc	3060
ctttattatt ttcgagattt attttcttaa ttctctttaa caaactagaa atattgtata	3120
tacaaaaaat cataaataat agatgaatag ttaattata ggtgttcac aatcgaaaaa	3180
gcaacgtatc ttatttaaag tgcgttgctt tttctcatt tataaggta aataattctc	3240

atatatcaag caaagtgaca ggcgccctta aatattctga caaatgctct ttcctaaac	3300
tcccccata aaaaaacccg ccgaagcggg tttttacgtt atttgcggat taacgattac	3360
tcgttatcag aaccgcccag ggggcccag cttaaactg gccgtcgttt tacaacacag	3420
aaagagtttg tagaaacgca aaaaggccat ccgtcagggg ccttctgctt agtttgatgc	3480
ctggcagttc cctactctcg ccttccgtt cctcgtcac tgactcgtg cgtcggtcg	3540
ttcggctgcg gcgagcggt tcaactcact caaaggcggg aatacggta tccacagaat	3600
caggggataa cgcaggaaag aacatgtgag caaaaggcca gcaaaaggcc aggaaccgta	3660
aaaaggccgc gttgctggcg tttttccata ggctccgcc ccctgacgag catcacaaaa	3720
atcgacgctc aagtcagagg tggcgaaacc cgacaggact ataaagatac caggcgtttc	3780
cccttgaag ctccctcgtg cgtctctctg ttccgacct gccgttacc ggatacctgt	3840
ccgctttct ccttcggga agcgtggcg tttctcatag ctacgctgt aggtatctca	3900
gttcggtgta ggtcgttcgc tccaagctgg gctgtgtgca cgaaccccc gttcagcccg	3960
accgctgcgc cttatccgtt aactatctc ttgagtccaa cccgtaaga cactacttat	4020
cgccactggc agcagccact ggtaacagga ttagcagagc gaggtatgta ggcggtgcta	4080
cagagtctt gaagtggagg gctaactacg gctacactag aagaacagta tttggtatct	4140
gcgtctgct gaagccagtt accttcggaa aaagagttg tagctcttga tccggcaaac	4200
aaaccaccgc tggtagcggg gggttttttg ttgcaagca gcagattacg cgcagaaaaa	4260
aaggatctca agaagatcct ttgatcttt ctacggggtc tgacgctcag tggaacgacg	4320
cgcgctaac tcacgttaag ggattttggt catgagcttg cgccgtccg tcaagtcagc	4380
gtaatgctct gcttt	4395