



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0046376
(43) 공개일자 2009년05월11일

(51) Int. Cl.

C12N 15/64 (2006.01) C12N 15/55 (2006.01)

C12N 15/09 (2006.01) C12N 1/16 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0112478

(22) 출원일자 2007년11월06일

심사청구일자 2007년11월06일

(71) 출원인

부경대학교 산학협력단

부산 남구 용당동 산 100번지 부경대학교내

(72) 발명자

김영태

부산 해운대구 좌동 1448번지 경남선경아파트 10
7동 1002호

(74) 대리인

최규환

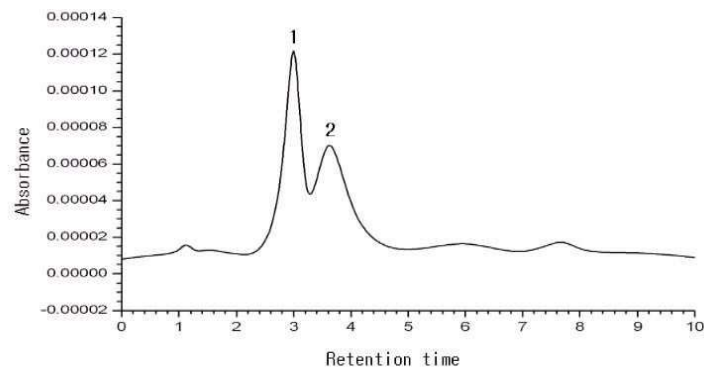
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 카로티노이드 생합성 유전자로 형질 전환된 효모 및 이를 이용한 아스타잔틴의 대량 생산 방법

(57) 요약

본 발명은 서열번호 1로 표시되는 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 서열번호 2로 표시되는 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 효모 재조합 벡터, 상기 재조합 벡터로 형질전환된 아스타잔틴을 대량 생산하는 효모 균주, 상기 균주를 β -카로틴이 함유된 배지에서 배양하여 아스타잔틴을 생산하는 방법 및 상기 방법에 의해 생산된 아스타잔틴에 관한 것이다.

대표도 - 도5



HPLC를 이용한 효모에서 아스타잔틴의 생합성 확인. 1, 베타카로틴 ; 2, 아스타잔틴

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 1로 표시되는 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 서열번호 2로 표시되는 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 효모 재조합 벡터.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 벡터는 도 3에 도시된 개열지도를 갖는 pYES2/GALCrtW-Met25CrtZ 벡터인 것을 특징으로 하는 효모 재조합 벡터.

청구항 3

제1항 또는 제2항의 효모 재조합 벡터로 형질전환된 아스타잔틴을 대량 생산하는 효모 균주.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 효모 균주는 β -카로틴을 이용하는 것을 특징으로 하는 효모 균주.

청구항 5

서열번호 1로 표시되는 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 서열번호 2로 표시되는 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 효모 재조합 벡터로 효모를 형질전환하여 β -카로틴이 함유된 배지에서 배양하는 단계를 포함하는 아스타잔틴을 생산하지 않는 효모에서 아스타잔틴을 생산하는 것을 특징으로 하는 아스타잔틴의 생산 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 효모 재조합 벡터는 도 3에 도시된 개열지도를 갖는 pYES2/GALCrtW-Met25CrtZ 벡터인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제5항 또는 제6항의 방법에 의해 생산된 아스타잔틴.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기술 분야

<1> 본 발명은 서열번호 1로 표시되는 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 서열번호 2로 표시되는 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 효모 재조합 벡터, 상기 재조합 벡터로 형질전환된 아스타잔틴을 대량 생산하는 효모 균주, 상기 균주를 β -카로틴이 함유된 배지에서 배양하여 아스타잔틴을 생산하는 방법 및 상기 방법에 의해 생산된 아스타잔틴에 관한 것이다.

배경 기술

<2> 카로티노이드(carotenoids)는 C_{40} 이소프레노이드 화합물(isoprenoid compounds)로서, 항산화 활성을 가지고 있다. 이러한 카로티노이드 중 베타-카로틴 (β -carotene; 당근에 존재; 도 1)과 아스타잔틴(astaxanthin; 연어 및 바다가재에 존재; 도 1), 라이코펜(licopen; 토마토의 적색 색소) 등이 있으며, 아스타잔틴의 항산화력이 다른 카로티노이드의 10배 이상이고, α -토코페롤(tocopherol)의 100배 이상인 것으로 알려져 있다. 또한, 현재까지 아스타잔틴의 독성(toxicity)에 대해서는 보고된 바 없어, 아스타잔틴은 신경질환(neurodegenerative diseases), 암(cancer), 면역질환(immune disorders), 심장혈관질환(cardiovascular diseases) 등을 포함하는 다양한 질환의 치료 및 예방에 이용되고 있다. 이러한 이유로 아스타잔틴의 수요는 매년 증가하고 있으며, 이에 따라 아스타잔틴의 중요성이 강조되고 있다.

<3> 아스타잔틴은 화학 합성법을 이용하여 합성할 수 있으나 화학합성으로 제조된 아스타잔틴은 천연 아스타잔틴에

비해 생체 흡수율을 낮고, 식품 첨가제로서의 안전성에 문제가 되고 있어 일부 국가에서만 사용이 허가된 상태이다. 따라서, 천연 아스타잔틴의 생산법에 관심이 집중되고 있으며, 이 중 미생물을 이용한 아스타잔틴의 제조에 상업적 관심이 일고 있다. 현재 아스타잔틴을 생산하는 것으로 알려진 미생물로는 효모인 파피아 로도지마(*Phaffia rhodozyma*; Miller *et al.*, 1976, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48: 529-536), 녹색조류인 해마토코커스 플루비알리스(*Haematococcus pluvialis*; Bubrick, 1991, *Bioresour Technol.*, 38: 237-239), 그람-양성균 브레비박테리움 103(*Brevibacterium* 103; Lizuka & Nishimura, 1969, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 15: 127-134), 그람-음성균 아그로박테리움 아우란티아쿰(*Agrobacterium aurantiacum*; Yokoyama *et al.*, 1994, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 58: 1842-1844), 파라코커스 마르쿠시아이(*Paracoccus marcusii*; Harker *et al.*, 1998, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48: 543-548) 및 파라코커스 카로티니파시엔스(*Paracoccus carotinifaciens*; Tsubokura *et al.*, 1999, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 49: 277-282) 등과 본 발명자에 의해 동정된 파라코커스 해운대시스(*Paracoccus haeundaesis*; Kim *et al.*, 2004, *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 54: 1699-1702) 등이 알려져 있다.

<4> 한편, 아스타잔틴의 생합성은 일반적으로 카로티노이드(carotenoid) 생합성 경로에서 β -카로틴이 CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 효소들에 의해 아스타잔틴으로 전환된다(도 2). 하지만, 비카로티노이드 생산 균주에서는 β -카로틴 등의 중간물질을 생산할 수 없으며, CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 효소들이 존재하지 않는다. 따라서 카로티노이드 최종 생성물인 아스타잔틴의 최대 생성을 유도하기 위해서는 전구물질을 다량으로 공급하는 동시에 CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 비카로티노이드 생산 균주에 형질전환시켜 이들 균주로부터 아스타잔틴의 생산을 유도한다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

<5> 본 발명에서는 본 발명자들의 앞선 연구에 의해 보고된 파라코커스 해운대시스로부터 분리한 카로티노이드 생합성에 관여하는 crt 유전자(대한민국 공개특허 제2004-85369호)를 이용하여 카로티노이드를 생산하지 않는 미생물 중 효모에서 카로티노이드 최종 생성물인 아스타잔틴을 생산할 수 있도록 하기 위해, 효모 재조합 벡터와 아스타잔틴의 최대 생성을 유도하기 위한 중간 산물인 β -카로틴을 이용하여 효모에서 아스타잔틴을 생합성하는 방법을 확립하고자 한다.

과제 해결수단

<6> 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 효모 재조합 벡터를 제공한다.

<7> 또한, 본 발명은 상기 재조합 벡터로 형질전환된 아스타잔틴을 대량 생산하는 효모 균주를 제공한다.

<8> 또한, 본 발명은 상기 균주를 β -카로틴이 함유된 배지에서 배양하여 아스타잔틴을 생산하는 방법을 제공한다.

<9> 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 생산된 아스타잔틴을 제공한다.

효 과

<10> 본 발명에 따르면, 카로티노이드 생합성 유전자와 아스타잔틴 생산을 위한 중간 산물인 β -카로틴을 기질로 이용하여 아스타잔틴을 생산하지 않는 미생물에서 고부가의 아스타잔틴의 생산을 할 수 있으며, 본 발명의 대량생산방법은 식품학적, 약학적 및 미용학적 용도로 사용되는 카로티노이드의 생산에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

<11> 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 효모 재조합 벡터를 제공한다. 바람직하게는, 상기 재조합 벡터는 서열번호 1로 표시되는 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 서열번호 2로 표시되는 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하며, 더욱 바람직하게는, 상기 재조합 벡터는 도 3에 도시된 개열지도를 갖는 pYES2/GALCrtW-Met25CrtZ 벡터이나, 상기 도 3에 도시된 개열지도를 갖는 벡터에 한정되는 것은 아니다.

- <12> 본 발명은 파라코커스 해운대시스로부터 클로닝한 카로티노이드 생합성 유전자를 재조합된 효모 벡터와 아스타잔틴 생합성에 있어 중간 대사산물인 β -카로틴을 이용하여 비카로티노이드 생산 균체인 효모에서 아스타잔틴을 생산하는 방법을 고안한 것이다. 아스타잔틴의 생합성에 필수적으로 요구되는 유전자로는 CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자들이며, 이들은 베타카로틴을 CrtW는 Canthaxanthin으로 전환시켜 CrtZ가 최종적으로 아스타잔틴으로 생합성 시킨다. 이와 마찬가지로 CrtZ (β -carotene hydroxylase)는 베타카로틴을 Zeaxanthin으로 생합성 시키고 CrtW (β -carotene oxygenase)는 Zeaxanthin을 최종적으로 아스타잔틴으로 생합성 시키는 단계로 이루어져 있다.
- <13> 본 발명에서는 pYES2/CT 벡터와 시그마사에서 제공하는 β -카로틴을 사용하였다. crt 유전자 중 CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 포함하는 재조합 벡터는 효모 및 대장균에서 발현이 가능하며, 이를 'pYES2/GALCrtW-MET25CrtZ'이라 명명하였다. 본 발명에서 사용될 수 있는 기본 벡터는 유전자의 클로닝 또는 발현에 일반적으로 사용되는 벡터라면 제한 없이 사용될 수 있으나 각 유전자의 진행생물체인 효모 등에서 발현되기 위해서는 각 유전자에 고유의 프로모터가 필요하다.
- <14> 용어 "재조합"은 세포가 이종의 핵산을 복제하거나, 상기 핵산을 발현하거나 또는 펩티드, 이종의 펩티드 또는 이종의 핵산에 의해 암호화된 단백질을 발현하는 세포를 지칭하는 것이다. 재조합 세포는 상기 세포의 천연 형태에서는 발견되지 않는 유전자 또는 유전자 절편을, 센스 또는 안티센스 형태 중 하나로 발현할 수 있다. 또한 재조합 세포는 천연 상태의 세포에서 발견되는 유전자를 발현할 수 있으며, 그러나 상기 유전자는 변형된 것으로서 인위적인 수단에 의해 세포 내 재도입된 것이다.
- <15> 용어 "벡터"는 세포 내로 전달하는 DNA 단편(들), 핵산 분자를 지칭할 때 사용된다. 벡터는 DNA를 복제시키고, 숙주세포에서 독립적으로 재생산될 수 있다. 용어 "전달체"는 흔히 "벡터"와 호환하여 사용된다. 용어 "발현 벡터"는 목적한 코딩 서열과, 특정 숙주 생물에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열을 발현하는데 필수적인 적정 핵산 서열을 포함하는 재조합 DNA 분자를 의미한다. 진행세포에서 이용가능한 프로모터, 인핸서, 종결신호 및 폴리아데닐레이션 신호는 공지되어 있다.
- <16> 본 발명은 또한, 본 발명의 효모 재조합 벡터로 형질전환된 아스타잔틴을 대량 생산하는 효모 균주를 제공한다. 효모 재조합 벡터는 전술한 바와 같다. 상기 효모 균주는 β -카로틴을 이용하는 것을 특징으로 한다. 본 발명에서의 숙주 세포는 효모를 사용할 수 있으며, 사카로마이세스 세레비시아 (*Saccharomyces cerevisiae*) 균주가 바람직하나, 반드시 이에 한정되지 않고, 피키아 파스토리스 (*Pichia pastoris*); 한세놀라 폴리모르파 (*Hansenula polymorpha*); 야로위아 (*Yarrowia*); 쉬조사카로마이세스 폼베 (*Schizosaccharomyces pombe*); 클루이베로마이세스 숙주, 예를 들어 케이. 락티스 (*K. lactis*), 케이. 프라길리스 (*K. fragilis*), 케이. 불가리쿠스 (*K. bulgaricus*), 케이. 위커라미 (*K. wickerhamii*), 케이. 왈티 (*K. waltii*), 케이. 드로스필라룸 (*K. drosophilum*), 케이. 테르모톨레란스 (*K. thermotolerans*) 및 케이. 마르시아누스 (*K. marxianus*)를 이용할 수 있다.
- <17> 본 발명은 또한, 서열번호 1로 표시되는 CrtW (β -carotene oxygenase) 유전자 및 서열번호 2로 표시되는 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 효모 재조합 벡터로 효모를 형질전환하여 β -카로틴이 함유된 배지에서 배양하는 단계를 포함하는 아스타잔틴을 생산하지 않는 효모에서 아스타잔틴을 생산하는 것을 특징으로 하는 아스타잔틴의 생산 방법을 제공한다. 바람직하게는 상기 재조합 벡터는 도 3에 도시된 개열지도도를 갖는 pYES2/GALCrtW-Met25CrtZ 벡터이다.
- <18> 본 발명의 실시예에서는 crt 유전자 중 CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자를 포함하는 재조합 벡터를 제작하였고, 상기 재조합 벡터들을 아스타잔틴을 생산하지 않는 효모 균주에 형질전환하여 상기 효모 균주를 배양하는 배지 속에 β -카로틴을 turnover 시켜 생산된 아스타잔틴의 생산 유무를 확인한 결과, 비카로티노이드 생산 균주인 효모에서 아스타잔틴의 생산을 확인하였다.
- <19> 본 발명의 재조합 벡터로 숙주 세포를 형질전환하는 방법은 전기천공법(electroporation) 등의 당업계에서 통상적으로 이용하는 방법을 이용할 수 있다.
- <20> 본 발명의 방법은 본 발명의 재조합 벡터로 형질전환한 후에 형질전환된 숙주세포를 배양하는 단계를 포함할 수 있다. 상기 배양은 β -카로틴이 함유된 배지에서 수행한다. 5% β -카로틴이 함유된 배지 속에서 자란 효모에서 β -카로틴이 turnover 됨을 확인할 수 있었다 (도 4 참고).
- <21> 본 발명은 또한, 본 발명의 방법에 의해 생산된 아스타잔틴을 제공한다. 배양액으로부터 아스타잔틴의 회수는 HPLC(high performance liquid chromatography) 또는 TLC(thin-layer chromatography)를 이용하여 당업계에 공

지된 방법에 따라 수행할 수 있다.

<22> 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

<23> 실시예

<24> **실시예 1. crt 유전자 중 CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 클로닝 및 재조합 벡터의 제작**

<25> 파라코커스 해운대시스에서 카로티노이드 생합성에 관계하는 유전자 중 일부인 CrtW (β -carotene oxygenase)와 CrtZ (β -carotene hydroxylase) 유전자들을 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction)을 이용하여 클로닝하였다. 또한, 이들 유전자들을 진핵세포에서 각각 발현시키기 위한 프로모터를 효모 발현 벡터 및 효모의 게놈 DNA (Genome DNA)에서 갈락토스 프로모터와 Met25 프로모터를 클로닝하여 재조합 DNA인 pYES2/GALCrtW-Met25CrtZ를 완성하였으며, 완성된 재조합 DNA를 염기서열 분석을 위하여 클론된 DNA를 추출한 다음, DNA 염기서열 자동분석기를 사용하여 염기서열을 확인 재조합 DNA를 완성하였다.

<26> **실시예 2. β -카로틴의 효모로 turnover 확인 및 검증**

<27> 효모로 β -카로틴이 turnover 됨을 확인하기 위하여 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*를 YPD 배지에서 20시간 배양하였다. 또한, β -카로틴의 turnover 확인을 위하여 β -카로틴을 95% 에탄올에 2mg/ml 농도로 녹였다. 이를, 100ml YPD 배지에 각 1%, 5%, 10%로 β -카로틴을 넣어 배지를 준비하였으며, 준비된 배지에 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*를 접종하여 30℃, 200rpm에서 20시간 배양하였다. 배양된 효모를 원심분리하여 효모 균체만을 따로 분리하여 이를 PBS (Phosphate Buffered Saline)에서 두세번 정도 씻은 후 이를 초음파 파쇄기를 이용하여 효모 균체를 파괴 시켰다. 파쇄된 효모 균체를 다시 원심분리하여 침전물을 회수하여 분광광도계를 이용하여 450nm에서 측정하였다. β -카로틴의 확인을 위하여 시그마사에서 제공하는 β -카로틴을 대조군으로 사용하였으며, 5% β -카로틴이 함유된 배지 속에서 자란 효모에서 β -카로틴이 turnover 됨을 확인할 수 있었다 (도 4).

<28> **실시예 3. 형질전환된 효모를 이용한 아스타잔틴의 생산**

<29> 상기 실시예 1에서 완성시킨 pYES2/GALCrtW-Met25CrtZ를 효모 (*Saccharomyces cerevisiae*) 균주 중 하나인 SEY2805에 형질 전환하였다. 또한, 실시예 2에서 실험한 방법을 이용하여 배지 속에 5% β -카로틴을 함유시켰다. 효모에서 벡터의 확인과 발현을 위해서 우라실이 결여된 배지 속에서 12시간 배양하고, 이를 계대 배양 후 유전자의 발현을 위하여 1% 갈락토스가 포함된 배지와 5% β -카로틴을 첨가하여 48시간을 배양하여 유전자의 발현을 유도하였다. 또한, turnover된 β -카로틴을 이용한 효모에서 아스타잔틴을 생산하였다.

<30> **실시예 4. 아스타잔틴 생산 분석**

<31> 실시예 3에서 제조된 균주를 13,000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 버리고, 균체를 회수하였다. 회수된 균체에 메탄올 20 ml를 첨가하여 볼텍싱(vortexing)하여 4℃에서 하룻밤동안 배양하고, 13,000 rpm으로 원심분리한 후 상등액을 수득하였다. 아스타잔틴의 생성 유무를 확인하기 위하여, 상기 상등액 1 ml를 취하여 직경 0.45 μ m의 필터로 여과한 후, HPLC 분석(column: 4.6 $\times$ 250mm, uBondapak C18, Waters, Milford, MA; mobile phase: acetonitrile-methanol-water(49:44:7 v/v), Flow: 10ml/min, Detector: 470nm)을 수행하였다. 이 때 표준물질로는 시그마(Sigma)사에서 구입한 아스타잔틴 및 β -카로틴을 사용하였다.

<32> 그 결과, 본 발명의 균주로부터 생산된 물질이 아스타잔틴임을 확인하였으며, 본 발명의 균주로부터 생산된 아스타잔틴의 양을 측정한 결과, 100ng/g(dry weight)인 것을 확인하였다. 이는 형질전환된 효모에서 β -카로틴을 기질로 첨가하여 아스타잔틴을 생산할 수 있음을 알 수 있었다 (도 5).

도면의 간단한 설명

<33> 도 1은 아스타잔틴 및 베타-카로틴의 구조이다.

<34> 도 2는 베타-카로틴으로부터 아스타잔틴의 생합성 경로를 나타내는 모식도이다.

<35> 도 3은 crt 유전자를 포함하는 재조합 벡터 pYES2/GalCrtW-Met25CrtZ를 나타내는 개열 지도이다.

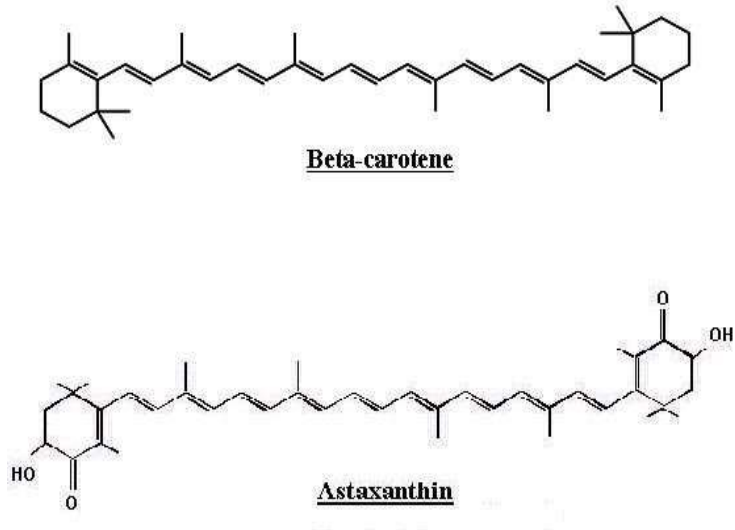
<36> 도 4는 베타-카로틴이 효모로 turnover 됨을 확인한 흡광도 결과이다.

<37>

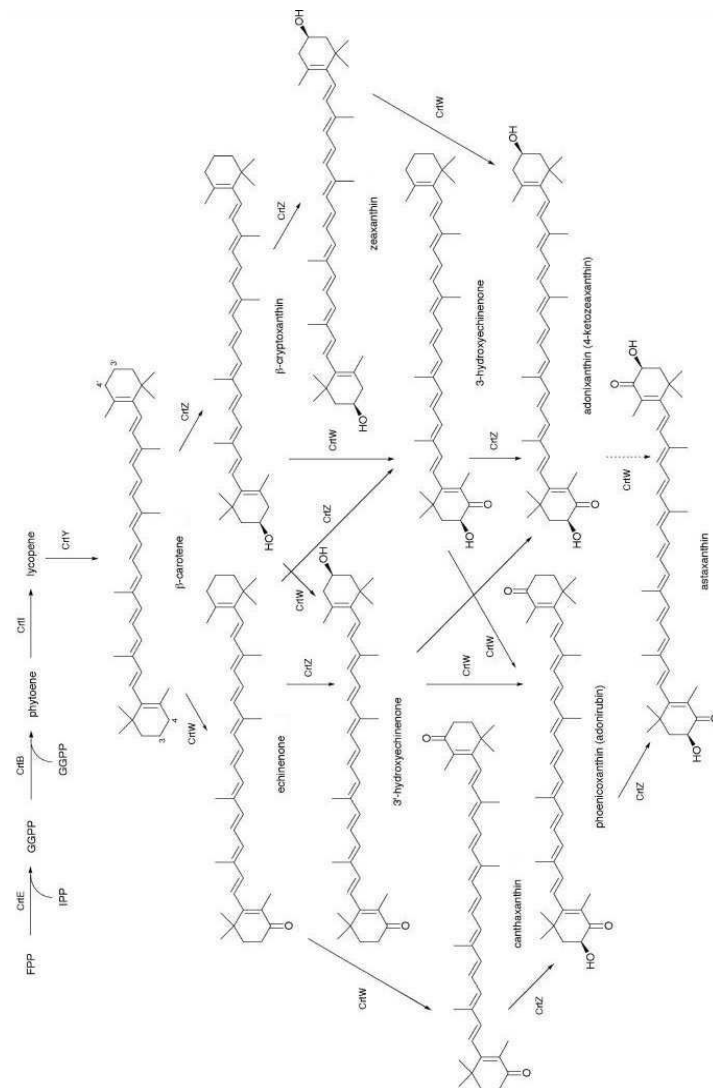
도 5는 효모에서 아스타잔틴이 생산됨을 확인한 HPLC 실험 결과이다 (1는 기질로 사용된 베타카로틴, 2는 효모에서 생산된 아스타잔틴).

도면

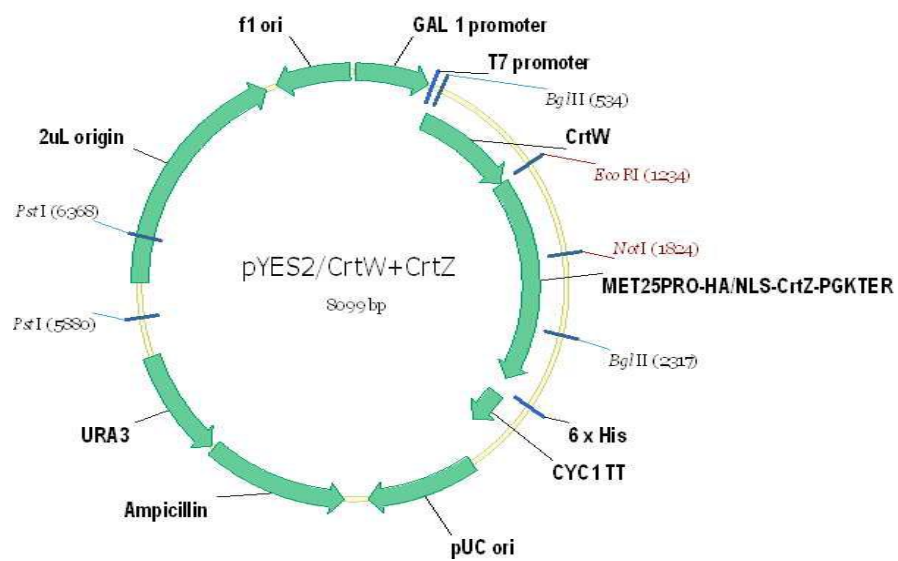
도면1



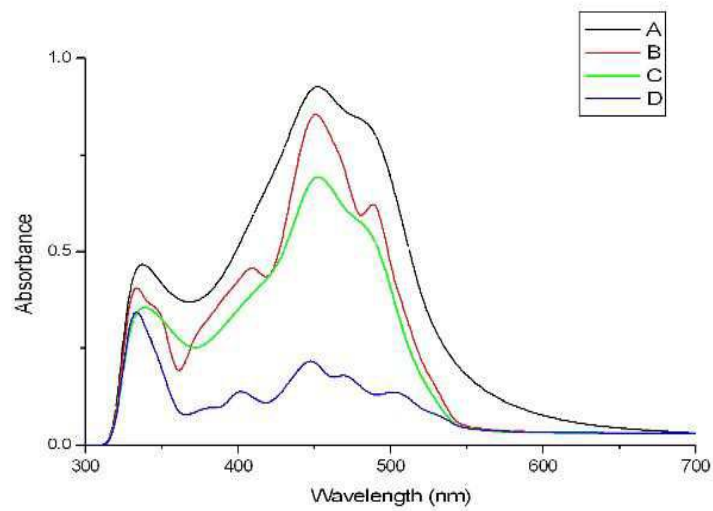
도면2



도면3

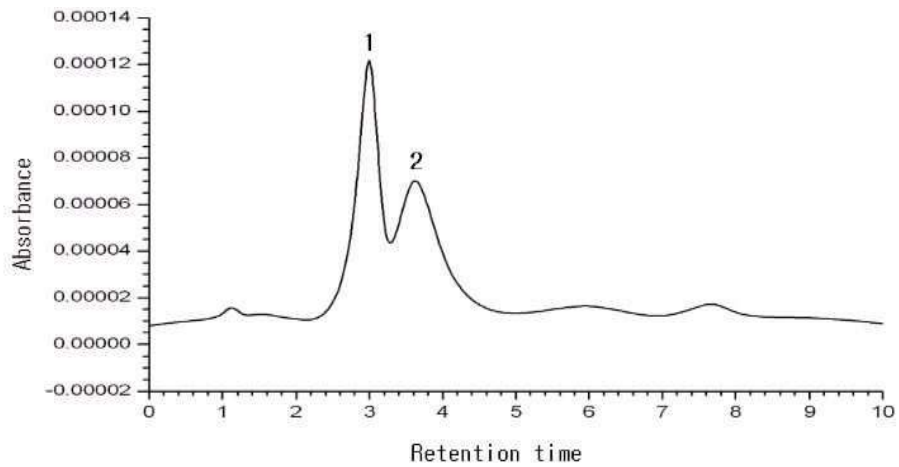


도면4



분광법을 이용한 효모로 베타카로틴이 turnover 확인. A, 베타카로틴 표준물질 (Sigma #C4582); B, *Rhodotorulaglutinis*(mold ; 비교 균주); C, 효모 + beta carotene; D, 효모

도면5



HPLC를 이용한 효모에서 아스타잔틴의 생합성 확인. 1, 베타카로틴 ; 2, 아스타잔틴

서열목록

- <110> Pukyong National University Industry-University Cooperation Foundation
 <120> Yeast transformed with carotenoid biosynthesis genes and method
 of high astaxanthin production using the same

<130> PN07064

<160> 2

<170> Kopatent In 1.71

<210> 1

<211> 729

<212> DNA

<213> Paracoccus haeundaesis

<400> 1

atgagcgcac atgccctgcc caaggcagat ctgaccgcca ccagcctgat cgtctcgggc 60

ggcatcatcg ccgcgtggct ggccctgcat gtgcatgcgc tgtggtttct ggacgcggcg 120

gcgcaccca tcttggcgat cgcaatttc ctggggctga cctggctgtc ggtcggctcg 180

ttcttcatcg cgcatgacgc gatgcacggg tcggtcgtgc cggggcgctcc gcgcggcaat 240

gcggcgatgg gccagctggt cctgtggctg tatgccgat tttcgtggcg caagatgatc 300

gtcaagcaca tggcccatca ccgccatacc ggaaccgacg acgaccccgga tticgacat 360

ggcggcccgg tccgctggta cgcgcgcttc atcggcacct atttcggctg gcgcgagggg 420

ctgctgctgc ccgtcatcgt gacggtctat gcgtgatcc tgggggatcg ctggatgtac 480

gtggtcttct ggccgctgcc gtcgacctg gcgtcgatcc agctgttcgt gttcggcacc 540

tggctgccgc accgccccgg ccacgacgcg ttcccgacc gccataatgc gcggtcgtcg 600

cggatcagcg acccgtgtc gctgtgacc tgctttcact ttggtggtta tcatcacgaa 660

caccacctgc acccgacggt gccttggtgg cgctgcca gcacccgcac caagggggac 720

accgcatga 729

<210> 2

<211> 489

<212> DNA
<213> *Paracoccus haeundaesis*

<400> 2
atgaccaatt tcctgatcgt cgtcgccacc gtgctggtga tggagttgac ggcctattcc 60

gtccaccgtt ggatcatgca cggccccctg ggctggggct ggcacaagtc ccaccacgag 120

gaacacgacc acgcgctgga aaagaacgac ctgtacggcc tggctcttgc ggtgatcgcc 180

acggtgctgt tcacggtggg ctggatctgg gcgccgtcc tgtggtggat cgctttgggc 240

atgaccgtct atgggctgat ctatttcgtc ctgcatgacg ggctggttca tcagcgtg 300

ccgttcgct atatcccgcg caagggtat gccgcgcc tgtatcagc ccaccgctg 360

caccacgagg tcgaggagc cgaccattgc gtcagcttcg gttcatcta tgcgccgcg 420

gtcgacaagc tgaagcagga cctgaagacg tcgggcgtgc tgcgggccga ggcgcaggag 480

cgcacgtga 489