

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0055440

(43) 공개일자 2021년05월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 1/20 (2006.01) A01N 63/10 (2020.01)

C12R 1/465 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 1/20 (2021.05)

A01N 63/10 (2020.01)

(21) 출원번호 10-2019-0141882

(22) 출원일자 2019년11월07일

심사청구일자 2020년09월23일

(71) 출원인

인하대학교 산학협력단

인천광역시 미추홀구 인하로 100(용현동, 인하대학교)

(72) 발명자

김웅수

서울특별시 강남구 언주로30길 26, G동 5006호 (도곡동, 타워팰리스)

박홍순

경기도 안산시 단원구 광덕대로 155, 617호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인태백

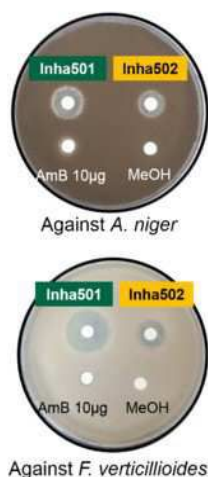
전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 발명의 명칭 다양한 생리활성을 갖는 신규 방선균 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 다양한 생리활성을 갖는 신규 방선균 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명에서는 항진균 활성이 우수한 폴리엔 화합물을 생산하는 방선균을 유전체 검색기술로 선별한 후, NGS 기반으로 유전체를 해독하여 해당 생리활성물질의 특성을 분자수준에서 규명하고, 이들 유용 방선균 (혹은 방선균 유래 생리활성물질)을 생물농약으로 실용화하기 위한 배양공정 최적화를 수행하였다. 이에, 본 발명의 *Streptomyces* sp. AN090726(Inha501) 균주는 농작물 병원성 진균을 효과적으로 제어하므로 생물농약으로 유용하게 활용될 가능성이 있다.

대표도 - 도2



Scientific name	disease	antifungal activity	
		Inha501	Inha502
<i>Candida albicans</i>	-	++	+
<i>Fusarium oxysporum</i>	fusarium wilt	++	++
<i>Fusarium graminearum</i>	fusarium head blight	+++	+++
<i>Fusarium verticillioides</i>	bakanae disease	+++	++
<i>Fusarium semitectum</i>	fusarium blight	++	++
<i>Fusarium solani</i>	fusarium rot	+	++
<i>Aspergillus niger</i>	black mold rot	++	+
<i>Alternaria alternata</i>	leaf spot	+	++
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	bitter rot	+++	+++
<i>Curvularia lunata</i>	ear blight	+++	+++

(The antifungal activity was determined based on the active ring size (++) of Inha501 against *A. niger*)

(52) CPC특허분류

C12R 2001/465 (2021.05)

(72) 발명자

최시선

인천광역시 부평구 부흥로 246, 36동 407호 (부평동, 동아아파트)

김창진

대전광역시 유성구 과학로 125

박동진

대전광역시 유성구 과학로 125

이종민

대전광역시 유성구 과학로 125

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호

918008042SB010

부처명

농림축산식품부

과제관리(전문)기관명

농림식품기술기획평가원

연구사업명

포스트게놈신산업육성을위한다부처유전체사업(R&D)(농림부)

연구과제명

방선균 유전체 기반의 농작물 진균 제어용 미생물 제제 개발

기 여 율

1/1

과제수행기관명

인하대학교 산학협력단

연구기간

2019.01.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

KCTC13999BP로 기탁되고, 식물병원성 진균에 대한 항진균 활성을 갖는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) AN090726(Inha501) 균주.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 균주는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 아스퍼질러스 나이저(*Aspergillus niger*), 푸자리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*), 푸자리움 솔라니(*Fusarium solani*), 푸자리움 그라미네아룸(*Fusarium graminearum*), 푸자리움 베르티실리오이드(*Fusarium verticillioides*), 푸자리움 세미텍툼(*Fusarium semitectum*), 알테르나리아 알테르나타(*Alternaria alternata*), 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 파이토포thora 각토룸(*Phytophthora cactorum*), 라이족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*), 콜레토포트리쿰 글로에오스포리오이데스(*Colletotrichum gloeosporioides*) 및 커부라리아 루나타(*Curvularia lunata*)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 진균에 항진균 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) AN090726(Inha501) 균주.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 균주는 서열번호 1로 표시되는 16S rDNA 염기서열을 포함하는 것을 특징으로 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) AN090726(Inha501) 균주.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 균주는 펜타 폴리엔을 가진 선형 폴리케타이드 화합물을 생산하는 것을 특징으로 하는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) AN090726(Inha501) 균주.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물병원성 진균 방제용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 다양한 생리활성을 갖는 신규 방선균 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 미생물 기반 친환경 생물농약의 필요성은 더 이상의 설명이 필요 없을 정도로 절실하다. 현재 생물농약으로는, 바실러스(*Bacillus*) 기반의 살충제를 포함한 다양한 미생물 종이 사용되고 있으나, 농업용 작물에 대한 항진균 생물농약으로는 방선균, 특히 스트렙토마이세스(*Streptomyces*) 종이 다수를 차지하고 있다.

[0003] 국내 생물농약(일명 천연식물보호제) 등록현황(2012년 12월말 현재)에 따르면, 방선균 기반의 생물 농약으로는 (주)케이아이비씨의 방선균 2종(스트렙토마이세스 고시키엔시스 더블유와이이324 액제, 스트렙토마이세스 콜롬비엔시스 더블유와이이20 액제)이 등록되어 사용되고 있다.

[0004] 국외에서는 더욱 활발하게 방선균 기반 생물농약이 사용되고 있으며, 특히 미국 노보자임의 *Streptomyces lydicus* WYEC108(상품명 Actinovate)와 핀란드 Verdera의 *Streptomyces* K61(상품명 Mycostop)은 방선균을 주 성분으로 하고 있다. 중국의 경우에도 폴리엔계 켄디시신 및 나타마이신을 생산하는 방선균 스트렙토마이세스(*Streptomyces*)를 생물농약으로 활용하여 작물의 진균 감염 및 진균 공생 해충을 친환경적으로 제어하고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1910275호(2018.10.15 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명의 목적은 식물병원성 진균에 대한 항진균 활성을 갖는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) AN090726(Inha501) 균주(KCTC13999BP) 및 상기 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 KCTC13999BP로 기탁되고, 식물병원성 진균에 대한 항진균 활성을 갖는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) AN090726(Inha501) 균주를 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 상기 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명은 다양한 생리활성을 갖는 신규 방선균 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명에서는 항진균 활성이 우수한 폴리엔 화합물을 생산하는 방선균을 유전체 검색기술로 선별한 후, NGS 기반으로 유전체를 해독하여 해당 생리활성물질의 특성을 분자수준에서 규명하고, 이들 유용 방선균 (혹은 방선균 유래 생리활성물질)을 생물농약으로 실용화하기 위한 배양공정 최적화를 수행하였다. 이에, 본 발명의 *Streptomyces* sp. AN090726(Inha501) 균주는 농작물 병원성 진균을 효과적으로 제어하므로 생물농약으로 유용하게 활용될 가능성이 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 방선균 배양액 샘플들의 항진균 활성을 확인한 결과이다.

도 2는 여러 가지 식물병원성 진균에 대한 *Streptomyces* sp. AN090726(Inha501) 균주의 항진균 활성 결과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 발명은 KCTC13999BP로 기탁되고, 식물병원성 진균에 대한 항진균 활성을 갖는 스트렙토마이세스 속(*Streptomyces* sp.) AN090726(Inha501) 균주를 제공한다.

[0012] 바람직하게는, 상기 균주는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*), 아스퍼질러스 나이저(*Aspergillus niger*), 푸자리움 옥시스포럼(*Fusarium oxysporum*), 푸자리움 솔라니(*Fusarium solani*), 푸자리움 그라미네아룸(*Fusarium graminearum*), 푸자리움 베르티실리오이드(*Fusarium verticillioides*), 푸자리움 세미텍툼(*Fusarium semitectum*), 알테르나리아 알테르나타(*Alternaria alternate*), 보트리티스 시네레아(*Botrytis cinerea*), 파이토포thora 각토룸(*Phytophthora cactorum*), 라이족토니아 세레알리스(*Rhizoctonia cerealis*), 콜레토티리쿰 글로에오스포리오이드스(*Colletotrichum gloeosporioides*) 및 커부라리아 루나타(*Curvularia lunata*)로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상의 진균에 항진균 활성을 갖을 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0013] 바람직하게는, 상기 균주는 서열번호 1로 표시되는 16S rDNA 염기서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0014] 바람직하게는, 상기 균주는 펜타 폴리엔을 가진 선형 폴리케타이드 화합물을 생산할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0015] 또한, 본 발명은 상기 균주 또는 이의 배양액을 유효성분으로 포함하는 식물병원성 진균 방제용 조성물을 제공한다.

한다.

[0016] 본 발명에 있어, 식물병원성 진균 방제용 조성물은 본 발명에 의한 균주를 유효량 함유하고 농화학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 본 발명에 의한 조성물은 당업계에 공지된 방식의 미생물 농약 제제화 방식에 따라, 예컨대 배양된 균체의 배양액, 동결건조 균체와 전분, 조단백질 및 암석분 등을 포함하도록 분말, 펠렛 또는 과립, 마이크로캡슐 등으로 제형화하여 그대로 사용할 수 있다. 상기 조성물은 표면 활성화제, 비활성 담체, 보존제, 습윤제, 공급 촉진제, 유인제, 캡슐화제, 결합제, 유화제, 염료, U.V. 보호제, 완충제 등 목적 병원균 및 작물에 따라 적용하기 용이한 다른 성분을 부가함으로 수득할 수 있다. 본 발명의 조성물은 적용하기 전에 적당한 양의 물 또는 다른 희석제로 희석을 하여 직접 적용하기에 적합한 형태 또는 농축액 또는 1차 조성물일 수 있다. 항진균성 농도는 특히 농축 또는 직접 사용하거나 하는 것은 특정 제제의 성질, 적용 식물의 종류, 재배 지역의 토양 및 기후 등에 따라 다양할 수 있음은 당업계에 명백히 이해될 것이다.

[0017] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명이 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0018] <실험예>

[0019] 하기의 실험예들은 본 발명에 따른 각각의 실시예에 공통적으로 적용되는 실험예를 제공하기 위한 것이다.

[0020] 1. 샘플 수집 및 분리

[0021] 항진균 활성을 갖는 균주를 선별하기 위해 한국생명공학연구원의 김창진 박사님 연구실로부터 2419개의 방선균 배양액을 이용하여 진균에 대한 저해환 실험을 실시하였다. 그 중 2009년 보성의 유기농 녹차밭에서 동정한 *Streptomyces* sp. AN090726(Inha501) 균주를 분양받았다. 생물학적 특징으로는 *Fusarium oxysporum* (KCTC 46453), *Candida albicans* (ATCC 14053)에 대한 항진균 활성을 갖는 균주로 확인하였다.

[0022] 2. 성장 조건 및 배지

[0023] *Streptomyces* sp. AN090726(Inha501) 균주는 M3 agar (soluble starch 20 g/L, agar 20 g/L, soytone 10 g/L, glucose 10 g/L, CaCO_3 3 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L) 에서 30 °C, 5일간 고체 정치배양을 한다. 또한 이 균주는 TSB (tryptone 17 g/L, soybean 3 g/L, NaCl 5 g/L, K_2HPO_4 2.5 g/L, glucose 2.5 g/L)에서 30°C, 220rpm, 3일간 진탕 배양을 통해 전배양을 실시하고 GSS soybean flour 25 g/L, glucose 20 g/L, soluble starch 10 g/L, yeast extract 4 g/L, NaCl 2 g/L, CaCO_3 2 g/L, Beef extract 1 g/L, K_2HPO_4 0.25 g/L)에서 30°C, 220rpm, 5일간 진탕 배양을 통해 생산배양을 실시한다. 식물병원성 13종[*Fusarium oxysporum* (KCTC 46453, KACC 40051, KACC 42795), *Fusarium solani* (KACC 44891), *Fusarium graminearum* (KACC 47495), *Fusarium verticillioides* (KCTC 16672), *Fusarium semitectum* (KCTC 6065), *Alternaria alternate* (KACC 40019), *Botrytis cinerea* (KACC 40574), *Phytophthora cactorum* (KACC 40166), *Rhizoctonia cerealis* (KACC 40153), *Colletotrichum gloeosporioides* (KACC 4003), *Curvularia lunata* (KACC 40861)]은 PDA (potato starch 4 g/L, glucose 2 g/L, agar 15 g/L)에서 30 °C, 3~7일간 고체 정치배양을 한다. *Candida albicans* (ATCC 14053) 균주는 YM agar (yeast extract 3 g/L, malt extract 3 g/L, peptone 5 g/L, glucose 10 g/L, agar 20 g/L)에서 30°C, 220rpm, 10시간 동안 진탕 배양을 한다.

[0024] 3. 추출 및 HPLC 분석

[0025] 생산 배양액과 *n*-butanol을 1:1의 비율로 상온에서 220rpm, 4시간 동안 섞어주면서 추출을 실시한다. 혼합물을 10000×g, 15분간 원심분리를 한 후 *n*-butanol층(상층부)만 솜으로 걸러 모은다. 모아진 추출물들은 evaporator를 이용하여 가루형태가 되도록 농축을 시키고 메탄올(Methanol)로 녹여 HPLC 분석 및 항진균 활성확인 실험을 진행한다.

[0026] HPLC 분석 조건은 다음과 같다. reversed-phase C-18 column (5 μm particles, 4.6 × 150 mm; Agilent)이 장착된 Shimadzu SPD M10A (Shimadzu, Japan)가 사용되었다. 컬럼은 50% solvent A (0.05 M ammonium acetate, pH 6.5) 및 50% solvent B (methanol)로 평형화시킨 후, 다음의 농도 구배(gradient)로 진행하였다. 1.0 ml/min 유속으로, 50% B (0 min), 75% B (3 min), 100% B (30 min), 50% B (33 min) 및 50% B (40 min).

[0027] 4. 플레이트 대면 분석을 통한 항진균 분석

[0028] 생산 배양액 10 ul를 paper disc에 로딩(loading) 한 뒤 충분히 말린다. 저해활성을 보고자 하는 곰팡이가 포함

된 PDA agar plate을 준비하기 위해 고체 정치배양을 한 곰팡이의 포자를 2 cm × 2 cm 크기 정도로 긁어 2% 아가로스겔(agarose gel)과 섞어준 뒤 PDA agar plate 위를 덮도록 부어주고 30분간 굳게 둔다. 곰팡이가 포함된 PDA agar plate 위에 충분히 말린 paper disc을 적절한 위치에 올린 후 30 ℃, 3~7일간 고체 정치배양을 하면서 저해환을 관찰하고 이 크기를 기록한다.

[0029] **5. 전체 게놈 서열분석 및 클러스터 예측**

[0030] *Streptomyces* sp. AN090726(Inha501) 균주의 전체 염기서열은 PacBio RSII, Illumina platform and De novo assembly를 이용하여 한국 macrogen에 외주를 맡겨 분석하였다. 전체 염기서열 속 이차대사산물의 생합성 유전자 클러스터(biosynthetic gene cluster)는 antiSMASH bacterial version 5.0(<https://antismash.secondarymetabolites.org/#!/start>)을 이용하여 분석하였다.

[0031] **6. 온실 조건하에서 식물 비료로서의 적용 가능성 평가**

[0032] 수원의 한국식물환경연구소에 용역의뢰 후 확인실험을 진행하였다(pot test).

[0033] 가. 대상병해: 시들음병(*Fusarium oxysporium*, KACC40051)

[0034] 나. 시험작물: 고추(PR마니파), 토마토(호용), 딸기(설향)

[0035] ※ 대상병해 발생상황

[0036] 농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부부터 대상 병원균인 시들음병균 (*Fusarium oxysporium*)을 분양받아 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지에 배양하여 접종원을 준비하였으며, 모종에 접종하여(접종일자: 11월 14일) 시들음병 발생을 유도하였다.

[0037] 다. 처리내용 : 토양관주처리 - 배양액 100ml 또는 상등액 100ml (희석배수 1배), 처리 포트 수 : 각각 4개

[0038] 라. 경중개요 : 재배양식 (시설재배, 포트재배), 포트크기 : 지름 6cm

[0039] 마. 조사방법 및 판정기준 : 약효시험 (이병주수, 약제처리 7일 후 작물별 병발생 정도), 약해시험 (외관상 약해유무, 약제처리 3, 5, 7일 후 외관확인)

[0040] **<실시에 1> 항진균 활성을 갖는 *Streptomyces* sp. AN09726(Inha501) 방선균 선별**

[0041] KRIBB의 김창진 박사님 실험실로부터 방선균 배양액을 분주 받아 항진균 활성을 확인할 때 자주 사용되는 *C. albicans*와 식물병원성 진균인 *F. oxysporum*을 이용해 항진균 활성 비교실험을 진행하였다.

[0042] 2419개의 샘플들 중 149개의 샘플에서 억제 영역(inhibition zone)을 보이며 항진균 활성을 확인하였다(도 1).

[0043] 149개의 샘플들을 HPLC 분석을 통해 그 중 51개의 샘플에서 항진균 활성이 나타나는 폴리엔 화합물(polyene compound)이 생성됨을 확인하였다.

[0044] 16s rRNA sequence, RNA polymerase B 등 특정 유전자의 서열 비교를 통해 신규 균주라고 판단되는 *Streptomyces* sp. AN09726(Inha501) 균주를 선별하였다.

[0045] **<실시에 2> *Streptomyces* sp. AN09726(Inha501) 균주 전체 게놈 서열분석과 항진균 활성물질의 특성 분석**

[0046] 전체 게놈 서열분석을 통해 *Streptomyces* 계열의 신규 균주임을 확인하였다(표 1).

표 1

Contig Name	Length (bp)	CDS	tRNA	rRNA
contig1	8,132,230	7,189	75	18
contig2	85,489	94	0	0
contig3	32,253	35	0	0
Total	8,249,972	7,318	75	18

- Length(bp) : The number of bases in each contig
- CDS : Coding Sequence
- tRNA : Transfer RNA, tRNA has triplet nucleotide sequence complementary to the triplet nucleotide coding sequences of messenger RNA (mRNA)
- rRNA : Ribosomal RNA, a molecular component of ribosome

[0047]

[0048]

[0049]

antiSMASH 프로그램을 이용하여 폴리엔 화합물(polyene compound)을 만들어내는 유전자 클러스터(gene cluster)를 예측한 결과, 펜타 폴리엔을 가지고 있는 선형의 폴리케타이드 화합물로 예상되었다.

[0050]

총 35개의 영역에서 이차대사산물을 만드는 클러스터(cluster)를 찾아냈고 22번째 영역이 선형 폴리케타이드 화합물의 클러스터로 예측되었다. 이는 기존에 알려진 ECO-02301 클러스터와 유사성을 보였다.

[0051]

폴리엔 화합물의 분리 및 정제를 통해 항진균 활성을 확인하였고, High resolution Mass analysis를 통해 얻은 분자량을 통해 아직 보고되지 않은 폴리엔(polyene) 분자량임을 확인하였다. 예상되는 폴리엔 화합물의 정보는 다음과 같다. Chemical Formula: $C_{67}H_{101}NO_{18}$, Exact Mass: 1207.7019, Molecular Weight: 1208.5147

[0052]

<실시예 3> 항진균 활성 확인

[0053]

아래의 여러 가지 식물병원성 진균에 대한 항진균 활성을 확인한 결과, 확인한 모든 진균에서 활성을 확인하였다(도 2).

[0054]

Fusarium oxysporum (KCTC 46453, KACC 40051, KACC 42795), *Fusarium solani* (KACC 44891), *Fusarium graminearum* (KACC 47495), *Fusarium verticillioides* (KCTC 16672), *Fusarium semitectum* (KCTC 6065), *Alternaria alternata* (KACC 40019), *Botrytis cinerea* (KACC 40574), *Phytophthora cactorum* (KACC 40166), *Rhizoctonia cerealis* (KACC 40153), *Colletotrichum gloeosporioides* (KACC 4003), *Curvularia lunata* (KACC 40861).

[0055]

<실시예 4> 미생물제제로서의 가능성 확인하기 위해 화분 수준에서 항진균 활성확인

[0056]

한국식물환경연구소(수원)에 용역을 의뢰하고 진행하였다. 고추, 토마토, 딸기에 대한 항진균 활성을 확인하였다. 약효시험의 결과, 고추와 딸기에는 항진균 활성이 확인되었다. 약해시험의 결과, *Streptomyces* sp. AN09726(Inha501)의 배양액이 식물에 해를 끼치지 않음을 확인하였다.

[0057]

이상으로, 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그것들의 등가물에 의해서 정의된다고 할 것이다.

수탁번호

[0058]

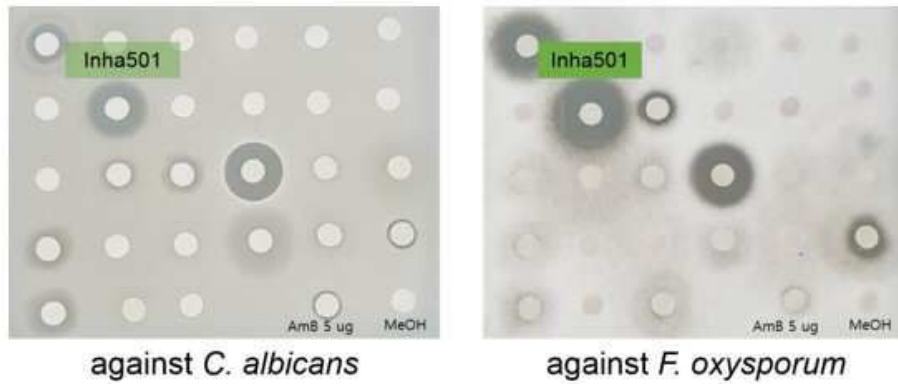
기탁기관명 : 한국생명공학연구원

수탁번호 : KCTC13999BP

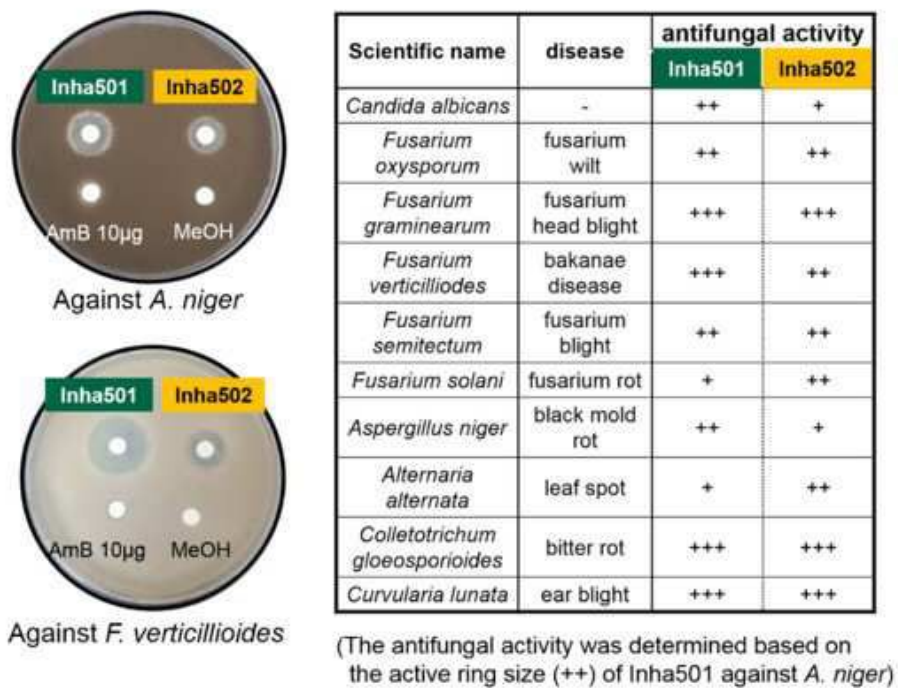
수탁일자 : 20191016

도면

도면1



도면2



서열 목록

- <110> INHA-INDUSTRY PARTNERSHIP INSTITUTE
- <120> Novel Streptomyces having various biological activity and use thereof
- <130> ADP-2019-0437
- <160> 1

<170> Kopatent In 2.0

<210> 1

<211> 1514

<212> RNA

<213> Streptomyces sp. AN09726(Inha501)

<400> 1

aggatgatcca gccgcacatt ccggtacggc taccttgta cgacttcgtc ccaatcgcca	60
gtccacatt cgacattcc ctccacaag gggttgggcc accggcttcg ggtgttaccg	120
actttcgtga cgtgacgggc ggtgtgtaca agggccggga acgtattcac cgcagcactg	180
ctgatctgcg attactagag actccgactt catggggtcg agttgcagac cccaatccga	240
actgagaccg gctttttgag attcgtcca cctcacggca tcgcaactca ttgtaccggc	300
cattgtagca cgtgtgcagc ccaagacata aggggcatga tgacttgacg tcgtccccac	360
cttctccga gttgacccc gcagtcctcc gtgagtcctc atcacccga agggcatgct	420
ggcaacacag gacaagggtt gcgctcgttg cgggacttaa cccaacatct cacgacacga	480
gctgacgaca gccatgcacc acctgtacac cgaccacaag ggggcaccca tctctggatg	540
tttccgatgt atgtcaagcc ttggttaaggt tcttcgcgtt gcgtcgaatt aagccacatg	600
ctccgcctct tgtcggggcc ccgcataat cctttgagtt ttagccttgc ggccgtactc	660
cccaggcggg gaacttaatg cgtttagctgc ggcacggaca acgtggaatg tcgccacac	720
ctagtccca acgtttacgg cgtggactac cagggtatct aatcctgttc gctccccacg	780
ctttcgtcc tcagcgtcag tatcgccca gagatccgcc ttcgccaccg gtgttctcc	840
tgatatctgc gcatttcacc gctacaccag gaattccgat ctcccctacc gaactctagc	900
ctgccgtat cgaatgcaga cccgggggtta agccccgggc tttcacatcc gacgcgacaa	960
gccgcctacg agctctttac gcccaataat tccggacaac gctcgaccc tacgtattac	1020
cgcggctgct ggcacgtagt tagccggtgc ttcttctgca ggtaccgtca ctigcgttc	1080
ttccctgctg aaagagggtt acaacccgaa ggccgtcatc cctcacgcgg cgtcgtgca	1140
tcaggcttcc gccatttgat caatattccc cactgtgcc tccgtagga gcttgggccg	1200
tgtctcagtc ccagtgtggc cggtcgcct ctcaggccgg ctaccgctcg tcgcttgggt	1260
aggccatcac cccaccaaca agctgatagg ccgcggtc atcctgcacc gccggagctt	1320
tccacccgaa agcatgcgt cccaggtaat atccggtatt agacccggt tccagggtt	1380
gtcccagagt gcagggcaga ttgccacgt gttactcacc cgttcgccac taatecacc	1440
cgaagggtt catcgttcga cttgcatgtg ttaagcacgc cgccagcgtt cgtcctgagc	1500

caggatcaaa ctct

1514