



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 12 825 T2 2007.01.11**

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 383 897 B1

(51) Int Cl.⁸: **C12N 15/52 (2006.01)**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 12 825.0**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP02/04942**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 740 565.3**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/090551**

(86) PCT-Anmeldetag: **03.05.2002**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **14.11.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **28.01.2004**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **28.06.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **11.01.2007**

(30) Unionspriorität:

01201631	03.05.2001	EP
01204785	07.12.2001	EP

(74) Vertreter:

derzeit kein Vertreter bestellt

(73) Patentinhaber:

**Vlaams Interuniversitair Instituut voor
Biotechnologie vzw., Zwijnaarde, BE**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:

STEIDLER, Lothar, Cork, IE

(54) Bezeichnung: **SELBSTERHALTENDER LACTOCOCCUS STAMM**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**Gebiet der Erfindung**

[0001] Die Erfindung betrifft einen rekombinanten Lactococcus Stamm mit ökologisch begrenztem Wachstum und ökologisch begrenzter Lebensfähigkeit. Insbesondere betrifft sie einen rekombinanten Lactococcus, der nur in einem Medium überleben kann, in dem genau abgegrenzte Mediumsverbindungen vorhanden sind. Eine bevorzugte Ausführungsform ist ein Lactococcus, der nur in einem Wirtsorganismus überleben kann, in dem die Mediumsverbindungen vorhanden sind, aber bei fehlenden Mediumsverbindungen nicht außerhalb des Wirtsorganismus überleben kann. Darüber hinaus kann der Lactococcus mit prophylaktischen und/oder therapeutischen Molekülen transformiert werden und kann als solches zur Behandlung von Erkrankungen, wie beispielsweise entzündlichen Darmerkrankungen, verwendet werden

Hintergrund der Erfindung

[0002] Milchsäurebakterien werden seit langem bei einer großen Vielfalt von industriellen Fermentierungsverfahren verwendet. Sie werden generell als sicher angesehen, wodurch sie potentiell nützliche Organismen zur Herstellung von kommerziell wichtigen Proteinen werden. Tatsächlich werden mehrere heterologe Proteine, wie beispielsweise Interleukin-2, erfolgreich in Lactococcus spp produziert (Steidler u.a., 1995). Es ist allerdings nicht erwünscht, dass solche genetisch modifizierten Mikroorganismen in der Umwelt überleben und sich ausbreiten. Um ein unbeabsichtigtes Freisetzen von genetisch modifizierten Mikroorganismen zu vermeiden, werden bestimmte Richtlinien für eine sichere Handhabung und technische Maßgaben für eine physische Einschließung angewendet. Obwohl dies bei industriellen Fermentationen nützlich sein kann, wird die physische Einschließung im Allgemeinen nicht als ausreichend angesehen und es werden zusätzliche biologische Einschließungsmaßnahmen getroffen, um die Möglichkeit eines Überlebens des genetisch modifizierten Mikroorganismus in der Umwelt zu reduzieren. Die biologische Einschließung ist in den Fällen äußerst wichtig, in denen die physische Einschließung schwierig oder sogar nicht anwendbar ist. Dies ist unter anderem bei Anwendungen der Fall, bei denen genetisch modifizierte Mikroorganismen als lebende Impfstoffe oder als Träger für die Verabreichung von therapeutischen Verbindungen verwendet werden. Solche Anwendungen sind zum Beispiel in der WO 97/14806 beschrieben worden, der die Abgabe von biologisch wirksamen Peptiden, wie beispielsweise Cytokinen, an eine Person durch rekombinante, nicht invasive oder nicht pathogene Bakterien offenbart. Die WO 96/11277 beschreibt die Abgabe von therapeutischen Verbindungen an ein Tier – einschließlich den Menschen – durch Verabreichung eines rekombinanten Bakteriums, das das therapeutische Protein kodiert. Steidler u.a. (2000) beschreiben die Behandlung einer Kolitis durch Verabreichung eines rekombinanten Lactococcus lactis unter Sekretion von Interleukin-10. Eine solche Abgabe kann tatsächlich zur Behandlung einer Erkrankung bei einem betroffenen Menschen oder Tier äußerst nützlich sein, aber das rekombinante Bakterium kann als schädlicher und pathogener Mikroorganismus auftreten, wenn er in eine nicht betroffene Person gelangt, und daher wird eine wirksame biologische Einschließung, die eine solche unbeabsichtigte Verbreitung des Mikroorganismus vermeidet, benötigt.

[0003] Biologische Einschließungssysteme für Wirtsorganismen können auf der Grundlage einer strikten Anforderung des Wirts für einen bestimmten Wachstumsfaktor oder einen Nährstoff, der nicht vorhanden ist oder in geringen Konzentrationen in der äußeren Umgebung vorhanden ist, passiv sein oder auf der Grundlage von so genannten suizidalen genetischen Elementen im Wirt aktiv sein, wobei der Wirt in der äußeren Umgebung durch eine Zelltötungsfunktion getötet wird, die durch ein Gen kodiert wird, das unter der Kontrolle eines nur unter bestimmten Umweltbedingungen exprimierten Promoters steht.

[0004] Passive biologische Einschließungssysteme sind in Mikroorganismen, wie beispielsweise Escherichia coli oder Saccharomyces cerevisiae, weithin bekannt. Solche E. coli Stämme sind zum Beispiel in der US 4190495 offenbart. Die WO 95/1061 offenbart Milchsäurebakterien-Suppressormutanten und ihre Verwendung als Einschließungsmittel in Milchsäurebakterien, aber in diesem Fall erfolgt die Einschließung auf der Plasmidebene und nicht auf der Ebene des Wirtsstamms und sie stabilisiert das Plasmid im Wirtsstamm, sieht aber keine Einschließung für den genetisch modifizierten Wirtsstamm selbst vor.

[0005] Es sind aktive suizidale Systeme von mehreren Autoren beschrieben worden. Ein solches System besteht aus zwei Elementen: einem letalen Gen und einer Kontrollsequenz, die unter nicht permissiven Bedingungen auf die Expression des letalen Gens wechselt. Die WO 95/10614 offenbart die Verwendung einer zytoplasmatisch aktiven, verkürzten und/oder mutierten Staphylococcus aureus Nuklease als letales Gen. Die WO 96/40947 offenbart ein rekombinantes bakterielles System mit ökologisch begrenzter Lebensfähigkeit entweder auf der Grundlage der Expression eines essentiellen Gens, das exprimiert wird, wenn sich die Zelle in

der permissiven Umgebung befindet, und nicht exprimiert wird oder zeitweise exprimiert wird, wenn sich die Zelle in der nicht permissiven Umgebung befindet, und/oder eines letalen Gens, wobei die Expression des Gens für die Zelle letal ist und das letale Gen exprimiert wird, wenn sich die Zelle in der nicht permissiven Umgebung befindet, nicht aber, wenn sich die Zelle in der permissiven Umgebung befindet. Die WO 99/58652 beschreibt ein biologisches Einschließungssystem auf der Grundlage des *relE* Cytotoxins. Allerdings sind die meisten Systeme für *Escherichia coli* (Tedkin u.a., 1995; Knudsen u.a., 1995; Schweder u.a., 1995) oder für *Pseudomonas* (Kaplan u.a., 1999; Molino u.a., 1998) ausgearbeitet worden. Obwohl mehrere der Einschließungssysteme theoretisch auf Milchsäurebakterien angewendet werden können, ist für *Lactococcus* kein bestimmtes biologisches Einschließungssystem beschrieben worden, das die Verwendung eines selbsterhaltenen und transformierten *Lactococcus* zur Abgabe von prophylaktischen und/oder therapeutischen Molekülen ermöglicht, um Krankheiten zu verhindern und/oder zu behandeln.

Kurze Beschreibung der Figuren

[0006] [Fig. 1](#): Karte des MG1363 thyA Locus

[0007] [Fig. 2](#): Schematische Darstellung der unterschiedlichen Expressionsmodule, wie sie auf pOTy Plasmiden und genomischen Integranten von *hIL-10* vorhanden sind. Die schwarzen Teile stellen die ursprüngliche genetische *L. lactis* MG1363 Information dar, die weißen Teile stellen die rekombinante genetische Information dar.

[0008] [Fig. 3](#): Die PCR-Identifikation von Thy 11 (Thy 11 1.1 und Thy 11 7.1 stellen einzeln erhaltene, identische Klone dar). Die Standard-PCR-Reaktionen wurden mittels Aliquoten von gesättigten Kulturen der angegebenen Stämme als Quelle einer DNA-Matze durchgeführt. Die Abbildung A zeigt ein Agarosegel der Produkte der angegebenen PCR-Reaktionen. Die Abbildung B zeigt die Positionen, bei denen die Primer in der thyA (1), stromaufwärtigen (2) oder stromabwärtigen (3) PCR anlagern. Verwendete Oligonukleotidprimer (1): ATgACTTACgCAgATCAA₅T₁₀TTTT und TAAATTgCTAAATCAA₅TTCAATTg (2): TCTgATTgAgTACCTTgACC und gCAATCATAATTggTTTTATTg (3): CTTACATgACTATgAAAATCCg und cTTTTTTATTATTAgggAAAGCA.

[0009] [Fig. 4](#): PCR-Identifikation von Thy11, Thy12, Thy15 und Thy16. Standard-PCR-Reaktionen wurden unter Verwendung von drei Tage alten Kolonien der angegebenen Stämme als Quelle der DNA-Matze durchgeführt.

[0010] Die Abbildung A zeigt die Positionen, bei denen Primer sich in der stromaufwärtigen (1), stromabwärtigen (2) oder thyA (3) PCR anlagern. Verwendete Oligonukleotidprimer: (1) ATgACTTACgCAgATCAA₅T₁₀TTTT und TAAATTgCTAAATCAA₅TTCAATTg (2): TCTgATTgAgTACCTTgACC und gCAATCATAATTggTTTTATTg (3): CTTACATgACTATgAAAATCCg und cTTTTTTATTATTAgggAAAGCA

[0011] Die Abbildung B zeigt ein Agarosegel der Produkte der angegebenen PCR-Reaktionen.

[0012] [Fig. 5](#): Southern Blot Analyse der angegebenen Stämme. Chromosomale DNA wurde extrahiert und mit den angegebenen Restriktionsenzymen verdaut. Nach einer Agarosegelelektrophorese wurde die DNA auf eine Membran übertragen und der Chromosomenaufbau um den thyA Locus wurde durch Verwendung von DIG-markierten thyA oder *hIL-10* DNA-Fragmenten gezeigt (Veranschaulichung A). Die Veranschaulichung B zeigt eine schematische Übersicht über den Aufbau des thyA Locus sowohl in MG1363 als auch Thy11.

[0013] [Fig. 6](#): Abbildung A zeigt eine schematische Übersicht über einen Teil des vorhergesagten Aufbaus des *L. lactis* Chromosoms am thyA Locus in MG1363, Thy11, Thy11, Thy15 und Thy 16. Die Zahlen geben Basenpaare an.

[0014] Abbildung B. Southern Blot Analyse der angegebenen Stämme. Chromosomale DNA wurde extrahiert und mit NdeI und SphI Restriktionsenzymen verdaut. Nach einer Agarosegelelektrophorese wurde die DNA auf eine Membran übertragen und der Chromosomenaufbau um den thyA Locus wurde mittels DIG-markierten thyA- oder *hIL-10* DNA-Fragmenten offenbart.

[0015] [Fig. 7](#): Herstellung von *hIL-10*. Die Abbildung A zeigt einen Western Blot, der mit einem anti-*hIL-10* Antiserum von Kulturüberstand und zellassoziierten Proteinen der angegebenen Stämme realisiert wurde. Die Abbildung B zeigt die Mengenbestimmung (mittels ELISA) von im Kulturüberstand vorhandenem *hIL-10*.

[0016] [Fig. 8](#): Herstellung von hIL-10. Die Abbildung A zeigt die Mengenbestimmung (mittels ELISA) von hIL-10, das im Kulturüberstand der angegebenen Stämme vorhanden war. Die Abbildung B zeigt einen Western Blot, der mit anti-hIL-10 Antiserum der Kulturüberstandsproteine der angegebenen Stämme realisiert wurde.

[0017] [Fig. 9](#): Herstellung von hIL-10 durch die *L. lactis* Stämme LL108, die entweder pOTHy11, pOTHy12 oder pOTHy16 tragen. Die Mengenbestimmung (durch ELISA) von im Kulturüberstand der angegebenen Stämme vorhandenem hIL-10. Die N-terminale Proteinsequenz des rekombinanten hIL-10 wurde durch Edman-Abbau bestimmt und war, wie gezeigt wurde, mit dem Aufbau identisch, wie er für das reife, rekombinante hIL-10 vorhergesagt wurde. Das Protein zeigt die volle biologische Wirksamkeit.

[0018] [Fig. 10](#): Wachstumsrate der angegebenen Stämme in GM17, enthaltend 100 µg/ml (T100) 50 µg/ml (T50) 25 µg/ml (T25) oder kein (T0) extra Thymidin und möglicherweise mit 5 µg/ml Erythromycin (E) ergänzt. Gesättigte Übernachtkulturen (hergestellt in T50) wurden 1:100 in den angegebenen Kulturmedien verdünnt. Abbildung A zeigt die Kinetik des Aufbaus des Absorptionsvermögens. Die Abbildung B zeigt die Kinetik der Anzahl von koloniebildenden Einheiten (cfu).

[0019] [Fig. 11](#): Wachstumsrate von MG1363 und Thy12 in thymidinfreiem Medium (TFM). TFM wurde durch Wachsenlassen von *L. lactis* Thy12 Bakterien in GM17, Entfernen der Bakterien durch anschließende Zentrifugation und Filtration auf einem Filter mit einer Porengröße von 0,22 µm, Einstellen des pH-Werts auf 7,0 und Autoklavierung hergestellt.

[0020] MG1363 und Thy12 Bakterien wurden von einer Übernachtkultur in GM17 bzw. GM17 + 50 µg/ml Thymidin gesammelt und in M9 Puffer (6 g/l Na_2HPO_4 , 3 g/l KH_2PO_4 , 1 g/l NH_4Cl , 0,5 g/l NaCl in Wasser) gewaschen. Die Suspensionen von beiden wurden entweder in TFM oder mit 50 µg/ml Thymidin (T50) ergänztem TFM verdünnt. Die CFU-Zahlen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt: t = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 und 20 Stunden.

[0021] Dies zeigt, dass die Lebensfähigkeit von Thy12 bei einem Fehlen von Thymidin stark eingeschränkt ist.

[0022] [Fig. 12](#): Darm-Passage und Lebensfähigkeit: *L. lactis* MG1363 wurde mit dem Plasmid pLET2N transformiert, das einen Chloramphenicol (Cm) Resistenzmarker trägt. *L. lactis* Thy12 wurde mit dem Plasmid pT1NX transformiert, das einen Erythromycin (Em) Resistenzmarker trägt. Von beiden Stämmen wurden 10^9 Bakterien erneut in BM9 (6 g/l Na_2HPO_4 , 3 g/l KH_2PO_4 , 1 g/l NH_4Cl , 0,5 g/l NaCl in 25 mM NaHCO_3 + 25 mM Na_2CO_3) suspendiert, gemischt und in drei Mäuse bei t = 0h inkuliert. Der Kot wurde in den Zeiträumen -1 bis 0, 0 bis 1, 1 bis 2, 2 bis 3, 3 bis 4, 4 bis 5, 5 bis 6, 6 bis 7, 7 bis 8, 8 bis 9, 9 bis 10 und 10 bis übernacht gesammelt. Alle Proben wurden in isotonischem Puffer erneut suspendiert und geeignete Verdünnungen wurden auf GM17 (M17 Medium, Difco, St. Louis, ergänzt mit 0,5 % Glucose) Platten geschichtet, die entweder Cm, Em oder Em + 50 µg/ml Thymidin enthielten. Koloniebildende Einheiten für die unterschiedlichen Platten sind in dem Schaubild dargestellt.

Beschreibung der Erfindung

[0023] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, ein geeignetes biologisches Einschließungssystem für *Lactococcus* zur Verfügung zu stellen.

[0024] Ein erster Aspekt der Erfindung ist die Verwendung eines Stamms von *Lactococcus* sp., der ein Thymidylat-Synthase-Gen umfasst, das durch Gendisruption inaktiviert ist. *Lactococcus* sp. ist bevorzugt *Lactococcus lactis*. Eine besondere Ausführungsform ist ein *Lactococcus* sp. Stamm, vorzugsweise *Lactococcus lactis*, besonders bevorzugt ein *Lactococcus lactis* MG1363 Derivat, wobei das Thymidylatsynthasegen disrupiert wird und durch eine Interleukin-10 Expressionseinheit ersetzt wird. Die Interleukin-10 Expressionseinheit ist vorzugsweise eine humane Interleukin-10 Expressionseinheit oder ein Gen, das für humanes Interleukin-10 kodiert, aber es ist nicht darauf beschränkt.

[0025] Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft die Verwendung eines Stammes gemäß der Erfindung als Wirtsstamm zur Transformation, wobei das transformierende Plasmid kein Thymidylat-Synthase-Gen umfasst, das durch Gendisruption inaktiviert wurde. Ein noch weiterer Aspekt der Erfindung betrifft einen transformierten Stamm von *Lactococcus* sp. gemäß der Erfindung, der ein Plasmid umfasst, das ein durch Gendisruption inaktiviertes Thymidylat-Synthase-Gen aufweist. Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft einen transformierten Stamm von *Lactococcus* sp., der ein Gen oder eine Expressionseinheit umfasst, die für ein prophylak-

tisches und/oder therapeutisches Molekül, wie beispielsweise Interleukin-10, kodiert. Demgemäß betrifft die vorliegende Erfindung auch die Verwendung eines transformierten Stamms von *Lactococcus* sp., um prophylaktische und/oder therapeutische Moleküle abzugeben, und als solchen um Krankheiten zu behandeln. Verfahren zur Abgabe der Moleküle und Verfahren zur Behandlung von Erkrankungen, wie beispielsweise entzündliche Darmerkrankungen, werden ausführlich in der WO 97/14806 und der WO 00/23471 von Steidler u.a und in Steidler u.a. (Science 200, 289:1352) erläutert.

[0026] Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft eine medizinische Herstellung, die einen transformierten Stamm von *Lactococcus* sp. gemäß der Erfindung umfasst.

[0027] Das *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Thymidylat-Synthase-Gen (*thyA*) wurde von Ross u.a. (1990a) kloniert; seine Sequenz ist in SED ID N° 3 und SED ID N° 5 beinhaltet. Die EP 0406003 offenbart einen Vektor, dem eine antibiotische Resistenz fehlt und der ein Thymidylat-Synthase-Gen als Selektionsmarker trägt; der selbe Vektor ist von Ross u.a. (1990b) beschrieben worden. Allerdings konnte dieser Vektor aufgrund des Fehlens einer geeigneten *thyA*-Mutante, die nie beschrieben wurde, nicht in einem *Lactococcus lactis* Stamm verwendet werden. Die vorliegende Erfindung offenbart, wie eine solche Mutante durch Genruption mittels einer homologen Rekombination in *Lactococcus* konstruiert werden kann. In einer bevorzugten Ausführungsform wird das *thyA* Gen durch eine funktionelle humane Interleukin-1 Expressionskassette disruptiert. Allerdings ist es klar, dass für die Genruption jedes Konstrukt verwendet werden kann, solange dies zu einer Inaktivierung des *thyA* Gens oder einer inaktiven Thymidylat-Synthase führt. Als nicht einschränkendes Beispiel kann die homologe Rekombination zu einer Deletion des Gens in einer oder mehr Aminosäuresubstitutionen führen, die eine inaktive Form der Thymidylat-Synthase ergibt, oder auch zu einer Rasterverschiebungsmutation, was zu einer verkürzten Proteinform führt.

[0028] Eine solche *Lactococcus* sp. *thyA* Mutante ist als Wirtsstamm für eine Transformation in den Situationen sehr nützlich, in denen eine stärkere Einschließung als die rein physische Einschließung notwendig ist. Tatsächlich können *thyA* Mutanten nicht in einer Umgebung ohne oder nur mit einer beschränkten Konzentration an Thymidin und/oder Thymin überleben. Wenn ein solcher Stamm mit einem Plasmid transformiert wird, das kein intaktes *thyA* Gen umfasst und die Mutation nicht komplementieren kann, wird der transformierte Stamm in einer Thymidin/Thymin-armen Umgebung suizidal. Ein solcher Stamm kann in einem Fermenter verwendet werden, und zwar als zusätzlicher Schutz für die physische Einschließung. Darüber hinaus offenbart die vorliegende Erfindung, dass ein solcher Stamm in den Fällen besonders nützlich ist, in denen der Stamm als Abgabevetikel in einen Tierkörper verwendet wird. In der Tat überlebt ein solcher transformierter Stamm, wenn er einem Tier – einschließlich einem Menschen – zum Beispiel oral verabreicht wird, im Darm, vorausgesetzt eine ausreichend hohe Konzentration an Thymidin/Thymin ist vorhanden, und erzeugt homologe und/oder heterologe Proteine, wie beispielsweise humanes Interleukin-10, das für das Tier nützlich sein kann. Die vorliegende Erfindung zeigt weiter, dass die transformierten Stämme überraschenderweise den Darm mit derselben Geschwindigkeit wie die Kontrollstämme passieren, und zeigt, dass ihr Verlust an Lebensfähigkeit tatsächlich nicht von der der Kontrollstämme unterschiedlich ist. Allerdings ist der Stamm, sobald er in die Umgebung abgegeben wird, z.B. im Kot, nicht in der Lage, weiterzuleben.

[0029] Das transformierende Plasmid kann jedes Plasmid sein, solange es nicht die *thyA* Mutation komplementieren kann. Es kann sich hierbei um ein selbstreplizierendes Plasmid handeln, das vorzugsweise ein oder mehr interessante Gene und ein oder mehr Resistenzmarker trägt, oder es kann ein integratives Plasmid sein. Im letzteren Fall kann das integrative Plasmid selbst dazu verwendet werden, die Mutation zu erzeugen, indem die Integration an der *thyA* Stelle bewirkt wird, wodurch das *thyA* Gen inaktiviert wird. Vorzugsweise wird das aktive *thyA* Gene durch doppelte homologe Rekombination mittels einer Kassette ersetzt, die das interessante Gen oder die interessanten Gene umfasst, welche durch Zielsequenzen flankiert sind, die die Insertion auf die *thyA* Zielstelle richten. Es ist von äußerster Wichtigkeit, dass diese Sequenzen ausreichend lang und ausreichend homolog sind, um eine Integration der Sequenz in die Zielstelle zu erreichen. Vorzugsweise bestehen diese Zielsequenzen aus mindestens 100 benachbarten Nukleotiden an einer Seite des interessanten Gens und mindestens 100 benachbarten Nukleotiden von SEQ ID N° 2 an der anderen Seiten; besonders bevorzugt bestehen die Zielsequenzen aus mindestens 500 benachbarten Nukleotiden von SEQ ID N° 1 an einer Seite des interessanten Gens und mindestens 500 benachbarten Nukleotiden von SEQ ID N° 2 an der anderen Seite; am meisten bevorzugt bestehen die Zielsequenzen aus SEQ ID N° 1 an einer Seite des interessanten Gens und aus SEQ ID N° 2 an der anderen Seite, oder die Zielsequenzen bestehen aus mindestens 100 Nukleotiden, die zu mindestens 80 % identisch, vorzugsweise zu 90 % mit einer Region von SEQ ID N° 1 an einer Seite des interessanten Gens identisch sind, und aus mindestens 100 Nukleotiden, die zu mindestens 80 % identisch, vorzugsweise 90 % mit einer Region von SEQ ID N° 2 an der anderen Seite des interessanten Gens identisch sind, vorzugsweise bestehen die Zielsequenzen aus mindestens 500 Nukleotiden, die zu mindestens

80 % identisch, vorzugsweise 90 % mit einer Region von SEQ ID N° 1 an einer Seite des interessanten Gens identisch sind, und aus mindestens 500 Nukleotiden, die zu mindestens 80 % identisch, vorzugsweise 90 % mit einer Region von SEQ ID N° 2 an der anderen Seite des interessanten Gens identisch sind, am meisten bevorzugt bestehen die Zielsequenzen aus mindestens 1000 Nukleotiden, die zu mindestens 80 % identisch, vorzugsweise 90 % mit einer Region von SEQ ID N° 1 an einer Seite des interessanten Gens identisch sind, und aus mindestens 1000 Nukleotiden, die zu mindestens 80 % identisch, vorzugsweise zu 90 % mit einer Region von SEQ ID N° 2 an der anderen Seite des interessanten Gens identisch sind. Die prozentuale Identität wird mit BLAST gemäß Altschul u.a. (1997) gemessen. Ein bevorzugtes Beispiel einer Sequenz, die zu SEQ ID N° 1 homolog ist, wird in SEQ ID N° 7 gegeben. Für den Zweck der Erfindung sind SEQ ID N° 1 und SEQ ID N° 7 austauschbar.

[0030] Transformationsverfahren von *Lactococcus* sind dem Fachmann bekannt und umfassen die Protoplasttransformation und Elektroporation, sind aber nicht darauf beschränkt.

[0031] Ein transformierter *Lactococcus* sp. Stamm gemäß der Erfindung ist zur Abgabe von prophylaktischen und/oder therapeutischen Molekülen nützlich und kann in einer pharmazeutischen Zusammensetzung verwendet werden. Die Abgabe von solchen Molekülen ist als nicht einschränkendes Beispiel in der WO 97/14806 und in der WO 98/31786 offenbart worden. Die prophylaktischen und/oder therapeutischen Moleküle umfassen Polypeptide, wie beispielsweise Insulin, Wachstumshormon, Prolactin, Calcitonin, Zytokine der Gruppe 1, Zytokine der Gruppe 2 und Zytokine der Gruppe 3, und Polysaccharide, wie beispielsweise Polysaccharidantigene von pathogenen Bakterien, sind aber nicht darauf beschränkt. Eine bevorzugte Ausführungsform ist die Verwendung eines *Lactococcus* sp. Stamms gemäß der Erfindung zur Abgabe von humanem Interleukin-10. Dieser Stamm kann zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der Crohn-Krankheit wie oben angegeben verwendet werden.

Beispiele

[0032] Von *L. lactis* MG1363 (Gasson, 1983) haben wir die Regionen auskloniert, die die Sequenz gemäß Roos u.a. (1990a) flankieren.

[0033] Die Kenntnis von diesen Sequenzen ist von kritischer Bedeutung für die Gentechnik jedes *Lactococcus*-Stamms, wie unten beschrieben, da die Strategie eine doppelte homologe Rekombination in den Gebieten 1000 bp am 5'-Ende (SEQ ID N° 1) und 1000 bp am 3'-Ende (SEQ ID N° 2) von thyA, dem „thyA Ziel“, anwendet. Diese Sequenzen sind bis jetzt nicht aus einer öffentlichen Quelle erhältlich. Wir haben diese flankierenden DNA-Fragmente kloniert und ihre Sequenz identifiziert. Die Sequenz des gesamten Locus ist in der SEQ ID N° 3 gezeigt; eine Mutantenversion dieser Sequenz ist in SEQ ID N° 5 gezeigt. Sowohl die 5'- als auch die 3'-Sequenz unterscheiden sich von der Genbank-Sequenz AE 006385, die die *L. lactis* IL1403 Sequenz beschreibt (Bolotin, in der Presse) oder AF 336368, die die *L. lactis* subsp. *Lactis* CHCC373 Sequenz beschreibt. Aus der Literatur ist ersichtlich, dass die homologe Rekombination durch Verwendung der veröffentlichten Sequenzen benachbart zu thyA (Ross u.a., 1990a) (86 bp am 5'-Ende und 31 bp am 3'-Ende) aufgrund der Kürze der Sequenzen praktisch unmöglich ist. Tatsächlich beschreiben Biswas u.a. (1993) eine logarithmisch abnehmende Korrelation zwischen der Länge der homologen Sequenzen und der Häufigkeit der Integration. Die Sequenzen von *L. lactis* Thy11, Thy12, Thy15 und Thy16 am thyA Locus, wie in der vorliegenden Erfindung bestimmt, werden durch SEQ ID N° 19, 20, 21 bzw. 22 angegeben.

[0034] Der thyA Austausch wird durch Herstellung von geeigneten Austauschen in einer Plasmid getragenen Version des thyA Ziels durchgeführt, wie nachfolgend beschrieben. Das Trägerplasmid ist von pORI19 abgeleitet (Law u.a., 1995), einem replikationsdefekten Plasmid, das die Erythromycinresistenz nur einem bestimmten Stamm überträgt, wenn eine erste homologe Rekombination entweder an 5' 1000 bp oder am 3' 1000 pg des thyA Ziels erfolgt. Eine zweite homologe Rekombination an 3' 1000 bp oder an 5' 1000 bp des thyA-Ziels ergibt den gewünschten Stamm.

[0035] Das thyA-Gen wird durch ein synthetisches Gen ersetzt, das ein Protein kodiert, das den *L. lactis* Usp45 Sekretionsleader (van Asseldonk u.a., 1990) an ein Protein mit identischer Aminosäuresequenz fusioniert hat, und zwar als: (a) den reifen Teil von humanem Interleukin 10 (hIL-10) oder (b) den reifen Teil von hIL-10, bei dem Prolin in der Position 2 durch Alanin ersetzt wurde, oder (c) den reifen Teil von hIL-10, bei dem die ersten zwei Aminosäuren deletiert wurden; (a), (b) und (c) werden hIL-10 Analoge genannt, die Fusionsprodukte werden als Usp45-hIL-10 bezeichnet.

[0036] Das thyA Gen wird durch eine Expressionseinheit ersetzt, umfassend den *Lactococcus*-P1 Promotor

(Waterfield u.a., 1995), die E. coli Bakteriophagen T7 Expressionssignale: vemeintliche RNA-Stabilisierungssequenz und modifizierte Gen 10 ribosomale Bindungsstelle (Wells und Schofield, 1996):

[0037] Am 5'-Ende wird die Insertion derart durchgeführt, dass das ATG von thyA an die P1-T7Usp45-hIL-10 Expressionseinheit fusioniert wird.

5' agataggaaaatttcatgacttacgcagatcaagtttt...thyA Wildtyp
gattaagtcatcttacctctt...P1-T7-usp45-hIL10

5' agataggaaaatttcatgattaagtcatcttacctctt...thyA⁻, P1-T7-usp45-hIL10

[0038] Alternativ wird am 5'-Ende die Insertion derart durchgeführt, dass das thyA ATG nicht eingeschlossen ist:

5' agataggaaaatttcacttacgcagatcaagtttt...thyA Wildtyp
gattaagtcatcttacctctt...P1-T7-usp45-hIL10

5' agataggaaaattcgattaagtcatcttacctctt...thyA⁻, P1-T7-usp45-hIL10

[0039] Alternativ wird am 5'-Ende die Insertion derart durchgeführt, dass der thyA Promoter [Ross, 1990 a] nicht eingeschlossen ist:

5' tctgagaggttattttggaaatactatttgcaccatatcgaggtgtgtggataatgaaggg
aattaaaaagataggaaaattcatg...thyA Wildtyp

gattaagtcatcttacctctt...P1-T7-
usp45-hIL10

5' tctgagaggttattttggaaatactatttgcattaatcttacctctt...thyA⁻, P1-
T7-usp45-hIL10

[0040] Am 3'-Ende wurde eine ACTAGT Spel Restriktionsstelle direkt benachbart zum TAA Stoppkodon der usp45-hIL-10 Sequenz konstruiert. Diese wurde in eine

[0041] TCTAGA XbaI Restriktionsstelle ligiert, die direkt im Anschluss an das thyA Stoppkodon synthetisiert wurde.

aaaatccgtaactaactagt3'...usp45-hIL10
gatttagcaatttaaattaaattaatctataagtt3'...thyA- Wildtyp
tctagaattaatctataagttactga3'...synthetisiertes thyA Ziel
aaaatccgtaactaactagaaattaaatctataagttactga3'...thyA⁻, usp45-hIL10

[0042] Diese Konstrukte sind in der [Fig. 2](#) gezeigt. Die Sequenzen von pOThy11, pOThy12, pOThy15 und pOThy16 sind durch SEQ ID N° 23, 24, 25 bzw. 26 gegeben.

[0043] Die sich ergebenden Stämme sind thyA-defizient, eine Mutante, die noch nicht für L. lactis beschrieben wurde. Sie hängt streng von der Zugabe von Thymin oder Thymidin für das Wachstum ab.

[0044] Die Deletionskarte sowie die PCR-Analyse aller Isolate/Mutanten der vorliegenden Erfindung sind in den [Fig. 3](#) und [Fig. 4](#) gezeigt. Das Vorhandensein der Thymidylat-Synthase und des Interleukin-10 Gens im Wildtyp-Stamm und in den unabhängigen Isolaten/Mutanten wurde mittels Southern Analyse analysiert, wie in den [Fig. 5](#) und [Fig. 6](#) gezeigt. Die Region um das insertierte hIL-10 Gen wurde mittels PCR isoliert und die DNA-Sequenz wurde verifiziert. Der Aufbau ist mit der vorhergesagten Sequenz identisch.

[0045] Die humane Interleukin-10 Produktion in die Mutanten wurde mittels Western Blot Analyse geprüft und mit dem parentalen Stamm, der mit pTREX1 als negative Kontrolle transformiert war, und dem parentalen Stamm, der mit dem IL 10 erzeugendens Plasmid pT1HIL10apxa als positive Kontrolle transformiert war, verglichen ([Fig. 7A](#)). Die Konzentration im Kulturüberstand wurde mittels ELISA quantitativ bestimmt. Wie in der

Fig. 7B gezeigt ist, erzeugen beide Isolate der Mutante eine vergleichbare, signifikante Menge an hIL-10, auch wenn viel weniger als der Stamm, der mit dem nicht integrativen Plasmid pT1HIL10apxa transformiert ist. Die **Fig. 8** (Veranschaulichung A und B) zeigen weiter, dass alle Mutanten eine signifikante Menge an h-IL 10 erzeugen.

[0046] Die **Fig. 9** zeigt die Herstellung von hIL-10 durch die *L. lactis* Stämme LL108, die entweder pOThy11, pOThy12 oder pOThy16 tragen. Die Menge von hIL-10 wird (mittels ELISA) bestimmt, das im Kulturüberstand der angegebenen Stämme vorhanden ist. Die N-terminale Proteinsequenz des rekombinanten hIL-10 wurde durch Edman-Abbau bestimmt und war, wie sich zeigte, identisch mit dem Aufbau, wie er für das reife, rekombinante hIL-10 vorhergesagt war. Das Protein zeigte die volle biologische Wirksamkeit. LL108 ist ein *L. lactis* Stamm, der eine genomische Integration des repA Gens trägt, das für die Replikation von pORI19 abgeleiteten Plasmiden, wie beispielsweise pOThy11, pOThy12, pOThy15 oder pOThy16 erforderlich ist. Dieser Stamm wurde freundlicherweise von Dr. Jan Kok von der Universität Groningen zur Verfügung gestellt. Die Plasmide pOThy11, pOThy12, pOThy15 und pOThy16 tragen das synthetische humane IL-10 Gen in unterschiedlichen Promotorkonfigurationen (siehe **Fig. 2**), flankiert von ungefähr 1 kB genomischer DNA, die vom thyA Locus stammt, und zwar stromauwärts und stromabwärts von thyA. Diese Plasmide wurden zur Konstruktion der genomischen Integration verwendet, wie beschrieben.

[0047] Die Wirkung der Thymidilatsynthasedeletion auf das Wachstum in Medien mit weniger Thymidin und in mit Thymidin ergänzten Medien wurde getestet; die Ergebnisse sind in den **Fig. 10** und **Fig. 11** zusammengefasst. Das Fehlen von Thymidin im Medium schränkt das Wachstum der Mutante stark ein und führt sogar nach vier Stunden Kultivierung zu einer Abnahme der koloniebildenden Einheiten. Die Zugabe von Thymidin zum Medium führt im Vergleich zum Wildtyp-Stamm zu einer identischen Wachstumskurve und Menge von koloniebildenden Einheiten, was zeigt, dass die Mutante das Wachstum oder die Lebensfähigkeit in einem mit Thymidin ergänzten Medium nicht beeinflusst. Die **Fig. 11** zeigt klar, dass die Thy12 Lebensfähigkeit bei einem Fehlen von Thymidin stark beeinträchtigt ist.

[0048] Die **Fig. 12** zeigt schließlich, dass *L. lactis* Thy12 den Darm von Mäusen mit der gleichen Geschwindigkeit wie MG1363 passiert. Ein Verlust der Lebensfähigkeit scheint zwischen Thy12 und MG1363 nicht unterschiedlich zu sein. Thy12 scheint von Thymidin im Hinblick auf das Wachstum vollständig abzuhängen, was zeigt, dass keine Thy12 Bakterien ein fremdes thyA Gen aufgenommen hatten.

Literatur

- Altschul, S. F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman D.J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25, 3389–3402.
- Biswas, I., Gruss, A., Ehrlich, S.D. et al. (1993) High-efficiency gene inactivation and replacement system for grampositive bacteria. *J. Bacteriol.* 175, 3628–3635.
- Gasson, M. J. (1983). Plasmid complements of *Streptococcus lactis* NCDO 712 and other lactic streptococci after protoplast-induced curing. *J. Bacteriol.* 154, 1–9.
- Kaplan, D.L., Mello, C., Sano, T., Cantor, C. and Smith, C. (1999). Streptavidin-based containment system for genetically engineered microorganisms. *Biomol. Eng.* 31, 135–140.
- Knudsen, S., Saadbye, P., Hansen, L.H., Collier, A., Jacobsen, B.L., Schlundt J. And Karstrom, O.H. (1995). Development and testing of improved suicide functions for biological containment of bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 985–991.
- Law, J., Buist, G., Haandrikman, A. et al. (1995). A system to generate chromosomal mutations in *Lactococcus lactis* which allows fast analysis of targeted genes. *J. Bacteriol.* 177, 7011–7018.
- Molina, L., Ramos, C., Ronchel, M.C., Molin, S. and Ramos, J.L (1998). Construction of an efficient biologically contained *pseudomonas putida* strain and its survival in outdoor assays. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2072–2078.
- Ross, P., O'Gara, F. and Condon, S. (1990a). Cloning and characterization of the thymidylate synthase gene from *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 2156–2163.
- Ross, P., O'Gara, F. and Condon, S. (1990b). Thymidylate synthase gene from *Lactococcus lactis* as a genetic marker: an alternative to antibiotic resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 2164–2169.
- Schweder, T., Hofmann, K. And Hecker, M. (1995). *Escherichia coli* K12 *relA* strains as safe hosts for expression of recombinant DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 718–723.
- Steidler, L., Hans, W., Schotte, L., Neirynck, S., Obermeier, F., Falk, W., Fier, W. and Remaut, F. (2000). Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting Interleukin-10. *Science* 289, 1352–1355.
- Steidler, L. Wells, J.M., Raeymaekers, A., Vandekerckhove, J., Fiers, W. And Remaut, E. (1995). Secretion

of biologically active murine Interleukin-2 by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1627–1629.

– Tedin, K. Witte, A. Reisinger, G., Lubitz, W. and Basi, U. (1995). Evaluation of the *E. coli* ribosomal *rmB P1* promoter and phage derived lysis genes for the use in biological containment system: a concept study. *J. Biotechnol.* 39, 137– 148.

– van Asseldonk, M., Rutten, G., Oteman, M. et al. (1990). Cloning of *usp45*, a gene encoding a secreted protein from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MG1363. *Gene* 95, 155–160.

– Waterfield, N.R., Le Page, R.W., Wilson, P.W. et al. (1995) The isolation of lactococcal promoters and their use in investigating bacterial luciferase synthesis in *Lactococcus lactis*. *Gene* 165, 9–15.

– Wells, J.M. and Schofield, K.M. (1996) Cloning and expression vectors for *Lactococci*. *Nato ASI series H* 98, 37–62.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> VLAAMS INTERUNIVERSITAIR INSTITUUT VOOR BIOTECHNOLOGIE VZW

<120> Selbsterhaltender Lactococcus Stamm

<130> LS/ThyAV085

<150> EP01201631.7

<151> 2001-05-03

<150> EP01204785.8

<151> 2001-12-07

<160> 26

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1000

<212> DNA

<213> Lactococcus lactis

<400> 1

tatatacaat tgagcaaaag aaattttagtt attaaattac cagctggagt tcctccaatg	60
gtttagatt cactaagtcc agcaattatt tcaatggta tttctgttt gatgttcggg	120
atccgtgtgg gattctctta tacgccattc catgatattt tcaatttctc aacacaacta	180
atccaaggcac cgttgactgg tgctgtggca aatccatggg ttcttatggg catctttacc	240
tttggtaatt tcttatggtt ctgggtatc caccctaatt taattggggg aattttaaat	300
ccattgttat taacaatgtc atatgctaattt attgatgcct atgctgccgg aaaacctgtat	360
ccatacttac aaatgatgat tgggttgct gtgggtgcga acgcatgggg cggaagtggaa	420
aatactttag ggttagttat ttcaatgttt acggcaaaat ctgaacgcta taaacaatttt	480
ttaaaattttat gtgcaattcc tagtattttc aatatcagtg aaccattact ttttggtctt	540
ccaatgatgt taaatcctct tttctttatt ccttggttt tccaaaccagc aatttttagga	600
actgttagcat tgggcttggc aaagatatta tatattacaa atctgaatcc aatgacggca	660
cttcttcctt ggacgacacc agcacctgtg agaatggcca tttcaggtgg acttccat	720
ttgatttattt ttgcaatctg ttttagtctt aatgttctta tttactaccc attctttaag	780
gtggcgtata ataaagcttt agaagaagaa aaagcagctg ttgaattttaga gggttcagaa	840
actgcctgat ggatattttt tataaatctg gtttgaacaa attatattga catcttttt	900
tctatcctga taattctgag aggttattttt gggaaatact attgaaccat atcgaggtgt	960
gtggtataat gaaggaaattt aaaaaagata ggaaaatttc	1000

<210> 2

<211> 1000

<212> DNA

<213> Lactococcus lactis

<400> 2

taaattaatc tataagttac tgacaaaact gtcagtaact tttttgtgg gaaaaatgta	60
ttttatgac cgtaaagaat ctgtcagtag aagtctgaaa ttcgtttaaa aatcgactag	120
aataggctt aacgacaaga tgttttaaag agtacgctct aatgtatTT ttgtatTTT	180
gtttgattac gaagttaaa tttaattgac aaatgtttt aatgagtt aataggactt	240
gttaaccgatt ttatTTTaaaggagaaa gaaagatgaa caaactttt cttggaacag	300
ccttatagg ggctagctt ctgattgggt ggggtgctca tgcagatcaa atgttatacg	360
tttgtataat cataatactg gtgagcactc tatacaacta gtgggacacc aaaagaatgc	420
taatgttaatgt gcgggttggg cttatgaagg tgcgggtgg atcgacccaa caacaaggTC	480
aagcccagtt taccgtgtgt acaatccaaa tgcattatta cacaaaaAGC aagtatgaag	540
cccaaagttt agtaaataag ggttggaaat gggataataa cgaaaaggcg gtcttctatt	600
ctggagggttc tcaagccgta tatgtcgctt ataatcccaa tgcacaatct ggcgctcaca	660
attacacgga aagtagcttt gagcaaaata gcttattgaa tactgggtgg aaatatgggg	720
cagtagcttgcgttacgggatt ggagtaaaaa acgaaatgtt aaacattgct caaattgtta	780
gtggtaattt ttcttagtatt gtttggaaactt ggaaagatac ttctggaaat atgcttggaa	840
ttaatgcaat gggaaatctt actttatataat gggaaaggggc aaagaatcaa acctttgaac	900
ttggcgcagg tcaacaattt aatggaaactg cagatattgc cttaaaaat ggagagattt	960
ccccctggtag tccacttaac attttgggg taccacacaga	1000

<210> 3
 <211> 7157
 <212> DNA
 <213> Lactococcus lactis

<220>
 <221> CDS
 <222> (4473)..(5312)
 <223>

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6612)..(6612)
 <223> 'n' may be any base

<220>

<221> misc_feature
 <222> (7099)..(7099)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7110)..(7110)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7117)..(7141)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7143)..(7147)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7149)..(7156)
 <223> 'n' may be any base

<400> 3

gnagnngttt	tcccagtccg	acgttgtaaa	acgacggcca	gtgaattcat	taacagcctt	60
ttgagcagct	agctcattat	tttcaaataa	atcataaaatt	tcttcccac	tatctgattt	120
atgattgcta	gcataatttgt	tgtataatcg	aacgagtcca	ttttgaacag	atccatataag	180
attgagtgaa	ctataaaata	catctatatac	atagttgagt	ttgttcacaa	tcatgagacc	240
aaattctcca	gcatttcgtg	tagaaccacg	ataaagctgt	ttatttagca	aatggcacc	300
tccgacaccc	gtacctaaag	tcatgcaa	aaaattttgg	ctttcttg	cattccctag	360
ccaaagttca	gctagacctg	cacaatttgc	atcattttca	acataaaaccg	gaagatttaa	420
atgttttgt	agttctgtcc	ccaatggata	gccataaaaga	tca	ctcctgccag	480
taataatgtt	ccctttttgt	cagaagttcc	ggaaacactt	acaccaattt	cagatactga	540
atgatgagct	tttaactgtat	aatattttgt	gagcaagcta	tccataattt	tttctttttt	600
taatggggtt	ggaacttgc	aatgttgtat	gatcg	tca	actagtttta	660
ttttataat	gtaccaccga	tatcaattcc	tattgaataa	tgc	atctttttt	720
tctctaattt	gttttagtat	agcaaaatca	aaaaattaat	tatgttatgc	attatagata	780
tgttgataa	tttgcacaaa	aacggagaaa	actatgaaaa	caatagaaca	gctcatgata	840
gattcagcag	atttatgtc	agattttatt	caattgacaa	tttttatatt	ccgcaaggag	900
gattttcaac	tttttatag	gagtgtat	gaagagcaag	cttttcaag	gtatgactc	960
caacttattt	atagtgtttt	atgttcagat	aatgcccgt	gactttgtca	tgcagctcca	1020
ccgatttga	gaacgacagc	gacttccgtc	ccagccgtgc	caggtgctgc	ctcagattca	1080
ggttatgccg	ctcaatttgc	tgcgtatatac	gcttgctgtat	tacgtgc	aggc	1140
ggcgggattc	atacagcgcc	cagccatccg	tcatccat	caccacgtca	aagggtgaca	1200
gcaggctcat	aagacgcccc	agcgtcgcca	tagtgcgttc	accgaatacg	tgcgcaacaa	1260
ccgtcttccg	gagactgtca	tacgcgtaaa	acagccagcg	ctggcgccat	ttagccccga	1320

catagccccca	ctgttcgtcc	atttccgcgc	agacgatgac	gtcactgccc	ggctgtatgc	1380
gcgagggttac	cgactgcggc	ctgagttttt	taagtgcacgt	aaaatcggtt	tgaggccaac	1440
gcccataatg	cgggctgttg	cccgccatcc	aacgccattc	atggccatat	caatgatttt	1500
ctgggtcgta	ccgggttgag	aagcggtgta	agtgaactgc	agttgccatg	ttttacggca	1560
gtgagagcag	agatagcgct	gatgtccggc	ggtgcttttgc	ccgttacgca	ccaccccgtc	1620
agtagctgaa	caggagggac	agctgataga	aacagaagcc	actggagcac	ctcaaaaaca	1680
ccatcataca	ctaaatcagt	aagttggcag	catcaccctt	tttcaaaaga	aatcatcgct	1740
catttatctc	agttgccctt	gaaggaagag	gtgaattttat	tttatatgcc	taagataaaa	1800
ggatataatta	cttatttttc	tgtatttggt	aaagaggagt	atcttctact	tatttttaaa	1860
ggacaagaaa	aacttgcaaa	taatcccttc	cccggttgaag	taaaacaatt	attaaaaagt	1920
ggtattttac	tctatcaaata	gattttcaa	aaaaaatttag	attatgaaga	attatttgag	1980
aaaaatcagc	atattatttc	tccattgttt	gctgctaaac	caattgaatg	gaatgattcc	2040
aatacgtgag	gaaagttaaat	tcccataaaa	catactttt	tgaaaaatat	ttgggggaat	2100
gtgttattcg	tggagatgtt	gcagagttaa	aaaaagcttt	ttcaaaattat	atgaataaaag	2160
gaactgctgg	aaaattatct	aataattcaa	tgcgacataa	aaaaaacatt	ttgatttcag	2220
tcatcactat	gactactcg	tcggctatac	aggaggatt	acctgaagaa	gaagctttt	2280
tgtatgtga	tttatataatt	caagagcttgc	aagaattaac	ggaatttagaa	gaaatttagaa	2340
cgcttcctta	taatgtgatg	atcgatttttgc	cagataaaagt	gaaacagcat	cgatattgtc	2400
aggtttctta	taaaatattta	tcttgcaaa	agtatattgt	taatcatttt	tacgaaaaac	2460
taagtgtgag	tggaaatttgc	gaagagctac	acatgaatat	ttcttattta	tcttcacaat	2520
tcaaaaaaga	gacagggcaa	acaattacaa	acttttattca	ggagaagcga	atagaagaag	2580
ctagagaatt	aatcccttttc	tcagactatc	cttttcaag	aattttatacc	ttgttgggttt	2640
tactgccaaa	gtcattttat	aaaaatattt	aaaaaatata	ctggataaac	tcccaaaaag	2700
tttcaagatc	agtatatttt	tcatgcctct	acatcaatat	atgattgaaa	ttaaaaaaaag	2760
acctagaatt	tcaaaattga	taaaatacat	acctaaaata	ttaattctgt	actattacgg	2820
gtggagtatc	tactgtataa	tgagggtata	aattatggaa	gaagggagta	aaactaaatt	2880
tattgatgtt	tttacgaatt	aattaggata	tttttttaa	aaacccaaaga	aaacgcttac	2940
aaacgttaaa	ggagtgaatc	taaagatgga	caaatttgaa	aaatggctaa	ataagacctt	3000
gatgccactt	gcctcaaaaa	tgaataaaaa	tcatttcatt	tcggcattaa	gtgaagcatt	3060
tatgagatgt	atgcccttaa	cattaggat	tgcattattg	acaattata	gatactttcc	3120
agttcctgcc	tggtagatt	tcttaaactc	tattggactg	gctcagcatt	tttcagcagt	3180
tattggtgca	gttaccagtgc	cgcttagcaat	ttatgttaact	tataatttttgc	tttattttca	3240
tgtaaatcgta	catgaatata	atggccatac	ggccggttta	ttatcaatcg	caagttgtt	3300
aatgctaatgc	ccacaaatta	ttactgtccc	tgtataaaaa	aacattccaa	ccgaatttcc	3360

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

gaaatccgcg gtagttgaca gtgtgtcaaa tggtaagca tttcaaacgg tatacacggg	3420
tagcacagga ttaattttagt caatcataat tggtttatt gtttcattag tctatataca	3480
attgagcaaa agaaatttag ttattaaattt accagctgga gttcctccaa tggttttaga	3540
ttcactaagt ccagcaatta tttcaatggt gatttctgt ttgatgttcg ggattcgtgt	3600
gggattctct tatacgccat tccatgatat tttcaatttc tcaacacaac taattcaagc	3660
accgttact ggtgctgtgg caaatccatg ggttctttag ggcattttta ctttggtaa	3720
tttcttatgg ttctttggta tccaccctaa tttaattggg ggaattttaa atccattgtt	3780
attaacaatg tcatatgcta atattgatgc ctatgctgcc ggaaaacctg taccatactt	3840
acaaatgatg attgtgtttt ctgtgggtgc gaacgcatttgg ggcggaaagtg gaaataactta	3900
tgggttagtt atttcaatgt ttacggcaaa atctgaacgc tataaaacaat tattaaaatt	3960
aggtgcaatt cctagtattt tcaatatcag tgaaccatta cttttggc ttccatgat	4020
gttaaatcct cttttcttta tccctttggt tttcaaccca gcaatttttag gaactgttagc	4080
atggggcttg gcaaagatata tatataattac aaatctgaat ccaatgacgg cacttctcc	4140
ttggacgaca ccagcacctg tgagaatggc catttcaggt ggacttccat ttttgcattat	4200
ttttgcatac tgtttagtct tgaatgttct tattttactac ccattcttta aggtggcgta	4260
taataaaagct tttagaagaag aaaaagcagc tgttgaatta gaggggttcag aaactgcctg	4320
atggatattt ttataaaatc tggtttgaac aaattatatt gacatcttctt tttctatcct	4380
gataattctg agaggttatt ttggggaaata ctattgaacc atatcgaggt gtgtggata	4440
atgaaggaa ttaaaaaaga taggaaaatt tc atg act tac gca gat caa gtt Met Thr Tyr Ala Asp Gln Val 1 5	4493
ttt aaa caa aat atc caa aat atc cta gat aat ggt gtt ttt tca gaa Phe Lys Gln Asn Ile Gln Asn Ile Leu Asp Asn Gly Val Phe Ser Glu 10 15 20	4541
aat gca aga cca aag tat aag gat ggt caa atg gcg aat agc aaa tat Asn Ala Arg Pro Lys Tyr Lys Asp Gly Gln Met Ala Asn Ser Lys Tyr 25 30 35	4589
gtc act ggt tca ttc gtt act tat gat ttg caa aag ggg gag ttt cca Val Thr Gly Ser Phe Val Thr Tyr Asp Leu Gln Lys Gly Glu Phe Pro 40 45 50 55	4637
att acc act ttg cgt cca att cca atc aaa tct gct att aaa gaa ttg Ile Thr Thr Leu Arg Pro Ile Pro Ile Lys Ser Ala Ile Lys Glu Leu 60 65 70	4685
atg tgg ata tac caa gac caa aca agt gaa ctt tct gtt ctc gaa gag Met Trp Ile Tyr Gln Asp Gln Thr Ser Glu Leu Ser Val Leu Glu Glu 75 80 85	4733
aag tat gga gtc aaa tac tgg gga gaa tgg gga att ggt gat ggt acg Lys Tyr Gly Val Lys Tyr Trp Gly Glu Trp Gly Ile Gly Asp Gly Thr 90 95 100	4781
att ggg caa cgt tat ggt gca aca gtc aaa aaa tat aat atc att ggt Ile Gly Gln Arg Tyr Gly Ala Thr Val Lys Lys Tyr Asn Ile Ile Gly 105 110 115	4829

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

aaa tta tta gaa ggc ttg gcc aaa aat cca tgg aat cgt cgt aat atc Lys Leu Leu Glu Gly Leu Ala Lys Asn Pro Trp Asn Arg Arg Asn Ile 120 125 130 135	4877
atc aac ctt tgg cag tat gaa gat ttt gag gaa aca gaa ggt ctt tta Ile Asn Leu Trp Gln Tyr Glu Asp Phe Glu Glu Thr Glu Gly Leu Leu 140 145 150	4925
cca tgt gct ttc caa acg atg ttt gat gtc cgt cga gaa aaa gat ggt Pro Cys Ala Phe Gln Thr Met Phe Asp Val Arg Arg Glu Lys Asp Gly 155 160 165	4973
cag att tat ttg gat gcc aca ctg att caa cgt tca aac gat atg ctt Gln Ile Tyr Leu Asp Ala Thr Leu Ile Gln Arg Ser Asn Asp Met Leu 170 175 180	5021
gta gcc cac cat atc aat gcg atg caa tat gtt gct ttg caa atg atg Val Ala His His Ile Asn Ala Met Gln Tyr Val Ala Leu Gln Met Met 185 190 195	5069
att gca aaa cat ttt tct tgg aaa gtt ggg aaa ttc ttt tat ttt gta Ile Ala Lys His Phe Ser Trp Lys Val Gly Lys Phe Phe Tyr Phe Val 200 205 210 215	5117
aat aat tta cat att tat gat aat cag ttt gag cag gca aat gaa tta Asn Asn Leu His Ile Tyr Asp Asn Gln Phe Glu Gln Ala Asn Glu Leu 220 225 230	5165
atg aag cga aca gct tct gaa aaa gaa cct cgt ttg gtc ctt aat gtt Met Lys Arg Thr Ala Ser Glu Lys Glu Pro Arg Leu Val Leu Asn Val 235 240 245	5213
cct gat ggt aca aac ttt ttc gat att aaa cct gaa gat ttt gaa ctt Pro Asp Gly Thr Asn Phe Phe Asp Ile Lys Pro Glu Asp Phe Glu Leu 250 255 260	5261
gtg gac tat gag cca gta aaa cct caa ttg aaa ttt gat tta gca att Val Asp Tyr Glu Pro Val Lys Pro Gln Leu Lys Phe Asp Leu Ala Ile 265 270 275	5309
taa attaatctat aagttactga caaaactgtc agtaactttt tttgtggaa	5362
aaatgtattt ttatgaccgt aaagaatctg tcagtagaaag tctgaaattc gtttaaaaat	5422
cgactagaat aggctttaac gacaagatgt tttaaagagt acgctctaaa tgtattttg	5482
tattttgtt tgattacgaa gtttaaattt aattgacaaa tgtttaaaa tgagtataat	5542
aggacttcta accgatttta ttttataaa ggagaaagaa agatgaacaa acttttactt	5602
ggaacagcct ttataggggc tagcttactg attgggtgggg gtgctcatgc agatcaaatg	5662
tttacgttt gtataatcat aatactggtg agcactctat acaacttagtg ggacaccaaa	5722
agaatgctaa tgtaagtgcg gggtggactt atgaaggtgt cggttggatc gcaccaacaa	5782
caagtcaag cccagttac cgtgtgtaca atccaaatgc attattacac aaaaagcaag	5842
tatgaagccc aaagtttagt aaataagggt tggaaatggg ataataacgg aaaggcggtc	5902
ttctattctg gaggttctca agccgtatata gtcgcttata atcccaatgc acaatctggc	5962
gctcacaatt acacggaaag tagctttagag caaaaatagct tattgaatac tggttggaaa	6022
tatggggcag tagcttggta cgggattgga gtaaaaaacg aaatgttaaa cattgctcaa	6082
attgttagtg gtaatttttc tagtattgtt ggaacttggaa aagatacttc tggaaatatg	6142

cttggaaat	atgcaatggg	aatcttact	ttaatatgga	aaggggcaaa	aatcaaacc	6202							
tttgaactt	g	gcgcagg	tca	acaat	ttaaat	gga	aaaaatgga	6262					
gagatttccc	ctggtagtcc	acttaacatt	tttgttgtac	caacagaagt	tgcttccct	6322							
aataataaaa	aagt	agacga	ttcaactggg	caacaacgaa	tttttgtgaa	ttattctggt	6382						
acaaggcc	c	tc	aaatggcgaa	tagtatggca	gcgg	tttttagagt	tattccatga	6442					
ttatattaaa	gtt	agaattt	g	aataaaatgt	attat	aaaa	agataatatt	atatc	cacgac	6502			
aaggc	gcacat	ctatcaactt	taccactggt	atg	gaagt	ga	ccattattac	atc	aggaaac	6562			
gctaaaacgg	ttgtt	tttac	acc	cgtaaaa	taaataataa	aataatgtgn	aattactgac	6622					
agcattttgt	cag	taat	ttt	atc	acacacaaa	aatgtcg	ttt	gac	gaacaaa	6682			
aaaaactatg	ttataataat	tcgtatgcga	act	aaaaaaag	aagc	gattgg	ccgact	ttt	ta	6742			
aaagt	agcca	gcaaccaa	at	gtctcgagaa	ttt	gataatt	ttgcag	ctca	acttgat	6802			
acagg	tcagc	aaatgtcaat	ttt	agat	ttt	cttggaa	aa	agc	gaaga	agg	tcagga	6862	
aaagaaat	ttt	gtcagacgat	gat	ttt	gaat	ttata	tcc	gac	gtt	ca	acgacg	6922	
gaaat	ttt	ac	g	cgat	gg	aa	agc	gg	ctt	gac	ccgat	6982	
gcccgc	aaa	aa	atc	agtt	gtt	atc	ga	aga	aca	aa	g	tgaaatc	7042
gcttatatcc	a	agc	acataa	taaaaa	aa	gct	gt	taatc	atg	gtc	atag	ctgtt	7102
ggttagg	ngg	g	cc	an	nn	nn	nn	nn	nn	nn	nn	nn	7157

<210> 4
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> Lactococcus lactis

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6612)..(6612)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7099)..(7099)
 <223> 'n' may be any base

<220>
 <221> misc_feature

<222> (7110)..(7110)

<223> 'n' may be any base

<220>

<221> misc_feature

<222> (7117)..(7141)

<223> 'n' may be any base

<220>

<221> misc_feature

<222> (7143)..(7147)

<223> 'n' may be any base

<220>

<221> misc_feature

<222> (7149)..(7156)

<223> 'n' may be any base

<400> 4

Met	Thr	Tyr	Ala	Asp	Gln	Val	Phe	Lys	Gln	Asn	Ile	Gln	Asn	Ile	Leu
1				5				10				15			

Asp	Asn	Gly	Val	Phe	Ser	Glu	Asn	Ala	Arg	Pro	Lys	Tyr	Lys	Asp	Gly
		20			25						30				

Gln	Met	Ala	Asn	Ser	Lys	Tyr	Val	Thr	Gly	Ser	Phe	Val	Thr	Tyr	Asp
				35			40			45					

Leu	Gln	Lys	Gly	Glu	Phe	Pro	Ile	Thr	Thr	Leu	Arg	Pro	Ile	Pro	Ile
				50		55			60						

Lys	Ser	Ala	Ile	Lys	Glu	Leu	Met	Trp	Ile	Tyr	Gln	Asp	Gln	Thr	Ser
				65		70		75			80				

Glu	Leu	Ser	Val	Leu	Glu	Glu	Lys	Tyr	Gly	Val	Lys	Tyr	Trp	Gly	Glu
				85		90				95					

Trp	Gly	Ile	Gly	Asp	Gly	Thr	Ile	Gly	Gln	Arg	Tyr	Gly	Ala	Thr	Val
				100			105			110					

Lys	Lys	Tyr	Asn	Ile	Ile	Gly	Lys	Leu	Leu	Glu	Gly	Leu	Ala	Lys	Asn
					115			120			125				

Pro	Trp	Asn	Arg	Arg	Asn	Ile	Ile	Asn	Leu	Trp	Gln	Tyr	Glu	Asp	Phe
					130		135			140					

Glu	Glu	Thr	Glu	Gly	Leu	Leu	Pro	Cys	Ala	Phe	Gln	Thr	Met	Phe	Asp
					145		150		155		160				

Val	Arg	Arg	Glu	Lys	Asp	Gly	Gln	Ile	Tyr	Leu	Asp	Ala	Thr	Leu	Ile
					165			170			175				

Gln	Arg	Ser	Asn	Asp	Met	Leu	Val	Ala	His	His	Ile	Asn	Ala	Met	Gln
					180			185			190				

Tyr	Val	Ala	Leu	Gln	Met	Met	Ile	Ala	Lys	His	Phe	Ser	Trp	Lys	Val
					195		200			205					

Gly	Lys	Phe	Phe	Tyr	Phe	Val	Asn	Asn	Leu	His	Ile	Tyr	Asp	Asn	Gln
					210		215			220					

Phe Glu Gln Ala Asn Glu Leu Met Lys Arg Thr Ala Ser Glu Lys Glu
 225 230 235 240

Pro Arg Leu Val Leu Asn Val Pro Asp Gly Thr Asn Phe Phe Asp Ile
 245 250 255

Lys Pro Glu Asp Phe Glu Leu Val Asp Tyr Glu Pro Val Lys Pro Gln
 260 265 270

Leu Lys Phe Asp Leu Ala Ile
 275

<210> 5

<211> 7094

<212> DNA

<213> Lactococcus lactis

<220>

<221> CDS

<222> (4469)..(5305)

<223>

<400> 5

gtttttccca	gtccgacgtt	gtaaaacgac	ggccagtgaa	ttcattaaca	gccttttag	60
cagctagctc	attattttga	aataaatcat	aaatttcttt	cccaactatct	gatttatgat	120
tgcttagata	tttgggtgtat	aatcgaacgaa	gtccattttg	aacagatcca	tatagattga	180
gtgaactata	aaatacatct	atatcatagt	tgagttgtt	cacaatcatg	agaccaaatt	240
ctccagcatt	tcgtgtagaa	ccacgataaa	gctgtttatt	tagcaaaatg	gcaccccgaa	300
cacctgtacc	taaagtcatg	caaataaaat	tttggctttc	ttgtccattc	cctagccaaa	360
gttcagctag	acctgcacaa	ttggcatcat	tttcaacata	aaccgaaaga	tttaaatgtt	420
ttttagtttc	tgtcccaat	ggatagccat	aaagatcagt	tagagctcct	gccagtaata	480
atgttccctt	tttgcagaa	gttccggaa	cacttacacc	aattgcagat	actgaatgat	540
gagctttaa	ctgtatgata	tttgcagca	agctatccat	aatttttct	ttttttatg	600
gggttggAAC	ttgtaaatgt	tgtatgatcg	ttccatca	agttacaaga	ccaaattttt	660
taaatgtacc	accgatata	attcctattt	aataatgc	cttttattac	ctctttctct	720
aattttttt	agtatagcaa	aatcaaaaaa	ttaattatgg	tatgcattat	agatatgttg	780
tataattttc	acaaaaacgg	agaaaactat	gaaaacaata	gaacagctca	tgtatgatcc	840
agcagatttA	atgtcagatt	ttattcaatt	gacaattttt	atattccgca	aggaggattt	900
tcaacttttt	tataggagtg	atgaagaaga	gcaagctttt	tcaaggtat	gactccaaact	960
tattgatagt	tttttatgtt	cagataatgc	ccgatgactt	tgtcatgcag	ctccaccgat	1020
tttgagaacg	acagcgactt	ccgtcccagc	cgtgccaggt	gctgcctcag	attcaggtta	1080
tgccgctcaa	ttcgctgcgt	atatcgctt	ctgattacgt	gcagcttcc	cttcaggcgg	1140

gattcataca	gcggccagcc	atccgtcata	catacacca	cgtcaaagg	tgacagcagg	1200	
ctcataagac	gcggccagcg	cgccatagtg	cgttcaccga	atacgtgcgc	aacaaccgtc	1260	
ttccggagac	tgtcatacgc	gtaaaacagc	cagcgctggc	gcgatttagc	cccgacata	1320	
ccccactgtt	cgtccatttc	cgcgcagacg	atgacgtcac	tgcccgctg	tatgcgcgag	1380	
gttaccgact	gcggccctgag	tttttaagt	gacgtaaaat	cgtgttggagg	ccaaacgccc	1440	
taatgcgggc	tgttgcccg	catccaacgc	cattcatggc	cataatcaatg	attttctgg	1500	
gcgtaccggg	ttgagaagcg	gtgttaagtga	actgcagttg	ccatgttttta	cggcagtgag	1560	
agcagagata	gcgcgtatgt	ccggcggtgc	ttttgcgtt	acgcaccacc	ccgtcagtag	1620	
ctgaacagga	gggacagctg	atagaaacag	aagccactgg	agcacctcaa	aaacaccatc	1680	
atacactaaa	tca	gtaagtt	ggcagcatca	cccttttca	aaagaaatca	tgcgtcattt	1740
atctcagttg	cccttgaagg	aagaggtgaa	tttattttat	atgcctaaga	taaaaggata	1800	
tattacttat	ttttctgtat	ttggtaaaga	ggagtatctt	ctacttattt	ttaaaggaca	1860	
agaaaaaactt	gc	aaataatc	tttccccgt	tgaagtaaaa	caattattaa	aaagtggat	1920
tttactctat	caa	atgattt	ttcaagaaaa	attagattat	gaagaattat	ttgagaaaaaa	1980
tcagcatatt	atttctccat	tgcttgctgc	taaaccatt	gaatggaatg	attccaatac	2040	
gtgagggaaag	taaattccca	taaaacatat	cttttgaaa	aatatttggg	ggaatgtgtt	2100	
attcggtggag	atgttgcaga	gttaaaaaaaa	gcttttcaa	attatatgaa	taaaggaact	2160	
gctggaaaat	tatctaataa	ttcaatgcga	cataagaaaa	acattttgat	ttcagtcata	2220	
actatgacta	ctcgttcggc	tatacaggg	ggattacctg	aagaagaagc	tttttgatg	2280	
agtgat	tttcaaga	gcttgaagaa	ttaacggaat	tagaagaaat	tagaacgctt	2340	
gcctataatg	t	gatgatcga	ttttgcagat	aaagtgaaac	agcatcgata	ttgtcaggtt	2400
tcttataaaa	tattatctt	tcaaaagtat	attgttata	atttatacga	aaaactaagt	2460	
gtgagtgaaa	t	gcagaaga	gtcacacatg	aatatttctt	atttatcttc	acaattcaaa	2520
aaagagacag	gj	caaacaat	tacaaacttt	attcaggaga	agcgaataga	agaagctaga	2580
gaattatcc	t	tttctcaga	ctatccttt	tcaagaattt	ataccctgtt	ggttttactg	2640
ccaaagtcat	t	tataaaaaa	tat	ataactgg	ataactccca	aaaagttca	2700
agatcagtat	attt	atcatg	cctctacatc	aatatatgat	tgaaattaaa	aaaagaccta	2760
gaatttcaaa	at	tgataaaaa	tacataccta	aaatattaat	tctgtactat	tacgggtgga	2820
gtatctactg	tataatgagg	gtataaatta	tggaaaagg	gagtaaaaact	aaatttattg	2880	
atggttttac	ga	attaatta	ggatattttt	ttaaaaaacc	aaagaaaacg	cttacaaacg	2940
ttaaaggagt	ga	atctaaag	atggacaat	ttggaaaatg	gctaaataag	accttgatgc	3000
cacttgctc	aaaaatgaat	aaaaatcatt	tcatttcggc	attaagtgaa	gcatttatga	3060	
gatgtatgcc	cttaacatta	gggattgcat	tattgacaat	tataggatac	tttccagttc	3120	
ctgcctgggt	agatttctta	aactctattg	gactggctca	gcattttca	gcagttattg	3180	

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

gtgcagttac cagtgcgcta gcaatttatg taacttataa ttttgcgttat tcttatgtaa	3240
atcgcatga atataatggc catacggccg gtttattatc aatcgcaagt ttgttaatgc	3300
taatgccaca aattattact gtccctgtag taaaaaacat tccaaccgaa tttccgaaat	3360
ccgcggtagt tgacagtgtg tcaaatttttca aacggtataac acggtagca	3420
caggattaaat tgtagcaatc ataattggtt ttattgttcc attagtctat atacaatttgaa	3480
gcaaaagaaa ttttagtttattt aaattaccag ctggagttcc tccaatggtt gtagattcac	3540
taagtccagc aattattttca atggtgattt tctgtttgtat gttcgggatt cgtgtggat	3600
tctcttatac gccattccat gatattttca atttctcaac acaactaattt caagcaccgt	3660
tgactggtgc tggcaaat ccatgggttc ttatggcat cttaacctt ggttaattct	3720
tatggttctt tggtatccac cctaatttaa ttggggaaat tttaaatcca ttgttattaa	3780
caatgtcata tgctaataattt gatgcctatg ctggggaaa acctgtacca tacttacaaa	3840
tgatgattgt gtttgctgtg ggtgcgaacg catggggcg aagtggaaat acttatgggt	3900
tagttatttc aatgtttacg gcaaaatctg aacgctataa acaatttatta aaatttaggtg	3960
caattccctag tattttcaat atcagtgaaac cattacttt tggtcttcca atgatgttaa	4020
atcctttttt cttaatttcct ttggtttcc aaccagcaat ttttaggaact gtagcattgg	4080
gttggcaaa gatatttatattt attacaaatc tgaatccat gacggcactt ctcccttggaa	4140
cgacaccagc acctgtgaga atggccattt caggtggact tccatttttgg attattttgg	4200
caatctgtttt agtcttgaat gttcttattt actacccattt cttaagggtg gcgtataata	4260
aagctttaga agaagaaaaaa gcagctgttg aatttagaggg ttccagaaact gcctgatgga	4320
tattttttat aaatctggtt tgaacaaattt atattgacat ctctttttctt atcctgataaa	4380
ttctgagagg ttatttggg aaatactattt gaaccatatac gaggtgggtt ggtataatgaa	4440
agggaattaa aaaagatagg aaaatttc atg act tac gca gat caa gtt ttt	4492
Met Thr Tyr Ala Asp Gln Val Phe	
1 5	
aaa caa aat atc caa aat atc cta gat aat ggt gtt ttt tca gaa aat	4540
Lys Gln Asn Ile Gln Asn Ile Leu Asp Asn Gly Val Phe Ser Glu Asn	
10 15 20	
gca aga cca aag tat aag gat ggt caa atg gcg aat agc aaa tat gtc	4588
Ala Arg Pro Lys Tyr Lys Asp Gly Gln Met Ala Asn Ser Lys Tyr Val	
25 30 35 40	
act ggt tca ttc gtt act tat gat ttg caa aag ggg gag ttt cca att	4636
Thr Gly Ser Phe Val Thr Tyr Asp Leu Gln Lys Gly Glu Phe Pro Ile	
45 50 55	
acc act ttg cgt cca att cca atc aaa tct gct att aaa gaa ttg atg	4684
Thr Thr Leu Arg Pro Ile Pro Ile Lys Ser Ala Ile Lys Glu Leu Met	
60 65 70	
tgg ata tac caa gac caa aca agt gaa ctt tct gtt ctc gaa gag aag	4732
Trp Ile Tyr Gln Asp Gln Thr Ser Glu Leu Ser Val Leu Glu Glu Lys	
75 80 85	
tat gga gtc aaa tac tgg gga gaa tgg gga att ggt gat ggt acg att	4780
Tyr Gly Val Lys Tyr Trp Gly Glu Trp Gly Ile Gly Asp Gly Thr Ile	

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

90

95

100

ggg caa cgt tat ggt gca aca gtc aaa aaa tat aat atc att ggt aaa Gly Gln Arg Tyr Gly Ala Thr Val Lys Lys Tyr Asn Ile Ile Gly Lys 105 110 115 120	4828
tta tta gaa ggc ttg gcc aaa aat cca tgg aat cgt cgt aat atc atc Leu Leu Glu Gly Leu Ala Lys Asn Pro Trp Asn Arg Arg Asn Ile Ile 125 130 135	4876
aac ctt tgg cag tat gaa gat ttt gag gaa aca gaa ggt ctt tta cca Asn Leu Trp Gln Tyr Glu Asp Phe Glu Glu Thr Glu Gly Leu Leu Pro 140 145 150	4924
tgt gct ttc caa acg atg ttt gat gtc cgt cga gaa aaa gat ggt cag Cys Ala Phe Gln Thr Met Phe Asp Val Arg Arg Glu Lys Asp Gly Gln 155 160 165	4972
att tat ttg gat gcc aca ctg att caa cgt tca aac gat atg ctt gta Ile Tyr Leu Asp Ala Thr Leu Ile Gln Arg Ser Asn Asp Met Leu Val 170 175 180	5020
gcc cac cat atc aat gcg atg caa tat gtt gct ttg caa atg atg att Ala His His Ile Asn Ala Met Gln Tyr Val Ala Leu Gln Met Met Ile 185 190 195 200	5068
gca aaa cat ttt tct tgg aaa gtt ggg aaa ttc ttt tat ttt gta aat Ala Lys His Phe Ser Trp Lys Val Gly Lys Phe Phe Tyr Phe Val Asn 205 210 215	5116
aat tta cat att tat gat aat cag ttt gag cag gca aat gaa tta atg Asn Leu His Ile Tyr Asp Asn Gln Phe Glu Gln Ala Asn Glu Leu Met 220 225 230	5164
aag cga aca gct tct gaa aaa gaa cct cgt ttg gtc ctt aat gtt cct Lys Arg Thr Ala Ser Glu Lys Glu Pro Arg Leu Val Leu Asn Val Pro 235 240 245	5212
gat ggt aca aac ttt ttc gat att aaa cct gaa gat ttt gaa ctt gtg Asp Gly Thr Asn Phe Phe Asp Ile Lys Pro Glu Asp Phe Glu Leu Val 250 255 260	5260
gac tat gag cca gta aaa cct caa ttg aaa ttt gat tta gca att Asp Tyr Glu Pro Val Lys Pro Gln Leu Lys Phe Asp Leu Ala Ile 265 270 275	5305
taaattaatc tataagttac tgacaaaaact gtcagtaact tttttgtgg gaaaaatgtta tttttatgac cgtaaagaat ctgtcagtag aagtctgaaa ttctttttaaa aatcgactag	5365
aataggcttt aacgacaaga tggttttaag agtacgctct aatgttattt ttgtatTTT	5425
gtttgattac gaagttttaa tttaattgac aaatgtttta aatgagttt aataggactt	5485
gtacccgatt ttatTTTTaa aaggagaaaa gaaagatgaa caaaactttt cttggAACAG	5545
cctttatagg ggcttagctt ctgattgggt ggggtgctca tgcagatcaa atgtttatcg	5605
tttgtataat cataataactg gtgagcactc tataacaacta gtgggacacc aaaagaatgc	5665
taatgttaagt gcgggttggc cttatgaagg tgcgggttgg atcgcaccaa caacaagttc	5725
aagcccgatTTT taccgtgtt acaatccaaa tgcatttata cacaAAAAGC aagtatgaag	5785
cccaaaagttt agtaaataag gttggaaat gggataataa cggaaaggcg gtcttctatt	5845
ctggaggttc tcaagccgtt tatgtcgctt ataatccaa tgcacaatct ggcgctcaca	5905
	5965

attacacgga aagtagcttt gagcaaaata gcttattgaa tactggttgg aaatatgggg	6025
cagtagctt gtagggatt ggagtaaaaa acgaaatgtt aaacattgct caaattgtta	6085
gtggtaattt ttctagtatt gttggaaactt gaaagatac ttctggaaat atgcttggaa	6145
ttaatgcaat gggaaatctt actttaatat gaaaggggc aaagaatcaa accttgaac	6205
ttggcgcagg tcaacaattt aatgaaactg cagatattgc cttaaaaaat ggagagattt	6265
ccccctggtag tccacttaac attttggtt taccaacaga agttgccttc cctaataata	6325
aaaaagtaga cgattcaact gggcaacaac gaattttgtt gaattattct ggtacaagcc	6385
ctcaaatggc gaatagtatg gcagcggtgg cttttttag agttattcca tgattatatt	6445
aaagtttagaa ttgaataaaaa tgtattatta aaaagataat attatatcac gacaaggcga	6505
catctatcaa cttaaccact ggtatggaag tgaccattat tacatcagga aacgctaaaaa	6565
cgttggttt tacacccgta aaataaataa taaaataatg tgaaattact gacagcattt	6625
tgtcagtaat ttttttatac aaaatcacac aaaaatgttc gttgacgaac aaaaaaaaaact	6685
atgttataat aattcgtatg cgaactaaaa aagaagcgat tggccgactt ttaaaagtag	6745
ccagcaacca aatgtctcgaa gaatttgata atttgcagc tcaacttgat ttgacaggc	6805
agcaaatgtc aatttttagat tttcttgaa atcaaagcgaa agaaggttca ggaaaagaaaa	6865
ttagtcagac gatgattgaa tttagaattta atatccgacg ttcaacaacg acggaaattt	6925
tacagcgcattt gaaaaagcgg cttaaattta atcgaagaac aagcctgacc gatccccgcc	6985
aaaaatcagt tgaattaact gaagaaggaa aaagatattt acctgaaatc agggcttata	7045
tccaaagcaca taataaaaaaa gcttggcgta atcatggtca tagctgttt	7094

<210> 6

<211> 279

<212> PRT

<213> Lactococcus lactis

<400> 6

Met Thr Tyr Ala Asp Gln Val Phe Lys Gln Asn Ile Gln Asn Ile Leu			
1	5	10	15

Asp Asn Gly Val Phe Ser Glu Asn Ala Arg Pro Lys Tyr Lys Asp Gly		
20	25	30

Gln Met Ala Asn Ser Lys Tyr Val Thr Gly Ser Phe Val Thr Tyr Asp		
35	40	45

Leu Gln Lys Gly Glu Phe Pro Ile Thr Thr Leu Arg Pro Ile Pro Ile		
50	55	60

Lys Ser Ala Ile Lys Glu Leu Met Trp Ile Tyr Gln Asp Gln Thr Ser			
65	70	75	80

Glu Leu Ser Val Leu Glu Glu Lys Tyr Gly Val Lys Tyr Trp Gly Glu		
85	90	95

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

Trp Gly Ile Gly Asp Gly Thr Ile Gly Gln Arg Tyr Gly Ala Thr Val
100 105 110

Lys Lys Tyr Asn Ile Ile Gly Lys Leu Leu Glu Gly Leu Ala Lys Asn
115 120 125

Pro Trp Asn Arg Arg Asn Ile Ile Asn Leu Trp Gln Tyr Glu Asp Phe
130 135 140

Glu Glu Thr Glu Gly Leu Leu Pro Cys Ala Phe Gln Thr Met Phe Asp
145 150 155 160

Val Arg Arg Glu Lys Asp Gly Gln Ile Tyr Leu Asp Ala Thr Leu Ile
165 170 175

Gln Arg Ser Asn Asp Met Leu Val Ala His His Ile Asn Ala Met Gln
180 185 190

Tyr Val Ala Leu Gln Met Met Ile Ala Lys His Phe Ser Trp Lys Val
195 200 205

Gly Lys Phe Phe Tyr Phe Val Asn Asn Leu His Ile Tyr Asp Asn Gln
210 215 220

Phe Glu Gln Ala Asn Glu Leu Met Lys Arg Thr Ala Ser Glu Lys Glu
225 230 235 240

Pro Arg Leu Val Leu Asn Val Pro Asp Gly Thr Asn Phe Phe Asp Ile
245 250 255

Lys Pro Glu Asp Phe Glu Leu Val Asp Tyr Glu Pro Val Lys Pro Gln
260 265 270

Leu Lys Phe Asp Leu Ala Ile
275

<210> 7
<211> 1000
<212> DNA
<213> Lactococcus lactis

<400> 7

atatacaatt gagcaaaga aatttagtta ttaaattacc agctggagtt cctccaatgg	60
ttgttagattc actaagtcca gcaattattt caatggtgat tttctgtttg atgttcggga	120
ttcgtgtggg attctcttat acgccattcc atgatatttt caatttctca acacaactaa	180
ttcaagcacc gttgactgggt gctgtggcaa atccatgggt tcttatgggc atcttacct	240
ttggtaattt cttatggttc tttggtatcc accctaattt aattggggga attttaatc	300
cattgttatt aacaatgtca tatgctaata ttgatgccta tgctgccgga aaacctgtac	360
catacttaca aatgatgatt gtgttgctg tgggtgcgaa cgcattgggc ggaagtggaa	420
atacttatgg gttagttatt tcaatgttta cggcaaaatc tgaacgctat aaacaattat	480
taaaattagg tgcaattcct agtattttca atatcagtga accattactt tttggtcttc	540
caatgatgtt aaatcctctt ttcttattc ctttggttt ccaaccagca attttaggaa	600
ctgttagcatt gggcttggca aagatattat atattacaaa tctgaatcca atgacggcac	660
ttcttccttg gacgacacca gcacctgtga gaatggccat ttcaggtgga cttccatttt	720
tgattatttt tgcaatctgt tttagtcttga atgttcttat ttactaccca ttctttaagg	780
tggcgatataa taaagcttta gaagaagaaa aagcagctgt tgaatttagag ggttcagaaaa	840
ctgcctgatg gatattttt ataaatctgg tttgaacaaa ttatattgac atctctttt	900
ctatcctgat aattctgaga ggttattttg gggaaatacta ttgaaccata tcgaggtggt	960
gtggtataat gaagggattt aaaaaagata ggaaaatttc	1000

<210> 8
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> oligonucleotide primer

<400> 8
 atgacttacg cagatcaagt tttt 24

<210> 9
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> oligonucleotide primer

<400> 9
 ttaaattgtt aatcaaaattt tcaattt 27

<210> 10
 <211> 20
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> oligonucleotide primer

<400> 10

tctgatttag taccttgacc 20

<210> 11

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> oligonucleotide primer

<400> 11

gcaatcataa ttggtttat tg 22

<210> 12

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> oligonucleotide primer

<400> 12

cttacatgac tatgaaaatc cg 22

<210> 13

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> oligonucleotide primer

<400> 13

cttttttatt attagggaaa gca 23

<210> 14

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> expression unit comprising the lactococcal P1 promoter, the E.coli bacteriophage T7 expression signals, putative RNA stabilising sequence and modified gene10 ribosomal binding site

<400> 14

gattaagtca tcttacacctt t 21

<210> 15

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> thyA-, P1-T7-usp45-hIL10

<400> 15

agataggaaa atttcatgga ttaagtcac ttacctctt 39

<210> 16

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> ATG not included, thyA-, P1-T7-usp45-hIL10

<400> 16

agataggaaa atttcgatta agtcatctta cctctt 36

<210> 17

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> thyA promoter not included, theA-, P1-T7-usp45-hIL10

<400> 17

tctgagaggta tattttggaa aatactagat taagtcatctt 48

<210> 18

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> thyA-, usp45-hIL10

<400> 18

aaaatccgtta actaactaga attaatctat aagttactga 40

<210> 19

<211> 6967

<212> DNA

<213> Lactococcus lactis

<220>

<221> misc feature

<223> Thy11

<400> 19

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

attaacagcc tttttagcag ctagctcatt attttgcataa aatcataaaa tttctttccc	60
actatctgat ttatgattgc tagcatattt gttgtataat cgaacgagtc cattttgaac	120
agatccatat agattgagtg aactataaaa tacatctata tcatagttga gtttggcac	180
aatcatgaga ccaaattctc cagcatttcg tgtagaacca cgataaaagct gtttatttag	240
caaaatggca cctccgacac ctgtaccaa agtcatgcaaa ataaaatttt ggcttcttg	300
tccattccct agccaaagtt cagctagacc tgccacaattt gcatcatttt caacataaac	360
cggaagattt aaatgttttt gtagttctgt ccccaatgga tagccataaa gatcagttt	420
agctcctgcc agtaataatg ttcccttttt gtcagaagtt ccggaaacac ttacaccaat	480
tgcagatact gaatgatgag cttttaactg atgaatattt gtgagcaagc tatccataat	540
tttttctttt tttaatgggg ttggaacttg taaatgttgt atgatcggtt catcactagt	600
tacaagacca aattttataa atgtaccacc gatataattt cctattgaat aatgcatttt	660
tttattacctc ttctctaat ttgttttagt atagaaaaat caaaaaatta attatggat	720
gcattataga tatgttgtat aattttcaca aaaacggaga aaactatgaa aacaatagaa	780
cagctcatga tagattcagc agatttatg tcagattta ttcaatttgc aatttttata	840
ttccgcaagg aggatttca actttttat aggagtgtat aagaagagca agcttttca	900
aggtaatgac tccaaacttat tgatagtgtt ttatgttcag ataatgcccc atgactttgt	960
catgcagctc caccgattt gagaacgaca gcgacttccg tcccagccgt gccaggtgct	1020
gcctcagatt caggttatgc cgctcaattt gctgcgtata tcgcttgctg attacgtgca	1080

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

tttttcagca	gttattggtg	cagttaccag	tgcgctagca	atttatgtaa	cttataattt	3180
tgcttattct	tatgtaaatc	gtcatgaata	taatggccat	acggccggtt	tattatcaat	3240
cgcaagtttgc	ttaatgctaa	tgccacaaat	tattactgtc	cctgttagtaa	aaaacattcc	3300
aaccgaattt	ccgaaatccg	cggtagttga	cagtgtgtca	aatgttgaag	catttcaaacc	3360
ggtatacacf	ggtagcacag	gattaattgt	agcaatcata	attggtttttta	ttgtttcatt	3420
agtctatata	caattgagca	aaagaaattt	agttattaaa	ttaccagctg	gagttcctcc	3480
aatggttgtat	gattcactaa	gtccagcaat	tattcaatg	gtgattttct	gtttgatgtt	3540
cgggattcgt	gtgggattct	cttatacgcc	attccatgtat	atttcaattt	tctcaacaca	3600
actaattcaa	gcaccgttga	ctgggtctgt	ggcaaattcca	tgggttctta	tggcatctt	3660
taccttggta	aatttcttat	ggttcttgg	tatccaccct	aatttaattt	ggggaaatttt	3720
aaatccatttgc	ttattaacaa	tgtcatatgc	taatattgtat	gcctatgctg	ccggaaaacc	3780
tgtaccatac	ttacaaatga	tgattgtgtt	tgctgtgggt	gcaacgcatt	ggggcggaaag	3840
tggaaataact	tatgggttag	ttatttcaat	gtttacggca	aaatctgaac	gctataaaca	3900
attattaaaa	ttaggtgcaa	ttcctagttat	tttcaatatc	agtgaaccat	tacttttgg	3960
tcttccaatgt	atgtttaatc	ctctttctt	tattccttgc	gtttccaac	cagcaatttt	4020
aggaaactgta	gcattgggct	tggcaaagat	attatataatt	acaaatctga	atccatgac	4080
ggcacttctt	ccttggacga	caccagcacc	tgtgagaatg	gccatccat	gtggacttcc	4140
atttttgatt	atttttgcaa	tctgttttagt	cttgaatgtt	cttatttact	acccattctt	4200
taaggtggcg	tataataaaag	ctttagaaga	agaaaaaagca	gctgttgaat	tagagggttc	4260
agaaaactgcc	tgatggatata	tttttataaa	tctggtttgc	acaaattata	ttgacatctc	4320
tttttctatc	ctgataattc	tgagaggtta	ttttggaaa	tactattgaa	ccatatcgag	4380
gtgggtgttgt	ataatgaagg	gaattaaaaaa	agataggaaa	atttcatgga	ttaagtcatc	4440
ttacctcttt	tattagtttt	ttcttataat	ctaattgataa	cattttata	attaatctat	4500
aaaccatatc	cctcttttgg	atcaaaattt	attatctact	cctttgtaga	tatgttataa	4560
tacaagtatc	agatctggga	gaccacaacg	gtttccact	agaaataatt	ttgtttaact	4620
tttagaaagga	gatatacgca	tgaaaaaaaaaa	gattatctca	gctattttaa	tgtctacagt	4680
catactttct	gctgcagccc	cgttgcagg	tgttacgcc	ttagctggtc	aaggtactca	4740
atcagaaaaac	tcatgtactc	actttccagg	taacttgcca	aacatgcttc	gtgatttgcg	4800
tgatgttttt	tcacgtgtta	aaactttttt	tcaaatgaaa	gatcaacttg	ataacttgct	4860
tttgaagaa	tcacttttgg	aagattttaa	aggttacctt	ggttgtcaag	ctttgtcaga	4920
aatgatccaa	ttttaccttg	aagaagttat	gccacaagct	gaaaaccaag	atccagatat	4980
caaagctcac	gttaactcat	tgggtgaaaa	ccttaaaact	ttgcgttcc	gtttgcgtcg	5040
ttgtcaccgt	tttcttccat	gtgaaaacaa	atcaaaagct	gttgaacaag	ttaaaaacgc	5100
tttaacaaa	ttgcaagaaa	aaggtatcta	caaagctatg	tcagaatttg	atatctttat	5160

caactacatc	gaagcttaca	tgactatgaa	aatccgtaac	taactagaat	taatctataa	5220
gttactgaca	aaactgtcag	taacttttt	tgtgggaaaa	atgtatTTT	atgaccgtaa	5280
agaatctgtc	agtagaagtc	tgaaattcgt	ttaaaaatcg	actagaatag	gcttaacga	5340
caagatgttt	taaagagtac	gctctaaatg	tatTTTgtA	ttttgtttg	attacgaagt	5400
ttaaatttaa	ttgacaaatg	ttttaaaatg	agtataatag	gacttgtaac	cgatTTTatt	5460
tttataaagg	agaaagaaag	atgaacaaac	ttttacttgg	aacagecctt	ataggggcta	5520
gcttaactgat	ttgtgggggt	gctcatgcag	atcaaATgtt	tatcgTTgt	ataatcataa	5580
tactggtag	cactctatac	aactagtggg	acacccaaag	aatgctaatg	taagtgcggg	5640
ttggacttat	gaaggtgtcg	gttggatcgc	accaacaaca	agttcaagcc	cagTTTaccg	5700
tgtgtacaat	ccaaatgcat	tattacacaa	aaagcaagta	tgaagccaa	agtttagtaa	5760
ataagggttg	gaaatggat	aataacggaa	aggcggtctt	ctattctgga	ggttctcaag	5820
ccgtatATgt	cgcttataat	cccaatgcac	aatctggcgc	tcacaattac	acggaaagta	5880
gctttgagca	aaatagcttA	ttgaataactg	gttggaaata	tggggcagta	gcttggtagc	5940
ggattggagt	aaaaaacgaa	atgttaaaca	ttgctcaaAT	tgttagtgg	aattttctA	6000
gtattgttg	aacttgaaa	gatacttctg	gaaatATgt	tgaatTTAat	gcaatgggaa	6060
atcttacttt	aatatggaaa	ggggcaaaga	atcaaACCTT	tgaacttggc	gcaggtcaac	6120
aatttaatgg	aactgcagat	attgccttaa	aaaatggaga	gatttccct	ggttagtccac	6180
ttaacatTTT	tgttgacca	acagaagttt	cttccctaa	taataaaaaa	gtagacgatt	6240
caactgggca	acaacgaatt	tttgtgaatt	attctggtag	aagccctcaa	atggcgaata	6300
gtatggcagc	ggtggctttt	tttagagttA	ttccatgatt	atattaaagt	tagaattgaa	6360
taaaatgtat	tattaaaaag	ataatattat	atcacgacaa	ggcgacatct	atcaactttA	6420
ccactggtag	ggaagtgacc	attattacat	caggAACgc	taaaacggtt	gttttacac	6480
ccgtaaaata	aataataaaa	taatgtgaaa	ttactgacag	cattttgtca	gtaatTTTT	6540
ttatcaaaat	cacacaaaaa	tgttcgttga	cgaacaaaaa	aaactatgtt	ataataattc	6600
gtatgcgaac	taaaaaagaa	gcgattggcc	gactttaaa	agtagccagc	aaccaaatgt	6660
ctcgagaatt	tgataatTTT	gcagctcaac	ttgatttgac	aggtcagcaa	atgtcaattt	6720
tagattttct	tggaaatcaa	agcgaagaag	gttcaggaaa	agaaattagt	cagacgatga	6780
ttgaattaga	atTTaatatc	cgacgttcaa	caacgacgga	aattttacag	cgcattggaaa	6840
agcggctttt	aattaatcga	agaacaagcc	tgaccgatgc	ccgccaaaaa	tcagttgaat	6900
taactgaaga	agggaaaaga	tatTTacTg	aaatcagggc	ttatATccaa	gcacataata	6960
aaaaaagc						6967

<210> 20
 <211> 6753
 <212> DNA
 <213> Lactococcus lactis

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Thy12

<400> 20

at	taa	acagcc	ttttgagcag	ctag	tcatt	at	ttt	gaaat	aaat	cataaa	ttt	tttccc	60												
act	at	ctgat	ttat	gattgc	tag	catat	ttt	gtt	ataat	cga	acg	gtc	catttt	gaac	120										
agat	ccat	at	agat	tgagtg	aact	ataaaa	ta	cat	ctata	tca	tag	ttga	gtt	gttcac	180										
aat	cat	gaga	ccaa	attctc	cag	catt	tcg	tgt	aga	acc	cgat	aaag	ct	gtt	at	tttag	240								
caaa	at	ggca	cct	ccgac	ac	ctg	tac	ctaa	ag	tca	gt	cat	gca	aa	ataa	at	ttt	gg	ctt	cttg	300				
tcc	at	ccct	ag	ccaa	agg	t	cag	ta	ccat	gac	ccat	ttt	ca	acat	aa	ac	360								
cg	ga	agat	ttt	aa	at	gtt	ttt	gt	cc	at	gg	ta	ttt	gg	at	ttt	gt	ttt	gg	at	ttt	420			
ag	ct	cct	g	cc	ta	at	gt	cc	at	gg	ta	at	ttt	gg	at	ttt	gt	cc	at	ttt	gg	at	ttt	480	
tgc	ca	gata	act	gt	at	gt	ttt	act	g	at	ga	at	ttt	ttt	gt	at	ccat	at	ttt	ttt	gt	at	ttt	540	
ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	600	
taca	agacca	aa	ttt	tataa	at	gtt	acc	acc	gat	at	ca	ttt	gaat	at	tc	at	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	660	
ttt	at	ac	tc	tca	tt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	720	
gc	att	at	aga	ta	ta	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	780	
cag	ct	cat	ga	ta	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	840	
ttt	cc	ca	agg	ttt	ca	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	900	
agg	ta	at	gt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	960	
cat	gc	tc	at	gc	tc	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1020	
gc	tc	ca	gat	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1080	
gt	ttt	cc	ct	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1140	
caa	agg	gt	ta	cg	at	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1200	
cgt	gc	ca	ac	acc	gt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1260	
at	ttt	ag	cccc	ca	tc	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1320	
cc	gg	ct	gt	at	tc	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1380	
gt	ttt	ac	gg	ttt	at	tc	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1440	
tt	ca	at	gatt	tt	tc	tt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1500	
tg	ttt	ta	cgg	ttt	ac	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1560	
cac	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	cc	1620	
ac	ct	cc	aaaa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	1680	
gaa	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	at	1740	
cct	ta	ag	at	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	1800	
ctt	at	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	ttt	1860

ttattaaaaa gtggattttt actctatcaa atgattttc aagaaaaatt agattatgaa	1920
gaattatttg agaaaaatca gcatattatt tctccattgc ttgctgctaa accaattgaa	1980
tggaaatgatt ccaatacgtg aggaaagtaa attcccataa aacatatctt tttgaaaaat	2040
atttggggta atgtgttatt cgtggagatg ttgcagagtt aaaaaaagct ttttcaaatt	2100
atatgaataa aggaactgct ggaaaattat ctaataattc aatgcgacat aagaaaaaca	2160
ttttgatttc agtcatcaact atgactactc gttcggctat acagggagga ttacctgaag	2220
aagaagcttt tttgatgagt gatttataata ttcaagagct tgaagaatta acggaattag	2280
aagaatttag aacgcttgcc tataatgtga tgatcgattt tgcaagataaa gtgaaacagc	2340
atcgatatttgc tcaaggttct tataaaatata tatcttgtca aaagtatatt gttatcatt	2400
tatacggaaaa actaagtgtg agtggaaattt cagaagagct acacatgaat atttcttatt	2460
tatcttcaca attcaaaaaa gagacagggc aaacaattac aaactttatt caggagaagc	2520
gaatagaaga agctagagaa ttaatccccc ttcagacta tccttttca agaatttata	2580
ccttgggtt tttactgcca aagtcatttt ataaaaatata ttaaaaaata tactggataa	2640
actccaaaaa agtttcaaga tcagtttatt tatcatgcct ctacatcaat atatgattga	2700
aattaaaaaa agacctagaa ttcaaaattt gataaaatac atacctaaaa tattaattct	2760
gtactattac gggggagta tctactgtat aatgagggtt taaattatgg aagaaggag	2820
taaaactaaa ttattttagt gttttacaa ttaatttagga tattttttttaaaaacccaaa	2880
gaaaacgctt acaaacgtt aaggagtgaa tctaaagatg gacaaatttggaaatggct	2940
aaataagacc ttgatgccac ttgcctcaaa aatgaataaa aatcatttca ttccggcatt	3000
aagtgaagca ttatgagat gtatgccctt aacatttaggg attgcattat tgacaattat	3060
aggatactttt ccagttcctg cctgggtaga tttcttaaac tctattggac tggctcagca	3120
tttttcagca gtattgggt cagttaccag tgcgttagca atttatgtaa cttataattt	3180
tgcttattct tatgtaaatc gtcatgaata taatggccat acggccgggtt tattatcaat	3240
cgcaagttt ttaatgctaa tgccacaaat tattactgtc cctgttagtaa aaaacattcc	3300
aaccgaattt ccgaaatccg cggttagtga cagtgtgtca aatgttgaag catttcaaacc	3360
ggtatacactg ggtagcacag gattaattgt agcaatcata attggtttta ttgtttcatt	3420
agtctatata caattgagca aaagaaattt agtttattaa ttaccagctg gagttccctcc	3480
aatgggtgtt gattcactaa gtccagcaat tattcaatg gtgattttctt gtttgcgtt	3540
cgggattcgt gtgggattctt cttatacgcc attccatgtat attttcaatt tctcaacacaca	3600
actaattcaa gcaccgttga ctgggtgttgg ggcaatcca tgggttcttgc tgggcatttt	3660
taccttggta aatttcttattt gtttcttgg tatccaccctt aatttaatttgg ggggaatttt	3720
aaatccattt tattaaacaa tgcataatgc taatattgtat gcctatgttgc cggaaaaacc	3780
tgtaccatac ttacaaatga tgattgttgc ttgcgtgggtt gcaacgcattt ggggcggaaag	3840
tggaaataact tattttcaat gtttacggca aaatctgaac gctataaaaca	3900

attataaaa tttagtgcaa ttccctagtat ttcaatatac agtgaaccat tacttttgg	3960
tcttccaatg atgttaaatac ctctttctt tattcccttg gtttccaac cagcaatttt	4020
aggaactgta gcattgggct tggcaaagat attatatatt acaaatactga atccaatgac	4080
ggcacttctt ccttggacga caccagcacc tgtgagaatg gccatttcag gtggacttcc	4140
attttgatt attttgcaa tctgttttagt cttgaatgtt cttatattact acccattctt	4200
taaggtggcg tataataaaag cttagaaga agaaaaagca gctgttaaat tagagggttc	4260
agaaaactgcc tgatggatat ttttataaa tctgggttga acaaattata ttgacatctc	4320
tttttctatc ctgataattc tgagaggta ttttggaaa tactattgaa ccatatcgag	4380
gtgggtgtggt ataatgaagg gaattaaaaa agataggaaa atttcatgaa aaaaaagatt	4440
atctcagcta tttaatgtc tacagtata ctttctgctg cagccccgtt gtcaggtgtt	4500
tacgccctcag ctggtaagg tactcaatca gaaaactcat gtactcaatttccaggttaac	4560
ttgccaaaca tgcttcgtga tttgcgtgat gcttttcac gtgttaaaaac ttttttcaa	4620
atgaaagatc aacttgataa ctgcgttttga aaagaatcac ttttggaaa ttttaaggt	4680
taccttgggtt gtcaagcttt gtcagaaatg atccaattttt accttgaaga agttatgcca	4740
caagctgaaa accaagatcc agatataaaa gtcacgtta actcattggg tgaaaacctt	4800
aaaactttgc gtcttcgttt gctcggtgtt caccgttttccatgtga aaacaatca	4860
aaagctgttg aacaagttaa aaacgctttt aacaaattgc aagaaaaagg tatctacaaa	4920
gctatgtcag aatttgatata ctttatcaac tacatcgaaag cttacatgac tatgaaaatc	4980
cgtaactaac tagaattaaat ctataagttt ctgacaaaac tgcgtgttgc tttttttgt	5040
ggaaaaatgt attttatga cctgtaaagaa tctgtcagta gaagtctgaa attcgtttaa	5100
aaatcgacta gaataggctt taacgacaag atgtttaaa ggtacgctc taaatgtatt	5160
tttgtatattt tttttgatta cgaagttaa atttaattga caaatgtttt aaaatgagta	5220
taataggact tgtaaccgat tttatttta taaaggagaa agaaagatga acaaactttt	5280
acttggaaaca gcctttatag gggctagctt actgattggt ggggtgtc atgcagatca	5340
aatgtttatc gtttgtataa tcataatact ggtgagcaact ctatacaact agtggacac	5400
caaaagaatg ctaatgtaaag tgcgggttgg acttatgaag gtgtcggtt gatcgacca	5460
acaacaagtt caagccccgtt taccgtgttcaatccaa atgcattttt acacaaaaag	5520
caagtatgaa gcccaaagtt tagtaaataa ggggtggaaa tgggataata acggaaaggc	5580
ggtcttctat tctggagggtt ctcaagccgtt atatgtcgct tataatcccc atgcacaatc	5640
tggcgctcac aattacacgg aaagtagctt tgagcaaaat agcttattga atactggtt	5700
gaaatatggg gcagtagctt ggtacggat tggagtaaaa aacgaaatgt taaacattgc	5760
tcaaaattgtt agtggtaatt tttctagtat tggtaact tggaaagata cttctggaaa	5820
tatgcattgaa attaatgcaatggaaatct tactttaata tggaaagggg caaagaatca	5880
aaccttgaa ctggcgcaag gtcaacaattttaatggaaact gcagatatttgccttaaaaaa	5940

tggagagatt	tcccctggta	gtccacttaa	cattttgtt	gtaccaacag	aagttgcttt	6000
ccctaataat	aaaaaaagtag	acgattcaac	tgggcaacaa	cgaatttttg	tgaattttc	6060
tggtacaagc	cctcaaatgg	cgaatagtat	ggcagcggtg	gctttttta	gagttattcc	6120
atgattatat	taaagttaga	attgaataaa	atgtattatt	aaaaagataa	tattatatca	6180
cgacaaggcg	acatctatca	actttaccac	tggtatggaa	gtgaccatta	ttacatcagg	6240
aaacgctaaa	acggttgttt	ttacacccgt	aaaataaata	ataaaataat	gtgaaattac	6300
tgacagcatt	ttgtcagtaa	tttttttat	caaaatcaca	caaaaatgtt	cgttgacgaa	6360
aaaaaaaaac	tatgttataa	taattcgtat	gcgaactaaa	aaagaagcga	ttggccgact	6420
ttaaaaagta	gccagcaacc	aaatgtctcg	agaatttgat	aattttgcag	ctcaacttga	6480
tttgacaggt	cagcaaatgt	caattttaga	ttttcttggaa	aatcaaagcg	aagaaggttc	6540
aggaaaaagaa	attagtccaga	cgtatgattga	attagaattt	aatatccgac	gttcaacaac	6600
gacggaaatt	ttacagcgca	tggaaaagcg	gcttttaatt	aatcgaagaa	caagcctgac	6660
cgtgcccgc	caaaaatcag	ttgaattaac	tgaagaaggg	aaaagatatt	tacctgaaat	6720
cagggcttat	atccaagcac	ataataaaaa	agc			6753

<210> 21
 <211> 6904
 <212> DNA
 <213> Lactococcus lactis

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Thy15

<400> 21

attaacagcc	ttttgagcag	ctagctcatt	atttgaaat	aaatcataaa	tttctttccc	60
actatctgat	ttatgattgc	tagcatattt	gttgtataat	cgaacgagtc	cattttgaac	120
agatccatat	agattgagtg	aactataaaa	tacatctata	tcatagttga	gtttgttcac	180
aatcatgaga	ccaaattctc	cagcatttcg	tgtagaacca	cgataaaagct	gtttattttag	240
caaaatggca	cctccgacac	ctgtacctaa	agtcatgcaa	ataaaatttt	ggctttcttg	300
tccattccct	agccaaagtt	cagctagacc	tgcacaattt	gcatcatttt	caacataaac	360
cggaaagattt	aaatgttttt	gtagttctgt	ccccaatggaa	tagccataaa	gatcagttag	420
agctcctgcc	agtaataatg	ttcccttttt	gtcagaagtt	ccgggaacac	ttacaccaat	480
tgcagatact	gaatgatgag	cttttaactg	atgaatattt	gtgagcaagc	tatccataat	540
tttttctttt	ttaatgggg	ttggaacttg	taaatgttgt	atgatcggtc	catcaactgt	600
tacaagacca	aattttataa	atgtaccacc	gatataattt	cctattgaat	aatgcatttt	660
ttattacctc	tttctctaatt	ttgttttagt	atagcaaaat	aaaaaaatta	attatggtat	720
gcattataga	tatgttgtat	aattttcaca	aaaacggaga	aaactatgaa	aacaatagaa	780
cagctcatga	tagattcagc	agatttatg	tcagattta	ttcaatttgac	aatttttata	840

ttccgcaagg aggattttca actttttat aggagtgtg aagaagagca agttttca	900
aggtaatgac tccaacttat tgatagtgtt ttatgttcag ataatgcccg atgactttgt	960
catcgagctc caccgattt gagaacgaca gcgacttccg tcccagccgt gccaggtgct	1020
gcctcagatt caggttatgc cgctcaattc gctgcgtata tcgcttgctg attacgtgca	1080
gcttccctt caggcggat tcatacagcg gccagccatc cgcatccat atcaccacgt	1140
caaagggtga cagcaggctc ataagacgcc ccagcgtcgc catagtgcgt tcaccgaata	1200
cgtgcgcaac aaccgtcttc cggagactgt catacgcgtaa aacagccag cgctggcg	1260
attttagcccc gacatagccc cactgttcgt ccatttccgc gcagacgtg acgtcactgc	1320
ccggctgtat ggcgcgaggtt accgactgctg gcctgagtt ttttaagtgac gtaaaatcg	1380
gtttagggca acgcccataa tgccggctgt tgccggcat ccaacgccat tcatggccat	1440
atcaatgatt ttctggtgcg taccgggtt agaagcggtg taagtgaact gcagttgcca	1500
tgttttacgg cagttagagc agagatagcg ctgatgtccg gcggtgctt tgccgttacg	1560
caccaccccg tcagtagctg aacaggaggg acagctgata gaaacagaag ccactggagc	1620
acctcaaaaaa caccatcata cactaaatca gtaagttgc agcatcaccc tttttcaaaa	1680
gaaatcatcg ctcatattatc tcagttgccc ttgaaggaag aggtgaattt attttatatg	1740
cctaagataa aaggatataat tacttatttt tctgtatttg gttaagagga gtatcttcta	1800
cttattttta aaggacaaga aaaacttgca aataatcctt tccccgttga agtaaaacaa	1860
ttattaaaaa gtggtatttt actctatcaa atgattttc aagaaaaatt agattatgaa	1920
gaattatttg agaaaaatca gcattattt tctccattgc ttgctgctaa accaattgaa	1980
tggaaatgatt ccaatacgtg aggaaagtaa attccataa aacatatctt tttgaaaaat	2040
atttggggga atgtgttattt cgtggagatg ttgcagagtt aaaaaaagct ttttcaaatt	2100
atataaataa aggaactgct gggaaattat ctaataattc aatgcgacat aaaaaaaca	2160
ttttgatttc agtcatcaact atgactactc gttcggctat acagggagga ttacctgaag	2220
aagaagcttt ttgtatgagt gatttatata ttcaagagct tgaagaatta acggaattag	2280
aagaaattag aacgcttgcc tataatgtga tgatcgatt tgcaaaaaaa gtgaaacagc	2340
atcgatatttgc tcaggtttct tataaaatata tatcttgtaa aaagtatatt gttaatcatt	2400
tatacggaaa actaagtgtg agtggaaattt cagaagagct acacatgaat atttcttatt	2460
tatcttcaca attcaaaaaa gagacagggc aaacaattac aaactttattt caggagaagc	2520
gaatagaaga agcttagagaa ttatccctt tctcagacta tccttttca agaatttata	2580
ccttgggtt ttactgcca aagtcatattt ataaaaatata ttaaaaaaaata tactgaaata	2640
actcccaaaa agtttcaaga tcagttatatt tatcatgcct ctacatcaat atatgattga	2700
aattaaaaaa agaccttagaa ttcaaaaattt gataaaatac atacctaaaaa tattttttct	2760
gtactattac gggggagta tctactgtat aatgagggtt taaattatgg aagaagggag	2820
taaaactaaa ttatttgatg gttttacgaa ttaatttagga tattttttt aaaaacccaaa	2880

gaaaacgctt acaaacgtta aaggagtgaa tctaaagatg gacaaatttgc	2940
aaataagacc ttgatgccac ttgcctcaaa aatgaataaaa aatcatttca tttcggcatt	3000
aagtgaagca tttatgagat gtatgccctt aacattaggg attgcattat tgacaattat	3060
aggatacttt ccagttcctg cctgggtaga tttcttaaac tctattggac tggctcagca	3120
ttttcagca gttattggtg cagttaccag tgcgctagca atttatgtaa cttataattt	3180
tgcttattct tatgtaaatc gtcataata taatggccat acggccggtt tattatcaat	3240
cgcaagttt gtaatgctaa tgccacaaat tattactgtc cctgttagtaa aaaacattcc	3300
aaccgaattt ccgaaatccg cggttagttga cagtgtgtca aatgttgaag catttcaaac	3360
ggtatacacg ggtagcacag gattaattgt agcaatcata attggttta ttgtttcatt	3420
agtctatata caattgagca aaagaaaattt agttattaaa ttaccagctg gagttcctcc	3480
aatggttgt aatttcaactaa gtccagcaat tatttcaatg gtgattttct gtttcatgtt	3540
cgggattcgt gtgggattctt cttatacgcc attccatgat attttcaatt tctcaacaca	3600
actaattcaa gcaccgttga ctgggtgtgt ggcaaattcca tgggttctta tggcatctt	3660
taccccttggt aatttcttatt gttttttgg tatccaccct aatttaattt ggggattttt	3720
aaatccattt gttttaacaa tgcataatgc taatattgtat gcctatgtc ccggaaaacc	3780
tgtaccatac ttacaaatga tgattgtgtt tgctgtgggt gcgaacgcattt gggcgaaag	3840
tggaaatact tatgggttag ttatttcaat gtttacggca aaatctgaac gctataaaaca	3900
attattaaaa ttaggtgcaa ttccctagat tttcaatatc agtgaaccat tactttttgg	3960
tcttccatg atgttaaate ctctttctt tattcctttt gttttccaac cagcaatttt	4020
aggaactgtt gcattgggtt tggcaagat attatataattt acaaatttgc atccatgac	4080
ggcacttctt ctttggacga caccaggacc tggagaatg gccatttcag gtggacttcc	4140
atttttgatt atttttgcaa tctgttttagt ctgtatgtt cttatttact acccatttctt	4200
taaggtggcg tataataaaag cttagaaga agaaaaagca gctgttgaat tagagggttc	4260
agaaactgcc tggatggatatttttataaa tctgggttga acaaatttata ttgacatctc	4320
tttttctatc ctgataatttgc tgagaggtaa ttttggaaa tactagatta agtcatctt	4380
cctctttat tagtttttca ttataatcttca atgataacat ttttataattt aatctataaa	4440
ccatatccctt ctttggaaatc aaaatttattt atctactcct ttgttagatattt gttataatac	4500
aagtatcaga tctggagac cacaacgggtt tcccaactaga aataattttt ttttataattt	4560
gaaaggagat atacgcatttga aaaaaaaagat tatctcagctt attttatgtt ctacagtcat	4620
actttctgtt gcagccccgtt tgctcagggtt ttacgcctca gctggtcaag gtactcaatc	4680
agaaaaactca tgcataactt ttccaggttaa ctggccaaac atgcttcgtt atttgctgtt	4740
tgcttttca cgtgtttaaaa cttttttca aatgaaagat caacttgata acttgctttt	4800
gaaagaatca ctggaaatc ttggaaatc attttaaagg ttaccttgggt tgcataagctt tgcagaaat	4860
gatccaaattt taccttggaaatc aagttatgcc acaagctgaa aaccaagatc cagatataaa	4920

agctcacgtt aactcattgg gtgaaaacct taaaactttg cgtctcggtt tgcgctgtt	4980
tcaccgtttt cttccatgtg aaaacaaaatc aaaagctgtt gaacaaggta aaaacgcttt	5040
taacaaattg caagaaaaag gatatcaca agctatgtca gaatttgata tctttatcaa	5100
ctacatcgaa gcttacatga ctatgaaaat ccgtaactaa ctagaattaa tctataagtt	5160
actgacaaaa ctgtcagtaa cttttttgt gggaaaaatg tattttatg accgtaaaga	5220
atctgtcagt agaagtctga aattcgaaaatcactgact agaataggct ttaacgacaa	5280
gatgtttaa agagtcgct ctaaatgtat ttttgtattt ttgtttgatt acgaagttt	5340
aatttaattt acaaattgttt taaaatgagt ataataggac ttgttaaccga ttttattttt	5400
ataaaggaga aagaaagatg aacaaacttt tacttggAAC agcctttata gggctagct	5460
tactgattgg tgggggtgct catgcagatc aaatgtttat cgtttgata atcataatac	5520
tggtagcac tctataacaac tagtggaca ccaaaaagaat gctaatgtaa gtgcgggtt	5580
gacttatgaa ggtgtcggtt ggatcgacc aacaacaagt tcaagcccg tttaccgtgt	5640
gtacaatcca aatgcattat tacacaaaaa gcaagtatga agccaaagt ttagtaata	5700
agggttggaa atggataat aacggaaagg cggtcttcta ttctggaggt tctcaagccg	5760
tataatgtcg tataatccc aatgcacaat ctggcgctca caattacacg gaaagtagct	5820
ttgagcaaaa tagcttattt aatactggtt gaaaatatgg ggcagtagct tggtagggaa	5880
ttggagtaaa aaacgaaatg taaaacatttgc tccaaattgt tagtggtaat ttttctagta	5940
ttgttggAAC ttggaaagat acttctggaa atatgcttgc aattaatgca atggaaatc	6000
ttacttaat atggaaagg gcaaagaatc aaacctttgc acttggcgca ggtcaacaat	6060
ttaatggAAC tgcagatatt gcctaaaaa atggagagat ttcccctgggt agtccactta	6120
acattttgt tgcaccaaca gaagttgtt tccctaataa taaaaaagta gacgattcaa	6180
ctggcaaca acgaattttt gtgaattatt ctggtacaag ccctcaaatttgc gcaatagta	6240
tggcagcggt ggctttttt agagttattt catgattata taaaagttttag aattgaataa	6300
aatgtattat taaaaagata atattatatc acgacaaggc gacatctatc aactttacca	6360
ctggtatggA agtgaccatt attacatcg gaaacgctaa aacgggttgggtt tttacacccg	6420
taaaataat aataaaataa tgcaccaaaa ctggatggat tttgtcagta attttttttta	6480
tcaaaatcac aaaaaatgt tcgttgacga aaaaaaaaaa ctatgttata ataattcgta	6540
tgcaactaa aaaagaagcg attggccgac tttttttttttagt agccagcaac caaatgtctc	6600
gagaatttgc taaaatggca gctcaacttg atttgacagg tcagcaaatttgc tcaattttttag	6660
attttcttgg aatcaaaagc gaagaaggat cagggaaaaga aatttagtcag acgatgatttgc	6720
aattagaatt taatatccga cgttcaacaa cgacggaaat tttacagcgatc atggaaaagc	6780
ggcttttaat taatcgaaaga acaagcgttgc cggatggcccg ccaaaaatca gttgaattaa	6840
ctgaagaagg gaaaagatat ttacctgaaa tcagggcttata tccaaagca cataataaaa	6900
aagc	6904

<210> 22

<211> 6964

<212> DNA

<213> Lactococcus lactis

<220>

<221> misc_feature

<223> Thy16

<400> 22

attaacagcc tttttagcag ctagctcatt attttggaaat aaatcataaa tttctttccc	60
actatctgat ttatgattgc tagcatattt gttgtataat cgaacgagtc cattttgaac	120
agatccatat agattgagtg aactataaaa tacatctata tcatagttga gtttggcac	180
aatcatgaga ccaaattctc cagcattcg tgtagaacca cgataaagct gtttatttag	240
caaaaatggca cctccgacac ctgtacctaa agtcatgcaa ataaaatttt ggctttcttg	300
tccatccct agccaaagtt cagctagacc tgccacaattt gcatcatttt caacataaac	360
cggaagattt aatgttttt qtagttctgt ccccaatggta tagccataaa gatcagttag	420
agctcctgcc agtaataatg ttccctttt gtcagaagtt ccggaaacac ttacaccaat	480
tgccagatact gaatgtatgag cttttaactg atgaatattt gtgagcaagc tatccataat	540
tttttctttt ttaatgggg ttggaaacttgc taaatgttgc atgatcggtt catcactagt	600
tacaagacca aattttataa atgtaccacc gatataattt cctattgaat aatgcattt	660
tttattacctc tttctctaattt ttgttttagt atagcaaaat caaaaaatta attatggtat	720
gcattataga tatgttgtat aattttcaca aaaacggaga aaactatgaa aacaatagaa	780
cagctcatga tagattcagc agatttatg tcagattttt ttcatttgac aatttttata	840
ttccgcaagg aggattttca actttttat aggagtgtatg aagaagagca agcttttca	900
aggtaatgac tccaaacttat tgatagtgtt ttatgttgcataatgcccc atgactttgt	960
catgcagctc caccgattttt gagaacgaca gcgacttccg tcccagccgt gccagggtct	1020
gcctcagatt caggttatgc cgctcaatttgc gctgcgtata tcgcttgctg attacgtgca	1080
gttttccctt caggcggat tcatacagcg gccagccatc cgcatccat atcaccacgt	1140
caaagggtga cagcaggctc ataagacgcc ccagcgtcgc catagtgcgt tcaccgaata	1200
cgtgcgaac aaccgttttc cggagactgt catacgcgtt aaacagccag cgctggcgc	1260
attttagcccc gacatagccc cactgttgcgt ccatttccgc gcagacgtatg acgtcactgc	1320
ccggctgtat ggcgcgagggtt accgactgcg gcctgagttt tttaagtgcgt gtaaaatcgt	1380
gttgaggcca acgcccataa tgcgggtgt tgccggcat ccaacgccc tcatggccat	1440
atcaatgatt ttctgggtgcg taccgggtt agaagcgggtg taagtgcgt gcaatggcca	1500
tgttttacgg cagttagagc agagatagcg ctgatgtccg gcgggtgttt tgccgttacg	1560
caccaccccg tcagtagctg aacaggaggg acagctgata gaaacagaag ccactggagc	1620
acctcaaaaaa caccatcata cactaaatca gtaagttggc agcatcaccc tttttcaaaa	1680

gaaatcatcg ctcatttac tcagtgccc ttgaaggaag aggtgaattt attttatatg 1740
 ccttaagataa aaggatataat tacttatttt tctgtatgg gtaaagagga gatatctcta 1800
 cttatTTta aaggacaaga aaaacttgca aataatcctt tccccgttga agtaaaacaa 1860
 ttatTTaaaa gtggtatttt actctatcaa atgatTTtc aagaaaaattt agattatgaa 1920
 gaattatTTg agaaaaatca gcatattatt tctccattgc ttgctgctaa accaattgaa 1980
 tggaatgatt ccaatacgtg aggaaagtaa attcccataa aacatatctt tttgaaaaat 2040
 atttggggga atgtgttatt cgtggagatg ttgcagagtt aaaaaaagct tttcaaaatt 2100
 atatgaataa aggaactgct ggaaaattat ctaataattc aatgcgacat aagaaaaaca 2160
 tttgatttc agtcatcaact atgactactc gttcggttat acagggagga ttacactgaag 2220
 aagaagctt tttgatgagt gatttatata ttcaagagct tgaagaattt acggaattttag 2280
 aagaaattag aacgcttgcc tataatgtga tgatcgattt tgcaaaaaaa gtgaaacagc 2340
 atcgatatttgc ttaggtttct tataaaatattat tatcttgcata aaagtatattt gttaatcatt 2400
 tatacgaaaaa actaagtgtg agtgaatttgc cagaagagctt acacatgaatt atttcttatt 2460
 tatcttcaca attcaaaaaaa gagacagggc aaacaatttac aaactttattt caggagaagc 2520
 gaatagaaga agcttagagaa ttaatccttt tctcagacta tccttttca agaatttata 2580
 cttgttgggt tttactgcca aagtcatTTtta ataaaaatattt ttaaaaaata tactggaata 2640
 actcccaaaaaa agtttcaaga tcagttatattt tatcatgcctt ctacatcaat atatgattga 2700
 aattaaaaaaa agaccttagaa tttcaaaattt gataaaatac atacctaaaaa tattaattct 2760
 gtactatttttttgc gggggagta tctactgtat aatgagggtt taaattatgg aagaagggag 2820
 taaaactaaa ttattttgtat gttttacgaa ttaatttagga tattttttttt aaaaacccaaa 2880
 gaaaacgctt acaaacgtta aaggagtgaa tctaaagatg gacaaatttgc aaaaatggct 2940
 aaataagacc ttgatgccac ttgcctcaaa aatgaataaa aatcatTTca tttcggtt 3000
 aagtgaagca ttatgagat gatgcctt aacatttaggg attgcattat tgacaattt 3060
 aggataactttt ccagttcctg cctgggtttaga tttcttaaacc tctattggac tggctcagca 3120
 ttttcagca gttattgggtt cagttaccag tgctgttagca atttatgtaa cttataattt 3180
 tgcttattct tatgtaaatc gtcatgaata taatggccat acggccgggtt tattatcaat 3240
 cgcaagtttgc ttaatgttca tgccacaaat tattactgtc cctgttagtaa aaaacattcc 3300
 aaccgaatttccgaaatccg cggtagttga cagttgttca aatgttgaag catttcaaaac 3360
 ggtatacacg ggttagcacag gattaattgtt agcaatcata attggTTTTtta ttgtttcatt 3420
 agtctatata caattgagca aaagaaattt agttattttttaa ttaccagctg gagttcctcc 3480
 aatgggttgc gattcaactt gtcctggatcaat tatttcaatg gtgatTTtctt gtttgcattt 3540
 cgggattcgtt gttggattctt cttatacgttcc attccatgtat attttcaattt tctcaacacaca 3600
 actaatttcaaa gcaccgttga ctgggtgttgc ggcaaatccca tgggttctta tgggcatttt 3660
 tacctttggt aatttcttattt gtttcttggt tatccaccctt aatttaatttgc ggggaattttt 3720

aaatccattg ttatcaaaca tgtcatatgc taatattgtat gcctatgctg ccggaaaacc	3780
tgtaccatac ttacaaatga tgattgtgtt tgctgtgggt gcgaacgcac ggggcggaag	3840
tggaaatact tatgggttag ttattcaat gttacggca aaatctgaac gctataaaca	3900
attattaaaaa ttaggtgcaa ttcctagtagt tttcaatatac agtgaaccat tacttttgg	3960
tcttccaaatg atgttaaatac ctctttctt tattccttg gtttccaac cagcaatttt	4020
aggaactgta gcattggcgt tggcaaagat attatatatt acaaattctga atccaaatgac	4080
ggcacttctt cttggacga caccagcacc tggagaatg gccatttcag gtggacttcc	4140
atttttgatt attttgcaa tctgttttagt cttgaatgtt cttatattact acccattctt	4200
taaggtggcg tataataaaag cttagaaga agaaaaagca gctgtgaat tagagggttc	4260
agaaaactgcc tgatggatataa tctgggttga acaaattata ttgacatctc	4320
tttttctatc ctgataattc tgagaggta ttttggaaa tactattgaa cccatcgag	4380
gtgggtgtggataaatgaagg gaattaaaaa agataggaaa atttcgatta agtcatctt	4440
cctctttat tagtttttc ttataatcta atgataacat ttttataatt aatctataaa	4500
ccatatccct ctttggaaatc aaaatttatt atctactcct ttgttagatatac gttataatac	4560
aagtatcaga tctgggagac cacaacggtt tcccactaga aataatttg ttaacttta	4620
gaaaggagat atacgcatga aaaaaaagat tatctcagct attttaatgt ctacagtc	4680
actttctgct gcagccccgt tgcagggtt ttacgcctca gctggtaag gtactcaatc	4740
agaaaaactca tgcactcaact ttccaggtaa cttgccaaac atgcctcgat atttgcgtga	4800
tgcttttca cgtgttaaaa cttttttca aatgaaagat caacttgata acttgcttt	4860
gaaagaatca cttttggaaag attttaaagg ttaccttggt tgcaggctt tgcaggaaat	4920
gatccaaattt taccttgaag aagttatgcc acaagctgaa aaccaagatc cagatataaa	4980
agtcacgtt aactcattgg gtggaaaccc taaaacttttgcgtt tgcgtcggtt	5040
tcaccgttt cttccatgtt aaaaacaaatc aaaagctgtt gaacaaggtaa aacccgttt	5100
taacaaatttca aagaaaaag gtatctacaa agctatgtca gaatttgata tctttatcaa	5160
ctacatcgaa gtttacatga ctatgaaaat ccgttaactaa ctagaattaa tctataatgtt	5220
actgacaaaaa ctgtcagtaa cttttttgtt gggaaaaatg tattttatgtt accgtttaa	5280
atctgtcagt agaagtcgtt aattcgatc aaaaatcgact agaataaggct ttaacgacaa	5340
gatgtttaa agagtcgtt cttttatgtt ttttgcgtt ttgtttgattt acgtttaa	5400
aatttatttca acaaattgttt taaaatgttgtt ataataggac ttgttaaccga ttttattttt	5460
ataaaaggaga aagaaaagatg aacaaacttt tacttggaaac agccttataa ggggctagct	5520
tactgattgg tgggggtgtt catgcagatc aaatgtttat cgtttgtata atcataatac	5580
tgggtggacac tctatacaac tagtgggaca cccaaagaat gctaatgtaa gtgcgggtt	5640
gacttatgaa ggtgtcggtt ggatcgacacc aacaacaagt tcaagccccag tttaccgtgt	5700
gtacaatcca aatgcattat tacacaaaaa gcaagtatga agcccaaagt ttagtaataa	5760

agggttggaa atgggataat aacggaaagg cggtcttcta ttctggaggt tctcaagccg	5820
tataatgtcgc ttataatccc aatgcacaat ctggcgctca caattacacg gaaagtagct	5880
ttgagcaaaa tagcttattt aatactggtt gaaaatatgg ggcagtagct tggtagggaa	5940
ttggagtaaa aaacgaaatg ttaaacatttgc ctcaaattgt tagtgtaat tttcttagta	6000
ttgttggAAC ttggaaagat acttctggaa atatgcttgc aattaatgca atggaaatc	6060
ttactttaat atggaaaggg gcaaagaatc aaacctttgc acttggcgca ggtcaacaat	6120
ttaatggAAC tgcagatatt gccttaaaaa atggagagat ttcccctgggt agtccactta	6180
acattttgt tgcaccaaca gaagttgc ttccctaataa taaaaaagta gacgattcaa	6240
ctgggcaaca acgaattttt gtgaatttattt ctggtacaag ccctcaaatg gcgaatagta	6300
tggcagcggg ggctttttt agagttattt catgattata taaaagttttag aattgaataa	6360
aatgtattat taaaaagata atattatatc acgacaaggc gacatctatc aactttacca	6420
ctggatggA agtgcatttattt attacatcg gaaacgctaa aacggttgtt tttacacccg	6480
taaaataaaat aataaaataa tgtgaaatta ctgacagcat tttgtcagta atttttttta	6540
tcaaaatcac acaaaaaatgt tcgttgacga aaaaaaaaaa ctatgttata ataattcgta	6600
tgcgaactaa aaaagaagcg attggccgac tttttttttt agccagcaac caaatgtctc	6660
gagaatttga taattttgca gctcaacttgc atttgacagg tcagcaaatttgc tcaatttttag	6720
attttcttgg aaatcaaagc gaagaagggtt cagaaaaaga aatttagtcg acgttgcatttgc	6780
aattagaatt taatatccga cgttcaacaa cgacggaaat tttacagcgc atggaaaagc	6840
ggcttttaat taatcgaaaga acaagccttgc ccgtatggcccg ccaaaaaatca gttgaattaa	6900
ctgaagaagg gaaaagatat ttacctgaaa tcagggcttgc tatccaagca cataataaaa	6960
aagc	6964

<210> 23
 <211> 4998
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> pOThy11

<400> 23

aatttcatgg attaagtcat cttaccctttt ttattagttt tttttataa tctaatgata	60
acatttttat aattaatcta taaaccatataa ccctttttgg aatcaaaaatt tattatctac	120
tcctttgtat atatgttata atacaagtat cagatctggg agaccacaac ggtttccac	180
tagaaataat tttgttaac ttttagaaagg agatatacgc atgaaaaaaaaa agattatctc	240
agctattttta atgtctacag tcatactttc tgctgcagcc ccgttgcgtt gttttacgc	300
ctcagctgggt caaggtactc aatcagaaaaa ctcatgtact cactttccag gtaacttgcc	360
aaacatgctt cgtgatttgc gtgatgtttt ttcacgtgtt aaaactttttt ttcaaatttgc	420
agatcaactt gataacttgc ttttggaaaga atcacttttgc gaagatttttgc aaggttacct	480

tggttgtcaa	gcttgcag	aatgatcca	atttacctt	gaagaagtta	tgccacaagc	540
tgaaaaccaa	gatccagata	tcaaagctca	cgttaactca	ttgggtgaaa	acctaaaac	600
tttgcgtctt	cgttgcgtc	gttgtcaccg	tttcttcca	tgtaaaaca	aatcaaaagc	660
tgttgaacaa	gttaaaaacg	ctttaacaa	attgcaagaa	aaaggtatct	acaaagctat	720
gtcagaattt	gatacttta	tcaactacat	cgaagcttac	atgactatga	aaatccgtaa	780
ctaactagaa	ttaatctata	agttactgac	aaaactgtca	gtaactttt	ttgtggaaa	840
aatgtatTTT	tatgaccgta	aagaatctgt	cagtagaagt	ctgaaattcg	tttaaaaatc	900
gactagaata	ggctttaacg	acaagatgtt	ttaaagagta	cgctctaaat	gtatTTTgt	960
atTTTgttt	gattacgaag	tttaaattta	attgacaaat	gtttaaaat	gagtataata	1020
ggacttgtaa	ccgattttat	ttttataaag	gagaaagaaa	gatgaacaaa	ctttacttg	1080
gaacagcctt	tataggggct	agcttactga	ttgggggggg	tgctcatgca	gatcaaatgt	1140
ttatcgTTT	tataatcata	atactggtga	gcactctata	caactagtgg	gacaccaaaa	1200
gaatgcta	taaagtgcgg	gttggactta	tgaaggtgtc	ggggatcg	caccaacaac	1260
aagttcaagc	ccagtttacc	gtgtgtacaa	tccaaatgca	ttattacaca	aaaagcaagt	1320
atgaagccc	aagtttagta	aataagggtt	ggaaatggga	taataacgga	aaggcggct	1380
tctattctgg	aggTTctcaa	gccgtatatg	tcgcttataa	tcccaatgca	caatctggcg	1440
ctcacaatta	cacggaaagt	agctttgagc	aaaatagctt	attgaatact	ggggatggaaat	1500
atggggcagt	agcttggtac	gggattggag	taaaaaacga	aatgttaaac	attgctcaaa	1560
ttgttagtgg	taatTTTct	agtattgtt	gaacttggaa	agatacttct	ggaaatatgc	1620
ttgaaattaa	tgcaatggga	aatcttactt	taatatggaa	aggggcaaaag	aatcaaacct	1680
ttgaacttgg	cgcaggtcaa	caatttaatg	gaactgcaga	tattgcctta	aaaaatggag	1740
agatttcccc	ttgtagtcca	cttaacattt	ttgttgcacc	aacagaagtg	aattcactgg	1800
ccgtcgTTT	acaacgtcgt	gactggaaa	accctggcgt	tacccaaactt	aatcgccctt	1860
cagcacatcc	cccttcgccc	agctggcgt	atagcgaaga	ggccgcacc	gatcgccctt	1920
cccaacagtt	gogcagcctg	aatggcgaat	ggccctgat	gcccgtatTTT	ctccttacgc	1980
atctgtgcgg	tattcacac	cgcataatggt	gcactagaac	tagcgattct	gaaatcacca	2040
tttaaaaaac	tccaaatcaa	taatTTTata	aagtttagtgt	atcactttgt	aatcataaaa	2100
acaacaataa	agctacttaa	atatacgattt	ataaaaaaacg	ttggcgaaa	cgttggcgat	2160
tcgttggcga	ttgaaaaacc	ccttaaacc	ttgagccagt	ttggatagag	cgTTTTggc	2220
acaaaaattt	gcactcggca	cttaatgggg	ggcgttagta	cggaagcaaa	attcgcttcc	2280
tttcccccca	ttttttccaa	aattccaaat	tttttccaaa	aattttccag	cgctaccgct	2340
cggcaaaattt	gcaagcaattt	tttaaaatca	aacccatgag	ggaatttcat	tccctcatac	2400
tcccttgagc	ctcctccaaac	cgaaatagaa	gggcgtcg	cttatttattt	cattcagtca	2460
tcggcttca	taatctaaca	gacaacatct	tcgtgcaaa	gccacgctac	gctcaaggc	2520

ttttacgcta cgataacgcc	tgtttaacg attatgccga	taactaaacg aaataaacgc	2580
taaaacgtct cagaaacgt	tttgagacgt tttataaaaa	aatcgctagt ccgaggcctc	2640
gaccggattc acaaaaaata	ggcacacgaa aaacaagtt	agggatgcag tttatgcac	2700
ccttaactta cttattaaat	aatttatagc tattgaaaag	agataagaat tgttcaaagc	2760
taatattgtt taaatcgta	attcctgcat gtttaagga	attgttaaat tgatttttg	2820
taaatatccc ttgttaccc	atttcataac gaaataatta	tactttgtt	2880
tatcttgcg tgatattctt	gatttttgc tacttaatct	gataagttag ctattcactt	2940
taggtttagg atgaaaata	tctctggaa ccatactaa	tatagaaata tcaacttctg	3000
ccattaaaag taatgccaat	gagcgtttg tatttaataa	tcttttagca aaccgttatt	3060
ccacgattaa ataaatctca	ttagctatac tatcaaaaac	aattttgcgtt attatatccg	3120
tacttatgtt ataaggta	ttaccatata tttatagga	ttggttttta ggaaatttaa	3180
actgaatat atccttgc	aaaacttggaa aattatcg	atcaacaagt ttatttctg	3240
tagtttgca taatttatgg	tctatttcaa tggcagttac	gaaatttacac ctcttacta	3300
attcaagggt aaaatggcct	tttcttgagc cgatttcaaa	gatattatca tgttcattta	3360
atcttatatt tgcattatt	ttatctatat tatgtttga	agtaataaag ttttgactgt	3420
gttttatatt ttctcggtt	attataaccc tcttaattt	ggttatatga attttgctt	3480
ttaacgattc attataacca	cttattttt gttgggttga	taatgaactg tgctgattac	3540
aaaaatacta aaaatgccc	tatttttcc tccttataaa	attagtataa ttatagcacg	3600
ggtcgagatc catgttctt	cctgcgttat cccctgattc	tgtggataac cgtattaccg	3660
cctttgagtg agctgatacc	gctcgccgca gccgaacgac	cgagcgcagc gagtcagtga	3720
gcgaggaagc ggaagagcgc	ccaatacgca aaccgcctt	ccccgcgcgt tggccattc	3780
attaatgcag ctggcacgac	aggttcccg actggaaagc	gggcagttag cgcaacgcaa	3840
ttaatgttag ttagctact	cattaggcac cccaggctt	acactttatg cttccggctc	3900
gtatgttg	tgaattgtg agcggataac	aatttcacac aggaaacagc tatgaccatg	3960
attacgcca	gcctgcattgc ctgcaggctg	actctagagg atcctatata caattgagca	4020
aaagaaaattt agttattaaa	ttaccagctg gagttccctc	aatggtttta gattcactaa	4080
gtccagca	tatttcaatg gtgattttct	gtttgatgtt cgggattcgt gtggattct	4140
cttatacgcc	attccatgat atttcaatt	tctcaacaca actaattcaa gcaccgttga	4200
ctgggtctgt	ggcaatcca tggggttcta	tggcatctt taccttttgtt aatttcttat	4260
ggttcttgg	tatccaccct aatttaattt	ggggaaatttt aaatccattt ttattaacaa	4320
tgtcatatgc	taatattgtat gcctatgctg	ccggaaaacc tgtaccatac ttacaaatga	4380
tgattgtgtt	tgctgtgggt gcgaaacgc	ggggcggaaag tggaaataact tatgggttag	4440
ttatttcaat	gttacggca aaatctgaac	gctataaaca attattaaaa ttaggtgcaa	4500
ttcctagtagt	tttcaatatc agtgaaccat	tacttttgg tcttcaatg atgttaaatc	4560

ctctttctt tattccttg gtttccaac cagcaattt aggaactgta gcattggct	4620
tggcaaagat attatatatt acaaatctga atccaatgac ggcacttctt ccttggacga	4680
caccagcacc tgtgagaatg gccattcag gtggacttcc attttgatt attttgcaa	4740
tctgttagt cttgaatgtt cttatttact acccattctt taaggtggcg tataataaag	4800
ctttagaaga agaaaaagca gctgttaat tagagggttc agaaaactgcc tgatggatat	4860
ttttataaa tctgggttga acaaattata ttgacatctc ttttctatc ctgataattc	4920
tgagaggtta tttgggaaa tactattgaa ccatatcgag gtgtgtggta taatgaaggg	4980
aattaaaaaa gataggaa	4998

<210> 24
 <211> 4784
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> pOThy12

<400> 24

gggttcagaa actgcctgat ggatattttt tataaatctg gtttgaacaa attatattga	60
catcttttt tctatcctga taattctgag aggttatttt gggaaatact attgaaccat	120
atcgagggtgt gtggtataat gaaggaaattt aaaaaagata ggaaaatttc atgaaaaaaa	180
agattatctc agctattttt atgtctacag tcatacttcc tgctgcagcc ccgttgcag	240
gtgttacgc ctcagctggt caaggtaactc aatcagaaaa ctcatgtact cactttccag	300
gtaaacttgc aaacatgctt cgtgatttgc gtgatgctt ttcacgtgtt aaaactttt	360
ttcaaatgaa agatcaactt gataacttgc tttgaaaga atcacttttgaagattttt	420
aaggttacct tgggtgtcaa gctttgtcag aaatgatcca attttacctt gaagaagttt	480
tgccacaaggc tgaaaaccaa gatccagata tcaaagctca cgttaactca ttgggtgaaa	540
accttaaaac tttgcgtctt cgtttgcgtc gttgtcaccg ttttcttcca tgtgaaaaca	600
aatcaaaaaggc tggtaaccaa gttaaaaacg cttttaccaa attgcaagaa aaaggatct	660
acaaagctat gtcagaattt gatatcttta tcaactacat cgaagcttac atgactatga	720
aaatccgtaa ctaactagaa ttaatctata agttactgac aaaactgtca gtaactttt	780
ttgtggaaa aatgtatttt tatgaccgta aagaatctgt cagtagaagt ctgaaattcg	840
tttaaaaatc gactagaata ggctttacg acaagatgtt tttaagagta cgctctaaat	900
gtattttgt attttgcgtt gattacgaag tttaaatttta attgacaaat gttttaaat	960
gagtataata ggacttgcata ccgattttat ttttataaag gagaaagaaa gatgaacaaa	1020
cttttacttg gaacagcctt tataggggct agcttactga ttgggtgggg tgctcatgca	1080
gatcaaatgt ttatcgtttg tataatcata atactggtga gcactctata caactagtgg	1140
gacaccaaaa gaatgctaat gtaagtgegg gttggactta tgaagggtgc gggtggatcg	1200
caccaacaac aagttcaagc ccagttacc gtgtgtacaa tccaaatgca ttattacaca	1260

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

tgttcattta atcttatatt tgcatttatt ttatctatat tatgttttga agtaataaaag	3360
ttttgactgt gtttatatt tttctcggttcc attataaccc tcttaattt ggtttatatga	3420
atttgctta ttaacgattc attataacca ctatTTTTt gttgggttga taatgaactg	3480
tgcgttac aaaaatacta aaaatgccca tatttttcc tccttataaa attagtataa	3540
ttatagcact ggtcgagatc catgttctt cctcggttat cccctgattc tgtggataac	3600
cgtattaccg ctttggatgt agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc	3660
gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct cccgcgcgt	3720
tggccgattc attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagttag	3780
cgcaacgcaa ttaatgttag ttagctact cattaggcac cccaggctt acactttatg	3840
cttccggctc gtagttgtg tggattgtg agcggataac aatttcacac aggaaacagc	3900
tatgaccatg attacgccaa gcttgcattc ctgcaggctcg actctagagg atccttatata	3960
caattgagca aaagaaaattt agttattaaa ttaccagctg gagttccctcc aatgggttga	4020
gattcactaa gtccagcaat tatttcaatg gtgattttctt gttttagtggt cgggattcgt	4080
gtgggattctt cttatacgcc attccatgtat attttcaatt tctcaacaca actaattcaa	4140
gcaccgttga ctgggtctgt ggcaatccca tgggttctt tggcatctt tacctttgg	4200
aatttcttatt gtttcttgg tatccaccct aatttaattt gggaaatttt aaatccattt	4260
ttattaaacaa tgcattatgc taatattgtat gcctatgctg ccggaaaacc tgtaccatac	4320
ttacaaatga tgattgtgtt tgctgtgggt gcaacgcat ggggcggaaag tggaaataact	4380
tatgggttag ttatttcaat gtttacggca aaatctgaac gctataaaca attattaaaa	4440
ttaggtgcaa ttccctgtat ttcaatatc agtgaaccat tacttttgg tcttccaatg	4500
atgttaaattc ctcttttctt tattcccttg gtttccaaac cagcaattt aggaactgt	4560
gcattggct tggcaaaagat attatatatt acaaattctga atccaatgac ggcacttctt	4620
ccttggacga caccagcacc tgcgagaatg gccatTTCTCAG gtggacttcc atttttgatt	4680
attttgcaat tctgttttagt cttgaatgtt ctatTTCTCAG acccatttctt taaggtggcg	4740
tataataaaag cttagaaaga agaaaaagca gctgttgaat taga	4784

<210> 25
 <211> 4936
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> pOThy15

<400> 25

gattaagtca tcttacctct tttattagtt ttttcttata atctaattgtat aacattttta	60
taattaaatct ataaaccata tcccttttg gaatcaaaat ttattatctt ctcctttgtat	120
gatatgttat aatacaagta tcagatctgg gagaccacaa cggttccca ctagaaataa	180
ttttgtttaa cttagaaag gagatatacg catgaaaaaa aagattatct cagctatttt	240

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

aatgtctaca gtcatacttt ctgctgcagc cccgttgtca ggtgtttacg cctcagctgg 300
tcaaggtaact caatcagaaa actcatgtac tcactttcca ggttaacttgc caaacatgtct 360
tcgtgatttgcgt cgtgatgctt tttcacgtgt taaaactttt tttcaaatga aagatcaact 420
tgataacttg cttttgaaag aatcactttt ggaagatttt aaaggttacc ttgggtgtca 480
agctttgtca gaaatgatcc aattttaccc tgaagaagtt atgcccacaag ctgaaaacca 540
agatccagat atcaaagctc acgttaactc attgggtgaa aaccttaaaa ctttgcgtct 600
tcgtttgcgt cgttgcacc gtttcttcc atgtgaaaac aaatcaaaaag ctgttgaaca 660
agttaaaaac gttttaaca aattgcaaga aaaaggtatc tacaagacta tgtcagaatt 720
tgatatctt atcaactaca tcgaagctta catgactatg aaaatccgta actaactaga 780
attaatctat aagttactga caaaactgtc agtaactttt tttgtggaa aatgtattt 840
ttatgaccgt aaagaatctg tcagtagaaag tctgaaattc gttaaaaat cgactagaat 900
aggctttaac gacaagatgt tttaaagagt acgctctaaa tgtatfffft tattttgtt 960
tgattacgaa gtttaaattt aattgacaaa tgtttaaaa tgagtataat aggacttgta 1020
accgatttta tttttataaa ggagaaagaa agatgaacaa actttactt ggaacagcct 1080
ttataggggc tagcttactg attgggtggg gtgctcatgc agatcaaatg tttatcgttt 1140
gtataatcat aatactggtg agcactctat acaacttagtgg gacacccaaa agaatgctaa 1200
tgtaagtgcg ggttggactt atgaagggtt cgggtggatc gcaccaacaa caagttcaag 1260
cccagttac cgtgtgtaca atccaaatgc attattacac aaaaagcaag tatgaagccc 1320
aaagtttagt aaataagggt tggaaatggg ataataacgg aaaggcggc ttcttattctg 1380
gaggttctca agccgtatata tcgccttata atccaaatgc acaatctggc gtcacaattt 1440
acacggaaag tagctttagtgg caaaatagct tattgaatac tggttggaaa tatggggcag 1500
tagcttggta cgggatttggaa gtaaaaaacg aatgtttaaa cattgctcaa attgttagt 1560
gtaatttttc tagtattgtt ggaacttggaa aagataacttc tgaaatatg cttgaaatatta 1620
atgcaatggg aaatcttact ttaatatggaa aagggcggaaa gaatcaaacc tttgaacttg 1680
gctcagggtca acaatttataat ggaactgcag atattgcctt aaaaatggaa gagattttccc 1740
ctggtagtcc acttaacattttt tttgttgcgttca acacagaagt gaattcactg gccgtcg 1800
tacaacgtcg tgacttggaa aaccctggcg ttaccact taatgcctt gcagcacatc 1860
cccccttcgc cagctggcgat aatagcgaag aggcccgac cgatgcctt tcccaacagt 1920
tgctcaggcttca gaaatggcgaa tggcgcttgc tgcttgcgtt ctttgcgttca 1980
gtatccaca ccgcataatgg tgcacttagaa ctagcgattc tggaaatcacc attttaaaaaa 2040
ctccaaatcaa ataattttat aagtttagt gatcactttt taaatcataaaa aacaacaata 2100
aagctactta aatatacgatt tataaaaaac gttggcgaaa acgttggcgaa ttgcgttgcgt 2160
attgaaaaac ccctttaacc cttgagccag ttggataga gctttttgg cacaacaaattt 2220
ggcactcgcc acttaatggg gggtcgtagt acqqaagcaa aatttcgttcc ctttcccccc 2280

attttttcc aaattccaaa ttttttcaa aaattttcca gcgctaccgc tcggcaaaat	2340
tgcaagcaat tttaaaatc aaacccatga gggatttca ttccctcata ctccttgag	2400
cctcctccaa ccgaaataga agggcgctgc gcttattatt tcattcagtc atcggcttc	2460
ataatctaac agacaacatc ttgcgtcaa agccacgcta cgctcaaggg ctttacgct	2520
acgataacgc ctgtttaac gattatgccc ataactaac gaaataaacg ctaaaacgtc	2580
tcagaaacga tttgagacg tttataaaa aaatcgctag tccgaggcct cgaccggatt	2640
cacaaaaat aggcacacga aaaacaagtt aaggatgca gtttatgcat cccttaactt	2700
acttattaaa taatttata tag ctattgaaaa gagataagaa ttgttcaaag ctaatattgt	2760
ttaaatcgtc aattcctgca tggtttaagg aattgttaaa ttgattttt gtaaatattt	2820
tcttgattc ttgttaacc catttcataa cggaaataatt atactttgt ttatcttgc	2880
gtgatattct tgattttttt ctacttaatc tgataagtga gctattcact ttaggtttag	2940
gatggaaata ttctcttggg accataactta atatagaat atcaacttct gccattaaaa	3000
gtaatgcca tgagcgaaaaa gttttaata atcttttagc aaacccgtat tccacgatta	3060
aataaatctc attagctata ctatcaaaaa caatttgcg tattatatcc gtacttatgt	3120
tataaggtat attaccat atttatagg attggttttt agggaaattt aactgcaata	3180
tatccttggtt taaaacttgg aaattatcgt gatcaacaag tttatttct gtagtttgc	3240
ataattttatg gtctatttca atggcagtttca cggaaattaca cctctttact aattcaaggg	3300
taaaatggcc ttttcctgag ccgatttcaa agatattatc atgttcatat aatcttataat	3360
ttgtcattat ttatctata ttatgtttt aagtaataaa gtttgactg tggttataat	3420
ttttctcggtt cattataacc ctctttaatt tggttatatg aattttgcattt attaacgatt	3480
cattataacc acttattttt tggttgggtt ataatgaact gtgctgatta caaaaataact	3540
aaaaatgccc atatttttc ctccttataa aatttagtata attatagcac gggtcgagat	3600
ccatgttctt tcctgcgtta tcccctgatt ctgtggataa ccgtattacc gccttgagt	3660
gagctgatac cgctcgccgc agccgaacga ccgagcgcag cgagtcagtg agcgaggaag	3720
cggaagagcg cccaatacgc aaaccgcctc tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca	3780
gctggcacga caggtttccc gactggaaag cggcagtgaa ggcacacgca attaatgtga	3840
gttagctcac tcattaggca ccccaggctt tacactttat gcttccggct cgtatgttgc	3900
gtggaattgt gagcggataa caatttcaca cagaaacag ctatgaccat gattacgcca	3960
agcttgcacg cctgcaggc gactctagag gatcctatata acaatttgagc aaaagaaatt	4020
tagttattaa attaccagct ggagttctc caatggttgt agattcacta agtccagcaa	4080
tttatttcaat ggtgattttc tggttgcgtt tcgggattcg tggggattc tcttatacgc	4140
cattccatga tattttcaat ttctcaacac aactaattca agcaccggtt actggtgctg	4200
tggcaaatcc atgggttctt atgggcacatct ttaccttgg taatttctta tggttcttg	4260
gtatccaccc taatttaatt gggggattt taaatccatt gttattaaca atgtcatatg	4320

ctaatattga tgcctatgct gccggaaaac ctgtaccata cttacaaaatg atgatttgt	4380
ttgctgtggg tgcgaacgca tggggcggaa gtggaaatac ttatgggta gttatttcaa	4440
tgttacggc aaaatctgaa cgctataaac aattattaaa attaggtgca attcctagta	4500
ttttcaatat cagtgaacca ttacttttg gtcttccaaat gatgttaat cctctttct	4560
ttattccttt ggtttccaa ccagcaattt taggaactgt agcattggc ttggcaaaga	4620
tattatatac tacaaatctg aatccaatga cgccacttct tccttggacg acaccagcac	4680
ctgtgagaat ggccatttca ggtggacttc cattttgtat tattttgca atctgttttag	4740
tcttgaatgt tcttatttac tacccattct ttaaggtggc gtataataaa gctttagaag	4800
aagaaaaagc agctgttcaa ttagagggtt cagaaactgc ctgatggata tttttataa	4860
atctggtttgc aacaaattt attgacatct cttttctat cctgataatt ctgagaggtt	4920
attttggaa atacta	4936

<210> 26
 <211> 4995
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> pOThy16

<400> 26

aatttcgatt aagtcatctt acctctttta ttagttttt cttataatct aatgataaca	60
tttttataat taatctataa accatatccc tctttggaaat caaaatttat tatctactcc	120
ttttagata ttttataataa caagtatcg atctgggaga ccacaacggt ttcccactag	180
aaataatttt gtttaacttt agaaaggaga tatacgcattg aaaaaaaaaa ttatctcagc	240
tattttatg tctacagtca tactttctgc tgcagccccg ttgtcaggtg ttacgcctc	300
agctggtcaa ggtactcaat cagaaaactc atgtactcac tttccaggtt acttgccaaa	360
catgcttcgt gatttgcgtg atgcttttc acgtgttaaa acttttttc aaatgaaaga	420
tcaacttgat aacttgcttt tgaaagaatc acttttgaa gattttaag gttaccttgg	480
ttgtcaagct ttgtcagaaa ttagccattt ttaccttgcgaa gaagttatgc cacaagctga	540
aaaccaagat ccagatataa aagctcacgt taactcattt ggtgaaaacc ttaaaacttt	600
gcgttccgtt ttgcgtcggtt gtcaccgttt tcttccatgt gaaaacaaat caaaagctgt	660
tgaacaagtt aaaaacgctt ttaacaaattt gcaagaaaaa ggtatctaca aagctatgtc	720
agaatttgat atctttatca actacatcga agcttacatg actatgaaaa tccgtacta	780
actagaatta atctataatgt tactgacaaa actgtcagta acttttttg tggaaaaat	840
gtatTTTat gaccgtaaag aatctgtcag tagaagtctg aaattcgttt aaaaatcgac	900
tagaataggc tttaacgaca agatgtttt aagagtacgc tctaaatgtt tttttgtatt	960
tttggtttgcgat tacgaagttt aaatttaattt gacaaatgtt ttaaaatgag tataatagga	1020
cttgcgtaccgcg attttattttt tataaaggag aaagaaaagat gaacaaactt ttacttggaa	1080

DE 602 12 825 T2 2007.01.11

cagccttat	aggggctagc	ttactgattg	gtgggggtgc	tcatgcagat	caaatgttta	1140
tcgttgtat	aatcataata	ctggtgagca	ctctatacaa	ctagtggac	acaaaagaa	1200
tgctaatgt	agtgcgggtt	ggacttatga	aggtgtcggt	tggatcgcac	caacaacaag	1260
ttcaagccca	gtttaccgtg	tgtacaatcc	aatgcatta	ttacacaaaaa	agcaagtatg	1320
aagcccaaag	tttagtaat	aagggttgg	aatggataa	taacggaaag	gcggtcttct	1380
attctggagg	ttctcaagcc	gtatatgtcg	cttataatcc	aatgcacaa	tctggcgctc	1440
acaattacac	ggaaagttagc	tttgagcaa	atagcttatt	gaatactggt	tggaaatatg	1500
gggcagtagc	ttggtacggg	attggagtaa	aaaacgaaat	gtttaaacatt	gctcaaattg	1560
tttagtggtaa	ttttcttagt	attgttggaa	cttggaaaga	tacttctgg	aatatgctt	1620
aaattaatgc	aatggaaat	cttactttaa	tatggaaagg	ggcaaagaat	caaaccctt	1680
aacttggcgc	aggtcaacaa	ttaatggaa	ctgcagat	tgccttaaaa	aatggagaga	1740
tttccccctgg	tagtccactt	aacattttt	ttgtaccaac	agaagtgaat	tcactggccg	1800
tcgtttaca	acgtcgtgac	tggaaaacc	ctggcgttac	ccaaacttaat	cgccttgcag	1860
cacatcccc	tttcgcgcagc	tggcgtataa	gcgaagaggc	ccgcaccgat	cgccttccc	1920
aacagttgcg	cagcctgaat	ggcgaatggc	gcctgatgcg	gtatttctc	cttacgcata	1980
tgtgcggtat	ttcacaccgc	atatggtgc	ctagaactag	cgattctgaa	atcaccat	2040
aaaaaaactcc	aatcaaataa	ttttataaaag	ttagtgatc	actttgtaa	cataaaaaca	2100
acaataaagc	tacttaaata	tagattata	aaaaacgttg	gcgaaaacgt	tggcgattcg	2160
ttggcgattg	aaaaaccctt	taaaccctt	agccagttgg	gatagagcgt	ttttggcaca	2220
aaaattggca	ctcggcactt	aatgggggt	cgtagtgacgg	aagcaaaatt	cgcttcctt	2280
ccccccattt	tttccaaat	tccaaat	tttcaaaaat	tttccagcgc	taccgctcg	2340
caaaattgca	agcaattttt	aaaatcaaac	ccatgaggga	atttcattcc	ctcatactcc	2400
cttgagcctc	ctccaaccga	aatagaaggg	cgctgcgtt	attatttcat	tcagtcatcg	2460
gcttcataa	tctaacagac	aacatctcg	ctgcaaagcc	acgctacgct	caaggcctt	2520
tacgctacga	taacgcctgt	tttaacgatt	atgccgataa	ctaaacgaaa	taaagctaa	2580
aacgtctcag	aaacgatttt	gagacgttt	aataaaaaat	cgctagtccg	aggcctcgac	2640
ccgatttcaca	aaaaataggc	acacgaaaaa	caagttagg	gatgcagttt	atgcattcc	2700
taacttactt	ataaaataat	ttatagctat	tgaaaagaga	taagaattgt	tcaaagctaa	2760
tattgtttaa	atcgtcaatt	cctgcgtt	ttaaggaatt	gttaaattga	tttttgtaa	2820
atattttctt	gtattctt	ttaaccatt	tcataacgaa	ataattatac	ttttgtttat	2880
ctttgtgtga	tattcttgat	tttttctac	ttaatctgat	aagtgagcta	ttcac	2940
gtttaggatg	aaaatattct	cttggAACCA	tacttaat	agaaatatca	acttctgcca	3000
ttaaaaagtaa	tgc	ccatgag	cg	tttagc	aaacccgttca	3060
cgattaaata	aatctcatta	gctatactat	caaaaacaat	tttgcgtatt	atatccgtac	3120

ttatgtata aggtatatta ccatatattt tataggattg gtttttagga aatttaaact	3180
gcaatatatac cttgtttaaa acttggaaat tatacgatc aacaagttt ttttctgttag	3240
ttttgcataa tttatggctt atttcaatgg cagttacgaa attacaccc tttactaattt	3300
caagggtaaa atggccttt cctgagccga tttcaaaagat attatcatgt tcatttaatc	3360
ttatatttgt cattattttt tctatattat gtttgaagt aataaagttt tgactgtgtt	3420
ttatattttt ctcgttcatt ataaccctct ttaatttggt tataatgtt ttgcttattt	3480
acgatttcatt ataaccactt atttttgtt tggttgataa tgaactgtgc tgattacaaa	3540
aatactaaaa atgcccataat ttttcctcc ttataaaattt agtataattha tagcacgggt	3600
cgagatccat gttctttctt gcgttatccc ctgattctgt ggataaccgtt attaccgcct	3660
ttgagtgagc tgataccgtt cggccgagcc gaacgaccga ggcgcagcgag tcagtgagcg	3720
aggaagcgga agagcgccca atacgcaaac cgccctctccc cgccgcgttgg ccgatttcatt	3780
aatgcagctg gcacgacagg tttcccgact gggaaagcggg cagtgagcgc aacgcaattt	3840
atgtgagtttta gtcactcat taggcacccc aggctttaca ctttatgtt ccggctcgta	3900
tgttgtgtgg aattgtgagc ggataacaat ttacacacagg aaacagctat gaccatgatt	3960
acgccaagct tgcattgcctt caggtcgact cttagggatc ctatatacaa ttgagcaaaa	4020
gaaattttgtt tattaaattha ccagctggat ttcctccat ggttgttagat tcactaagtc	4080
cagcaattat ttcaatggtg atttctgtt tgcgttcgg gattcgtgtg ggattcttctt	4140
atacgccatt ccatgatatt ttcaatttctt caacacaact aattcaagca ccgttgactg	4200
gtgctgtggc aaatccatgg gttcttatgg gcatctttac ctggtaat ttcttatgg	4260
tctttggat ccaccctaat ttaattgggg gaattttaaa tccattgtt ttaacaatgt	4320
catatgtctaa tattgatgcc tatgctgccc gaaaacctgtt accataactt caaatgatga	4380
ttgtgtttgc tgggggtgcg aacgcattgg gccggaaatggg aaatactt gggtagttt	4440
tttcaatgtt tacggcaaaa tctgaacgct ataaacaattt attaaattha ggtgcaattt	4500
ctagttttt caatatcagt gaaccattac tttttggctt tccatgtatg ttaaatcctc	4560
ttttctttat tcctttggat ttccaaaccag caatttttagg aactgttagca ttgggcttgg	4620
caaagatattt atatattaca aatctgaatc caatgacggc acttcttcc tggacgacac	4680
cagcacctgtt gagaatggcc atttcaggtt gacttccattttt tttgattttt tttgcaatct	4740
gttttagtctt gaatgttctt atttactacc cattttttaa ggtggctat aataaagctt	4800
tagaagaaga aaaagcagct gttgaattttt agggttcaga aactgcctga tggatatttt	4860
ttataaatctt ggttgaaca aattatattt acatctcttt ttctatcctg ataaattctga	4920
gaggttattt tggaaatac tattgaacca tatcgaggtt tggatataa tgaaggaaat	4980
taaaaaaagat aggaa	4995

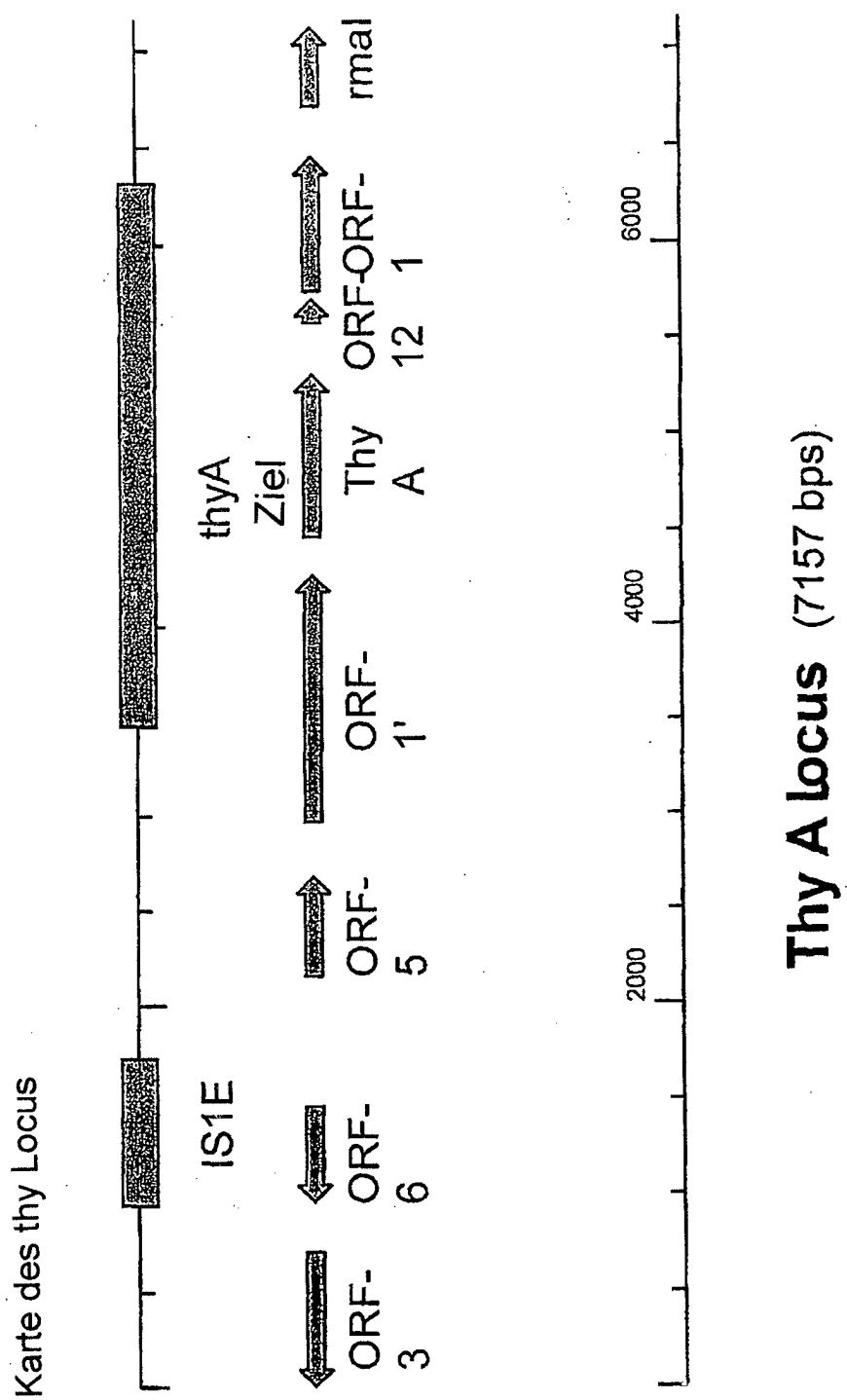
Patentansprüche

1. Verwendung eines isolierten *Lactococcus* sp. Stamms, umfassend ein Thymidylat-Synthase-Gen, das mittels Gendisruption inaktiviert wurde für die Zubereitung eines Medikaments für die Zufuhr eines prophylaktischen und/oder therapeutischen Moleküls.
2. Die Verwendung eines isolierten *Lactococcus* sp. Stamms nach Anspruch 1, wobei das Thymidylat-Synthase-Gen durch das Gen, das für das prophylaktische und/oder therapeutische Molekül kodiert disrupiert wird.
3. Die Verwendung eines isolierten *Lactococcus* sp. Stamms nach Anspruch 1 oder 2, wobei das prophylaktische und/oder therapeutische Molekül Interleukin 10 ist.

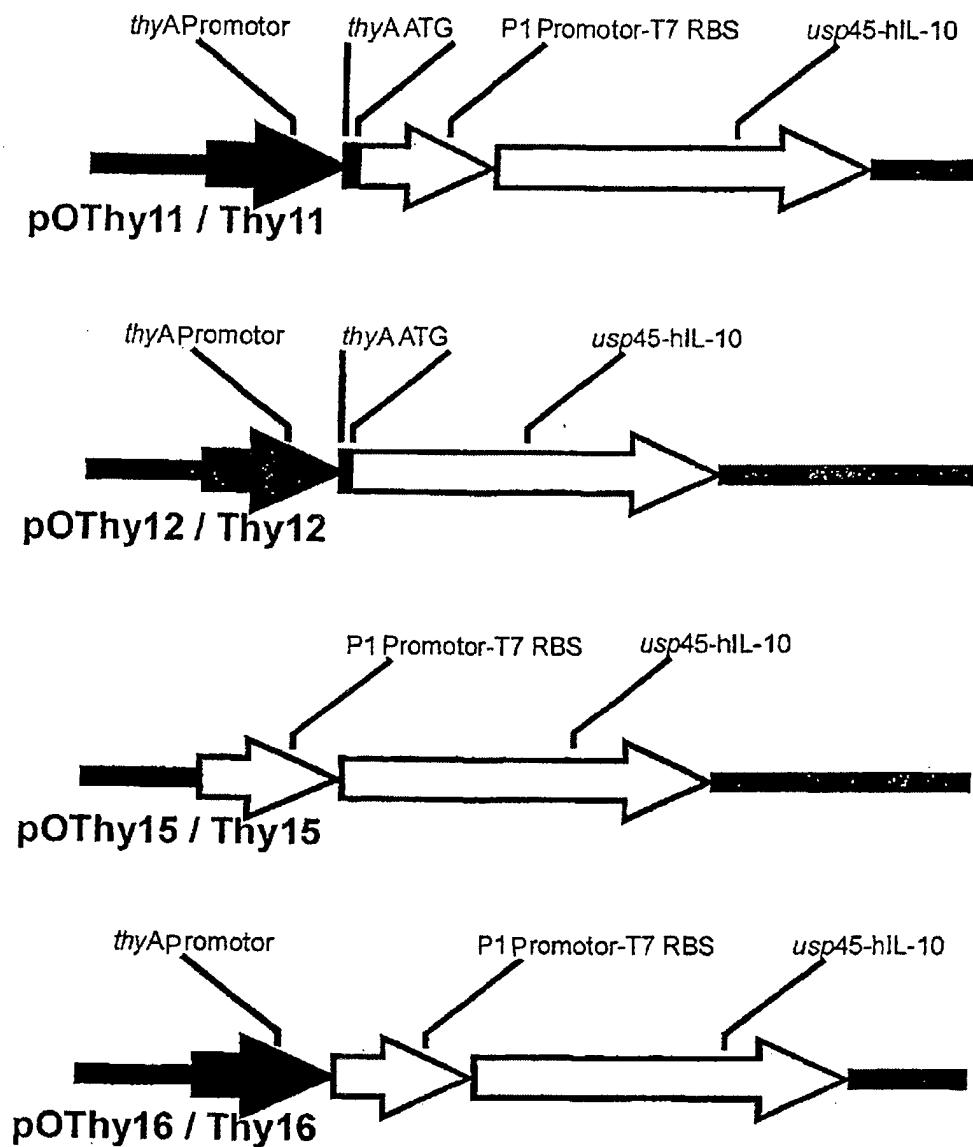
4. Die Verwendung eines isolierten Lactococcus sp. Stamms nach Anspruch 3 für die Zubereitung eines Medikaments zur Behandlung entzündlicher Darmerkrankung.
5. Eine pharmazeutische Zusammensetzung umfassend einen isolierten Lactococcus sp. Stamm, der ein prophylaktisches und/oder therapeutisches Molekül herstellt, wobei der Stamm ein Thymidylat-Synthase-Gen umfasst, das mittels Gendisruption inaktiviert ist.
6. Die pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 4, wobei das Thymidylat-Synthase-Gen durch das Gen, das für das prophylaktische und/oder therapeutische Molekül kodiert, disrupiert wird.
7. Die pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 4 oder 5, wobei das prophylaktische und/oder therapeutische Molekül Interleukin 10 ist.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

Figur 1:



Figur 2:



Figur 3:

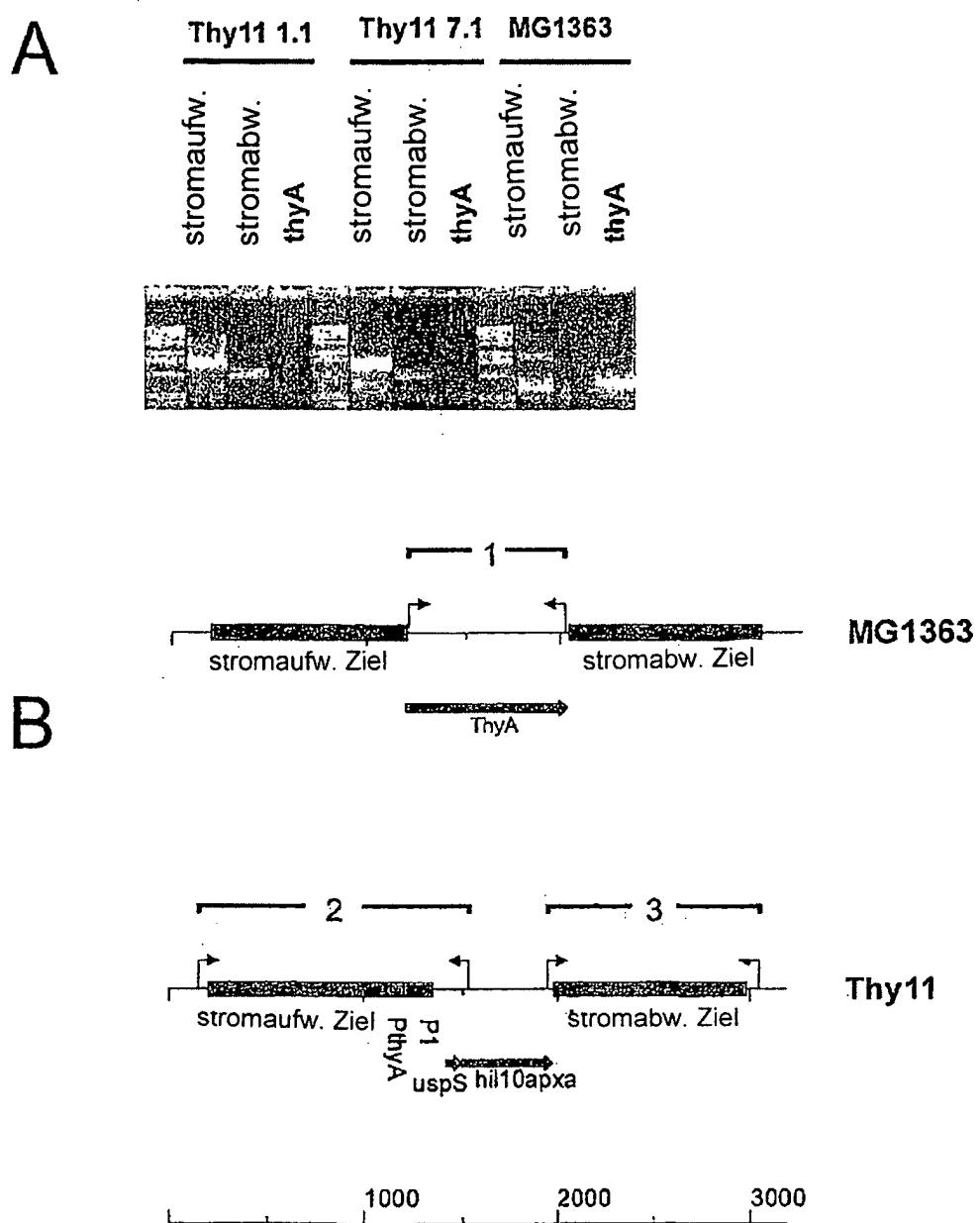
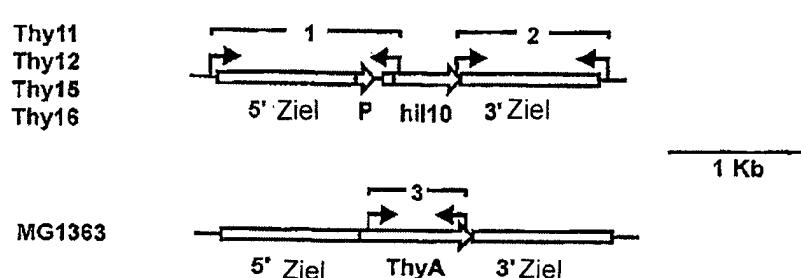
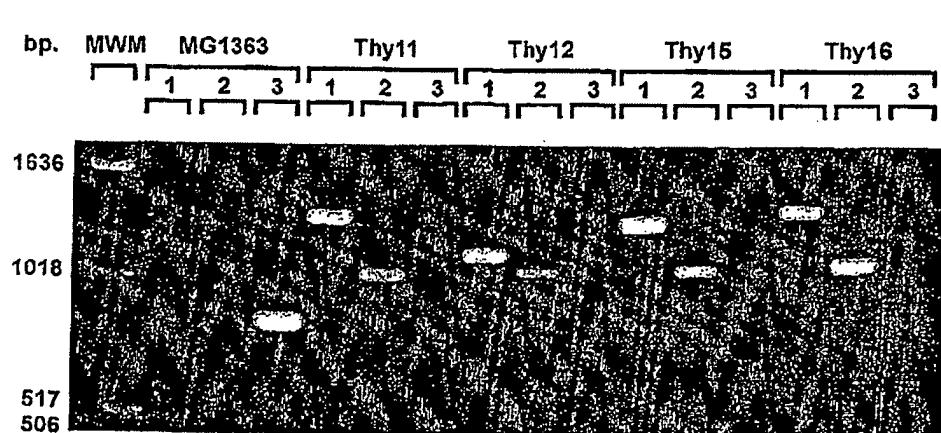


Figure 4:

A**B**

Figur 5:

A

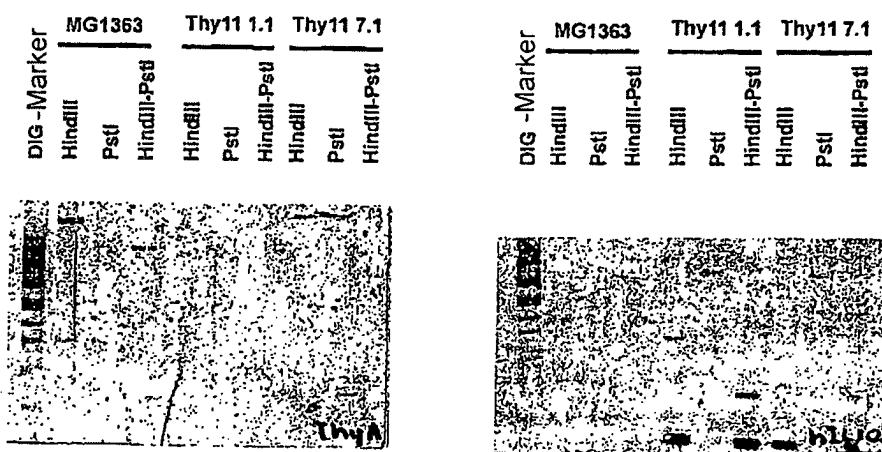
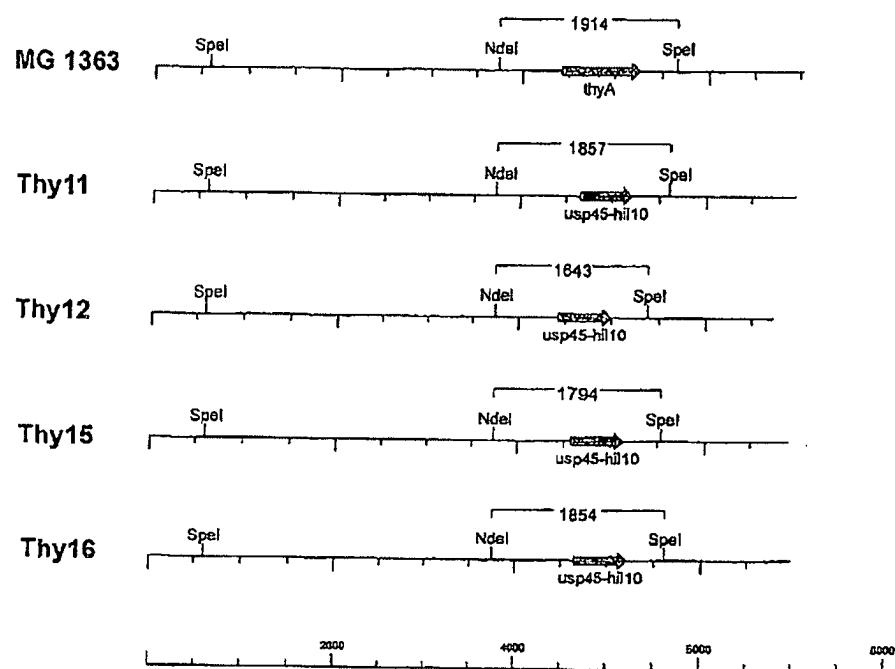
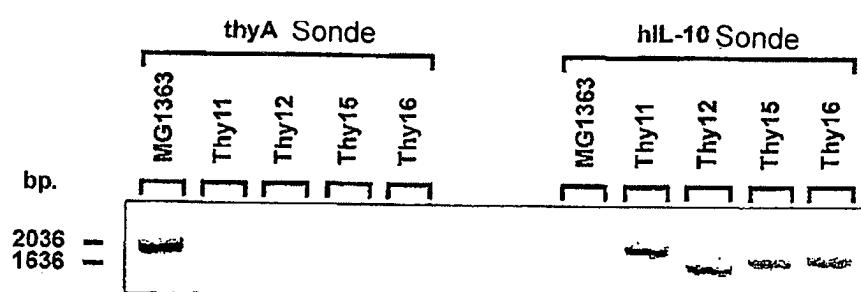
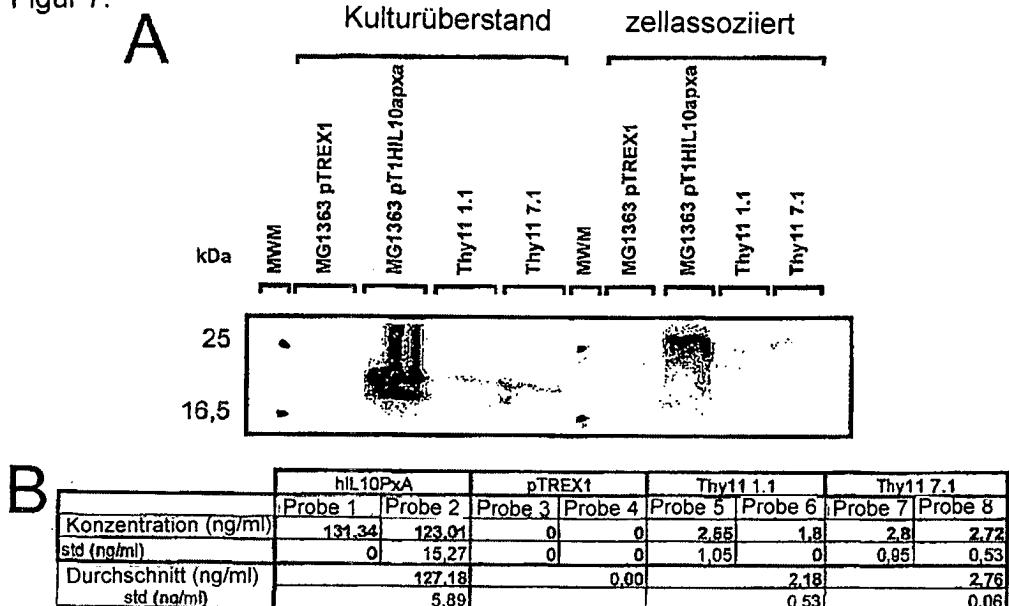


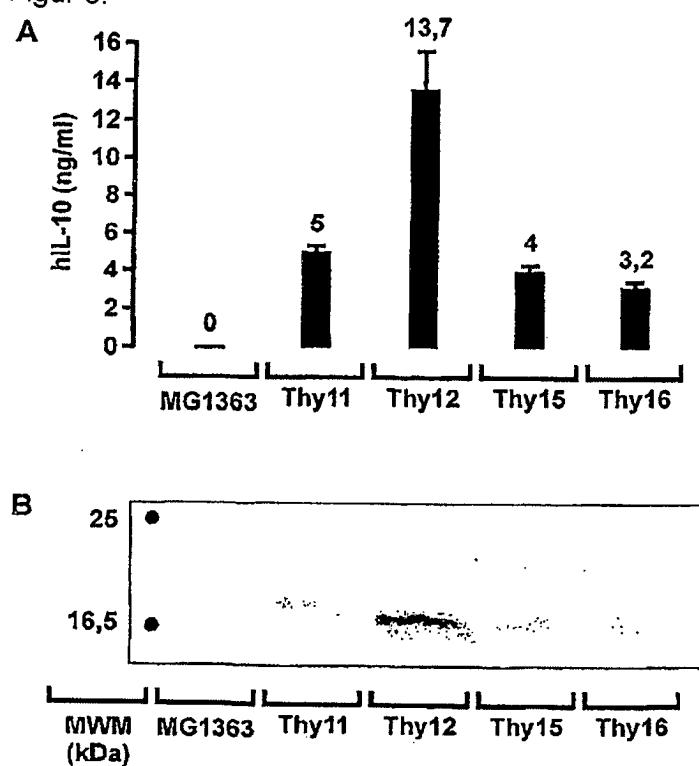
Figure 6:

A**B**

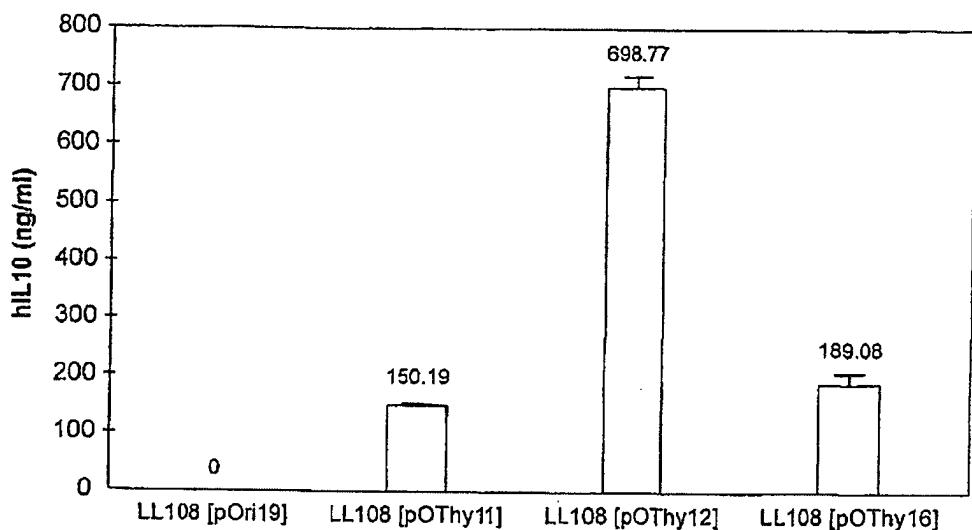
Figur 7:



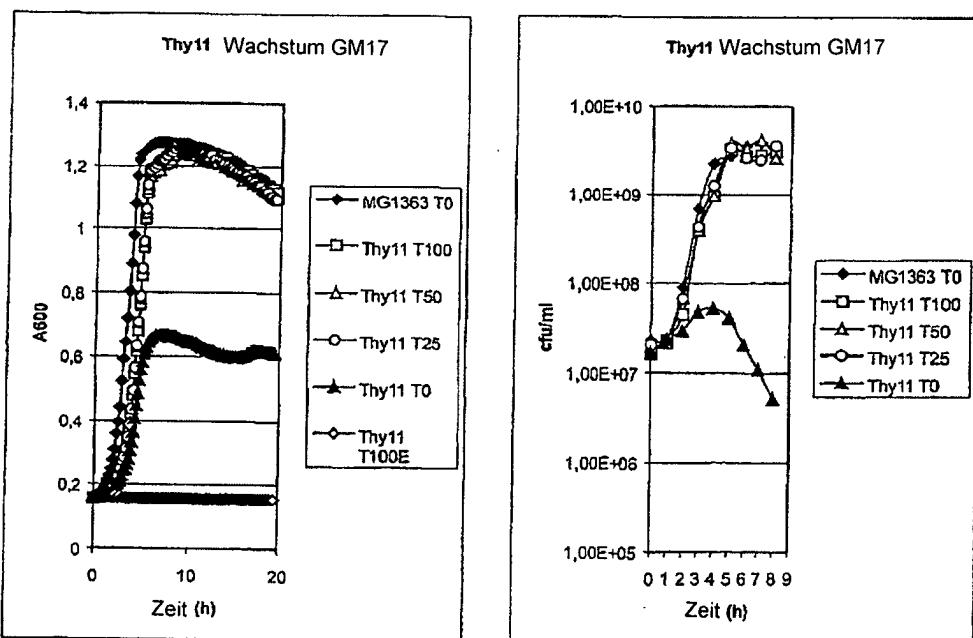
Figur 8:



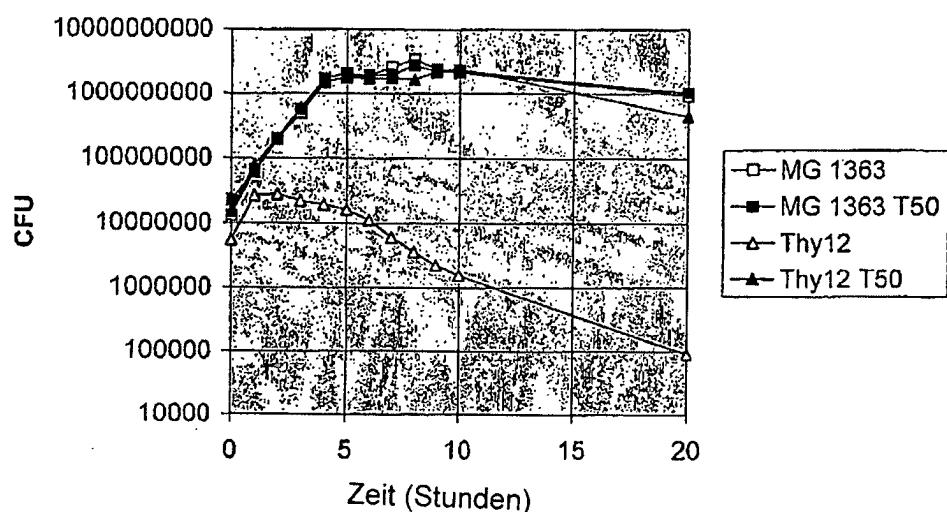
Figur 9:



Figur 10:



Figur 11:



Figur 12:

