



(10) **DE 10 2005 049 527 B4** 2013.05.08

(12)

## Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2005 049 527.3**

(22) Anmeldetag: **17.10.2005**

(43) Offenlegungstag: **19.04.2007**

(45) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: **08.05.2013**

(51) Int Cl.: **C12N 15/31** (2006.01)

**C12N 1/00** (2006.01)

**C12P 13/06** (2013.01)

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:

**Forschungszentrum Jülich GmbH, 52428, Jülich, DE**

(72) Erfinder:

**Eggeling, Lothar, Dr., 52428, Jülich, DE; Peters-Wendisch, Petra, Dr., 52428, Jülich, DE; Stolz, Michael, 52355, Düren, DE; Sahm, Hermann, Prof. Dr., 52428, Jülich, DE**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:

**Internet-Recherche am 05.05.2006 [www.biocarta.com/pathfiles/GlycinePathway.asp], Biosynthesis of Glycine and Serine 2002**

**Internet-Recherche am 05.05.2006 [www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?41325213:OLD12:2941821], Corynebacterium glutamicum ATCC 13032, GI: 41325213**

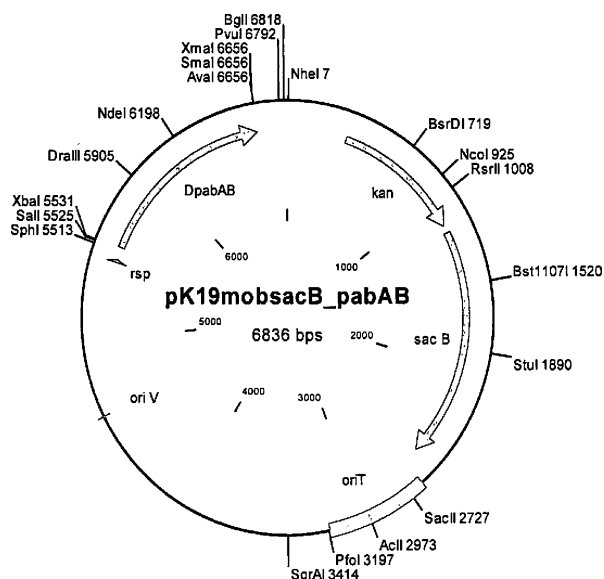
**SYBESMA, W.F.H.: Metabolic Engineering of Folate Production in Lactic Acid Bacteria. Thesis 2003, Universität Wageningen**

**Sequenzvergleich von Sequenz 1 mit GI: 41325213**

**Sequenzvergleich von Sequenz 3 mit GI: 41325213**

**Sequenzvergleich von Sequenz 5 mit GI: 41325213**

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Herstellung von L-Serin, Gensequenz, Vektoren sowie Mikroorganismus**



(57) Hauptanspruch: Verfahren zur Herstellung von L-Serin, dadurch gekennzeichnet, dass die Folsäurekonzentration in einem Aminosäure-produzierenden Organismus reduziert wird.

**Beschreibung**

**[0001]** Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von L-Serin sowie dafür geeignete Gensequenzen, Vektoren und Mikroorganismen.

**Stand der Technik**

**[0002]** Die Aminosäure L-Serin findet in der Humanmedizin, in der pharmazeutischen Industrie, der Lebensmittelindustrie und in der Tierernährung Anwendung.

**[0003]** Es ist bekannt, dass Aminosäuren durch Fermentation von Stämmen coryneformer Bakterien, insbesondere *Corynebacterium glutamicum*, hergestellt werden. Wegen der großen Bedeutung wird ständig an der Verbesserung der Herstellverfahren gearbeitet. Verfahrensverbesserungen können fermentationstechnische Maßnahmen wie z. B. Rührung und Versorgung mit Sauerstoff, oder die Zusammensetzung der Nährmedien wie z. B. die Zuckerkonzentration während der Fermentation oder die Aufarbeitung zur Produktform durch z. B. Ionenaustauschchromatographie oder die intrinsischen Leistungseigenschaften des Mikroorganismus selbst betreffen.

**[0004]** Zur Verbesserung der Leistungseigenschaften dieser Mikroorganismen werden Methoden der Mutagenese, Selektion und Mutantenauswahl angewendet. Auf diese Weise erhält man Stämme, die resistent gegen Antimetabolite oder auxotroph für regulatorisch bedeutsame Metabolite sind und L-Aminosäuren wie L-Serin produzieren. So ist ein coryneformes Bakterium beschrieben, das eine Resistenz gegenüber Azaserin oder beta-(2-Thienyl)-DL-Alanin aufweist und L-Serin produziert (EP 0 943 687 A2). Ferner ist es Stand der Technik, dass mittels gentechnischer Methoden Aktivitäten des Biosynthesewegs erhöht werden können und dies zu erhöhter Aminosäurebildung führt. So ist zum Beispiel in EP 0 931 833 A2 beschrieben, dass eine Erhöhung des Biosyntheseenzym Phosphoserin-Phosphatase und Phosphoserin-Transaminase vorteilhaft für die L-Serinbildung ist. Ferner ist beschrieben, dass ein Gen das für die D-3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase kodiert für die L-Serinbildung genutzt werden kann (EP 0 931 833 A2, WO 93/12235 A1).

**[0005]** Es ist darüber hinaus bekannt, dass neben einer Erhöhung der Aktivität von Enzymen des L-Aminosäuresynthesewegs auch die Verminderung oder sogar die Ausschaltung von Enzymen die an Abbaureaktionen der L-Aminosäure beteiligt sind zu einer Verbesserung der L-Aminosäureakkumulation führen können. So ist gefunden, dass die Ausschaltung des Enzyms L-Serindehydratase zu höheren L-Serin-Akkumulationen führt (WO 2004/081166 A2). Ferner führt auch eine Verminderung der Aktivität des Enzyms Serinhydroxymethyltransferase zu einem verringerten L-Serinabbau (US-Patent 6,596,516; Simic et al. (2002) Appl. Environ. Microbiol. 68: 3321–3327).

**[0006]** Es ist die Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren und einen dafür geeigneten Mikroorganismus sowie Vektoren zur Verfügung zu stellen mit denen die Produktion von L-Serin gesteigert werden kann. Weiterhin soll ein Verfahren, sowie Mikroorganismen und Vektoren zur Verfügung gestellt werden, mit denen eine Steigerung der Produktion von Cystein, Tryptophan und Methionin erzielt werden kann.

**[0007]** In überraschender Weise wurde gefunden, dass coryneforme Bakterien nach Modifizierung oder Ausschaltung der für die Folsäuresynthese kodierenden Gene in verbesserter Weise L-Serin produzieren. Mit den erfindungsgemäßen Verfahren sowie den erfindungsgemäßen Bakterien und den erfindungsgemäßen Gensequenzen die für Enzyme oder Regulatoren, die die Folsäuresynthese katalysieren, bzw. an der Regulation der Folsäuresynthese beteiligt sind, ist es nunmehr möglich, L-Serin mit einer Ausbeute herzustellen, die erheblich höher liegt, als die der nicht erfindungsgemäß veränderten Stämme. Der Umfang der Steigerung der L-Serin-Produktion ist in Tabelle 2 dargestellt.

**[0008]** Im Folgenden soll die Erfindung in der allgemeinen Form beschrieben werden:  
Erfindungsgemäß wird die L-Serinproduktion sowie die Produktion von Cystein, Tryptophan und Methionin dadurch gesteigert, dass die Folsäurekonzentration in einem Aminosäure produzierenden Organismus verringert wird. Vorzugsweise produziert der Organismus bereits vor der erfindungsgemäßen Veränderung L-Serin.

**[0009]** Beispielsweise kann die Verringerung der Folsäurekonzentration durch Verringerung der Synthese von Folsäure oder deren Abbau erreicht werden.

**[0010]** Die Verringerung oder Verhinderung der Synthese von Folsäure kann durch gerichtete oder ungerichtete Mutation von Genen, die an der Biosynthese von Folsäure beteiligt sind, erreicht werden.

**[0011]** Beispiele für Mutationen, die zu einer Verringerung oder Ausschaltung der Folsäureproduktion führen, sind die Deletionsmutation, Insertionsmutation, Substitutionsmutation oder eine Punktmutation von Genen, die an der Biosynthese von Folsäure beteiligt sind.

**[0012]** Weiterhin kann bei genetisch veränderten oder unveränderten Genen von Proteinen, die an der Biosynthese von Folsäure beteiligt sind eine Verringerung oder Ausschaltung der Folsäureproduktion erfolgen, indem die Expression von an der Biosynthese von Folsäure beteiligten Genen verringert oder verhindert wird.

**[0013]** Eine Verringerung oder Ausschaltung der Expression von Genen, die am Biosyntheseweg von Folsäure beteiligt sind kann durch Veränderung, vorzugsweise Abschwächung, besonders bevorzugt Ausschaltung von Promotoren, wie Signalstrukturen, Repressorgenen, Aktivatoren, Operatoren, Attenuatoren, Ribosomenbindestellen oder Startkodons, Terminatoren, oder weiterhin durch Veränderung, vorzugsweise Abschwächung, besonders bevorzugt Ausschaltung oder Schwächung von Regulatoren, oder der Stabilität der Transkripte erreicht werden. Weiterhin können regulierbare Promotoren, insbesondere abgeschwächte Promotoren eingesetzt werden.

**[0014]** Auf der Enzymebene kann die Aktivität der an der Biosynthese der Folsäure beteiligten Enzyme durch Reduzierung oder Ausschaltung der katalytischen Aktivität und der Stabilität der Enzyme erreicht werden. Die gleiche Wirkung kann durch Veränderung des allosterischen Zentrums bzw. einer Feedback-Inhibierung der Enzyme erreicht werden. Typische Möglichkeiten die Aktivität der Enzyme zu vermindern oder auszuschalten ist die Proteinmodifikation beispielsweise durch Phosphorylierung oder Adenylierung. Es kann auch der proteolytische Abbau von am Biosyntheseweg der Folsäure beteiligten Enzymen gesteigert werden.

**[0015]** Typische Enzyme, deren Aktivität auf die beschriebene Art verringert oder ausgeschaltet werden kann, sind GTP-Cyclohydrolase, Neopterintriphosphatpyrophosphatase, Neopterinaldolase, 6-Hydroxymethylpterinpyrophosphokinase, 4-Amino-4-deoxy-chorismatsynthase, 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyase, Pteroaatsynthese, Folatsynthase und Dihydrofolatreduktase.

**[0016]** Gegenstand der Erfindung ist auch ein Vektor, der ein Tool beinhaltet, welches geeignet ist erfindungsgemäße genetische Veränderungen in einem Produktionsorganismus herbeizuführen.

**[0017]** Die erfindungsgemäßen Vektoren beinhalten Tools welche geeignet sind, das Gen für die Synthese von 4-Amino-4-deoxy-chorismatsynthase und oder 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyase zu deletieren.

**[0018]** Die Sequenz für die Deletion des 4-Amino-4-deoxy-chorismatsynthasegens ist in Seq. Nr. 1 dargestellt. Seq. Nr. 2 zeigt die Struktur eines Vektors, welcher die Seq. Nr. 1 trägt.

**[0019]** Die Sequenz für die Deletion des 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyasegens ist in Seq. Nr. 3 dargestellt. Seq. Nr. 4 zeigt die Struktur eines Vektors, welcher die Seq. Nr. 3 trägt.

**[0020]** Sequenz für die Deletion des 4-Amino-4-deoxy-chorismatsynthasegens und des 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyasegens ist in Seq. Nr. 5 dargestellt. Seq. Nr. 6 zeigt die Struktur eines Vektors, welcher die Seq. Nr. 5 für die Deletion des 4-Amino-4-deoxy-chorismatsynthasegens und des 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyasegens trägt.

**[0021]** In Seq. Nr. 7 ist ein Plasmid dargestellt, welches geeignet ist, die L-Serin-Produktion zusätzlich zu steigern. Es entspricht dem in [Fig. 4](#) dargestellten Plasmid mit der Bezeichnung pEC-T18mob2-serA<sup>tr</sup>CB-.

**[0022]** Die für die Deletion verantwortlichen Strukturen können auch in andere Vektorgerüste eingebaut werden, die für den entsprechenden Organismus geeignet sind. Als Vektoren kommen neben den häufig verwendeten cyclischen Vektoren auch lineare Vektoren oder Phagen in Frage.

**[0023]** Die Figuren zeigen Vektoren, die beispielhaft für die erfindungsgemäßen Veränderungen des L-Serin Produzierenden Organismen herangezogen werden können. Es zeigt:

**[0024]** [Fig. 1](#): pK19mobsacB\_aabAB entsprechend Seq. Nr. 2.

**[0025]** [Fig. 2](#): pK19mobsacB\_pabC entsprechend Seq. Nr. 4.

**[0026]** [Fig. 3](#): pK19mobsacB\_pabABC entsprechend Seq. Nr. 6.

**[0027]** [Fig. 4:](#) pEC-T18mob2-serA<sup>für</sup>CB entsprechend Seq. Nr 7.

**[0028]** Vorzugsweise werden die Tools nach den Sequenzen 1, 3 und 5 auf Vektoren in L-Serin-Produktionsorganismen eingebracht, welche bereits vor der Veränderung L-Serin produzieren.

**[0029]** Alle angegebenen Sequenzen sollen auch Varianten umfassen, welche 90%, vorzugsweise 95% Homologie besitzen.

**[0030]** Geeignete Organismen sind beispielsweise Corynebakterien, wie *Corynebacterium glutamicum* oder *Brevibacterium*. Es können auch Enterobakterien, Bacillaceen oder Heefearten, die eine verringerte Folsäurekonzentration aufweisen als Produktionsorganismen eingesetzt werden.

**[0031]** Im Folgenden soll die Erfindung genauer beschrieben werden:

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur fermentativen Herstellung von L-Serin unter Verwendung von coryneformen Bakterien, bei denen die Gene, die für die Folsäuresynthese kodieren, modifiziert, ausgeschaltet oder in ihrer Expression verändert werden oder aber bei natürlicherweise Folsäure bedürftigen Bakterien ein Folsäuremangel herbeigeführt wird, oder aber die Regulation der Folsäuresynthese derartig beeinflusst wird das Folsäuremangel entsteht. Da die Folsäuresynthese von einem Intermediat der Nukleotidsynthese sowie einem Intermediat der Synthese aromatischer Aminosäuren ausgeht, können prinzipiell auch diese entsprechenden Reaktionen modifiziert oder ausgeschaltet werden, vorausgesetzt, dass Nukleotide und aromatische Aminosäuren selbst noch ausreichend zur Verfügung stehen, wie es zum Beispiel durch externe Supplementation der Fall ist. Darüber hinaus kann der Folsäuremangel auch durch Deletion oder Modifikation von Regulatoren, die die Expression von Genen der Folsäure oder der damit verknüpften Stoffwechselwege, kontrolliert herbeigeführt werden.

**[0032]** Bevorzugte Ausführungsformen finden sich in den Unteransprüchen.

**[0033]** Die eingesetzten Stämme produzieren vorzugsweise bereits vor der Modifizierung der Folsäuresynthese L-Serin.

**[0034]** Der Begriff Modifizierung beinhaltet die Abschwächung von Folsäuresynthesegenen und die vollständige Deletion von Folsäuresynthesegenen. Hierzu gehören ungerichtete Mutagenesen sowie gerichtete rekombinante DNA-Techniken. Mit Hilfe dieser Methoden können zum Beispiel Gene der Folsäuresynthese im Chromosom deletiert werden. Geeignete Methoden dazu sind bei Schäfer et al. (Gene (1994) 145: 69–73) oder auch Link et al. (J. Bacteriology (1998) 179: 6228–6237) beschrieben. Auch können nur Teile des Gens deletiert werden oder auch mutierte Fragmente von Genen ausgetauscht werden. Durch Deletion oder Austausch wird so der Verlust, oder eine Reduktion der Folsäuresynthese-Aktivität, erreicht. Eine vorteilhafte Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist beispielsweise der erfindungsgemäß veränderte *C. glutamicum* Stamm ATCC13032DpykDsdaADpabAB pserABC, der unter anderem eine Deletion im pabAB-Gen trägt.

**[0035]** Eine weitere Möglichkeit die Aktivität der Folsäuresynthese abzuschwächen oder auszuschalten sind Mutageneseverfahren. Hierzu gehören ungerichtete Verfahren, die chemische Reagenzien wie z. B. N-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidin oder auch UV-Bestrahlung zur Mutagenese benutzen, mit anschließender Suche der gewünschten Mikroorganismen auf Verminderung oder Verlust der Folsäuresynthese-Aktivität. Verfahren zur Mutationsauslösung und Mutantensuche sind allgemein bekannt und können unter anderem bei Miller (A Short Course in Bacterial Genetics, A Laboratory Manual and Handbook for *Escherichia coli* and Related Bacteria (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1992)) oder im Handbuch "Manual of Methods for General Bacteriology" der American Society for Bacteriology (Washington D.C., USA, 1981) nachgelesen werden.

**[0036]** Darüber hinaus kann auch die Expression von Genen der Folsäuresynthese durch Veränderung der Signalstrukturen zur Genexpression reduziert werden. Signalstrukturen sind beispielsweise Repressorgene, Aktivatorgene, Operatoren, Promotoren, Attenuatoren, Ribosomenbindungsstellen, das Startkodon und Terminatoren. Angaben hierzu findet der Fachmann z. B. in der Patentanmeldung WO 96/15246, bei Boyd und Murphy (J. Bacteriol. 1988. 170: 5949), bei Voskuil und Chambliss (Nucleic Acids Res. 1998. 26: 3548, bei Jensen und Hammer (Biotechnol. Bioeng. 1998 58: 191), bei Patek et al. (Microbiology (1996) 142: 1297 und in bekannten Lehrbüchern der Genetik und Molekularbiologie wie z. B. dem Lehrbuch von Knippers („Molekulare Genetik“, 8. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Deutschland, 2001) oder dem von Winnacker („Gene und Klon“, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Deutschland, 1990). Es kann die Promotor- und Regulationsregion, die sich stromaufwärts des Strukturgens befindet, mutiert werden.

**[0037]** Durch regulierbare Promotoren ist es zusätzlich möglich, die Expression im Verlaufe der fermentativen L-Serinbildung zu reduzieren. Daneben ist aber auch eine Regulation der Translation möglich, indem beispielsweise die Stabilität der m-RNA reduziert wird. Dies kann erreicht werden, indem die Stabilität durch zusätzliche und/oder veränderte Sequenzen am 5'-Ende oder 3'-Ende des Gens geschwächt wird. Beispiele dazu sind für Gene aus *Bacillus subtilis* (Microbiology (2001) 147: 1331–41) oder Hefe (Trends Biotechnol. 1994, 12: 444–9) beschrieben. Es ist ferner möglich, durch intrinsische proteolytische Aktivität, wie beschrieben, die Enzymaktivität zu beeinflussen (Mol Microbiol. (2005) 57: 576–91).

**[0038]** Des Weiteren können Gene verwendet werden, die für das entsprechende Enzym der Folsäuresynthese mit geringer Aktivität kodieren. Mutationen, die zu einer Veränderung oder Reduktion der katalytischen Aktivität von Enzymproteinen führen, sind bekannt. Beispiele dazu finden sich in den Arbeiten von Qiu and Goodman (J Biological Chemistry (1997) 272: 8611–8617), Sugimoto et al. (Bioscience Biotechnology and Biochemistry (1997) 61: 1760–1762) und Möckel ("Die Threonindehydratase aus *Corynebacterium glutamicum*: Aufhebung der allosterischen Regulation und Struktur des Enzyms", Reports from the Jülich Research Centre, Jül-2906, ISSN09442952, Jülich, Germany, 1994). Zusammenfassende Darstellungen können in Textbüchern der Genetik und der Molekularbiologie gefunden werden, wie z. B. dem von Hagemann ("Allgemeine Genetik", Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1986). Alternativ kann weiterhin eine reduzierte Expression und Aktivität der Folsäuresynthese-Enzyme durch Veränderung der Medienzusammensetzung und Kulturführung erreicht werden. Anleitungen findet der Fachmann unter anderem bei Martin et al. (Bio/Technology 5, 137–146 (1987)), bei Guerrero et al. (Gene 138, 35–41 (1994)), Tsuchiya und Morinaga (Bio/Technology 6, 428–430 (1988)), bei Eikmanns et al. (Gene 102, 93–98 (1991)), in der Europäischen Patentschrift EP 0 472 869, im US Patent 4,601,893, bei Schwarzer und Pühler (Bio/Technology 9, 84–87 (1991)), bei Reinscheid et al. (Applied and Environmental Microbiology 60, 126–132 (1994)), bei LaBarre et al. (Journal of Bacteriology 175, 1001–1007 (1993)) und in der Patentanmeldung WO 96/15246.

**[0039]** Auf diese Weise können Gene der Folsäuresynthese von *C. glutamicum* vermindert exprimiert oder deletiert, oder die Enzymaktivitäten reduziert werden.

**[0040]** Weiterhin kann es für die Produktion von L-Serin vorteilhaft sein, zusätzlich zum herbeigeführten Mangel an Folsäure eines oder mehrere der Gene ausgewählt aus der Gruppe,

- das für die 3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase kodierende serA-Gen,
  - das für die Phosphoserin-Transaminase kodierende serC-Gen,
  - das für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende serB-Gen,
- einzeln oder in Kombinationen zu verstärken insbesondere zu überexprimieren, oder Allele dieser Gene, insbesondere
- die für feedback-resistente 3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase kodierenden serA-Gene
- einzeln oder in Kombinationen zu verstärken oder zu überexprimieren,

**[0041]** Weiterhin kann es für die Produktion von L-Serin vorteilhaft sein, zusätzlich zum herbeigeführten Mangel an Folsäure eines oder mehrere der Gene ausgewählt aus der Gruppe,

- das für die Cystathioninlyase kodierende aecD-Gen,
  - das für die Cystathioninlyase kodierende metC-Gen,
  - das für die Serindehydratase kodierende sdaA-Gen,
  - das für die Serinhydroxymethyltransferase kodierende glyA-Gen,
  - das für die beta-Untereinheit der Tryptophansynthase kodierende trpB-Gen,
  - das für die Threonindehydratase kodierende ilvA-Gen,
  - das für die Pyruvatkinase kodierende pyk-Gen
- einzeln oder in Kombination zu reduzieren oder zu deletieren.

**[0042]** Die erfindungsgemäßen Mikroorganismen umfassen im Rahmen der vorliegenden Erfindung Bakterien aus der Gattung *Corynebacterium* oder *Brevibacterium*, die durch klassische und/oder molekulagenetische Methoden derart verändert sind, dass ihr Stoffwechselfluss verstärkt in Richtung der Biosynthese von Aminosäuren oder deren Abkömmlingen verläuft. Die vorliegende Erfindung umfasst hierbei sämtliche bereits bekannten Aminosäure-Produktionsstämme. Ferner sind erfindungsgemäß auch diejenigen Produktionsstämme umfasst, die der Fachmann in Analogie zu Erkenntnissen aus anderen Mikroorganismen, beispielsweise Enterobakterien, Bacillaceen oder Hefe-Arten nach gängiger Methode herstellen kann. Ferner sind erfindungsgemäß auch solche Aminosäure-Produktionsstämme umfasst, bei denen der Abbau von L-Serin verändert oder abgeschwächt ist. Dies kann beispielsweise durch gezielte gentechnische Veränderungen an L-Serin degradierenden Enzymen oder den korrespondierenden Genen erfolgen. Im Folgenden sollen einige erfindungsgemäß geeignete Mikroorganismen beispielhaft genannt werden. Diese Auswahl gilt jedoch nicht beschränkend:

Corynebacterium glutamicum ATCC13032,  
 Corynebacterium acetoglutamicum ATCC15806,  
 Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870,  
 Corynebacterium thermoaminogenes FERM BP-1539,  
 Brevibacterium flavum ATCC14067,  
 Brevibacterium lactofermentum ATCC13869 oder  
 Brevibacterium divaricatum ATCC14020.

**[0043]** Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ebenfalls eine pabAB und pabC-Gensequenz Nr. 1, 3 und 5, die dadurch gekennzeichnet ist, dass ein Teil der Sequenz mittels definierter Deletion herausgeschnitten wurde, so dass nur inaktivierte oder abgeschwächte Aminodeoxychorismatsynthase oder Aminodeoxychorismatlyase Aktivität resultieren kann. Die pabAB und pabC-Gensequenzen werden vorzugsweise aus Mikroorganismen der Gattung Corynebacterium oder Brevibacterium isoliert. Beispielhaft seien hier einige näher spezifizierte Mikroorganismen aufgeführt:

Corynebacterium glutamicum ATCC13032,  
 Corynebacterium acetoglutamicum ATCC15806,  
 Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870,  
 Corynebacterium thermoaminogenes FERN BP-1539,  
 Brevibacterium flavum ATCC14067,  
 Brevibacterium lactofermentum ATCC13869 oder  
 Brevibacterium divaricatum ATCC14020.

Beispiel 1:

#### Konstruktion des Plasmids pK19mobsacBDpabAB

**[0044]** Das pabAB-Gen von C. glutamicum wird nach bekannten Methoden im Chromosom durch ein um 1734 bp verkürztes pabAB-Gen ersetzt (J. Bacteriol. (1997) 179: 6228–37; Gene (1994) 145: 69–73). Zur Konstruktion des für den Genaustausch verwendeten Vektors wurden die nachfolgend angegebenen Primer synthetisiert, die von der öffentlich zugänglichen Genom-Sequenz (NCBI Accession-Nummer YP\_225287; NC\_006958) abgeleitet wurden:

pabAB-del-A

5' - CGGGATCCTCAGGCTCGCACGTTGGAGGG - 3'

pabAB-del-B:

5' - CCCATCCACTAACTTAAACAAAACGTGAAAGAATCATAATT - 3'

pabAB-del-C:

5' - TGTTTAAGTTTAGTGGATGGGGAGTGGGAGGAAATCCGCGTT - 3'

pabAB-del-D:

5' - GTGGATCCGCCCAAAACACCACGGTGGCGT - 3'

**[0045]** Primer pabAB-del-A beginnt 522 bp vor dem Translationsstart und pabAB-del-D 436 bp hinter dem Translationsstop des pabAB-Gens. Der Primer pabAB-del-B liegt 21 bp hinter dem Translationsstart, der primer pabAB-del-C liegt 66 bp vor dem Translationsstop und beide verfügen über jeweils komplementäre Linker-Regionen wie bei Link et al. angegeben (J. Bacteriol. (1997) 179: 6228–37). Parallel wurden mit der Primerkombination pabAB-del-A und pabAB-del-B sowie der Primerkombination pabAB-del-B und pabAB-del-C mit chromosomaler DNA von C. glutamicum ATCC13032 PCR-Amplifikationen durchgeführt. Die PCR-Reaktion wurde in 30 Zyklen in Gegenwart von 200 µM Deoxynukleotidtriphosphaten (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), je 600 nM der entsprechenden Oligonukleotide, 100 ng chromosomaler DNA von Corynebacterium glutamicum ATCC13032, 1/10 Volumen 10-fach Reaktionspuffer und 2,6 Einheiten einer hitzestabilen Taq-/Pwo-DNA-Polymerase-Mischung (Expand High Fidelity PCR System der Firma Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) in einem Thermocycler (PTC-100, MJ Research, Inc., Watertown, USA) unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

94°C für 30 Sekunden, 50°C für 30 Sekunden und 72°C für 40 Sekunden. Der Elongationsschritt bei 72°C wurde nach 10 Zyklen um 5 Sekunden pro Zyklus verlängert. Nach der PCR-Reaktion wurde das erhaltene 563 bp große Fragment des 5'-flankierenden Bereichs, sowie das 528 bp große Fragment des 3'-flankierenden Bereichs mit dem QIAExII Gelextraktionskit (Qiagen) nach Angaben des Herstellers aus einem 0,8%igen Agarose-Gel isoliert, und beide Fragmente als Template in die zweite PCR mit den Primern pabAB-del-A und pabAB-del-D eingesetzt. Die Amplifikation erfolgte in 35 Zyklen in Gegenwart von 200 µM Deoxynukleotidtriphosphaten, je 600 nM des entsprechenden Oligonukleotids, jeweils 20 ng der isolierten Template-DNA aus der ersten PCR, 1/10 Volumen 10-fach Reaktionspuffer und 2,6 Einheiten der Taq-/Pwo-DNA-Polymerase-Mischung unter folgenden Bedingungen:

94°C für 30 Sekunden, 50°C für 30 Sekunden und 72°C für 80 Sekunden. Der Elongationsschritt wurde nach 10 Zyklen um jeweils 5 Sekunden verlängert. Nach der PCR-Reaktion wurde das erhaltene 1122 bp lange DNA-Fragment, das nun das inaktivierte pabAB-Gen mit einer 1734 bp langen zentralen Deletion beinhaltet, aus einem 0,8%igen Agarose-Gel isoliert, und in den Vektor pK19mobsacB kloniert (Gene 145: 69–73 (1994)). Das daraus resultierende Plasmid pK19mobsacBDpabAB ([Fig. 1](#)) wurde durch Sequenzierung auf seine Richtigkeit bestätigt.

#### Beispiel 2:

##### Konstruktion des Plasmids pK19mobsacBDpabC

**[0046]** Analog zu der in Beispiel 1 beschriebenen Vorgehensweise wurde zur Deletion des pabC-Gens von *C. glutamicum* der für den Genaustausch geeignete Vektor pK19mobsacBDpabC konstruiert. Die dazu erforderlichen Primer zur PCR-Amplifikation wurden wiederum von der öffentlich zugänglichen Genom-Sequenz (NCBI Accession-Nummer YP\_225288.1; NC\_006958) abgeleitet. Sie sind nachfolgend angegeben:

pabC-del-A:

5' -GAGGATCCAATCATTGCTGAGCTGCGCAG-3'

pabC-del-B:

5' -CCCATCCACTAAACTTAAACAATCAACAACCTGTGGGTGTTGA-3'

pabC-del-C:

5' -TGTTTAAGTTTAGTGATGGGTCGGTGAAGCCCTGGAATGAA-3'

pabC-del-D:

5' -AGGGATCCGTGATGAGTCCGATCTCGGAA-3'

**[0047]** Primer pabC-del-A beginnt 500 bp vor dem Translationsstart und pabC-del-D 500 bp hinter dem Translationsstop des pabC-Gens. Die Primer pabC-del-B liegt 51 bp hinter dem Translationsstart und pabC-del-C 48 bp vor dem Translationsstop. Die letzten zwei Primer verfügen jeweils über komplementäre Linker-Regionen. Parallel wurde mit der Primerkombination pabC-del-A und pabC-del-B ein 602 bp großer 5'-flankierender Bereich sowie mit der Primerkombination pabC-del-C und pabC-del-D ein 597 bp großer 3' flankierender Bereich des zu deletierenden Fragments amplifiziert. Die PCR-Reaktion wurde nach den Standardverfahren, wie beispielsweise in Beispiel 1 mit chromosomaler DNA von *C. glutamicum* ATCC13032, durchgeführt. Nach der PCR-Reaktion wurden die erhaltenen DNA-Fragmente mit dem QIAExII Gelextraktionskit (Qiagen) isoliert und beide Fragmente als Template in einer weiteren PCR eingesetzt. Als Primer wurden pabC-del-A und pabC-del-D eingesetzt. Die PCR-Reaktion wurde nach den Standardverfahren wie beispielsweise in Beispiel 1 mit chromosomaler DNA von *C. glutamicum* ATCC13032 durchgeführt. Nach der PCR-Reaktion wurde das erhaltene 1178 bp lange DNA-Fragment, das nun das inaktivierte pabC-Gen mit einer 585 bp langen zentralen Deletion beinhaltet, aus einem 0,89%igen Agarose-Gel isoliert und mit dem Vektor pK19mobsacB ligiert (Schäfer et al. Gene 145: 69–73 (1994)). Mit dem Ligationsansatz wurde der *Escherichia coli* Stamm DH5amcr (Grant et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America USA (1990) 87: 4645–4649) transformiert. Das erhaltene Plasmid pK19mobsacBDpabC ([Fig. 2](#)) wurde durch Restriktionsverdau und Sequenzierung auf seine Richtigkeit überprüft.



## Beispiel 3:

## Konstruktion des Plasmids pK19mobsacBDpabABC

**[0048]** Analog zu der in Beispiel 1 beschriebenen Vorgehensweise wurde zur Deletion des pabABC-Gens von *C. glutamicum* der für den Genaustausch geeignete Vektor pK19mobsacBDpabABC konstruiert. Die dazu erforderlichen Primer zur PCR-Amplifikation, abgeleitet von der öffentlich zugänglichen Genom-Sequenz (NCBI Accession-Nummer YP 225287; YP 225288.1; NC 006958), sind nachfolgend angegebenen:

pabABC-del-A:

5' - CGGGATCCTCAGGCTCGCACGTTGGAGGG - 3'

pabABC-del-B:

5' - CCCATCCACTAACTTAAACAAAACGTGAAAGAATCATAATT - 3'

pabABC-del-C:

5' - TGTTTAAGTTTAGTGGATGGGTCGGTGAAGCCCTGGAATGAA - 3'

pabABC-del-D:

5' - AGGGATCCGTGATGAGTCCGATCTCGGAA - 3'

**[0049]** Primer pabABC-del-A beginnt 500 bp vor dem Translationsstart und pabABC-del-D 500 bp hinter dem Translationsstop des pabABC-Gens. Primer pabABC-del-B liegt 51 bp hinter dem Translationsstart von pabAB und pabABC-del-C 48 bp vor dem Translationsstop von pabC. Die letztgenannten zwei Primer verfügen jeweils über komplementäre Linker-Regionen. Parallel wurde mit der Primerkombination pabABC-del-A und pabABC-del-B ein 593 bp großer 5'-flankierender Bereich sowie mit der Primerkombination pabABC-del-C und pabABC-del-D ein 597 bp großer 3' flankierender Bereich des zu deletierenden Fragments amplifiziert. Die PCR-Reaktion wurde nach den Standardverfahren wie beispielsweise in Beispiel 1 mit chromosomaler DNA von *C. glutamicum* ATCC13032 durchgeführt. Nach der PCR-Reaktion wurden die erhaltenen DNA-Fragmente mit dem QIAEXII Gelextraktionskit (Qiagen) isoliert, und beide Fragmente als Template in einer weiteren PCR eingesetzt. Als Primer wurden die Primer pabABC-del-A und pabABC-del-D eingesetzt. Die PCR-Reaktion wurde nach den Standardverfahren wie beispielsweise in Beispiel 1 mit chromosomaler DNA von *C. glutamicum* ATCC13032 durchgeführt. Nach der PCR-Reaktion wurde das erhaltene 1169 bp lange DNA-Fragment, das das inaktivierte pabABC-Gen mit einer 2475 bp langen zentralen Deletion beinhaltet aus einem 0,8%igen Agarose-Gel isoliert und mit dem Vektor pK19mobsacB ligiert (Schäfer et al. *Gene* 145: 69–73 (1994)). Mit dem Ligationsansatz wurde der *Escherichia coli* Stamm DH5 $\alpha$ mc $\alpha$  (Grant et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America USA* (1990) 87: 4645–4649) transformiert. Das erhaltene Plasmid pK19mobsacBDpabC ([Fig. 3](#)) wurde durch Restriktionsverdau und Sequenzierung auf seine Richtigkeit überprüft.

## Beispiel 4:

Konstruktion der Folsäure auxotrophen Stämme *C. glutamicum*  
DsdADpabAB, *C. glutamicum* DsdADpabC, *C. glutamicum* DsdADpabABC.

**[0050]** Mittels Elektroporation wurde das Plasmid pK19mobsacBDpabAB, bzw. pK19mobsacBDpabC und pK19mobsacBDpabABC in *C. glutamicum* DsdA der in der Patentanmeldung PCT/DE2004/000248 beschrieben ist eingebracht und auf Kanamycin-Resistenz selektioniert. Nur solche Klone, bei denen das Plasmid über homologe Rekombination in das Chromosom integriert war, waren Kanamycin-resistent. Es wurde jeweils ein Klon ausgewählt, der nach Überprüfung die durch das Plasmid vermittelte Saccharose-Sensitivität zeigte (*Gene* (1994) 145: 69–73). Dieser wurde in 50 ml BHI-Medium (Brain-Heart-Infusion-Medium, Difco Laboratories, Detroit, USA) ohne Kanamycin und Saccharose kultiviert. Anschließend wurden je 100  $\mu$ l einer 10<sup>-2</sup>-, 10<sup>-3</sup>- bzw. 10<sup>-4</sup>-fachen Verdünnung der Kultur auf BHIS-Platten (BHI-Medium mit 0,5 M Sorbitol) mit 10% (w/v) Saccharose ausplattiert (FEMS Microbiol Lett. (1989) 53: 299–303). Die erhaltenen Saccharose resistenten Klone wurden dann auf Kanamycin-Sensitivität überprüft und über PCR-Analyse verifiziert. Dabei wurden folgende Primerkombinationen verwendet:



## Deletion von pabAB:

pabAB-del-pr-u2 5' -TGGCTCACTTCGCTGGTCTTGTTG-3'

pabAB-del-pr-l2 5' -GAATGGTTGCGGCGAGTGTC-3'

## Deletion von pabC:

pabC-del-pr-u2 5' -GTTGGGGGAGCAGGACGAGTGGT-3'

pabC-del-pr-l2 5' -TACGCGCATCTGGAAGCCTGGTTA-3'

## Deletion von pabABC:

pabABC-del-pr-u2 5' -CGTTCCGGCATCATTCTGGCTAAG-3'

pabABC-del-pr-l2 5' -GCGACTCCGGGTTGTTCTGATAA-3'

**[0051]** Die erfolgreiche Deletion ergab für den pabAB Genort eine Bande von 1426 bp, für den pabC Genort eine Bande von 1663 bp und für den pabABC Genort eine Bande von 1447 bp. Auf diese Weise konnten vom Ausgangsstamm Klone erhalten werden, die jeweils über spezifische Deletionen in Genen der Folsäuresynthese verfügen.

**[0052]** Diese Stämme wurden als *C. glutamicum* DsdaADpabAB, *C. glutamicum* DsdaADpabC, bzw. *C. glutamicum* DsdaADpabABC bezeichnet.

**[0053]** Diese drei Stämme wurden auf dem Minimalmedium CGXIT (J Bacteriol. (1993) 175: 5595–603) aufplattiert, sowie auf identischem Medium, das 1 mM Folsäure enthielt. Das Ergebnis ist in Tabelle 1 gezeigt.

Tabelle 1:

Folsäurebedürftigkeit der hergestellten Mutanten von *Corynebacterium glutamicum*.

	Wachstum			
Folsäure	<i>C. glu.</i> DsdaA	<i>C. glu.</i> DsdaADpabAB	<i>C. glu.</i> DsdaADpabC	<i>C. glu.</i> DsdaADpabABC
0 mM	+	–	–	–
1 mM	+	+	+	+

Beispiel 5:

**[0054]** Konstruktion und L-Serinbildung des Stammes *C. glutamicum* DsdaADpabAB pserABC.

**[0055]** Mittels Elektroporation wurde das Plasmid pEC-T18mob2-serAfrserCserB in den Stamm *C. glutamicum* DsdaADpabAB eingebracht. Das Plasmid (Fig. 4) setzt sich zusammen aus dem Vektor pEC-T18mob2 (Curr. Microbiol. (2002) 45, 362–367), den corynebakteriellen Genen serAfr (Appl Microbiol Biotechnol. (2002) 60: 437–41) sowie serC und serB (Deutsche Patentanmeldung 100 44 831.3). Tetracycline resistente Klone wurden mittels bekannter Standardverfahren auf Anwesenheit und Integrität des Plasmids pEC-T18mob2-serAfrserCserB geprüft (Sambrook et al. (1989) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press) und ein Klon als *C. glutamicum* DsdaADpabAB pserABC bezeichnet.

**[0056]** Zur L-Serinbildung wurde der Stamm *C. glutamicum* DsdaADpabAB pserABC in Komplexmedium (CgIII mit 2% Glukose, 5 µg/l Tetracyclin) angezogen und das Fermentationsmedium CGXII (J Bacteriol (1993) 175: 5595–5603) daraus beimpft. Das Fermentationsmedium CGXII enthielt 0,1 oder 1 mM Folsäure. Als Kontrolle wurde der Stamm *C. glutamicum* DsdaA pserABC in gleicher Weise kultiviert. Es wurden je mindestens zwei unabhängige Fermentationen durchgeführt. Nach Kultivierung für 30 Stunden bei 30°C auf dem Rotationschüttler bei 120 Upm wurde die in das Medium akkumulierte L-Serinmenge bestimmt. Die Analyse der Aminosäurekonzentration erfolgte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (J Chromat (1983) 266: 471–482). Das Ergebnis der Fermentation ist in Tabelle 2 dargestellt. Es ist ersichtlich, dass die Nutzung der kon-

struierten und beschriebenen Mutante in der Folsäuresynthese ein Verfahren darstellt, um die L-Serinbildung entscheidend zu verbessern.

Tabelle 2:

Akkumulation von L-Serin im Kulturüberstand von *C. glutamicum* DsdaADpabAB pserABC und *C. glutamicum* DsdaA pserABC.

Folsäure (mM)	Stamm	L-Serin (mM)
0,01	<i>C. glutamicum</i> DsdaADpabAB pserABC	49
0,1	<i>C. glutamicum</i> DsdaADpabAB pserABC	89
1,0	<i>C. glutamicum</i> DsdaADpabAB pserABC	2
0,01	<i>C. glutamicum</i> DsdaA pserABC	2
0,1	<i>C. glutamicum</i> DsdaA pserABC	1
1,0	<i>C. glutamicum</i> DsdaA pserABC	1

Beispiel 6:

Konstruktion und L-Serinbildung des Stammes *C. glutamicum* DpykDsdaADpabAB pserABC.

**[0057]** Mittels Elektroporation wurde das Plasmid pK19mobsacBDpyk (Arch Microbiol. (2004) 182: 354–63) in den Stamm *C. glutamicum* 13032DsdaADpabABC eingebracht und auf Kanamycin-Resistenz selektioniert. Nur solche Klone, bei denen das Plasmid über homologe Rekombination in den chromosomalen pyk-Genlokus integriert war, waren Kanamycin-resistent. Es wurde ein Klon ausgewählt, der nach Überprüfung die durch das Plasmid vermittelte Saccharose-Sensitivität zeigte und in 50 ml BHI-Medium (Brain-Heart-Infusion-Medium, Difco Laboratories, Detroit, USA) ohne Kanamycin und Saccharose kultiviert. Anschließend wurden je 100 µl einer 10-2, 10-3- bzw. 10-4-fachen Verdünnung der Kultur auf BHIS-Platten (BHI-Medium mit 0,5 M Sorbitol) mit 10% (w/v) Saccharose ausplattiert. Die erhaltenen Saccharose resistenten Klone wurden dann auf Kanamycin-Sensitivität überprüft und über PCR-Analyse die erfolgreiche Deletion verifiziert. Auf diese Weise konnte vom Ausgangsstamm der Stamm *C. glutamicum* DpykDsdaADpabAB erhalten werden. Dieser Stamm wurde, wie in Beispiel 5 beschrieben, mit pEC-T18mob2-serAfrserCserB transformiert und es wurde dadurch der Stamm *C. glutamicum* DpykDsdaADpabAB pserABC erhalten. Dieser Stamm wurde, wie in Beispiel 5 beschrieben, zur L-Serinbildung im Vergleich mit *C. glutamicum* DsdaADpabAB pserABC herangezogen. Das Ergebnis ist in Tabelle 3 gezeigt.

Tabelle 3:

Akkumulation von L-Serin im Kulturüberstand von *C. glutamicum* DpykDsdaADpabAB pserABC und *C. glutamicum* DsdaADpabAB pserABC.

Folsäure (mM)	Stamm	L-Serin (mM)
0,1	<i>C. glutamicum</i> DsdaADpabAB pserABC	89
0,1	<i>C. glutamicum</i> DpykDsdaADpabAB pserABC	98
1,0	<i>C. glutamicum</i> DpykDsdaADpabAB pserABC	2

## Application Project

-----  
 <120> Title : Verfahren zur Herstellung von L-Serin, Gensequenz, Vektoren sowie Mikroorganismen  
 <130> AppFileReference : PT1.2240  
 <140> CurrentAppNumber :  
 <141> CurrentFilingDate : \_\_\_\_-\_\_\_\_-\_\_\_\_

## Sequence

-----  
 <213> OrganismName : Corynebakterium glutamicum  
 <400> PreSequenceString :  
 cgggatcctc aggctcgcac gttggagggg gctcgcattc ttgctgagcg tctgactgct 60  
 tctgatgcga aggccgctgg cgtggatgtc ttgaccggtg gcactgatgt gcacttggtt 120  
 ttggctgata tgcgtaactc ccagatggat ggccagcagg cggaagatct gctgcacgag 180  
 gttggatatca ctgtgaaccg taacgcgggt cctttcgcac ctcgtccacc aatgggttact 240  
 tctggtctgc gtattggtac tcctgcgctg gctacccgtg gtttcgatat tcctgcattc 300  
 actgagggtg cagacatcat tggtagctg ttggctaata gtaagtccgc agacattgag 360  
 tctctgcgtg gccgtgtagc aaagcttgct gcagattacc cactgtatga gggcttgaa 420  
 gactggacca tcgtctaagt ttttctttga gttttcatat gtagaaggca tcgtcggctt 480  
 cggcctggcg gtgcttttct cgttggtttg tggttttgtc agaggatgtc atgcgcgttt 540  
 taattattga taattatgat tctttcacgt tttgtttaag tttagtggat ggggagtggg 600  
 aggaaatccg cgttaaataca cggcctctgc tgaatttggt tgggggtgaa ttcccatgac 660  
 gtacctcgtg tgggacggtg caacactcgt agaaggcgcg ctggaatcaa caccacagt 720  
 tgttgattcc tacctagcca aagaccaccg cgtggtgcgc tgggatcttc atgaacagcg 780  
 cttcgccact agcgtggagc tggaccgctg ggattttctc cacgcagtaa gggaagcaat 840  
 tccacgccag ggctcatggt ttcccaaagt tgaatggcat ggcgatgac ttttcgcagt 900  
 caatattcgc ccggcaccaa cactgcgaaa ggccacatca ttgtggcttt ccgaagaccc 960  
 agatccacgc acacagccaa ccattaaagg ccagaccta gatgtgcttg ctcaccttcg 1020  
 cagtcgcgcc aacgataacg gctgcgatga tgcgctgttg atcagcgcg atgggttcat 1080  
 tctggaagct gccaacgcca ccgtggtggt ttgggcggt cc 1122  
 <212> Type : DNA  
 <211> Length : 1122  
 SequenceName : Sequenz Nr. 1  
 SequenceDescription :

## Custom Codon

-----  
 Sequence Name : Sequenz Nr. 1

## Sequence

-----  
 <213> OrganismName : Corynebakterium glutamicum  
 <400> PreSequenceString :  
 cgataagcta gcttcacgct gccgcaagca ctcagggcgc aagggtgct aaaggaagcg 60  
 gaacacgtag aaagccagtc cgcagaaacg gtgctgacct cgatgaatg tcagctactg 120  
 ggctatctgg acaagggaaa acgcaagcgc aaagagaaag caggtagctt gcagtgggct 180

tacatggcga	tagctagact	gggcggtttt	atggacagca	agcgaaccgg	aattgccagc	240
tggggcgccc	tctggttaagg	ttgggaagcc	ctgcaaagta	aactggatgg	ctttcttgcc	300
gccaaggatc	tgatggcgca	ggggatcaag	atctgatcaa	gagacaggat	gaggatcggt	360
tcgcatgatt	gaacaagatg	gattgcacgc	aggttctccg	gccgcttggg	tggagagget	420
attcggctat	gactgggcac	aacagacaat	cggctgctct	gatgccgccg	tgttccggct	480
gtcagcgcag	gggcgcccgg	ttctttttgt	caagaccgac	ctgtccggtg	ccctgaatga	540
actccaagac	gaggcagcgc	ggctatcgtg	gctggccacg	acgggcgttc	cttgcgcagc	600
tgtgctcgac	gttgctactg	aagcgggaag	ggactggctg	ctattgggcg	aagtgccggg	660
gcaggatctc	ctgtcatctc	accttgctcc	tgccgagaaa	gtatccatca	tggctgatgc	720
aatgcggcgg	ctgcatacgc	ttgatccggc	tacctgcccc	ttcgaccacc	aagcgaaaca	780
tcgcatcgag	cgagcacgta	ctcggatgga	agccggtctt	gtcgatcagg	atgatctgga	840
cgaagagcat	caggggctcg	cgccagccga	actgttcgcc	aggctcaagg	cgcggatgcc	900
cgacggcgag	gatctcgtcg	tgacccatgg	cgatgcctgc	ttgccgaata	tcatggtgga	960
aaatggccgc	ttttctggat	tcatcgactg	tggccggctg	ggtgtggcgg	accgctatca	1020
ggacatagcg	ttggctaccc	gtgatattgc	tgaagagctt	ggcggcgaat	gggctgaccg	1080
cttcctcgtg	ctttacggta	tcgccgctcc	cgattcgag	cgcatcgctt	tctatcgctt	1140
tcttgacgag	ttcttctgag	cgggactctg	gggttcgcta	gaggatcgat	cctttttaac	1200
ccatcacata	tacctgccgt	tcactattat	ttagtgaaat	gagatattat	gatattttct	1260
gaattgtgat	taaaaaggca	actttatgcc	catgcaacag	aaactataaa	aaatacagag	1320
aatgaaaaga	aacagataga	ttttttagtt	ctttaggccc	gtagtctgca	aatcctttta	1380
tgattttcta	tcaaacaaaa	gaggaaaata	gaccagttgc	aatccaaacg	agagtctaata	1440
agaatgaggt	cgaaaagtaa	atcgcgcggg	tttgttactg	ataaagcagg	caagacctaa	1500
aatgtgtaaa	gggcaaagtg	tatacttttg	cgtaaccctt	tacatatttt	aggtcttttt	1560
ttattgtgcg	taactaactt	gccatcttca	aacaggaggg	ctggaagaag	cagaccgcta	1620
acacagtaca	taaaaaagga	gacatgaacg	atgaacatca	aaaagtttgc	aaaacaagca	1680
acagtattaa	cctttactac	cgcactgctg	gcaggaggcg	caactcaagc	gtttgcgaaa	1740
gaaacgaacc	aaaagccata	taaggaaaaca	tacggcattt	cccatattac	acgccatgat	1800
atgctgcaaa	tccctgaaca	gcaaaaaaat	gaaaaatatc	aagtttctga	atttgattcg	1860
tccacaatta	aaaatatctc	ttctgcaaaa	ggcctggacg	tttgggacag	ctggccatta	1920
caaaacgctg	acggcactgt	cgcaaaactat	cacggctacc	acatcgctct	tgcattagcc	1980
ggagatccta	aaaatgcgga	tgacacatcg	atttacatgt	tctatcaaaa	agtcggcgaa	2040
acttctattg	acagctggaa	aaacgctggc	cgcgtcttta	aagacagcga	caaattcgat	2100
gcaaattgatt	ctatcctaaa	agaccaaaca	caagaatggg	caggttcagc	cacatttaca	2160
tctgacggaa	aaatccgttt	attctacact	gatttctccg	gtaaacatta	cggcaaacaa	2220

acactgacaa	ctgcacaagt	taacgtatca	gcatcagaca	gctctttgaa	catcaacggt	2280
gtagaggatt	ataaatcaat	ctttgacggt	gacggaaaaa	cgtatcaaaa	tgtacagcag	2340
ttcatcgatg	aaggcaacta	cagctcaggc	gacaaccata	cgctgagaga	tcctcactac	2400
gtagaagata	aaggccacaa	atacttagta	tttgaagcaa	acactggaac	tgaagatggc	2460
taccaaggcg	aagaatcttt	atttaacaaa	gcatactatg	gcaaaagcac	atcattcttc	2520
cgtcaagaaa	gtcaaaaact	tctgcaaagc	gataaaaaac	gcacggctga	gttagcaaac	2580
ggcgctctcg	gtatgattga	gctaaacgat	gattacacac	tgaaaaaagt	gatgaaaccg	2640
ctgattgcat	ctaacacagt	aacagatgaa	attgaacgcg	cgaacgtctt	taaaatgaac	2700
ggcaaatggt	acctgttcac	tgactcccgc	ggatcaaaaa	tgacgattga	cggcattacg	2760
tctaacgata	tttacetgct	tggttatgtt	tctaattctt	taactggccc	atacaagccg	2820
ctgaacaaaa	ctggccttgt	gttaaaaatg	gatcttgatc	ctaacgatgt	aacctttact	2880
tactcacact	tcgctgtacc	tcaagcgaaa	ggaacaatg	tcgtgattac	aagctatatg	2940
acaaacagag	gattctacgc	agacaaacaa	tcaacgtttg	cgccgagctt	cctgctgaac	3000
atcaaaggca	agaaaacatc	tgttgtcaaa	gacagcatcc	ttgaacaagg	acaattaaca	3060
gttaacaaat	aaaaacgcaa	aagaaaatgc	cgatgggtac	cgagcgaaat	gaccgaccaa	3120
gcgacgccc	acctgccatc	acgagatttc	gattccaccg	ccgccttcta	tgaaagggtg	3180
ggcttcggaa	tcgttttccg	ggacgccctc	gcggacgtgc	tcatagtcca	cgacgcccgt	3240
gattttgtag	ccctggccga	cggccagcag	gtaggccgac	aggctcatgc	cggccgccgc	3300
cgccctttcc	tcaatcgctc	ttcgttcgtc	tggaaggcag	tacaccttga	taggtgggct	3360
gcccttctctg	gttggttgg	tttcatcagc	catccgcttg	ccctcatctg	ttacgccggc	3420
ggtagccggc	cagcctcgca	gagcaggatt	cccgttgagc	accgccaggt	gcgaataagg	3480
gacagtgaag	aaggaacacc	cgctcgcggg	tgggcctact	tcacctatcc	tgccccgctg	3540
acgccgttgg	atacaccaag	gaaagtctac	acgaaccctt	tggcaaaatc	ctgtatatcg	3600
tgcgaaaaag	gatggatata	ccgaaaaaat	cgctataatg	accccgaagc	agggttatgc	3660
agcggaaaaag	cgctgcttcc	ctgctgtttt	gtggaatata	taccgactgg	aaacaggcaa	3720
atgcaggaaa	ttactgaact	gaggggacag	gcgagagacg	atgccaaaga	gctcctgaaa	3780
atctcgataa	ctcaaaaaat	acgcccggta	gtgatcttat	ttcattatgg	tgaaagtgg	3840
aacctcttac	gtgccgatca	acgtctcatt	ttcgccaaaa	gttggcccag	ggcttcccgg	3900
tatcaacagg	gacaccagga	tttattttatt	ctgcgaagtg	atcttccgtc	acaggatttt	3960
attcggcgca	aagtgcgtcg	ggtgatgctg	ccaacttact	gatttagtgt	atgatgggtg	4020
ttttgagggtg	ctccagtggc	ttctgtttct	atcagctcct	gaaaatctcg	ataactcaaa	4080
aaatacgccc	ggtagtgate	ttattttcatt	atgggtgaaag	ttggaacctc	ttacgtgccc	4140
atcaacgtct	catttttcgcc	aaaagttggc	ccagggtctc	ccggtatcaa	cagggacacc	4200
aggattttatt	tattctgcga	agtgatcttc	cgtcacagg	atttattcgg	cgcaaagtgc	4260

gtcgggtgat gctgccaact tactgattta gtgtatgatg gtgtttttga ggtgctccag	4320
tggtttctgt ttctatcagg gctggatgat cctccagcgc ggggatctca tgctggagtt	4380
cttcgcccac cccaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgaccaaaat	4440
cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc	4500
ttcttgagat cttttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct	4560
accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggttaactgg	4620
cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt ctttctagt tagccgtagt taggccacca	4680
cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgtcttg ctaatcctgt taccagtggc	4740
tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga	4800
taaggcgcag cggtcgggct gaacgggggg ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac	4860
gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagcattga gaaagcgcca cgcttcccga	4920
agggagaaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag	4980
ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg	5040
acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc aggggggagg agcctatgga aaaacgccag	5100
caacgcggcc tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc	5160
tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagttag ctgataccgc	5220
tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagttagc gaggaagcgg aagagcggcc	5280
aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcgttg gccgattcat taatgcagct ggcacgacag	5340
gtttcccgac tggaaagcgg gcagttagcg caacgcaatt aatgtgagtt agctcactca	5400
ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcgt atgttggtg gaattgtgag	5460
cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc ttgcatgcct	5520
gcaggctcag tctagaggat ccgccccaaa caccacgggt gcgttggcag cttccagaat	5580
gaacccatcc gcgctgatca acagcgcac atcgcagccg ttatcgttgg cgcgactgcg	5640
aaggtgagca agcacatcta ggtctgggcc tttaatgggt ggctgtgtgc gtggatctgg	5700
gtcttcggaa agccacaatg atgtggcctt tcgcagtgtt ggtgccgggc gaatattgac	5760
tgcgaaaaga tcatcgccat gccattcaac tttgggaaac catgagccct ggcgtggaat	5820
tgcttccctt actgcgtgga gaaaatccca cgggtccacg tccacgctag tggcgaagcg	5880
ctgttcatga agatcccagc gcaccacgcg gtggtctttg gctaggtagg aatcaacaac	5940
tgtgggtggt gattccagcg cgccttctac gagtgttgca ccgtcccaca cgaggtagt	6000
catgggaatt caaccccaaa caaattcagc agaggccgtg atttaacgcg gatttcctcc	6060
cactcccat ccactaaact taaacaaaac gtgaaagaat cataattatc aataattaaa	6120
acgcgcatga catcctctga caaaaccaca aaacaacgag aaaagcaccg ccaggccgaa	6180
gccgacgatg ctttctacat atgaaaactc aaagaaaaac ttagacgatg gtccagtctt	6240
ccaagccctc atacagtggg taatctgcag caagctttgc tacacggcca cgcagagact	6300

```

caatgtctgc ggacttacca ttagccaaag cagtaccaat gatgtctgca acctcagtga 6360
atgcaggaat atcgaaacca cgggtagcca gcgcaggagt accaatacgc agaccagaag 6420
taaccattgg tggacgagga tcgaaaggaa ccgcgttacg gttcacagtg ataccaacct 6480
cgtgcagcag atcttccgcc tgctggccat ccatctggga gttacgcaga tcagccaaaa 6540
ccaagtgcac atcagtgcc a cgggtcaaga catccacgcc agcggccttc gcatcagaag 6600
cagtcagacg ctacgaaga atgcgagcac cctccaacgt gcgagcctga ggatccccgg 6660
gtaccgagct cgaattcact ggccgtcgtt ttacaacgtc gtgactggga aaaccctggc 6720
gttaccacaac ttaatcgctt tgcagcacat ccccttttcg ccagctggcg taatagcgaa 6780
gaggcccgca ccgatcgccc ttccaacag ttgcgcagcc tgaatggcga atggcg 6836

```

```

<212> Type : DNA
<211> Length : 6836
      SequenceName : Sequenz Nr.2
      SequenceDescription :

```

## Custom Codon

Sequence Name : Sequenz Nr.2

## Sequence

```

-----
<213> OrganismName : Corynebakterium glutamicum
<400> PreSequenceString :
gaggatccaa tcattgctga gctgcgcagt aatcctaaag atcgtgcaga aaacttgatg 60
atcgtggatt tgggccgcaa cgacttagcc cgcggcgctt tgcccaccac agttaaaaca 120
tccaagcttt tcgacgtcga aacctacgcc acagtccacc aacttgtcag caccgtctct 180
gcagagttgg ggccacgcag tccgattgag tgcgtgcgcg cagcattccc cgggtggttcg 240
atgactgggtg ccccaaagct gcgcaccatg gagatcatcg atgagctgga ggcagctcct 300
cgcggtatctt actcaggtgg cttgggatat ttttccttcg acggcgagct tgatctctcc 360
atggtgatca gaactctcgt catccagaac aatcacgtgg agtacggagt gggcggtgca 420
cttcttgctc tgtctgatcc ggaggctgag tgggaggaaa tccgcgttaa atcacggcct 480
ctgctgaatt tgtttggggt tgaattccca tgacgtacct cgtgtgggac ggtgcaacac 540
tcgtagaagg cgcgctggaa tcaacacca cagttgttga ttgtttaagt ttagtgagtg 600
ggtcggtgaa gccctggaat gaaaaattgc gcccaaccat ttttctgtga ggaaaagggt 660
gagcgcagtc tttgtgaaga tttagtcttc ggtagtttct tcagtttctt tctttgcggt 720
ttcgcgacct tcagcaagct gtgtgcgtgc ggtgcgcaac cattctggct gggtttccag 780
aagtgccttg atctcggcgg tggtcagtgg tttgtccatg tcgttctttt tcagagccgc 840
gatggtgatg cccaattttt gggcgaccac tggacgaggg tgtgggccct cgcggcgtag 900
ggtttgagc cactccggtg gggtttcctg caggttcttg aactcttggt gagtcaatgc 960
acctgtttgg aactcctctg gcgtggcggg caaaaacagt ccgagcttct tagcggcggt 1020
ctgtggcttc atagccctgc ccgatggctg gcgtacagat tcttcgttca cggccacaac 1080

```



```

ggtagcattg ttttcatgct gaccttaagt ttcactactg gcacggagcc aggaaagtgg 1140
tttaccgat tccgagatcg gactcatcac ggatccct 1178
<212> Type : DNA
<211> Length : 1178
      SequenceName : Sequenz Nr.3
      SequenceDescription :

Custom Codon
-----
Sequence Name : Sequenz Nr.3

Sequence
-----
<213> OrganismName : Corynebakterium glutamicum
<400> PreSequenceString :
cgataagcta gcttcacgct gccgcaagca ctacgggagc aagggtgct aaaggaagcg 60
gaacacgtag aaagccagtc cgcagaaacg gtgctgaccc cggatgaatg tcagctactg 120
ggctatctgg acaagggaaa acgcaagcgc aaagagaaag caggtagctt gcagtgggct 180
tacatggcga tagctagact gggcggtttt atggacagca agcgaaccgg aattgccagc 240
tggggcgccc tctggttaagg ttgggaagcc ctgcaaagta aactggatgg ctttcttgcc 300
gccaaaggatc tgatggcgca ggggatcaag atctgatcaa gagacaggat gaggatcggt 360
tcgcatgatt gaacaagatg gattgcacgc aggttctccg gccgcttggg tggagaggct 420
attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct gatgccgccg tgttccggct 480
gtcagcgcat gggcgcccg tttttttgt caagaccgac ctgtccggtg cctgaatga 540
actccaagac gaggcagcgc ggctatctg gctggccacg acgggcgttc cttgcgcagc 600
tgtgctcgac gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg ctattgggcg aagtgccggg 660
gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa gtatccatca tggctgatgc 720
aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgccc aatcgaccac aagcgaacaa 780
tcgcatcgag cgagcacgta ctccgatgga agccggtctt gtcgatcagg atgatctgga 840
cgaagagcat caggggctcg cgccagccga actgttcgcc aggtcaagg cgcggatgcc 900
cgacggcgag gatctcgtcg tgacccatgg cgatgcctgc ttgccgaata tcatggtgga 960
aaatggccgc ttttctggat tcatcgactg tggccggctg ggtgtggcgg accgctatca 1020
ggacatagcg ttggctaccc gtgatattgc tgaagagctt ggcggcgaat gggctgaccg 1080
cttcctcgtg ctttacggta tcgccgctcc cgattcgcag cgcacgcct tctatgcct 1140
tcttgacgag ttcttctgag cgggactctg gggttcgcta gaggatcgat cttttttaac 1200
ccatcacata tacctgccgt tcaactattat ttagtgaaat gagatattat gatattttct 1260
gaattgtgat taaaaaggca actttatgcc catgcaacag aaactataaa aaatacagag 1320
aatgaaaaga aacagataga ttttttagtt ctttagggcc gtagtctgca aatcctttta 1380
tgattttcta tcaaacaaaa gagggaaata gaccagttgc aatccaaacg agagtcta 1440
agaatgaggt cgaaaagtaa atcgcgcggg tttgttactg ataaagcagg caagacctaa 1500
aatgtgtaaa gggcaaagtg tatactttgg cgtcaccctt tacatatttt aggtcttttt 1560

```

ttattgtgcg	taactaactt	gccatcttca	aacaggaggg	ctggaagaag	cagaccgcta	1620
acacagtaca	taaaaaagga	gacatgaacg	atgaacatca	aaaagtttgc	aaaacaagca	1680
acagtattaa	cctttactac	cgactgctg	gcaggaggcg	caactcaagc	gtttgcgaaa	1740
gaaacgaacc	aaaagccata	taaggaaaca	tacggcattt	cccatattac	acgccatgat	1800
atgctgcaaa	tccctgaaca	gcaaaaaaat	gaaaaatatc	aagtttctga	atttgattcg	1860
tccacaatta	aaaatatctc	ttctgcaaaa	ggcctggacg	tttgggacag	ctggccatta	1920
caaaacgctg	acggcactgt	cgcaactat	cacggctacc	acatcgtctt	tgcattagcc	1980
ggagatccta	aaaatgcgga	tgacacatcg	atttacatgt	tctatcaaaa	agtcggcgaa	2040
acttctattg	acagctggaa	aaacgctggc	cgctcttta	aagacagcga	caaattcgat	2100
gcaaatgatt	ctatcctaaa	agaccaaaca	caagaatggt	caggttcagc	cacatttaca	2160
tctgacggaa	aatccgttt	attctacact	gatttctccg	gtaaacatta	cggcaaacaa	2220
acactgacaa	ctgcacaagt	taacgtatca	gcacagaca	gctctttgaa	catcaacggt	2280
gtagaggatt	ataaatcaat	ctttgacggt	gacggaaaaa	cgtatcaaaa	tgtacagcag	2340
ttcatcgatg	aaggcaacta	cagctcaggc	gacaaccata	cgctgagaga	tcctcactac	2400
gtagaagata	aaggccacaa	atacttagta	tttgaagcaa	acactggaac	tgaagatggc	2460
taccaaggcg	aagaatcttt	atttaacaaa	gcatactatg	gcaaaagcac	atcattcttc	2520
cgtaagaaa	gtcaaaaact	tctgcaaagc	gataaaaaac	gcacggctga	gttagcaaac	2580
ggcgctctcg	gtatgattga	gctaaacgat	gattacacac	tgaaaaaagt	gatgaaaccg	2640
ctgattgcat	ctaacacagt	aacagatgaa	attgaacgcg	cgaacgtctt	taaaatgaac	2700
ggcaaatggt	acctgttcac	tgactcccgc	ggatcaaaaa	tgacgattga	cggcattacg	2760
tctaacgata	tttacatgct	tggttatggt	tctaattctt	taactggccc	atacaagccg	2820
ctgaacaaaa	ctggccttgt	gttaaaaatg	gatcttgatc	ctaacgatgt	aacctttact	2880
tactcacact	tcgctgtacc	tcaagcgaaa	ggaaacaatg	tcgtgattac	aagctatatg	2940
acaaacagag	gattctacgc	agacaaacaa	tcaacgtttg	cgccgagctt	cctgctgaac	3000
atcaaaggca	agaaaacatc	tgttgtcaaa	gacagcatcc	ttgaacaagg	acaattaaca	3060
gttaacaaat	aaaaacgcaa	aagaaaatgc	cgatgggtac	cgagcgaaat	gaccgaccaa	3120
gcgacgcca	acctgccatc	acgagatttc	gattccaccg	ccgccttcta	tgaaaggttg	3180
ggcttcggaa	tcgttttccg	ggacgccctc	gcggacgtgc	tcatagtcca	cgacgcccgt	3240
gattttgtag	ccctggccga	cggccagcag	gtaggccgac	aggctcatgc	cggccgccgc	3300
cgctttttcc	tcaatcgctc	ttcgttcgtc	tggaaaggcag	tacaccttga	taggtgggct	3360
gcccttctctg	gttggtttgg	tttcatcagc	catccgcttg	ccctcatctg	ttacgccggc	3420
ggtagccggc	cagcctcgca	gagcaggatt	cccgttgagc	accgccaggt	gcgaataagg	3480
gacagtgaag	aaggaacacc	cgctcgcggg	tgggcctact	tcacctatcc	tgccccgctg	3540
acgccgttgg	atacaccaag	gaaagtctac	acgaaccctt	tggcaaaatc	ctgtatatcg	3600

tgcgaaaaag gatggatata ccgaaaaaat cgctataatg accccgaagc agggttatgc	3660
agcggaaaaag cgctgcttcc ctgctgtttt gtggaatata taccgactgg aaacaggcaa	3720
atgcaggaaa ttactgaact gaggggacag gcgagagacg atgccaaaga gctcctgaaa	3780
atctcgataa ctcaaaaaat acgcccggta gtgatcttat ttcattatgg tgaaagttgg	3840
aacctcttac gtgccgatca acgtctcatt ttcgccaaaa gttggcccag ggcttcccgg	3900
tatcaacagg gacaccagga tttattttatt ctgcgaagtg atcttccgtc acagggtattt	3960
attcggcgca aagtgcgtcg ggtgatgctg ccaacttact gatttagtgt atgatggtgt	4020
ttttgaggtg ctccagtggc ttctgtttct atcagctcct gaaaatctcg ataactcaaa	4080
aaatacgccc ggtagtgatc ttatttcatt atggtgaaag ttggaacctc ttacgtgccg	4140
atcaacgtct cattttcgcc aaaagttggc ccagggttc ccggtatcaa cagggaaccc	4200
aggatttatt tattctgcga agtgatcttc cgtcacagggt atttattcgg cgcaaagtgc	4260
gtcgggtgat gctgccaaact tactgattta gtgtatgatg gtgtttttga ggtgctccag	4320
tggcttctgt ttctatcagg gctggatgat cctccagcgc ggggatctca tgctggagtt	4380
cttcgcccac cccaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgaccaaaat	4440
cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc	4500
ttcttgagat cttttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct	4560
accagcgggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggtaactgg	4620
cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt ctttctagtg tagccgtagt taggccacca	4680
cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt taccagtggc	4740
tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga	4800
taaggcgcag cggtcgggct gaacggggggg ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac	4860
gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagcattga gaaagcgcca cgcttcccga	4920
agggagaaaag gcggacaggt atccggtgag cggcaggggtc ggaacaggag agcgcacgag	4980
ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg	5040
acttgagcgt cgattttttgt gatgctcgtc agggggggcgg agcctatgga aaaacgccag	5100
caacgcggcc tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc	5160
tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagtgag ctgataccgc	5220
tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg aagagcgccc	5280
aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcgttg gccgattcat taatgcagct ggcacgacag	5340
gtttcccgaac tggaaagcgg gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt agctcactca	5400
ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcgt atgttggtg gaattgtgag	5460
cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaaagc ttgcatgcct	5520
gcaggtcgac tctagaggat ccaatcattg ctgagctgcg cagtaatcct aaagatcgtg	5580
cagaaaactt gatgatcgtg gatttggtcc gcaacgactt agcccgcggc gctttgcca	5640

```

ccacagttaa aacatccaag cttttcgacg tcgaaaccta cgccacagtc caccaacttg 5700
tcagcaccgt ctctgcagag ttggggccac gcagtccgat tgagtgcgtg cgcgcagcat 5760
tccccggtgg ttcatgact ggtgccccaa agctgcgcac catggagatc atcgatgagc 5820
tggaggcagc tcctcgcggt atttactcag gtggcttggg atatttttcc ctcgacggcg 5880
cagttgatct ctccatgggtg atcagaactc tcgtcatcca gaacaatcac gtggagtacg 5940
gagtggggcg tgcaacttctt gctctgtctg atccggaggc tgagtgggag gaaatccgcg 6000
ttaaatcacg gcctctgctg aatttgtttg gggttgaatt cccatgacgt acctcgtgtg 6060
ggacggtgca acactcgtag aaggcgcgct ggaatcaaca cccacagttg ttgattgttt 6120
aagtttagtg gatgggtcgg tgaagccctg gaatgaaaaa ttgcgccccaa ccatttttct 6180
gtgaggaaaa ggttgagcgc agtctttgtg aagatttagt cttcggtagt ttcttcagtt 6240
tctttctttg cggtttcgcg accttcagca agctgtgtgc gtgcggtgcg caaccattct 6300
ggctgggttt ccagaagtgc cttgatctcg gcggtggtca gtggtttgtc catgtcgttc 6360
tttttcagag ccgcgatggt gatgcccaat ttttgggcga ccactggacg aggggtgtgg 6420
ccctcgcggc gtagggtttg gagccactcc ggtgggtttt cctgcaggtt cttgaactct 6480
tggtgagtca atgcacctgt ttggaactcc tctggcgtgg cgggcaaaaa cagtccgagc 6540
ttcttagcgg cggctctgtg cttcatagcc ctgcccgatg gctggcgtac agattcttcg 6600
ttcacgcca caacggtagc attgttttca tgctgacctt aagtttcatc actggcacgg 6660
agccaggaaa gtggtttacc cgattccgag atcggactca tcacggatcc ccgggtaccg 6720
agctcgaatt cactggccgt cgttttacaa cgctcgtgact gggaaaacc tggcgttacc 6780
caacttaatc gccttgacg acatccccct ttcgccagct ggcgtaatag cgaagaggcc 6840
cgcaccgatc gcccttccca acagttgcgc agcctgaatg gcgaatggcg 6890

```

<212> Type : DNA

<211> Length : 6890

SequenceName : Sequenz Nr.4

SequenceDescription :

Custom Codon

Sequence Name : Sequenz Nr.4

Sequence

<213> OrganismName : Corynebakterium glutamicum

<400> PreSequenceString :

```

cgggatcctc aggtcgcac gttggagggt gctcgattc ttgctgagcg tctgactgct 60
tctgatgca aggccgctgg cgtggatgtc ttgaccggtg gcactgatgt gcacttgggt 120
ttggctgatc tgcgtaactc ccagatggat ggccagcagg cggaagatct gctgcacgag 180
gttggtatca ctgtgaaccg taacgcggtt ctttcgatc ctcgtccacc aatgggttact 240
tctggctctgc gtattggtag tcctgcgctg gctaccggtg gtttcgatat tcctgcattc 300
actgaggttg cagacatcat tggtagtctg ttggctaata gtaagtccgc agacattgag 360
tctctgcgtg gccgtgtagc aaagcttgct gcagattacc cactgtatga gggcttggaa 420

```

```

gactggacca tcgtctaagt ttttctttga gttttcatat gtagaaggca tcgtcggctt 480
cggcctggcg gtgcttttct cgttgttttg tggttttgtc agaggatgtc atgcgcgctt 540
taattattga taattatgat tctttcacgt tttgtttaag tttagtggat gggtcggtga 600
agccctggaa tgaaaaattg cgcccaacca tttttctgtg aggaaaagggt tgagcgcagt 660
ctttgtgaag atttagtctt cggtagtttc ttcagtttct ttctttgcgg ttctgcgacc 720
ttcagcaagc tgtgtgcgtg cggtagcga ccattctggc tggttttcca gaagtgcctt 780
gatctcggcg gtggtcagtg gtttgtccat gtcgttcttt ttcagagccg cgatggtgat 840
gccaattttt tgggcgacca ctggacgagg gtgtgggccc tcgcggcgta gggtttgag 900
ccactccggt gggttttcct gcaggttctt gaactcttgg tgagtcaatg cacctgtttg 960
gaactcctct ggcgtggcgg gcaaaaacag tccgagcttc ttagcggcgg tctgtggctt 1020
catagccctg cccgatggct ggcgtacaga ttcttcgttc acgcccacaa cggtagcatt 1080
gttttcatgc tgaccttaag tttcatcact ggcacggagc caggaaagtg gtttaccgga 1140
ttccgagatc ggactcatca cggatccct 1169

```

<212> Type : DNA

<211> Length : 1169

SequenceName : Sequenz Nr.5

SequenceDescription :

Custom Codon

-----

Sequence Name : Sequenz Nr.5

Sequence

-----

<213> OrganismName : Corynebakterium glutamicum

<400> PreSequenceString :

```

cgataagcta gcttcacgct gccgcaagca ctacgggcgc aagggtgct aaaggaagcg 60
gaacacgtag aaagccagtc cgcagaaacg gtgctgaccc cggatgaatg tcagctactg 120
ggctatctgg acaagggaaa acgcaagcgc aaagagaaag caggtagctt gcagtgggct 180
tacatggcga tagctagact gggcggtttt atggacagca agcgaaccgg aattgccagc 240
tggggcgccc tctggtaagg ttgggaagcc ctgcaaagta aactggatgg ctttcttgcc 300
gccaaggatc tgatggcgca ggggatcaag atctgatcaa gagacaggat gaggatcggt 360
tcgcatgatt gaacaagatg gattgcacgc aggttcttcg gccgcttggg tggagaggct 420
attcggctat gactgggcac aacagacaat cggctgctct gatgccgccg tgttccggct 480
gtcagcgcag gggcgcccgg ttctttttgt caagaccgac ctgtccggtg ccctgaatga 540
actccaagac gaggcagcgc ggctatcgtg gctggccacg acgggcgttc cttgcgcagc 600
tgtgctcgac gttgtcactg aagcgggaag ggactggctg ctattgggcg aagtgccggg 660
gcaggatctc ctgtcatctc accttgctcc tgccgagaaa gtatccatca tggctgatgc 720
aatgcggcgg ctgcatacgc ttgatccggc tacctgcccc ttcgaccacc aagcgaaaca 780
tcgcatcgag cgagcacgta ctcggatgga agccggtctt gtcgatcagg atgatctgga 840
cgaagagcat caggggctcg cgccagccga actgttcgcc aggctcaagg cgcggatgcc 900

```

cgacggcgag gatctcgtcg tgacccatgg cgatgcctgc ttgccgaata tcatggtgga	960
aaatggccgc ttttctggat tcatcgactg tggccggctg ggtgtggcgg accgctatca	1020
ggacatagcg ttggctaccc gtgatattgc tgaagagctt ggcggcgaat gggctgaccg	1080
cttcctcgtg ctttacggta tcgccgctcc cgattcgcag cgcatcgctt tctatcgctt	1140
tcttgacgag ttcttctgag cgggactctg gggttcgcta gaggatcgat cttttttaac	1200
ccatcacata tacctgccgt tcactattat ttagtgaaat gagatattat gatattttct	1260
gaattgtgat taaaaaggca actttatgcc catgcaacag aaactataaa aaatacagag	1320
aatgaaaaga aacagataga ttttttagtt ctttaggccc gtagtctgca aatcctttta	1380
tgaattttcta tcaaacaaaa gaggaaaata gaccagttgc aatccaaacg agagtcta	1440
agaatgaggt cgaaaagtaa atcgcgcggg tttgttactg ataaagcagg caagacctaa	1500
aatgtgtaaa gggcaaagtg tatacttttg cgtcacccct tacatatttt aggtcttttt	1560
ttattgtgcy taactaactt gccatcttca aacaggaggg ctggaagaag cagaccgcta	1620
acacagtaca taaaaagga gacatgaacg atgaacatca aaaagtttgc aaaacaagca	1680
acagtattaa cttttactac cgcactgctg gcaggaggcg caactcaagc gtttgcgaaa	1740
gaaacgaacc aaaagccata taaggaaaca tacggcattt cccatattac acgccatgat	1800
atgctgcaaa tccctgaaca gcaaaaaaat gaaaaatatt aagtttctga atttgattcg	1860
tccacaatta aaaatatctc ttctgcaaaa ggcctggacg tttgggacag ctggccatta	1920
caaaacgctg acggcactgt cgcaaaactat cacggctacc acatcgctct tgcattagcc	1980
ggagatccta aaaatgcgga tgacacatcg atttacatgt tctatcaaaa agtcggcgaa	2040
acttctattg acagctggaa aaacgctggc cgcgtcttta aagacagcga caaattcgat	2100
gcaaatgatt ctatcctaaa agaccaaaca caagaatggt caggttcagc cacatttaca	2160
tctgacggaa aaatccgttt attctacact gatttctccg gtaaacatta cggcaaacaa	2220
acactgacaa ctgcacaagt taacgtatca gcatcagaca gctctttgaa catcaacggt	2280
gtagaggatt ataaatcaat ctttgacggt gacggaaaaa cgtatcaaaa tgtacagcag	2340
ttcatcgatg aaggcaacta cagctcaggc gacaaccata cgctgagaga tcctcactac	2400
gtagaagata aaggccacaa atacttagta tttgaagcaa aacttggaac tgaagatggc	2460
taccaaggcg aagaatcttt atttaacaaa gcatactatg gcaaaagcac atcattcttc	2520
cgtcaagaaa gtcaaaaact tctgcaaagc gataaaaaac gcacggctga gttagcaaac	2580
ggcgtctctg gtatgattga gctaaacgat gattacacac tgaaaaaagt gatgaaaccg	2640
ctgattgcat ctaacacagt aacagatgaa attgaacgcy cgaacgtctt taaaatgaac	2700
ggcaaatggg acctgttcac tgactccgc ggatcaaaaa tgacgattga cggcattacg	2760
tctaacgata ttacatgct tggttatgtt tctaattctt taactggccc atacaagccg	2820
ctgaacaaaa ctggccttgt gttaaaaatg gatcttgatc ctaacgatgt aacctttact	2880
tactcacact tcgctgtacc tcaagcgaaa ggaaacaatg tcgtgattac aagctatatg	2940

acaaacagag	gattctacgc	agacaaacaa	tcaacgtttg	cgccgagctt	cctgctgaac	3000
atcaaaggca	agaaaacatc	tgttgtcaaa	gacagcatcc	ttgaacaagg	acaattaaca	3060
gttaacaaat	aaaaacgcaa	aagaaaatgc	cgatgggtac	cgagcgaaat	gaccgaccaa	3120
gcgacgcccc	acctgccatc	acgagatttc	gattccaccg	ccgccttcta	tgaaagggtg	3180
ggcttcggaa	tcgttttccg	ggacgccctc	gcggacgtgc	tcatagtcca	cgacgcccgt	3240
gattttgtag	ccctggccga	cggccagcag	gtaggccgac	aggctcatgc	cggccgccgc	3300
cgccctttcc	tcaatcgctc	ttcgttcgtc	tggaaggcag	tacaccttga	taggtgggct	3360
gcccttcctg	gttggtttgg	tttcatcagc	catccgcttg	ccctcatctg	ttacgccggc	3420
ggtagccggc	cagcctcgca	gagcaggatt	cccgttgagc	accgccaggt	gcgaataagg	3480
gacagtgaag	aaggaacacc	cgctcgcggg	tgggcctact	tcacctatcc	tgccccgctg	3540
acgccgttgg	atacaccaag	gaaagtctac	acgaaccctt	tggcaaaatc	ctgtatatcg	3600
tgcgaaaaag	gatggatata	ccgaaaaaat	cgctataatg	accccgaagc	agggttatgc	3660
agcggaaaaag	cgctgcttcc	ctgctgtttt	gtggaatata	taccgactgg	aaacaggcaa	3720
atgcaggaaa	ttactgaact	gaggggacag	gcgagagacg	atgccaaaga	gctcctgaaa	3780
atctcgataa	ctcaaaaaat	acgcccggta	gtgatcttat	ttcattatgg	tgaaagttgg	3840
aacctcttac	gtgccgatca	acgtctcatt	ttcgccaaaa	gttggccccag	ggcttcccgg	3900
tatcaacagg	gacaccagga	tttattttatt	ctgcgaagtg	atcttccgtc	acagggtattt	3960
attcggcgca	aagtgcgtcg	ggtgatgctg	ccaacttact	gatttagtgt	atgatggtgt	4020
ttttgagggtg	ctccagtggc	ttctgtttct	atcagctcct	gaaaatctcg	ataactcaaa	4080
aaatacgccc	ggtagtgatc	ttatttccatt	atggtgaaag	ttggaacctc	ttacgtgccg	4140
atcaacgtct	cattttcggc	aaaagttggc	ccagggcctc	ccggtatcaa	cagggacacc	4200
aggatttatt	tattctgcga	agtgatcttc	cgtcacagggt	atttattcgg	cgcaaagtgc	4260
gtcgggtgat	gctgccaaact	tactgattta	gtgtatgatg	gtgtttttga	ggtgctccag	4320
tggcttctgt	ttctatcagg	gctggatgat	cctccagcgc	ggggatctca	tgctggagtt	4380
cttcgcccac	cccaaaagga	tctaggtgaa	gatccttttt	gataatctca	tgacccaaat	4440
cccttaacgt	gagttttcgt	tccactgagc	gtcagacccc	gtagaaaaga	tcaaaggatc	4500
ttcttgagat	cctttttttc	tgcgcgtaat	ctgctgcttg	caaacaaaaa	aaccaccgct	4560
accagcgggtg	gtttgtttgc	cggatcaaga	gctaccaact	ccttttccga	aggtaactgg	4620
cttcagcaga	gcgcagatac	caaatactgt	ccttctagtgt	tagccgtagt	taggccacca	4680
cttcaagaac	tctgtagcac	cgctacata	cctcgctctg	ctaatactgt	taccagtggc	4740
tgctgccagt	ggcgataagt	cgtgtcttac	cgggttggaac	tcaagacgat	agttaccgga	4800
taaggcgag	cggtcgggct	gaacgggggg	ttcgtgcaca	cagcccagct	tggagcgaac	4860
gacctacacc	gaactgagat	acctacagcg	tgagcattga	gaaagcgcca	cgcttcccga	4920
agggagaaaag	gcggacaggt	atccggtaag	cggcagggtc	ggaacaggag	agcgcacgag	4980



```

ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg 5040
acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc aggggggagg agcctatgga aaaacgccag 5100
caacgcggcc tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc 5160
tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttgagttag ctgataaccgc 5220
tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagttagc gaggaagcgg aagagcgccc 5280
aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcgttg gccgattcat taatgcagct ggcacgcagc 5340
gtttcccgac tggaaagcgg gcagttagcg caacgcaatt aatgttagtt agctcactca 5400
ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcgt atgttggtg gaattgttag 5460
cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgaccatgat tacgccaagc ttgcatgcct 5520
gcaggtcgac tctagaggat cctcaggctc gcacgttgga ggggtgctcg attcttgctg 5580
agcgtctgac tgcttctgat gcgaaggccg ctggcgtgga tgtcttgacc ggtggcactg 5640
atgtgcactt ggttttggt gatctgcgta actcccagat ggatggccag caggcggaag 5700
atctgctgca cgaggttggg atcactgtga accgtaacgc ggttcctttc gatcctcgtc 5760
caccaatggg tacttctggg ctgctattg gtactcctgc gctggctacc cgtgggttgc 5820
atattcctgc attcactgag gttgcagaca tcattggtac tgctttggct aatggtaagt 5880
ccgcagacat tgagtctctg cgtggccgtg tagcaaagct tgctgcagat taccactgt 5940
atgagggcct ggaagactgg accatcgtct aagtttttct ttgagttttc atatgtagaa 6000
ggcatcgtcg gcttcggcct ggcggtgctt ttctcgttgt tttgtggttt tgtcagagga 6060
tgtcatgcgc gttttaatta ttgataatta tgattctttc acgttttggt taagtttagt 6120
ggatgggctg gtgaagccct ggaatgaaaa attgcgcca accatttttc tgtgaggaaa 6180
aggttgagcg cagtctttgt gaagatttag tcttcggtag tttcttcagt tttttcttt 6240
gcggtttcgc gaccttcagc aagctgtgtg cgtgcggtgc gcaaccattc tggctgggtt 6300
tccagaagtg cttgatctc ggcggtggtc agtggtttgt ccatgtcgtt ctttttcaga 6360
gccgcgatgg tgatgcccac tttttggcg accactggac gagggtgtgg gccctcgcgg 6420
cgtaggggtt ggagccactc cgggtgggtt tcctgcaggt tcttgaactc ttggtgagtc 6480
aatgcacctg tttggaactc ctctggcgtg gcgggcaaaa acagtccgag cttcttagcg 6540
gcggctctgt gcttcatagc cctgcccgat ggctggcgta cagattcttc gttcacgccc 6600
acaacggtag cattgttttc atgctgacct taagtttcat cactggcacg gagccaggaa 6660
agtggtttac ccgattccga gatcggactc atcacggatc cccgggtacc gagctcgaat 6720
tactggccg tcgttttaca acgtcgtgac tgggaaaacc ctggcgttac ccaacttaat 6780
cgccttgtag cacatcccc tttcgccagc tggcgtaata gcgaagaggc ccgcaccgat 6840
cgcccttccc aacagttgag cagcctgaat ggcgatggc g 6881

```

<212> Type : DNA

<211> Length : 6881

SequenceName : Sequenz Nr.6

SequenceDescription :

## Custom Codon

Sequence Name : Sequenz Nr.6

## Sequence

&lt;213&gt; OrganismName : Corynebakterium glutamicum

&lt;400&gt; PreSequenceString :

gaattgatcc ccctagagcc ggagacgtga ataaaattcg cagctcattc catcagcgta	60
aacgcagctt tttgcatggt gagacacctt tgggggtaaa tctcacagca tgaatctctg	120
ggtttagatga ctttctgggt gggggagggt ttagaatggt tctagtcgca cgccaaaacc	180
cggcgtggac acgtctgcag ccgacgcggt cgtgcctggt gtagacggac attcctagtt	240
tttccaggag taacttgtga gccagaatgg ccgtccggtg gtcctcatcg ccgataagct	300
tgcgcagtc actgttgacg cgcttgagga tgcagtagaa gtccgttggg ttgacggacc	360
taaccgcccc gaactgcttg atgcagttaa ggaagcggac gcaactgctc tgcgttctgc	420
taccactgtc gatgctgaag tcatcgccgc tgcccctaac ttgaagatcg tcggctcgtc	480
cggcgtgggc ttggacaacg ttgacatccc tgctgccact gaagctggcg tcatggttgc	540
taacgcaccg acctctaata ttcactccgc ttgtgagcac gcaatttctt tgctgctgtc	600
tactgctgc cagatccctg ctgctgatgc gacgctgcgt gagggcgagt ggaagcggtc	660
ttctttcaac ggtgtgaaa ttttcgaaa aactgtcggg atcgtcgggt ttggccacat	720
tggtcagttg tttgctcagc gtcttgctgc gtttgagacc accattgttg cttacgatcc	780
ttacgctaac cctgctcgtg cggctcagct gaacgttgag ttggttgagt tggatgagct	840
gatgagccgt tctgactttg tcaccattca ctttcctaag accaaggaaa ctgctggcat	900
gtttgatgcg cagctccttg ctaagtccaa gaagggccag atcatcatca acgctgctcg	960
tggtggcctt gttgatgagc aggccttggc tgatgcgatt gagtccggtc acattcgtgg	1020
cgtggtttc gatgtgtact ccaccgagcc ttgactgat tctcctttgt tcaagttgcc	1080
tcaggttgtt gtgactcctc acttgggtgc ttctactgaa gaggctcagg atcgtgcggg	1140
tactgacgtt gctgattctg tgctcaaggc gctggctggc gagttcgtgg cggatgctgt	1200
gaacgtttcc ggtggtcgcg tgggcgaaga ggttgctgtg tggatggatc tggctctaag	1260
gatcgggtac cgagctcgaa ttaattcgag ctcggtaccc gaccaccac agccaccgta	1320
atcagtagcc acggtcacgc caatagaact cagatcaatt gtgccgatgt gctgctatct	1380
agttctgcac cctcaaggcc agcattcaac cccgctagag ggtgaaaatg ctggccttta	1440
aggcattaaa aatcccacaa taagtggact ggtgcacagt ttagcaaagt ttgtgatgca	1500
cgcgacaagg atgggtgccg agtagctttc cccatgcaat tcgccaccct ataacgcaac	1560
ctcaggggat attaacaacc tagaaattga aaactttgca aaactttgag ctaccccca	1620
attggtggct ggtcaactaa tccccgcgtt ttcaatagtt cgggtgtcgcc agttttgggc	1680
gtttttcatc gtttgggaga ctgctgaag aatctagggg gctaggaact gacagcttca	1740
gggttatagt tgttgggtca gatcggttaac gatccctggc ccttttactt ccaagcgcag	1800

aaagttgccc	gaagacatga	ccgacttccc	caccctgccc	tctgagttca	tccctggcga	1860
cggccgtttc	ggctgcggac	cttccaaggt	tcgaccagaa	cagattcagg	ctattgtcga	1920
cggatccgca	tccgtcatcg	gtacctcaca	ccgtcagccg	gcagtaaaaa	acgtcgtggg	1980
ttcaatccgc	gagggactct	ccgacctctt	ctcccttcca	gaaggctacg	agatcatcct	2040
ttccctaggt	ggtgcgaccg	cattctggga	tgcagcaacc	ttcggactca	ttgaaaagaa	2100
gtccggtcac	ctttctttcg	gtgagttctc	ctccaagttc	gcaaaggctt	ctaagcttgc	2160
tccttggtc	gacgagccag	agatcgtcac	cgcagaaacc	ggtgactctc	cggccccaca	2220
ggcattcgaa	ggcgccgatg	ttattgcatg	ggcacacaac	gaaacctcca	ctggcgccat	2280
ggttccagtt	cttcgccccg	aaggctctga	aggtccctg	gttgccattg	acgcaacctc	2340
cggcgctggt	ggactgccag	tagacatcaa	gaactccgat	gtttactact	tctccccaca	2400
gaagtgcctc	gcatccgacg	gtggcctgtg	gcttgacg	atgagcccag	cagctctcga	2460
gcgcatcgag	aagatcaacg	cttccgatcg	cttcatccct	gagttcctca	acctgcagac	2520
cgcagtggat	aactccctga	agaaccagac	ctacaacacc	ccagctgttg	ctaccttgct	2580
gatgctggac	aaccagggtca	agtggatgaa	ctccaacggc	ggcctggatg	gaatggttgc	2640
tcgcaccaca	gcaagctcct	ccgccctgta	caactgggct	gaggctcgcg	aggaggcatc	2700
cccatacgtg	gcagatgcag	ctaagcgctc	cctcgttgtc	ggcaccatcg	acttcgatga	2760
ctccatcgac	gcagcagtga	tcgctaagat	actgcgcgca	aacggcatcc	tggacaccga	2820
gccttaccgc	aagctgggac	gcaaccagct	gcgcatcggt	atgttcccag	cgatcgattc	2880
caccgatgtg	gaaaagctca	ccggagcaat	cgacttcatc	ctcgatggcg	gttttgcaag	2940
gaagtaatac	ccccactttg	aaaaacaccc	cgtacagtta	caccagtacg	gggtgttttt	3000
tagttaagct	tgggtgatca	cttaaccag	ctagaaggag	tcaacatgcg	ggaaagcggc	3060
cgcgttgatg	atccttgggg	ttacggcaac	tccctggagt	gggcaacctc	ctgccctcct	3120
cctcgccaca	acttcgcatc	cttgccctgt	atccgctccg	agcgccctgc	gttcgagctg	3180
cactacccgc	acatgattga	acgcatgcgc	gcagaggcac	acactggaca	tcacgatgat	3240
attaatgctc	cagaattggg	taccgcccc	gcccttgcat	ctgactccag	ccgctaaaag	3300
cgtctgattt	aagtcggtac	ctgactaaat	aagcaccagc	cccagcagag	ataatctgcc	3360
ggggctggtg	cttttcatat	tccgacttgg	ggcaccctg	aatacatctc	acccaattcc	3420
ccataactag	acaattgccc	agcaacgact	gataagtctc	caatgtcgtg	ttccgcgctc	3480
agacatgaga	caattgttgc	cgtgactgaa	ctcatccaga	atgaatccca	agaaatcgct	3540
gagctggaag	ccggccagca	ggttgcatg	cgtgaagggt	atcttcctgc	ggtgatcaca	3600
gtgagcggta	aagaccgccc	aggtgtgact	gccgcgttct	ttagggctct	gtccgctaata	3660
caggttcagg	tcttgacgt	tgagcagtca	atgttccgtg	gctttttgaa	cttggcggcg	3720
tttgtgggta	tcgcacctga	gcgtgtcgag	accgtcacca	caggcctgac	tgacaccctc	3780
aagggtgcatg	gacagtccgt	ggtggtggag	ctgcaggaaa	ctgtgcagtc	gtccccctct	3840

cggttcttccc atgttggtgt ggtgttggt gatccggttg atgcgttgga tatttcccgc	3900
attggtcaga ccctggcgga ttacgatgcc aacattgaca ccattcgtgg tatttcggat	3960
taccctgtga ccggcctgga gctgaaggtg actgtgccgg atgtcagccc tggtggtggt	4020
gaagcgatgc gtaaggcgct tgctgctctt acctctgagc tgaatgtgga tattgcgatt	4080
gagcgttctg gtttgctgcg tcgttctaag cgtctggtgt gcttcgattg tgattccacg	4140
ttgatcactg gtgaggtcat tgagatgctg gcggctcacg cgggcaagga agctgaagtt	4200
gcggcagtta ctgagcgctg gatgcgcggt gagctcgatt tcgaggagtc tctgcgtgag	4260
cgtgtgaagg cgttggctgg tttggatgcg tcggtgatcg atgaggtcgc tgccgctatt	4320
gagctgaccc ctggtgcgcg caccacgatc cgtacgctga accgcatggg ttaccagacc	4380
gctgttgttt ccggtggttt catccaggtg ttggaagggt tggctgagga gttggagttg	4440
gattatgtcc gcgccaacac tttggaaatc gttgatggca agctgaccgg caacgtcacc	4500
ggaaagatcg ttgaccgcgc tgcaaggct gagttcctcc gtgagttcgc tgcggattct	4560
ggcctgaaga tgtaccagac tgtcgtgtc ggtgatggcg ctaatgacat cgatatgctc	4620
tccgctgcgg gtctgggtgt tgctttcaac gcgaagcctg cgctgaagga gattgcggat	4680
acttccgtga accaccatt cctcgacgag gttttgcaca tcatgggcat ttcccgcgac	4740
gagatcgatc tggcggtatca ggaagacggc actttccacc gcgttccatt gaccaatgcc	4800
taaagattcg cttctcgacg ccacctcct cctcaaggcc cgggctagcg acgggccaca	4860
tagcgaggat ctttcgggga tcctctagag tcgacctgca ggcatgcaag cttggcactg	4920
gccgtcgttt tacaacgtcg tgactgggaa aacctggcg ttaccctaact taatgcctt	4980
gcagcacatc cccctttcgc cagctggcgt aatagcgaag agggccgcac cgatcgccct	5040
tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tggcgcgata agctagatcc ccatcaatcc	5100
tgcctatttg ccacgtttaa caaggtagtt aagcgttcat ttacgaagaa aacacgataa	5160
gctgcacaaa tacctgaaaa agttgaacgc cccgtgagcg ggaactcaca gggcgtcggc	5220
taacccccag tcatcagctg ggagaaagca ctcaagacat gactctagcc gatccgcagg	5280
acacagtcac agctagcgcg tggaaattgt ccgccgatct gttcgacacc cccccgaag	5340
ctatgcgctg cggctcacgc ggctggacgg cagaagatcg ccgcgaactg ctcgctcacc	5400
tgggacgcga aagcttccag ggcagcaaga caagagattt cgcgagcgcc tggattaa	5460
acccggatac cggcgaaacc caaccaaagc tctaccgggc tggtcaaaa gcgctgacgc	5520
ggtgccagta cgttgcgctg acgcacgcgc aacatgccgc ggtgatcgtg cttgacatcg	5580
atgtgcccag ccaccaggcc ggcgggaaga ttgagcacgt aaaccgcag gtctacgcga	5640
ttttagagaa atgggcacgc ctagaaaaag cgccggcttg gatcggcggtg aatccgctga	5700
gcgggaaatg ccagctcatc tggctcattg acccggtgta tgccgcagca ggtaaaacca	5760
gccccaatat gcgcctgctg gctgcaacga cggaagaaat gactcgtgtt ttcggcgctg	5820
accaggcttt ttcgcatagg ctgagccggt ggccgctgca cgtctcagac gatccgacag	5880

cctataaatg g	cactgccag	catgatcgtg	tggatcggct	ggccgaccta	atggagattg	5940
ctcgaacgat g	accggatca	cagaagccga	aaaagtacat	tgagcaggac	ttttccagcg	6000
gacgcgcccc	cattgaagcg	gcacaacgcg	ccaccgcaga	agccaaggcg	ctagcgattt	6060
tggacgcgag	cctgccgagc	gccctggacg	cgctccggcg	cctgatcgac	ggcgtgcgag	6120
tgctctggac	aaatccagag	cgagcgcgcg	acgagaccgc	gtttcgccac	gcgttgaccg	6180
tgggatacca	gctcaaagct	gctggtgagc	gcctaaaaga	tgccaagatc	atcgacgcgt	6240
atgaagtggc	gtacaacgtt	gcccaggcgg	tcggtgcaga	cggccgggag	ccggatcttc	6300
ccgccatgcg	tgatcgcctg	acgatggcgc	gtcgtgtgcg	cggctacgtg	gctaaaggcc	6360
agccagtcgt	ccctgctcgt	cgggtggaaa	cgcagagcag	ccgagggcgg	aaagctctag	6420
cgacgatggg	gcgacggggc	gcagctacat	cgaatgcacg	cagatgggct	gacccagaaa	6480
gtaagtatgc	gcaggagacg	cgacagcgat	tagcgggaagc	aaacaaacgc	cgagaaatga	6540
caggcgagtt	gctcgaactt	cgcgtcaaaa	ctgcgatcct	ggatgcccgt	tctcaatcgg	6600
ttgctgatcc	ctcgactcgt	gagcttgacg	gcgaactagg	tgtcagtga	aggcgcattc	6660
aaacagtcat	aaaggcactt	ggaatggaag	ctaaacgcgg	ccgtccacgg	gctgaaaact	6720
aataaacgaa	acaccgtcag	cagaaaacgg	ttccccctt	taggggtccc	gtccttgctc	6780
tggctctcac	ttgccctcac	cctccgctat	ccacgggctg	aaaactaata	aacgaaacac	6840
cgtcagcaga	aaacggttcc	ccccctttag	ggtgtctcgc	tcctagctct	gatccctccc	6900
cggttcctcc	ccggcctgat	ttttaagggg	ggctcacgct	gtcggcagag	aacggttccc	6960
cgccttctgc	tctggctctt	cctcgactcc	ctccccctca	aaaatctcct	cgagatcctg	7020
gagacctttt	tggagctagc	gcgttgctgc	ttcgcaccaa	cttgctcatg	atgattttca	7080
tttttgcttg	tgtgcttttt	tgggttgaa	cctccaaaga	ggggaaacca	ggggcacacc	7140
tcatgcacta	aagtgccgct	tcgctggtca	gggtgaaatc	acctggaaaa	aaagtgcggt	7200
aaccgctgcg	cttggcgctt	tttctgggca	agaagtctcg	cagggttttcg	caggagtgcc	7260
ggaagaaatt	atcagaattg	gggctagaat	ttttaacgaa	cgttcgttat	aatggtgtca	7320
tgaccttcac	gacgaagtac	caaaactggc	ctgaagcatc	agcgggtggat	ctctccgatg	7380
tcgcgctgga	gtccgacgca	ctcgatgccg	ccgtcgattt	aaaaacgggtg	atcggatttt	7440
tccgcgccct	cgatacgaca	gacgcgccag	catcacgcga	ctgggcaagt	gccgcgagcg	7500
acctagaaac	gcttggtggc	gaccttgaag	agctggccga	cgagctgcgt	gctcggcagc	7560
gccaggagga	cgcgcagtag	tggaggatcg	catcagctgc	gcctactgcg	gtggcctgat	7620
cccacccccg	cctgaccac	gaggacggcg	cgcaaaatac	tgctcagacg	cgtgtcgtgc	7680
cgcagccagc	cgcgagcgcg	ccaacaagcg	ccacgcccag	gaggctgaag	ccgcacgtca	7740
tctagcttca	cgctgccgca	agcactcagg	gcgcaagggc	tgctaaagga	agcggaacac	7800
gtagaaagcc	agtccgcaga	aacgggtgctg	accccggatg	aatgtcagct	actgggctat	7860
ctggacaagg	gaaaacgcaa	gcgcaaagag	aaagcaggta	gcttgacgtg	ggcttacatg	7920

gcgatagcta gactgggcg	ttttatggac agcaagcgaa	ccggaattgc cagctggggc	7980
gccctctggt aaggttggga	agccctgcaa agtaaaactgg	atggctttct tgccgccaaag	8040
gatctgatgg cgcaggggat	caactccttc gtcggtgtcg	tcgccggatg gtctgcggtg	8100
gtgctcagcg tggagacg	caccgtcacg gaccgcgtgt	agtgcgtggc ggaaacttct	8160
tgeggttcgc aagagaaatg	cgtcccattt ctcgctggac	tcggggaagg aagcgtgatg	8220
ctctcggtca agcacgtcg	tcgccagcgc tgcgaggagt	tcggccttcg tgcggaagtg	8280
ccagtagagg ccgggctgct	gtacctgtaa gtgagccgcc	agcgcgcgag tggatgaagcc	8340
atcgagccca gtctcgtcga	gcacctgccg ggccccgagc	aacacggacg tgcggtcgag	8400
acgttcccg tggtagtgca	tagttgcaact ttatcatcga	taactttatc ttagataaag	8460
tgactgctcg ctactctcat	ctgactgtc gctactctca	tcgtggaatc ctgacagccg	8520
tgctcatcac ggcgaccctc	gatgctgcag ggctgggcct	cgtgatgccg atcttgcccta	8580
cccttctcga ccaggctcgt	gccccgacg acatgatccc	actgcacgtc ggactactga	8640
cagcgctcta tgcgatcatg	cagtttcttt gcgccccgat	ccttggccga ctctctgacc	8700
gtttcggacg ccgcccgtg	cttgctgcct ccctcgcagg	cgcgacgatc gactacctcg	8760
tgctcgcact gacggacacg	ctgtgggtct ttacctcgc	ccgcgcggtt gcaggcatta	8820
ccggcgccac gaacgccgtc	accgcgacgg tgatcgccga	cattactccg ccggatcagc	8880
gcgcaaaacg ctacgggtgg	ctcggcgcat gctacggcgg	tggcatgatc gcgggtccccg	8940
ccattggcgg tcttttcggc	ggggtctcac cgcactctgc	attcctcgtc gccgccgcgc	9000
tcgccggaat caccctcgt	ctcagcgca gtcttctgcg	tgagacgcgg ccaccgggca	9060
gcaacggctc gcacgcacag	caaccggta cggcgaagcg	aaccgcagtg ccgggggatgc	9120
ttatccttct cgcagtcttc	ggcatcgtgc agttcatcgg	ccaagcacca ggctccacct	9180
gggtgctctt cagcagcag	cgcctcgact ggaaccccg	cgaagtcggc gtttcgctat	9240
ccatcttcgg aatgggtgcaa	gtattcgtgc aggcggcact	gaccggacgc atcgtgtccc	9300
ggatcggcga gacccggg	cgc atcctcgtc gtatcgccgc	agacgccatt gggctcatcg	9360
gccttgccct catcgccagc	acatgggcga tgctaccgat	cctcgcagcg ctcggtactg	9420
gcagcatcac gttgcccga	ctgcagacgc tgctctcgag	acgcgcgccc gagcagcagc	9480
agggacgcct gcagggaa	ca cttgcaagcc tgaacagcct	cacctcgatc atcggccccg	9540
tcaccttcac cggcattttc	gcactcacc gaacgaatgc	agacggcacc ctctggatct	9600
gcgccgcagc gctctacgt	ctctgcgcc tcctgatgat	ccgtgagaca tgcgcctcac	9660
ggcgatctcg ataaccgcgc	taagggtgcca tcccgatgcg	acgggatcgc tctgccacca	9720
gtcaagtctc ccgtagccgg	tatgagggcc agcctcgcag	agcaggattc ccgttgagca	9780
ccgccagggtg cgaataagg	acagtgaaga aggaacaccc	gctcgcgggt gggcctactt	9840
cacctatcct gccccgctga	cgcggttga tacaccaagg	aaagtctaca cgaacccttt	9900
ggcaaaatcc tgtatatcgt	gcgaaaaagg atggatatatac	cgaaaaaatc gctataatga	9960

```

ccccgaagca gggttatgca gcggaaaagc catgaccaa atcccttaac gtgagttttc 10020
gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag atcctttttt 10080
tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttggtt 10140
gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat 10200
accaaatact gtccttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc 10260
accgcctaca tacctcgctc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca gtggcgataa 10320
gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg 10380
ctgaacgggg gggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca ccgaactgag 10440
atacctacag cgtgagcatt gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa aggcggacag 10500
gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa 10560
cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc gtcgattttt 10620
gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cttttttacg 10680
gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat cccctgattc 10740
tgtggataac cgtattaccg cttttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac 10800
cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct 10860
ccccgcgcgt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc 10920
gggcagtgag cgcaacgcaa ttaatgtgag ttagctcact cattaggcac cccaggcttt 10980
acactttatg cttccggctc gtatgtttgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac 11040
aggaaacagc tatgaccatg attac                                     11065
<212> Type : DNA
<211> Length : 11065
      SequenceName : Sequenz Nr.7
      SequenceDescription :

```

#### Custom Codon

-----  
Sequence Name : Sequenz Nr.7

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von L-Serin, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Folsäurekonzentration in einem Aminosäure-produzierenden Organismus reduziert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Folsäurekonzentration durch Verringerung der Synthese von Folsäure oder durch deren Abbau verringert wird.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Folsäurekonzentration durch gerichtete oder angerichtete Mutation von Genen, die an der Biosynthese von Folsäure beteiligt sind, verringert wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Verringerung oder Ausschaltung der Folsäureproduktion durch Deletionsmutation, Insertionsmutation, Punktmutation und/oder Substitutionsmutation von Genen, die an der Biosynthese von Folsäure beteiligt sind, erfolgt.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Expression, von an der Biosynthese der Folsäure beteiligten Gene, verringert oder reduziert wird.
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Expression durch Veränderung bzw. Abschwächung oder Ausschaltung von Promotoren, Signalstrukturen, Repressorgenen, Aktivatoren, Operatoren,



Attenuatoren, Ribosomenbindestellen, Startkodons, Terminatoren, Regulatoren, die Stabilität der Transkripte verringert wird oder das regulierbare Promotoren eingesetzt werden.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Gene kodierend für GTP-Cyclohydrolase, Neopterintriphosphatpyrophosphatase, Neopterinaldolase, 6-Hydroxymethylpterinpyrophosphokinase, 4-Amino-4-deoxy-chorismatsynthase, 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyase, Pteroatsynthase, Folsynthase und Dihydrofolatreduktase verändert werden.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Gene kodierend für Amino-4-deoxy-chorismatsynthase deletiert werden.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Deletion mit einer DNS nach Seq. Nr. 1 durchgeführt wird.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass ein Vektor nach Seq. Nr. 2 eingesetzt wird.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass ein Gen kodierend für 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyase deletiert wird.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Deletion mit einer DNS nach Seq. Nr. 3 durchgeführt wird.

13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass für die Deletion ein Vektor nach Seq. Nr. 4 eingesetzt wird.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass das Gen kodierend für Amino-4-deoxy-chorismatsynthase und 4-Amino-4-deoxy-chorismatlyase deletiert wird.

15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Deletion mit einer DNA Sequenz nach Seq. Nr. 5 durchgeführt wird.

16. Verfahren nach Anspruch 14 und 15, dadurch gekennzeichnet, dass ein Vektor nach Seq. Nr. 6 eingesetzt wird.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass für die Synthese von L-Serin ein Organismus eingesetzt wird, der bereits vor der Veränderung L-Serin produziert.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus über ein Plasmid nach Seq. Nr. 7 verfügt.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die katalytische Aktivität der an der Biosynthese der Folsäure beteiligten Enzyme abgeschwächt oder ausgeschaltet wird.

20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Abschwächung oder Ausschaltung durch Verringerung der Stabilität erfolgt.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 oder 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Verringerung oder Ausschaltung durch Veränderung des allosterischen Zentrums erfolgt.

22. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Aktivität der Enzyme durch Phosphorylierung oder Adenylierung verringert oder ausgeschaltet wird.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass das die Enzyme durch proteolytischen Abbau in ihrer Aktivität verringert oder ausgeschaltet werden.

24. Verfahren nach einem der Ansprüche 19 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Enzym aus der Gruppe bestehend aus GTP-Cyclohydrolase, Neopterintriphosphatpyrophosphatase, Neopterinaldolase, 6-Hydroxymethylpterinpyrophosphokinase, 4-Amino-4-deoxy-chorismatsynthase, 4-Amino-4-deoxy-cho-

rismatlyase, Pteratsynthase, Folatsynthase und Dihydrofolatreduktase in seiner Aktivität verringert oder ausgeschaltet wird.

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass eins oder mehrere Gene ausgewählt aus der Gruppe

- das für die 3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase kodierende serA-Gen,
- das für die Phosphoserin-Transaminase kodierende serC-Gen,
- das für die Phosphoserin-Phosphatase kodierende serB-Gen,

einzeln oder in Kombinationen verstärkt, insbesondere überexprimiert werden.

26. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass Allele dieser Gene, insbesondere die für feed-back-resistente 3-Phosphoglycerat-Dehydrogenase kodierenden serA-Gene einzeln oder in Kombinationen verstärkt oder überexprimiert werden.

27. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass eines oder mehrere der Gene ausgewählt aus der Gruppe

- das für die Cystathioninlyase kodierende aecD-Gen,
- das für die Cystathioninlyase kodierende metC-Gen,
- das für die Serindehydratase kodierende sdaA-Gen,
- das für die Serinhydroxymethyltransferase kodierende glyA-Gen,
- das für die beta-Untereinheit der Tryptophansynthase kodierende trpB-Gen,
- das für die Threonindehydratase kodierende ilvA-Gen,
- das für die Pyruvatkinase kodierende pyk-Gen

einzeln oder in Kombination in seiner Aktivität reduziert oder deletiert wird.

28. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass als Mikroorganismus Corynebakterium, Brevibakterium, Bacillaceen, Enterobakterium ein Methanol verwertendes Bakterium oder eine Hefe eingesetzt wird.

29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass ein Organismus aus der Gruppe bestehend aus

- Corynebacterium glutamicum ATCC13032,
- Corynebacterium acetoglutamicum ATCC15806,
- Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870,
- Corynebacterium thermoaminogenes FERM BP-1539,
- Brevibacterium flavum ATCC14067,
- Brevibacterium lactofermentum ATCC13869 oder
- Brevibacterium divaricatum ATCC14020

eingesetzt wird.

30. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass es für die Synthese von Cystein, Tryptophan oder Methionin eingesetzt wird.

31. Gensequenz die mindestens eine 85%-ige Homologie zu den Seq. Nr. 1, 3 oder 5 aufweist.

32. Gensequenz nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, dass sie mit den Seq. Nr. 1, 3 oder 5 identisch ist.

33. Vektor, dessen Gensequenz mindestens eine 85%-ige Homologie zu den Sequenzen Nr. 2, 4 oder 6 aufweist.

34. Vektor nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, dass er mit den Vektoren der Seq. Nr. 2, 4 oder 6 identisch ist.

35. Vektor die mindestens eine 85%-ige Homologie zu der Seq. Nr. 7 aufweist.

36. Vektor nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, dass er mit der Seq. Nr. 7 identisch ist.

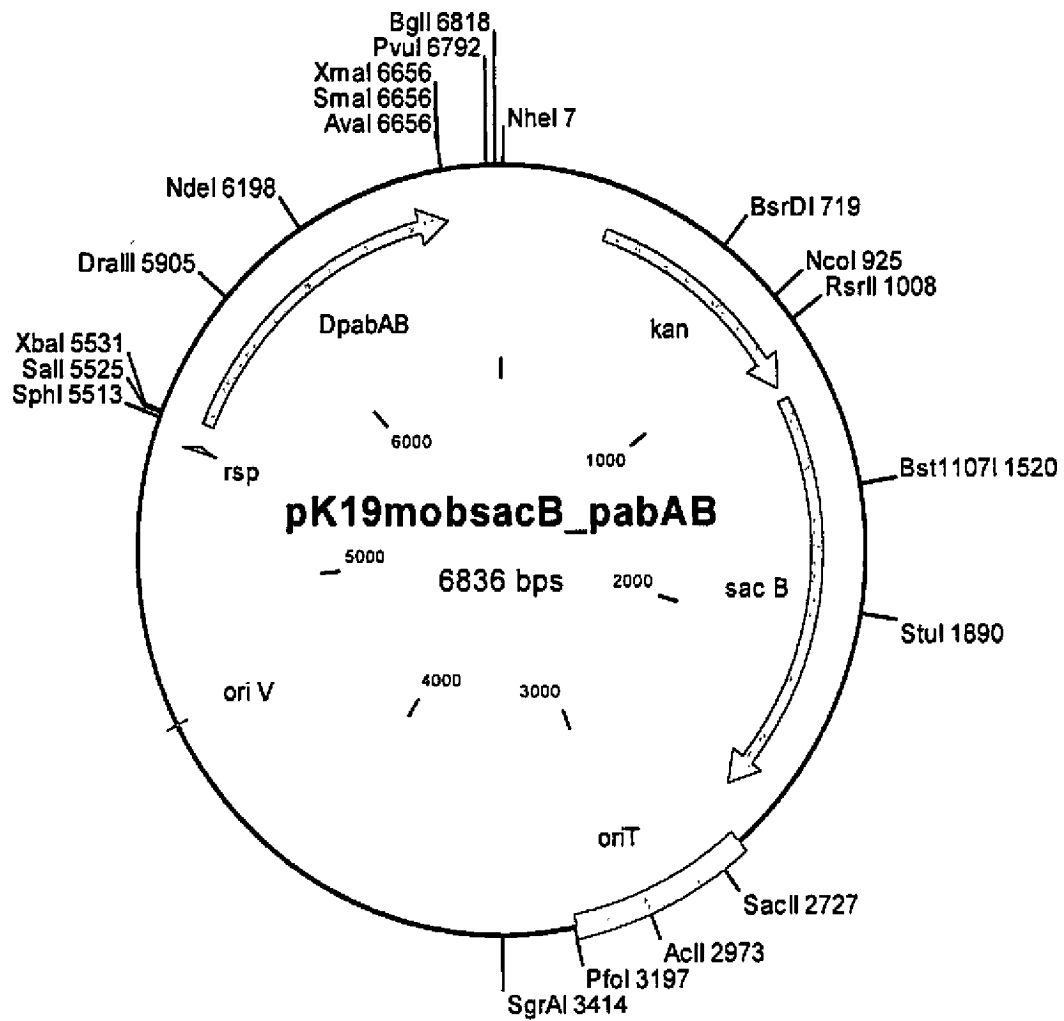
37. Mikroorganismus, dadurch gekennzeichnet, dass er nach mindesten einem der Schritte des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 27 verändert ist.

38. Mikroorganismus, dadurch gekennzeichnet, dass er ein Corynebakterium, Brevibakterium, Bacillaceen, Enterobakterium oder eine Hefe ist.

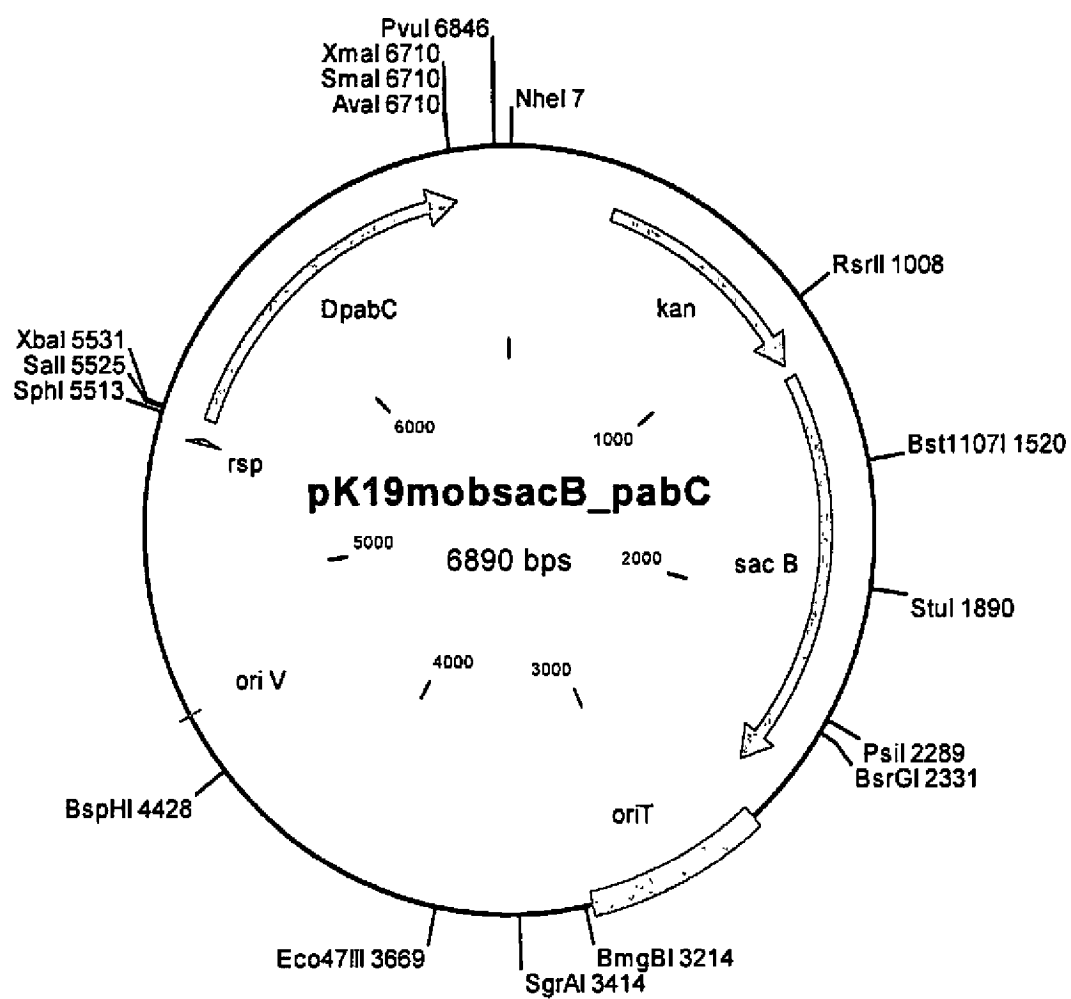
39. Mikroorganismus nach Anspruch 38.  
dadurch gekennzeichnet,  
dass er ein Organismus aus der Gruppe bestehend aus  
Corynebacterium glutamicum ATCC13032,  
Corynebacterium acetoglutamicum ATCC15806,  
Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870,  
Corynebacterium thermoaminogenes FERM BP-1539,  
Brevibacterium flavum ATCC14067,  
Brevibacterium lactofermentum ATCC13869 oder  
Brevibacterium divaricatum ATCC14020  
ist.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

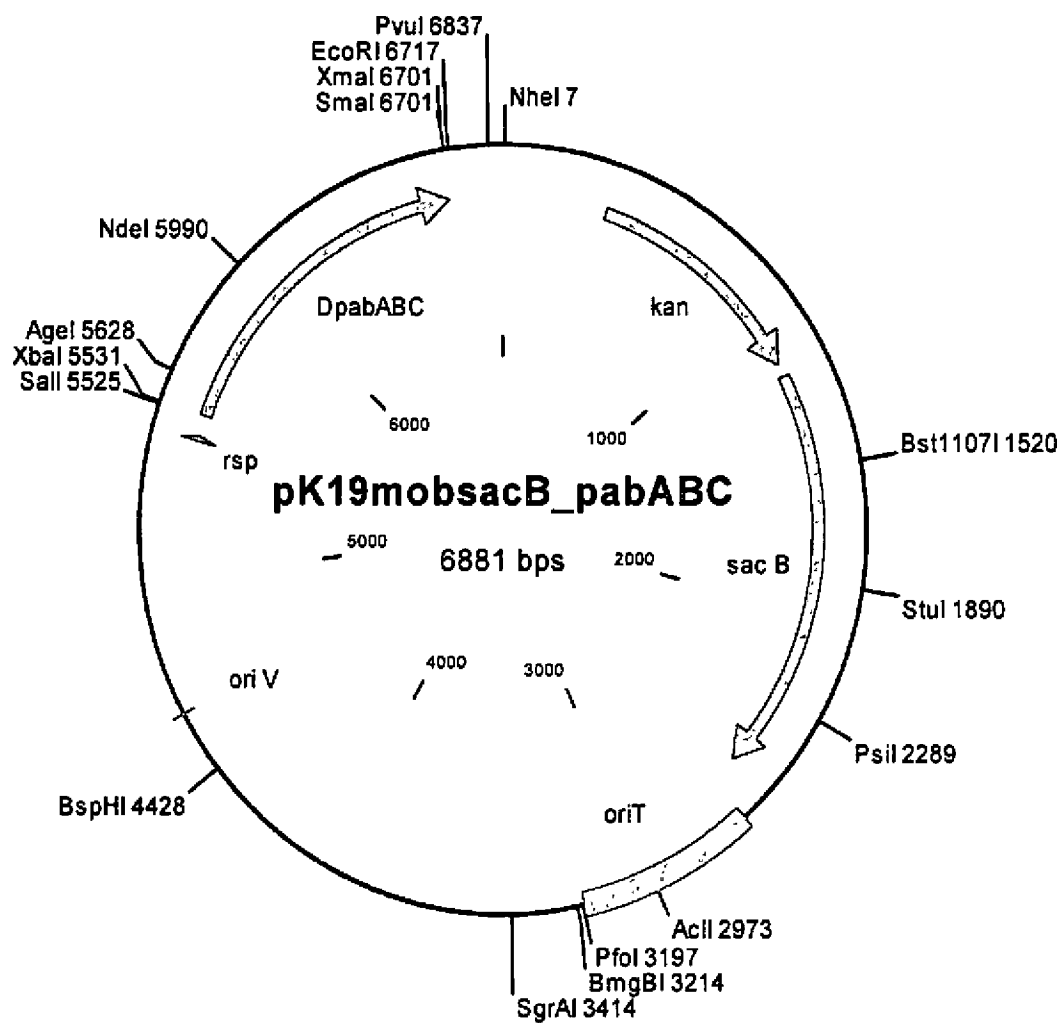
Anhängende Zeichnungen



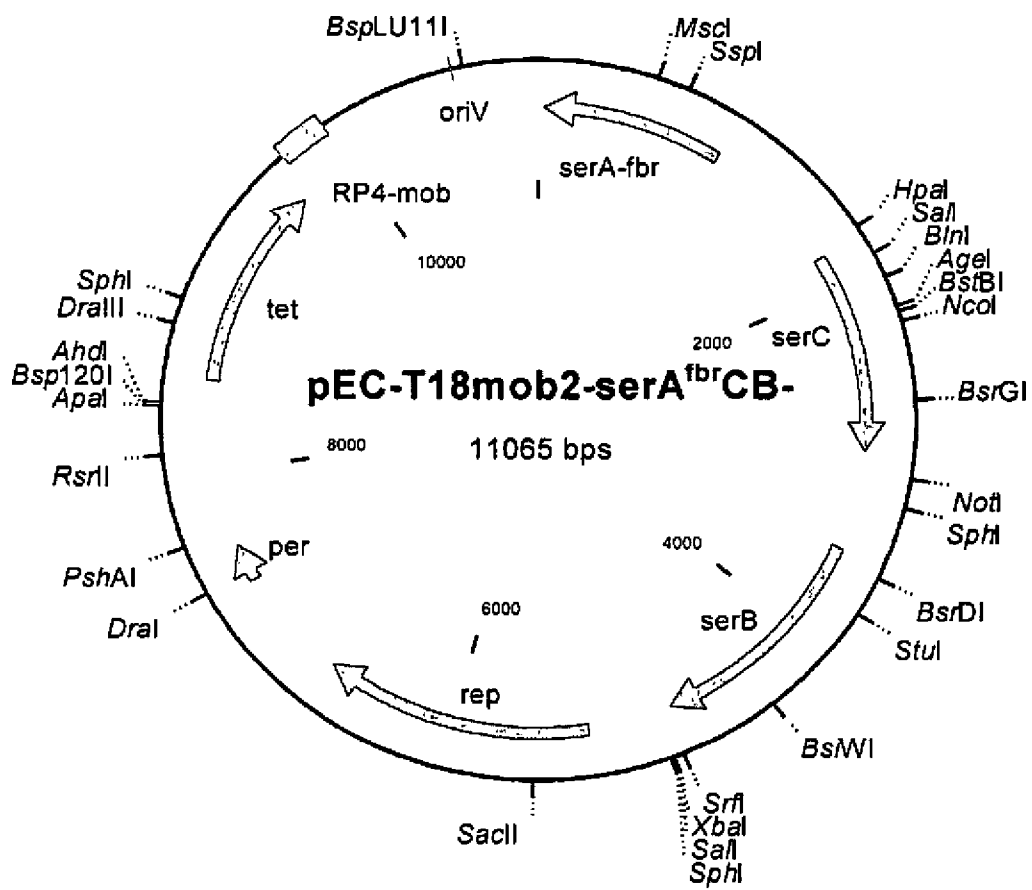
Figur 1



Figur 2



Figur 3



Figur 4