



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 114997

(13) C2

(51) МПК

C12N 1/21 (2006.01)

C12N 15/70 (2006.01)

C12P 13/04 (2006.01)

C12P 13/08 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

(21) Номер заявки: **а 2016 08084**  
(22) Дата подання заявки: **17.03.2015**  
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **28.08.2017**  
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **10-2014-0033697**  
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **21.03.2014**  
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **KR**  
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.02.2017, Бюл.№ 3**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **28.08.2017, Бюл.№ 16**  
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **РСТ/KR2015/002548, 17.03.2015**

(72) Винахідник(и):  
**Лі Чі Сун (KR),  
Со Чхан Іль (KR),  
Чхон Кхі Йон (KR),  
Кох Ін Сун (KR),  
Квон То Хьюн (KR),  
Лі Кван Хо (KR)**  
(73) Власник(и):  
**ЧХ-Ч ЧХЕЙЛЧЕТАН КОРП.,  
(Ssangnim-dong) 330, Dongho-ro, Jung-gu,  
Seoul 100-400, Republic of Korea (KR)**  
(74) Представник:  
**Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30**  
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:  
KR 1020070086634 A, 27.08.2007  
McPartland J. The Tail Sheath of Bacteriophage N4 Interacts with the Escherichia coli Receptor / Jennifer McPartland, Lucia B. Rothman-Denes // Journal of bacteriology - 2009. - Vol. 191(2). - P. 525-532  
WO 2007119891 A1, 25.10.2007  
Bacterial Phage Receptors, Versatile Tools for Display of Polypeptides on the Cell Surface / Hindergard Etz, Carola Schellack, Eszter Nagy et al. // Journal of bacteriology - 2001. - Vol. 183(23). - P. - 6924-6935

**(54) РЕКОМБІНАНТНИЙ МІКРООРГАНІЗМ З РОДУ ESCHERICHIA, ЩО ВИРОБЛЯЄ L-АМІНОКИСЛОТУ, ТА СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ L-АМІНОКИСЛОТИ****(57) Реферат:**

Винахід стосується рекомбінантного мікроорганізму з роду *Escherichia*, що виробляє L-амінокислоту, в якому щонайменше один з NfrA та NfrB є інактивованим, та способу одержання L-амінокислоти за допомогою даного рекомбінантного мікроорганізму.

**UA 114997 C2**



## ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

[1] Даний винахід стосується рекомбінантного мікроорганізму, що виробляє L-амінокислоту, та способу одержання L-амінокислоти із застосуванням рекомбінантного мікроорганізму.

## ПЕРЕДУМОВИ ВІНАХОДУ

[2] Для масового одержання корисних метаболітів, наприклад, амінокислот, застосовувалися різноманітні способи бродіння із застосуванням мікроорганізмів, і, крім того, для успішного бродіння із застосуванням мікроорганізмів була розроблена низка методик, у тому числі розробка штамів, встановлення умов бродіння тощо. Зокрема, для розробки штаму-хазяїна для масового одержання корисних метаболітів було здійснено багато спроб індукції надекспресії або низької експресії конкретного гена.

[3] Проте у ферментативному виробництві із застосуванням бактерій вироблення корисних метаболітів може знижуватися у зв'язку із забрудненням фагами. Забруднення фагами спричинене, головним чином, рецепторами для фагів, що являють собою білки, ліпополісахариди тощо, які здатні забезпечувати прикріплення фагів до поверхні бактеріальної клітини. У випадку *Escherichia coli* (*E. coli*) *E. coli* зазнає атаки з боку різноманітних фагів, і, відповідно, дослідження рецепторів для кожного з фагів було порівняно успішним. Проте дослідження взаємозв'язку між рецепторами для фагів та виробленням L-амінокислот донині не було проведене в достатньому обсязі.

[4] У зв'язку з цим автори даного винаходу відібрали гени, які являють собою добре відомі рецептори для фагів, і згодом інактивували кожен з генів для зменшення ризику зниження вироблення L-амінокислот, розглядаючи при цьому цей ризик як вразливість *E. coli*. Після цього було підтверджено вплив на вироблення L-амінокислот, і такий відбір та інактивацію генів застосовували щодо штамів, які виробляють L-амінокислоти, довершуючи цим даний винахід.

## РОЗКРИТТЯ ВІНАХОДУ

## ТЕХНІЧНА ЗАДАЧА

[5] У даному винаході представлено рекомбінантний мікроорганізм, який має здатність до вироблення L-амінокислот та інактивованій рецептор для фага.

[6] У даному винаході представлено спосіб одержання L-амінокислоти із застосуванням мікроорганізму.

## ВІРІШЕННЯ ЗАДАЧІ

[7] В одному аспекті в даному винаході представлено рекомбінантний мікроорганізм, що виробляє L-амінокислоту, в якому щонайменше один з NfrA та NfrB є інактивованим.

[8] Вираз "NfrA", використовуваний у даному документі, стосується білка, який утворює рецептор для бактеріофага N4 та може являти собою мембранний білок бактерій. Наприклад, NfrA може являти собою субодиницю білка зовнішньої мембрани. NfrA може містити, наприклад, амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 40. NfrA може містити, наприклад, амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 40 або амінокислотну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю під SEQ ID NO: 40. Послідовність гена, який кодує NfrA, може включати в себе полінуклеотидну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 40. Послідовність гена, який кодує NfrA, може включати в себе, наприклад, послідовність гена nfrA (ID гена в NCBI: 12930896). Наприклад, послідовність гена, який кодує NfrA, може включати в себе полінуклеотидну послідовність під SEQ ID NO: 39 або полінуклеотидну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з полінуклеотидною послідовністю під SEQ ID NO: 39.

[9] Вираз "NfrB", використовуваний у даному документі, стосується білка, який утворює рецептор для бактеріофага N4 та може являти собою мембранний білок бактерій. Наприклад, NfrB може являти собою субодиницю білка внутрішньої мембрани. NfrB може містити, наприклад, амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 42. NfrB може містити, наприклад, амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 42 або амінокислотну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю під SEQ ID NO: 42. Послідовність гена, який кодує NfrB, може включати в себе полінуклеотидну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 42. Послідовність гена, який кодує NfrB, може включати в себе, наприклад, послідовність гена nfrB (ID гена в NCBI: 12933943). Наприклад, послідовність гена, який кодує білок NfrB, може включати в себе полінуклеотидну послідовність під SEQ ID NO: 41 або полінуклеотидну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з полінуклеотидною послідовністю під SEQ ID NO: 41.

[10] Крім того, в рекомбінантному мікроорганізмі, що виробляє L-амінокислоту, додатково може бути інактивованим щонайменше один з Tsx та FhuA.

[11] Вираз "Tsx", використовуваний у даному документі, стосується білка, який утворює канал для нуклеозидів, тобто канал, специфічний для нуклеозиду, і може являти собою компонент, який утворює рецептор для фага T6 та коліцину K. Tsx може містити, наприклад, амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 45 або амінокислотну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю під SEQ ID NO: 45. Послідовність гена, який кодує Tsx, може включати в себе полінуклеотидну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 45. Послідовність гена, який кодує Tsx, може включати в себе, наприклад, послідовність гена tsx (ID гена в NCBI: 12934188). Наприклад, послідовність гена, який кодує Tsx, може включати в себе полінуклеотидну послідовність під SEQ ID NO: 44 або полінуклеотидну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з полінуклеотидною послідовністю під SEQ ID NO: 44.

[12] Вираз "FhuA", використовуваний у даному документі, стосується багатофункціонального білка у зовнішній мембрані бактерій, який транспортує (Fe<sup>3+</sup>)-ферихром або антибіотики, такі як альбоміцин та рифаміцин, і може являти собою рецептор для фагів T1, T5 та phi80. FhuA може містити, наприклад, амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 47 або амінокислотну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю під SEQ ID NO: 47. Послідовність гена, який кодує FhuA, може включати в себе полінуклеотидну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 47. Послідовність гена, який кодує FhuA, може включати в себе, наприклад, послідовність гена fhuA (ID гена в NCBI: 12930751). Наприклад, послідовність гена, який кодує FhuA, може включати в себе полінуклеотидну послідовність під SEQ ID NO: 47 або полінуклеотидну послідовність, яка характеризується приблизно 80 % або більшою, 85 % або більшою, 90 % або більшою або 95 % або більшою ідентичністю послідовності з полінуклеотидною послідовністю під SEQ ID NO: 47.

[13] Вираз "ідентичність", використовуваний у даному документі, стосується схожості двох амінокислотних послідовностей, яку можна визначити за допомогою способу, добре відомого з рівня техніки, наприклад, алгоритму BLAST 2.0, який визначає параметри, такі як вага, ідентичність та подібність двох амінокислотних послідовностей.

[14] Вираз "рекомбінантний мікроорганізм", використовуваний у даному документі, стосується мікроорганізму, який є генетично модифікованим. Рекомбінантний мікроорганізм може являти собою мікроорганізм, створений за допомогою генної інженерії, і, наприклад, у мікроорганізм може бути введена екзогенна нуклеїнова кислота згідно зі способами генної інженерії, або в мікроорганізмі можуть бути трансформованими послідовність або місце розташування ендегенного гена.

[15] Вираз "L-амінокислота", використовуваний у даному документі, стосується основної структурної одиниці білка, яка складає тіло організму та має як аміногрупу, так і групу карбонової кислоти, приєднані до одного й того самого атома вуглецю. Наприклад, L-амінокислота може бути вибрана з групи, яка складається з L-лейцину, L-фенілаланіну, L-лізину, L-треоніну, L-валіну, L-ізолейцину, L-триптофану та L-метіоніну. Наприклад, L-амінокислота може являти собою L-триптофан або L-треонін.

[16] Вираз "фермент або білок є інактивованим" або "інактивація ферменту або білка", використовуваний у даному документі, стосується випадку, в якому описаний вище білок взагалі не експресується в мікроорганізмі, випадку, в якому описаний вище білок експресується, але не має жодної активності, або випадку, в якому описаний вище білок експресується, але його активність є слабкою порівняно з властивою активністю. Вираз "властива активність", використовуваний у даному документі, стосується активності мікроорганізму в природному стані, тобто активності, яка від початку існує в мікроорганізмі, або активності білка, який не був генетично модифікованим.

[17] Інактивація білка NfrA, білка NfrB, білка Tsx та білка FhuA може бути спричинена мутацією, делецією або руйнуванням генів, кожен з яких кодує білок NfrA, білок NfrB, білок Tsx та білок FhuA. Вираз "мутація, делеція або руйнування генів", використовуваний у даному документі, стосується випадку, в якому частину генів або регуляторних факторів у промоторних або термінаторних ділянках генів або всіх їх піддають мутації, заміні, делеції або вставці щонайменше однієї основи, так що гени не експресуються, або гени експресуються незначною мірою, або гени експресуються, не демонструючи ферментативну активність або маючи знижену ферментативну активність. Мутацію, делецію або руйнування генів можна здійснити за

допомогою генетичної маніпуляції, такої як гомологічна рекомбінація, мутагенез або молекулярна еволюція. Якщо клітина містить багато однакових генів або щонайменше два гомологічні гени, один або декілька генів у клітині можна піддати делеції або руйнуванню. З метою інактивації генів, представлених у варіанті здійснення даного винаходу, можна здійснювати способи одержання мутанта із застосуванням рекомбінази Red фага лямбда.

[18] У рекомбінантного мікроорганізму усунено або знижено активність кожного з білків, представлених у даному документі, або білків у комбінації. Відповідно, рекомбінантний мікроорганізм може мати підвищену здатність до вироблення L-амінокислоти порівняно з випадком, у якому активність білків не є інактивованою, та, отже, рекомбінантний мікроорганізм можна відповідним чином застосовувати з метою одержання L-амінокислоти.

[19] Рекомбінантний мікроорганізм може являти собою мікроорганізм з роду *Escherichia*, з роду *Enterobacter*, з роду *Erwinia*, з роду *Serratia*, з роду *Providencia*, з роду *Corynebacterium* та з роду *Brevibacterium*. Наприклад, рекомбінантний мікроорганізм може являти собою мікроорганізм з роду *Escherichia*. Мікроорганізм з роду *Escherichia* може являти собою *Escherichia coli* (*E. coli*), наприклад, KCCM11501P. KCCM11501P являє собою штам KCCM10910PΔnfrAB, одержаний шляхом застосування штаму, що виробляє треонін (KCCM10910P), як материнського штаму та здійснення делеції генів як *nfrA*, так і *nfrB*. У цьому випадку було виявлено, що здатність KCCM11501P *E. coli* до споживання цукру є вищою, ніж у материнського штаму (KCCM10910P). KCCM11501P одержав назву "E.Coli CA03-8253P" і згодом був депонований в Корейському центрі культур мікроорганізмів (який далі в даному документі згадується як "KCCM") 13 грудня 2013 р. згідно з Будапештським договором.

[20]

[21] Відповідно до іншого аспекту даного винаходу розкрито спосіб одержання L-амінокислоти, при цьому спосіб включає культивування рекомбінантного мікроорганізму, що виробляє L-амінокислоту; та збирання L-амінокислоти з продукту культури.

[22] Рекомбінантний мікроорганізм, що виробляє L-амінокислоту, визначається так само, як описано вище.

[23] L-амінокислота може бути вибрана з групи, яка складається з L-лейцину, L-фенілаланіну, L-лізину, L-треоніну, L-валіну, L-ізолейцину, L-триптофану та L-метіоніну. Наприклад, L-амінокислота може являти собою L-треонін або L-триптофан. Культивування рекомбінантного мікроорганізму можна здійснювати відповідно до належного культурального середовища та умов культивування, добре відомих з рівня техніки. Крім того, середній фахівець в даній галузі може відповідним чином регулювати склад культурального середовища та умови культивування відповідно до обраного мікроорганізму. Спосіб культивування може включати періодичне культивування, безперервне культивування, періодичне культивування з підживленням або їх комбінацію.

[24] Культуральне середовище може містити різноманітні джерела вуглецю, джерела азоту та інгредієнти, що являють собою слідові елементи.

[25] Джерела вуглецю можуть включати, наприклад, вуглеводи, такі як глюкоза, сахароза, лактоза, фруктоза, мальтоза, крохмаль та целюлоза; жири, такі як соєва олія, соняшникова олія, рицинова олія та кокосова олія; жирні кислоти, такі як пальмітинова кислота, стеаринова кислота та лінолева кислота; спирт, такий як гліцерин та етанол; та органічні кислоти, такі як оцтова кислота, або їх комбінацію. Культивування рекомбінантного мікроорганізму можна здійснювати шляхом застосування глюкози як джерела вуглецю. Джерела азоту можуть включати, наприклад, органічні джерела азоту, такі як пептон, екстракт дріжджів, підлива, екстракт солоду, кукурудзяний екстракт (CSL) та соєве борошно; і неорганічні джерела азоту, такі як сечовина, сульфат амонію, хлорид амонію, фосфат амонію, карбонат амонію та нітрат амонію; або їх комбінацію. Культуральне середовище може містити дигідрофосфат калію або гідрофосфат калію як джерело фосфору. Крім того, культуральне середовище може містити відповідні натрійвмісні солі як джерело фосфору та солі металів, такі як сульфат магнію або сульфат заліза. Крім того, культуральне середовище може містити амінокислоти, вітаміни та відповідні попередники. Середовище або окремі інгредієнти середовища можна додавати до культурального середовища періодично або безперервно.

[26] Крім того, до культурального середовища під час культивування рекомбінантного мікроорганізму можна відповідним чином додавати сполуки, такі як гідроксид амонію, гідроксид калію, аміак, фосфорна кислота та сірчана кислота, для регулювання pH культурального середовища. Крім того, під час культивування рекомбінантного мікроорганізму можна застосовувати протиспінювачі, такі як складний ефір полігліколю та жирної кислоти, для пригнічення утворення повітряних бульбашок. З метою підтримання аеробних умов у культуральному середовищі в культуральне середовище можна вводити кисень або

кисневмісний газ (наприклад, повітря). У цьому випадку температура культурального середовища зазвичай може перебувати в діапазоні від приблизно 20°C до приблизно 45°C. Період культивування рекомбінантного мікроорганізму може тривати, доки не буде одержана бажана кількість L-амінокислоти, і, наприклад, культивування рекомбінантного мікроорганізму може тривати від приблизно 10 годин до приблизно 160 годин.

[27] Вираз "продукт культури", використовуваний у даному документі, стосується бульйонної культури, яка містить рекомбінантний мікроорганізм, надосадової рідини культури, з якої видаляють мікробну клітину, або розведеного розчину продукту культури. Культуральне середовище може додатково містити інгредієнт для підвищення ефективності вироблення L-амінокислоти. Наприклад, композиція може додатково містити джерела вуглецю, джерела азоту або інгредієнти, що являють собою слідові елементи.

[28] Збирання L-амінокислоти з продукту культури можна здійснювати за допомогою відповідних способів культивування, відомих з рівня техніки, таких як періодичне культивування, безперервне культивування або періодичне культивування з підживленням, для збирання або виділення L-амінокислоти, виробленої в продукті культури.

#### ПЕРЕВАЖНІ ЕФЕКТИ ВІНАХОДУ

[29] Відповідно до одного аспекту мікроорганізм з усуненою або зниженою активністю щонайменше одного білка, вибраного з групи, яка складається з білка NfrA, білка NfrB, білка Tsx та білка FhuA, можна застосовувати для одержання L-амінокислоти.

[30] Відповідно до іншого аспекту спосіб одержання L-амінокислоти можна застосовувати для ефективного одержання L-амінокислоти.

#### ПРИНЦИП ВІНАХОДУ

[31] Далі в даному документі даний винахід буде описано детальніше з посиланням на наступні приклади. Ці приклади слугують лише для ілюстративних цілей та не призначені для обмеження обсягу даного винаходу.

[32] Приклад 1. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим рецептором для фага шляхом застосування KCCM10910P

[33] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим рецептором для фага штам KCCM10910P (корейський патент №: 10-0966324) застосовували як материнський штам. Згодом одержували касету для інактивації гена кожного рецептора для фага і згодом її застосовували для забезпечення генетичної трансформації.

[34] 1-1. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном nfrA

[35] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном nfrA одержували касету для інактивації гена nfrA. Касету застосовували у способі одностадійної інактивації, який являє собою методику конструювання мутанта із застосуванням рекомбінази Red фага лямбда, розроблену Datsenko KA et al. (Proc Natl Acad Sci USA, (2000) 97:6640-6645). Для підтвердження вставки касети в ген застосовували ген стійкості до хлорамфеніколу rUCprmfmlxС як маркер (викладена публікація корейського патенту №: 2009-007554).

[36] Фрагмент ДНК розміром 1,1 т.п.о., який містить частину послідовності гена nfrA (SEQ ID NO: 39) та частину послідовності основ гена стійкості до хлорамфеніколу rUCprmfmlxС, одержували шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 2 та 3. У цьому випадку полімеразну ланцюгову реакцію (яка далі в даному документі згадується як "ПЛР") проводили шляхом застосування набору готових сумішей для ПЛР (тобто продукту компанії BIONEER, далі в даному документі застосовували той самий продукт) за наступних умов: 27 циклів денатурації за 95°C протягом 30 секунд, відпалювання за 56°C протягом 30 секунд та елонгація за 72°C протягом 1 хвилини. Продукт ПЛР піддавали електрофорезу в 0,8 % агарозному гелі та згодом елюювали. Після цього знову проводили ПЛР шляхом застосування елюйованого продукту як матриці та набору праймерів, викладених під SEQ ID NO: 1 та 4 за тих самих умов, що описані вище, в результаті чого одержували фрагмент ДНК розміром приблизно 1,2 т.п.о. Фрагмент ДНК піддавали електрофорезу на 0,8 % агарозному гелі, елюювали і згодом зрештою застосовували для одержання касети для інактивації гена nfrA.

[37] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном nfrA одержували штам, що виробляє треонін (KCCM10910P), який трансформували плазмідом rKD46 згідно зі способом, розробленим Datsenko KA et al. (Proc Natl Acad Sci USA, (2000) 97:6640-6645), як компетентний штам. Згодом ДНК касети, одержаної для інактивації гена nfrA, вводили у штам для забезпечення трансформації.

[38] Одержаний штам піддавали відбору на чашках з LB на наявність стійкості до хлорамфеніколу. Інакше кажучи, набір праймерів під SEQ ID NO: 5 та 6, які мають послідовність ДНК, розташовану за межами двох кінців послідовності касети для геномної інактивації,

гомологічної *nfrA*, застосовували для відбору за допомогою цього колоній, в яких розмір одержаного в результаті продукту ПЛР зменшувався від 2,8 т.п.о. до 1,5 т.п.о.

[39] З первинного рекомбінантного штаму зі стійкістю до хлорамфеніколу видаляли плазмиду *pKD46*, а згодом в нього вводили плазмиду *pJW168* для видалення маркерного гену стійкості до хлорамфеніколу з мікробних клітин (Gene, (2000) 247,255-264). Згодом проводили ПЛР із застосуванням набору праймерів під SEQ ID NO: 5 та 6 з одержанням ДНК-продукту розміром 0,4 т.п.о., що вказувало на те, що одержаний зрештою штам мав зменшений розмір ДНК. Відповідно, одержували штам, що виробляє L-треонін, з інактивованим геном *nfrA* (KCCM10910PΔ*nfrA*).

[40] 1-2. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *nfrB*

[41] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *nfrB* (SEQ ID NO: 41) одержували касету для інактивації гена *nfrB* таким же чином, як і при одержанні касети для інактивації гена *nfrA* з прикладу 1-1. Фрагмент ДНК розміром 1,1 т.п.о. одержували шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 8 та 9 і згодом одержували фрагмент ДНК розміром 1,2 т.п.о. шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 7 та 10.

[42] Спосіб одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *nfrB* здійснювали за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1, де набір праймерів під SEQ ID NO: 11 та 12 застосовували для підтвердження розміру одержаного в результаті продукту ПЛР. Відповідно, зрештою одержували штам, що виробляє L-треонін, з інактивованим геном *nfrB* (KCCM10910PΔ*nfrB*).

[43] 1-3. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *nfrAB*

[44] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *nfrAB* (SEQ ID NO: 43) одержували касету для інактивації гена *nfrAB* таким же чином, як і при одержанні касети для інактивації гена *nfrA* з прикладу 1-1. Фрагмент ДНК розміром 1,1 т.п.о. одержували шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 2 та 9 і згодом одержували фрагмент ДНК розміром 1,2 т.п.о. шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 1 та 10.

[45] Спосіб одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *nfrAB* здійснювали за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1, де набір праймерів під SEQ ID NO: 5 та 12 застосовували для підтвердження розміру одержаного в результаті продукту ПЛР. Відповідно, зрештою одержували штам, що виробляє L-треонін, з інактивованим геном *nfrAB* (KCCM10910PΔ*nfrAB*).

[46] 1-4. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *tsx*

[47] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *tsx* (SEQ ID NO: 44) одержували касету для інактивації гена *tsx* таким же чином, як і при одержанні касети для інактивації гена *nfrA* з прикладу 1-1. Фрагмент ДНК розміром 1,1 т.п.о. одержували шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 13 та 14 і згодом одержували фрагмент ДНК розміром 1,2 т.п.о. шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 15 та 16.

[48] Спосіб одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *tsx* здійснювали за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1, де набір праймерів під SEQ ID NO: 17 та 18 застосовували для підтвердження розміру одержаного в результаті продукту ПЛР. Відповідно, зрештою одержували штам, що виробляє L-треонін, з інактивованим геном *tsx* (KCCM10910PΔ*tsx*).

[49] 1-5. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *fhuA*

[50] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *fhuA* (SEQ ID NO: 46) одержували касету для інактивації гена *fhuA* згідно зі способом одноетапної інактивації, описаним вище. З метою одержання фрагмента ДНК з послідовністю основ, яка характеризується гомологією з послідовністю гена *fhuA*, застосовували набір праймерів під SEQ ID NO: 19 та 20 і набір праймерів під SEQ ID NO: 21 та 22, в результаті чого одержували продукти ПЛР. Крім того, з метою одержання фрагмента ДНК з послідовністю основ, яка зумовлює стійкість до хлорамфеніколу, застосовували набір праймерів під SEQ ID NO: 23 та 24, в результаті чого одержували продукт ПЛР. Відповідно, ці три одержані в результаті продукти ПЛР піддавали електрофорезу на 0,8 % агарозному гелі і згодом елюювали. ПЛР проводили шляхом застосування цих трьох елюйованих продуктів ПЛР як матриць та набору праймерів під SEQ ID NO: 19 та 22 з одержанням касети для інактивації гена *fhuA*.

[51] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *fhuA* одержували касету для інактивації гена *fhuA* за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1, де набір праймерів під SEQ ID NO: 25 та 26 застосовували для підтвердження розміру одержаних в результаті продуктів ПЛР. Відповідно, зрештою одержували штам, що виробляє L-треонін, з інактивованим геном *fhuA* (KCCM10910PΔ*fhuA*).

[52] 1-6. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *lamB*

[53] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *lamB* (SEQ ID NO: 48) одержували касету для інактивації гена *lamB* за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1. Фрагмент ДНК розміром 1,1 т.п.о. одержували шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 27 та 28 і згодом одержували фрагмент ДНК розміром 1,2 т.п.о. шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 29 та 30.

[54] Спосіб одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *lamB* здійснювали за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1, де набір праймерів під SEQ ID NO: 31 та 32 застосовували для підтвердження розміру одержаного в результаті продукту ПЛР. Відповідно, зрештою одержували штаму, що виробляє L-треонін, з інактивованим геном *lamB* (KCCM10910PΔ*lamB*).

[55] 1-7. Одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *btuB*

[56] З метою одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *btuB* (SEQ ID NO: 50) одержували касету для інактивації гена *btuB* за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1. Фрагмент ДНК розміром 1,1 т.п.о. одержували шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 33 та 34 і згодом одержували фрагмент ДНК розміром 1,2 т.п.о. шляхом застосування набору праймерів під SEQ ID NO: 35 та 36.

[57] Спосіб одержання штаму, що виробляє треонін, з інактивованим геном *btuB* здійснювали за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 1-1, де набір праймерів під SEQ ID NO: 37 та 38 застосовували для підтвердження розміру одержаного в результаті продукту ПЛР. Відповідно, зрештою одержували штаму, що виробляє L-треонін, з інактивованим геном *btuB* (KCCM10910PΔ*btuB*).

[58] Приклад 2. Порівняння ефективності вироблення L-треоніну серед рекомбінантних мікроорганізмів

[59] Рекомбінантні мікроорганізми, одержані згідно з прикладом 1, культивували в середовищі для титрування треоніну, яке містило композиції, наведені в таблиці 1 нижче, у колбі Ерленмейєра. Згодом підтверджували наявність у рекомбінантних мікроорганізмів здатності до вироблення L-треоніну.

[60]

Таблиця 1

Композиція	Концентрація (на літр)
Глюкоза	70 г
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2 г
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	27,5 г
$\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1 г
$\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5 мг
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5 мг
DL-метіонін	0,15 г
Екстракт дріжджів	2 г
Карбонат кальцію	30 г
pH	6,8

[61] 1 платинову петлю кожного з 7 типів штамів *E. coli* з прикладу 1 та штаму KCCM10910P, які культивували протягом ночі у твердому середовищі LB в інкубаторі за 33°C, інокулювали в 25 мл середовища для титрування, яке містило композиції, наведені в таблиці 1 вище, і згодом культивували в інкубаторі за 33°C та за 200 об./хв. протягом 48 годин.



[62]

Таблиця 2

Штам	Споживання цукру (г/л)	L-треонін (г/л)
	30 годин	48 годин
KCCM 10910P (материнський штам)	22	34,5
KCCM 10910PΔnfrA	26	34,5
KCCM 10910PΔnfrB	26	34,4
KCCM 10910PΔnfrAB	26	34,4
KCCM 10910PΔtsx	25	34,4
KCCM 10910PΔfhuA	24	34,5
KCCM 10910PΔlamB	20	34,5
KCCM 10910PΔbtuB	21	34,5

[63] Як показано в таблиці 2 вище, було підтверджено, що показники інтенсивності споживання цукру для штамів, кожен з яких мав інактивовані гени *nfrA*, *nfrB*, *nfrAB*, *tsx* та *fhuA*, були вищими, ніж інтенсивність споживання цукру для материнського штаму (KCCM10910P). Також було підтверджено, що продуктивність штамів не знижувалася протягом 48-годинного періоду. У той же час було підтверджено, що показники інтенсивності споживання цукру для штамів, кожен з яких мав інактивовані гени *lamB* та *btuB*, були подібними до інтенсивності споживання цукру для материнського штаму або дещо нижчими, ніж інтенсивність споживання цукру для материнського штаму. Також було підтверджено, що всі концентрації L-треоніну, показані для штамів у культурі через 48 годин, були подібними. Штами, кожен з яких мав інактивовані гени *nfrA*, *nfrB* та *nfrAB*, зумовили однакові результати культивування. Інакше кажучи, у випадку, в якому один з двох генів було піддано делеції, та у випадку, в якому обидва гени було піддано делеції, одержали однакові результати.

[64] Приклад 3. Одержання штамів з ефективною комбінацією мутацій та порівняння їх здатності до вироблення L-треоніну

[65] 3-1. Одержання штамів з одночасно інактивованими генами *nfrAB* та *fhuA*, одночасно інактивованими генами *nfrAB* та *tsx* і одночасно інактивованими генами *nfrAB*, *tsx* та *fhuA*

[66] З метою підтвердження того, що у випадку спільної інактивації генів *nfrAB*, *fhuA* та *tsx*, яка характеризується підвищенням здатності до споживання цукру, штамми, що виробляють L-треонін, набувають додаткової здатності до споживання цукру, одержували штам KCCM10910PΔnfrABΔfhuA, штам KCCM10910PΔnfrABΔtsx та штам KCCM10910PΔnfrABΔtsxΔfhuA. З метою одержання цих штамів одержували штамми, кожен з яких мав інактивовані гени *fhuA* та *tsx*, відповідно до штаму KCCM10910PΔnfrAB з прикладу 1-3 таким же чином, як описано в прикладі 1 (з одержанням у результаті штамів KCCM10910PΔnfrABΔfhuA та KCCM10910PΔnfrABΔtsx). Крім того, одержували штам з інактивованим геном *fhuA* відповідно до штаму KCCM10910PΔnfrABΔtsx, одержуючи, таким чином, зрештою штам KCCM10910PΔnfrABΔtsxΔfhuA.

[67] Як показано у таблиці 2, було визначено, що штамми з інактивованими генами *nfrA*, *nfrB* та *nfrAB* мають однакові ефекти поміж себе. У зв'язку з цим в одержанні штамів з ефективними комбінаціями мутацій одержували штамми з інактивованими генами *tsx* та *fhuA* шляхом застосування штаму з інактивованим геном *nfrAB*. Проте було визначено, що ефекти штамів з інактивованими генами *tsx* та *fhuA* є такими ж, що й ефекти штаму з єдиним інактивованим геном *nfrA*, з єдиним інактивованим геном *nfrB* або з одночасно інактивованими генами *nfrA* та *nfrB*.

[68] 3-2. Порівняння здатності штамів з ефективними комбінаціями мутацій до вироблення L-треоніну

[69] З метою порівняння здатності штамів з ефективними комбінаціями мутацій, одержаних вище, до вироблення L-треоніну середовище, яке містило композиції, наведені в таблиці 1 вище, застосовували для культивування штамів таким же чином, як описано вище. Результати показано в таблиці 3 нижче.

[70]

Таблица 3

Штам	Споживання цукру (г/л)	L-треонін (г/л)
	30 годин	48 годин
KCCM10910P (материнський штам)	22	34,5
KCCM10910PΔnfrAB	26	34,4
KCCM10910PΔnfrABΔfhuA	28	34,5
KCCM10910PΔnfrABΔtsx	28	34,4
KCCM10910PΔnfrABΔtsxΔfhuA	29	34,5

[71] У результаті тестування ефективності штаму KCCM10910PΔnfrABΔfhuA, штаму KCCM10910PΔnfrABΔtsx та штаму KCCM10910PΔnfrABΔtsxΔfhuA, кожен з яких було одержано відповідно до спільної інактивації генів nfrAB, fhuA та tsx, яка характеризується підвищенням здатності до споживання цукру, було підтверджено, що в штаму, в якого було додатково інактивовано ген fhuA або ген tsx на додаток до мутації єдиного гена nfrAB, підвищувалася здатність до споживання цукру. Відповідно, трансформований штам KCCM10910PΔnfrAB E. coli, який демонстрував підвищену здатність до споживання цукру, одержав назву "E. coli CA03-8253P" і згодом був депонований у Корейському центрі культур мікроорганізмів (KCCM) 13 грудня 2013 р. (номер доступу: KCCM 11501P).

[72] Приклад 4. Одержання штаму з інактивованим рецептором для фага шляхом застосування KCCM-10132 та порівняння його здатності до вироблення треоніну

[73] 4-1. Одержання штаму з інактивованим рецептором для фага шляхом застосування KCCM-10132

[74] 10 типів штамів, кожен з яких мав інактивований рецептор для фага, одержували шляхом застосування штаму KCCM-10132 (див. таблицю 4 нижче) таким же чином, як описано в прикладах 1 та 3, відповідно до 7 типів касет для інактивації з прикладу 1. Штам KCCM-10132 було розкрито в заявці на корейський патент №: 10-0270510 як штам, що має здатність до вироблення треоніну, який походить від E. coli.

[75] 4-2. Одержання штаму з інактивованим рецептором для фага шляхом застосування KCCM-10132 та порівняння його здатності до вироблення треоніну

[76] 10 типів штамів, кожен з яких мав інактивований рецептор для фага, які одержували шляхом застосування штаму KCCM-10132 з прикладу 4-1, та материнський штам (KCCM-10132) культивували в середовищі, яке містило композиції, наведені в таблиці 1, за допомогою того ж самого способу, який описаний у прикладі 2. Згодом культивовані штами оцінювали шляхом порівняння їх здатності до вироблення треоніну.

[77]

Таблица 4

Штам	Споживання цукру (г/л)	L-треонін (г/л)
	30 годин	48 годин
KCCM-10132 (материнський штам)	32	20,2
KCCM-10132ΔnfrA	35	20,2
KCCM-10132ΔnfrB	35	20,1
KCCM-10132ΔnfrAB	36	20,2
KCCM-10132Δtsx	35	20,2
KCCM-10132ΔfhuA	36	20,1
KCCM-10132ΔlamB	31	20,2
KCCM-10132ΔbtuB	30	20,1
KCCM-10132ΔnfrABΔfhuA	38	20,2
KCCM-10132ΔnfrABΔtsx	38	20,1
KCCM-10132ΔnfrABΔtsxΔfhuA	39	20,2

[78] Як показано в таблиці 4 вище, було підтверджено, що показники інтенсивності споживання цукру для штамів, кожен з яких мав інактивовані гени nfrA, nfrB, nfrAB, tsx та fhuA, були вищими, ніж інтенсивність споживання цукру для материнського штаму (KCCM-10132). Також було підтверджено, що продуктивність штамів не знижувалася протягом 48-годинного

періоду. У той же час було підтверджено, що показники інтенсивності споживання цукру для штамів, кожен з яких мав інактивовані гени *lamB* та *btuB*, були подібними до інтенсивності споживання цукру для материнського штаму або дещо нижчими, ніж інтенсивність споживання цукру для материнського штаму. Також було підтверджено, що всі концентрації L-треоніну, показані для штамів у культурі через 48 годин, були подібними. Також було підтверджено, що штам, кожен з яких мав одночасно інактивовані гени *nfrAB*, *fhuA*, *nfrAB* та *tsx*, а також одночасно інактивовані гени *nfrAB*, *tsx* та *fhuA*, мали поліпшені показники інтенсивності споживання цукру порівняно з інтенсивністю споживання цукру для штаму з єдиним інактивованим геном *nfrAB*.

[79] Приклад 5. Одержання штаму з інактивованим рецептором для фага шляхом застосування КССМ11166Р та порівняння його здатності до вироблення треоніну

[80] 5-1. Одержання штаму з інактивованим рецептором для фага шляхом застосування КССМ11166Р

[81] 7 типів штамів, що виробляють триптофан, кожен з яких мав інактивований рецептор для фага, одержували шляхом застосування КССМ11166Р (корейський патент №: 10-1261147) таким же чином, як описано в прикладі 1, відповідно до 7 типів касет для інактивації з прикладу 1.

[82] 5-2. Одержання штаму з інактивованим рецептором для фага шляхом застосування КССМ11166Р та порівняння його здатності до вироблення треоніну

[83] 3 метою оцінювання здатності до вироблення в 7 типів штамів, що виробляють триптофан, кожен з яких мав інактивований рецептор для фага, одержаних шляхом застосування штаму КССМ11166Р з прикладу 5-1, застосовували середовище, яке містило композиції, наведені в таблиці 5 нижче. Інакше кажучи, мікробні клітини інокулювали за допомогою платинової петлі та згодом культивували протягом ночі у твердому середовищі LB. Після цього 1 платинову петлю кожної з мікробних клітин інокулювали в 25 мл середовища для титрування, яке містило композиції, наведені в таблиці 5 нижче, і згодом культивували в інкубаторі за 37°C та за 200 об./хв. протягом 48 годин. Результати, одержані з ними, показано в таблиці 6 нижче.

[84]

Таблиця 5

Композиція	Концентрація (на літр)
Глюкоза	60 г
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 г
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10 г
MgSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	1 г
NaCl	1 г
Цитрат натрію	5 г
Екстракт дріжджів	2 г
Карбонат кальцію	40 г
Фенілаланін	0,15 г
Тирозин	0,1 г
pH	6,8

[85]

Таблиця 6

Штам	Споживання цукру (г/л)	OD	L-триптофан (г/л)
	33 години		48 годин
КССМ11166Р	56,8	14,0	7,2
КССМ11166РΔ <i>nfrA</i>	59,5	13,5	7,2
КССМ11166РΔ <i>nfrB</i>	59,5	13,5	7,2
КССМ11166РΔ <i>nfrAB</i>	59,5	13,5	7,2
КССМ11166РΔ <i>tsx</i>	60,2	14,3	7,1
КССМ11166РΔ <i>fhuA</i>	59,5	13,7	7,1
КССМ11166РΔ <i>lamB</i>	57,0	14,0	7,1
КССМ11166РΔ <i>btuB</i>	56,2	13,0	7,2

[86] Як показано в таблиці 6 вище, у випадку делеції кожного з генів *nfrA*, *nfrB*, *nfrAB*, *tsx* та *fhuA* було підтверджено, що кількості триптофану, вироблюваного штамми, кожен з яких мав інактивовані гени *nfrA*, *nfrB*, *nfrAB*, *tsx* та *fhuA*, були подібними, тоді як показники інтенсивності споживання цукру для штамів, кожен з яких мав інактивовані гени *nfrA*, *nfrB*, *nfrAB*, *tsx* та *fhuA*, були дещо вищими, ніж для інших. У той же час у випадку делеції кожного з генів *lamB* та *btuB* було підтверджено, що кількості триптофану, вироблюваного штамми, кожен з яких мав інактивовані гени *lamB* та *btuB*, або показники інтенсивності споживання цукру для штамів, кожен з яких мав інактивовані гени *lamB* та *btuB*, не змінювалися.

[87] Приклад 6. Одержання штамів з ефективною комбінацією мутацій та порівняння їх здатності до вироблення L-триптофану

[88] 6-1. Одержання штамів, що виробляють L-триптофан, з одночасно інактивованими генами *nfrAB* та *fhuA*, одночасно інактивованими генами *nfrAB* та *tsx* і одночасно інактивованими генами *nfrAB*, *tsx* та *fhuA*

[89] 3 метою підтвердження того, що у випадку спільної інактивації генів *nfrAB*, *fhuA* та *tsx*, яка характеризується підвищенням здатності до споживання цукру, штамми, що виробляють триптофан, набувають додаткової здатності до споживання цукру, одержували штам KCCM11166PΔ*nfrAB*Δ*fhuA*, штам KCCM11166PΔ*nfrAB*Δ*tsx* та штам KCCM11166PΔ*nfrAB*Δ*tsx*Δ*fhuA*.

[90] 6-2. Порівняння здатності штамів з ефективною комбінацією мутацій до вироблення L-триптофану

[91] 3 метою порівняння здатності трьох типів штамів, одержаних згідно з прикладом 6-1, до вироблення L-триптофану середовище, яке містило композиції, наведені в таблиці 5 вище, застосовували для культивування штамів таким же чином, як описано в прикладі 5. Результати показано в таблиці 7 нижче.

[92]

Таблиця 7

Штам	Споживання цукру (г/л)	OD	L-триптофан (г/л)
	33 години	48 годин	
KCCM11166P	56,8	14,0	7,2
KCCM11166PΔ <i>nfrAB</i>	59,5	13,5	7,2
KCCM11166PΔ <i>nfrAB</i> Δ <i>tsx</i>	61,0	14,0	7,2
KCCM11166PΔ <i>nfrAB</i> Δ <i>fhuA</i>	60,5	13,8	7,1
KCCM11166PΔ <i>nfrAB</i> Δ <i>tsx</i> Δ <i>fhuA</i>	62,0	14,0	7,2

[93] У результаті тестування ефективності штамів, що виробляють триптофан, з ефективними комбінаціями мутацій було підтверджено, що в штамів, в яких було додатково інактивовано ген *fhuA* та/або ген *tsx* на додаток до мутації єдиного гена *nfrAB*, підвищувалася здатність до споживання цукру.

[94] Слід розуміти, що ілюстративні варіанти здійснення, описані в даному документі, слід розглядати лише в описовому сенсі, а не з метою обмеження. Описи ознак або аспектів у кожному варіанті здійснення зазвичай слід розглядати як застосовні до інших подібних ознак або аспектів в інших варіантах здійснення. Хоча один або декілька варіантів здійснення даного винаходу були описані з посиланням на фігури, середнім фахівцям в даній галузі буде зрозуміло, що в них можна здійснити різноманітні зміни форми та деталей без відступу від сутності та обсягу даного винаходу, визначених наступною формулою винаходу.

[95] [Номер доступу]

[96] Депозитарій: Корейський центр культур мікроорганізмів (міжнародний)

[97] Номер доступу: KCCM11501P

[98] Дата депонування: 13 грудня 2013 р.

[99]

[100]

<b>БУДАПЕШТСЬКИЙ ДОГОВІР ПРО МПКНАРОДНЕ ВИЗНАННЯ ДЕПОНУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ З МЕТОЮ ПАТЕНТНОЇ ПРОЦЕДУРИ</b>	
Кому: Сіджей ЧейлДжеданг Корпорейшн СІДЖЕЙ ЧЕЙЛДЖЕДАНГ ЦЕНТР, 330, ДОНГХО-РО, ДЖАНГ-ГУ, СЕУЛ 100-400, РЕСПУБЛІКА КОРЕЯ	РОЗПИСКА ПРО ОТРИМАННЯ У ВИПАДКУ ПЕРВІСНОГО ДЕПОНУВАННЯ, видана згідно з Правилем 7.1 МПКНАРОДНИМ ОРГАНОМ ПО ДЕПОНУВАННЮ, вказаним у нижній частині даної сторінки
<b>I. ІДЕНТИФІКАЦІЯ МІКРООРГАНІЗМУ</b>	
Розпізнавальне посилання, присвоєне ДЕПОЗИТОРОМ: CA03-8253P Escherichia coli	Реєстраційний номер, присвоєний МПКНАРОДНИМ ОРГАНОМ ПО ДЕПОНУВАННЮ КССМ11501P
<b>II. НАУКОВИЙ ОПИС ТА/АБО ЗАПРОПОНОВАНЕ ТАКСОНОМІЧНЕ ПОЗНАЧЕННЯ</b>	
Мікроорганізм, вказаний у розділі I вище, супроводжувався: <input type="checkbox"/> науковим описом <input type="checkbox"/> запропонованим таксономічним позначенням (Необхідне відмітити хрестиком)	
<b>III. РОЗПИСКА ПРО ОТРИМАННЯ ТА ПРИЙОМ</b>	
Даний Міжнародний орган по депонуванню приймає мікроорганізм, вказаний у розділі I вище, отриманий органом 13 грудня 2013 року (дата первісного депонування) <sup>1</sup>	
<b>V. МПКНАРОДНИЙ ОРГАН ПО ДЕПОНУВАННЮ</b>	
Назва: Корейський центр культур мікроорганізмів Адреса: Юрім Б/Д 45, Гондженає-2га-гіл Содемунгу СЕУЛ 120-861 Республіка Корея	Підпис(и) особи (осіб), уповноваженої(их) представляти Міжнародний орган по депонуванню, або уповноваженої(их) посадової(их) особи (осіб):  Дата: 13 грудня 2013 р.
<sup>1</sup> Згідно з Правилем 6.4(d) цією датою є дата отримання статусу від міжнародного органу по депонуванню; у випадку, якщо після отримання статусу від міжнародного органу по депонуванню депонування не проведено згідно з Будапештським договором, та воно перетворюється в депонування згідно з Будапештським договором, то цією датою є дата отримання мікроорганізму Міжнародним органом по депонуванню.	
Бланк ВР/4	Єдина сторінка

## Перелік послідовностей

<110> ЧХ-Ч ЧХЕЙЛЧЕТАН КОРП.

<120> Мікроорганізми, що виробляють L-амінокислоти, та спосіб одержання L-амінокислот із їх застосуванням

<130> PX048447

<150> KR 2014/033697

<151> 2014-03-21

<160> 51

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrA

<400> 1

atgaaggaga ataacctaa tcgcgtcatc ggatggctcg gttfactgct gacgtcttta 60

ttgagtacca

70

<210> 2

<211> 71

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrA

<400> 2

gacgtcttta ttgagtacca gcgcactcgc agacaatatc ggcaccagcg taggtgacac 60

tatagaacgc g

71

<210> 3

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrA

<400> 3

aaccgttcgg gtgccattcg tcgctgtatt tgccgccatt aaagaatgag tagtggatct 60

gatgggtacc

70

<210> 4

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrA

<400> 4

gcggatatat tgcgccgcat cgaggtacag gttttgggca aaccagcctg aaccgttcgg 60

gtgccattcg

70

<210> 5

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrA

<400> 5

cgcgctctga caattcaacg

20

<210> 6

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrA

<400> 6

cgttgtcctg aacgtgagcg

20

<210> 7



<211> 70  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> Праймер для інактивації nfrB

<400> 7  
 gtggactggc ttcttgatgt tttgctacc tggctctacg gcttaaaagt aatcgcgata 60

acgtagcgg 70

<210> 8  
 <211> 70  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність

<220>  
 <223> Праймер для інактивації nfrB

<400> 8  
 aatcgcgata acgtagcgg tcacatggt catcagcggg ctggacgatt taggtgacac 60

tatagaacgc 70

<210> 9  
 <211> 70  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrB

<400> 9

aacctgcttt gagtaatagt gattgcatcg aaactgtaa ttcgcgttga tagtggatct 60

gatgggtacc

70

<210> 10

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrB

<400> 10

ttattctcct tcattttcgg actocagttg cgcaacctgt tctgtgttta aacctgcttt 60

gagtaatagt

70

<210> 11

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrB

<400> 11

caatagtcac acctattaat

20

<210> 12

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації nfrB

<400> 12

ccccagctct tctgcgctgg

20

<210> 13

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації tsx

<400> 13

ggcgctctct tcgtctttta ctgtcaacgc agctgaaaac gacaaaaccgc tagtggatct 60

gatgggtacc

70

<210> 14

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації tsx

<400> 14

cgttgaagtt gccgttgccg aagttcagtt ctgcatcgtc gttccactga taggtgacac 60

tatagaacgc 70

<210> 15

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації tsx

<400> 15

aacagtggca tacatatgaa aaaaacatta ctggcagccg gtgcggtact ggcgctctct 60

tcgtctttta 70

<210> 16

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації tsx

<400> 16

tcagaagttg taacctacta ccaggtaacc accccagccg gtagagcgaa cgttgaagtt 60

gccgttgccg 70

<210> 17

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації tsx

<400> 17

ttttataata ggctcctctg 20

<210> 18

<211> 18

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації tsx

<400> 18

gccggacaaa gcgtttac 18

<210> 19  
 <211> 21  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
  
 <220>  
 <223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 19  
 atggcgcggt ccaaaactgc t 21

<210> 20  
 <211> 40  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
  
 <220>  
 <223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 20  
 cgcggtctat aggtcacct cgtgtagcta agcgcttctt 40

<210> 21  
 <211> 40  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
  
 <220>  
 <223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 21

ggtacccatc agatccacta cttcgttggtg ggctgactac

40

<210> 22

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 22

ttagaaacgg aaggttgagg t

21

<210> 23

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 23

gccgccagct gaagctttac c

21

<210> 24

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 24

tagtggatct gatgggtacc

20

<210> 25

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 25

cttcaggaac gctcagattg c

21

<210> 26

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації fhuA

<400> 26



cggaatgatt cgtgtattcc t 21

<210> 27

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації lamB

<400> 27

acgaccgaag ctgccgccgt tgaaatcagc aggaacggct ttgccgaagt tagtgatct 60

gatgggtacc 70

<210> 28

<211> 71

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації lamB

<400> 28

gtaatgtctg ctgaggcaat ggctgtgat ttccacggct atgcacgttc tagtgacac 60

tatagaacgc g 71

<210> 29

<211> 71

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації lamB

<400> 29

ttaccaccag atttccatct gggcaccgaa ggtccactcg tcgctgtcgc cacgaccgaa 60

gctgccgccc t

71

<210> 30

<211> 71

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації lamB

<400> 30

atgatgatta ctctgcgcaa acttcctctg gcggttgccg tcgcagcggg cgtaatgtct 60

gctcaggcaa t

71

<210> 31

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації lamB

<400> 31

cctacatttg acagccgttg 20

<210> 32

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації lamB

<400> 32

sacasaagc ctgtcacagg 20

<210> 33

<211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації btuB

<400> 33

gtgggtcaga aggtgtagct gccagacaag gtgtattccc gtcctgcagt tagtggatct 60

gatgggtacc 70

<210> 34  
 <211> 70  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації btuB

<400> 34

gcccggtac tctcgtcgtt actgctaacc gtttgaaca gccgcgcagc taggtgacac 60

tatagaacgc 70

<210> 35  
 <211> 70  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації btuB

<400> 35

gactccggcg tcggtgggtt gtcggtctat aaacaccagc acggtgggac gtggttcaga 60

aggtgtagct 70

<210> 36  
 <211> 70

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації btuB

<400> 36

gctgacggcg tgttccgtca cggcattttc cgctgggca caggatacca gcccggatac 60

tctcgtcgtt 70

<210> 37

<211> 18

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації btuB

<400> 37

atctggttct catcatcg 18

<210> 38

<211> 20

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер для інактивації btuB

<400> 38

gcataaatgt aatggagatc

20

<210> 39

<211> 2973

<212> ДНК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<220>

<221> ген

<222> (1)..(2973)

<223> nfrA

<400> 39

atgaaggaga ataacctaa tcgctcatc ggaaggctg gttactgct gacgtctta 60

ttgagtacca gcgcactcg agacaatc gccaccagcg cagaagagct ggggctgagc 120

gattatcgcc atttgttat ttatccccgt ctgataaag cgctgaaggc acagaaaaat 180

aacgacgaag caaccgcat ccgcaattt gaatatatac accagcaggc gccggataat 240

attccgctga cttatacct tgcggaagcc tatcgccatt ttggtcatga tgaccgggcg 300

cggctgttc ttgaggatca actgaaacgt caccaggag atgcccgaact tgagcgagc 360

ctggcggcta ttccggtga agtgaaaagc gttacgacag ttgaagaact gttgcccag 420

caaaaagcgt gcgatgctgc gccgacctg cgtgtcgca gtgaagtcgg gcagaatgcc 480

ctgcggctgg cacagtacc tgcgccaga gcgcaactga acgatcgac gttgctgca 540

tcgccggaag gaaaaacgct gcgaaccgat ctgctgcaac gggcaatcta cctgaaacaa 600

tgggtcccagg cagatacgt atacaatgaa gcacgccagc agaacacatt aagcgcgga 660

gaacgccgtc agtggttga cgtgcttct gccgggcagc tggacgatcg gatcctggca 720

ctgcaatcac aggggatctt caccgatcct cagtcataata ttacttacgc gaccgcgctg 780

gcttatcgtg gcgaaaaagc acgcctccag cattatctca ttgaaaataa gccactattt 840

accacggagc cacaagagaa aagttggctc tatctgttat ctaaatacag cgctaacccc 900

gttcaggcgt tggcgaatta tacggtacag ttgccgaca accgccagta tgtgttggc 960

gcgacgctac cgggtctgtt aaaagaaggt cagtacgacg cagcgcaaaa actgctcgcc 1020

accctccccg ccaatgaaat gcttgaggag cgttatgctg tcagcgtggc gaccgtaac 1080

aaggctgaag ctctgctct ggcacgattg ctgtatcagc aagaaccggc aaatcttacc 1140

cgctggatc aactaacctg gcaactgatg cagaacgagc agtcacgca agctgccgat 1200

ttattgtgc aacgctatcc ttccagggc gatgcgctg tcagccagac ttaattggcg 1260

cgactggcgt ctctgctgga aagtcacct tacctggcaa cgccggcgaa ggtggcgatt 1320

ttatcgaaac cttaccgtt gccggagcaa cgtcagtggc aaagtcagtt gccgggtatt 1380

gcagataatt gcccggaat agttcgctg ctgggcgata tgcgccttc ctacgatgcc 1440

gccgcctgga accgtctggc aaagtgttat cgggacacgc taccgggtgt ggcgttgtat 1500

gcatggcttc aggccgaaca acgacaaccg agcgctggc aacatcgtgc ggtagcctat 1560

caggcgtatc aggttgagga ctacgccacc gcactggcgg cctggcagaa aatcagtctt 1620

cacgacatga gcaatgagga tctgcttgc tctgccaata ccgcccaggc ggcaggaaat 1680

ggtgcggctc gcgatcgctg gctacaacag gcagaaaaac gtggactggg aagcaatgcc 1740

ctctactggt ggctgcatgc gcaacgttac attcctggtc agccggaact cgactgaac 1800

gatctacgc gctcaatcaa tattgcgctt tctgccaacg cttacgttgc gcgggcgaca 1860

atttatcgcc aacgtcataa tgtcccgccc gcggtgagtg attgcgcg cgcgctggaa 1920

ctggaaccga ataatagcaa caccaggca gcgcttggtt acgccttggt ggatagcgg 1980

gatatcgac agtcgcgga aatgctcga ccggcgcata aagggttcc ggacgatccg 2040

gcactgatcc gacaactggc ctacgtgaac cagcgtctgg atgacatgcc tgcgacgcag 2100

cactacgcc ggctggtgat tgatgacatt gataatcagg cgctgataac cccactgacc 2160

ccagaacaaa atcaacaacg ctcaatttc cgccgtttgc atgaggaggt cggtcgccgc 2220

tggacgttca gtttcgattc ttcatcgcc ttgcgttccg gcgcaatgag taccgctaac 2280

aataatgtcg gcggcgagc gccagggaag agctatcgta gctacggaca actggaagcc 2340

gagtaccgca tcggacgcaa tatgctgctg gaaggcgacc tgctctcagt ttatagccgc 2400

gtctttgccg ataccggaga aaacgggggtg atgatgccg tgaaaaatcc gatgtccggc 2460

accggtctgc gctggaagcc gctgcgcgat cagatctttt tcatcgccgt cgaacagcag 2520

ttgccgtga acggccaaaa tggcgcatcc gataccatgc tgcgcgccag cgcctcattc 2580



ttaatggcg gcaaatacag cgacgaatgg caccgaacg gtcaggctg gttgcccac 2640  
 aacctgtacc tcgatgcggc gcaatatatc cgccaggata ttcaggcgtg gacggcagat 2700  
 tatcgcgta gctggcatca gaaggtagct aacggacaga ctattgagcc ttacgctcac 2760  
 gtcaggaca acggctatcg tgataaaggc actcagggcg cgcagcttg cggagtcggg 2820  
 gtccgctgga atatctggac cggcgagacg cactacgacg cctggccgca caaagtcagt 2880  
 ctggcgctcg agtatcaaca tacctttaag gcgattaatc aacgtaacgg agagcgcaac 2940  
 aacgcgtttc tcaccattgg agtgactgg taa 2973

<210> 40

<211> 990

<212> БЛОК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<400> 40

Met Lys Glu Asn Asn Leu Asn Arg Val Ile Gly Trp Ser Gly Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Ala Glu Glu Leu Gly Leu Ser Asp Tyr Arg His Phe Val Ile Tyr

35 40 45

Pro Arg Leu Asp Lys Ala Leu Lys Ala Gln Lys Asn Asn Asp Glu Ala

50 55 60

Thr Ala Ile Arg Glu Phe Glu Tyr Ile His Gln Gln Val Pro Asp Asn

65 70 75 80

Ile Pro Leu Thr Leu Tyr Leu Ala Glu Ala Tyr Arg His Phe Gly His

85 90 95

Asp Asp Arg Ala Arg Leu Leu Leu Glu Asp Gln Leu Lys Arg His Pro

100 105 110

Gly Asp Ala Arg Leu Glu Arg Ser Leu Ala Ala Ile Pro Val Glu Val

115 120 125

Lys Ser Val Thr Thr Val Glu Glu Leu Leu Ala Gln Gln Lys Ala Cys

130 135 140

Asp Ala Ala Pro Thr Leu Arg Cys Arg Ser Glu Val Gly Gln Asn Ala

145 150 155 160

Leu Arg Leu Ala Gln Leu Pro Val Ala Arg Ala Gln Leu Asn Asp Ala

165 170 175

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

180 185 190

Gln Arg Ala Ile Tyr Leu Lys Gln Trp Ser Gln Ala Asp Thr Leu Tyr

195 200 205

Asn Glu Ala Arg Gln Gln Asn Thr Leu Ser Ala Ala Glu Arg Arg Gln

210 215 220

Trp Phe Asp Val Leu Leu Ala Gly Gln Leu Asp Asp Arg Ile Leu Ala

225 230 235 240

Leu Gln Ser Gln Gly Ile Phe Thr Asp Pro Gln Ser Tyr Ile Thr Tyr

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

Ala Thr Pro Ala Lys Val Ala Ile Leu Ser Lys Pro Leu Pro Leu Ala

435 440 445

Glu Gln Arg Gln Trp Gln Ser Gln Leu Pro Gly Ile Ala Asp Asn Cys

450 455 460

Pro Ala Ile Val Arg Leu Leu Gly Asp Met Ser Pro Ser Tyr Asp Ala

465 470 475 480

Ala Ala Trp Asn Arg Leu Ala Lys Cys Tyr Arg Asp Thr Leu Pro Gly

485 490 495

Val Ala Leu Tyr Ala Trp Leu Gln Ala Glu Gln Arg Gln Pro Ser Ala

500 505 510

Trp Gln His Arg Ala Val Ala Tyr Gln Ala Tyr Gln Val Glu Asp Tyr

515 520 525

Ala Thr Ala Leu Ala Ala Trp Gln Lys Ile Ser Leu His Asp Met Ser

530 535 540

Asn Glu Asp Leu Leu Ala Ala Ala Asn Thr Ala Gln Ala Ala Gly Asn

545 550 555 560

Gly Ala Ala Arg Asp Arg Trp Leu Gln Gln Ala Glu Lys Arg Gly Leu

565 570 575

Gly Ser Asn Ala Leu Tyr Trp Trp Leu His Ala Gln Arg Tyr Ile Pro

580 585 590

Gly Gln Pro Glu Leu Ala Leu Asn Asp Leu Thr Arg Ser Ile Asn Ile

595 600 605

Ala Pro Ser Ala Asn Ala Tyr Val Ala Arg Ala Thr Ile Tyr Arg Gln

610 615 620

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

625 630 635 640

Leu Glu Pro Asn Asn Ser Asn Thr Gln Ala Ala Leu Gly Tyr Ala Leu

645 650 655

Trp Asp Ser Gly Asp Ile Ala Gln Ser Arg Glu Met Leu Glu Pro Ala

660 665 670

His Lys Gly Leu Pro Asp Asp Pro Ala Leu Ile Arg Gln Leu Ala Tyr

675 680 685

Val Asn Gln Arg Leu Asp Asp Met Pro Ala Thr Gln His Tyr Ala Arg

690 695 700

Leu Val Ile Asp Asp Ile Asp Asn Gln Ala Leu Ile Thr Pro Leu Thr

705 710 715 720

Pro Glu Gln Asn Gln Gln Arg Phe Asn Phe Arg Arg Leu His Glu Glu

725 730 735

Val Gly Arg Arg Trp Thr Phe Ser Phe Asp Ser Ser Ile Gly Leu Arg

740 745 750

Ser Gly Ala Met Ser Thr Ala Asn Asn Asn Val Gly Gly Ala Ala Pro

755 760 765

Gly Lys Ser Tyr Arg Ser Tyr Gly Gln Leu Glu Ala Glu Tyr Arg Ile

770 775 780

Gly Arg Asn Met Leu Leu Glu Gly Asp Leu Leu Ser Val Tyr Ser Arg

785	790	795	800
Val Phe Ala Asp Thr Gly Glu Asn Gly Val Met Met Pro Val Lys Asn			
	805	810	815
Pro Met Ser Gly Thr Gly Leu Arg Trp Lys Pro Leu Arg Asp Gln Ile			
	820	825	830
Phe Phe Ile Ala Val Glu Gln Gln Leu Pro Leu Asn Gly Gln Asn Gly			
	835	840	845
Ala Ser Asp Thr Met Leu Arg Ala Ser Ala Ser Phe Phe Asn Gly Gly			
	850	855	860
Lys Tyr Ser Asp Glu Trp His Pro Asn Gly Ser Gly Trp Phe Ala Gln			
865	870	875	880
Asn Leu Tyr Leu Asp Ala Ala Gln Tyr Ile Arg Gln Asp Ile Gln Ala			
	885	890	895
Trp Thr Ala Asp Tyr Arg Val Ser Trp His Gln Lys Val Ala Asn Gly			
	900	905	910
Gln Thr Ile Glu Pro Tyr Ala His Val Gln Asp Asn Gly Tyr Arg Asp			
	915	920	925
Lys Gly Thr Gln Gly Ala Gln Leu Gly Gly Val Gly Val Arg Trp Asn			
	930	935	940
Ile Trp Thr Gly Glu Thr His Tyr Asp Ala Trp Pro His Lys Val Ser			
945	950	955	960
Leu Gly Val Glu Tyr Gln His Thr Phe Lys Ala Ile Asn Gln Arg Asn			
	965	970	975

Gly Glu Arg Asn Asn Ala Phe Leu Thr Ile Gly Val His Trp  
 980 985 990

<210> 41

<211> 2238

<212> ДНК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<220>

<221> ген

<222> (1)..(2238)

<223> nfrB

<400> 41

tgggactggc ttctgatgt ttctgctacc tggctctacg gcttaaaagt aatcgcgata 60

acgttagcgg tcatcatgtt catcagcggg ctggacgatt ttttattga tgcgtctac 120

tgggtacgcc gcattaaacg caagttgagt gtttatcgcc gctaccgcg aatgagttac 180

cgcgaactgt ataaaccaga tgaaaaaccg ttagcgatta tgggtccggc gtggaatgaa 240

acgggctgca tcggcaatat ggccgagctg gcggcgacca cgctcgacta cgaaaactat 300

catatctttg ttggcaccta cccaacgac cccgatactc agcgtgatgt tgacgaagtg 360

tgcgctcgt tcccgaatgt gcataaggta gtctgcgcgc gtctggccc caccagcaaa 420

gccgactgtc tgaacaacgt gctggacgcc atcacccaat ttgagcgtag cgccaatttc 480

gcttttctg gttttattct gcatgacgcc gaagatgtga ttaccgat ggaattgcgt 540

ctgttcaact atctggtcga gcgtaaagat ctgattcaga tcccgggtga tccgttcgaa 600

cgcaatgga cgcactcac cagcatgact tacattgatg agtttcaga gctgcatggc 660

aaagatgttc cggtgctga agccctgcc ggacaagtgc ccagcgcagg cgtcggcacc 720

tgtttcagcc gccgcgccgt gaccgcactg ttacgtgacg gtgacggtat tgcttcgac 780

gtgcagagtc ttactgaaga ttacgacatt ggctccgcc tgaaagaaaa aggtatgacg 840

gaaattttg tccgtttcc ggtggggac gaagccaaag aacgcgagca gcgtaaattt 900

ttacagcacg cgcggacatc aaacatgatc tgcgtgcgcg aatatttccc cgatacctt 960

tcgactgcgg ttgcacaaa atcccgtgg atcatcggca ttgtttcca aggctttaa 1020

accataaat ggacctcag cctgacgctg aactacttc tctggcgcga ccgcaaagg 1080

gcaatcagta actttgtcag ctctctgcg atgctgggtga tgatccagct ttgtctgtg 1140

ctggcgtatg aaagttgtg gcccgatgcc tggcatttc ttctattt cagcggcagc 1200

gcatggtaa tgacctgct gtggctaaac ttggtttga tggtaaccg catcgtgcag 1260

cgggtgattt tcgtactgg ctactacggc ctgacgcagg ggctgcttc cgtcctgcgt 1320

ctttctggg gcaacctgat taactcatg gccaactggc gcgcgctaaa acaggtactt 1380

caacacggcg atccacgtcg cgtggcgtgg gataaaacaa cgcattgactt cccagcgtg 1440

actggcgata cccgctcgtt gcgccgta ggtcaaattc tgctggaaaa tcaggatc 1500

actgaagaac aactcgatac agcactgcgt aatcgcgtcg aaggctacg cctgggcggt 1560



tcaatgctga tgcaggggct gattagcgcc gagcagctgg cacaggcgct ggcagagcaa 1620

aacggcgtgg cgtgggaatc catcgatgcc tggcagatcc ctctctcgct gattgccgaa 1680

atgccggcct ccgtggcgct gcattatgcg gtactgccgc tgcgtctgga aaatgacgag 1740

ttaattgtcg gcagtgaaga tggattgac ccggtttcgc tggcggccct gacgcgtaaa 1800

gtcggacgca aagtgcgta cgtcattgtt ctgcggggac aaattgtcac agggttacgt 1860

cactggtatg cacgccgacg cggtcacgat ccgcggggcaa tgtgtacaa tgcggttcag 1920

catcagtggc tcacggaaca gcaggccggt gaaatctggc ggcaatatgt gccgcatcag 1980

ttctgttcg ccgaaatact gaccacgctc ggtcatatta atcgttcagc aattaacgtg 2040

ttgtattgc gccatgaacg cagttctctg ccgctcggca agtttttggc caccgaaggc 2100

gttatcagcc aggaaacgtt ggatcgcgct ctgacaattc aacgcgaatt acaagtttcg 2160

atgcaatcac tattactcaa agcaggttta aacacagaac aggttgcgca actggagtcc 2220

gaaaatgaag gagaataa 2238

<210> 42

<211> 745

<212> БЛОК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<400> 42

Met Asp Trp Leu Leu Asp Val Phe Ala Thr Trp Leu Tyr Gly Leu Lys

1

5

10

15

Val Ile Ala Ile Thr Leu Ala Val Ile Met Phe Ile Ser Gly Leu Asp

20 25 30

Asp Phe Phe Ile Asp Val Val Tyr Trp Val Arg Arg Ile Lys Arg Lys

35 40 45

Leu Ser Val Tyr Arg Arg Tyr Pro Arg Met Ser Tyr Arg Glu Leu Tyr

50 55 60

Lys Pro Asp Glu Lys Pro Leu Ala Ile Met Val Pro Ala Trp Asn Glu

65 70 75 80

Thr Gly Val Ile Gly Asn Met Ala Glu Leu Ala Ala Thr Thr Leu Asp

85 90 95

Tyr Glu Asn Tyr His Ile Phe Val Gly Thr Tyr Pro Asn Asp Pro Asp

100 105 110

Thr Gln Arg Asp Val Asp Glu Val Cys Ala Arg Phe Pro Asn Val His

115 120 125

Lys Val Val Cys Ala Arg Pro Gly Pro Thr Ser Lys Ala Asp Cys Leu

130 135 140

Asn Asn Val Leu Asp Ala Ile Thr Gln Phe Glu Arg Ser Ala Asn Phe

145 150 155 160

Ala Phe Ala Gly Phe Ile Leu His Asp Ala Glu Asp Val Ile Ser Pro

165 170 175

Met Glu Leu Arg Leu Phe Asn Tyr Leu Val Glu Arg Lys Asp Leu Ile

180 185 190

Gln Ile Pro Val Tyr Pro Phe Glu Arg Glu Trp Thr His Phe Thr Ser  
195 200 205

Met Thr Tyr Ile Asp Glu Phe Ser Glu Leu His Gly Lys Asp Val Pro  
210 215 220

Val Arg Glu Ala Leu Ala Gly Gln Val Pro Ser Ala Gly Val Gly Thr  
225 230 235 240

Cys Phe Ser Arg Arg Ala Val Thr Ala Leu Leu Ala Asp Gly Asp Gly  
245 250 255

Ile Ala Phe Asp Val Gln Ser Leu Thr Glu Asp Tyr Asp Ile Gly Phe  
260 265 270

Arg Leu Lys Glu Lys Gly Met Thr Glu Ile Phe Val Arg Phe Pro Val  
275 280 285

Val Asp Glu Ala Lys Glu Arg Glu Gln Arg Lys Phe Leu Gln His Ala  
290 295 300

Arg Thr Ser Asn Met Ile Cys Val Arg Glu Tyr Phe Pro Asp Thr Phe  
305 310 315 320

Ser Thr Ala Val Arg Gln Lys Ser Arg Trp Ile Ile Gly Ile Val Phe  
325 330 335

Gln Gly Phe Lys Thr His Lys Trp Thr Ser Ser Leu Thr Leu Asn Tyr  
340 345 350

Phe Leu Trp Arg Asp Arg Lys Gly Ala Ile Ser Asn Phe Val Ser Phe  
355 360 365

Leu Ala Met Leu Val Met Ile Gln Leu Leu Leu Leu Leu Ala Tyr Glu

370	375	380	
Ser Leu Trp Pro Asp Ala Trp His Phe Leu Ser Ile Phe Ser Gly Ser			
385	390	395	400
Ala Trp Leu Met Thr Leu Leu Trp Leu Asn Phe Gly Leu Met Val Asn			
	405	410	415
Arg Ile Val Gln Arg Val Ile Phe Val Thr Gly Tyr Tyr Gly Leu Thr			
	420	425	430
Gln Gly Leu Leu Ser Val Leu Arg Leu Phe Trp Gly Asn Leu Ile Asn			
	435	440	445
Phe Met Ala Asn Trp Arg Ala Leu Lys Gln Val Leu Gln His Gly Asp			
	450	455	460
Pro Arg Arg Val Ala Trp Asp Lys Thr Thr His Asp Phe Pro Ser Val			
465	470	475	480
Thr Gly Asp Thr Arg Ser Leu Arg Pro Leu Gly Gln Ile Leu Leu Glu			
	485	490	495
Asn Gln Val Ile Thr Glu Glu Gln Leu Asp Thr Ala Leu Arg Asn Arg			
	500	505	510
Val Glu Gly Leu Arg Leu Gly Gly Ser Met Leu Met Gln Gly Leu Ile			
	515	520	525
Ser Ala Glu Gln Leu Ala Gln Ala Leu Ala Glu Gln Asn Gly Val Ala			
	530	535	540
Trp Glu Ser Ile Asp Ala Trp Gln Ile Pro Ser Ser Leu Ile Ala Glu			
545	550	555	560

Met Pro Ala Ser Val Ala Leu His Tyr Ala Val Leu Pro Leu Arg Leu  
565 570 575

Glu Asn Asp Glu Leu Ile Val Gly Ser Glu Asp Gly Ile Asp Pro Val  
580 585 590

Ser Leu Ala Ala Leu Thr Arg Lys Val Gly Arg Lys Val Arg Tyr Val  
595 600 605

Ile Val Leu Arg Gly Gln Ile Val Thr Gly Leu Arg His Trp Tyr Ala  
610 615 620

Arg Arg Arg Gly His Asp Pro Arg Ala Met Leu Tyr Asn Ala Val Gln  
625 630 635 640

His Gln Trp Leu Thr Glu Gln Gln Ala Gly Glu Ile Trp Arg Gln Tyr  
645 650 655

Val Pro His Gln Phe Leu Phe Ala Glu Ile Leu Thr Thr Leu Gly His  
660 665 670

Ile Asn Arg Ser Ala Ile Asn Val Leu Leu Leu Arg His Glu Arg Ser  
675 680 685

Ser Leu Pro Leu Gly Lys Phe Leu Val Thr Glu Gly Val Ile Ser Gln  
690 695 700

Glu Thr Leu Asp Arg Val Leu Thr Ile Gln Arg Glu Leu Gln Val Ser  
705 710 715 720

Met Gln Ser Leu Leu Leu Lys Ala Gly Leu Asn Thr Glu Gln Val Ala  
725 730 735

Gln Leu Glu Ser Glu Asn Glu Gly Glu

740

745

<210> 43

<211> 6088

<212> ДНК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<220>

<221> ген

<222> (1)..(6088)

<223> nfrAB

<400> 43

gtggactggc ttctgatgt ttctgctacc tggctctacg gcttaaaagt aatcgcgata 60

acgttagcgg tcatcatgtt catcagcggg ctggacgatt ttttattga tgcgtctac 120

tgggtacgcc gcattaaacg caagttgagt gttatcgcc gctaccgcg aatgagttac 180

cgcgaaactgt ataaaccaga tgaaaaaccg ttagcgatta tggttccggc gtggaatgaa 240

acgggcgta tcggcaatat ggccgagctg gcggcgacca cgctcgacta cgaaaactat 300

catatctttg ttggcaccta cccaacgac cccgatactc agcgtgatgt tgacgaagtg 360

tgcgctcgct tcccgaatgt gcataaggta gtctgcgcgc gtctggccc caccagcaaa 420

gccgactgtc tgaacaacgt gctggacgcc atcacccaat ttgagcgtag cgccaatttc 480

gcttttgctg gttttattct gcatgacgcc gaagatgtga ttccaccgat ggaattgcgt 540

ctgttcaact atctggtcga gcgtaaagat ctgattcaga tcccgggtga tccgttcgaa 600

cgcgaaatgga cgcacttcac cagcatgact tacattgatg agttttcaga gctgcatggc 660

aaagatgttc cgggtgcgtga agccctcgcc ggacaagtgc ccagcgcagg cgtcggcacc 720

tgtttcagcc gccgcgccgt gaccgcactg ttagctgacg gtgacggtat tgctttcgac 780

gtgcagagtc ttactgaaga ttacgacatt ggcttcgcc tgaagaaaa aggtatgacg 840

gaaattttg tccgtttcc ggtgggtggac gaagccaaag aacgcgagca gcgtaaattt 900

ttacagcacg cgcgacatc aaacatgac tgctgacg aatattccc cgatacctt 960

tcgactgagg ttgcacaaaa atcccgtgg atcatcggca ttgtttcca aggctttaa 1020

accataaat ggacctccag cctgacgtg aactacttc tctggcgga ccgcaaagg 1080

gcaatcagta actttgtcag ctctctcgc atgctggga tgatccagct ttgctgtg 1140

ctggcgatg aaagtttg gcccgatgcc tggcatttc ttctattt cagcggcagc 1200

gcatggttaa tgacctgct gtggctaac ttggtttga tggtaaccg catcgtgcag 1260

cgggtgattt tcgttactgg ctactacgc ctgacgcagg ggctgcttc cgtcctgcgt 1320

ctttctggg gcaacctgat taactcatg gccaaactgg gcgcgctaaa acaggtactt 1380

caacacggcg atccacgtc cgtggcgtg gataaaaca cgcattgact cccagcgtg 1440

actggcgata cccgctcgtt gcgcccgtta ggtcaaattc tgctggaaaa tcaggtcatc 1500

actgaagaac aactcgatac agcactgcgt aatcgcgtc aaggtctac cctgggcggt 1560

tcaatgctga tgcaggggct gattagcgcc gagcagctgg cacaggcgct ggcagagcaa 1620

aacggcgtgg cgtgggaatc catcgatgcc tggcagatcc ctctctcgct gattgccgaa 1680

atgccggcct ccgtggcgct gcattatgcg gtactgccgc tgcgtctgga aaatgacgag 1740

ttaattgtcg gcagtgaaga tggattgac ccggtttcgc tggcggccct gacgcgtaaa 1800

gtcggacgca aagtgcgta cgtcattgtt ctgcggggac aaattgtcac agggttacgt 1860

cactggtatg cagccgacg cggtcacgat ccgcgggcaa tgtgtacaa tgcggttcag 1920

catcagtggc tcacggaaca gcaggccggt gaaatctggc ggcaatatgt gccgcatcag 1980

ttctgttcg ccgaaatact gaccacgctc ggcatatta atcgttcagc aattaacgtg 2040

ttgtattgc gccatgaacg cagttctctg ccgctcggca agtttttgt caccgaaggc 2100

gttatcagcc aggaaacgtt ggtcgcgctc ctgacaattc aacgcgaatt acaagtttcg 2160

atgcaatcac tattactcaa agcagggtta aacacagaac aggttgcgca actggagtcc 2220

gaaaatgaag gagaataacc ttaatcgct catcggttg tctggttac tgctgacgtc 2280

ttattgagt accagcgac tcgcagacaa tatcggcacc agcgcagaag agctggggct 2340

gagcgattat cgccatttg ttattatcc ccgtctgat aaagcgctga aggcacagaa 2400

aaataacgac gaagcaaccg ccatccgga attgaatat atacaccagc aggtgccgga 2460

taatattccg ctgacttat acctgcgga agcctatcgc catttggtc atgatgaccg 2520

ggcgcggctg ttgcttgagg atcaactgaa acgtcaccca ggagatgcc gactgagcg 2580



cagtctggcg gctattccgg ttgaagtga aagcggtacg acagttgaag aactgcttc 2640

ccagcaaaaa gcgtgcgatg ctgcgccgac cctgcgttgt cgcagtgaag togggcagaa 2700

tgccctgcgg ctggcacagt tacctgtcgc cagagcgcaa ctgaacgatg cgacgtttgc 2760

tgcacgccc gaaggaaaaa cgctgcgaac cgtctgtctg caacgggcaa tctacctgaa 2820

acaatggtcc caggcagata cgctatacaa tgaagcacgc cagcagaaca cattaagcgc 2880

ggcagaacgc cgtcagtggt ttgacgtgct tcttgccggg cagctggacg atcggtatct 2940

ggcactgcaa tcacagggga tcttcaccga tctcagtca tatattactt acgcgaccgc 3000

gctggcttat cgtggcgaaa aagcacgcct ccagcattat ctattgaaa ataagccact 3060

attaccacg gacgcacaag agaaaagttg gctctatctg ttatctaaat acagcgctaa 3120

ccccgttcag gcgttgccga attatacgtt acagttgcc gacaaccgcc agtatgttgt 3180

tggcgcgacg ctaccggtgc tgttaaaaga aggtcagtag gacgcagcgc aaaaactgct 3240

cgccaccctc cccgccaatg aaatgcttga ggagcgttat gctgtcagcg tggcgaccgc 3300

taacaaggct gaagctctgc gtctggcacg attgtgtat cagcaagaac cggcaaatct 3360

taccgcctg gatcaactaa cctggcaact gatgcagaac gagcagtcac gcgaagctgc 3420

cgatttattg ctgcaacgct atcctttcca gggcgatgcg cgtgtcagcc agactttaat 3480

ggcgcgactg gcgtctctgc tggaaagtca tcttacctg gcaacgccgg cgaagggtggc 3540

gattttatcg aaacccttac cgctggcgga gcaacgtcag tggcaaagtc agttgccggg 3600

tattgcagat aattgcccgg caatagttcg cttgctgggc gatatgtgc cttcctacga 3660

tgccgccgcc tggaaccgtc tggcaaagt ttatcgggac acgctacccg gtgtggcggt 3720

gtatgcatgg cttcaggccg aacaacgaca accgagcgcc tggcaacatc gtgcggtagc 3780

ctatcaggcg tatcaggttg aggactacgc caccgactg gcggcctggc agaaaatcag 3840

tcttcacgac atgagcaatg aggatctgct tgctgtgcc aataccgccc aggcggcagg 3900

aaatggtgcg gctcgcgatc gctggctaca acaggcagaa aaacgtggac tgggaagcaa 3960

tgccctctac tggtggtgc atgcgcaacg ttacattcct ggtcagccgg aactgcact 4020

gaacgatctc acgcgtcaa tcaatattgc gccttctgcc aacgcttacg ttgcgcgggc 4080

gacaatttat cgccaacgtc ataatgtccc ggccgcggtg agtgatttc gcgccgcgt 4140

ggaactggaa ccgaataata gcaacacca ggcagcgctt ggttacgcct tgtgggatag 4200

cggtgatac gcacagtgc gggaaatgct cgaaccggcg cataaagggc ttccggacga 4260

tccggcactg atccgacaac tggcctacgt gaaccagcgt ctggatgaca tgctgcgac 4320

gcagcactac gcccggtgg tgattgatga cattgataat caggcgctga taaccctact 4380

gacccagaa caaatcaac aacgctcaa ttccgccgt ttgcatgagg aggtcggtcg 4440

ccgctggacg ttcagtttcg attctccat cggcttgcgt tccggcgcaa tgagtaccgc 4500

taacaataat gtcggcggcg cagcgccagg gaaaagctat cgtagctacg gacaactgga 4560

agccgagtac cgcatcggac gcaatatgct gctggaaggc gacctgctc cagtttatag 4620

ccgcgtcttt gccgataccg gagaaaacgg ggtgatgatg ccggtgaaaa atccgatgtc 4680

cggcaccggt ctgcgctgga agccgctgcg cgatcagatc ttttcatcg ccgtogaaca 4740

gcagttgccg ctgaacggcc aaaatggcgc atccgatacc atgctgcgcg ccagcgcctc 4800

attctttaat ggcggcaaat acagcgacga atggcacccg aacgggtcag gctggttgc 4860

ccaaaacctg tacctcgatg cggcgcaata tatccgccag gatattcagg cgtggacggc 4920

agattatgcg gtcagctggc atcagaaggt agctaacgga cagactattg agccttacgc 4980

tcacgttcag gacaacggct atcgtgataa aggcactcag ggcgcgcagc ttggcggagt 5040

cggggtccgc tggaatatct ggaccggcga gacgcactac gacgcctggc cgcacaaagt 5100

cagtctcggc gtcgagtatc aacataacct taaggcgatt aatcaacgta acggagagcg 5160

caacaacgcy tttctacca ttggagtga ctggtaaatg cgtaagtca tttcgtatt 5220

gctgacactg ctttggta gcccttttc cttgcgatg aaaggtatta tctggcaacc 5280

acaaaaccga gatagtcagg ttaccgatac ccagtggcag gggctgatga gtcagttacg 5340

ttgcaaggc ttcgataccc ttgtttgca atggaccgt tacggcgatg cattaccca 5400

gccagaacag cgcacgttat tgttaagcg ggccgcagct gcgcaacagg ctggtctgaa 5460

gcttattgtc gggctgaacg ccgatccgga atttttatg caccagaaac agtcgtccgc 5520

agcgctggaa agctatctta atgcctgct ggctgccgat ctccagcaag ccagattatg 5580

gagcgccgcg cctggcataa cgccgatgg ctggtacatc agcgcggaat ttgacgacct 5640

gaactggcgc agcgaagccg cccgtcagcc ttgctaaca tggtaaaca acgcgcagcg 5700

gctgattagc gatgtttcag caaaaccggg ttatatcagt agtttttcg ccggaacat 5760

gtcgcccgat ggctatcgcc aactgctgga acacgttaaa gcaaccggcg ttaatgtctg 5820

ggtacaggat ggcagcggcg tggataaact gaccgctgaa cagcgtgaac gttatttaca 5880

ggccagcgcc gattgcaaaa gtcccgcccc tgccagcggc gttgtttatg aacttttgt 5940

cgccggcaaa ggcaaaacct ttacagcgaa accgaaaccg gacgcagaaa ttgcctcgct 6000

gttagcgaaa cgttcctctt gcggtaaaga cactctctat ttctctctgc gctatttgcc 6060

cgtcgcgcac ggcatctctg agtattaa 6088

<210> 44

<211> 885

<212> ДНК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<220>

<221> ген

<222> (1)..(885)

<223> tsx

<400> 44

atgaaaaaaaa cattactggc agccgggtcg gtactggcgc tctctcgtc ttctactgtc 60

aacgcagctg aaaacgacaa accgcagtat cttccgact ggtggcacca gagcgttaac 120

gttgtcggaa gctatcacac ccgttcgga ccgcagatcc gcaacgatac ctaccttgag 180

tacgaagcat tcgctaaaaa agactgggtc gacttctatg gttatgcgga tgcgccggtg 240

ttcttcggcg gtaactccga tgctaaaggt atctggaacc acggttctcc gctgtttatg 300

gaaatcgaac cacgtttctc catcgacaag ctgaccaata ctgaccttag cttcggtccg 360

ttcaaagagt ggtacttcgc gaacaactac atttacgaca tgggtcgtaa taaagatggt 420

cgccagagca cctggtacat ggggtctgggt accgatatcg acactggcct gccgatgagc 480

ctgtccatga acgtctatgc gaaataccag tggcagaact atggcgcagc gaacgaaaac 540

gagtgggacg gttaccgttt caaaattaaa tactttgtgc cgattaccga tctgtggggc 600

ggtcagctga gctacatcgg cttaccaaac ttcgactggg gttccgattt aggggatgac 660

agcggtaacg caatcaacgg tattaagacc cgtactaata actctatcgc ttccagccat 720

attctggctc tgaactacga tcaactggcac tactctgtcg tagctcgta ctggcacgac 780

ggtggtcagt ggaacgacga tgcagaactg aacttcggca acggcaactt caacgttcgc 840

tctaccggct ggggtgggta cctggtagta ggttacaact tctga 885

<210> 45

<211> 294

<212> БЛОК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<400> 45

Met Lys Lys Thr Leu Leu Ala Ala Gly Ala Val Leu Ala Leu Ser Ser

1

5

10

15

Ser Phe Thr Val Asn Ala Ala Glu Asn Asp Lys Pro Gln Tyr Leu Ser  
20 25 30

Asp Trp Trp His Gln Ser Val Asn Val Val Gly Ser Tyr His Thr Arg  
35 40 45

Phe Gly Pro Gln Ile Arg Asn Asp Thr Tyr Leu Glu Tyr Glu Ala Phe  
50 55 60

Ala Lys Lys Asp Trp Phe Asp Phe Tyr Gly Tyr Ala Asp Ala Pro Val  
65 70 75 80

Phe Phe Gly Gly Asn Ser Asp Ala Lys Gly Ile Trp Asn His Gly Ser  
85 90 95

Pro Leu Phe Met Glu Ile Glu Pro Arg Phe Ser Ile Asp Lys Leu Thr  
100 105 110

Asn Thr Asp Leu Ser Phe Gly Pro Phe Lys Glu Trp Tyr Phe Ala Asn  
115 120 125

Asn Tyr Ile Tyr Asp Met Gly Arg Asn Lys Asp Gly Arg Gln Ser Thr  
130 135 140

Trp Tyr Met Gly Leu Gly Thr Asp Ile Asp Thr Gly Leu Pro Met Ser  
145 150 155 160

Leu Ser Met Asn Val Tyr Ala Lys Tyr Gln Trp Gln Asn Tyr Gly Ala  
165 170 175

Ala Asn Glu Asn Glu Trp Asp Gly Tyr Arg Phe Lys Ile Lys Tyr Phe  
180 185 190

Val Pro Ile Thr Asp Leu Trp Gly Gly Gln Leu Ser Tyr Ile Gly Phe  
 195 200 205

Thr Asn Phe Asp Trp Gly Ser Asp Leu Gly Asp Asp Ser Gly Asn Ala  
 210 215 220

Ile Asn Gly Ile Lys Thr Arg Thr Asn Asn Ser Ile Ala Ser Ser His  
 225 230 235 240

Ile Leu Ala Leu Asn Tyr Asp His Trp His Tyr Ser Val Val Ala Arg  
 245 250 255

Tyr Trp His Asp Gly Gly Gln Trp Asn Asp Asp Ala Glu Leu Asn Phe  
 260 265 270

Gly Asn Gly Asn Phe Asn Val Arg Ser Thr Gly Trp Gly Gly Tyr Leu  
 275 280 285

Val Val Gly Tyr Asn Phe  
 290

<210> 46

<211> 2244

<212> ДНК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<220>

<221> ген

<222> (1)..(2244)

<223> fhuA

<400> 46

atggcgcggt ccaaaactgc tcagccaaaa cactcactgc gtaaaatcgc agttgtagta 60

gccacagcgg ttagcggcat gtcgtttat gcacaggcag cgggtgaacc gaaagaagac 120

actatcacgg ttaccgtgc acctgcgccg caagaaagcg catgggggcc tgctgcaact 180

attggggcgc gacagtctgc taccggcact aaaaccgata cgccgattca aaaagtgcc 240

cagtctatt ctgtgtgac cgccgaagag atggcgctgc atcagccgaa gtcggtaaaa 300

gaagcgctta gctacacgcc ggggtgtctc gttggtacgc gtggcgcatc caacacctat 360

gaccacctga tcattcgcg cttgctggca gaaggccaaa gccagaataa ctatctgaat 420

ggcctgaagt tgcagggcaa cttctataac gatgcggta ttgaccgta tatgctggaa 480

cgcgtgaaa ttatgcgtgg cccggtttcc gtgctttacg gtaaaagcag tcctggcggc 540

ctgtgaata tggcagcaa gcgtccgacc accgaaccgc tgaagaagt tcagtttaa 600

gccggtactg acagcctgtt ccagactggt ttgacttta gcgattcgtt ggatgatgac 660

ggtgttact cttatgcct gaccggtctt gcgcgttctg ccaatgccca gcagaaagg 720

tcagaagagc agcgttatgc tattgcaccg gcgttcacct ggctccgga tgataaaacc 780

aattttacct tcctttotta cttccagaac gagccgaaa ccggttatta cggctggtg 840

ccgaaagagg gaaccgtga gccgctgccg aacggtaagc gtctgccgac agactttaat 900

gaaggggcca agaacaacac ctattctgt aatgagaaga tggcggcta cagcttcgat 960

cacgaattta acgacacctt tactgtcgt cagaacctgc gcttgctga aaacaaaacc 1020



tcgcaaaaca gcgtttatgg ttacggcgctc tgctccgatac cggcgaatgc ttacagcaaa 1080

cagtgtcggg cattagcgcc agcggataaa ggccattatc tggcacgtaa atacgtcgtt 1140

gatgatgaga agctgcaaaa ctctccggt gatacccagt tgcagagcaa gtttgccact 1200

ggcgatatcg accacaccct gctgaccggt gtcgacttta tgcgtatgcg taatgacatc 1260

aacgcctggt ttggttacga cgactctgtg ccaactgctca atctgtacaa tccggtgaat 1320

accgatttcg acttcaatgc caaagatccg gcaaactccg gcccttaccg cattctgaat 1380

aaacagaaac aaacgggctt ttatgttcag gatcaggcgc agtgggataa agtgctggtc 1440

accctaggcg gtcgttatga ctgggcagat caagaatctc ttaaccgctg tgccgggacg 1500

accgataaac gtgatgacaa acagtttacc tggcgtggtg gtgttaacta cctgtttgat 1560

aatggtgtaa caccttactt cagctatagc gaatcgttg aacctcttc gcaagtggg 1620

aaggatggta atatttcgc accgtctaaa ggtaagcagt atgaagtcgg cgtgaaatat 1680

gtaccggaag atcgtccgat ttagttact ggtgccgtgt ataatctcac taaaaccaac 1740

aacctgatgg cggaccctga gggttcctc ttctcggttg aaggtggcga gatccgcgca 1800

cgtggcgtag aaatcgaagc gaaagcggcg ctgtcggcga gtgttaacgt agtcggttct 1860

tatacttaca ccgatgcgga atacaccacc gatactacct ataaaggcaa tacgcctgca 1920

caggtgccaa aacacatggc ttctgtgtgg gctgactaca cttctttga cgtccgctt 1980

tcaggtctga cgctgggcac cgggtggtcgt tatactggct ccagttatgg tgatccggct 2040

aactcctta aagtgggaag ttatcgggc gtggatcgt tagtacgta tgatctggc 2100

cgatcggca tggctggctc caacgtggcg ctgcatgta acaacctgtt cgatcgtgaa 2160

tacgtcgcca gctgcttaa cacttatggc tgctctggg ggcagaacg tcaggtcgtt 2220

gcaaccgcaa ccttcggtt ctaa 2244

<210> 47

<211> 747

<212> БЛОК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<400> 47

Met Ala Arg Ser Lys Thr Ala Gln Pro Lys His Ser Leu Arg Lys Ile

1 5 10 15

Ala Val Val Val Ala Thr Ala Val Ser Gly Met Ser Val Tyr Ala Gln

20 25 30

Ala Ala Val Glu Pro Lys Glu Asp Thr Ile Thr Val Thr Ala Ala Pro

35 40 45

Ala Pro Gln Glu Ser Ala Trp Gly Pro Ala Ala Thr Ile Ala Ala Arg

50 55 60

Gln Ser Ala Thr Gly Thr Lys Thr Asp Thr Pro Ile Gln Lys Val Pro

65 70 75 80

Gln Ser Ile Ser Val Val Thr Ala Glu Glu Met Ala Leu His Gln Pro

85 90 95

Lys Ser Val Lys Glu Ala Leu Ser Tyr Thr Pro Gly Val Ser Val Gly

100	105	110	
Thr Arg Gly Ala Ser Asn Thr Tyr Asp His Leu Ile Ile Arg Gly Phe			
115	120	125	
Ala Ala Glu Gly Gln Ser Gln Asn Asn Tyr Leu Asn Gly Leu Lys Leu			
130	135	140	
Gln Gly Asn Phe Tyr Asn Asp Ala Val Ile Asp Pro Tyr Met Leu Glu			
145	150	155	160
Arg Ala Glu Ile Met Arg Gly Pro Val Ser Val Leu Tyr Gly Lys Ser			
165	170	175	
Ser Pro Gly Gly Leu Leu Asn Met Val Ser Lys Arg Pro Thr Thr Glu			
180	185	190	
Pro Leu Lys Glu Val Gln Phe Lys Ala Gly Thr Asp Ser Leu Phe Gln			
195	200	205	
Thr Gly Phe Asp Phe Ser Asp Ser Leu Asp Asp Asp Gly Val Tyr Ser			
210	215	220	
Tyr Arg Leu Thr Gly Leu Ala Arg Ser Ala Asn Ala Gln Gln Lys Gly			
225	230	235	240
Ser Glu Glu Gln Arg Tyr Ala Ile Ala Pro Ala Phe Thr Trp Arg Pro			
245	250	255	
Asp Asp Lys Thr Asn Phe Thr Phe Leu Ser Tyr Phe Gln Asn Glu Pro			
260	265	270	
Glu Thr Gly Tyr Tyr Gly Trp Leu Pro Lys Glu Gly Thr Val Glu Pro			
275	280	285	

Leu Pro Asn Gly Lys Arg Leu Pro Thr Asp Phe Asn Glu Gly Ala Lys  
290 295 300

Asn Asn Thr Tyr Ser Arg Asn Glu Lys Met Val Gly Tyr Ser Phe Asp  
305 310 315 320

His Glu Phe Asn Asp Thr Phe Thr Val Arg Gln Asn Leu Arg Phe Ala  
325 330 335

Glu Asn Lys Thr Ser Gln Asn Ser Val Tyr Gly Tyr Gly Val Cys Ser  
340 345 350

Asp Pro Ala Asn Ala Tyr Ser Lys Gln Cys Ala Ala Leu Ala Pro Ala  
355 360 365

Asp Lys Gly His Tyr Leu Ala Arg Lys Tyr Val Val Asp Asp Glu Lys  
370 375 380

Leu Gln Asn Phe Ser Val Asp Thr Gln Leu Gln Ser Lys Phe Ala Thr  
385 390 395 400

Gly Asp Ile Asp His Thr Leu Leu Thr Gly Val Asp Phe Met Arg Met  
405 410 415

Arg Asn Asp Ile Asn Ala Trp Phe Gly Tyr Asp Asp Ser Val Pro Leu  
420 425 430

Leu Asn Leu Tyr Asn Pro Val Asn Thr Asp Phe Asp Phe Asn Ala Lys  
435 440 445

Asp Pro Ala Asn Ser Gly Pro Tyr Arg Ile Leu Asn Lys Gln Lys Gln  
450 455 460

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

Thr Leu Gly Gly Arg Tyr Asp Trp Ala Asp Gln Glu Ser Leu Asn Arg  
485 490 495

Val Ala Gly Thr Thr Asp Lys Arg Asp Asp Lys Gln Phe Thr Trp Arg  
500 505 510

Gly Gly Val Asn Tyr Leu Phe Asp Asn Gly Val Thr Pro Tyr Phe Ser  
515 520 525

Tyr Ser Glu Ser Phe Glu Pro Ser Ser Gln Val Gly Lys Asp Gly Asn  
530 535 540

Ile Phe Ala Pro Ser Lys Gly Lys Gln Tyr Glu Val Gly Val Lys Tyr  
545 550 555 560

Val Pro Glu Asp Arg Pro Ile Val Val Thr Gly Ala Val Tyr Asn Leu  
565 570 575

Thr Lys Thr Asn Asn Leu Met Ala Asp Pro Glu Gly Ser Phe Phe Ser  
580 585 590

Val Glu Gly Gly Glu Ile Arg Ala Arg Gly Val Glu Ile Glu Ala Lys  
595 600 605

Ala Ala Leu Ser Ala Ser Val Asn Val Val Gly Ser Tyr Thr Tyr Thr  
610 615 620

Asp Ala Glu Tyr Thr Thr Asp Thr Thr Tyr Lys Gly Asn Thr Pro Ala  
625 630 635 640

Gln Val Pro Lys His Met Ala Ser Leu Trp Ala Asp Tyr Thr Phe Phe

645                      650                      655  
 Asp Gly Pro Leu Ser Gly Leu Thr Leu Gly Thr Gly Gly Arg Tyr Thr  
 660                      665                      670  
 Gly Ser Ser Tyr Gly Asp Pro Ala Asn Ser Phe Lys Val Gly Ser Tyr  
 675                      680                      685  
 Thr Val Val Asp Ala Leu Val Arg Tyr Asp Leu Ala Arg Val Gly Met  
 690                      695                      700  
 Ala Gly Ser Asn Val Ala Leu His Val Asn Asn Leu Phe Asp Arg Glu  
 705                      710                      715                      720  
 Tyr Val Ala Ser Cys Phe Asn Thr Tyr Gly Cys Phe Trp Gly Ala Glu  
 725                      730                      735  
 Arg Gln Val Val Ala Thr Ala Thr Phe Arg Phe  
 740                      745

<210> 48  
 <211> 1341  
 <212> ДНК  
 <213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<220>  
 <221> ген  
 <222> (1)..(1341)  
 <223> lamB

<400> 48  
 atgatgatta ctctgcgcaa acttcctctg gcggttgccg tcgcagcggg cgtaatgtct 60

gctcaggcaa tggctgttga ttccacggc tatgcacgtt ccggtattgg ttggacaggt 120

agcggcggtg aacaacagtg ttccagact accggtgctc aaagtaaata ccgtcttggc 180

aacgaatgtg aaacttatgc tgaattaaaa ttgggtcagg aagtgtggaa agagggcgat 240

aagagcttct atttcgacac taacgtggcc tattccgtcg cacaacagaa tgactgggaa 300

gctaccgatc cggccttcg tgaagcaaac gtgcagggtg aaaacctgat cgaatggctg 360

ccaggctcca ccatctgggc aggtaaagcg ttctaccaac gtcacgacgt tcatatgatc 420

gactctact actgggatat ttctgtctct ggtgccggtc tggaaaacat cgatgttggc 480

ttcggtaaac tctctctggc agcaaccgc tctctgaag ctggtgggtc ttctcttc 540

gccagcaaca atatttatga ctataccaac gaaaccgga acgacgttt cgatgtgcgt 600

ttagcgaga tggaaatcaa cccgggcggc acattagaac tgggtgtcga ctacggctgt 660

gccaaactgc gtgataacta tcgtctggtt gatggcgcat cgaaagacgg ctggttattc 720

actgtgaac atactcagag tgtctgaag ggctttaaca agttgtgtt tcagtacgt 780

actgactcga tgacctcga gggtaaaggg ctgtcgcagg gttctggcgt tgcattgat 840

aacgaaaaat ttgctacaa tatcaacaac aacggtcaca tgctgcgtat cctcgaccac 900

ggtgcgatct ccatgggcga caactgggac atgatgtacg tgggtatgta ccaggatatc 960

aactgggata acgacaacgg caccaagtgg tggaccgtcg gtattcgccc gatgtacaag 1020

tggacgcaa tcatgagcac cgtgatggaa atcggctacg acaacgtoga atccagcgc 1080

accggcgaca agaacaatca gtacaaaatt accctgcac aacaatggca ggctggcgac 1140

agcatctggg cagccccggc tattcgtgtc ttogcaacct acgccaagtg ggatgagaaa 1200

tggggttacg actacaccgg taacgctgat aacaacgca acttcggcaa agccgttcct 1260

gctgatttca acggcggcag cttcggctgt ggcgacagcg acgagtggaac cttcgggtgcc 1320

cagatggaaa tctgggtgta a 1341

<210> 49

<211> 446

<212> БЛОК

<213> Escherichia coli, штам K-12, субштам W3110

<400> 49

Met Met Ile Thr Leu Arg Lys Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Ala

1 5 10 15

Gly Val Met Ser Ala Gln Ala Met Ala Val Asp Phe His Gly Tyr Ala

20 25 30

Arg Ser Gly Ile Gly Trp Thr Gly Ser Gly Gly Glu Gln Gln Cys Phe

35 40 45

Gln Thr Thr Gly Ala Gln Ser Lys Tyr Arg Leu Gly Asn Glu Cys Glu

50 55 60

Thr Tyr Ala Glu Leu Lys Leu Gly Gln Glu Val Trp Lys Glu Gly Asp

65 70 75 80

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



85	90	95
Asn Asp Trp Glu Ala Thr Asp Pro Ala Phe Arg Glu Ala Asn Val Gln		
100	105	110
Gly Lys Asn Leu Ile Glu Trp Leu Pro Gly Ser Thr Ile Trp Ala Gly		
115	120	125
Lys Arg Phe Tyr Gln Arg His Asp Val His Met Ile Asp Phe Tyr Tyr		
130	135	140
Trp Asp Ile Ser Gly Pro Gly Ala Gly Leu Glu Asn Ile Asp Val Gly		
145	150	155
Phe Gly Lys Leu Ser Leu Ala Ala Thr Arg Ser Ser Glu Ala Gly Gly		
165	170	175
Ser Ser Ser Phe Ala Ser Asn Asn Ile Tyr Asp Tyr Thr Asn Glu Thr		
180	185	190
Ala Asn Asp Val Phe Asp Val Arg Leu Ala Gln Met Glu Ile Asn Pro		
195	200	205
Gly Gly Thr Leu Glu Leu Gly Val Asp Tyr Gly Arg Ala Asn Leu Arg		
210	215	220
Asp Asn Tyr Arg Leu Val Asp Gly Ala Ser Lys Asp Gly Trp Leu Phe		
225	230	235
Thr Ala Glu His Thr Gln Ser Val Leu Lys Gly Phe Asn Lys Phe Val		
245	250	255
Val Gln Tyr Ala Thr Asp Ser Met Thr Ser Gln Gly Lys Gly Leu Ser		
260	265	270

Gln Gly Ser Gly Val Ala Phe Asp Asn Glu Lys Phe Ala Tyr Asn Ile  
275 280 285

Asn Asn Asn Gly His Met Leu Arg Ile Leu Asp His Gly Ala Ile Ser  
290 295 300

Met Gly Asp Asn Trp Asp Met Met Tyr Val Gly Met Tyr Gln Asp Ile  
305 310 315 320

Asn Trp Asp Asn Asp Asn Gly Thr Lys Trp Trp Thr Val Gly Ile Arg  
325 330 335

Pro Met Tyr Lys Trp Thr Pro Ile Met Ser Thr Val Met Glu Ile Gly  
340 345 350

Tyr Asp Asn Val Glu Ser Gln Arg Thr Gly Asp Lys Asn Asn Gln Tyr  
355 360 365

Lys Ile Thr Leu Ala Gln Gln Trp Gln Ala Gly Asp Ser Ile Trp Ser  
370 375 380

Arg Pro Ala Ile Arg Val Phe Ala Thr Tyr Ala Lys Trp Asp Glu Lys  
385 390 395 400

Trp Gly Tyr Asp Tyr Thr Gly Asn Ala Asp Asn Asn Ala Asn Phe Gly  
405 410 415

Lys Ala Val Pro Ala Asp Phe Asn Gly Gly Ser Phe Gly Arg Gly Asp  
420 425 430

Ser Asp Glu Trp Thr Phe Gly Ala Gln Met Glu Ile Trp Trp  
435 440 445

<210> 50  
 <211> 1845  
 <212> ДНК  
 <213> Escherichia coli, штам К-12, субштам W3110

<220>  
 <221> ген  
 <222> (1)..(1845)  
 <223> btuB

<400> 50  
 atgattaaaa aagcttcgct gctgacggcg tgtccgtca cggcatttc cgcttgggca 60  
 caggatacca gcccggtac tctcgtcgtt actgctaacc gtttgaaca gccgcgcagc 120  
 actgtgcttg caccaaccac cgtgtgacc cgtcaggata tcgaccgctg gcagtcgacc 180  
 tcggtcaatg atgtgctgcg ccgtcttcg ggcgtcgata tcacccaaaa cggcgggtca 240  
 ggtcagctct catctatctt tattcgcggt acaaatgccg gtcattgtgt ggtgttaatt 300  
 gatggcgtag gcctgaatct ggccgggggtg agtgggtctg ccgaccttag ccagttccct 360  
 attgcgcttg tccagcgtgt tgaatatatc cgtgggccgc gctccgctgt ttatggttcc 420  
 gatgcaatag gcgggggtgt gaatatcatc acgacgcgcg atgaaccggg aacggaaatt 480  
 tcagcagggt ggggaagcaa tagttatcag aactatgatg tctctacgca gcaacaactg 540  
 ggggataaga cacgggtaac gctgttgggc gattatgccc atactcatgg ttatgatgtt 600

gttgccatg gtaataccgg aacgcaagcg cagacagata acgatgggtt ttaagtaaa 660

acgcttatg gcgcgctgga gcataacttt actgatgcct ggagcggctt tgtgcgcggc 720

tatggctatg ataaccgtac caattatgac gcgtattatt ctcccggttc accgttgctc 780

gatacccgta aactctatag ccaaagtgg gacgccgggc tgcgtataa cggcgaactg 840

attaaatcac aactcattac cagctatagc catagcaaag attacaacta cgatcccat 900

tatggctgtt atgattcgtc ggcgacgctc gatgagatga agcaatacac cgtccagtgg 960

gcaaacaatg tcatcgttgg tcacggtagt attggtgcgg gtgtcgactg gcagaaacag 1020

actacgacgc cgggtacagg ttatgttgag gatggatatg atcaacgtaa taccggcatc 1080

tatctgaccg ggctgcaaca agtcggcgat ttacctttg aaggcgcagc acgcagtgac 1140

gataactcac agtttggtcg tcatggaacc tggcaaacca gcgccggtg ggaattcatc 1200

gaaggttatc gcttcattgc ttctacggg acatcttata aggcacaaaa tctggggcaa 1260

ctgtatggct tctacgaaa tccgaatctg gacccggaga aaagcaaaca gtgggaaggc 1320

gcgtttgaag gcttaaccgc tggggtgaac tggcgtatct ccggatatcg taacgatgct 1380

agtgacttga tcgattatga tgatcacacc ctgaaatatt acaacgaagg gaaagcgcgg 1440

attaagggcg tcgaggcgac cgccaatttt gataccggac cactgacgca tactgtgagt 1500

tatgattatg tcgatgcgcg caatgcgatt accgacacgc cgttggttac ccgtgctaaa 1560

cagcaggatg aataccagct cgactggcag ttgtatgact tcgactgggg tattacttat 1620

cagtatttag gcactcgcta tgataaggat tactcatctt atccttatca aaccgttaaa 1680

atgggcgggtg tgagcttgtg ggatcttgcg gttgcgtatc cggtcacctc tcacctgaca 1740

gttcgtggta aaatagccaa cctgttcgac aaagattatg agacagtcta tggctacca 1800

actgcaggac gggaatacac cttgtctggc agctacacct tctga 1845

<210> 51

<211> 614

<212> БЛОК

<213> Escherichia coli, штам К-12, субштам W3110

<400> 51

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

1 5 10 15

Ser Ala Trp Ala Gln Asp Thr Ser Pro Asp Thr Leu Val Val Thr Ala

20 25 30

Asn Arg Phe Glu Gln Pro Arg Ser Thr Val Leu Ala Pro Thr Thr Val

35 40 45

Val Thr Arg Gln Asp Ile Asp Arg Trp Gln Ser Thr Ser Val Asn Asp

50 55 60

Val Leu Arg Arg Leu Pro Gly Val Asp Ile Thr Gln Asn Gly Gly Ser

65 70 75 80

Gly Gln Leu Ser Ser Ile Phe Ile Arg Gly Thr Asn Ala Ser His Val

85 90 95

Leu Val Leu Ile Asp Gly Val Arg Leu Asn Leu Ala Gly Val Ser Gly  
100 105 110

Ser Ala Asp Leu Ser Gln Phe Pro Ile Ala Leu Val Gln Arg Val Glu  
115 120 125

Tyr Ile Arg Gly Pro Arg Ser Ala Val Tyr Gly Ser Asp Ala Ile Gly  
130 135 140

Gly Val Val Asn Ile Ile Thr Thr Arg Asp Glu Pro Gly Thr Glu Ile  
145 150 155 160

Ser Ala Gly Trp Gly Ser Asn Ser Tyr Gln Asn Tyr Asp Val Ser Thr  
165 170 175

Gln Gln Gln Leu Gly Asp Lys Thr Arg Val Thr Leu Leu Gly Asp Tyr  
180 185 190

Ala His Thr His Gly Tyr Asp Val Val Ala Tyr Gly Asn Thr Gly Thr  
195 200 205

Gln Ala Gln Thr Asp Asn Asp Gly Phe Leu Ser Lys Thr Leu Tyr Gly  
210 215 220

Ala Leu Glu His Asn Phe Thr Asp Ala Trp Ser Gly Phe Val Arg Gly  
225 230 235 240

Tyr Gly Tyr Asp Asn Arg Thr Asn Tyr Asp Ala Tyr Tyr Ser Pro Gly  
245 250 255

Ser Pro Leu Leu Asp Thr Arg Lys Leu Tyr Ser Gln Ser Trp Asp Ala  
260 265 270

Gly Leu Arg Tyr Asn Gly Glu Leu Ile Lys Ser Gln Leu Ile Thr Ser

275	280	285
Tyr Ser His Ser Lys Asp Tyr Asn Tyr Asp Pro His Tyr Gly Arg Tyr		
290	295	300
Asp Ser Ser Ala Thr Leu Asp Glu Met Lys Gln Tyr Thr Val Gln Trp		
305	310	315 320
Ala Asn Asn Val Ile Val Gly His Gly Ser Ile Gly Ala Gly Val Asp		
325	330	335
Trp Gln Lys Gln Thr Thr Thr Pro Gly Thr Gly Tyr Val Glu Asp Gly		
340	345	350
Tyr Asp Gln Arg Asn Thr Gly Ile Tyr Leu Thr Gly Leu Gln Gln Val		
355	360	365
Gly Asp Phe Thr Phe Glu Gly Ala Ala Arg Ser Asp Asp Asn Ser Gln		
370	375	380
Phe Gly Arg His Gly Thr Trp Gln Thr Ser Ala Gly Trp Glu Phe Ile		
385	390	395 400
Glu Gly Tyr Arg Phe Ile Ala Ser Tyr Gly Thr Ser Tyr Lys Ala Pro		
405	410	415
Asn Leu Gly Gln Leu Tyr Gly Phe Tyr Gly Asn Pro Asn Leu Asp Pro		
420	425	430
Glu Lys Ser Lys Gln Trp Glu Gly Ala Phe Glu Gly Leu Thr Ala Gly		
435	440	445
Val Asn Trp Arg Ile Ser Gly Tyr Arg Asn Asp Val Ser Asp Leu Ile		
450	455	460

Asp Tyr Asp Asp His Thr Leu Lys Tyr Tyr Asn Glu Gly Lys Ala Arg  
465 470 475 480

Ile Lys Gly Val Glu Ala Thr Ala Asn Phe Asp Thr Gly Pro Leu Thr  
485 490 495

His Thr Val Ser Tyr Asp Tyr Val Asp Ala Arg Asn Ala Ile Thr Asp  
500 505 510

Thr Pro Leu Leu Arg Arg Ala Lys Gln Gln Val Lys Tyr Gln Leu Asp  
515 520 525

Trp Gln Leu Tyr Asp Phe Asp Trp Gly Ile Thr Tyr Gln Tyr Leu Gly  
530 535 540

Thr Arg Tyr Asp Lys Asp Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Gln Thr Val Lys  
545 550 555 560

Met Gly Gly Val Ser Leu Trp Asp Leu Ala Val Ala Tyr Pro Val Thr  
565 570 575

Ser His Leu Thr Val Arg Gly Lys Ile Ala Asn Leu Phe Asp Lys Asp  
580 585 590

Tyr Glu Thr Val Tyr Gly Tyr Gln Thr Ala Gly Arg Glu Tyr Thr Leu  
595 600 605

Ser Gly Ser Tyr Thr Phe  
610



# ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Рекombінантний мікроорганізм з роду *Escherichia*, що виробляє L-амінокислоту, в якому щонайменше один з NfrA та NfrB є інактивованим.
2. Рекombінантний мікроорганізм за п. 1, де NfrA містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40, а NfrB містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42.
3. Рекombінантний мікроорганізм за п. 1, де щонайменше Tsx і FhuA є додатково інактивованими.
4. Рекombінантний мікроорганізм за п. 3, де Tsx містить амінокислотну послідовність під SEQ ID NO: 45, а FhuA містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47.
5. Рекombінантний мікроорганізм за п. 1, де L-амінокислота являє собою L-треонін або L-триптофан.
6. Рекombінантний мікроорганізм за п. 1, де рекombінантний мікроорганізм являє собою *Escherichia coli*.
7. Спосіб одержання L-амінокислоти, при цьому спосіб включає культивування рекombінантного мікроорганізму за будь-яким із пп. 1-6 і збирання L-амінокислоти з культури.
8. Спосіб за п. 7, де L-амінокислота являє собою L-треонін або L-триптофан.

---

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601