

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0045276 (43) 공개일자 2012년05월09일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12N 1/19 (2006.01) C12N 15/31 (2006.01) C12R 1/85 (2006.01) (21) 출원번호 10-2010-0106715 (22) 출원일자 2010년10월29일 심사청구일자 없음		(71) 출원인 이화여자대학교 산학협력단 서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교) (72) 발명자 최원자 서울특별시 서대문구 이화여대길 52, 자연과학대학 생명과학전공 (대현동, 이화여자대학교) 김완기 경기도 수원시 영통구 월드컵로 206, 의과대학의 과학연구소 분자생물학실 (원천동, 아주대학교) (74) 대리인 양부현

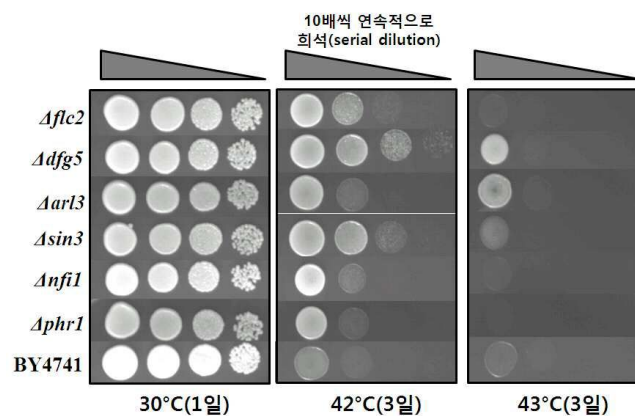
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 열?저항성 효모 균주 및 이의 유전자

(57) 요약

본 발명은 불활성화된(inactivated) FLC2, DFG5, ARL3, SIN3, NFI1 또는 PHR1 유전자를 포함하는 열-저항성 형질변형 효모 균주에 관한 것이다. 본 발명의 효모 균주들은 고온, 바람직하게는 42℃ 또는 43℃에서 성장할 수 있는 효모 균주다. 따라서, 본 발명의 효모 균주들은 고온에 대한 저항성을 보유함으로써 소망하는 산물들(바이오매스)의 산업적 생산에 매우 유용하게 적용될 수 있다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1345072522

부처명 교육과학기술부

연구사업명 미래유망파이오니아사업

연구과제명 미생물 오닉스 융합기반 바이오에너지 생산 및 온실가스 저감 기술 개발 연구

주관기관 이화여자대학교

연구기간 2008.07.01 ~ 2014.02.28

특허청구의 범위

청구항 1

불활성화된(inactivated) DFG5, ARL3 또는 SIN3 유전자를 포함하는 열-저항성 형질변형 효모 균주.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 DFG5, ARL3 또는 SIN3 유전자의 불활성화는 유전자 결실에 의해 유발되는 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 효모 균주는 30-43℃ 온도 조건에서 성장할 수 있는 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 상기 효모 균주는 사카로마이세스 종(*Saccharomyces* spp.), 시조사카로마이세스 종(*Schizosaccharomyces* spp.), 피키아 종(*Pichia* spp.), 파피아 종(*Paffia* spp.), 클루이베로미세스 종(*Kluyveromyces* spp.), 칸디다 종(*Candida* spp.), 탈라로미세스 종(*Talaromyces* spp.), 브레타노미세스 종(*Brettanomyces* spp.), 파키솔렌 종(*Pachysolen* spp.) 또는 데바리오미세스 종(*Debaryomyces* spp.) 효모 균주인 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 상기 효모 균주는 사카로마이세스 종인 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 6

불활성화된(inactivated) FLC2, NFI1 또는 PHR1 유전자를 포함하는 열-저항성 형질변형 효모 균주.

청구항 7

제 6 항에 있어서, 상기 FLC2, NFI1 또는 PHR1 유전자의 불활성화는 유전자 결실에 의해 유발되는 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 8

제 6 항에 있어서, 상기 효모 균주는 30-42℃ 온도 조건에서 성장할 수 있는 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 9

제 6 항에 있어서, 상기 효모 균주는 사카로마이세스 종, 시조사카로마이세스 종, 피키아 종, 파피아 종, 클루이베로미세스 종, 칸디다 종, 탈라로미세스 종, 브레타노미세스 종, 파키솔렌 종 또는 데바리오미세스 종 효모 균주인 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 10

제 9 항에 있어서, 상기 효모 균주는 사카로마이세스 종인 것을 특징으로 하는 효모 균주.

명세서

기술 분야

[0001] 본 발명은 열-저항성 효모 균주에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*)는 알코올 발효를 포함한 다양한 산업분야에서 폭넓게 이용되어 왔다. 발효 동안, 효모세포는 고농도 알코올, 고삼투압 및 온도 변동 같은 많은 스트레스에 노출된다. 상술한 스트레스들은 성장률을 감소시키고 세포 생존율에 영향을 미친다. 따라서, 효모세포가 생존을 위해 각 스트레스 조건에 대해 신속하게 반응하여 적응할 수 있는 것이 중요하다.

[0003] 열 스트레스는 단백질의 미스폴딩(misfolding) 및 응집을 초래하는 것으로 알려져 있다. 세포가 고온에 노출되는 경우, 열충격 단백질을 인코딩하는 일련의 유전자들의 발현이 유도되어 미스폴딩된 단백질을 재폴딩하거나 또는 분해함으로써 손상으로부터 세포를 보호한다(Morano *et al.*, 1998).

[0004] 본 명세서 전체에 걸쳐 다수의 논문 및 특허문헌이 참조되고 그 인용이 표시되어 있다. 인용된 논문 및 특허문헌의 개시 내용은 그 전체로서 본 명세서에 참조로 삽입되어 본 발명이 속하는 기술 분야의 수준 및 본 발명의 내용이 보다 명확하게 설명된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명자들은 열-저항성 효모 균주를 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 본 발명자들은 효모 결실 돌연변이체 라이브러리 스크리닝을 통해 열-저항성 효모 형질전환체를 동정하였으며, 이들이 고온(예컨대, 42℃ 또는 43℃)에서 성장할 수 있다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하게 되었다.

[0006] 따라서, 본 발명의 목적은 열-저항성 형질변형 효모 균주를 제공하는 데 있다.

[0007] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 일 양태에 따르면, 본 발명은 불활성화된(inactivated) DFG5, ARL3 또는 SIN3 유전자를 포함하는 열-저항성 형질변형 효모 균주를 제공한다.

[0009] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 불활성화된(inactivated) FLC2, NFI1 또는 PHR1 유전자를 포함하는 열-저항성 형질변형 효모 균주를 제공한다.

[0010] 본 발명자들은 열-저항성 효모 균주를 개발하고자 노력하였다. 그 결과, 본 발명자들은 효모 결실 돌연변이체 라이브러리 스크리닝을 통해 열-저항성 효모 형질전환체를 동정하였으며, 이들이 고온(예컨대, 42℃ 또는 43℃)에서 성장할 수 있다는 것을 확인하였다.

- [0011] 본 발명은 효모 결실 돌연변이체 라이브리리로부터 열-저항성이 증가된 형질변형 효모 균주들을 분리/동정하였다.
- [0012] 본 명세서의 용어 “불활성화된(inactivated)”은 타겟 유전자의 기능이 차단되었다는 것을 의미하며, 예를 들어 결실 돌연변이, 점 돌연변이, 넌센스 돌연변이, 미스센스 돌연변이, 대체 돌연변이, 트랜스포존-유발된 돌연변이, 등에 의해서 유발된 타겟 유전자의 불활성화를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 본 발명의 불활성화는 결실 돌연변이를 통한 불활성화이다.
- [0013] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상술한 타겟 유전자의 불활성화는 유전자 결실에 의해 유발된다. 상술한 타겟 유전자들, 즉 FLC2(*YAL053W*), DFG5(*YMR238W*), ARL3(*YPL051W*), SIN3(*YOL004W*), NFI1(*YOR156C*) 및 PHR1(*YOR386W*) 유전자의 뉴클레오타이드 서열 및 아미노산 서열은 각각 서열목록 제1서열 내지 서열목록 제6서열, 및 서열목록 제7서열 내지 서열목록 제12서열에 기재되어 있으며, 상기 유전자들의 아미노산을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 및 이의 변형체도 이용될 수 있음은 당업계에서 자명하다.
- [0014] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상술한 DFG5, ARL3 또는 SIN3 유전자가 불활성화된(inactivated) 효모 균주는 30-43℃, 보다 바람직하게는 37-43℃, 보다 더 바람직하게는 40-43℃ 및 가장 바람직하게는 42-43℃ 온도 조건에서 성장할 수 있다.
- [0015] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상술한 FLC2, NFI1 및 PHR1 유전자가 불활성화된(inactivated) 효모 균주는 30-42℃, 보다 바람직하게는 37-42℃, 보다 더 바람직하게는 40-42℃ 및 가장 바람직하게는 42℃ 온도 조건에서 성장할 수 있다.
- [0016] 본 발명은 상술한 타겟 유전자들의 불활성화를 유도하는 재조합 벡터 또는 그의 전사체에 의해 감염된 세포 및 유전자 도입에 의한 형질전환된 세포를 제공할 수 있다. 또한, 본 발명은 상술한 불활성화된 타겟 유전자를 포함하는 재조합 벡터 또는 상술한 불활성화된 타겟 단백질에 의해 형질전환된 형질전환체를 제공할 수 있다.
- [0017] 본 발명의 재조합 벡터는 서열목록 제7서열 내지 제12서열의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 상보적인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 본 발명의 벡터는 전형적으로 클로닝을 위한 벡터 또는 발현을 위한 벡터로서 구축될 수 있다. 또한, 본 발명의 벡터는 원핵세포 및 진핵세포를 숙주로 하여 구축될 수 있다. 예를 들어, 원핵세포는 박테리아 세포 및 고세균을 포함하며, 진핵세포는 효모세포, 포유동물세포, 식물세포, 곤충세포, 줄기세포 및 곰팡이를 포함하고, 가장 바람직하게는 효모세포이다.
- [0018] 바람직하게는, 본 발명의 재조합 벡터는 (i) 상술한 본 발명의 발현대상물질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열; (ii) 상기 (i)의 뉴클레오타이드 서열에 작동적으로 연결되며 동물세포에서 작용하여 RNA 분자를 형성시키는 프로모터를 포함하며, 보다 바람직하게는 (i) 상술한 FLC2, DFG5, ARL3, SIN3, NFI1 또는 PHR1 단백질의 불활성화를 유도하는 뉴클레오타이드 서열 또는 이의 상보적인 뉴클레오타이드 서열; (ii) 상기 (i)의 뉴클레오타이드 서열에 작동적으로 연결되며 동물세포에서 작용하여 RNA 분자를 형성시키는 프로모터; 및 (iii) 동물세포에서 작용하여 상기 RNA 분자의 3'-말단의 폴리아데닐화를 야기시키는 3'-비-해독화 부위를 포함하는 재조합 발현벡터를 포함한다.
- [0019] 가장 바람직하게는, 상술한 발현대상물질은 서열목록 제7서열 내지 제12서열로 이루어진 FLC2(*YAL053W*), DFG5(*YMR238W*), ARL3(*YPL051W*), SIN3(*YOL004W*), NFI1(*YOR156C*) 및 PHR1(*YOR386W*) 유전자의 불활성화를 유도하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0020] 본 명세서에서 용어 “프로모터”는 코딩 서열 또는 기능적 RNA의 발현을 조절하는 DNA 서열을 의미한다. 본 발명의 재조합 발현벡터에서 발현대상물질-코딩 뉴클레오타이드 서열은 상기 프로모터에 작동적으로 연결된다. 본 명세서에서 용어 “작동적으로 결합된(operatively linked)”은 핵산 발현 조절 서열(예: 프로모터 서열, 시그널 서열, 또는 전사조절인자 결합 위치의 어레이)과 다른 핵산 서열 사이의 기능적인 결합을 의미하며, 이에 의해 상기 조절 서열은 상기 다른 핵산 서열의 전사 및/또는 번역을 조절하게 된다.
- [0021] 본 발명의 벡터가 원핵 세포를 숙주로 하는 경우에는, 전사를 진행시킬 수 있는 강력한 프로모터(예컨대, *tac* 프로모터, *lac* 프로모터, *lac* UV5 프로모터, *lpp* 프로모터, p_L^{λ} 프로모터, p_R^{λ} 프로모터, *rac5* 프로모터, *amp* 프로모터, *recA* 프로모터, SP6 프로모터, *trp* 프로모터, T7 프로모터, 등), 해독의 개시를 위한 라이보솜 결합 자리 및 전사/해독 종결 서열을 포함하는 것이 일반적이다. 보다 더 바람직하게는, 본 발명에서 이용되는 숙주 세포는 *E. coli*이며, 가장 바람직하게는 *E. coli* DH5α이다. 또한, 숙주 세포로서 *E. coli*가 이용되는 경우, *E. coli* 트립토판 생합성 경로의 프로모터 및 오퍼레이터 부위(Yanofsky, C., *J. Bacteriol.*, 158: 1018-

1024(1984)) 그리고 파아지 λ 의 좌향 프로모터(p_L^λ 프로모터, Herskowitz, I. and Hagen, D., *Ann. Rev. Genet.*, 14: 399-445(1980))가 조절 부위로서 이용될 수 있다. 한편, 본 발명에 이용될 수 있는 벡터는 당업계에서 종종 사용되는 플라스미드(예: pRS316, pSC101, ColE1, pBR322, pUC8/9, pHc79, pUC19, pET 등), 파지(예: λ gt4 λ B, λ -Charon, λ Δ z1 및 M13 등) 또는 바이러스(예: SV40 등)를 조작하여 제작될 수 있다.

[0022] 또한, 본 발명의 재조합 벡터가 진핵세포, 바람직하게는 효모 세포에 적용되는 경우, 이용될 수 있는 프로모터는, 본 발명의 발현대상물질의 전사를 조절할 수 있는 것으로서, 효모 세포에서 유래된 프로모터, 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터 및 포유동물 세포의 지놈으로부터 유래된 프로모터를 포함하며, 예컨대, 효모(*S. cerevisiae*) GAPDH(Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) 프로모터, 효모(*S. cerevisiae*) GAL1 내지 GAL10 프로모터, 효모(*Pichia pastoris*) AOX1 또는 AOX2 프로모터, CMV(cytomegalo virus) 프로모터, 효모(*S. cerevisiae*) TDH3(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 3)의 프로모터, 효모(*K. marxianus*) PCPL3(purine-cytosine permease) 프로모터, 아데노바이러스 후기 프로모터, 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터, SV40 프로모터, HSV의 *tk* 프로모터, RSV 프로모터, EF1 알파 프로모터, 메탈로티오닌 프로모터, 베타-액틴 프로모터, 인간 IL-2 유전자의 프로모터, 인간 IFN 유전자의 프로모터, 인간 IL-4 유전자의 프로모터, 인간 림포톡신 유전자의 프로모터 및 인간 GM-CSF 유전자의 프로모터를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0023] 바람직하게는, 본 발명에 이용되는 발현 컨스트럭트는 폴리 아데닐화 서열을 포함한다(예: 소성장 호르몬 터미네이터 및 SV40 유래 폴리 아데닐화 서열).

[0024] 본 발명의 벡터를 숙주 세포 내로 운반하는 방법은 당업계에 공지된 다양한 방법들을 이용할 수 있으며, 예를 들어 숙주 세포가 원핵 세포인 경우, CaCl_2 방법(Cohen, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 9:2110-2114(1973)), 하나한 방법(Cohen, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 9:2110-2114(1973); 및 Hanahan, D., *J. Mol. Biol.*, 166:557-580(1983)) 및 전기 천공 방법(Dower, et al., *Nucleic. Acids Res.*, 16:6127-6145(1988)) 등에 의해 실시될 수 있으며, 진핵세포인 경우, 전기천공법(electroporation), 리포펙션(lipofection), 마이크로인젝션, 유전자총(particle bombardment), YAC에서 이용되는 효모 구형질체/세포 융합, 식물세포에서 이용되는 아그로박테리움-매개된 형질전환 등을 이용하여 실시할 수 있다. 이때, 박테리아 복제 개시점은 긴 DNA 삽입물(inserts)의 안정적인 박테리아 복제에 유용한 당업계에 잘 알려진 복제 개시점들로부터 선택될 수 있으며, ColE1, F-인자(F-factor) 및 P1 레플리콘(replicon)을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 박테리아 선택마커는 당업계에 알려진 박테리아 선택마커 유전자를 이용할 수 있다. 예를 들어, 박테리아 선택마커 유전자는 암피실린, 카나마이신, 테트라사이클린, 제오신, 네오마이신, 하이그로마이신 및 클로람페니콜 같은 항생제에 대한 저항성을 부여하는 유전자들을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0025] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명에 이용되는 발현대상물질-인코딩 뉴클레오타이드 서열은 “프로모터-발현대상물질 인코딩 뉴클레오타이드 서열-폴리 아데닐화 서열”의 구조를 갖는다.

[0026] 본 발명의 벡터 시스템은 당업계에 공지된 다양한 방법을 통해 구축될 수 있으며, 이에 대한 구체적인 방법은 Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press(2001)에 개시되어 있으며, 이 문헌은 본 명세서에 참조로서 삽입된다.

[0027] 본 발명의 재조합 발현벡터를 이용하여 형질전환된 효모 세포의 제조는 당업계에 통상적으로 공지된 유전자 전이방법에 의해 실시될 수 있다. 예를 들어, 전기천공법(electroporation), 리튬 아세테이트/DMSO 방법(Hill, J., et al., (1991), DMSO-enhanced whole cell yeast transformation. *Nucleic Acids Res.* 19, 5791.), 리포솜-매개 전이방법(Wong et al., 1980), 레트로바이러스-매개 전이방법(Chen, et al., (1990), *J. Reprod. Fert.* 41:173-182; Kopchick, et al., (1991) Methods for the introduction of recombinant DNA into chicken embryos. In *Transgenic Animals*, ed. N.L. First & F.P. Haseltine, pp.275-293, Boston; Butterworth-Heinemann; Lee, M.-R. and Shuman, R. (1990) *Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livestock Prod.* 16, 107-110) 등을 이용하여 실시한다. 본 발명의 벡터 내 효모 선택마커 유전자는 당업계에 공지된 다양한 선택마커 유전자를 이용할 수 있으며, 예를 들어, UAR3, LEU2, HIS3, TRP1, ADE2 및 LYS2 같은 영양요구성(auxotrophic) 선택마커 유전자를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 선택적으로, 본 발명은 효모 선택마커로서 이용될 수 있는 숙주세포 상에 약물 저항성(drug resistance)를 부여하는 단백질을 인코딩하는 유전자를 이용할 수 있고, 예를 들어 CAN1 및 CYH2를 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0028] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 상술한 효모 균주는 사카로마이세스 종(*Saccharomyces* spp.), 시조사카로

마이세스 종(*Schizosaccharomyces* spp.), 피키아 종(*Pichia* spp.), 파피아 종(*Paffia* spp.), 클루이베로미세스 종(*Kluyveromyces* spp.), 칸디다 종(*Candida* spp.), 탈라로미세스 종(*Talaromyces* spp.), 브레타노미세스 종(*Brettanomyces* spp.), 파키솔렌 종(*Pachysolen* spp.) 또는 데바리오미세스 종(*Debaryomyces* spp.) 효모 균주이며, 보다 바람직하게는 사카로마이세스 종이고, 가장 바람직하게는 사카로마이세스 세레비지에이다.

[0029] 한편, 본 발명의 발현대상물질 단백질을 유효성분으로써 유전자 도입에 이용하기 위해 발현대상물질 단백질이 효과적으로 세포 내로 침투할 수 있어야 한다. 예를 들어, 상술한 불활성화된 타겟 단백질을 유효성분으로 이용하는 경우, 단백질 운반 도메인(PTD: protein transduction domain)을 불활성화된 타겟 단백질에 부착시키는 것이 바람직하다. 즉, 유효성분으로서 본 발명의 불활성화된 타겟 단백질을 세포 내로 도입(permeable peptide transduction)하기 위하여 단백질 운반 도메인(PTD: protein transduction domain)을 상기 단백질과 융합하여 융합 단백질을 만든다. 상기 단백질 운반 도메인(PTD)은 라이신/아르기닌 등 기본 아미노산 잔기들을 주로 포함하고 있어서 이와 융합된 단백질을 세포막을 투과하여 세포내로 침투시키는 역할을 한다. 상기 단백질 운반 도메인(PTD)은 바람직하게는 HIV-1 Tat 단백질, 드로소필라 안테나페디아의 homeodomain, HSV VP22 전사조절단백질, vFGF에서 유도된 MTS 펩타이드, 페네트라틴, 트랜스포탄 또는 Pep-1 펩타이드에서 유래된 서열을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

발명의 효과

[0030] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0031] (a) 본 발명은 불활성화된(inactivated) FLC2, DFG5, ARL3, SIN3, NFI1 또는 PHR1 유전자를 포함하는 열-저항성 형질변형 효모 균주에 관한 것이다.

[0032] (b) 본 발명의 효모 균주들은 고온, 바람직하게는 42℃ 또는 43℃에서 성장할 수 있는 효모 균주다.

[0033] (c) 본 발명의 효모 균주들은 고온에 대한 저항성을 보유함으로써 소망하는 산물들(바이오매스)의 산업적 생산에 매우 유용하게 적용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 결실 돌연변이체들의 열 저항성을 나타내는 스팟 어세이 결과이다. BY4741 SGK0 라이브러리로부터 얻어진 효모 결실 돌연변이체들을 YPD 배지에서 30℃에서 2일 동안 배양한 후, 10배씩 연속적으로 희석된 YPD 분취액(3 μ l)을 YPD 플레이트에 스팟팅하여 지시된 온도에서 1일(30℃) 또는 3일(42℃ 및 43℃) 동안 추가적으로 배양하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0036] 실시예

[0037] 스트레인 및 배지

[0038] 필수적이지 않은 반수체(nonessential haploid) 사카로마이세스 세레비지에 결실 스트레인들(4,828개)은 허원기 박사(Seoul National University, Seoul, Korea)로부터 친절하게도 제공되었으며, BY4741(*MATa his3 Δ 1 leu2 Δ met1 Δ 0 ura3 Δ*) 백그라운드를 가진다. 효모 성장을 위한 풍부배지로는 YPD 배지(1% 효모 추출물, 2% 펩톤 및 2% 글루코오스; Difco, MI)를 이용하였다.

[0039] 스트레스-민감성 결실 돌연변이체의 스크리닝(스팟 어세이)

[0040] 결실 돌연변이체들은 녹여진 96-웰 마이크로타이터 플레이트 저장체(stocks)으로부터 YPD 플레이트로 옮겨졌다.

30℃에서 2일 동안 배양한 후, 상기 스트레인들은 YPD 플레이트로 스팟팅하여 42℃에서 3일 동안 추가적으로 배양하였다. 모스트레인 BY4741과 비교하여 현저하게 감소된 성장을 나타내는 결실 돌연변이체들이 열-저항성 돌연변이체들로 정의되었다.

[0041] **결과**

[0042] **열 스트레스에 민감한 결실 돌연변이체들의 동정**

[0043] 열 스트레스 하에서의 성장에 필요한 유전자들을 동정하기 위해, 본 발명자들은 일련의 결실 돌연변이체들을 42℃에서 배양하여 뚜렷하게 증가된 성장을 보이는 여섯 개의 돌연변이체들(DFG5, ARL3, NFL1, SIN3, PHR1 및 AGC1)을 동정하였다(표 1). 스트레스-민감성 돌연변이체들의 동정을 위한 모든 실험들은 세 쌍으로 (triplicate) 실시하였다.

[0044] 30℃에서 2일 동안 배양한 후, 10배씩 연속적으로 희석된 상기 스트레인들의 YPD 분취액(3 μ l)을 YPD 플레이트로 스팟팅하여 42℃에서 배양하였다. 플레이트 상에서 현저하게 증가된 성장을 나타내는 결실 돌연변이체들을 저항성 돌연변이체로 간주하였다.

표 1

[0045] 사카로마이세스 세레비지에에서 열저항성과 연관된 유전자들

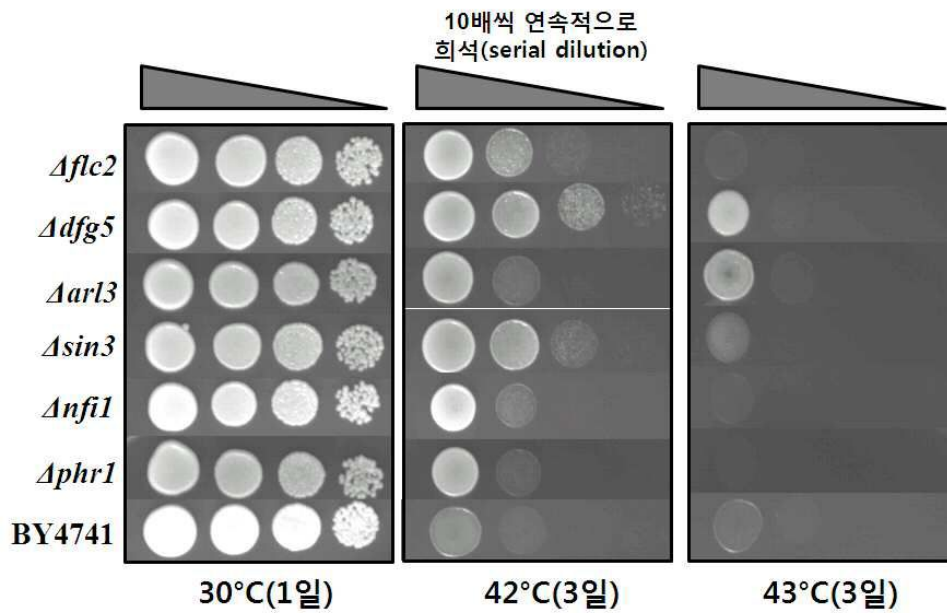
유전자	기능 ^a
FLC2	세포벽 유지에 포함된 잠재적인 FAD 운반자
DFG5	출아 형성에서 세포벽 형성에 중요한 잠재적인 마노시다제
ARL3	Ras 슈퍼패밀리의 GTPase
SIN3	Sin3p-Rpd3p 히스톤 디아세틸라제 복합체의 구성성분
NFI1	SUMO 리가제
PHR1	광회복에 포함된 DNA 포토리아제로 피리미딘 다이머를 복구한다

[0046] ^a기능에 대한 기재는 SGD에 기재된 내용에 기반한다(www.yeastgenome.org).

[0047] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명 의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



서열 목록

<110> Ewha Womens University

<120> Thermo-Resistant Yeast Strains and Genes Thereof

<130> PN100680

<160> 12

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 2349

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 1

atgatcttcc taaacacctt cgcaaggtgc cttttaacgt gtttcgtact gtgcagcggg 60

acagcacggtt cctctgacac aaacgacact actccggcgt ctgcaaagca ttgcagacc 120

acttctttat tgacgtgtat ggacaattcg caattaacgg catcattctt tgatgtgaaa 180

ttttaccccg ataataatac tgttatcttt gatattgacg ctacgacgac gcttaatggg 240

aacgtcactg tgaaggetga gctgcttact tacggactga aagtcctgga taagactttt 300

gatttatgtt ccttgggcca agtatcgctt tccccctaa gtgctgggcg tattgatgtc 360

atgtccacac aggtgatcga atcatccatt accaagcaat ttcccgcat tgcttacacc 420

attccagatt tggacgcaca agtacgtgtg gtggcatacg ctacagaatga cacggaattc	480
gaaactccgc tggcttgtgt ccaggtatc ttgagtaacg ggaagacagt gcaaacaag	540
tatgcggcct ggccattgc cgctatctca ggtgtcgggt tacttacctc agggtttgtg	600
tctgtgatcg gtiactcagc cactgctgct cacattgcgt ccaactccat ctcatgttc	660
atatacttcc aaaatctagc tatcactgca atgatgggtg tctcaagggt tccaccatt	720
gctgccgcgt ggacgcagaa ttccaatgg tccatgggta tcatcaatac aaacttcattg	780
caaaagattt ttgattggta cgtacaggcc actaatgggtg tctcaaatgt tgtggtagct	840
aacaaggacg tcttgtccat tagtgtgcaa aaacgtgcta tctctatggc atcgtctagt	900
gattacaatt ttgacacat tttagacgat tcggatctgt acaccacttc tgagaaggat	960
ccaagcaatt actcagccaa gattctctgt ttaagaggta tagaaagagt tgcttatttg	1020
gctaatttg agctatctaa tttctttttg accggtattg tgttttttct attcttccta	1080
tttgtagtgt tcgtctcttt gatcttcttt aaggcgctat tggaagtctt tacaagagca	1140
agaatattga aagagacttc caatttcttc caatatagga agaactgggg gagtattatc	1200
aaaggcacc ttttcagatt atctatcctc gccttccctc aagtctctct tctggcgatt	1260
tgggaattta ctcaggtcaa ctctccagcg attgttgttg atgcggtagt aatattactg	1320
atcatcacgg gacttctggt ttatggaaact ataagggttt tcatcaaggg aagagagtct	1380
ctcagattat acaagaatcc tgcgtacctt ctttacagtg atacctactt cttgaacaag	1440
tttgggttct tatacgttca attcaaagca gataagtttt ggtggctttt acccttatta	1500
agttatgcgt tcttaagatc cctgtttgtt gccgttttac aaaaccaagg taaggtcaa	1560
gcaatgatca tctttgtcat tgaactagct tacttctgtt gtctctgttg gataagacca	1620
tatttggaca agagaactaa tgttttcaat attgctattc atttgggtgaa ttgatcaat	1680
gcatttttct ttttgtttt cagtaatttg ttcaagcaac cagcagtggt ttcgtcagtg	1740
atggcggtta ttctgttcgt ttgaaacgcg gtgtttgctc tattcctatt attgttact	1800
attgtcacct gtacactggc attactacac agaaaccag atgtccgtta ccaaccaatg	1860
aaagatgacc gtgtgtcatt cattcctaag attcaaatg atttcgatgg caaaaacaaa	1920
attgatcctg aactgtttga attgagaaaa gctgttatgg acaccaatga aatgaggaa	1980
gaaaaaatgt tccgtgacga cactttcggc aagaacctga atgcaaacac aaatacagca	2040
agactctttg atgatgagac tagttcatcc tcttttaagc aaaattcctc tcccttcgat	2100
gcctcggag taacggagca acctgtgcaa ccaacctccg ctgtcatggg tacgggtggc	2160
agcttcttgt ctccacagta ccaacgtgcg tcatctgctt ctctactaa tctagcgccg	2220
aataatacaa gcacctccag tttaatgaag cctgaatcaa gtctctacct gggaattcc	2280

aataaatcat attcgatttt taacaacaac ggcagcaacg aaaacgcccg caacaacaac 2340

ccatatattg 2349

<210> 2

<211> 1374

<212> DNA

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 2

atgatcgta atattagtc gaagatgac ttatcgatat gctttacgtt tctgtcattt 60

tttaaagcca ctcatgccat ggatttggat actactagca aaacgtcaat ttgtgatgcg 120

acagcgtaa ttcaaggctg tatgctggat tactatgagg gtactagata cgggtggtacc 180

gttgggatgt ttcaagcacc atactattgg tggcatgcag gggaagcatt tgggtgcatg 240

ttggaaaatt ggtttctttg tgagaatgat acatatcaag aattactata cgatgcacta 300

ttagcgcaaa ctggttccaa ttacgattat atcccgacca accaaacgat ggttgagggg 360

aatgatgacc aaggtatttg gggatattact gttatgggtg ctgtcgagag aaattttaca 420

gaccccggtg acggcaagcc aggttgggtg gcaatggtac aagctgtttt caacaccatg 480

tactcaagat gggattcaga gcaactgtgc ggtgggtctga gatggcaaat tttcacttgg 540

aatagtgggtt ataattataa aaatacagtt tcaaatgcat gtttgttcca gattgcggcg 600

aggttgggca gatatactgg taacactaca tatttggagg ttgctgaaca ggttttcgac 660

tggctagtgg atgtcgggta tgtggttctt aacgatactg caaatgtctt tgatggtgct 720

gaaattgata caaattgcac tgatattaca aaaattgaat ggacttataa tcacggtatc 780

gtgcttgggtg gtcttgcata catgtataat gctacaaatg gaacaggtga atgggagacc 840

agtttgacaa aaattctaaa tgggtgctaaa tcttatttct tcaaagatag tattatgtac 900

gaaagcgctt gtcaagacta tggcacctgt aacaccgac aaagaacatt caaaagtatt 960

ttttctcgta tgcttggctt tacaagtgtc atggctccct ttactagga cacaattgat 1020

gatttgataa aaacaagtgc tgaggccgct gcaaaatcat gtaatggtgg tacagatggg 1080

catacatgtg gtttaaattg gcagaaacaa accaatgatg gctactatgg attaggtgag 1140

caaatgagtg ctctagaagt tattcaaaat cttttaattc atgacaggcc agctccatat 1200

aaggaagata atggcgggtac gtcaaaaggt gacgcgaatg ccggtatgaa ctcatcgacc 1260

actaacgtgc taaaaacaa tttaaacatt aagaaagggtg atcgcgctgg tgccgctatc 1320

atcacagcag tcatactgag tgtgctaact ggtggggctg tgtggatgct gttt 1374

<210> 3

<211> 594
 <212> DNA
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*
 <400> 3

atgtttcatt tagtcaaggg actttacaat aattggaata aaaaggaaca atattcaatt 60
 ctaatattag gtctagacaa tgcaggcaaa acgacgttct tggagacatt gaaaaaggaa 120

tactctctgg cggtcaaagc cttggaaaag atacagccta cggtaggaca aaatgtggcg 180
 acaatacccg ttgacagtaa acagatcttg aagttttggg atgtaggtgg tcaagaatca 240
 ctgagatcaa tgggtccga atactattcc ctatgtcatg gtataatttt cattgtggat 300
 agttcagata gagaacgatt agacgaatgt tccacgacct tacagtcagt tgtaatggat 360
 gaagaaattg aaggtgtacc catcttgatg ctggccaata aacaagatag acaagataga 420
 atggaagtac aagatataaa agaagtattt aataagattg cggaacatat aagcgctaga 480
 gatagtaggg tttaccaat aagcgcatg actggagaag gtgttaaaga cgctatagaa 540

tggatgattg ttagactaga aaggaataaa aagtcaagac caccgattta taaa 594

<210> 4
 <211> 4608
 <212> DNA
 <213> *Saccharomyces cerevisiae*
 <400> 4

atgtcacagg ttggcataa ttgaattcg caatcaaagc atgtggctac ttcaaatgac 60
 gctacgggtt ccaacgaaa aaacgaaaa gaaccgtccc tccaggga aaagcccggt 120
 tttgttcaac agcagcaacg gattacttta cctcgtctat ctgccttgag tactaaggag 180
 gaagatagaa gagattccaa tggccaacag gctctaactt ctcatgctgc tcacatatta 240
 ggttatcctc cccacatc aaatgctatg cctcaattg caactgattc agcattgaaa 300

cagccccacg agtateacce tcgccataaa tcttctcctt cttctccctc tataaacgt 360
 tcgcttatga atgttgttcc agctccctc cccacagtgg gagccgccag tttttctttg 420
 tcgagatttg acaatccatt accgataaaa gctcctgttc atacagagga accaaaaagt 480
 tataatggtc ttcaggaaga agaaaaggcg acgcaacggc ctcaagattg caaggaagtt 540
 cccgctgggtg tgcagcctgc tgatgccctt gaccctagca gcaaccatgc agatgctaac 600
 gatgacaata ataacaagca aaattctcac gatgaagatg ctgactacag acctctaacc 660
 gtgaaggatg cctatctta cctgaacag gtcaaatttc aatttagttc gcgtccggat 720

atctataatt tatTTTTaga tattatgaag gactTTTaaat ctcaggcaat agacacaccg	780
ggcgTTattg aaagagtatc cactTTgttc agaggTTatc caattTTgat tcaagggttc	840
aatactTTtc taccCCAagg ctatagaatc gaatgctcct ctaatccgga cgacCCcatt	900
agagTTacta caccaatggg tactacgaca gtaaacaata acatcagtcc atctggtaga	960
ggtacaacgg atgcacagga acttggttct tttccagaaa gcgatggaaa tggTgttcaa	1020
cagccctcca atgtgccaat ggtgccttcg agtgtgtatc aatcggaaca aaaccaagac	1080
caacaacaat cttTgcctct tttagctact tcttctgggt taccttcaat tcaacaacct	1140
gaaatgcctg cacatcgcca aatcccaaa agtcaatctt tagtgcctca agaagatgct	1200
aagaaaaacg ttgatgtcga atttagtcaa gccataagct acgttaataa aattaaaact	1260
agatttgccg accaacctga tatttacaag cattttctgg aaatactaca aacttatcag	1320
cgagagcaaa agccaataaa cgaagtctac gcacaagtga cgcattttt ccaaaatgct	1380
cctgatttac tagaagattt caagaaattc ttgccggact cttcagcttc tgccaatcag	1440
caggtgcaac atgctcagca acatgctcaa caacaacatg aggcccaaat gcatgcacag	1500
gcacaagctc aggtcaggc acaggcacag gtggaacaac agaagcagca acagcaattc	1560
ttgtatccag cttcgggcta ttacggccat ccttctaacc gaggtattcc acagcaaaac	1620
ttgcctccta taggaagctt ctgcctcca acaaacggtt cgaccgtaca tgaagcctat	1680
caggatcaac agcacatgca accacccac ttcatgcctt taccatgat cgttcaaac	1740
gggccaaata tggTacatca agggatagcg aatgaaaac cactctatc agatctaaga	1800
acgtctctca ctgaacagta cgctccttct agtatacaac atcagcagca gcaccgcaa	1860
agtattagtc ctatagcaaa tacgcagtat ggtgatatcc ctgttagacc ggaaattgat	1920
ttagatccta gcattgtgcc tgtggtcct gaaccactg agcccatcga aaacaatata	1980
tcgttaatg aggaagtcac tttcttcgaa aaggccaaga ggtatatcgg caataaacat	2040
ttatacactg agTTTTgaa aattttaaat ttgtactctc aagatatact tgatcttgac	2100
gatttagtgg aaaaggtaga tttctacttg ggttccaata aagaactatt tacgtggttc	2160
aaaaactttg ttggctacca agaaaaaac aaatgtatcg agaatttgt tcatgaaaaa	2220
catagattgg atttagattt atgtgaggca ttggcccaa gttacaagag gctacaaaa	2280
agtgacatt tcatgccatg ctcaggtagg gatgatatgt gttgggaagt cttgaacgat	2340
gaatgggttg gacatcctgt atgggcttcc gaagattcgg gatttattgc tcatcgtaaa	2400
aaccagtatg aggaaacact attcaagatc gaagaggaaa gacatgagta tgatttttac	2460
attgaatcaa atttaagaac tattcaatgt ttggaaacaa ttgtaataa gatcgagaac	2520
atgactgaga atgaaaaagc caattttaaa ctgcctccag gtcttgcca tacttcaatg	2580

actatttata aaaaagtgat aaggaaagt t atgataagg aaagggggtt cgagattatt	2640
gatgctttgc atgagcacc tgcagtgaca gccccagtcg ttctgaaaag gttaaagcaa	2700
aaagacgaag aatggagaag agctcaacgt gaatggaata aagtttgag ggagttagaa	2760
cagaagggtt tttcaagtc attagatcat ttaggcttaa catttaaaca ggctgacaag	2820
aaattattaa ctacaaagca gttgatatca gagattagca gcatcaaagt tgatcaaaca	2880
aacaaaaaaa ttcactgggt aactcctaaa ccaaagagcc agttagattt tgatttcct	2940
gataaaaaca ttttctatga tatcttgtgt ttggctgaca cttttataac ccataccaca	3000
gcctattcta atcccgataa agaaagattg aaagatttac taaaatactt catctctttg	3060
tttttttcta tttctttcga aaaaatcgaa gaatcggtgt actcccataa gcaaaacgtg	3120
tcagaatcta gcggatctga cgatggcagt tctattgcat caaggaagag gccctatcaa	3180
caagaaatga gtttacttga tattttacac aggagcagat atcaaaagct aaagcgttct	3240
aatgatgaag atggcaaagt tccccagctc tctgaaccac ccgaagaaga acctaatacc	3300
attgaggagg aagagctcat cgatgaagaa gctaaaaatc cgtggctaac tgggaattta	3360
gtggaggaag caaactctca ggggtattatc caaaatcgca gtatttttaa tctattcgct	3420
aatacgaata tttacatatt tttccgtcat tggacaacga tttatgagcg gcttttggaa	3480
attaagcaaa tgaatgaaag ggtcacaag gaaatcaaca caaggtcgac agttactttt	3540
gccaaagatc tagatttatt atcgagtcaa ctttccgaaa tgggactaga tttgtttggt	3600
gaagacgcgt acaaacaggt ttttaagactg agtagaaggt tgattaatgg ggatcttgaa	3660
catcagtggt ttgaagagag tttgcggcaa gcttacaata acaaagcgtt taaactctat	3720
acaattgata aagtcaccca atcgttggta aagcatgctc ataccttgat gactgacgct	3780
aaaactgcgg aaataatggc tttgttcgtt aaagatagaa atgcctccac cacgagtgcg	3840
aaggacaaaa ttatctatcg ctgacagtg cgtcacata tgtccaacac agaaaatatg	3900
tttagaatag agtttgataa aagaactctg catgtttcca ttcaatatat tgcacttgat	3960
gatttgacac taaaggaacc aaaggcagac gaagataaat ggaaatatta tgtaacatcg	4020
tatgctctgc cacatccaac agaaggcatt ccgcacgaga aactgaagat accatttttg	4080
gaaaggctca tcgaatttgg acaagatatt gatggaacag aggtagatga ggagttttcc	4140
cccgaaggca tctctgtatc gacattgaaa attaatgacc agcctataac ctaccaactg	4200
catattgaaa acgggtctta cgatgttttt acccgtaagg ctactaaca atatcctact	4260
attgctaatag ataatactca aaaaggaatg gtttctcaga agaaggagtt gatatcaaaa	4320
tttctagact gtgcagttgg tttgagaaat aatttagatg aggtcaaaa attaatgatg	4380
caaaaaaat gggagaacct aaaagacagc atagcaaaga cgagtgtgg aaaccaggga	4440

atagagagtg aaaccgaaaa aggtaaaaatt acgaaacagg agcagtcgga taatttggac	4500
agctctactg caagtgtact gcctgcatcc attactactg taccacaaga tgataatata	4560
gaaacgactg ggaataactga atcttcagac aagggggcta agattcaa	4608
<210> 5	
<211> 2178	
<212> DNA	
<213> Saccharomyces cerevisiae	
<400> 5	
atggcaagtg tcatgtcaaa taataataat aataataata ataataatgc cagtttatatg	60
tttacgaacc ctttgtccaa cacaggtggg ggactcataa atgaaataaa agatgcaata	120
aatgaaatgg aacaattaaa ggttctagag ttaaagcaaa tatgcaaatc tctggattta	180
tccataacgg gcaaaaaggc tgtcttataa gaccgaataa aacaattctt aagaaaaatcc	240
tgatgatattg gacatataga tccgtggagg cctaaggcta ttaagattct tatcgcgaaa	300
gtaaggataa actcatcatt accaaaatac tctacctttt gggaaacttt aaagacgggt	360
gcgttcaagc atcctgtagc atcggggcaa ctaccctga cagctctcca gactactgca	420
ttgccacctt attcccaaca acaggcctta gcataattctt ttacctcacc gttttacaaa	480
ccaatagtac aaataccgga tgccaataaa aaattgaagc aatctgcagg aagaggttgt	540
acaaaaatga agttcaaggt aagtaaatct aatcatgac ttttgaaatc taacaagagt	600
tataaactgt atttgttttc tggcttttca ataccgttta tatatgaaac tgtgggcat	660
gaggcaatag atttcccgta tccctgtgaa ctagtgttta atggcaccaa actagaggac	720
aacgtgaaag gtttaaagaa acaaaatggg acaggtaatc ctgcaaattt aacgccttat	780
cttaaagtac cgaccgagat gaatcaccta gacttacatt atctcaatat tgataaagag	840
tactctataa gttgctttat agtgggaagt ttttcacctg aagctcttct ggggaaaatt	900
ctgaaaaggc caaaattat caagcaagcc accacagcat acatcaaaag aaccttgaat	960
gagcaagatg atgacgatat tattacaacc tccacgtgc tgagtttgca atgtctata	1020
tcttgtataa ggatgaagta tccggcgaag actgaccaat gtaagcatat ccaatgtttt	1080
gatgtctctt ggtttcttca ctctcagtca caagtcctta catggcagtg tccgatttgt	1140
caacacccta taaaattcga ccagttgaag atttccgaat ttgtagataa tattattcaa	1200
aattgcaatg aagatgttga gcaagttgag atatctgttg atggctcatg gaaaccgatt	1260
cataatagtt cggccgttat aacggatact gtttaacaaa atcacagtgt gaaaaacgag	1320
aaccaaggca ctgtcaaca agagcaagat tatgacagcc gaaatgcctt cgataactaat	1380

ttgcgtaatg gticaaacca caacgaaccc gaaataatat ctctggatag ctacagatgat	1440
gaagccttta ttccggctag taaaagcttc ccaacgcacg tgaacccccg taatgaccaa	1500
ttaagagcag atatatattcc ctacagaatcg gaaggatcca gtgactacaa ccccaatcat	1560
acatcaacgc cgaaaggctc tccaactatg gaccaagata attatcaaga tgcttttcaa	1620
atgaggtcat ttttgaacca aggcgctact acaaatataa atgacacacc gacgaacaat	1680
agcagtatta attctttcgt tacggcgacg aatgggtgaca gcagaatatt ctacaataga	1740
gggccatcaa cgccactatt accggctgtt ctacaaaatt tgactaatca aacggaagcg	1800
cagagaaacc cctacggacc taattacaat accacagctc aagatcgtaa tcttttggga	1860
atcgaagggtg atttgcctcc aatccccct gtggacccaa attcagaagc agaaactgaa	1920
ctaccaacaa ggaccacatc ggcggcacat ctccctccat atatacacgt gagcaccagc	1980
ggccatgggg atgatggaaa aattaggaag agaaggcatt ctaatgtttc tatctacatt	2040
ccgaagaatc catacgccac ctttatgaaa cggagaccac aggcaaatca cgccataatg	2100
aataaaactc tggcccaaac taatgacttt aacacatcgg ctcaagataa ctcggaagtg	2160
gtcgatttaa catcagat	2178
<210> 6	
<211> 1695	
<212> DNA	
<213> Saccharomyces cerevisiae	
<400> 6	
atgaaaagaa cggtaatatc ttctcgaac gcatatgcta gtaagagatc tcggctggat	60
atagaacatg attttgaaca ataccactcg ttgaacaaaa aatattatcc aaggccaatt	120
actaggacag gcgcaaatca attcaataat aagtctcggg ctaaaccaat ggagattgtg	180
gaaaaactgc aaaagaagca aaaaacgtcg tttgagaatg ttagcactgt catgcactgg	240
tttcgaaatg atctacgttt atatgataat gtgggactgt acaaaagtgt tgcgtcttc	300
cagcaattga ggcaaaaaaa cgcaaaagcc aaattatatg ctgtttatgt catcaatgaa	360
gatgattgga gagcccatat ggatagcgga tggaaattga tgtttataat gggggcgtaa	420
aaaaatttgc agcagtcctt agccgaatta cacatacctc ttcttctgtg ggaattccac	480
actccaaaaa gtaccttacc taattcaaaa gagttcgtgg agtttttcaa agaaaaatgt	540
atgaatgtaa gttcaggaac aggtacgata atcactgcta atatagaata ccaaacagat	600
gaactgtacc gtgatattag gctgttagaa aatgaagacc atagattgca attgaaatac	660
taccagact ctgtcatgtg tgctcctgga ttgatcacta ctgacagagg caccaactat	720

tctgtgttta ctccatggta caaaaaatgg gtgctatatg taaataatta caaaaagagt 780
acctctgaaa tttgtcattt gcatataatc gaaccattaa agtacaacga aacttttgaa 840
ctgaagccat tccaatatc attaccgat gaattccttc aatatatacc taaatcaaaa 900

tgggtgcttg cagacgtttc tgaagaagca gctttatcca gattaaaaga tttcctcgg 960
acaaaaagtt ctaagtacaa caatgaaaaa gacatgctat atttgggtgg aacctctggg 1020
ctaagtgtat atataactac tggtaggata agcacaagac ttatagtcaa ccaggcattt 1080
caatcatgca acggacaaat aatgtcaaaa gcactgaaag ataattcgtc cacccaaat 1140
ttcatcaaag aagtgtcatg gagagatttt tacagacatt gtatgtgcaa ctggccatat 1200
acctcaatgg gaatgcctta tcgattggac actttagata taaaatggga gaataaccct 1260
gtagcatttg aaaagtgggtg tactggtaat acaggcattc ccatagtcga tgccataatg 1320

agaaaattac tgtacacagg ctatattaat aacagatcta gaatgacac agcttctttt 1380
ctttctaaaa acttattaat agattggaga tggggggaac gctggtttat gaaacacttg 1440
atagacggtg attcgtcttc aaatgttggg ggctggggtt tttgttctag tacaggaatt 1500
gatgcccaac catatttttag agtttttaat atggatatac aagcaaaaaa atatgacca 1560
caaatgatat tcgtcaaaca atgggttccc gaattgattt cttccgaaaa taagcgtcca 1620
gaaaactatc caaaccttt agttgattta aagcatagta gggagcgtgc ttgaaaagt 1680
tataaagacg caatg 1695

<210> 7

<211> 783

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 7

Met Ile Phe Leu Asn Thr Phe Ala Arg Cys Leu Leu Thr Cys Phe Val

1 5 10 15

Leu Cys Ser Gly Thr Ala Arg Ser Ser Asp Thr Asn Asp Thr Thr Pro

20 25 30

Ala Ser Ala Lys His Leu Gln Thr Thr Ser Leu Leu Thr Cys Met Asp

35 40 45

Asn Ser Gln Leu Thr Ala Ser Phe Phe Asp Val Lys Phe Tyr Pro Asp

50 55 60

Asn Asn Thr Val Ile Phe Asp Ile Asp Ala Thr Thr Thr Leu Asn Gly

65 70 75 80
 Asn Val Thr Val Lys Ala Glu Leu Leu Thr Tyr Gly Leu Lys Val Leu
 85 90 95
 Asp Lys Thr Phe Asp Leu Cys Ser Leu Gly Gln Val Ser Leu Ser Pro
 100 105 110
 Leu Ser Ala Gly Arg Ile Asp Val Met Ser Thr Gln Val Ile Glu Ser
 115 120 125

 Ser Ile Thr Lys Gln Phe Pro Gly Ile Ala Tyr Thr Ile Pro Asp Leu
 130 135 140
 Asp Ala Gln Val Arg Val Val Ala Tyr Ala Gln Asn Asp Thr Glu Phe
 145 150 155 160
 Glu Thr Pro Leu Ala Cys Val Gln Ala Ile Leu Ser Asn Gly Lys Thr
 165 170 175
 Val Gln Thr Lys Tyr Ala Ala Trp Pro Ile Ala Ala Ile Ser Gly Val
 180 185 190
 Gly Val Leu Thr Ser Gly Phe Val Ser Val Ile Gly Tyr Ser Ala Thr

 195 200 205
 Ala Ala His Ile Ala Ser Asn Ser Ile Ser Leu Phe Ile Tyr Phe Gln
 210 215 220
 Asn Leu Ala Ile Thr Ala Met Met Gly Val Ser Arg Val Pro Pro Ile
 225 230 235 240
 Ala Ala Ala Trp Thr Gln Asn Phe Gln Trp Ser Met Gly Ile Ile Asn
 245 250 255
 Thr Asn Phe Met Gln Lys Ile Phe Asp Trp Tyr Val Gln Ala Thr Asn
 260 265 270

 Gly Val Ser Asn Val Val Val Ala Asn Lys Asp Val Leu Ser Ile Ser
 275 280 285
 Val Gln Lys Arg Ala Ile Ser Met Ala Ser Ser Ser Asp Tyr Asn Phe
 290 295 300
 Asp Thr Ile Leu Asp Asp Ser Asp Leu Tyr Thr Thr Ser Glu Lys Asp
 305 310 315 320
 Pro Ser Asn Tyr Ser Ala Lys Ile Leu Val Leu Arg Gly Ile Glu Arg

325 330 335
Val Ala Tyr Leu Ala Asn Ile Glu Leu Ser Asn Phe Phe Leu Thr Gly

340 345 350
Ile Val Phe Phe Leu Phe Phe Leu Phe Val Val Val Ser Leu Ile

355 360 365
Phe Phe Lys Ala Leu Leu Glu Val Leu Thr Arg Ala Arg Ile Leu Lys

370 375 380
Glu Thr Ser Asn Phe Phe Gln Tyr Arg Lys Asn Trp Gly Ser Ile Ile

385 390 395 400
Lys Gly Thr Leu Phe Arg Leu Ser Ile Ile Ala Phe Pro Gln Val Ser

405 410 415

Leu Leu Ala Ile Trp Glu Phe Thr Gln Val Asn Ser Pro Ala Ile Val

420 425 430
Val Asp Ala Val Val Ile Leu Leu Ile Ile Thr Gly Leu Leu Val Tyr

435 440 445
Gly Thr Ile Arg Val Phe Ile Lys Gly Arg Glu Ser Leu Arg Leu Tyr

450 455 460
Lys Asn Pro Ala Tyr Leu Leu Tyr Ser Asp Thr Tyr Phe Leu Asn Lys

465 470 475 480
Phe Gly Phe Leu Tyr Val Gln Phe Lys Ala Asp Lys Phe Trp Trp Leu

485 490 495
Leu Pro Leu Leu Ser Tyr Ala Phe Leu Arg Ser Leu Phe Val Ala Val

500 505 510
Leu Gln Asn Gln Gly Lys Ala Gln Ala Met Ile Ile Phe Val Ile Glu

515 520 525
Leu Ala Tyr Phe Val Cys Leu Cys Trp Ile Arg Pro Tyr Leu Asp Lys

530 535 540
Arg Thr Asn Val Phe Asn Ile Ala Ile His Leu Val Asn Leu Ile Asn

545 550 555 560

Ala Phe Phe Phe Leu Phe Phe Ser Asn Leu Phe Lys Gln Pro Ala Val

565 570 575

Val Ser Ser Val Met Ala Val Ile Leu Phe Val Leu Asn Ala Val Phe
580 585 590

Ala Leu Phe Leu Leu Leu Phe Thr Ile Val Thr Cys Thr Leu Ala Leu
595 600 605

Leu His Arg Asn Pro Asp Val Arg Tyr Gln Pro Met Lys Asp Asp Arg
610 615 620

Val Ser Phe Ile Pro Lys Ile Gln Asn Asp Phe Asp Gly Lys Asn Lys

625 630 635 640

Ile Asp Pro Glu Leu Phe Glu Leu Arg Lys Ala Val Met Asp Thr Asn
645 650 655

Glu Asn Glu Glu Glu Lys Met Phe Arg Asp Asp Thr Phe Gly Lys Asn
660 665 670

Leu Asn Ala Asn Thr Asn Thr Ala Arg Leu Phe Asp Asp Glu Thr Ser
675 680 685

Ser Ser Ser Phe Lys Gln Asn Ser Ser Pro Phe Asp Ala Ser Glu Val
690 695 700

Thr Glu Gln Pro Val Gln Pro Thr Ser Ala Val Met Gly Thr Gly Gly
705 710 715 720

Ser Phe Leu Ser Pro Gln Tyr Gln Arg Ala Ser Ser Ala Ser Arg Thr
725 730 735

Asn Leu Ala Pro Asn Asn Thr Ser Thr Ser Ser Leu Met Lys Pro Glu
740 745 750

Ser Ser Leu Tyr Leu Gly Asn Ser Asn Lys Ser Tyr Ser His Phe Asn
755 760 765

Asn Asn Gly Ser Asn Glu Asn Ala Arg Asn Asn Asn Pro Tyr Leu

770 775 780

<210> 8

<211> 458

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 8

Met Ile Val Asn Ile Ser Ala Lys Met Ile Leu Ser Ile Cys Phe Thr

1 5 10 15
 Phe Leu Ser Phe Phe Lys Ala Thr His Ala Met Asp Leu Asp Thr Thr
 20 25 30
 Ser Lys Thr Ser Ile Cys Asp Ala Thr Ala Leu Ile Gln Gly Gly Met
 35 40 45

 Leu Asp Tyr Tyr Glu Gly Thr Arg Tyr Gly Gly Thr Val Gly Met Phe
 50 55 60
 Gln Ser Pro Tyr Tyr Trp Trp His Ala Gly Glu Ala Phe Gly Gly Met
 65 70 75 80
 Leu Glu Asn Trp Phe Leu Cys Glu Asn Asp Thr Tyr Gln Glu Leu Leu
 85 90 95
 Tyr Asp Ala Leu Leu Ala Gln Thr Gly Ser Asn Tyr Asp Tyr Ile Pro
 100 105 110
 Ser Asn Gln Thr Met Val Glu Gly Asn Asp Asp Gln Gly Ile Trp Gly

 115 120 125
 Ile Thr Val Met Gly Ala Val Glu Arg Asn Phe Thr Asp Pro Gly Asp
 130 135 140
 Gly Lys Pro Gly Trp Leu Ala Met Val Gln Ala Val Phe Asn Thr Met
 145 150 155 160
 Tyr Ser Arg Trp Asp Ser Glu His Cys Gly Gly Gly Leu Arg Trp Gln
 165 170 175
 Ile Phe Thr Trp Asn Ser Gly Tyr Asn Tyr Lys Asn Thr Val Ser Asn
 180 185 190

 Ala Cys Leu Phe Gln Ile Ala Ala Arg Leu Gly Arg Tyr Thr Gly Asn
 195 200 205
 Thr Thr Tyr Leu Glu Val Ala Glu Gln Val Phe Asp Trp Leu Val Asp
 210 215 220
 Val Gly Tyr Val Val Leu Asn Asp Thr Ala Asn Val Phe Asp Gly Ala
 225 230 235 240
 Glu Ile Asp Thr Asn Cys Thr Asp Ile Thr Lys Ile Glu Trp Thr Tyr
 245 250 255

Asn His Gly Ile Val Leu Gly Gly Leu Ala Tyr Met Tyr Asn Ala Thr

260 265 270

Asn Gly Thr Gly Glu Trp Glu Thr Ser Leu Thr Lys Ile Leu Asn Gly

275 280 285

Ala Lys Ser Tyr Phe Phe Lys Asp Ser Ile Met Tyr Glu Ser Ala Cys

290 295 300

Gln Asp Tyr Gly Thr Cys Asn Thr Asp Gln Arg Thr Phe Lys Ser Ile

305 310 315 320

Phe Ser Arg Met Leu Gly Leu Thr Ser Val Met Ala Pro Phe Thr Arg

325 330 335

Asp Thr Ile Asp Asp Leu Ile Lys Thr Ser Ala Glu Ala Ala Ala Lys

340 345 350

Ser Cys Asn Gly Gly Thr Asp Gly His Thr Cys Gly Leu Asn Trp Gln

355 360 365

Lys Gln Thr Asn Asp Gly Tyr Tyr Gly Leu Gly Glu Gln Met Ser Ala

370 375 380

Leu Glu Val Ile Gln Asn Leu Leu Ile His Asp Arg Pro Ala Pro Tyr

385 390 395 400

Lys Glu Asp Asn Gly Gly Thr Ser Lys Gly Asp Ala Asn Ala Gly Met

405 410 415

Asn Ser Ser Thr Thr Asn Val Leu Gln Asn Asn Leu Asn Ile Lys Lys

420 425 430

Gly Asp Arg Ala Gly Ala Ala Ile Ile Thr Ala Val Ile Leu Ser Val

435 440 445

Leu Thr Gly Gly Ala Val Trp Met Leu Phe

450 455

<210> 9

<211> 198

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 9

Met Phe His Leu Val Lys Gly Leu Tyr Asn Asn Trp Asn Lys Lys Glu

1 5 10 15
Gln Tyr Ser Ile Leu Ile Leu Gly Leu Asp Asn Ala Gly Lys Thr Thr
20 25 30
Phe Leu Glu Thr Leu Lys Lys Glu Tyr Ser Leu Ala Phe Lys Ala Leu
35 40 45
Glu Lys Ile Gln Pro Thr Val Gly Gln Asn Val Ala Thr Ile Pro Val
50 55 60
Asp Ser Lys Gln Ile Leu Lys Phe Trp Asp Val Gly Gly Gln Glu Ser
65 70 75 80

Leu Arg Ser Met Trp Ser Glu Tyr Tyr Ser Leu Cys His Gly Ile Ile
85 90 95
Phe Ile Val Asp Ser Ser Asp Arg Glu Arg Leu Asp Glu Cys Ser Thr
100 105 110
Thr Leu Gln Ser Val Val Met Asp Glu Glu Ile Glu Gly Val Pro Ile
115 120 125
Leu Met Leu Ala Asn Lys Gln Asp Arg Gln Asp Arg Met Glu Val Gln
130 135 140
Asp Ile Lys Glu Val Phe Asn Lys Ile Ala Glu His Ile Ser Ala Arg

145 150 155 160
Asp Ser Arg Val Leu Pro Ile Ser Ala Leu Thr Gly Glu Gly Val Lys
165 170 175
Asp Ala Ile Glu Trp Met Ile Val Arg Leu Glu Arg Asn Lys Lys Ser
180 185 190

Arg Pro Pro Ile Tyr Lys

195

<210> 10

<211> 1536

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 10

Met Ser Gln Val Trp His Asn Ser Asn Ser Gln Ser Asn Asp Val Ala

1 5 10 15

Thr Ser Asn Asp Ala Thr Gly Ser Asn Glu Arg Asn Glu Lys Glu Pro

20 25 30

Ser Leu Gln Gly Asn Lys Pro Gly Phe Val Gln Gln Gln Gln Arg Ile

35 40 45

Thr Leu Pro Ser Leu Ser Ala Leu Ser Thr Lys Glu Glu Asp Arg Arg

50 55 60

Asp Ser Asn Gly Gln Gln Ala Leu Thr Ser His Ala Ala His Ile Leu

65 70 75 80

Gly Tyr Pro Pro Pro His Ser Asn Ala Met Pro Ser Ile Ala Thr Asp

85 90 95

Ser Ala Leu Lys Gln Pro His Glu Tyr His Pro Arg Pro Lys Ser Ser

100 105 110

Ser Ser Ser Pro Ser Ile Asn Ala Ser Leu Met Asn Ala Gly Pro Ala

115 120 125

Pro Leu Pro Thr Val Gly Ala Ala Ser Phe Ser Leu Ser Arg Phe Asp

130 135 140

Asn Pro Leu Pro Ile Lys Ala Pro Val His Thr Glu Glu Pro Lys Ser

145 150 155 160

Tyr Asn Gly Leu Gln Glu Glu Glu Lys Ala Thr Gln Arg Pro Gln Asp

165 170 175

Cys Lys Glu Val Pro Ala Gly Val Gln Pro Ala Asp Ala Pro Asp Pro

180 185 190

Ser Ser Asn His Ala Asp Ala Asn Asp Asp Asn Asn Asn Asn Glu Asn

195 200 205

Ser His Asp Glu Asp Ala Asp Tyr Arg Pro Leu Asn Val Lys Asp Ala

210 215 220

Leu Ser Tyr Leu Glu Gln Val Lys Phe Gln Phe Ser Ser Arg Pro Asp

225 230 235 240

Ile Tyr Asn Leu Phe Leu Asp Ile Met Lys Asp Phe Lys Ser Gln Ala

245 250 255
 Ile Asp Thr Pro Gly Val Ile Glu Arg Val Ser Thr Leu Phe Arg Gly
 260 265 270
 Tyr Pro Ile Leu Ile Gln Gly Phe Asn Thr Phe Leu Pro Gln Gly Tyr
 275 280 285
 Arg Ile Glu Cys Ser Ser Asn Pro Asp Asp Pro Ile Arg Val Thr Thr

 290 295 300
 Pro Met Gly Thr Thr Thr Val Asn Asn Asn Ile Ser Pro Ser Gly Arg
 305 310 315 320
 Gly Thr Thr Asp Ala Gln Glu Leu Gly Ser Phe Pro Glu Ser Asp Gly
 325 330 335
 Asn Gly Val Gln Gln Pro Ser Asn Val Pro Met Val Pro Ser Ser Val
 340 345 350
 Tyr Gln Ser Glu Gln Asn Gln Asp Gln Gln Gln Ser Leu Pro Leu Leu
 355 360 365

 Ala Thr Ser Ser Gly Leu Pro Ser Ile Gln Gln Pro Glu Met Pro Ala
 370 375 380
 His Arg Gln Ile Pro Gln Ser Gln Ser Leu Val Pro Gln Glu Asp Ala
 385 390 395 400
 Lys Lys Asn Val Asp Val Glu Phe Ser Gln Ala Ile Ser Tyr Val Asn
 405 410 415
 Lys Ile Lys Thr Arg Phe Ala Asp Gln Pro Asp Ile Tyr Lys His Phe
 420 425 430
 Leu Glu Ile Leu Gln Thr Tyr Gln Arg Glu Gln Lys Pro Ile Asn Glu

 435 440 445
 Val Tyr Ala Gln Val Thr His Leu Phe Gln Asn Ala Pro Asp Leu Leu
 450 455 460
 Glu Asp Phe Lys Lys Phe Leu Pro Asp Ser Ser Ala Ser Ala Asn Gln
 465 470 475 480
 Gln Val Gln His Ala Gln Gln His Ala Gln Gln Gln His Glu Ala Gln
 485 490 495
 Met His Ala Gln Ala Gln Ala Gln Ala Gln Ala Gln Val Glu

500 505 510
 Gln Gln Lys Gln Gln Gln Gln Phe Leu Tyr Pro Ala Ser Gly Tyr Tyr
 515 520 525
 Gly His Pro Ser Asn Arg Gly Ile Pro Gln Gln Asn Leu Pro Pro Ile
 530 535 540
 Gly Ser Phe Ser Pro Pro Thr Asn Gly Ser Thr Val His Glu Ala Tyr
 545 550 555 560
 Gln Asp Gln Gln His Met Gln Pro Pro His Phe Met Pro Leu Pro Ser
 565 570 575
 Ile Val Gln His Gly Pro Asn Met Val His Gln Gly Ile Ala Asn Glu

 580 585 590
 Asn Pro Pro Leu Ser Asp Leu Arg Thr Ser Leu Thr Glu Gln Tyr Ala
 595 600 605
 Pro Ser Ser Ile Gln His Gln Gln Gln His Pro Gln Ser Ile Ser Pro
 610 615 620
 Ile Ala Asn Thr Gln Tyr Gly Asp Ile Pro Val Arg Pro Glu Ile Asp
 625 630 635 640
 Leu Asp Pro Ser Ile Val Pro Val Val Pro Glu Pro Thr Glu Pro Ile
 645 650 655

 Glu Asn Asn Ile Ser Leu Asn Glu Glu Val Thr Phe Phe Glu Lys Ala
 660 665 670
 Lys Arg Tyr Ile Gly Asn Lys His Leu Tyr Thr Glu Phe Leu Lys Ile
 675 680 685
 Leu Asn Leu Tyr Ser Gln Asp Ile Leu Asp Leu Asp Asp Leu Val Glu
 690 695 700
 Lys Val Asp Phe Tyr Leu Gly Ser Asn Lys Glu Leu Phe Thr Trp Phe
 705 710 715 720
 Lys Asn Phe Val Gly Tyr Gln Glu Lys Thr Lys Cys Ile Glu Asn Ile

 725 730 735
 Val His Glu Lys His Arg Leu Asp Leu Asp Leu Cys Glu Ala Phe Gly
 740 745 750

Pro Ser Tyr Lys Arg Leu Pro Lys Ser Asp Thr Phe Met Pro Cys Ser
755 760 765

Gly Arg Asp Asp Met Cys Trp Glu Val Leu Asn Asp Glu Trp Val Gly
770 775 780

His Pro Val Trp Ala Ser Glu Asp Ser Gly Phe Ile Ala His Arg Lys
785 790 795 800

Asn Gln Tyr Glu Glu Thr Leu Phe Lys Ile Glu Glu Glu Arg His Glu
805 810 815

Tyr Asp Phe Tyr Ile Glu Ser Asn Leu Arg Thr Ile Gln Cys Leu Glu
820 825 830

Thr Ile Val Asn Lys Ile Glu Asn Met Thr Glu Asn Glu Lys Ala Asn
835 840 845

Phe Lys Leu Pro Pro Gly Leu Gly His Thr Ser Met Thr Ile Tyr Lys
850 855 860

Lys Val Ile Arg Lys Val Tyr Asp Lys Glu Arg Gly Phe Glu Ile Ile
865 870 875 880

Asp Ala Leu His Glu His Pro Ala Val Thr Ala Pro Val Val Leu Lys
885 890 895

Arg Leu Lys Gln Lys Asp Glu Glu Trp Arg Arg Ala Gln Arg Glu Trp
900 905 910

Asn Lys Val Trp Arg Glu Leu Glu Gln Lys Val Phe Phe Lys Ser Leu
915 920 925

Asp His Leu Gly Leu Thr Phe Lys Gln Ala Asp Lys Lys Leu Leu Thr
930 935 940

Thr Lys Gln Leu Ile Ser Glu Ile Ser Ser Ile Lys Val Asp Gln Thr
945 950 955 960

Asn Lys Lys Ile His Trp Leu Thr Pro Lys Pro Lys Ser Gln Leu Asp
965 970 975

Phe Asp Phe Pro Asp Lys Asn Ile Phe Tyr Asp Ile Leu Cys Leu Ala
980 985 990

Asp Thr Phe Ile Thr His Thr Thr Ala Tyr Ser Asn Pro Asp Lys Glu
995 1000 1005

Arg Leu Lys Asp Leu Leu Lys Tyr Phe Ile Ser Leu Phe Phe Ser Ile

1010 1015 1020
 Ser Phe Glu Lys Ile Glu Glu Ser Leu Tyr Ser His Lys Gln Asn Val
 1025 1030 1035 1040
 Ser Glu Ser Ser Gly Ser Asp Asp Gly Ser Ser Ile Ala Ser Arg Lys
 1045 1050 1055
 Arg Pro Tyr Gln Gln Glu Met Ser Leu Leu Asp Ile Leu His Arg Ser
 1060 1065 1070
 Arg Tyr Gln Lys Leu Lys Arg Ser Asn Asp Glu Asp Gly Lys Val Pro
 1075 1080 1085

Gln Leu Ser Glu Pro Pro Glu Glu Glu Pro Asn Thr Ile Glu Glu Glu
 1090 1095 1100
 Glu Leu Ile Asp Glu Glu Ala Lys Asn Pro Trp Leu Thr Gly Asn Leu
 1105 1110 1115 1120
 Val Glu Glu Ala Asn Ser Gln Gly Ile Ile Gln Asn Arg Ser Ile Phe
 1125 1130 1135
 Asn Leu Phe Ala Asn Thr Asn Ile Tyr Ile Phe Phe Arg His Trp Thr
 1140 1145 1150
 Thr Ile Tyr Glu Arg Leu Leu Glu Ile Lys Gln Met Asn Glu Arg Val

1155 1160 1165
 Thr Lys Glu Ile Asn Thr Arg Ser Thr Val Thr Phe Ala Lys Asp Leu
 1170 1175 1180
 Asp Leu Leu Ser Ser Gln Leu Ser Glu Met Gly Leu Asp Phe Val Gly
 1185 1190 1195 1200
 Glu Asp Ala Tyr Lys Gln Val Leu Arg Leu Ser Arg Arg Leu Ile Asn
 1205 1210 1215
 Gly Asp Leu Glu His Gln Trp Phe Glu Glu Ser Leu Arg Gln Ala Tyr
 1220 1225 1230

Asn Asn Lys Ala Phe Lys Leu Tyr Thr Ile Asp Lys Val Thr Gln Ser
 1235 1240 1245
 Leu Val Lys His Ala His Thr Leu Met Thr Asp Ala Lys Thr Ala Glu

1250 1255 1260
 Ile Met Ala Leu Phe Val Lys Asp Arg Asn Ala Ser Thr Thr Ser Ala
 1265 1270 1275 1280
 Lys Asp Gln Ile Ile Tyr Arg Leu Gln Val Arg Ser His Met Ser Asn
 1285 1290 1295
 Thr Glu Asn Met Phe Arg Ile Glu Phe Asp Lys Arg Thr Leu His Val

 1300 1305 1310
 Ser Ile Gln Tyr Ile Ala Leu Asp Asp Leu Thr Leu Lys Glu Pro Lys
 1315 1320 1325
 Ala Asp Glu Asp Lys Trp Lys Tyr Tyr Val Thr Ser Tyr Ala Leu Pro
 1330 1335 1340
 His Pro Thr Glu Gly Ile Pro His Glu Lys Leu Lys Ile Pro Phe Leu
 1345 1350 1355 1360
 Glu Arg Leu Ile Glu Phe Gly Gln Asp Ile Asp Gly Thr Glu Val Asp
 1365 1370 1375

 Glu Glu Phe Ser Pro Glu Gly Ile Ser Val Ser Thr Leu Lys Ile Lys
 1380 1385 1390
 Ile Gln Pro Ile Thr Tyr Gln Leu His Ile Glu Asn Gly Ser Tyr Asp
 1395 1400 1405
 Val Phe Thr Arg Lys Ala Thr Asn Lys Tyr Pro Thr Ile Ala Asn Asp
 1410 1415 1420
 Asn Thr Gln Lys Gly Met Val Ser Gln Lys Lys Glu Leu Ile Ser Lys
 1425 1430 1435 1440
 Phe Leu Asp Cys Ala Val Gly Leu Arg Asn Asn Leu Asp Glu Ala Gln

 1445 1450 1455
 Lys Leu Ser Met Gln Lys Lys Trp Glu Asn Leu Lys Asp Ser Ile Ala
 1460 1465 1470
 Lys Thr Ser Ala Gly Asn Gln Gly Ile Glu Ser Glu Thr Glu Lys Gly
 1475 1480 1485
 Lys Ile Thr Lys Gln Glu Gln Ser Asp Asn Leu Asp Ser Ser Thr Ala
 1490 1495 1500
 Ser Val Leu Pro Ala Ser Ile Thr Thr Val Pro Gln Asp Asp Asn Ile

1505 1510 1515 1520

Glu Thr Thr Gly Asn Thr Glu Ser Ser Asp Lys Gly Ala Lys Ile Gln

 1525 1530 1535

<210> 11

<211> 726

<212> PRT

<213> *Saccharomyces cerevisiae*

<400> 11

Met Ala Ser Val Met Ser Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn

 1 5 10 15

Ala Ser Tyr Met Phe Thr Asn Pro Leu Ser Asn Thr Gly Gly Gly Leu

 20 25 30

Ile Asn Glu Ile Lys Asp Ala Ile Asn Glu Met Glu Gln Leu Lys Val

 35 40 45

Leu Glu Leu Lys Gln Ile Cys Lys Ser Leu Asp Leu Ser Ile Thr Gly

 50 55 60

Lys Lys Ala Val Leu Gln Asp Arg Ile Lys Gln Phe Leu Arg Lys Ser

 65 70 75 80

Cys Asp Ile Gly His Ile Asp Pro Trp Arg Pro Lys Ala Ile Lys Ile

 85 90 95

Leu Ile Ala Lys Val Arg Ile Asn Ser Ser Leu Pro Lys Tyr Ser Thr

 100 105 110

Leu Trp Glu Thr Leu Lys Thr Gly Ala Phe Lys His Pro Val Ala Ser

 115 120 125

Gly Gln Leu Pro Val Thr Ala Leu Gln Ser Thr Ala Leu Pro Pro Tyr

 130 135 140

Ser Gln Gln Gln Ala Leu Ala Tyr Ser Phe Thr Ser Pro Phe Tyr Lys

 145 150 155 160

Pro Ile Val Gln Ile Pro Asp Ala Asn Lys Lys Leu Lys Gln Ser Ala

 165 170 175

Gly Arg Gly Cys Thr Lys Met Lys Phe Lys Val Ser Lys Ser Asn His

180	185	190	
Asp Leu Leu Lys Ser Asn Lys Ser Tyr Lys Leu Tyr Leu Phe Ser Gly			
195	200	205	
Phe Ser Ile Pro Phe Ile Tyr Glu Thr Val Gly His Glu Ala Ile Asp			
210	215	220	
Phe Pro Tyr Pro Cys Glu Leu Val Phe Asn Gly Thr Lys Leu Glu Asp			
225	230	235	240
Asn Val Lys Gly Leu Lys Lys Gln Asn Gly Thr Gly Asn Pro Ala Asn			
245	250	255	
Leu Thr Pro Tyr Leu Lys Val Pro Thr Glu Met Asn His Leu Asp Leu			
260	265	270	
His Tyr Leu Asn Ile Asp Lys Glu Tyr Ser Ile Ser Cys Phe Ile Val			
275	280	285	
Glu Val Phe Ser Pro Glu Ala Leu Leu Gly Lys Ile Leu Lys Arg Pro			
290	295	300	
Lys Ile Ile Lys Gln Ala Thr Thr Ala Tyr Ile Lys Arg Thr Leu Asn			
305	310	315	320
Glu Gln Asp Asp Asp Asp Ile Ile Thr Thr Ser Thr Val Leu Ser Leu			
325	330	335	
Gln Cys Pro Ile Ser Cys Thr Arg Met Lys Tyr Pro Ala Lys Thr Asp			
340	345	350	
Gln Cys Lys His Ile Gln Cys Phe Asp Ala Leu Trp Phe Leu His Ser			
355	360	365	
Gln Ser Gln Val Pro Thr Trp Gln Cys Pro Ile Cys Gln His Pro Ile			
370	375	380	
Lys Phe Asp Gln Leu Lys Ile Ser Glu Phe Val Asp Asn Ile Ile Gln			
385	390	395	400
Asn Cys Asn Glu Asp Val Glu Gln Val Glu Ile Ser Val Asp Gly Ser			
405	410	415	
Trp Lys Pro Ile His Asn Ser Ser Ala Val Ile Thr Asp Thr Val Asn			
420	425	430	
Gln Asn His Ser Val Lys Asn Glu Asn Gln Gly Thr Val Lys Gln Glu			

435 440 445
 Gln Asp Tyr Asp Ser Arg Asn Ala Phe Asp Thr Asn Leu Arg Asn Gly
 450 455 460
 Ser Asn His Asn Glu Pro Glu Ile Ile Ser Leu Asp Ser Ser Asp Asp

 465 470 475 480
 Glu Ala Phe Ile Pro Ala Ser Lys Ser Phe Pro Thr His Val Asn Pro
 485 490 495
 Arg Asn Asp Gln Leu Arg Ala Asp Ile Phe Pro Ser Glu Ser Glu Gly
 500 505 510
 Ser Ser Asp Tyr Asn Pro Asn His Thr Ser Thr Pro Lys Gly Ser Pro
 515 520 525
 Thr Met Asp Gln Asp Asn Tyr Gln Asp Ala Phe Gln Met Arg Ser Phe
 530 535 540

 Leu Asn Gln Gly Ala Thr Thr Asn Ile Asn Asp Thr Pro Thr Asn Asn
 545 550 555 560
 Ser Ser Ile Asn Ser Phe Val Thr Ala Thr Asn Gly Asp Ser Arg Ile
 565 570 575
 Phe Tyr Asn Arg Gly Pro Ser Thr Pro Leu Leu Pro Ala Val Leu Gln
 580 585 590
 Asn Leu Thr Asn Gln Thr Glu Ala Gln Arg Asn Pro Tyr Gly Pro Asn
 595 600 605
 Tyr Asn Thr Thr Ala Gln Asp Arg Asn Leu Leu Gly Ile Glu Gly Asp

 610 615 620
 Leu Pro Pro Ile Pro Pro Val Asp Pro Asn Ser Glu Ala Glu Thr Glu
 625 630 635 640
 Leu Pro Thr Arg Thr Thr Ser Ala Ala His Leu Pro Pro Tyr Ile His
 645 650 655
 Val Ser Thr Ser Gly His Gly Asp Asp Gly Lys Ile Arg Lys Arg Arg
 660 665 670
 His Ser Asn Val Ser Ile Tyr Ile Pro Lys Asn Pro Tyr Ala Thr Leu
 675 680 685

Met Lys Arg Arg Pro Gln Ala Asn His Ala Ile Met Asn Lys Thr Leu
690 695 700

Ala Gln Thr Asn Asp Phe Asn Thr Ser Ala Gln Asp Asn Ser Glu Val
705 710 715 720

Val Asp Leu Thr Ser Asp
725

<210> 12
<211> 565
<212> PRT
<213> *Saccharomyces cerevisiae*
<400> 12

Met Lys Arg Thr Val Ile Ser Ser Ser Asn Ala Tyr Ala Ser Lys Arg
1 5 10 15

Ser Arg Leu Asp Ile Glu His Asp Phe Glu Gln Tyr His Ser Leu Asn
20 25 30

Lys Lys Tyr Tyr Pro Arg Pro Ile Thr Arg Thr Gly Ala Asn Gln Phe
35 40 45

Asn Asn Lys Ser Arg Ala Lys Pro Met Glu Ile Val Glu Lys Leu Gln
50 55 60

Lys Lys Gln Lys Thr Ser Phe Glu Asn Val Ser Thr Val Met His Trp
65 70 75 80

Phe Arg Asn Asp Leu Arg Leu Tyr Asp Asn Val Gly Leu Tyr Lys Ser
85 90 95

Val Ala Leu Phe Gln Gln Leu Arg Gln Lys Asn Ala Lys Ala Lys Leu
100 105 110

Tyr Ala Val Tyr Val Ile Asn Glu Asp Asp Trp Arg Ala His Met Asp
115 120 125

Ser Gly Trp Lys Leu Met Phe Ile Met Gly Ala Leu Lys Asn Leu Gln
130 135 140

Gln Ser Leu Ala Glu Leu His Ile Pro Leu Leu Leu Trp Glu Phe His
145 150 155 160

Thr Pro Lys Ser Thr Leu Ser Asn Ser Lys Glu Phe Val Glu Phe Phe

165	170	175	
Lys Glu Lys Cys Met Asn Val Ser Ser Gly Thr Gly Thr Ile Ile Thr			
180	185	190	
Ala Asn Ile Glu Tyr Gln Thr Asp Glu Leu Tyr Arg Asp Ile Arg Leu			
195	200	205	
Leu Glu Asn Glu Asp His Arg Leu Gln Leu Lys Tyr Tyr His Asp Ser			
210	215	220	
Cys Ile Val Ala Pro Gly Leu Ile Thr Thr Asp Arg Gly Thr Asn Tyr			
225	230	235	240
Ser Val Phe Thr Pro Trp Tyr Lys Lys Trp Val Leu Tyr Val Asn Asn			
245	250	255	
Tyr Lys Lys Ser Thr Ser Glu Ile Cys His Leu His Ile Ile Glu Pro			
260	265	270	
Leu Lys Tyr Asn Glu Thr Phe Glu Leu Lys Pro Phe Gln Tyr Ser Leu			
275	280	285	
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Tyr Ile Pro Lys Ser Lys Trp Cys Leu Pro			
290	295	300	
Asp Val Ser Glu Glu Ala Ala Leu Ser Arg Leu Lys Asp Phe Leu Gly			
305	310	315	320
Thr Lys Ser Ser Lys Tyr Asn Asn Glu Lys Asp Met Leu Tyr Leu Gly			
325	330	335	
Gly Thr Ser Gly Leu Ser Val Tyr Ile Thr Thr Gly Arg Ile Ser Thr			
340	345	350	
Arg Leu Ile Val Asn Gln Ala Phe Gln Ser Cys Asn Gly Gln Ile Met			
355	360	365	
Ser Lys Ala Leu Lys Asp Asn Ser Ser Thr Gln Asn Phe Ile Lys Glu			
370	375	380	
Val Ala Trp Arg Asp Phe Tyr Arg His Cys Met Cys Asn Trp Pro Tyr			
385	390	395	400
Thr Ser Met Gly Met Pro Tyr Arg Leu Asp Thr Leu Asp Ile Lys Trp			
405	410	415	
Glu Asn Asn Pro Val Ala Phe Glu Lys Trp Cys Thr Gly Asn Thr Gly			

420 425 430
 Ile Pro Ile Val Asp Ala Ile Met Arg Lys Leu Leu Tyr Thr Gly Tyr
 435 440 445

 Ile Asn Asn Arg Ser Arg Met Ile Thr Ala Ser Phe Leu Ser Lys Asn
 450 455 460
 Leu Leu Ile Asp Trp Arg Trp Gly Glu Arg Trp Phe Met Lys His Leu
 465 470 475 480
 Ile Asp Gly Asp Ser Ser Ser Asn Val Gly Gly Trp Gly Phe Cys Ser
 485 490 495
 Ser Thr Gly Ile Asp Ala Gln Pro Tyr Phe Arg Val Phe Asn Met Asp
 500 505 510
 Ile Gln Ala Lys Lys Tyr Asp Pro Gln Met Ile Phe Val Lys Gln Trp

 515 520 525
 Val Pro Glu Leu Ile Ser Ser Glu Asn Lys Arg Pro Glu Asn Tyr Pro
 530 535 540
 Lys Pro Leu Val Asp Leu Lys His Ser Arg Glu Arg Ala Leu Lys Val
 545 550 555 560
 Tyr Lys Asp Ala Met
 565