



(21)申請案號：112147713

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 07 日

(51)Int. Cl. : C12N1/20 (2006.01)

C12N15/77 (2006.01)

C12N9/88 (2006.01)

C12P19/32 (2006.01)

(30)優先權：2022/12/08 南韓

10-2022-0170771

(71)申請人：南韓商 C J 第一製糖股份有限公司 (南韓) CJ CHEILJEDANG CORPORATION

(KR)

南韓

(72)發明人：金大永 KIM, DAE YOUNG (KR) ; 李智惠 LEE, JI HYE (KR) ; 權嬉修 KWON, HEE

SU (KR) ; 李沚泫 LEE, JI HYUN (KR) ; 奉賢珠 BONG, HYUNJU (KR) ; 金度延

KIM, DOYEON (KR) ; 裴賢貞 BAE, HYUN-JUNG (KR)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：0 共 125 頁

(54)名稱

用於製造嘌呤核苷酸的微生物及使用該微生物製造嘌呤核苷酸的方法

(57)摘要

本揭露係有關一種微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物製絲胺酸脫水酶的活性減弱；一種製造嘌呤核苷酸的方法，包含：在培養基中培養該微生物；一種用於製造嘌呤核苷酸的組成物，其包含該微生物、該微生物的培養物、該微生物的發酵物、或其中兩種以上之組合；及該微生物用於製造嘌呤核苷酸的用途。

The present disclosure relates to a microorganism, in which the activity of serine dehydratase is weakened compared to the endogenous activity thereof; a method for producing purine nucleotides, comprising: culturing the microorganism in a medium; a composition for producing purine nucleotides, comprising the microorganism, a culture product of the microorganism, a fermented product of the microorganism, or a combination of two or more thereof; and use of the microorganism for the production of purine nucleotides.

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於製造嘌呤核苷酸的微生物及使用該微生物製造嘌呤核苷酸的方法

【英文發明名稱】 MICROORGANISM FOR PRODUCING PURINE
NUCLEOTIDES AND METHOD FOR PRODUCING
PURINE NUCLEOTIDES USING THE SAME

【中文】

本揭露係有關一種微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物製絲胺酸脫水酶的活性減弱；一種製造嘌呤核苷酸的方法，包含：在培養基中培養該微生物；一種用於製造嘌呤核苷酸的組成物，其包含該微生物、該微生物的培養物、該微生物的發酵物、或其中兩種以上之組合；及該微生物用於製造嘌呤核苷酸的用途。

【英文】

The present disclosure relates to a microorganism, in which the activity of serine dehydratase is weakened compared to the endogenous activity thereof; a method for producing purine nucleotides, comprising: culturing the microorganism in a medium; a composition for producing purine nucleotides, comprising the microorganism, a culture product of the microorganism, a fermented product of the microorganism, or a combination of two or more thereof; and use of the microorganism for the production of purine nucleotides.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】

本案無圖式。

【特徵化學式】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於製造嘌呤核苷酸的微生物及使用該微生物製造嘌呤核苷酸的方法

【英文發明名稱】 MICROORGANISM FOR PRODUCING PURINE
NUCLEOTIDES AND METHOD FOR PRODUCING
PURINE NUCLEOTIDES USING THE SAME

【技術領域】

【0001】 本揭露係有關一種微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱；一種製造嘌呤核苷酸的方法，包括：在培養基中培養該微生物；一種用於製造嘌呤核苷酸的組成物，其包括該微生物、該微生物的培養物、該微生物的發酵物、或其中兩種以上之組合；及該微生物用於製造嘌呤核苷酸的用途。

【先前技術】

【0002】 嘌呤核苷酸，即 5'-單磷酸肌苷(以下簡稱 IMP)、5'-單磷酸黃苷(以下簡稱 XMP)和 5'-單磷酸鳥苷(以下簡稱 GMP)，是核酸生物合成代謝系統的中間體，在體內具有重要的生理作用，並廣泛應用於食品、藥品等領域中。具體而言，已知 IMP 本身可賦予牛肉風味，而源自 XMP 的 GMP 可賦予蘑菇風味。眾所周知，兩種材料都能增強麩胺酸單鈉(MSG)的味道強度，因此其作為一種風味豐富的核苷酸調味料而備受關注。

【0003】 同時，製造嘌呤核苷酸的方法之實例可包括：(1)透過酶降解從酵母細胞中提取的核糖核酸的方法；(2)透過發酵製備，培養製造嘌呤核苷酸的微生物，直接回收培養液中的嘌呤核苷酸的方法；(3)將發酵製造的核苷進行化學磷酸化的方法；(4)將發酵製造的核苷進行酶促磷酸化的方法等(韓國專利公開號 10-1049023、日本專利公開號 4363042、韓國專利公開號 10-1210704 及農業和生物化學(Agri.Biol.Chem.), 36(9), 1511-1522)。其中，方法(1)在原料供需和經濟效率方面存在問題，而方法(2)由於其經濟和環境優勢而廣泛使用。同時，在製造嘌呤核苷酸之一的 GMP 時，由於其細胞膜滲透性而存在產率低的缺點，因此需要利用一種經由微生物發酵製造的 XMP 之酶轉化來製造 GMP 的方法。

【0004】 然而，在利用微生物發酵製造嘌呤核苷酸的過程中，微生物可能因溫度、pH 值、滲透壓、營養不良和氧化因素而受應激。其中，具體在氧化應激下，發酵製備過程中不可避免產生的活性氧類(ROS)成為主要成因。活性氧類可能導致微生物異常生長。

【0005】 因此，仍需要對有效的嘌呤核苷酸製備進行研究。

【發明內容】

[技術問題]

【0006】 本發明者開發了一種微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱；一種製造嘌呤核苷酸的方法，包括：在培養基中培養該微生物；一種用於製造嘌呤核苷酸的組成物，其包括該微生物、該微生物的培養物、該微生物的發酵物、或其中兩種以上之組合；及該微生物用於製造嘌呤核苷酸的用途，從而完成本揭露。

[欲解決之問題]

【0007】本揭露的一目的是提供一種具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【0008】在一實施例中，絲胺酸脫水酶可由胺基酸序列 SEQ ID NO: 66 組成。

【0009】在根據上述任一實施例之微生物中，選自由以下(a)至(d)組成的一種或多種蛋白的活性可進一步調整：

(a) 與該微生物之內源性活性相比，其甲酸脫氫酶的活性減弱；

(b) 與該微生物之內源性活性相比，其甘胺酸降解酶的活性增強；

(c) 與該微生物之內源性活性相比，其絲胺酸羥甲基轉移酶的活性增強；及

(d) 與該微生物之內源性活性相比，其甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的活性增強。

【0010】在根據上述任一實施例之微生物中，微生物可以是棒狀桿菌屬 (*Corynebacterium*) 微生物。

【0011】在根據上述任一實施例之微生物中，棒狀桿菌屬微生物可以是停滯棒狀桿菌 (*Corynebacterium stationis*)。

【0012】在根據上述任一實施例之微生物中，與未經修飾的微生物相比，該微生物可具有增加的嘌呤核苷酸製造能力。

【0013】本揭露的另一目的是提供一種製造嘌呤核苷酸的方法，包括：在培養基中培養一種微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【0014】 在一實施例中，該方法還可包括從培養的微生物、微生物的培養物、微生物的發酵物或培養基中回收目標物質。

【0015】 本揭露的又另一目的是提供一種用於製造嘌呤核苷酸的組成物，包括：微生物、該微生物的培養物、該微生物的發酵物、或其中兩種以上之組合，其中與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【0016】 本揭露的又另一目的是提供一種微生物用於製造嘌呤核苷酸的用途，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【實施方式】

[技術解決方案]

【0017】 本揭露將詳細說明如下。同時，本文所揭露的各描述和實施例可分別應用於其他描述和實施例。換言之，本文所揭露的各種元件的所有組合皆包括於本揭露的範圍內。再者，本揭露的範圍不受以下具體說明的限制。

【0018】 此外，所屬技術領域中具有通常知識者可僅以常規實驗即認知或證實本文所述的具體態樣之諸多等效物。再者，此類等效物亦旨在包括於本揭露的範圍中。

【0019】 如說明書和所附申請專利範圍所用，除非上下文另有明確說明，單數形式(「一」、「一個」和「該」)包括複數指代物。除非上下文另有說明，單數術語應包括複數術語而複數術語應包括單數術語。如說明書和所附申請專利範圍所用，除非另有說明，否則使用「或」可包括「和/或」。

【0020】 如本文所用，術語「約」可出現在特定數值之前。本文所用的術語「約」不僅包括該術語之後引用的確切數字，且包括接近或近似所呈現的特定

數字的範圍。考慮呈現該數字的上下文，可判定是否有任何數字接近或近似所呈現的特定數字。在一實施例中，術語「約」可指數值-10%至+10%的範圍。在另一實施例中，術語「約」可指給定數值-5%至+5%的範圍，但不限於此。

【0021】如本文所用，諸如術語「第一、第二、第三...」、「1)、2)、3)...」或「(a)、(b)、(c)、(d)...」等描述是用於區分類似的組成，而此類術語並不指該組成是連續或按順序進行的。例如，當此類術語用於指稱方法、用途或測定的步驟時，此類步驟間可無時間間隔，或可同時進行，或可相隔數秒、數分鐘、數小時、數日、或數月進行。

【0022】如本文所用，術語「基本上由.....組成」可表示，在本文請求的物體之特徵基本上不受未指明組分的存在影響的情況下，可存在該未指明組分。

【0023】如本文所用，術語「由.....組成」是指特定組分的總比例為 100%。在術語「由.....組成」之後敘述的組分或特徵可以是必要的或強制性的。在一些實施例中，除了術語「由.....組成」之後敘述的組分或特徵外，可排除任何其他組分或非必要的組分。

【0024】如本文所用，術語「包含/包括」是指在該術語之後敘述的特徵、步驟或組分的存在，且不排除存在或增加一或多個特徵、步驟或組分。本文術語「包含/包括」之後敘述的組分或特徵可以是必要的或強制性的。然而，在一些實施例中，該術語還可包括任何其他或非必要的組分或特徵。

【0025】本揭露的一實施態樣提供一種具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【0026】絲胺酸脫水酶的活性減弱可定義為，與天然野生型微生物或未經修飾的微生物(例如，表達具有野生型絲胺酸脫水酶活性的多肽(例如，胺基酸序

列 SEQ ID NO: 66 的多肽)，或與其內源性活性相比其絲胺酸脫水酶的活性未減弱的菌株)之製造能力相比，本揭露的微生物之嘌呤核苷酸製造能力增加，但不限於此。

【0027】 例如，絲胺酸脫水酶的活性可透過測定嘌呤核苷酸製造能力或產量來評估，但不限於此。

【0028】 如本文所用，術語「絲胺酸脫水酶(L-絲胺酸脫水酶)」是催化化學反應 L-絲胺酸 \leftrightarrow 丙酮酸+氨的酶。本揭露的絲胺酸脫水酶可與 SdaA 或 L-絲胺酸氨裂解酶互換使用。具體而言，本揭露的絲胺酸脫水酶可以是具有 *sdaA* 基因編碼的絲胺酸脫水酶的活性之蛋白，但只要其具有與絲胺酸脫水酶相應的活性，其類型無特定限制。由 *sdaA* 基因所編碼的絲胺酸脫水酶是所屬技術領域已知的，且絲胺酸脫水酶的胺基酸和多核苷酸序列可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0029】 在一實例中，絲胺酸脫水酶可包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 66，或與其具有 60%或更高同源性的胺基酸序列，但只要其具有絲胺酸脫水酶的活性，其不限於此。具體而言，具有絲胺酸脫水酶活性的多肽可具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：胺基酸序列 SEQ ID NO: 66，或與 SEQ ID NO: 66 具有至少 60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%或更高同源性或同一性的胺基酸序列。在一實例中，絲胺酸脫水酶可指內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)微生物中的蛋白，但不限於此。具體而言，其可以是由胺基酸序列 SEQ ID NO: 66 組成的絲胺酸脫水酶，其內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)微生物中，但不限於此。

【0030】有關本揭露的胺基酸序列，雖然其描述為「包含/包括」由特定序列號描述的胺基酸序列之多肽、由特定序列號描述的胺基酸序列「組成」之多肽、或「具有」特定序列號描述的胺基酸序列之多肽或蛋白，但顯然具有部分序列缺失、修飾、取代、保守性取代或加入的胺基酸序列的任何蛋白都可用於本揭露，只要其與由相應序列號的胺基酸序列組成之蛋白具有相同或相應的活性。例如，只要該蛋白具有與該經修飾之蛋白相同或相應的活性，不排除在該胺基酸序列上游或下游加入不改變蛋白功能的序列、序列自然發生突變、序列沉默突變或保守性取代，且對所屬技術領域中具有通常知識者來說，此類序列增加或突變明顯屬於本揭露的範圍。

【0031】例如，可能是在不改變本揭露變體多肽的功能的情況下加入序列、序列自然發生突變、序列沉默突變、或在 N 端、C 端和/或胺基酸序列內部發生保守性取代。例如，多肽可在 N 端接合與參與蛋白共轉譯或轉譯後易位的信號(或前導)序列。再者，多肽還可與另一序列或連接子接合以鑑定、純化或合成多肽。

【0032】如本文所用，術語「保守性取代」是指用另一具有相似結構和/或化學性質的胺基酸取代一胺基酸。此類胺基酸取代通常可基於殘基的極性、電荷、溶解度、疏水性、親水性和/或兩親性的相似性而發生。胺基酸可分為以下幾組：

在一實例中，帶正電的(鹼性)胺基酸包括精胺酸、離胺酸和組胺酸；帶負電的(酸性)胺基酸包括麩胺酸和天門冬胺酸；具有非極性側鏈的胺基酸(非極性胺基酸)包括甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、蛋胺酸、苯丙胺酸、色胺酸和脯胺酸；具有極性或親水性側鏈的胺基酸(極性胺基酸)包括絲胺酸、蘇

胺酸、半胱胺酸、酪胺酸、天門冬醯胺和麩醯胺酸。在另一實例中，具有帶電側鏈的胺基酸包括精胺酸、離胺酸、組胺酸、麩胺酸、天門冬胺酸；具有不帶電側鏈的胺基酸(稱為中性胺基酸)包括甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、蛋胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、半胱胺酸、酪胺酸、天門冬醯胺和麩醯胺酸。在又另一實例中，芳香族胺基酸包括苯丙胺酸、色胺酸和酪胺酸。在又另一實例中，支鏈胺基酸包括纈胺酸、白胺酸和異白胺酸。在又另一實施例中，20 個胺基酸可依其大小分為 5 組，從體積相對較小的胺基酸組開始，即甘胺酸、丙胺酸、絲胺酸；半胱胺酸、脯胺酸、蘇胺酸、天門冬胺酸、天門冬醯胺； 纈胺酸、組胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸；異白胺酸、白胺酸、蛋胺酸、離胺酸、精胺酸；苯丙胺酸、色胺酸和酪胺酸，但胺基酸的分類不限於此。通常，保守性取代對多肽的活性影響很小或無影響。

【0033】此外，編碼絲胺酸脫水酶的核苷酸序列可以是編碼顯示絲胺酸脫水酶活性的蛋白之核苷酸序列。

【0034】例如，具有胺基酸序列 SEQ ID NO: 66 的絲胺酸脫水酶可由多核苷酸編碼，該多核苷酸可具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：核苷酸序列 SEQ ID NO: 67，或與序列 SEQ ID NO: 67 具有 60%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高、小於 100%同源性或同一性的核苷酸序列，但不限於此。此外，核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0035】在本揭露中，例如，包括核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 的基因可與以下互換使用：包括核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 的多核苷酸、具有核苷酸序列

SEQ ID NO: 67 的基因或多核苷酸、及由核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 組成的基因或多核苷酸。

【0036】 由於密碼子簡併性或考量本揭露要表達的絲胺酸脫水酶在生物體中較佳的密碼子，在不改變本揭露的絲胺酸脫水酶胺基酸序列的情況下，本揭露的多核苷酸可在編碼區經歷各種修飾。因此，基於密碼子簡併性，可轉譯為由本揭露的絲胺酸脫水酶胺基酸序列組成的多肽、或與其具有同源性或同一性的多肽之多核苷酸顯然亦可包括在內。例如，本揭露的多核苷酸序列可以是 SEQ ID NO: 67 或其簡併序列。

【0037】 在另一實例中，本揭露的多核苷酸可具有或包括與核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 具有 60%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高和低於 100%同源性或同一性的核苷酸序列；或可由以下組成或基本上由以下組成：與核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 具有 60%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高和低於 100%同源性或同一性的核苷酸序列，但不限於此。

【0038】 此外，本揭露的多核苷酸可包括由已知基因序列製備的探針，例如，可在嚴格條件下與本揭露的多核苷酸序列全部或部分互補的序列雜交的任何多核苷酸序列，其用以編碼本揭露的絲胺酸脫水酶，但不限於此。

【0039】 如本文所用，術語「同源性」或「同一性」是指兩個給定胺基酸序列或核苷酸序列之間的相關程度，且可以百分比表示。術語同源性和同一性通常可互換使用。

【0040】 保守性多核苷酸或多肽的序列同源性或同一性可透過標準比對演算法來判定，且可與所使用程式建立的預設空位罰分一起使用。基本上，同源或同一的序列通常預期在中度或高度嚴格條件下與全部或至少約 50%、60%、70%、80%或 90%的序列全長雜交。亦可考慮含有簡併密碼子而非含有雜交多核苷酸中密碼子的多核苷酸。

【0041】 任兩個多核苷酸或多肽序列是否具同源性、相似性或同一性可透過已知的電腦演算法來判定，例如使用 Pearson 等預設參數的「FASTA」程式(美國國家科學院院刊(Proc. Natl. Acad. Sci. USA) 85:2444, 1988)。或可透過 Needleman-Wunsch 演算法(Needleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48:443-453)判定，該演算法使用 EMBOSS 程式包的 Needleman 程式(EMBOSS: 歐洲分子生物開放軟體組, Rice 等, 2000, 趨勢基因(Trends Genet.) 16:276-277, 版本 5.0.0 或更新版本)(GCG 程式包, Devereux, J. 等, 核酸研究(Nucleic Acids Research) 12:387, 1984、BLASTP、BLASTN、FASTA(Atschul, S. F. 等, 分子生物學雜誌(J MOLEC BIOL) 215:403, 1990); 大型電腦指南(Guide to Huge Computers), Martin J. Bishop 編輯, 學術出版社(Academic Press), 聖地牙哥(San Diego), 1994 年; 及 CARILLO 等, 工業與應用數學會應用數學雜誌(SIAM J Applied Math) 48:1073, 1988)。例如, 可使用美國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)的 BLAST 或 ClustalW 程式來判定同源性、相似性或同一性。

【0042】 多核苷酸或多肽的同源性、相似性或同一性可透過比較序列資訊來判定, 例如使用 GAP 計算機程式(例如 Needleman 等, J Mol Biol. 48:443, 1970, 揭露於 Smith 及 Waterman, 應用數學進展(Adv. Appl. Math) 2:482, 1981)。

總之，GAP 程式將同源性、相似性或同一性定義為將相似的比對符號(即核苷酸或胺基酸)的數量除以兩個序列中較短序列的符號總數而獲得的值。GAP 程式的預設參數可包括(1)二元比較矩陣(含有 1 表示同一性，0 表示非同一性)和來自 Gribskov 等，核酸研究(Nucl Acids Res.) 14:6745，1986，揭露於 Schwartz and Dayhoff 編輯，蛋白序列和結構圖譜(Atlas Of Protein Sequence And Structure)，美國國家生物醫學研究基金會(National Biomedical Research Foundation)，pp. 353–358，1979 的加權比較矩陣(或 EDNAFULL 取代矩陣(NCBI NUC4.4 的 EMBOSS 版本))；(2)各空位罰分 3.0，且各空位中的各符號額外罰分 0.10(或空位開放罰分 10，空位延伸罰分 0.5)；(3)末端空位不罰分。

【0043】再者，任兩個多核苷酸或多肽序列是否具有同源性、相似性或同一性可透過在限定的嚴格條件下經由 Southern 雜交實驗比較序列來判定，而該限定的適當雜交條件可透過在本揭露範圍內對所屬技術領域中具有通常知識者來說已知的方法來判定(例如，J.Sambrook 等，分子選殖，實驗室手冊(Molecular Cloning, A Laboratory Manual)，第二版，冷泉港實驗室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory press)，冷泉港(Cold Spring Harbor)，紐約(N.Y.)，1989；F.M.Ausubel 等，分子生物學實驗手冊(Current Protocols in Molecular Biology)，約翰威立(John Wiley & Sons, Inc.)，紐約(New York))，但不限於此。

【0044】「嚴格條件」是指允許多核苷酸間特異性雜交的條件。此類條件於文獻(例如，如上述 J.Sambrook 等)中詳細公開。例如，嚴格條件可包括具有高度同源性或同一性的多核苷酸，具有 60%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高或 99%或更高同源性或同一性的多核苷酸彼此雜交的條件，而具有同源

性或同一性低於上述的多核苷酸彼此不雜交；或可包括 Southern 雜交的常規清洗條件，即在對應以下鹽濃度和溫度下清洗一次，具體而言清洗兩次或三次：60°C、1×鹽水-檸檬酸鈉(SSC)緩衝液、0.1%十二烷基硫酸鈉(SDS)；具體而言60°C、0.1×鹽水-檸檬酸鈉緩衝液、0.1%十二烷基硫酸鈉，更具體而言68°C、0.1×鹽水-檸檬酸鈉緩衝液、0.1%十二烷基硫酸鈉。

【0045】雜交要求兩個核酸具有互補序列，但根據雜交的嚴格性，鹼基之間可能存在錯配。術語「互補」用於描述可彼此雜交的核苷酸鹼基間的關係。例如，就去氧核糖核酸而言，腺嘌呤與胸腺嘧啶互補，胞嘧啶與鳥嘌呤互補。因此，本揭露亦可包括與整個序列互補的局部核酸片段以及與其基本相似的核酸序列。

【0046】例如，與本揭露的多核苷酸具有同源性或同一性的多核苷酸可使用包括在上述條件下 T_m 值為 55°C 的雜交步驟之雜交條件來檢測。再者， T_m 值可以是 60°C、63°C 或 65°C，但不限於此，且所屬技術領域中具有通常知識者可依其目的適當調整。

【0047】雜交多核苷酸的適當嚴格性取決於多核苷酸互補的長度和程度，而此類變數是所屬技術領域所周知的(參見如上述 Sambrook 等，9.50-9.51、11.7-11.8)。

【0048】如本文所用，術語「嘌呤核苷酸」可特定指選自由 5'-單磷酸肌苷(以下簡稱 IMP)、5'-單磷酸黃苷(以下簡稱 XMP)和 5'-單磷酸鳥苷(以下簡稱 GMP)組成的任一種或多種核苷酸。IMP 是脫胺的腺嘌呤化合物，指由各一分子次黃嘌呤、核糖和磷酸構成的核苷酸。IMP 可由 5'-磷酸核糖 1-焦磷酸(PRPP)生物合成，具體而言，其可透過用氮原子取代與 PRPP 的第一個碳結合的焦磷酸基團，

並透過九個階段構成咪唑環和嘧啶環。XMP 是指由 IMP 脫氫產生的核苷酸，且可透過肌苷-5'-單磷酸脫氫酶從 IMP 合成。GMP 是指具有磷酸基團在鳥苷分子的核糖中形成酯鍵結構的核苷酸。GMP 可透過 5'-鳥糞素核苷酸生物合成酶 (GMP 合成酶)將氨分子加入 XMP 來合成。由 XMP 製備 GMP 的方法和/或該方法中使用的手段可選自己知技術。

【0049】如本文所用，術語「微生物(或菌株)」包括所有野生型微生物，或天然或人工基因修飾的微生物，且可以是因外源性基因的插入、內源性基因活性的增強或失活等因素，使其特定機制減弱或增強的微生物；且可以是包括基因修飾以製造目標多肽、蛋白或產物的微生物。在本揭露中，「微生物」和「菌株」具有相同的含義且可互換使用而不受限制。

【0050】例如，本揭露的微生物可以是一微生物(例如，重組菌株)，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱，但不限於此。

【0051】如本文所用，術語「具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物」是指能在生物體中製造嘌呤核苷酸的原核或真核微生物菌株，可包括其中不具有嘌呤核苷酸製造能力的母株已賦予嘌呤核苷酸製造能力的所有微生物、或內源性具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物。嘌呤核苷酸製造能力可透過物種改良而賦予或增強。

【0052】如本文所用，術語「未經修飾的微生物」不排除含有微生物中自然發生突變的菌株，且可指野生型菌株或天然型菌株本身，或在其性狀因自然或人為因素引起的基因修飾而改變之前的菌株。「未經修飾的微生物」可與「修飾前的菌株」、「修飾前的微生物」、「未突變的菌株」、「未經修飾的菌株」、「未突變的微生物」、「突變前的母株」、「野生型微生物」、「參考微生物」

或「標準微生物」互換使用。在本揭露中，未經修飾的微生物可指與其內源性活性相比，其中本揭露的絲胺酸脫水酶的活性未減弱的菌株、或其絲胺酸脫水酶的活性減弱前的菌株，但不限於此。此外，在本揭露中，未經修飾的微生物可為微生物包括由序列 SEQ ID NO: 66 組成的胺基酸序列，或由序列 SEQ ID NO: 67 組成的多核苷酸序列，但不限於此。

【0053】 為本揭露的目的，本揭露的微生物可包括與內源性活性相比活性透過減弱絲胺酸脫水酶活性能製造目標嘌呤核苷酸的所有微生物。例如，本揭露的微生物的特徵在於與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱，從而增加嘌呤核苷酸的製造能力，且其可以是基因修飾的微生物或重組微生物，但不限於此。具體而言，具有嘌呤核苷酸製造能力增加的重組菌株可以是與天然野生型微生物或具有內源性絲胺酸脫水酶活性的未經修飾的微生物相比，具有嘌呤核苷酸製造能力增加的微生物，但不限於此。

【0054】 在一實例中，具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物是能在生物體中製造嘌呤核苷酸的原核或真核微生物菌株，可包括所有內源性具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物；或透過絲胺酸脫水酶活性減弱，將嘌呤核苷酸製造能力賦予不具該能力的母株，使其具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物。嘌呤核苷酸製造能力可透過物種改良而賦予或增強。

【0055】 「內源性活性」是指當性狀因自然或人為因素導致的遺傳變異而改變時，轉形前的母株或未經修飾的微生物原先具有的特定多肽的活性。內源性活性亦可與「修飾前的活性」互換使用。

【0056】如本文所用，術語多肽活性的「減弱」是一個綜合概念，包括與其內源性活性相比活性降低或無活性。減弱可與諸如缺陷、失活、缺失、破壞、下調、減低、衰減、壓抑、降低等術語互換使用。

【0057】例如，減弱可指蛋白表現出活性但未因缺失而完全失活的狀態，且可指與未經修飾的微生物、野生型菌株或母株相比，其蛋白的活性減弱，但不限於此。

【0058】例如，減弱可以是失活，但不限於此。失活可指由胺基酸序列 SEQ ID NO: 66 組成的蛋白根本不表達；或與母株或未經修飾的菌株相比，即使蛋白表達，其活性亦不表現或減弱。

【0059】減弱亦可包括由於編碼多肽的多核苷酸突變，與微生物原始具有的多肽活性相比，多肽活性本身降低或去除的情況；由於編碼該多肽的基因表達的抑制、或轉譯成多肽的抑制等，與天然株相比，細胞內多肽活性整體量級降低的情況；基因根本不表達的情況；及即使基因表達亦未觀察到多肽活性的情況。

【0060】與該微生物之內源性活性相比，多肽的活性減弱是指與修飾前的母株或未經修飾的微生物原始具有的特定多肽的活性相比，該多肽的活性降低。多肽的活性是否減弱可透過相應多肽的活性量級、其表達量級、或由相應多肽製造的產物量的減少來確認。

【0061】在一實例中，減弱可指相對於修飾前的母株或未經修飾的微生物之絲胺酸脫水酶活性，絲胺酸脫水酶的活性低於約 100%、約 90%或更低、約 80%或更低、約 70%或更低、約 60%或更低、約 50%或更低、約 40%或更低、約 30%或更低、約 20%或更低、約 10%或更低、約 5%或更低或 0%，但不限於此。

【0062】 例如，失活可指與未經修飾的微生物相比，絲胺酸脫水酶根本不表達，或即使絲胺酸脫水酶表達，其活性亦未表現或減弱。

【0063】 多肽活性的減弱可透過所屬技術領域已知的任何方法進行，但方法不限於此，且可透過應用所屬技術領域熟知的各種方法來實現(例如，Nakashima N 等，透過基因組編輯和基因沉默進行細菌細胞工程(Bacterial cellular engineering by genome editing and gene silencing.)，國際分子科學雜誌(Int J Mol Sci.)，2014; 15(2):2773–2793; Sambrook 等，Molecular Cloning(分子選殖)，2012 等)。

【0064】 具體而言，本揭露多肽活性的減弱可透過以下方式實現：

- 1) 缺失部分或全部編碼多肽的基因；
- 2) 修飾表達調控區(表達調控序列)，使編碼多肽的基因表現降低；
- 3) 修飾構成多肽的胺基酸序列，使多肽活性去除或減弱(例如，在胺基酸序列的缺失/取代/加入一或多個胺基酸)；
- 4) 修飾編碼多肽的多核苷酸序列，使多肽活性去除或減弱(例如，在多肽基因的核苷酸序列的缺失/取代/加入一或多個核苷酸，用於編碼已修飾以去除或減弱多肽活性的多肽)；
- 5) 修飾編碼基因的起始密碼子或 5'-UTR 的核苷酸序列(該基因編碼多肽)；
- 6) 引入反義寡核苷酸(例如反義核糖核酸)，其與編碼多肽的基因轉錄本互補結合；
- 7) 在編碼多肽之基因的夏因-達爾加諾(SD)序列前端加入與 SD 序列互補的序列以形成二級結構，從而抑制核糖體附著；

8)逆轉錄工程(RTE)，在編碼多肽之多核苷酸序列的開放閱讀框(ORF)的 3' 端加入待逆轉錄的啟動子；或

9)選自上述方法 1)至 8)中兩種以上之組合，但不特定限於此。

【0065】 例如，

方法 1)缺失部分或全部編碼多肽的基因可透過缺失染色體內所有編碼內源性目標多肽的多核苷酸來實現，或透過以具有部分核苷酸缺失的多核苷酸或標記基因替換該多核苷酸來實現。

【0066】 缺失部分或全部多核苷酸可透過以下方法來實現：將插入微生物染色體的載體進行同源重組來缺失多核苷酸、或透過光(例如紫外線)或化學物質誘導突變，且可從獲得的突變體中選擇目標基因缺失的菌株，但不限於此。缺失部分或全部基因的方法可包括使用去氧核糖核酸重組技術的方法。例如，可將與目標基因同源的核苷酸序列或含有核苷酸序列的載體注射到微生物中以誘導同源重組來缺失部分或全部基因。注射的核苷酸序列或載體可包括顯性選擇標記，但不限於此。

【0067】 方法 2)修飾表達調控區可透過以下方法來實現：經由缺失、插入、非保守性替換或保守性取代或其組合誘導表達調控區(表達調控序列)的修飾；或以活性較弱的序列取代該序列。表達調控區可包括啟動子、操縱子序列、編碼核糖體結合位點的序列和用於調控轉錄和轉譯的序列，但不限於此。

【0068】 方法 3)和 4)修飾胺基酸序列或多核苷酸序列可透過以下方法來實現：經由缺失、插入、非保守性取代或保守性取代編碼多肽之多肽或多核苷酸序列的胺基酸序列或其組合誘導序列修飾，以減弱多肽的活性；或以修飾為活性較弱或不具活性的的胺基酸或多核苷酸序列替換該序列，但不限於此。例如，可透

過向多核苷酸序列中引入修飾以形成終止密碼子來抑制或減弱基因的表達，但不限於此。

【0069】方法 5)修飾編碼多肽的基因的起始密碼子或 5'-UTR 的核苷酸序列可透過例如以編碼與內源性起始密碼子相比，具有較低多肽表達率)的另一起始密碼子的核苷酸序列取代該核苷酸序列來實現，但不限於此。

【0070】方法 6)引入與編碼多肽的基因轉錄本互補結合的反義寡核苷酸(例如反義核糖核酸)可於文獻中尋得(Weintraub, H.等，反義核糖核酸作為遺傳分析的分子工具，遺傳學評論趨勢(Antisense-RNA as a molecular tool for genetic analysis, Reviews-Trends in Genetics), Vol. 1(1), 1986)。

【0071】方法 7)在編碼多肽之基因的夏因-達爾加諾(SD)序列前端加入與 SD 序列互補的序列以形成二級結構，從而抑制核糖體附著可透過抑制信使核糖核酸轉譯或降低轉譯速度來實現。

【0072】方法 8)逆轉錄工程(RTE)，在編碼多肽之基因序列的開放閱讀框(ORF)的 3'端加入待逆轉錄的啟動子，可透過形成與編碼多肽的基因轉錄本互補的反義核苷酸以減弱活性來實現。

【0073】本揭露的微生物中之多核苷酸的部分或全部修飾可透過以下方法來實現：(a)將插入微生物染色體的載體進行同源重組或使用設計的核酸酶(例如，CRISPR-Cas9)進行基因組編輯，和/或(b)可透過光(諸如紫外線和輻射等)和/或化學處理誘導，但不限於此。修飾部分或全部基因的方法可包括使用去氧核糖核酸重組技術的方法。例如，可將與目標基因同源的核苷酸序列或含有核苷酸序列的載體注射到微生物中以誘導同源重組來修飾部分或全部基因。注射的核苷酸序列或載體可包括顯性選擇標記，但不限於此。

【0074】 在一實例中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的重組微生物可包括能製造嘌呤核苷酸的所有微生物，其經由載體轉形以減弱本揭露的絲胺酸脫水酶之活性。

【0075】 本揭露的載體可包括去氧核糖核酸建構體，該去氧核糖核酸建構體含有編碼目標多肽之多核苷酸的核苷酸序列，該多核苷酸與合適的表達調控區(表達調控序列)可操作地連接，以便能在適當的宿主細胞中表達目標多肽。表達調控區可包括能起始轉錄的啟動子、用於調控轉錄的任何操縱子序列、編碼合適的信使核糖核酸核糖體結合位點的序列、及用於調控轉錄和轉譯終止的序列。一旦轉形至合適的宿主細胞中，載體可獨立於宿主基因組複製或發揮功能，或可嵌入到其基因組中。

【0076】 本揭露所使用的載體無特定限制，且可使用所屬技術領域已知的任何載體。通常使用的載體的實例可包括天然或重組質體、黏質體、病毒和噬菌體。例如，作為噬菌體載體或黏質體載體，可使用 pWE15、M13、MBL3、MBL4、IXII、ASHII、APII、t10、t11、Charon4A 和 Charon21A 等；以及作為質體載體，可使用基於 pDZ、pBR、pUC、pBluescriptII、pGEM、pTZ、pCL、pSK、pSKH 和 pET 等。具體而言，可使用 pDZ、pDC、pDCM2、pACYC177、pACYC184、pCL、pSK、pSKH130、pECCG117、pUC19、pBR322、pMW118、pCC1BAC 等載體。

【0077】 在一實例中，編碼目標多肽的多核苷酸可經由用於細胞內染色體插入的載體插入染色體中。可透過所屬技術領域已知的任何方法將多核苷酸插入染色體中，例如透過同源重組，但不限於此。載體還可包括選擇標記以確認插入到染色體中。選擇標記用於選出以載體轉形的細胞，即用於確認目標核酸分子

是否已插入，且可使用提供可選擇表型的標記，諸如抗藥性、營養缺陷性、對細胞毒劑的抗性或表面多肽的表達。只有表達選擇標記的細胞能在用選擇劑處理的環境下存活或顯示出不同的表型，因此可選出轉形的細胞。

【0078】如本文所用，術語「轉形」是指將含有編碼目標多肽的多核苷酸之載體引入宿主細胞或微生物中，使由該多核苷酸編碼的多肽可於宿主細胞中表達。無論轉形的多核苷酸嵌入到宿主細胞的染色體並位於其中或位於染色體外，只要轉形的多核苷酸能在宿主細胞中表達，兩種情況都可包括。再者，多核苷酸可包括編碼目標多肽的去氧核糖核酸和/或核糖核酸。多核苷酸可以任何形式引入，只要能將其引入宿主細胞並在其中表達即可。例如，多核苷酸可以表達匣的形式引入宿主細胞，表達匣是包括其自主表達所需的所有元件的基因結構。表達匣通常可包括可操作地連接至多核苷酸的啟動子、轉錄終止子、核糖體結合位點或轉譯終止子。表達匣可以是可自我複製的表達載體的形式。此外，多核苷酸可按原樣引入宿主細胞並可操作地連接至宿主細胞中表達所需的序列，但不限於此。

【0079】如本文所用，術語「可操作地連接」是指將調控序列置於適當的位置以調控編碼序列的表達之結構。因此，術語「可操作地連接」包括具有已知或期望活性的功能域之調控區，諸如啟動子、終止密碼子、訊號序列或增強子，與目標(基因或多肽)間的附著或連接，使得目標的表達、分泌或功能發揮可根據已知或期望的活性進行調控。例如，其可指多核苷酸序列功能性地連接至啟動子序列，該啟動子序列啟動並調和編碼本揭露的目標變體多肽的多核苷酸之轉錄。

【0080】如本文所用，術語「表達」包括參與多肽製造的任何步驟，諸如轉錄、轉錄後修飾、轉譯、轉譯後修飾和分泌等，但不限於此。

【0081】如本文所用，術語「表達載體」是指線性或環狀核酸分子，其包括用於其表達的編碼序列和可操作地連接的調控序列。

【0082】如本文所用，術語「調控序列」是指編碼序列表達所必需的多核苷酸序列。各調控序列對於編碼序列來說可以是天然的(源自相同來源)或外源性的(源自不同基因)。調控序列的實例可包括前導序列、多腺苷酸化序列、前肽序列、啟動子、信號肽序列、操縱子序列、編碼核糖體結合位點的序列和用於調控轉錄和轉譯終止的序列。調控序列的最小單位可包括啟動子和用於終止轉錄和轉譯的序列。

【0083】如本文所用，有關細胞、多核苷酸、多肽或載體的術語「重組」，表示細胞、多核苷酸、多肽或載體已透過異源核酸或多肽的引入、或天然多核苷酸或多肽的改變予以修飾、或細胞衍生自由此修飾的細胞。因此，例如，重組細胞可表達在細胞天然(非重組)形式中未發現的基因，或相反的可能異常表達、表達不足或根本不表達的天然基因。

【0084】例如，用於製造嘌呤核苷酸的微生物可以是內源性包含由以下組成的蛋白：胺基酸序列 SEQ ID NO: 66，或與 SEQ ID NO: 66 具有至少 60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.7% 或 99.9% 或更高同源性或同一性的胺基酸序列。

【0085】例如，用於製造嘌呤核苷酸的微生物可內源性包括能編碼蛋白的多核苷酸序列之微生物，該蛋白包括與胺基酸序列 SEQ ID NO: 66 具有至少 80% 同源性的胺基酸序列、核苷酸序列 SEQ ID NO: 67、及與核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 具有 60% 或更高、70% 或更高、75% 或更高、80% 或更高、85% 或更高、90%

或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高及小於 100%同源性或同一性的核苷酸序列。

【0086】本揭露的微生物可包括透過所屬技術領域已知的各種方法，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱的所有微生物。

【0087】在一實施例中，本揭露的與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱的微生物，可以是編碼絲胺酸脫水酶的多核苷酸缺失或修飾的微生物，但不限於此。具體而言，它可以是由於核苷酸序列 SEQ ID NO: 67 缺失而不具絲胺酸脫水酶活性的微生物，但不限於此。

【0088】在一實例中，本揭露的嘌呤核苷酸製造能力增加的微生物，可以是與未經修飾的微生物相比，嘌呤核苷酸製造能力增加的微生物，但不限於此。在一例中，作為目標菌株(用於比較嘌呤核苷酸製造能力的增加)的未經修飾的微生物可以是 CJX1664 菌株或 KCCM12151P 菌株，但不限於此。

【0089】在一實例中，嘌呤核苷酸製造能力增加的微生物與修飾前的母株或未經修飾的微生物相比，可具有增加約 1%或更高的嘌呤核苷酸製造能力，具體而言約 1%或更高、約 2.5%或更高、約 5%或更高、約 6%或更高、約 7%或更高、約 8%或更高、約 9%或更高、約 10%或更高、約 15%或更高、約 20%或更高、約 25%或更高、約 30%或更高、約 35%或更高(上限未特定限制，諸如約 200%或更低、約 150%或更低、約 100%或更低、約 50%或更低、約 45%或更低或約 40%或更低)，但不限於此，只要與修飾前的母株或未經修飾的微生物相比，製造能力值增加即可。在另一實例中，嘌呤核苷酸製造能力增加的微生物與修飾前的母株或未經修飾的微生物相比，可具有增加約 1.1 倍或更高、約 1.15 倍或更高、約 1.2 倍或更高、約 1.25 倍或更高、約 1.3 倍或更高、約 1.35 倍或更高(上

限未特定限制，諸如約 10 倍或更低、約 5 倍或更低、約 3 倍或更低、約 2 倍或更低、約 1.5 倍或更低、約 1.4 倍或更低)的嘌呤核苷酸製造能力，但不限於此。

【0090】 在一實例中，具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是原核細胞或真核細胞，但具體而言可以是原核細胞。原核細胞可包括諸如屬於以下的微生物菌株：大腸桿菌屬(*Escherichia*)、伊文氏桿菌屬(*Erwinia*)、沙雷氏菌屬(*Serratia*)、普羅威登斯菌屬(*Providencia*)、棒狀桿菌屬(*Corynebacterium*)、假單胞菌屬(*Pseudomonas*)、鉤端螺旋體屬(*Leptospira*)、沙門氏桿菌屬(*Salmonella*)、短桿菌屬(*Brevibacteria*)、低單胞菌屬(*Hypomononas*)、有色桿菌屬(*Chromobacterium*)和奴卡菌屬(*Nocardia*)、或真菌或酵母菌。具體而言，微生物可以是屬於以下的微生物菌株：大腸桿菌屬(*Escherichia*)、棒狀桿菌屬(*Corynebacterium*)、鉤端螺旋體屬(*Leptospira*)和酵母菌。更具體而言，它可以是屬於棒狀桿菌屬(*Corynebacterium*)的微生物菌株。

【0091】 在根據上述實施例的任一微生物中，本揭露的微生物可以是屬於棒狀桿菌屬(*Corynebacterium*)的微生物。

【0092】 在一實例中，本揭露的微生物可以是停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)、麩胺酸棒狀桿菌(*Corynebacterium glutamicum*)、粗乳棒狀桿菌(*Corynebacterium crudilactis*)、沙漠棒狀桿菌(*Corynebacterium deserti*)、高效棒狀桿菌(*Corynebacterium efficiens*)、帚石南棒狀桿菌(*Corynebacterium callunae*)、單獨棒狀桿菌(*Corynebacterium singulare*)、耐鹽棒狀桿菌(*Corynebacterium halotolerans*)、紋帶棒狀桿菌(*Corynebacterium striatum*)、產氨棒狀桿菌(*Corynebacterium ammoniagenes*)、污染棒狀桿菌(*Corynebacterium pollutisoli*)、模擬棒狀桿菌(*Corynebacterium imitans*)、魚口腔棒狀桿菌

(*Corynebacterium testudinoris*)或淡黃棒桿菌(*Corynebacterium flavescens*)。具體而言，本揭露的微生物可以是屬於棒狀桿菌屬(*Corynebacterium*)的微生物，更具體而言，停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)或麩胺酸棒狀桿菌(*Corynebacterium glutamicum*)，但不限於此。

【0093】具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物，其透過進一步調控選自由以下(a)至(d)組成的任一種或多種蛋白的活性來增強製造能力，但不限於此：

- (a) 與該蛋白之內源性活性相比，其甲酸脫氫酶的活性減弱；
- (b) 與該蛋白之內源性活性相比，其甘胺酸降解酶的活性增強；
- (c) 與該蛋白之內源性活性相比，其絲胺酸羥甲基轉移酶的活性增強；及
- (d) 與該蛋白之內源性活性相比，其甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的活性增強。

【0094】如本文所用，術語多肽活性的「增強」是指與其內源性活性相比，多肽的活性增加。增強可與諸如激活、上調、過度表達、增加等術語互換使用。

【0095】增強可包括表現出原本不具有的活性、或與其內源性活性或修飾前的活性相比活性增強的兩種情況。

【0096】例如，術語「表現出原本不具有的活性」可指「蛋白的引入」，但不限於此。蛋白的引入是指微生物原本不具有的基因在微生物中表達，且因此微生物表現出特定蛋白的活性，或與該微生物之內源性活性或修飾前的活性相比，表現出相應蛋白的活性增加或增強。例如，該術語可表示將編碼特定蛋白的多核苷酸引入微生物染色體中，或將含有編碼特定蛋白的多核苷酸之載體引入微生物中，從而表現出特定蛋白的活性。

【0097】 「內源性活性」是指當性狀因自然或人為因素導致的遺傳變異而改變時，轉形前的母株或未經修飾的微生物原先具有的特定多肽之活性。內源性活性亦可與「修飾前的活性」互換使用。

【0098】 與內源性活性相比，多肽的活性增強是指與母株轉形前或未經修飾的微生物原先具有的特定多肽的活性和/或濃度(表達量級)相比，該多肽的活性增強。

【0099】 在一實例中，增強可指表現出原本不具有的相應蛋白的活性，或基於野生型蛋白或初始微生物菌株的活性或濃度，其活性或濃度大致增強約1%、約10%、約25%、約50%、約75%、約100%、約150%、約200%、約300%、約400%或約500%，最多約1000%或約2000%或更高，但不限於此。

【0100】 多肽活性的增強可透過引入外源性多肽或增強內源性多肽的活性來實現。多肽的活性是否增強可透過相應多肽的活性水平、其表達水平、或由相應多肽製造的產物量的增加來確認。

【0101】 多肽活性的增強可透過所屬技術領域熟知的各種方法來施行，且只要與修飾前的微生物活性相比能增強目標多肽的活性，即可不受限制。具體而言，可使用所屬技術領域中具有通常知識者熟知的基因工程和/或蛋白工程，其是分子生物學的常用方法，但不限於此(例如，Sitnicka 等，基因的功能分析。細胞生物學的進展(Functional Analysis of Genes. Advances in Cell Biology)，2010，Vol. 2. 1-16；Sambrook 等，分子選殖(Molecular Cloning)，2012 等)。

【0102】 具體而言，本揭露的多肽活性的增強可透過以下方法實現：

1)增加編碼多肽的多核苷酸之胞內拷貝數；

2)修飾染色體上編碼多肽的基因之表達調控區(例如，誘導表達調控區內的修飾、以具有更強活性的序列替換、或插入具有更強活性的序列)；

3)修飾編碼基因轉錄本的起始密碼子或 5'-UTR 的核苷酸序列(該基因轉錄本編碼多肽)；

4)修飾多肽的胺基酸序列，使多肽的活性增強；

5)修飾編碼多肽的多核苷酸序列，使多肽的活性增強(例如，修飾多肽基因的多核苷酸序列以編碼因經過修飾而活性增強的多肽)；

6)引入表現多肽活性的外源性多肽或編碼該多肽的外源性多核苷酸；

7)編碼多肽的多核苷酸之密碼子最佳化；

8)分析多肽的三級結構，從而選擇和修飾或化學修飾該暴露位點；或

9)選自上述方法 1 至 8)中的兩種以上之組合，但不特定限於此。

【0103】 例如，

方法 1)增加編碼多肽的多核苷酸之胞內拷貝數可透過將載體引入宿主細胞中來實現，該載體與編碼多肽的多核苷酸可操作地連接且不論宿主細胞都能複製和發揮功能。或該方法可透過將一或兩個拷貝編碼多肽的多核苷酸引入宿主細胞的染色體中來實現。引入染色體可透過載體的引入來進行，該載體能將多核苷酸插入宿主細胞的染色體中、插入宿主細胞中，但不限於此。載體如上所述。

【0104】 方法 2)以具有強活性的序列替換染色體的編碼多肽的基因之表達調控區(或表達調控序列)可經由以下方法實現：諸如缺失、插入、非保守或保守性取代或其組合來誘導序列修飾，以進一步增強表達調控區的活性；或以具有更強活性的序列替換該序列。表達調控區可包括但不特定限於啟動子、操縱子序

列、編碼核糖體結合位點的序列及調控轉錄和轉譯終止的序列等。在一實例中，該方法可包括以強啟動子替換原來的啟動子，但不限於此。

【0105】 已知的強啟動子的實例可包括 *cj1* 至 *cj7* 啟動子(US 7662943 B2)、*lac* 啟動子、*trp* 啟動子、*trc* 啟動子、*tac* 啟動子、 λ 噬菌體 PR 啟動子、PL 啟動子、*tet* 啟動子、*gapA* 啟動子、SPL7 啟動子、SPL13(sm3)啟動子(US 10584338 B2)、O2 啟動子(US 10273491 B2)、*tkl* 啟動子、*yccA* 啟動子等，但強啟動子不限於此。

【0106】 方法 3)修飾編碼基因(該基因編碼多肽)的起始密碼子或 5'-UTR 的核苷酸序列可透過例如用與多肽內源性起始密碼子相比，編碼具有更高的多肽表達率的另一起始密碼子的核苷酸序列取代該核苷酸序列來實現，但不限於此。

【0107】 方法 4)和 5)修飾胺基酸序列或多核苷酸序列可經由以下方法來實現：缺失、插入、非保守或保守性取代編碼多肽的多肽或多核苷酸序列之胺基酸序列或其組合，來誘導序列修飾，以增強多肽的活性；或以經修飾而具有更強活性的胺基酸序列或多核苷酸序列替換該序列；或以經修飾而活性增強的胺基酸序列或多核苷酸序列來替換該序列，但不限於此。具體可透過同源重組將多核苷酸插入染色體中來進行替換，但不限於此。本文使用的載體還可包括選擇標記以確認插入到染色體中。選擇標記如上所述。

【0108】 方法 6)引入表現多肽活性的外源性多核苷酸可透過將編碼表現與該多肽相同/相似活性的多肽之外源性多核苷酸引入宿主細胞來實現。不論其來源或序列，只要其表現出與多肽的活性相同/相似的活性，可使用外源性多核苷酸而不受限。所屬技術領域中具有通常知識者可透過適當選擇所屬技術領域已

知的轉形方法來進行引入，且引入的多核苷酸在宿主細胞中表達能製造多肽，從而增加其活性。

【0109】 方法 7)編碼多肽的多核苷酸之密碼子最佳化可透過內源性多核苷酸的密碼子最佳化以增加宿主細胞內的轉錄或轉譯來實現，或最佳化其密碼子在宿主細胞內實現外源性多核苷酸之最佳化轉錄和轉譯。

【0110】 方法 8)分析多肽的三級結構，從而選擇和修飾或化學修飾暴露位點，可透過例如將待分析的多肽的序列資訊與其中已儲存有蛋白的序列資訊的資料庫進行比較來實現，以根據序列相似程度判定模板蛋白候選，並根據該資訊確認結構，從而選擇並變形或修飾待修飾或待化學修飾的暴露位點。

【0111】 多肽活性的此類增強可指相對於在野生型菌株或修飾前微生物中表達的多肽之活性或濃度，相應多肽的活性或濃度增加；或由該相應多肽製造的產物量增加，但不限於此。

【0112】 在一實例中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甲酸脫氫酶活性進一步減弱，而使嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物，但不限於此。

【0113】 如本文所用，術語「甲酸脫氫酶」是指由甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)組成的酶，其利用甲酸為受質以及催化氧化反應還原 NAD^+ ，生成 NADH 和二氧化碳。具體而言，本揭露的甲酸脫氫酶可以是選自由甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)組成的任一種或多種蛋白，但不限於此。本揭露的甲酸脫氫酶可指甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、

甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)的複合物，且可與 Fdh 互換使用。

【0114】如本文所用，由 *fdh 1*、*fdh 2* 和 *fdh 3* 基因組成的「*fdh* 基因」可指編碼本揭露的甲酸脫氫酶之基因。具體而言，本揭露的 *fdh* 基因可指編碼甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)的複合物之基因。

【0115】具體而言，本揭露的甲酸脫氫酶可以是分別由 *fdh 1*、*fdh 2* 和 *fdh 3* 基因編碼的蛋白，其具有甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)活性，但只要該蛋白具有對應甲酸脫氫酶的活性，其類型無特定限制。分別由 *fdh 1*、*fdh 2* 和 *fdh 3* 基因編碼的甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)於所屬技術領域是已知的，而且甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)的胺基酸和多核苷酸序列可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0116】在一實例中，甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)可分別包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 70 和 SEQ ID NO: 72，或與其具有至少 60%同源性或同一性的胺基酸序列，但只要具有甲酸脫氫酶的活性，其不限於此。具體而言，具有甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)活性的多肽可分別具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：胺基酸序列 SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 70 和 SEQ ID NO: 72，或分別與

SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 70 和 SEQ ID NO: 72 具有至少 60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%或更高同源性或同一性的胺基酸序列。在一實例中，甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2) 和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3) 可指棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌 (*Corynebacterium stationis*) 微生物中內源性存在的蛋白，但不限於此。具體而言，甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2) 和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3) 可以是分別由胺基酸序列 SEQ ID NO: 68 組成的甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、由胺基酸序列 SEQ ID NO: 70 組成的甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)、由胺基酸序列 SEQ ID NO: 72 組成的甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)，其在棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌 (*Corynebacterium stationis*) 微生物中內源性存在，但不限於此。

【0117】此外，編碼甲酸脫氫酶的核苷酸序列可以是編碼顯示甲酸脫氫酶活性的蛋白的核苷酸序列。

【0118】例如，編碼甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2) 和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3) 的核苷酸序列可以是編碼顯示甲酸脫氫酶活性的蛋白的核苷酸序列。

【0119】分別具有胺基酸序列 SEQ ID NO: 68、SEQ ID NO: 70 和 SEQ ID NO: 72 的甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2) 和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3) 可由一多核苷酸編碼，該多核苷酸可分別具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：核苷酸序列 SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 71 和 SEQ ID NO: 73，或分別與核苷酸序列 SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 71 和 SEQ ID NO: 73 具有 60%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更

高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高和低於 100% 同源性或同一性的核苷酸序列，但不限於此。此外，核苷酸序列 SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 71 和 SEQ ID NO: 73 可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0120】 在一實例中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甘胺酸降解酶活性進一步增強，而使嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物，但不限於此。

【0121】 如本文所用，術語「甘胺酸降解酶」是直接或間接參與甘胺酸降解途徑的蛋白，且可指構成甘胺酸降解系統的各蛋白或蛋白的複合物或甘胺酸降解系統本身。具體而言，甘胺酸降解酶可以是選自由任一種或多種構成甘胺酸降解系統的 T-蛋白(GcvT)、P-蛋白(GcvP)、L-蛋白(GcvL)、H-蛋白(GcvH)，及 LipB 或 LipA，其為甘胺酸降解系統的輔酶，但不限於此(John E. Cronan, 分子與細胞生物學評論(Microbiology and Molecular Biology Reviews), 2016年4月13日)。本揭露的甘胺酸降解酶可與 GcvPTH 或甘胺酸裂解系統互換使用。

【0122】 如本文所用，術語「甘胺酸裂解系統(GCV)」由兩個以上亞基組成，即亞基 GcvP、GcvT 和 GcvH，其採多酶複合物的形式，其催化甘胺酸的氧化脫羧和脫胺為二氧化碳、銨離子和 N⁵⁻¹⁰-亞甲基四氫葉酸。本揭露的甘胺酸裂解系統可與甘胺酸降解系統互換使用。

【0123】 具體而言，本揭露的甘胺酸降解酶可以是具有 GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白活性的蛋白，其分別由 *gcvP*、*gcvT* 和 *gcvH* 基因編碼，但只要其具有與甘胺酸降解酶相應的活性，其類型無特定限制。由 *gcvP*、*gcvT* 和 *gcvH* 基因分別編碼的 GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白是所屬技術領域已知的，且各 GcvP、GcvT

和 GcvH 蛋白的胺基酸和多核苷酸序列可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0124】 在一實例中，本揭露的 GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白可分別包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 76 和 SEQ ID NO: 78，或分別與其具有至少 60% 同源性或同一性的胺基酸序列，但只要其具有甘胺酸降解酶活性，其不限於此。具體而言，具有 GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白活性的多肽可分別具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：胺基酸序列 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 76 和 SEQ ID NO: 78，或分別與 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 76 和 SEQ ID NO: 78 具有至少 60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 或更高同源性或同一性的胺基酸序列。在一實例中，GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白可指內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)微生物中的蛋白，但不限於此。具體而言，GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白可以是分別由胺基酸序列 SEQ ID NO: 74 組成的 GcvP 蛋白、由胺基酸序列 SEQ ID NO: 76 組成的 GcvT 蛋白及由胺基酸序列 SEQ ID NO: 78 組成的 GcvH 蛋白，其內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)微生物中，但不限於此。

【0125】 此外，編碼 GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白的核苷酸序列可以是編碼顯示甘胺酸降解酶活性的蛋白之核苷酸序列。

【0126】 例如，分別具有胺基酸序列 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 76 和 SEQ ID NO: 78 的 GcvP、GcvT 和 GcvH 蛋白可由多核苷酸編碼，該多核苷酸可分別具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：核苷酸序列 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 77 和 SEQ ID NO: 79、或分別與核苷酸序列 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 77 和 SEQ ID NO: 79 具有 60% 或更高、70% 或更高、75% 或更高、80%

或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高及小於100%同源性或同一性的核苷酸序列，但不限於此。此外，核苷酸序列 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 77 和 SEQ ID NO: 79 可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0127】 在一實例中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸羥甲基轉移酶的活性進一步增強，而使嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物，但不限於此。

【0128】 如本文所用，術語「絲胺酸羥甲基轉移酶」是催化絲胺酸轉化為甘胺酸的酶。本揭露的絲胺酸羥甲基轉移酶可與 GlyA 互換使用。具體而言，本揭露的絲胺酸羥甲基轉移酶可以是具有由 *glyA* 基因編碼的絲胺酸羥甲基轉移酶的活性之蛋白，但只要其具有與絲胺酸羥甲基轉移酶相應的活性，其類型無特定限制。由 *glyA* 基因編碼的絲胺酸羥甲基轉移酶是所屬技術領域已知的，且絲胺酸羥甲基轉移酶的胺基酸和多核苷酸序列可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0129】 在一實施例中，絲胺酸羥甲基轉移酶可包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 80，或與其具有 60%或更高同源性的胺基酸序列，但只要其具有絲胺酸羥甲基轉移酶的活性，其不限於此。具體而言，具有絲胺酸羥甲基轉移酶活性的多肽可具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：胺基酸序列 SEQ ID NO: 80，或與 SEQ ID NO: 80 具有至少 60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%或更高與其同源或同一的胺基酸序列。在一實例中，絲胺酸羥甲基轉移酶可指內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)微生物中的蛋白，但不限於此。具體而言，其可以是由胺基酸序列 SEQ ID NO: 80

組成的絲胺酸羥甲基轉移酶，其內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌 (*Corynebacterium stationis*) 微生物中，但不限於此。

【0130】此外，編碼絲胺酸羥甲基轉移酶的核苷酸序列可以是編碼顯示絲胺酸羥甲基轉移酶活性的蛋白之核苷酸序列。

【0131】例如，具有胺基酸序列 SEQ ID NO: 80 的絲胺酸羥甲基轉移酶可由多核苷酸編碼，該多核苷酸可具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：核苷酸序列 SEQ ID NO: 81，或與序列 SEQ ID NO: 81 具有 60%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高、小於 100%同源性或同一性的核苷酸序列，但不限於此。此外，核苷酸序列 SEQ ID NO: 81 可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0132】在一實例中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的活性進一步增強，而使嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物，但不限於此。

【0133】如本文所用，術語「甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶」具有催化以下化學反應的活性：

10-甲醯四氫葉酸(10-formyltetrahydrofolate) + N1-(5-磷酸-D-核糖基)甘胺醯胺(N1-(5-phospho-D-ribosyl)glycinamide) \leftrightarrow 四氫葉酸(tetrahydrofolate) + N2-甲醯基-N1-(5-磷酸-D-核糖基)甘胺醯胺(N2-formyl-N1-(5-phospho-D-ribosyl)glycinamide)

本揭露的甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶可與 PurT 互換使用。具體而言，本揭露的甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶可以是具有 *purT* 基因編碼的甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的活性之蛋白，但只要其具有與甲酸相應的活性，其類型無特定限制。由 *purT* 基因編碼的甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶是所屬技術領域已知的，且甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的胺基酸和多核苷酸序列可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0134】 在一實例中，甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶可包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 82，或與其具有 60%或更高同源性的胺基酸序列，但只要其具有甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的活性，其不限於此。具體而言，具有甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶活性的多肽可具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：胺基酸序列 SEQ ID NO: 82，或與 SEQ ID NO: 82 具有至少 60%、70%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99% 或更高同源性或同一性的胺基酸序列。在一實例中，甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶可指內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)微生物中的蛋白，但不限於此。具體而言，其可以由胺基酸序列 SEQ ID NO: 82 組成的甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶，其內源性存在於棒狀桿菌屬或停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)微生物中，但不限於此。

【0135】 此外，編碼甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的核苷酸序列可以是編碼顯示甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶活性的蛋白之核苷酸序列。

【0136】 例如，具有胺基酸序列 SEQ ID NO: 82 的的甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶可由多核苷酸編碼，該多核苷酸可具有、包括、由以下組成或基本上由以下組成：核苷酸序列 SEQ ID NO: 83，或與序列 SEQ ID NO: 83 具有 60%或更高、70%或更高、75%或更高、80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、96%或更高、97%或更高、98%或更高、小於 100%同源性或同一性的核苷酸序列，但不限於此。此外，核苷酸序列 SEQ ID NO: 83 可從已知的資料庫如美國國家生物技術資訊中心(NCBI)的基因銀行(GenBank)等獲得，但不限於此。

【0137】 在根據上述實施例的任一微生物中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是透過以下方法而使嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物：與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱；及與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸羥甲基轉移酶的活性增強，但不限於此。

【0138】 在根據上述實施例的任一微生物中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是透過以下方法而使嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物：與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱；與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸羥甲基轉移酶的活性增強；及與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甘胺酸降解酶的活性增強，但不限於此。

【0139】 在根據上述實施例的任一微生物中，本揭露的具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物可以是透過以下方法而使嘌呤核苷酸製造能力增強的微生物：與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的的活性減弱；與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸羥甲基轉移酶的活性增強；與該微生

物之內源性活性相比，該微生物之甘胺酸降解酶的活性增強；與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甲酸脫氫酶的活性減弱；及與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的活性增強，但不限於此。

【0140】本揭露的另一實施態樣提供一種製造嘌呤核苷酸的方法，包括：在培養基中培養本揭露的微生物，與其內源性活性相比，其絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【0141】如本文所用，術語「培養」是指本揭露的菌株在適當控制的環境條件下生長。本揭露的培養過程可在所屬技術領域已知的適當培養基和培養條件中進行。所屬技術領域中具有通常知識者可根據要選擇的菌株容易地調整該培養過程以供使用。具體而言，培養可以是批式培養、連續培養和/或饋料批式培養，但不限於此。

【0142】如本文所用，術語「培養基」是指以培養本揭露的微生物所需的營養素為主要成分的物质混合物，其提供生存和生長必需的營養素和生長因子及水。具體而言，用於培養本揭露的菌株之培養基和其他培養條件可以用於微生物常規培養的任何培養基，無任何特定限制。然而，本揭露的微生物可在有氧條件下在含有適當碳源、氮源、磷源、無機化合物、胺基酸和/或維生素的常規培養基中培養，同時調節溫度、pH 值等。例如，棒狀桿菌屬微生物的培養基可於文獻中尋得(普通細菌學方法手冊(Manual of Methods for General Bacteriology)，美國細菌學學會(the American Society for Bacteriology)，華盛頓特區(Washington D.C.)，美國(USA)，1981)。

【0143】 在本揭露中，碳源可包括碳水化合物，諸如葡萄糖、蔗糖(saccharose)、乳糖、果糖、蔗糖(sucrose)、麥芽糖等；糖醇，諸如甘露醇、山梨醇等；有機酸，諸如丙酮酸、乳酸、檸檬酸等；胺基酸，諸如麩胺酸、蛋胺酸、離胺酸等。此外，碳源可包括天然有機營養素，諸如澱粉水解物、糖蜜、黑糖蜜、米糠、木薯、甘蔗糖蜜、玉米浸液等。具體而言，可使用碳水化合物，例如葡萄糖和滅菌的預處理糖蜜(即，轉化為還原糖的糖蜜)，此外，適當量的各種其他碳源亦可使用而無限制。此類碳源可單獨使用或以兩種以上組合使用，但不限於此。

【0144】 氮源可包括無機氮源，諸如氨、硫酸銨、氯化銨、醋酸銨、磷酸銨、碳酸銨、硝酸銨等；胺基酸，諸如麩胺酸、蛋胺酸、麩醯胺酸等；有機氮源，諸如蛋白脛、NZ-amine、肉提取物、酵母提取物、麥芽提取物、玉米浸液、酪蛋白水解物、魚或其分解物、脫脂大豆餅或其分解物等。此類氮源可單獨使用或以兩種以上組合使用，但不限於此。

【0145】 磷源可包括磷酸二氫鉀、磷酸氫二鉀或相應的含鈉鹽等。無機化合物的實例可包括氯化鈉、氯化鈣、氯化鐵、硫酸鎂、硫酸鐵、硫酸錳、碳酸鈣等。此外，可包括胺基酸、維生素和/或適當的前體等。此類構成成分或前體可以批式或連續的方式加入培養基中，但此類磷源不限於此。

【0146】 此外，在培養本揭露的微生物的過程中，可以適當的方式透過加入諸如氫氧化銨、氫氧化鉀、氨、磷酸、硫酸等化合物來調節培養基的pH值。此外，在培養過程中可使用消泡劑例如聚乙二醇脂肪酸酯來防止氣泡形成。再者，可向培養基中注入氧氣或含氧氣體，以維持培養基的有氧條件；或可注入氮氣、氫氣或二氧化碳來維持厭氧或微氧條件，而不注入氣體，但氣體不限於此。

【0147】 在本揭露中，培養時的溫度可為 27°C 至 37°C 範圍間，具體為 30°C 至 33°C，培養可持續 20 小時至 120 小時，但不限於此。

【0148】 如本文所用，術語「培養物」是指透過在培養基中培養特定微生物而獲得的培養液、濃縮培養液、培養液乾燥物、培養濾液、濃縮培養濾液、或培養濾液乾燥物，且是指培養液可包括特定的微生物，但培養濾液實質上不包括特定的微生物(特定指實質上透過過濾等單離將特定的微生物排除，但並不指微生物完全排除在濾液之外)。培養物的配方無限制，可以是諸如液體、乳液或固體。具體而言，為了本揭露的目的，培養物可包括嘌呤核苷酸。

【0149】 如本文所用，術語「發酵」是指微生物在利用其自身的酶分解有機物的過程中不腐敗。發酵反應和腐爛反應的過程相似，但分解產生有用物質時稱為發酵，產生有臭味或有害物質時稱為腐爛。

【0150】 在本揭露中，從菌株中獲得發酵物的方法無特定限制，可根據所屬技術領域或類似領域常用的方法獲得。

【0151】 如本文所用，術語「發酵物」不僅可包括發酵材料本身，還可包括由菌株製造的發酵物的各式材料，諸如菌株和培養物共存的菌株的培養基、由培養基製造的發酵物、從培養基中過濾菌株獲得的發酵物、從培養基中滅菌並過濾菌株獲得的發酵物、提取發酵物或含有發酵物的培養物獲得的提取物、稀釋發酵物或其提取物獲得的稀釋溶液、濃縮溶液、乾燥發酵物或其提取物獲得的乾燥物、及收集並裂解菌株的細胞獲得的裂解物等。

【0152】 在本揭露的方法中，微生物的培養可透過所屬技術領域已知的任何培養條件和培養方法進行。所屬技術領域中具有通常知識者可根據所選的菌株容易地調整和使用此類培養過程。

【0153】 由本揭露的培養所製造的嘌呤核苷酸可釋出到培養基中或保留在細胞中。

【0154】 在一實施例中，本揭露用於製造嘌呤核苷酸的方法還可包括製備本揭露的微生物之步驟、製備用於培養菌株的培養基之步驟、或其組合(不考慮順序，可依任何順序)，例如，在培養步驟之前。

【0155】 本揭露用於製造嘌呤核苷酸的方法還可包括從培養的微生物、微生物的培養物、微生物的發酵物或培養基中回收目標物質，具體而言，回收嘌呤核苷酸。培養步驟後還可包括回收步驟。

【0156】 在回收步驟中，可使用培養本揭露的微生物之方法來收集目標嘌呤核苷酸，例如，使用所屬技術領域已知的根據批式培養、連續培養或饋料批式培養的合適方法。例如，可使用離心、過濾、用蛋白結晶沉澱劑處理(鹽析法)、提取、超音波破碎、超濾、透析、各式層析諸如分子篩層析(凝膠過濾)、吸附層析、離子交換層析、親和層析等、高效液相層析(HPLC)或其組合的方法，且可使用所屬技術領域已知的合適方法從培養基或微生物中回收目標物質，具體而言，回收嘌呤核苷酸。

【0157】 再者，本揭露用於製造嘌呤核苷酸的方法還可包括純化步驟，其可使用所屬技術領域已知的適當方法進行。在一實施例中，當本揭露的製造嘌呤核苷酸的方法同時包括回收步驟和純化步驟時，回收步驟和純化步驟可不考慮順序連續或間歇進行或同時進行，或可整合為單一步驟，但該方法不限於此。

【0158】 在本揭露的方法中，絲胺酸脫水酶、嘌呤核苷酸等的活性減弱如上文其他實施態樣所述。

【0159】本揭露的又另一實施態樣提供一種用於製造嘌呤核苷酸的組成物：包括本揭露的微生物、微生物的培養物、微生物的發酵物、或其兩種以上之組合，其中與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【0160】本揭露的組成物還可包括用於製造嘌呤核苷酸的組成物中常用的任何合適的賦形劑，且此類賦形劑可包括諸如防腐劑、潤濕劑、分散劑、懸浮劑、緩衝劑、穩定劑或等滲劑等，但不限於此。

【0161】在一實施例中，存在於本揭露的組成物中的各組分可含有為微生物有效量、或可適當存在於用於製造的組成物中的量。

【0162】在本揭露的組成物中，絲胺酸脫水酶和嘌呤核苷酸等的活性減弱如上文其他實施態樣所述。

【0163】本揭露的又另一實施態樣提供本揭露的微生物用於製造嘌呤核苷酸的用途，其中與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【0164】在本揭露的用途中，絲胺酸脫水酶和嘌呤核苷酸等的活性減弱如上文其他實施態樣所述。

[有利效果]

【0165】本揭露的微生物，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱，可高產地製造嘌呤核苷酸，因此可有效用於嘌呤核苷酸的工業製造。

[實施例]

【0166】 下面將透過實施例詳細描述本揭露。然而，此類實例僅為出於說明性目的而給出的較佳實例，因此，本揭露的範圍不旨在限制於此類實例或受此類實例限制。同時，本揭露所屬技術領域或類似技術領域具有通常知識者可充分理解並輕鬆實施本文未描述的技术特徵。

實例 1：製備 *sdaA* 缺失的微生物及確認 XMP 製造能力

實施例 1-1：製備透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的重組載體

【0167】 製備菌株，其中從 XMP 製造菌株停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)中缺失內源性 *sdaA*，及在 *sdaA* 基因位置加入 *glyA* 基因拷貝數，以確認透過組合缺失 *sdaA* 及加入 *glyA* 的增強效果。為此目的，使用質體 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)以如下方法製備載體，用於插入和替換棒狀桿菌染色體中的基因。

【0168】 以野生型停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)ATCC6872 的 gDNA(基因組去氧核糖核酸)為模板，使用引子對 SEQ ID NOS: 1 和 2、引子對 SEQ ID NOS: 3 和 4 進行聚合酶連鎖反應。進行聚合酶連鎖反應的條件為在 94°C 變性 5 分鐘，然後 94°C 變性 30 秒，55°C 低溫黏合 30 秒，72°C 聚合 1 分 30 秒，共 30 個循環，然後在 72°C 聚合 5 分鐘。以限制酶 XbaI 處理 pDCM2 載體，並對上述聚合酶連鎖反應獲得的產物進行融合選殖。融合選殖透過 In-Fusion® HD 選殖試劑盒(Clontech)進行。所得質體命名為 pDCM2-del *sdaA*。

【0169】 使用引子對 SEQ ID NOS: 1 和 5、引子對 SEQ ID NOS: 6 和 7、引子對 SEQ ID NOS: 8 和 4 以相同方式進行聚合酶連鎖反應和選殖。所得質體命名為 pDCM2-del *sdaA* -Pn-*glyA*。

【0170】 載體製備所用引子序列如下：

【0171】表 1

序列號	名稱	序列
1	引子	5'-accgggggatcctctagaGTGCCGTTACCTCCCGC-3'
2	引子	5'-TGGAGTGCGTAGCGTGCGAAATGACTCCTTTCTAAA-3'
3	引子	5'-TTTAGAAAGGAGTCATTTTCGCACGCTACGCACTCCA-3'
4	引子	5'-AAGCTTGCATGCCTGCAGCGTCACCGCGCGGAGATA-3'
5	引子	5'-GAAATGACTCCTTTCTAAAAAGGGG-3'
6	引子	5'-TTAGAAAGGAGTCATTTTCGAACTTGCAGCAAACGTGCTG-3'
7	引子	5'-CCTTGGTGAGGCACTTTGTG-3'
8	引子	5'-CAAAGTGCCTACCAAGGGCACGCTACGCACTCCATATA-3'

實施例 1-2：製備透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株

【0172】將實施例 1-1 中製備的兩種載體透過電穿孔轉形至停滯棒狀桿菌 (*Corynebacterium stationis*)CJX1664 菌株(KR 10-1950141 B1)中，然後在含有 25 mg/L 卡那黴素的所選培養基中選擇有載體插入染色體的菌株為初步候選。此後，使用菌株中引子對 SEQ ID NOS: 1 和 4 選擇 *sdaA* 缺失的菌株；使用發生同源重組的菌株中引子對 SEQ ID NOS: 9 和 7 選擇 *sdaA* 缺失並在相應位置插入 *glyA* 基因的菌株，該 *glyA* 基因與其自身啟動子連接。

【0173】表 2

序列號	名稱	序列
9	引子	5'-GTCAACGCGCACTTGGATCT-3'

實施例 1-3：評估 *sdaA* 缺失和 *glyA* 添加增強菌株之 XMP 製造能力

【0174】 透過燒瓶發酵效價評估實施例 1-2 中製備的菌株及母株之 XMP 製造能力。將各菌株接種到含有 2 mL 以下種子培養基的直徑 18 mm 試管中，在 30°C 振盪孵育 24 小時，作為種子培養液。然後，將 0.7 mL 種子培養液接種到含有 32 mL 以下製造培養基(24 mL 主培養基+8 mL 單獨無菌培養基)的 250 mL 角擋板燒瓶中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 75 小時。培養完成後，透過高效液相層析測定 XMP 製造能力。

【0175】 <種子培養基(pH7.5)>

葡萄糖 1%、蛋白胨 1%、肉提取物 1%、酵母提取物 1%、氯化鈉 0.25%、腺嘌呤 100 mg/L、鳥嘌呤 100 mg/L(以 1 L 蒸餾水計)

【0176】 <XMP 燒瓶製造培養基(主培養基)>

葡萄糖 40 g/L、硫酸鎂 10 g/L、氯化鈣 100 mg/L、硫酸鐵 20 mg/L、硫酸錳 10 mg/L、硫酸鋅 10 mg/L、硫酸銅 0.8 mg/L、組胺酸 20 mg/L、半胱胺酸 15 mg/L、β-丙胺酸 15 mg/L、生物素 100 μg/L、硫胺素 5 mg/L、腺嘌呤 50 mg/L、鳥嘌呤 25 mg/L、菸鹼酸 15 mg/L，pH 值 7.0

【0177】 <XMP 燒瓶製造培養基(單獨無菌培養基)>

磷酸二氫鉀 18 g/L、磷酸氫二鉀 42 g/L、尿素 7 g/L、硫酸銨 5 g/L(以 1 L 蒸餾水計)

重複上述實驗 3 次，分析結果的平均值顯示於下表 3 中。

【0178】 表 3

【0179】 缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 拷貝數菌株的 XMP 製造能力比較

菌株號	引入類型	XMP(g/L)	濃度提高率(%)
CJX1664	對照組	4.32	-
	CJX1664-del_sdaA	4.42	2.32

	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA	4.64	7.47
--	--------------------------	------	------

【0180】如上表 3 所示，與對照組相比，缺失 *sdaA* 菌株顯示 XMP 製造能力增加 2.32%；且與對照組相比，缺失 *sdaA* 和增加 *glyA* 拷貝數菌株顯示 XMP 製造能力增加 7.47%。可見缺失 *sdaA* 對提高 XMP 製造能力是有效的，且當同時增強 *glyA* 表達時，XMP 製造能力進一步增強。基於結果，證實缺失 *sdaA* 和增強 *glyA* 對 XMP 製造是有效的。

實施例 2：製備基於透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株之 *gcvPTH* 增強的菌株

實施例 2-1：製備加入 *gcvPTH* 拷貝數的重組載體及 XMP 製造菌株

【0181】為確認增強 *gcvPTH* 基因是否可導致 XMP 產量增加，使用質體 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)製備載體，該載體以天然啟動子的形式加入停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)菌株的 *gcvPTH* 基因之拷貝，以進行如下棒狀桿菌染色體上的基因插入和替換。

【0182】使用 G-spin 全去氧核糖核酸提取迷你試劑盒(貨號 17045, Intron)，依照試劑盒中提供的程序分離 ATCC6872 菌株的染色體基因，該菌株是野生型停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)，並使用引子對 SEQ ID NOS: 10 和 11、引子對 SEQ ID NOS: 12 和 13、引子對 SEQ ID NOS: 14 和 15、引子對 SEQ ID NOS: 16 和 17 進行聚合酶連鎖反應，獲得基因片段(分別為 Pn/*gcvPTH*-A、Pn/*gcvPTH*-B、Pn/*gcvPTH*-C、Pn/*gcvPTH*-D)。進行聚合酶連鎖反應的條件為 94°C 變性 5 分鐘，然後 94°C 變性 30 秒，55°C 低溫黏合 30 秒，72°C 聚合 1 分鐘，共 20 個循環，然後 72°C 聚合 7 分鐘。

【0183】 獲得的基因片段以限制酶 XbaI(New England Biolabs，貝弗利(Beverly)，麻薩諸塞州(MA))切割。使用 T4 連接酶(New England Biolabs，貝弗利(Beverly)，麻薩諸塞州(MA))將以 XbaI 限制酶切割的基因片段連接至線性 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)。所得載體命名為 pDCM2-gcvPTH。

【0184】 載體製備所用引子序列如下：

【0185】 表 4

序列號	名稱	序列
10	引子	5'-AATTCGAGCTCGGTACCCAGGCACAGCCGACATTACGG-3'
11	引子	5'-GTAGCACATCTGACGAATGTCCAAGTCTAAGGAAA-3'
12	引子	5'-TTAGACTTGGACATTTCGTCAGATGTGCTACTTGCC-3'
13	引子	5'-TGCGCCATTAGCGTGTTACTTCTCGCGGCTATAGA-3'
14	引子	5'-AGCCGCGAGAAGTAACACGCTAATGGCGCATTGAA-3'
15	引子	5'-TGAATTATCCGCGTCTTAGATGCCGTTTTCTGCCG-3'
16	引子	5'-GAAAACGGCATCTAAGACGCGGATAATTCAGCTGT-3'
17	引子	5'-CGACTCTAGAGGATCCCCGATGAAGCGAACACTTAAAT-3'

【0186】 為確定 *gcvPTH* 基因額外增強是否會導致 XMP 產量增加，在透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株中進行 *gcvPTH* 增強的實驗。

【0187】 將上述製備的 pDCM2-gcvPTH 載體透過電穿孔轉形至透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株中，然後在含有 25 mg/L 卡那黴素的所選培養基中使用引子對 SEQ ID NOS:18 和 19 透過聚合酶連鎖反應初步確認，最後透過基因定序分析進行確認。

【0188】 菌株製備所用引子序列如下：

【0189】表 5

序列號	名稱	序列
18	引子	5'-CCAGTACATTGTCATGGGAT-3'
19	引子	5'-GATTGGCATATCGCACCGAG-3'

實施例 3：評估基於透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株之 *gcvPTH* 增強的菌株之 XMP 製造能力

【0190】透過燒瓶評估實施例 2 中製備的菌株及母株的 XMP 製造能力。將各菌株接種到含有 2.5 mL 以下種子培養基的 14 mL 管中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 24 小時。然後，將 2 mL 種子培養液接種到含有 29 mL 以下製造培養基(24 mL 主培養基+5 mL 單獨無菌培養基)的 250 mL 角擋板燒瓶中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 72 小時。培養完成後，透過高效液相層析測定 XMP 製造能力。

【0191】種子培養基和發酵培養基的組成與實施例 1-3 相同。

【0192】根據在 XMP 製造菌株停滯棒狀桿菌 (*Corynebacterium stationis*)KCCM12151P 中整合 *glyA* 增強、*sdaA* 缺失和 *gcvPTH* 增強的培養結果顯示於下表 6 中。

【0193】表 6

【0194】根據整合 *glyA* 增強、*sdaA* 缺失和 *gcvPTH* 增強確認 XMP 製造

菌株號	引入類型	XMP(g/L)	濃度提高率(%)
CJX1664	對照組	4.51	-
	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA	4.85	7.45

	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA- Pn/gcvPTH	5.48	21.5
--	--	------	------

【0195】證實在 XMP 製造菌株中整合 *sdaA* 缺失和 *glyA* 增強可導致 XMP 產量增加，此外，當組合 *gcvPTH* 增強時，XMP 濃度進一步增加。

實施例 4：製備基於透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株之透過增強 *gcvPTH*、缺失 *fdh* 和加入 *purT* 增強的菌株

實施例 4-1：製備透過缺失 *fdh* 和加入 *purT* 增強的重組載體及 XMP 製造菌株

【0196】源自停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)的甲酸脫氫酶可由甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)組成。

【0197】為了缺失甲酸脫氫酶亞基 1(Fdh 亞基 1)、甲酸脫氫酶亞基 2(Fdh 亞基 2)和甲酸脫氫酶亞基 3(Fdh 亞基 3)(以下簡稱甲酸脫氫酶)，透過以下方式製備載體：缺失 *fdh 1*、*fdh 2*、*fdh 3* 基因(以下簡稱 *fdh* 基因，其為停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)分別編碼甲酸脫氫酶亞基 1、甲酸脫氫酶亞基 2 和甲酸脫氫酶亞基 3 的內源性基因)，並在相應基因位置加入 *purT* 基因拷貝數，最終確認 XMP 製造菌株中 *gcvPTH* 增強的協力效果。因此，進行缺失 *fdh* 基因並在相應基因位置加入 *purT* 拷貝數的實驗。

【0198】使用 G-spin 全去氧核糖核酸提取迷你試劑盒(貨號 17045, Intron)，依照試劑盒中提供的程序分離 ATCC6872 菌株的染色體基因，該菌株是野生型停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)，並使用引子對 SEQ ID NOS: 20 和 21、引子對 SEQ ID NOS: 22 和 23、引子對 SEQ ID NOS: 24 和 25、引子對 SEQ ID

NOS: 26 和 27 進行聚合酶連鎖反應，獲得基因片段(分別為 del_fdh::Pcj7/purT-A、del_fdh::Pcj7/purT-B、del_fdh::Pcj7/purT-C、del_fdh::Pcj7/purT-D)。進行聚合酶連鎖反應的條件為 94°C 變性 5 分鐘，然後 94°C 變性 30 秒，55°C 低溫黏合 30 秒，72°C 聚合 1 分鐘，共 20 個循環，然後 72°C 聚合 7 分鐘。

【0199】 以此四個片段進行二次聚合酶連鎖反應獲得的基因片段以限制酶 XbaI(New England Biolabs，貝弗利(Beverly)，麻薩諸塞州(MA)) 切割。使用 T4 連接酶(New England Biolabs，貝弗利(Beverly)，麻薩諸塞州(MA)) 將以 XbaI 限制酶切割的基因片段連接至線性 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)。所得質體命名為 pDCM2-del_fdh-Pcj7/purT。

【0200】 載體製備所用引子序列如下：

【0201】 表 7

序列號	名稱	序列
20	引子	5'-TCGAGCTCGGTACCCGTTGCCGTATCAGACATGCTCAG-3'
21	引子	5'-GATTAGCCTGAAGGAATTGATTTATCTCGACCAAACAG-3'
22	引子	5'-GGTCGAGATAAATCAATTCCTTCAGGCTAATCTTTTCC-3'
23	引子	5'-CGATATAAGACTCCATCATATGTGTTTCCTTTCGTTGG-3'
24	引子	5'-AAAGGAAACACATATGATGGAGTCTTATATCGGTAGCC-3'
25	引子	5'-CTCATAGGTGCCGAACCTTACTCGGAGATTCGACCTCA-3'
26	引子	5'-CGAAATCTCCGAGTAAGTTCGGCACCTATGAGAATATG-3'
27	引子	5'-CTCTAGAGGATCCCCGGCAAGTGTTTCTTGCGCCATTC-3'

【0202】 將 pDCM2-del_fdh-Pcj7/purT 透過電穿孔轉形至實施例 2 中製備的菌株(CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA-Pn/gcvPTH)中，然後在含有 25 mg/L 卡那黴素的所選培養基中選擇有突變基因和載體插入染色體的菌株為初步候選。此後，

使用發生同源重組的菌株中引子對 SEQ ID NOS: 28 和 29 選擇 *fdh* 基因缺失並在相應位置插入與 Pcj7 啟動子連接的 *purT* 基因的菌株。

【0203】 菌株製備所用引子序列如下：

【0204】 表 8

序列號	名稱	序列
28	引子	5'-TAATCCCCCAGCTCACCGGC-3'
29	引子	5'-TTTGGATGCCGAGGTCGTAG-3'

實施例 5：評估基於 *sdaA* 缺失和 *glyA* 增強之 *gcvPTH* 增強、*purT* 增強和 *fdh* 缺失整合菌株之 XMP 製造能力

【0205】 透過燒瓶評估以測定實施例 2 和實施例 4 中製備的菌株及母株之 XMP 製造能力。將各菌株接種到含有 2.5 mL 以下種子培養基的 14 mL 管中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 24 小時。然後，將 2 mL 種子培養液接種到含有 29 mL 以下製造培養基(24 mL 主培養基+5 mL 單獨無菌培養基)的 250 mL 角擋板燒瓶中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 72 小時。培養完成後，透過高效液相層析測定 XMP 製造能力。

【0206】 種子培養基和發酵培養基的組成與實施例 1-3 相同。

【0207】 根據 XMP 製造菌株中基於 *sdaA* 缺失和 *glyA* 增強之整合 *gcvPTH* 增強、*purT* 增強和 *fdh* 缺失的培養結果顯示於下表 9 中。

【0208】表 9

【0209】根據整合 *gcvPTH* 增強、*sdaA* 缺失、*glyA* 增強、*purT* 增強和 *fdh* 缺失確認 XMP 製造

菌株號	引入類型	XMP(g/L)	濃度提高率(%)
CJX1664	對照組	4.48	-
	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA	4.81	7.39
	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA-Pn/gcvPTH	5.47	22.2
	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA-Pn/gcvPTH-del_fdh-Pcj7/purT	5.59	24.8

【0210】證實在 XMP 製造菌株中整合 *sdaA* 缺失、*glyA* 增強和 *gcvPTH* 增強可導致 XMP 產量增加，此外，當缺失 *fdh* 且在相應位置加入 *purT* 拷貝數增強時，XMP 濃度進一步增加。

實施例 6：評估基於 *sdaA* 缺失和 *glyA* 增強之 *gcvPTH* 增強、*purT* 增強和 *fdh* 缺失整合菌株之 GMP 製造能力

【0211】為使用實施例 1、實施例 2 和實施例 4 中製備的菌株及對照母株之 XMP 培養液以下列方式確認 GMP 製造，首先，以燒瓶發酵效價評估分析 XMP 製造能力(參見韓國專利公開號 10-2011-0105662 A)。

【0212】具體而言，使用實施例 1-3 中發酵效價評估方法培養菌株。透過高效液相層析測定 XMP(5'-單磷酸黃苷)的產量。

【0213】隨後，對 GMP 製造能力進行分析。為了將製造的 XMP 轉化為 GMP，將以下轉化添加劑和大腸桿菌 XMP 胺酶加入燒瓶發酵溶液中，然後在

40°C 下進行轉化反應 2.5 小時。上述實驗的結果是，轉化率(即消耗每 GMP 的 XMP 產量)顯示於表 10。

【0214】 表 10

【0215】 確認缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 拷貝數的菌株之 GMP 製造能力

菌株號	引入類型	XMP(g/L)	GMP(g/L)	轉化率(%) (GMP 產量/XMP 消耗量)
CJX1664	對照組	4.43	3.23	72.9
	CJX1664-del_sdaA	4.53	3.31	73.0
	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA	4.76	3.48	73.1
	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA-Pn/gcvPTH	5.42	3.96	73.0
	CJX1664-del_sdaA-Pn-glyA-Pn/gcvPTH-del_fdh-Pcj7/purT	5.54	4.06	73.2

【0216】 如上表 10 所示，證實 GMP 是透過由菌株製造的 XMP 的轉化反應製造的。

【0217】 <轉化添加劑>

植酸 1.8 g/L、硫酸鎂 4.8 g/L、nymeen 3 mL/L、二甲苯 2%、腺嘌呤 100 mg/L、磷酸氫二鈉 7.7 g/L、麩醯胺酸 2 g/L、葡萄糖 46 g/L

實施例 7：製備 *sdaA* 缺失的微生物及確認 IMP 製造能力

實施例 7-1：製備 *sdaA* 基因缺失的載體

【0218】為缺失停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)的內源性 *sdaA* 基因，使用質體 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)已如下方法製備載體。

【0219】以野生型停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)ATCC6872 的 gDNA(基因組去氧核糖核酸)為模板，使用引子對 SEQ ID NOS: 30 和 31、引子對 SEQ ID NOS: 32 和 33 進行聚合酶連鎖反應。進行聚合酶連鎖反應的條件為在 94°C 變性 5 分鐘，然後 94°C 變性 30 秒，55°C 2u jp 黏合 30 秒，72°C 聚合 1 分 30 秒，共 30 個循環，然後在 72°C 聚合 5 分鐘。以限制酶 XbaI 處理 pDCM2 載體，並對上述聚合酶連鎖反應獲得的產物進行融合選殖。融合選殖透過 In-Fusion® HD 選殖試劑盒 (Clontech)進行。所得質體命名為 pDCM2-del *sdaA*(I)。

【0220】載體製備所用引子序列如下：

【0221】表 11

序列號	名稱	序列
30	引子	5'-AATTCGAGCTCGGTACCCCATTTTCGTGACCATTAGCGT-3'
31	引子	5'-CTTTGTACTTGGTGAGATCATGCCAATAGCGCCAG-3'
32	引子	5'-GCTATTGGCATGATCTCACCAAGTACAAAGAGACT-3'
33	引子	5'-CGACTCTAGAGGATCCCCGGTTACCGCGCATTAGGACT-3'

實施例 7-2：製備 *sdaA* 基因缺失的菌株

【0222】將實施例 7-1 中製備的載體透過電穿孔轉形至停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)KCCM12151P 中，然後在含有 25 mg/L 卡那黴素的所選培養基中選擇有載體插入染色體的菌株為初步候選。此後，使用發生同源重組的菌株中引子對 SEQ ID NOS: 34 和 35 選擇 *sdaA* 基因缺失的菌株。透過上述方法獲得的絲胺酸脫水酶缺失菌株命名為 CJ1-3176(KCCM12151P_ *sda*_deletion)。

【0223】 表 12

序列號	名稱	序列
34	引子	5'-TAATCCCCCAGCTCACCGGC-3'
35	引子	5'-TTTGGATGCCGAGGTCGTAG-3'

實施例 7-3：評估 *sdaA* 基因缺失菌株之 IMP 製造能力

【0224】 透過燒瓶發酵效價評估實施例 7-2 中製備的菌株及母株之 IMP 製造能力。將停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)KCCM12151P 和 CJI-3176 接種到含有 2.5 mL 以下種子培養基的 14 mL 管中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 24 小時。然後，將 2 mL 種子培養液接種到含有 29 mL 以下製造培養基(24 mL 主培養基+5 mL 單獨無菌培養基)的 250 mL 角擋板燒瓶中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 72 小時。培養完成後，透過高效液相層析測定 IMP 製造能力。

【0225】 種子培養基和發酵培養基的組成如下：

【0226】 <IMP 種子培養基>

葡萄糖 1%、蛋白胨 1%、肉提取物 1%、酵母提取物 1%、氯化鈉 0.25%、腺嘌呤 100 mg/L、鳥嘌呤 100 mg/L，pH 7.2

【0227】 <IMP 燒瓶發酵培養基>

加入麩胺酸鈉 0.1%、氯化銨 1%、硫酸鎂 1.2%、氯化鈣 0.01%、硫酸鐵 20 mg/L、硫酸錳 20 mg/L、硫酸鐵 20 mg/L、硫酸銅 5 mg/L、L-胱胺酸 23 mg/L、β-丙胺酸 24 mg/L、菸鹼酸 8 mg/L、生物素 45 μg/L、鹽酸硫胺素 5 mg/L、腺嘌呤 30 mg/L、(85%)磷酸 1.9%、葡萄糖 4.2%、果糖 2.4%

【0228】 根據停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)絲胺酸脫水酶缺失的培養結果顯示於下表 13 中。

【0229】 表 13

【0230】 根據絲胺酸脫水酶缺失的缺陷確認 IMP 的製造

菌株號	引入類型	光密度(OD)	IMP(g/L)	濃度提高率(%)
KCCM12151P	對照組	41.3	5.2	-
CJI-3176	Δsda	40.8	5.5	5.7

【0231】 證實因 IMP 製造菌株內絲胺酸脫水酶缺失而導致絲胺酸庫的增加可導致 IMP 產量增加。

實施例 8：製備透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株及評估 IMP 製造能力

實施例 8-1：製備透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的重組載體及 IMP 製造菌株

【0232】 嘗試透過缺失停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)的內源性基因 *sdaA*，並在相應基因位置加入 *glyA* 基因拷貝數，來確認協力效果。因此，進行從實施例 7-2 中製備的 CJI-3176 中缺失 *sdaA* 並在相應基因位置加入 *glyA* 基因拷貝數的實驗。

【0233】 使用 G-spin 全去氧核糖核酸提取迷你試劑盒(貨號 17045, Intron)，依照試劑盒中提供的程序分離 ATCC6872 菌株的染色體基因，該菌株是野生型停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)，並使用引子對 SEQ ID NOS: 36 和 37、引子對 SEQ ID NOS: 38 和 39、引子對 SEQ ID NOS: 40 和 41、引子對 SEQ ID NOS: 42 和 43 進行聚合酶連鎖反應，獲得基因片段(分別為 *del_sda::Pcj7/glyA-A*、*del_sda::Pcj7/glyA-B*、*del_sda::Pcj7/glyA-C*、*del_sda::Pcj7/glyA-D*)。進行聚合酶連鎖反應的條件為 94°C 變性 5 分鐘，然後 94°C 變性 30 秒，55°C 低溫黏合 30 秒，72°C 聚合 1 分鐘，共 20 個循環，然後 72°C 聚合 7 分鐘。

【0234】 以此四個片段進行二次聚合酶連鎖反應獲得的基因片段以限制酶 XbaI(New England Biolabs, 貝弗利(Beverly), 麻薩諸塞州(MA)) 切割。使用 T4 連接酶(New England Biolabs, 貝弗利(Beverly), 麻薩諸塞州(MA)) 將以 XbaI 限制酶切割的基因片段連接至線性 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)。所得質體命名為 pDCM2-del_sdaA-Pn/glyA。

【0235】 載體製備所用引子序列如下：

【0236】 表 14

序列號	名稱	序列
36	引子	5'-AATTCGAGCTCGGTACCCCATTTTCGTGACCATTAGCGT-3'
37	引子	5'-ATTAGCCTGAAGGAAGATCATGCCAATAGCGCCAG-3'
38	引子	5'-GCTATTGGCATGATCTTCCTTCAGGCTAATCTTTT-3'
39	引子	5'-ATTCTGGGTAGTCATCATATGTGTTTCCTTTCGTT-3'
40	引子	5'-AAGGAAACACATATGATGACTACCCAGAATTCTTC-3'
41	引子	5'-CTTTGTACTTGGTGACCAAGAGTCAGGATGCCGAA-3'
42	引子	5'-CATCCTGACTCTTGGTCACCAAGTACAAAGAGACT-3'
43	引子	5'-CGACTCTAGAGGATCCCCGGTACCGCGCATTAGGACT-3'

【0237】 將 pDCM2-del_sdaA-Pcj7/glyA 透過電穿孔轉形至實施例 7-2 中製備的 CJI-3176 菌株中，然後在含有 25 mg/L 卡那黴素的所選培養基中選擇有突變基因和載體插入染色體的菌株為初步候選。此後，使用發生同源重組的菌株中引子對 SEQ ID NOS: 44 和 45 選擇 *sdaA* 缺失並在相應位置插入與 Pcj7 啟動子連接的 *glyA* 基因的菌株。

【0238】 菌株製備所用引子序列如下：

【0239】表 15

序列號	名稱	序列
44	引子	5'-TAATCCCCCAGCTCACCGGC-3'
45	引子	5'-TTTGGATGCCGAGGTCGTAG-3'

實施例 8-2：評估透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株之 IMP 製造能力

【0240】透過燒瓶發酵效價評估實施例 7-2 和實施例 8-1 中製備的菌株及母株之 IMP 製造能力。將停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)KCCM12151P CJI-3176 和 CJI-3177 接種到含有 2.5 mL 以下種子培養基的 14 mL 管中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 24 小時。然後，將 2 mL 種子培養液接種到含有 29 mL 以下製造培養基(24 mL 主培養基+5 mL 單獨無菌培養基)的 250 mL 角擋板燒瓶中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 72 小時。培養完成後，透過高效液相層析測定 IMP 製造能力。

【0241】種子培養基和發酵培養基的組成如下：

【0242】<IMP 種子培養基>

葡萄糖 1%、蛋白胨 1%、肉提取物 1%、酵母提取物 1%、氯化鈉 0.25%、腺嘌呤 100 mg/L、鳥嘌呤 100 mg/L，pH 7.2

【0243】<IMP 燒瓶發酵培養基>

加入麩胺酸鈉 0.1%、氯化銨 1%、硫酸鎂 1.2%、氯化鈣 0.01%、硫酸鐵 20 mg/L、硫酸錳 20 mg/L、硫酸鐵 20 mg/L、硫酸銅 5 mg/L、L-胱胺酸 23 mg/L、β-丙胺酸 24 mg/L、菸鹼酸 8 mg/L、生物素 45 μg/L、鹽酸硫胺素 5 mg/L、腺嘌呤 30 mg/L、(85%)磷酸 1.9%、葡萄糖 4.2%、果糖 2.4%

【0244】 根據停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)絲胺酸脫水酶缺失的培養結果顯示於下表 16 中。

【0245】 表 16

【0246】 根據絲胺酸脫水酶缺失的缺陷確認 IMP 的製造

菌株號	引入類型	光密度(OD)	IMP(g/L)	濃度提高率(%)
KCCM12151P	對照組	41.3	5.2	-
CJI-3176	Δsda	40.8	5.5	5.7
CJI-3177	CJI-3176-del_sdaA- Pcj7/glyA	39.2	5.9	13.4

【0247】 除因 IMP 製造菌株中絲胺酸脫水酶缺失而導致絲胺酸庫增加外，還證實透過加入 *glyA* 拷貝數增強對 IMP 產量增加有協力效果。

實施例 9：製備和評估(IMP)基於透過缺失 *sdaA* 和加入 *glyA* 增強的菌株之 *gcvPTH* 增強、*fdh* 缺失和 *purT* 增強的菌株

實施例 9-1：製備加入 *gcvPTH* 增強的重組載體和 IMP 製造菌株

【0248】 使用質體 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)以如下方法製備載體，該載體以天然啟動子形式將內源性 *gcvPTH* 基因的拷貝加入停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)菌株，用於插入和替換棒狀桿菌染色體中的基因。

【0249】 使用 G-spin 全去氧核糖核酸提取迷你試劑盒(貨號 17045, Intron)，依照試劑盒中提供的程序分離 ATCC6872 菌株的染色體基因，該菌株是野生型停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)，並使用引子對 SEQ ID NOS: 46 和 47、引子對 SEQ ID NOS: 48 和 49、引子對 SEQ ID NOS: 50 和 51、引子對 SEQ ID

NOS: 52 和 53 進行聚合酶連鎖反應，獲得基因片段(分別為 Pn/gcvPTH-A、Pn/gcvPTH-B、Pn/gcvPTH-C、Pn/gcvPTH-D)。進行聚合酶連鎖反應的條件為 94°C 變性 5 分鐘，然後 94°C 變性 30 秒，55°C 低溫黏合 30 秒，72°C 聚合 1 分鐘，共 20 個循環，然後 72°C 聚合 7 分鐘。

【0250】 上述獲得的基因片段以限制酶 XbaI(New England Biolabs，貝弗利(Beverly)，麻薩諸塞州(MA)) 切割。使用 T4 連接酶(New England Biolabs，貝弗利(Beverly)，麻薩諸塞州(MA)) 將以 XbaI 限制酶切割的基因片段連接至線性 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)。所得載體命名為 pDCM2-Pn/gcvPTH。

【0251】 載體製備所用引子序列如下：

【0252】 表 17

序列號	名稱	序列
46	Pn/gcvPTH-A-F	5'- AATTCGAGCTCGGTACCCAGGCACAGCCGACATTACGG-3'
47	Pn/gcvPTH-A-R	5'-GTAGCACATCTGACGAATGTCCAAGTCTAAGGAAA-3'
48	Pn/gcvPTH-B-F	5'-TTAGACTTGGACATTCGTCAGATGTGCTACTTGCC-3'
49	Pn/gcvPTH-B-R	5'-TGCGCCATTAGCGTGTTACTTCTCGCGGCTATAGA-3'
50	Pn/gcvPTH-C-F	5'-AGCCGCGAGAAGTAACACGCTAATGGCGCATTGAA-3'
51	Pn/gcvPTH-C-R	5'-TGAATTATCCGCGTCTTAGATGCCGTTTTCTGCCG-3'
52	Pn/gcvPTH-D-F	5'-GAAAACGGCATCTAAGACGCGGATAATTCAGCTGT-3'
53	Pn/gcvPTH-D-R	5'- CGACTCTAGAGGATCCCCGATGAAGCGAACACTTAAAT-3'

實施例 9-2：製備 *gcvPTH* 基因增強的 IMP 製造菌株

【0253】 進行增強實施例 8-1 中製備的 CJ1-3177(CJ1-3176_del_sdaA-Pn/glyA)菌株中 *gcvPTH* 的實驗。將實施例 9-1 中製備的 pDCM2-Pn/gcvPTH 載

體透過電穿孔轉形至 CJI-3177(CJI-3176_del_sdaA-Pn/glyA)菌株中，然後在含有 25 mg/L 卡那黴素的所選培養基中選擇有突變基因和載體插入染色體的菌株為初步候選。此後，使用發生同源重組的菌株中引子對 SEQ ID NOS: 54 和 55 透過聚合酶連鎖反應初步確認菌株，最後透過基因定序分析進行確認。所選菌株命名為 CJI-3192(CJI-3177_Pn/gcvPTH)。

【0254】 表 18

序列號	名稱	序列
54	引子	5'-CCAGTACATTGTCATGGGAT-3'
55	引子	5'-GATTGGCATATCGCACCGAG-3'

實施例 9-3：製備透過缺失 *fdh* 和加入 *purT* 增強的重組載體和 IMP 製造菌株

【0255】 製備載體，其透過缺失停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)的內源性基因 *fdh*，並在相應基因位置加入 *purT* 基因拷貝數，來最終確認 IMP 製造菌株中 *gcvPTH* 增強的協力效果。因此，進行從實施例 9-2 中製備的 CJI-3192 中缺失 *fdh* 基因並在相應基因位置加入 *purT* 拷貝數的實驗。

【0256】 使用 G-spin 全去氧核糖核酸提取迷你試劑盒(貨號 17045, Intron)，依照試劑盒中提供的程序分離 ATCC6872 菌株的染色體基因，該菌株是野生型停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)，並使用引子對 SEQ ID NOS: 56 和 57、引子對 SEQ ID NOS: 58 和 59、引子對 SEQ ID NOS: 60 和 61、引子對 SEQ ID NOS: 62 和 63 進行聚合酶連鎖反應，獲得基因片段(分別為 del_fdh::*Pcj7/purT*-A、del_fdh::*Pcj7/purT*-B、del_fdh::*Pcj7/purT*-C、del_fdh::*Pcj7/purT*-D)。進行聚合酶連鎖反應的條件為 94°C 變性 5 分鐘，然後 94°C 變性 30 秒，55°C 低溫黏合 30 秒，72°C 聚合 1 分鐘，共 20 個循環，然後 72°C 聚合 7 分鐘。

【0257】 以此四個片段進行二次聚合酶連鎖反應獲得的基因片段以限制酶 XbaI(New England Biolabs, 貝弗利(Beverly), 麻薩諸塞州(MA)) 切割。使用 T4 連接酶(New England Biolabs, 貝弗利(Beverly), 麻薩諸塞州(MA)) 將以 XbaI 限制酶切割的基因片段連接至線性 pDCM2(韓國專利公開號 10-2020-0136813)。所得質體命名為 pDCM2-del_fdh-Pcj7/purT。

【0258】 載體製備所用引子序列如下：

【0259】 表 19

序列號	名稱	序列
56	引子	5'-TCGAGCTCGGTACCCGTTGCCGTATCAGACATGCTCAG-3'
57	引子	5'-GATTAGCCTGAAGGAATTGATTTATCTCGACCAAACAG-3'
58	引子	5'-GGTCGAGATAAATCAATTCCTTCAGGCTAATCTTTTCC-3'
59	引子	5'-CGATATAAGACTCCATCATATGTGTTTCCTTTCGTTGG-3'
60	引子	5'-AAAGGAAACACATATGATGGAGTCTTATATCGGTAGCC-3'
61	引子	5'-CTCATAGGTGCCGAACCTTACTCGGAGATTTTCGACCTCA-3'
62	引子	5'-CGAAATCTCCGAGTAAGTTCGGCACCTATGAGAATATG-3'
63	引子	5'-CTCTAGAGGATCCCCGGCAAGTGTTTCTTGGCGCCATTC-3'

【0260】 將 pDCM2-del_fdh-Pcj7/purT 透過電穿孔轉形至實施例 9-2 中製備的 CJ1-3192 菌株(IMP 製造菌株)，然後在含有 25 mg/L 卡那黴素的所選培養基中選擇有突變基因和載體插入染色體的菌株為初步候選。此後，使用發生同源重組的菌株中引子對 SEQ ID NOS: 64 和 65 選擇 *fdh* 缺失並在相應位置插入與 Pcj7 啟動子連接的 *purT* 基因的菌株。

【0261】 菌株製備所用引子序列如下：

【0262】 表 20

序列號	名稱	序列
64	引子	5'-GCGAGGGGGAAGAAAAGTA-3'
65	引子	5'-CGTTGCCCTTTTCTTCT-3'

實施例 10：評估基於 *glyA* 增強和 *sdaA* 缺失之 *gcvPTH* 增強、*fdh* 缺失、*purT* 增強的菌株之 IMP 製造能力

【0263】 透過燒瓶發酵效價評估實施例 9-2 及 9-3 中製備的菌株及母株的 IMP 製造能力。將停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)KCCM12151P CJI-3192 和 CJI-3193 接種到含有 2.5 mL 以下種子培養基的 14 mL 管中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 24 小時。然後，將 2 mL 種子培養液接種到含有 29 mL 以下製造培養基(24 mL 主培養基+5 mL 單獨無菌培養基)的 250 mL 角擋板燒瓶中，並在 30°C 和 170 rpm 振盪孵育 72 小時。培養完成後，透過高效液相層析測定 IMP 製造能力。

【0264】 種子培養基和發酵培養基的組成與實施例 8-2 相同。

【0265】 根據甲酸脫氫酶缺失和甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶增強之組合 *gcvPTH* 增強、*glyA* 增強和 *sda* 缺失的培養結果顯示於表 21 中。

【0266】 表 21

【0267】 根據甲酸脫氫酶缺失和甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶增強之組合 *gcvPTH* 增強、*glyA* 增強和 *sda* 缺失確認 IMP 的製造

菌株號	引入類型	光密度(OD)	IMP(g/L)	濃度提高率(%)
KCCM12151P	對照組	40.1	5.3	-
CJI-3192	CJI-3177_Pn/ <i>gcvPTH</i>	39.1	6.2	16.9

CJI-3193	CJI-3192_del_fdh- Pcj7/PurT	39.4	6.9	30.1
----------	--------------------------------	------	-----	------

【0268】證實在 IMP 製造菌株中整合 *sdaA* 缺失、*glyA* 增強和 *gcvPTH* 增強可導致 IMP 產量增加，此外，當缺失 *fdh* 且在相應位置加入 *purT* 拷貝數增強時，IMP 濃度進一步增加。

【0269】基於上述內容，本揭露所屬技術領域中具有通常知識者將能理解，在不修改本揭露的技術概念或基本特徵的情況下，可以其他具體形式來實施本揭露。就此而言，本文所揭露的示例性實施例僅用於說明目的且不應解釋為限制本揭露的範圍。反之，本揭露不僅旨在涵蓋示例性實施例，且涵蓋可包括在由所附申請專利範圍限定的本揭露的精神和範圍內的各類替代、修改、等效物及其他實施例。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3"
fileName="910164中文序列表.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.3.0" productionDate="2024-03-20">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>112147713</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-12-07</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>OPA23187</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>KR</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>10-2022-0170771</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-12-08</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="tw">CJ第一製糖股份有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>CJ CHEILJEDANG CORPORATION</ApplicantNameLatin>
  <InventorName languageCode="zh">金, 大永</InventorName>
  <InventorNameLatin>KIM, DAE YOUNG</InventorNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">用於製造嘌呤核苷酸的微生物及使用該微生物製造
嘌呤核苷酸的方法</InventionTitle>
  <InventionTitle languageCode="en">MICROORGANISM FOR PRODUCING PURINE
NUCLEOTIDES AND METHOD FOR PRODUCING PURINE NUCLEOTIDES USING THE
SAME</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>83</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q2">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>accggggatcctctagagtgccgttacctcccgc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tggagtgcgtagcgtgcgaaatgactcctttctaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tttagaaaggagtcatttcgcacgctacgcactcca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>36</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..36</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aagcttgcatgcctgcagcgtcaccgcgcggagata</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 5" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q10">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaaatgactcctttctaaaaagggg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q12">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttagaaaggagtcatttcgaacttgcagcaaacgtgctg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q14">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ccttggtgaggcactttgtg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 8" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q16">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>caaagtgcctcaccaagggcagcgtacgcactccatata</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 9" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q18">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtcaacgcgcacttggatct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q20">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aattcgagctcggtagccaggcacagccgacattacgg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q22">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtagcacatctgacgaatgtccaagtctaaggaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>ttagacttggacattcgtcagatgtgctacttgcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q26">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tgcgccattagcgtgttacttctcgcggctataga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q28">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agccgcgagaagtaacacgctaattggcgcattgaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q30">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tgaattatccgcgtcttagatgccgttttctgccg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q32">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaaaacggcatctaagacgcggataattcagctgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q34">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgactctagaggatccccgatgaagcgaacacttaaat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q36">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ccagtacattgtcatgggat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q38">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gattggcatatcgcaccgag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q40">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tcgagctcgggtaccggttgccgtatcagacatgctcag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 21" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q42">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gattagcctgaaggaattgatttatctcgaccaaacag</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 22" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q44">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggtcgagataaatcaattccttcaggctaattctttcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 23" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q46">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgatataagactccatcatatgtgtttcctttcgttgg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 24" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q48">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaaggaaacacatatgatggagtcttatatcggtagcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q50">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDSeq_sequence>ctcataggtgccgaacttactcggagatttcgacctca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q52">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgaaatctccgagtaagttcggcacctatgagaatag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q54">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctctagaggatccccggcaagtgtttcttggcgccattc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q56">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>taatccccagctcaccggc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="29">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q58">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tttgatgccgaggtcgtag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aattcgagctcggtagccatttcgtgaccattagcgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q62">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctttgtacttggtagatcatgccaatagcgccag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="32">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q64">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gctattggcatgatctcaccaagtacaaagagact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q66">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>cgactctagaggatccccggttaccgcgcattaggact</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 34" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q68">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>taatccccagctcaccggc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 35" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q70">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tttggatgccgaggtcgtag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 36" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q72">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aattcgagctcgtaccatttcgtgaccattagcgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 37" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q74">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>attagcctgaaggaagatcatgccaatagcgccag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q76">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>gctattggcatgatcttccttcaggctaatactttt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 39" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q78">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>attctgggtagtcacatcatatgtgtttcctttcgtt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 40" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q80">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaggaaacacatatgatgactaccagaattcttc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q82">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ctttgtacttggtagaccaagagtcaggatgccgaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q84">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>catcctgactcttggtcaccaagtacaaagagact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q86">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>cgactctagaggatccccggttaccgcgcattaggact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 44" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q88">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>taatccccagctcaccggc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 45" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>

```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q90">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tttgatgccgaggtcgtag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q92">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>aattcgagctcgtaccaggcacagccgacattacgg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 47" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q94">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gtagcacatctgacgaatgtccaagtctaaggaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 48" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q96">
```

```
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttagacttggacattcgtcagatgtgctacttgcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 49" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q98">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tgcgccattagcgtgttacttctcgcggctataga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 50" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q100">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agccgcgagaagtaacacgctaattggcgcattgaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q102">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDSeq_sequence>tgaattatccgcgtcttagatgccgttttctgccg</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 52" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>35</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..35</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q104">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaaaacggcatctaagacgcggataattcagctgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 53" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q106">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgactctagaggatccccgatgaagcgaacacttaaat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q108">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ccagtacattgtcatgggat</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q110">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gattggcatatcgcaccgag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q112">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tcgagctcgggtaccggttgccgtatcagacatgctcag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="57">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q114">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gattagcctgaaggaattgatttatctcgaccaaacag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="58">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q116">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggtcgagataaatcaattccttcaggctaattctttcc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="59">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q118">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>cgatataagactccatcatatgtgtttcctttcgttgg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 60" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q120">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>aaaggaaacacatatgatggagtcttatatcggtagcc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 61" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q122">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctcataggtgccgaacttactcggagatttcgacctca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 62" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>38</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..38</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q124">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgaatctccgagtaagttcggcacctatgagaatag</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 63" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>39</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..39</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q126">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctctagaggatccccggcaagtgtttcttggcgccattc</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="64">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>19</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..19</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q128">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDSeq_sequence>gcgagggggaagaaaagta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 65" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q130">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cgttgccctttttcttct</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 66" >
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>470</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..470</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q132">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>VTISVIDIFSVGVGPSSHTVGPMPRAAKTFMESLPHAPAKVHTELRGSLSATGKGHATDRAV
ILGLAGWAPLTVPIDAKPLAGSFIPSEGTVEGPAGSVQYSIAFNKPVPEHPNCLIFSAWDENGEIATNMEYFVSGGGF
VLSRAELDAQLATHEVPAGMAAAQNNDNAIPYDFSTGDQLELCEHDMTIWEI VAANEAVIHREDGGLAKVNAHLDLV
WVDMRECVTDGIATKGI L PGG L QVNR RAP QLYS Q L L E H Q D D T A S G F S A M E W V N L Y A L A V N E Q N A A G G R V V T A P T N G A C G I
I P A V L H Y A R D F L P D F T R E T A R R F L L T A G A I G M I I K Q N A S I S G A E V G C Q G E V G S A S S M A A G L A E I L G S S P A Q I E N A A E I A
L E H N L G L T C D P V G G L V Q I P C I E R N A I G A V K S I N S A R L A R M G E G T H Y V T L D N A V Q T M A E T G R D M L T K Y K E T S I G G L A K T L G
L S V S Q V E C </INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1413</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1413</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q167">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDSeq_sequence>gtgaccattagcgtcattgacatcttttcagtaggcgtggggccttcgtcctcccacaccgt
tggcccatgcgtgcagcgaaaacctttatggaatctttgccgatgctcctgccaaagtacatactgagctgcgtggtt
cactctcagccacgggtaaaggccagccaccgaccgcgccgtcattttaggccttgccggatggggcggcacttacgta
cctattgacgctaagccgcttgccggcagttttatcccttctgaaggcacagtcgaaggccccgccggcagcgtgcagta
ttccattgcgttcaacaacaagccggtgcctgagcaccgaactgtttgatatttagcgcctgggatgaaaatggtgaag
aaatcgctaccaatatggagtacttctccgtggggcggcggctttgttctctcacgtgcagagctcgatgctgcagctgcaa
gccaccacgaagtccggcgggtatggcggctgcgcaaaataatgacaacgcaatccccatgacttcagcaccgggtga
tcagctcctagagttgtgcatgagcacgacatgacaatctgggaaatcgctcgtgccaatgaagcagttattcaccgtg
aagatggtgggctggccaaggtcaacgcgcacttgatctggtgtgggatgtcatgcgtgagtggttactgatggcatt
gctaccaaggggattttgcccggtggtctgcaggttaatcgctcgtgctccgcaactttatagtcattgcttgaacacca
agatgatactgcgtcaggctttctgccatggagtgggtcaacctctatgcactagccgtcaacgagcaaaaatgctgccg
gtggccgctggtcactgctccaactaacggtgctgcggaatcattcccgcggtcttgactatgcacgagacttctc
cccgatttactcgtgagacagcccggcgtttctgctcaccgctggcgcctattggcatgatcatcaagcagaatgcttc
tatctctggcgtgaggttggctgccaaaggagaagtcggctcggcatcgtcaatggctgctgccgggttggctgagattt
taggctcgagtccagcacagatcgaaaatgcggcagaaatagcactcgagcacaatctcggcttaacctgcatccggtc
ggcggcttggctgcagattccgtgcatcgagcgaatgcgattggcgcagtaaagtctattaactccgcacgccttgcccg
catgggtgaaggcacgcattacgtcaccctcgataatgctgtgcagacaatggccgagaccggccgagacatgctcacca
agtacaaagagacttcgatcgggtggcttggctaagacctgggactatctgtctcccagggtggagtgctaa</INSDSeq
_sequence>
```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="68" >
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>361</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..361</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q169" >
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTATTNHLTENSHAHGYDHYQRMAFFTDTSVCI GCKACEVACKKEWNRNPVEGYNL TGNSYDN
TGALGANTWRHVAFIEQDNERITKAREEGAKLVSLGMPTIGTSPVDAAPNPASADTTTPD TDFRWMSSDVCKHCTNAG
CLDVCPTGALFRTEFGTVVVQDDVCNGCGTCVAGCPFGVIERREDGGVSLKANHVEAQEVPEHAGINVFKKLKQLRPQGP
DHVPGETMPIKNIGVAQKCTMCYDRLKVGEQPACSKTCPTESI QFGTYENMLAAAQARVAELHRQGQTEARLYGANNEDG
VGGTGSIFLLDSPEVYGLPPDRVPTADLPAMAKTFAKAVGAMGVAVAASFLVDRGGT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1086</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1086</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q171">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atgacggctacgaccaatcacctaacagaaaattcgcacgcgcacggctacgaccattacca
gcgcatggcctttttaccgatacttcggtgtgcattggctgtaaggcttgcgaggtggcctgtaaggagtggaaccgca
accggttgagggtataacctgacgggtaattcctacgacaacaccggcgcgctggggcggaataacctggcgacacgta
gatttattgagcaagacaacgagcgcatacaciaagcgcgtgaagaaggtgccaaagctggctctcgctgggcatgccgac
gattggcacttcgcctgtcgatgcagccccgaatcctgccctccgccgataccacgccgccgatactgatactttccggtt
ggctgatgtcttctgatgtctgcaagcactgcaccaacgctggctgctggatgtgtgcccaccgggtgctttatttcgc
accgaatttggcaccgtcgtgggtccaagatgatgtctgcaatggctgcccaccctgcggttggcgggtgcccgttcggtgt
tattgagcggcgtgaagacggcggtgtttcgtaaaagccaaccacgtcgaagcccaagaagtcctgaacacgcgggca
ttaacgtgtttaagaagctcaaacagctgcgcccgaaggaccggatcacgtcccgggtgagaccatgccgattaaaaat

```

```
attggcgtggctcaaaagtgcaccatgtgctacgaccgcctgaaagtcggcgagcagccagcgtgttccaagacatgccc
gacggagtccatccagttcggcacctatgagaatatgctggccgctgcgcaagcgcgctggctgagctacaccgtcaag
gccagactgaggcacgactgtacggcgcaataacgaagacggcgtcggcggaacgggctccatcttcttctgctgctggat
tccccggaagtctacggctctccaccagatccgcgtgtgccgactgcagatttggccgcaatggcgaagactttcgccaa
ggccgttggcgccatgggcgttgccgtggcagcgtccttttttagttgatagaggaggacctag</INSDSeq_sequen
```

```
ce>
```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>923</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..923</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q173">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
</INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>LGTSFGRGGATQPLQDMANADCILIQGSNMAECHPVGFQWVVEAKKRGARVIHVDPRYTRTS
AFANRHVAIRGGTDVLLGALIKYMI DNDLYFH DYVVNYTNASSIISPDFRDTEDLDGLFSGYNPETGKYITDSWQYVQK
PEGAWWNIERDETLQDPNTVFQILKRHYSRYTPEIVEETCGISQEDFHILAESIAQNSNPERTTVFAYALGFTQQTLGVQ
FIRAAA ILQLLMGNVGRPGSGIMALRGHASIQGSTD IPTLFNNLPGYLPM PHADHGDWKGFLDAIAKEDQKGFWGLRENY
AVSLMKS YWGENATKDNDWGWNYMPRINGAHSTYETLMGMLDGI VEGYIVFGQNPAVAQSNGGMQRRGLASLKWLVVRDF
QEIETASF WYDSPEIKTGELKTEDIGTEV FLLPAATHVEKAGTFTQTQRMLQWRFQATNPPGDAKSDLWFFYQMGRIRE
KLAGSTDPMDAPLLAIDWNYEETEHEGEPDPEDV LREINGYYLDGPKKGQLLPGFTEMKPDGTTSGGCWYISGVFKDNI NQ
SARKVSGASQNEVALEWGWVWPSNRRMLYNRASAAPDGTWP SERKKYIWWDAEAGRWTGDDVPDFPVNLDPSYRAPVDAT
GPAALDGTDAFIMQADGRGWLFPKGLSDGPLPTHYEPHESPARNILYSQQQSPTRLTIKRPDNLSKPMAGEPGSEVYPV
VFSTYRLTEMYTSGAMSRRLPYLAELQPDFVEVDPVLAQKRGLENGGWATIISPRGVI EARVLVTERMESMTINGKDFH
QIGLPFHYGQSSSPVTGDGANDLLGLTLEPNVFIQNSKVGACEIKAGRRPRGKARLEMLKEYQRRAGLTLDTGNELIDP
```

```

DAQQLEATSTIDLFIPNGVDKETVETSTSEPGAADGSAHHGSAMGEVNPSEPKDTEGGKQ</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>2772</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..2772</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="ql75">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttgggaacctcgtttggccgcggtggcgcaactcagccactgcaggatatggcaaatgccga
ctgcatcctgattcagggctcgaatatggccgagtgccatcctgtgggtttccagtggttagtcgaagctaaaaagcgcg
ggcgcgcgtaattcacgtggatcctcgctatacccgtacctggcggttgcgaaccggcacgtagcgatccgtggcggc
accgatgtggtgcttcttggcgcaattatcaagtacatgatcgacaatgatctgtatcttccagactatgtggtcaatta
cacgaacgcgtcgtcgatcatttctcccgaacttccgggacacggaagacctagacggcctcttttcttggtacaaccag
aaaccgtaagtacatcacggactcgtggcagtagctgcaaaagcccgaaggtgcgtggtggaatatcgagcgtgatgag
actttgcaggaccgaatacggcttccagattctcaagcggcactattcccgtataccccggaaatcgtggaagagac
ctgcggtatctcccaggaggacttccattatctagcggagtcgattgcacagaactccaatccagagcgcactacagtct
ttgcctatgctttgggctttacgcagcaaaccttaggcgtgcagttcattcgtgcccgggccatcttgcaactgctgatg
ggcaacgtgggcccgggctcaggcatcatggcgtgcgtggacacgcttccattcagggctcgacagatatcccgac
gctgtttaataacttggcggttacttggcgatgcttcatgcccgacctggcgactggaaaggattcttggacgcgattg
ccaaggaagaccagaagggttctggggtctgcgtgaaaactatgccgtgagcttgatgaagtcctattggggcgagaat
gccaccaaggacaatgactggggctggaactacatgcccgcatcaacggtgcgcactccacctatgaaaccttgatggg
catgctcgacggcatcgtcgaaggctatatcgtcttcggacaaaaccagcggctcgtcaatccaacggcgcatgcaac
gccgcgattggcgtcttgaagtggttggttgctcgtgacttccaggaaattgagacagcgtcattcttggtacgactca
ccagagatcaagactggtgaactcaagaccgaagatattggcaccgaggtcttcttcttcttcgcagcaacgcacgtaga

```

```

aaaggccggtacctttacccaaaccagcgcgatgctgcagtgggcgtttccaggccacaaatccaccaggcgatgccaaaga
gcatctgtggttcttctaccagatgggcaagcgcattcgcgaaaagcttgctggttctactgatccgatggacgcgcca
ttgttgccatcgactggaactacgaggaaaccgaacacggcgagccagatcccgaagacgtgctgcgcgaaatcaacgg
ctactatctggatggcccgaagaaggggcagctgctgcctggctttacagagatgaagcctgatggcacgacgtctggtg
gctgctggatctactccggcgtgttcaaggacaacatcaaccagtccgcgcgcaaagtttcaggcgcttcgcaaaatgag
gttgcgctggaatggggctgggtatggccatcgaatcgccgcgatgctgtacaaccgtgcgctcagctgcgccagacggcac
gcatggctcggagcgaagaagtacatttggtgggacgctgaggccggccgctggacggggcagcagctaccggacttcc
cagtcaacttggatccgtcataccgcgcgctgtcgatgccacaggtcctgcagcccttgacggcaccgatgcgtttatc
atgcaggcagatggtcgtggttggttggttcgtacccaaaggactttccgatggacccctgccaaaccactatgaaccgca
cgagtcgccggcagcaatattttgtacagccagcagcagctgccgacacgcttgaccatcaagcgtccggataacttgt
cgaagcccatggctggtgagcccggctcagaggtctaccccgtggttttctccacgtaccgtttgacggagatgtacacc
tcgggtgcgatgagccgccgactgccttatttggcagagttgcagccagatttggttcgttgaggctcgatccggttctagc
acaaaagcgcggcttgaaaacggtggctgggcaaccatcatttcgccgcgtggcgtgattgaggctcgcgtgctggtga
ccgaacgatggaatctatgaccatcaatggcaaggacttccaccagattggtctgcctttccactacggtcagtcaccgc
tcctcgccagttactggtgacggtgccaatgaccttctgggtctaaactttggagccgaatgtgttcattcaaaactccaa
ggttggtgcatgtgaaattaaggccggccgacgccacgcggcaaggcgcggttagagatgctcaaggaataaccagcgc
gtgccgattgacgttgacaccggtaacgagctcatcgatcccgatgcacagcagctcgaagctacctccacgatcgac
ttatttattccgaatggcgtagacaaagagacggtggagacatcgacaagcagcctggcgccgcagatggttctgcgca
tcattggctcagcgtgggggaagtcccaaattctgaaccaaagatacggagggaggcgaaaagcaatga</INSDSeq_
sequence>

```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="72" >
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>188</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..188</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q177" >
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MSKLSPLNWPVVRQVKRGDLFGRDKSTQSAKSENLHGRTVEADKVVQSVCPYCAVGCSQRVY
VKDDRVVHIEGSDSPI SRGRLCPKGAASEQLVNSATRLTKIKYRAPHATEWQDLLETAMDMIADRF IASRRNQWQDFD
EKGRVLRNRTMGVAGLGGATLDNEENYI IKKLFTAAGAVQVENQARI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>567</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..567</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q179" >
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atgtcgaagttaagtccgctgaattggccggttgtgcccaggtgaagcgcggcgatctggt
tggtcgagataaatcaaccagctctgccaaatcggagaacctgcacgggcgactgttagaggccgacaaagtagttcaat
cggctcgccttactgcgctgtgggctgctcgcagcgggtatatgtcaaagatgaccgcgtcgttcatattgaaggtgac
tcggactcgcctatttcgcgcggacgtttgtgcccgaaggcgtgctctgagcagctggtgaactctgcgacgcgttt
gaccaagattaaataccgcgcgcctcatgcaaccgagtggaagacctagatctcgaaacgcaatggatatgattgagg
accgttttattgcctcccgcgcaatcagtgccaggactttgatgaaaaaggccgtgttttaaacgcaccatgggtgtg
gcaggacttgggtggcgccaccttgataatgaggaaaactacattatcaagaagctgtttactgcagctggtgcccgtaca
agtcgaaaaccaagcagcatatga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>

```

```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>952</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..952</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql81">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MDFIARHLGPDATESKMLARVGYDSVEALVTSAPIQSISITDALNMPQALSETDAQAKLRA
YADKNVVLKSYFGQGYSDTITPAVIRRLVEDAGWYTAYTPYQPEISQGRLESLLNFQTMVQDLTGLPIANASLLDEASA
VAEAVGLMSRAVKKGRRVLLDARLHPQVLTVAERARAIDLEVEIADLSNGVVGEDLVGAVVAYTGTEGDI FDPRAVIEE
IHGRGGLVSVAADLLSLLLEPGSFGADIVIGSSQRFVPLFFGGPHAAFMVTDKLRQMPGRLVGVSV DSEGRPAYR
LALQTREQHIRRERATSNICTAQALLANVAAMYAVYHGPEGLKEIANHVHSLAASFAGAVTTQGLKITSSEFFDVTTVAG
VDAASIKFSLEKAGYLVRTIGEDKVSVSFGESATQGDVTVLADAFGAAVDNADFP LPEALTRTTEVLTHEIFNSIHSET
QMMRYLRKLGDKDLALDRTMIPLGSC TMKLNPTAAMEPITWPEFANVHPYSPEYATQGWRELIEELEGWLAELTGYAKVS
IQPNAGSQGELAGLLAIRRYHVANGDTNRDIVLIPASAHGTNAASATLANLRVVVVKTAEDGSIDLEDLDAKIAKHGQNM
AGIMITYPSTHGVPDPEVREVCDKIHAAGGQVYIDGANMNALTGWAQPGKFGGDVSHLNLHKTFTIPHGGGGPGVGP IGV
AEHLIPFLPTDAAADELDPANPTPVEQGVPITASQFGSAGVLPITWAYIAMTGGEG LTSATAHA ILGANYLARELSDFSFP
ILFTGNEGLVAHECILDRLALTDASGVTAADVAKRLIDFGFHAPTLAFPVAGTLMVEPTESEDIAELDRFIEAMRTIRAE
IQEIIDGKIAYEDSVIRHAPY TAPSVSSDDWEYSFSREKAAWPVPSRLRNKYFPVRRLEAYGDRNLVCSCPPPEAFDF
DADTDSTEEA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
  <INSDSeq>

```

```

<INSDSeq_length>2859</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..2859</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql83">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atggatttcattgccccccaccttgggccagatgccacagaatctaaggacatgctggcgcg
tgtgggttatgacagcgtagaagcgttgtcacctcagcaatccccagtcattagcatcacggatgcgcttaatatgc
cgcaggcattgagttagaccgacgcacaagccaagcttcgcgcttacgctgataaaaatgtcgtgctgaagtctttctac
ggccagggtactcagacaccatcacccctgctgttattcgcgcggtttggtagaagacgctggttggtacaccgctta
taccataaccagccagaaatttcccagggtcgccttgagtcgctgctgaacttcagaccatggttcaagacctaccg
gcttgcttattgcaatgcttctttgctggatgaggcatcggcagttgctgaggccgtgggtttgatgtctcgtgcggtc
aagaaggccgcccgcgtactgctcgacgcccgtttgcaaccacaggttctcaccgtggcggcggagcgtgcccagcaat
tgacctgaagttgagattgctgacttgagcaacggcgtggttggcgaagacctcgtcggcgcagtagttgcctacaccg
gtacggaggcgatattttgaccacgtgctgttatcgaagaaatccatggccgcggcggacttggttccgctcgggct
gacttgttgtccttgctgcttctggaaggcccaggctcgttcggtgcagacattgtcattggttcttcccacgctttgg
tgtgccgctcttctttggtggcccacacgctgctttcatggcagtaactgacaagctaaagcgtcagatgccaggccgtt
tggtcggcgtatcggtcgattctgagggccgtctctgcttaccgcttggcgtgcagactcgtgaacagcacatccgccgt
gaacgcgcgacgtcaaatatttgtaccgcgcaggcacttctggccaacgtggctgccatgtacgccgtctaccacggctc
agaaggcttgaaggagattgctaaccacgtgcactccttggctgcttctttgccggtgcagttactactcagggtctga
agattacttctcggagttcttcgacaccgttaccgttggcggcgttgatgccgcattccattaagttcagcttggaaaag
gccggataacctggtgcgcaccattggcgaggataaggtttctgtctcttccggtgagtcgccaaaccaaggcgatgttac
tgtcttggcggacgcctttggtgccgctgcagtagataatgcagatttcccactgcctgaagcactcaccgcaccaccg
aggtgctcaccacgaaatctttaactccattcactccgaaaccagatgatgcgttacctgcgcaagctcgggtgataag
gatctggctctagatcgcaccatgattcctttgggctcatgcaccatgaagctcaaccaaccgcagccatggaaccgat
cacctggccagaattcgccaatggtcacccttactccccgaatacgcgaaccagggttggcgtgagctcattgaagagt
tggaaggctgggtggctgagctgaccggctacgccaaggtttctatccaaccaaacgctgggttcccagggcgagctagct

```

```
ggtcttttggctatccgccgctaccacgtcgcaaatggtgacaccaaccgcgatatcgtgttgattcctgcgctccgcgca
cggcaccaacgctgcctccgcgaccctggcaaatctgcgcgttggttggttaagaccgccgaagacggctccatcgatc
tgaagatctcgatgcgaagatcgccaagcatggtcagaacatggccggaatcatgatcacctacccatccactcacggc
gtctttgaccagaggctcgtgaagtctgcgacaagatccatgccgctggcggccagggtctacattgatggcgcaaacat
gaatgctttgactgggtgggctcagccgggcaagttcgggtggcgatgtctcgcacttgaacctgcacaagactttacca
ttccgcacggcggtggcggcccagggttggaccaattggtgtcgtgagcacctcattccattcctgccaacggatgct
gcagctgatgagctggatcctgctaaccaaccccagtagaacagggcggttccaattactgcttcgcagtttggttccgc
tgggttcttgcggattacctgggcatacatcgcaatgaccggtggcgagggtctaacctccgctactgcacacgccatct
tgggtgctaactaccttgcgcgcgaactctccgattccttcccaattctgttcaccggtaatgaaggctcttggtgcgcac
gagtgcattttggatctgcgcgcgctaaccgatgcctcaggcggttactgcagcagacggttccaagcggttgatcgactt
tgcttccacgctcctaccctcgcattcccagtggtggcaccttgatggtggaacctactgagctctgaggatattgctg
aactggatcgtttcattgaagcaatgcgcaccatccgtgcggagattcaggaaatcatcgatggcaagatcgcatatgaa
gattcggatccgccacgcaccttacaccgcaccgtcagctctcaagcgatgattgggagtactcctttagccgtgaaaa
ggccgatggccagttccttactgcgttgaacaagtacttcccaccggtacgccgcctggatgaagcttacggcgacc
gcaacctggtgtgctcctgccaccgccagaggcattcgacttcgatgccgacaccgattccaccgaggaggcttaa</I
NSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="76" >
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>367</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..367</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q185" >
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
</INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>MSELRQSPLHAEHEKLGASFTAFGPWNMPLKYGKELDEHHAVRNAVGMFDLSHMGEI WVNGP
DAAAFLSYALISNMETVKNGKAKYSMIVAEDGGI IDDLISYRFSDTKFLVVPNAGNTD VVWEAFNQRIEGFDVELNNE
SLDVAMIALQGPNAAKVLEQVAEESKEEVENLPYYAATMAKVADVDTIVARTGYTGEDGFELMIYNADATKLWQLFIDQD
GVTPCGLASRDSLRL EAGMPLYGNELSRDITPVEAGMGVAFK KKTADFVGAEVL RQRLEEGPKQVIKALTSSERRAARTGA
E IYAGEQLVGTVTSGQPSPTLGHPIALALVDTAANLEEGA EVEVDIRGKRYPFVTKTPFYSREK</INSDSeq_seque
nce>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1104</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1104</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q187">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>atgtcagaactacgccagtccccactgcacgcagagcacgaaaagctcggcgcacaccttac
cgcttttggcccttggaaatagccactaaagtacggcaaggagctcgatgagcaccacgcagtgcgtaatgcagtcggca
tgtttgacctctcgccatgggtgagattgggtcaacggcccagacgccgctgcattttgtcctatgcgctgatctcc
aacatggagaccgtgaaaaatggcaaggcgaagtactccatgattgttgc tgaagacggcggcatcatcgatgacctaat
ttctaccgtttctccgataccaagtcttggtagtgccaaacgctggcaacactgatgtggtttgggaagcttttaate
agcgcattgaaggcttcgatgtagaactcaacaatgagtccttggatgttgcgatgattgccctgcagggccccaatgct
gccaaggttctagttgaacaggttgc tgaagagtccaaggaagaagtagaaaaccttcccttactatgccgcaaccatggc
caaagtcgcagacgcttgacaccatcgctcgcgcgaccggctacaccggcgaagacggcttcgagctgatgatctacaacg
ccgatgccaagctctggcagcttttcatcgaccaagatgggtgttactccatgcggttttagcttcacgcgattccttg
cgcttgaagctggcatgcctttgtacggcaatgagctttcccgcgatatcaccctgtcagggcaggcatgggtgtggc
gttaagaagaagaccgctgacttcgtcggcggcagggtctgcgtcaacgcttggagaaggccctaagcaagttatca
```

```
aggctttgacctcctctgagcgccgtgcagcgcgaccgggtgctgaaatctatgccggcgagcagttggtaggcaccgta
acttcgggtcagccatcgccgacgctgggacaccctattgccctggcactggtagatactgcagcaaacctcgaagaagg
cgcagaagtagaagtggatattcgcggcaagcgttacccttcaccgttaccaagacgcctttctatagccgcgagaagt
aa</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>129</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..129</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q189">
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
</INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>MANLPAEFTYSEDHEWINAAQDAIVGKTVRIGITSVAADRLGEVVFAELPAVGDSVTAGETC
GEVESTKSVSDLYSPVTGTVTAVNETVHDDYEI INNDPFGEGWLF EVEVEELGEVMTADEYAAENGI</INSDSeq_seq
uence>
```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>390</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..390</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q191">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atggctaacctacctgcagaatttacttactccgaagaccacgagtggtgattaacgccgctca
ggacgcaatcggttgcaaaactgttcgcacatcgatcacttctgttgccgcagaccgtcttggtgaggttgctcttcgctg
agcttcagcagttggcgatagcgtcactgcaggtgaaacctgtggtgaggttgaatccaccaagtccgtttctgacctg
tacagccctgtcaccggtaccgtgaccgctgtgaacgagacagtgacgatgattatgaaatcatcaacaatgatccttt
cggatgaaggttggtgtttgaggtcgaggttgaagaactcggcgaggttatgaccgctgatgaatacgcggcagaaaacg
gcatctaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>433</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..433</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q193">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MTTQNSSDAQYQEMRDLDPVEYAA INGEIARQRDTLEMIASENFVPRAVLQAQGSVLTKNYA
EGYPGRRYYGGCEHVDI VEDLARDRAKALFGAEFANVQPHSGAQANA AVLASL INPGDK I LGLSLAHGGHLTHGMKLNFS
GKLYEVAAYEVD AETNRIDMDKLREQAIAEKPV I IAGWSAYPRTLDFEAYRSI ADEVGAYLWTDMAHFAGLVAADLYPN
PVPHSDI VSTTVHKTLGGPRSGMILAKQDYAKKLSAVFPQQGGPLMHVVAAKAIAMKVAASEEFRDRQVRTLEGAKIL
AERLTTPEAKAAGVDVLTGGTDVHLVLADLRNSEMDGQQAEDLLHEVGITVNRNAVPNDRPPMVTSGLRIGTSALATRG
LDAEAFTEVADI IGTALTDGKNADTQKLRRVVKLAEQFLYEGLEDWKIV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1302</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1302</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q195">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atgactaccagaattcttccgatgctcagtaccaggaaatgcgtgacttagaccagaggt
ctatgcagcaattaacggtgaaattgctcgtcagcgcgataccctggagatgattgcgtcggagaactttgttcctcgtg
cagtcttgaggcacagggttccgtccttaccacaagtacgcagagggttaccagggtgccgctactacgggtggatgt
gagcacgtcgatatcgtcgaagatctggcgcgtgaccgcgctaaggctctgttcggcgcgtgagtttgccaatgtacagcc
aactccggtgcacaggcaaacgctgccgtccttgccttcttatacaaccaggcgataagatcttgggcctttctttgg
ctcacggtggtcacctgaccacggcatgaagctgaacttctccggcaagctctacgaagtagctgcctacgaagtcgat
gcgaaaccaaccgtatcgacatggacaagctgcgtgagcaggctattgcagaaaagccacagggtcatcatcgtggctg

```

```

gtctgcatacccacgcactctggatTTTgaagcataccgttccatcgcggatgaagtgggggcttacctgtggaccgata
tggcacactTTTgctggtctcgttggcctgatctgtacccaaatccagttccacactctgacattgTTTccaccaccgtg
cacaagaccctgggcggctctcgtcctcggcatgatcctggctaagcaggactacgctaagaagctcaactctgcagcttt
cccaggccagcagggtggccctTgatgcatgtggtTgcagcgaaggcaattgccatgaaggTtTgctgcttccgaagaat
tccgtgaccgtcaggtccgtactctggaaggcgcgaagattctTgctgagcgtTgaccactcctgaggcaaaggcagca
ggcgtTgacgtTctcactggcggcaccgacgtgcactTggtTctTgcgaccctgcgcaattctgagatggatggccagca
ggcagaagacctcctgcacgaggtcggcatcaccgttaaccgcaacgcggtTccaacgatccacgtccaccaatggTga
cctctggtctgcgtatcggtactTccgctctggctacccgcggcctggatgcagaagcattcaccgaggtggcagacatc
atcggcaccgcgctTaccgatggcaagaacgccgataccagaagctgcgcgcacgcgtggacaagctTgctgagcagtt
cccactctacgagggtTggaagactggaagatcgtctaa</INSDSeq_sequence>

```

```
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="82" >
```

```
<INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>422</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..422</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q197" >
```

```
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
<INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
```

```
</INSDFeature_qual>
```

```
</INSDFeature>
```

```
</INSDSeq_feature-table>
```

```

<INSDSeq_sequence>LESYIGSPLTSNAVRVLMGGGELAKGLVGAFQNLGLEVHVVDTRYEGSPAQQVAHFSYTADI
DDEKAVLDLVEHIKPAYVVPETIEGVADEALHALHDDSAVTVVPTARACELTSDRKKLREVAESLGLPTTAYKVVETFDAL
KEAVNELGLPCI IKPDVATSGRGHVLVKDEDQLKDAWDNVRGKKNVVAERFVDFDYEVIMAVRSIDPETGKLATWF
SEPIGYEHARGNLVDCWQPKTMSQRAFENARSVAARISNELGGRGIFAVELFVAGDDIYFSSVTPRPSDKAMLTEATQRF
SQYELHARA ILGLPIDITLVSPGASSLLHATEEIDEVTYSGVVEALQVAETDVRFLFGKPSAYPGRRMGLIMATADDVSEA
RDRAAIAASKITISAAPRLVPEPELTSEKELSPDEVEISE</INSDSeq_sequence>

```

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 83" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1269</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1269</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>genomic DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q199">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Corynebacterium stationis</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ttggagtcttatatcggttagccccctgacctcgaatgctgttcgggttctcatgctcggcgg
cggtagctggccaaaggtttggtgggcgcgtttcagaatttgggcttggagtcacggtgtcgaccgctatgaggggt
ctccagcacagcaggttgacaccttagctacaccgcagatatcgatgatgaaaaggccgtgctcgatttagttgagcac
atcaagccggcttatgtcgtgccagaaatcgaggcgtagcagatgaggctttgcatgctgcttcacgatgactccgctgt
caccgttgtgccaccgcccggcgtgtgagcttaccagcgaccggaagaagctacgcgaagtcgcagaaagcctcggt
tgccgacgaccgctacaaggtcgtagaaaccttcgacgctttgaaagaagcgggtgaacgagctcggtttgccgtgatt
attaagccgatgttgcaacctctggacgcggcatgtgctggtcaaagacgaagaccaactcaaagacgcgtgggataa
tgtcgtcgcggcaagaagaactcctgggtgtcgcgaacgctttgtggattttgactatgaagtcacatcatgggcg
tgcgctcgattgaccggaaacgggcaagctggcaacgtggttctcagagccgattggttatgagcatgctgcggcgaac
ctcgtggactgctggcagccaaagacgatgagccagcgtgctttgaaaatgcacgcttcggttgccagcgcgtatttctaa
cgaactcggcggccgcggcatcttcgcggtggagctgtttgtcgcgggcgacgatattctacttctcctcggtgacccgcg
gtccttctgataaagcgtgctgaccgaagccaccaacgcttttcgagtatgaattgcacgcgcgcgccattttgggc
ctgccgatcgacatcacgcttgtctcaccgggcgctagctctttgttcacgcgaccgaagagatcgacgaagttacctt
ctcggcgttgaagaagccctgcaggttgcaaaaccgatgtgcgctattcggcaagccttcggcataaccttgccgac
gcatggggttgatcatggccaccgcccagcagatgtctccgaagcacgcgaccgcgctcgatcgcgccatcgaagatcacg
attagcgcgccccaaaggttagttcctgaaccagaactaacctctgaaaaagagttatcccccgatgaggtcgaaatctc
cgagtaa</INSDSeq_sequence>

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種具有嘌呤核苷酸製造能力的微生物，其中，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【請求項2】 如請求項 1 所述之微生物，其中，該絲胺酸脫水酶由胺基酸序列 SEQ ID NO: 66 所組成。

【請求項3】 如請求項 1 所述之微生物，其中，選自由以下(a)至(d)所組成之群組的任一種或多種蛋白的活性係進一步經調整的：

(a) 與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甲酸脫氫酶的活性減弱；

(b) 與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甘胺酸降解酶的活性增強；

(c) 與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸經甲基轉移酶的活性增強；及

(d) 與該微生物之內源性活性相比，該微生物之甲酸依賴性磷酸核糖甘胺醯胺甲醯基轉移酶的活性增強。

【請求項4】 如請求項 1 所述之微生物，其中，該微生物係棒狀桿菌屬微生物。

【請求項5】 如請求項 4 所述之微生物，其中，該棒狀桿菌屬微生物係停滯棒狀桿菌(*Corynebacterium stationis*)。

【請求項6】 如請求項 1 至 5 中任一項所述之微生物，其中，與未經修飾的微生物相比，該微生物的嘌呤核苷酸製造能力增加。

【請求項7】 一種用於製造嘌呤核苷酸的方法，包括：在培養基中培養微生物，其中，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【請求項8】 如請求項 7 所述之方法，其中，該方法復包括從經培養的該微生物、該微生物的培養物、該微生物的發酵物或該培養基中回收目標物質。

【請求項9】 一種用於製造嘌呤核苷酸的組成物，其中，該組成物包含微生物、該微生物的培養物、該微生物的發酵物、或其中兩種以上之組合，其中，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。

【請求項10】 一種微生物用於製造嘌呤核苷酸的用途，其中，與該微生物之內源性活性相比，該微生物之絲胺酸脫水酶的活性減弱。