



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0039414

(51)⁸ C12N 15/77; C12P 13/00; C12N 9/10

(13) B

(21) 1-2017-05350

(22) 29/03/2016

(86) PCT/KR2016/003198 29/03/2016

(87) WO2016/208854 29/12/2016

(30) 10-2015-0090021 24/06/2015 KR

(45) 25/04/2024 433

(43) 26/03/2018 360A

(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)

330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, Korea

(72) JUNG, Hee Kyoung (KR); UM, Hye Won (KR); LI, Hong Xian (KR); PARK, Su Jin (KR); YANG, Young Lyeol (KR); LEE, Kyoung Min (KR); LEE, Hyo Hyung (KR).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) VI SINH VẬT BIẾN ĐỔI THUỘC CHỦNG CORYNEBACTERIUM ĐỂ TẠO RA PUTRESXIN HOẶC ORNITHIN VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA PUTRESXIN HOẶC ORNITHIN BẰNG CÁCH SỬ DỤNG VI SINH VẬT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến vi sinh vật tái tổ hợp để tạo ra putresxin hoặc ornithin, và phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin bằng cách sử dụng các vi sinh vật này. Cụ thể, sáng chế đề cập đến vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* có khả năng tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường (*sugar metabolism*: SugR) được làm yếu đi, hoạt tính của xitrat syntaza (GltA) được gia tăng, hoặc cả hai; và phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin bằng cách sử dụng các vi sinh vật này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến vi sinh vật tái tổ hợp để tạo ra putresxin hoặc ornithin, và phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin bằng cách sử dụng các vi sinh vật này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Putresxin được tìm thấy trong vi khuẩn gram âm hoặc nấm và có mặt trong nhiều loài ở nồng độ cao. Nó được mong đợi là đóng một vai trò quan trọng trong cơ chế chuyển hóa của các vi sinh vật. Nhìn chung, putresxin là một vật liệu cơ bản quan trọng để tổng hợp polyamin nylon-4,6 và nó được tạo ra chủ yếu bằng phương pháp tổng hợp hóa học. Phương pháp tổng hợp hóa học là quy trình 3 bước, quy trình này bao gồm phản ứng oxy hóa xúc tác, bước sử dụng hợp chất xyanua, và phản ứng hydro hóa sử dụng hydro áp suất cao. Theo đó, để tạo ra putresxin, việc phát triển phương pháp thân thiện hơn với môi trường bằng cách sử dụng sinh khối để có thể làm giảm tiêu hao năng lượng là cần thiết.

Trong các trường hợp này, về phương pháp tạo ra putresxin bằng cách sử dụng vi sinh vật, phương pháp tạo ra putresxin với năng suất cao bằng cách biến đổi *E. coli* và vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* đã được bộc lộ (Công bố đơn quốc tế số WO 2006/005603; Công bố đơn quốc tế số WO 2009/125924; Qian ZD *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.* 104 (4): 651 - 662, 2009; Schneider *et al.*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 88 (4): 859 - 868, 2010; Schneider *et al.*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 95: 169 - 178, 2012).

Ornithin là chất được tìm thấy rộng rãi ở thực vật, động vật, và vi sinh vật và được sử dụng làm tiền chất trong quá trình sinh tổng hợp arginin, prolin, và polyamin. Ornithin đóng vai trò quan trọng trong con đường bài tiết ure được tạo ra từ các axit amin hoặc amoniac bằng chu trình ornithin trong quá trình chuyển hóa *in vivo* ở các động vật bậc cao. Ornithin còn được sử dụng làm chất bổ sung dinh dưỡng hoặc được chất trong công nghiệp để làm cải thiện bệnh xơ gan và các rối loạn chức năng gan.

Các phương pháp đã biết để tạo ra ornithin bao gồm xử lý casin sữa bằng enzym tiêu hóa được và sử dụng *E. coli* đã được chuyển hóa hoặc vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* (Patent Hàn quốc số 10-1372635; T. Gotoh *et al.*, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 33: 773 - 777, 2010).

SugR, là một chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường (sau đây gọi là SugR), được biết là chất điều hòa phiên mã trong *Corynebacterium*, và do đó đã có báo cáo trước đây cho rằng SugR ức chế gen mã hóa PEP-protein phosphotransferaza của hệ PTS và các gen có liên quan đến quá trình đường phân đường (VF Wendisch, *et al.*, *J. Bacteriol.* 190: 24, 8033 - 8044, 2008). Xitrat syntaza là 1 enzym mà tác động đầu tiên lên chu trình TCA và có thể điều hòa tốc độ của nó. Có một báo cáo ghi nhận rằng, chủng biến đổi của *Corynebacterium* với hoạt tính GltA suy giảm sẽ làm tăng sự hình thành aspartat và lysin (Shiio *et al.*, *Agric Biol Chem.* 46; 101 - 107, 1982).

Các tác giả sáng chế đã khẳng định được rằng, việc thực hiện *sugR*, gen mã hóa SugR, và *gltA*, gen mã hóa xitrat syntaza, sẽ làm cải thiện hiệu quả putresxin hoặc ornithin, nhờ đó hoàn thành sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất vi sinh vật tái tổ hợp mà có thể tạo ra putresxin hoặc ornithin với hiệu suất cao.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin bằng cách sử dụng vi sinh vật nêu trên.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã khẳng định rằng, việc làm gia tăng hoạt tính của xitrat syntaza (sau đây gọi là GltA) đồng thời với việc làm suy yếu hoạt tính SugR ở vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin sẽ làm gia tăng lượng putresxin hoặc ornithin được tạo ra. Do đó, vi sinh vật theo sáng chế có thể được sử dụng rộng rãi để tạo ra putresxin hoặc ornithin ở quy mô công nghiệp, và vi sinh vật có thể được sử dụng rộng rãi làm phương tiện hữu hiệu và đáng mong muốn ở cả khía cạnh kinh tế lẫn môi trường để tạo ra nguyên liệu cơ bản để tạo thành các sản

phẩm polyme khác nhau, trong đó putresxin hoặc ornithin được sử dụng làm nguyên liệu thô.

Các thức thực hiện sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất vi sinh vật biến đổi thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường (SugR) được làm yếu đi so với hoạt tính nội sinh của nó, ii) hoạt tính của xitrat syntaza (GltA) được gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó, hoặc iii) hoạt tính của SugR được làm yếu đi so với hoạt tính nội sinh của nó và hoạt tính của GltA được gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật được biến đổi thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của SugR được làm yếu đi so với hoạt tính nội sinh của nó và hoạt tính của GltA được gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó SugR chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 3.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó GltA chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 5 hoặc SEQ ID NO: 7.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* được chọn từ nhóm bao gồm *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium amoniacgenes*, *Corynebacterium thermoaminogenes*, *Brevibacterium flavum*, và *Brevibacterium lactofermentum*.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của ornithin decarboxylaza (ODC) cũng được đưa vào.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó ODC chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của i) ornithin carbamoyltransferaza (ArgF), ii) chất xuất glutamat, hoặc iii) ornithin carbamoyltransferaza và chất xuất glutamat còn được làm suy yếu so với hoạt tính nội sinh của nó.

Theo phương án làm ví dụ khác nữa, sáng chế cũng đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó ornithin carbamoyltransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9 hoặc SEQ ID NO: 11, và chất xuất glutamat chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 15.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của ít nhất một chất được chọn từ nhóm bao gồm axetyl-gama-glutamyl-phosphat reductaza (ArgC), axetylglutamat syntaza hoặc ornithin axetyltransferaza (ArgJ), axetylglutamat kinaza (ArgB), và axetylornithin aminotransferaza (ArgD) còn được tăng cường so với hoạt tính nội sinh của nó.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó axetyl-gama-glutamyl phosphat reductaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19 hoặc SEQ ID NO: 21, axetylglutamat syntaza hoặc ornithin axetyltransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23 hoặc SEQ ID NO: 25, axetylglutamat kinaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27 hoặc SEQ ID NO: 29, và axetylornithin aminotransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31 hoặc SEQ ID NO: 33.

Theo phương án làm ví dụ khác nữa, sáng chế cũng đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của axetyltransferaza còn được làm suy yếu so với hoạt tính nội sinh của nó.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó axetyltransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35 hoặc SEQ ID NO: 37.

Theo phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của protein chứa

SEQ ID NO: 39 hoặc SEQ ID NO: 41 còn được tăng cường so với hoạt tính nội sinh của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin, phương pháp này bao gồm:

(i) nuôi cấy vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin trong môi trường; và

(ii) thu hồi putresxin hoặc ornithin từ vi sinh vật đã được nuôi cấy hoặc môi trường đã được nuôi cấy in step (i).

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* là *Corynebacterium glutamicum*.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường (SugR) được làm yếu đi so với hoạt tính nội sinh của nó, ii) hoạt tính của xitrat syntaza (GltA) được gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó, hoặc iii) hoạt tính của SugR được làm yếu đi so với hoạt tính nội sinh của nó và hoạt tính của GltA được gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó. Cụ thể là, sáng chế đề cập đến vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường được làm yếu đi so với hoạt tính nội sinh của nó và hoạt tính của xitrat syntaza được gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường (SugR)” là để chỉ enzyme mà chức năng rộng của nó là làm chất ức chế liên quan đến các gen có liên quan đến các khía cạnh khác nhau của cơ chế chuyển hóa đường, như hấp thu đường và hệ phosphotransferaza, thủy phân gluco, quá trình lên men liên quan đến lactat dehydroaza, v.v.. Trong bản mô tả sáng chế này, SugR bao gồm cả hai protein nội sinh và protein ngoại lai cùng với vi sinh vật thuộc chủng

Corynebacterium, và cụ thể là, SugR có nguồn gốc từ vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium*.

Trong bản mô tả sáng chế này, chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ bao gồm cả trình tự axit amin SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 3, hoặc protein bất kỳ bao gồm cả trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường.

Ngoài ra, do trình tự axit amin của protein mã hóa hoạt tính nêu trên có thể khác nhau tùy thuộc vào loài hoặc chủng của vi sinh vật, SugR có thể không bị giới hạn theo nguồn gốc của nó trong bản mô tả sáng chế này, nhưng SugR, ví dụ có thể có nguồn gốc từ vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium*, và cụ thể là, có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum*. Rõ ràng rằng, trình tự axit amin bất kỳ mà có độ tương đồng với các trình tự trên đây và có hoạt tính sinh học gần như giống với hoặc tương ứng với protein có trình tự SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 3 cũng có thể thuộc phạm vi của sáng chế, mặc dù trình tự axit amin có thể có làm khuyết, cải biến, thay thế, hoặc bổ sung, một phần của trình tự này.

Polynucleotit mã hóa chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường theo sáng chế, miễn sao nó có hoạt tính tương tự với hoạt tính của chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường, có thể bao gồm polynucleotit bất kỳ mà mã hóa protein có trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 3, hoặc polynucleotit mà mã hóa protein có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên. Về polynucleotit mã hóa chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường, việc xem xét codon trên cơ sở sự suy biến codon hoặc các dạng được ưu tiên của chúng bằng các sinh vật để biểu thị chất điều hòa, những cải biến khác nhau, có thể được thực hiện dựa trên vùng mã hóa trong phạm vi sáng chế mà không làm thay đổi trình tự axit amin của polypeptit, và

đặc biệt là, polynucleotit có thể bao gồm trình tự polynucleotit là SEQ ID NO: 2 hoặc SEQ ID NO: 4, nhưng không chỉ bị giới hạn ở những cái này.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “xitrat syntaza (GltA)” là để chỉ enzym mà có liên quan đến sự hình thành các chất trung gian sinh tổng hợp trong tế bào khác nhau, và sự hình thành axit purin nucleic đã được khử. GltA được biết là tác động để trung gian gây ra sự ngưng tụ thủy phân giữa axetyl-CoA và oxaloaxetat đối với sự hình thành xitrat. Trong bản mô tả sáng chế này, GltA bao gồm cả hai enzym nội sinh và protein ngoại lai có mặt trong vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium*, và Cụ thể là, GltA có nguồn gốc từ vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium*.

Trong bản mô tả sáng chế này, GltA có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein có trình tự axit amin SEQ ID NO: 5 hoặc SEQ ID NO: 7, hoặc protein bất kỳ bao gồm trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, và có tính chất quan trọng của việc trung gian gây ra sự ngưng tụ thủy phân giữa axetyl-CoA và oxaloaxetat đối với sự hình thành xitrat.

Ngoài ra, do trình tự axit amin của protein thể hiện hoạt tính có thể thay đổi theo loài hoặc chủng của vi sinh vật, GltA có thể có nguồn gốc từ, ví dụ, *Corynebacterium*, và cụ thể là, *Corynebacterium glutamicum*, nhưng nguồn gốc của GltA là không bị giới hạn ở những loại này trong bản mô tả sáng chế này. Rõ ràng rằng, trình tự axit amin bất kỳ mà có độ tương đồng với các trình tự trên đây và có hoạt tính sinh học gần như giống với hoặc tương ứng với protein có trình tự SEQ ID NO: 5 hoặc SEQ ID NO: 7 cũng có thể thuộc phạm vi của sáng chế, mặc dù trình tự axit amin có thể có làm khuyết, cải biến, thay thế, hoặc bổ sung một phần của trình tự này.

Polynucleotit mã hóa GltA theo sáng chế có thể bao gồm polynucleotit mà mã hóa axit amin có trình tự SEQ ID NO: 5 hoặc SEQ ID NO: 7, hoặc polynucleotit mà mã hóa protein có độ tương đồng là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc

cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên. Về polynucleotit mã hóa GltA, việc xem xét codon trên cơ sở sự suy biến codon hoặc các dạng được ưu tiên của chúng bằng các sinh vật để biểu thị GltA, những cải biến khác nhau có thể được thực hiện dựa trên vùng mã hóa trong phạm vi sáng chế mà không làm thay đổi trình tự axit amin polypeptit, và cụ thể là, polynucleotit có thể bao gồm trình tự polynucleotit là SEQ ID NO: 6 hoặc SEQ ID NO: 8, nhưng không chỉ bị giới hạn ở những cái này.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “độ tương đồng” là để chỉ mức độ đồng nhất so với trình tự axit amin đã cho hoặc trình tự polynucleotit và có thể được biểu thị dưới dạng phần trăm. Trong bản mô tả sáng chế này, các trình tự đồng nhất có hoạt tính giống hoặc tương tự với hoạt tính của trình tự axit amin hoặc trình tự polynucleotit đã cho được thể hiện bằng thuật ngữ “% độ tương đồng.” Ví dụ, độ tương đồng có thể được khẳng định bằng cách sử dụng phần mềm tiêu chuẩn để tính toán các thông số (ví dụ, các thông số như, điểm số, độ giống nhau và tính tương tự), đặc biệt là BLAST 2.0, hoặc so sánh các trình tự bằng phép thẩm tách Nam trong các điều kiện lai hóa nghiêm ngặt được xác định, và các điều kiện lai hóa thích hợp được chọn có thể được xác định bằng phương pháp cũng thuộc phạm vi của lĩnh vực kỹ thuật này và đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này (ví dụ, J. Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory press, Cold Spring Harbor, New York, 1989; F.M. Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., New York).

Ngoài ra, polynucleotit mã hóa SugR và xitrat syntaza theo sáng chế có thể được lai hóa trong các điều kiện nghiêm ngặt với trình tự polynucleotit là SEQ ID NO: 2 hoặc 4, hoặc SEQ ID NO: 6 hoặc 8, hoặc đầu dò có nguồn gốc từ các trình tự polynucleotit, tương ứng, và có thể là loại được cải biến mã hóa SugR và xitrat syntaza mà có liên quan đến chức năng hoạt động bình thường. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “các điều kiện nghiêm ngặt” là để chỉ điều kiện mà có thể lai hóa đặc biệt giữa các polynucleotit. Ví dụ, điều kiện lai hóa đặc biệt được mô tả cụ thể trong các tài liệu tham khảo (ví dụ, J. Sambrook *et al.*, *ibid*).

Trong bản mô tả sáng chế này, những nỗ lực được thực hiện để làm suy yếu hoạt tính của SugR, hoặc để làm tăng cường hoạt tính của GltA, hoặc cả làm suy yếu hoạt tính SugR và làm tăng cường hoạt tính GltA một cách đồng thời cho vi sinh vật

thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, và kết quả là, khẳng định rằng, lượng putresxin hoặc ornithin được tạo ra được cải thiện trong tất cả các chủng đã được cải biến.

Cụ thể, vi sinh vật theo sáng chế có thể bao gồm cả vi sinh vật loại hoang dại và vi sinh vật loại cải biến miễn sao chúng có thể tạo ra được putresxin hoặc ornithin. Ví dụ, vi sinh vật có thể thuộc chủng *Escherichia*, chủng *Shigella*, chủng *Citrobacter*, chủng *Salmonella*, chủng *Enterobacter*, chủng *Yersinia*, chủng *Klebsiella*, chủng *Erwinia*, chủng *Corynebacterium*, chủng *Brevibacterium*, chủng *Lactobacillus*, chủng *Selenomanas*, chủng *Vibrio*, chủng *Pseudomonas*, chủng *Streptomyces*, chủng *Arcanobacterium*, và chủng *Alcaligenes*. Cụ thể là, vi sinh vật theo sáng chế có thể thuộc chủng *Corynebacterium*, và cụ thể hơn là, nó có thể được chọn từ nhóm bao gồm *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium amoniacgenes*, *Corynebacterium thermoaminogenes*, *Brevibacterium flavum*, và *Brevibacterium lactofermentum*, và thậm chí cụ thể hơn là, có thể là *Corynebacterium glutamicum*, nhưng không chỉ bị giới hạn ở những chủng này.

Cụ thể là, như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “tạo ra putresxin hoặc ornithin” là để chỉ năng suất putresxin hoặc ornithin được cung cấp bởi vi sinh vật ở dạng chủng gốc mà tạo ra putresxin hoặc ornithin ở trạng thái tự nhiên hoặc không có năng suất putresxin hoặc ornithin.

Ngoài ra, vi sinh vật để tạo ra putresxin hoặc ornithin có thể được cải biến để làm suy yếu hoạt tính của ornithin carbamoyltransferaza (ArgF), mà có liên quan đến việc tổng hợp arginin, và/hoặc hoạt tính của chất xuất glutamat (NCgl1221), là protein có liên quan đến sự bài tiết glutamat, so với hoạt tính nội sinh tương ứng của nó.

Ngoài ra, vi sinh vật có khả năng tạo ra putresxin có thể được cải biến làm suy yếu hoạt tính của axetyltransferaza (NCgl1469), là protein mà axetyl hóa putresxin, so với hoạt tính nội sinh của nó và/hoặc để gây ra hoạt tính của ODC, là protein mà chuyển hóa ornithin thành putresxin.

Cụ thể, việc cải biến việc làm tăng cường hoặc làm suy yếu hoạt tính có thể xảy ra theo quy trình được gọi là chuyển hóa trong bản mô tả sáng chế này. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “biến nạp” là để chỉ quá trình gây ra polynucleotit mã hóa protein cụ thể hoặc vector bao gồm cả trình tự khởi đầu có hoạt tính mạnh hoặc yếu,

v.v., ở tế bào chủ, nhờ đó có thể biểu hiện protein được mã hóa bằng polynucleotit trong tế bào chủ hoặc gây ra cải biến nhiễm sắc thể của tế bào chủ.

Ngoài ra, polynucleotit này bao gồm ADN và ARN mã hoá protein đích. Polynucleotit có thể được cài xen ở dạng bất kỳ miễn là nó có thể được đưa vào tế bào chủ và được biểu hiện trong đó. Ví dụ, polynucleotit này có thể được đưa vào tế bào chủ ở dạng caxet biểu hiện, là cấu trúc di truyền bao gồm tất cả các yếu tố thiết yếu cần thiết cho quá trình tự biểu hiện. Caxet biểu hiện thông thường có thể bao gồm trình tự khởi đầu được liên kết linh hoạt với polynucleotit này, tín hiệu kết thúc phiên mã, miền gắn kết với ribosom, và tín hiệu kết thúc dịch mã, và có thể ở dạng vectơ biểu hiện có khả năng tự sao chép. Ngoài ra, polynucleotit có thể được đưa vào tế bào chủ ở dạng nguyên dạng của nó, và được liên kết linh hoạt với trình tự thiết yếu cho quá trình biểu hiện nó trong tế bào chủ.

Ngoài ra, như được sử dụng ở bản mô tả này, thuật ngữ “được liên kết linh hoạt” dùng để chỉ mối liên hệ chức năng giữa trình tự khởi đầu, mà làm khởi đầu và làm trung gian cho quá trình phiên mã polynucleotit mã hoá protein đích theo sáng chế, và trình tự gen nêu trên.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “vectơ” là để chỉ cấu trúc ADN bất kỳ bao gồm trình tự polynucleotit của polynucleotit mã hoá protein đích, mà được liên kết linh hoạt với trình tự điều hoà thích hợp sao cho protein đích có thể được biểu hiện ở tế bào chủ thích hợp. Trình tự điều hoà này bao gồm trình tự khởi đầu khởi đầu sự phiên mã, trình tự gen điều khiển ngẫu nhiên điều hoà quá trình phiên mã, trình tự mã hoá miền gắn kết với ribosom của ARN thông tin thích hợp, và trình tự điều hoà quá trình phiên mã và dịch mã. Vectơ, sau khi được biến nạp vào tế bào chủ thích hợp, có thể được sao chép hoặc hoạt động ở hệ gen cơ thể chủ bất kỳ, hoặc có thể được hợp nhất vào chính hệ gen của cơ thể chủ.

Vectơ được sử dụng theo sáng chế có thể không bị giới hạn một cách cụ thể miễn là vectơ này có thể sao chép trong tế bào chủ, và vectơ bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng. Ví dụ về vectơ này có thể bao gồm plasmid, cosmit, virus, và thể thực khuẩn tự nhiên hoặc tái tổ hợp. Ví dụ, làm vectơ thể thực khuẩn hoặc vectơ cosmit, *pWE15*, *M13*, *MBL3*, *MBL4*, *IXII*, *ASHII*, *APII*, *t10*, *t11*, *Charon4A*, *Charon21A*, v.v., có thể được sử dụng; và dùng làm plasmid vectơ, vectơ trên cơ sở *pBR*, *pUC*, *pBluescriptII*, *pGEM*, *pTZ*, *pCL*, *pET*, v.v., có thể được sử dụng. Vectơ được sử dụng theo sáng chế có thể không bị giới hạn cụ thể, nhưng vectơ biểu hiện đã biết bất kỳ có thể được sử dụng. Cụ thể, có thể sử dụng các vectơ *pDZ*,

pACYC177, pACYC184, pCL, pECCG117, pUC19, pBR322, pMW118, pCC1BAC, v.v..

Như thế, polynucleotit mã hoá protein đích nội sinh có thể được thay thế bằng polynucleotit được cải biến bằng cách sử dụng vector để cài xen vào nhiễm sắc thể của vi sinh vật. Việc cài xen polynucleotit vào nhiễm sắc thể có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, bằng cách tái tổ hợp tương đồng. Vì vector theo sáng chế có thể được cài xen vào nhiễm sắc thể thông qua hiện tượng tái tổ hợp tương đồng, gen đánh dấu chọn lọc để khẳng định sự cài xen vào nhiễm sắc thể cũng có thể được đưa vào. Gen đánh dấu chọn lọc được dùng để chọn lọc tế bào được biến nạp, tức là để khẳng định xem liệu polynucleotit đích đã được cài xen vào, và các gen đánh dấu tạo ra các kiểu hình có tính chọn lọc như tính kháng thuốc, yêu cầu dinh dưỡng, tính kháng tác nhân gây độc tế bào, và biểu hiện của protein bề mặt có thể được sử dụng, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương án này. Trong các trường hợp trong đó các tác nhân chọn lọc được dùng, chỉ các tế bào biểu hiện gen đánh dấu chọn lọc có thể sống sót hoặc biểu hiện các tính trạng kiểu hình khác, và do đó các tế bào được biến nạp có thể được chọn lọc một cách dễ dàng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “làm tăng hoạt tính” dùng để chỉ không chỉ hiệu quả cao hơn chức năng gốc do sự tăng hoạt tính của chính protein, mà còn cả sự tăng hoạt tính của protein do sự tăng hoạt tính của gen nội sinh, khuếch đại gen nội sinh bởi các yếu tố nội tại hoặc bên ngoài, làm khuyết các yếu tố điều hòa để ức chế sự biểu hiện gen, tăng số lượng bản sao, đưa gen vào từ phía bên ngoài, cải biến trình tự điều hòa biểu hiện, và cụ thể là, tăng hoạt tính enzym do sự thay thế hoặc cải biến gen khởi đầu, và làm đột biến trong phạm vi gen này.

Cụ thể là, trong bản mô tả sáng chế này, việc làm tăng cường hoặc gia tăng hoạt tính có thể được thực hiện bằng cách:

- 1) làm tăng số bản sao của polynucleotit mã hóa enzym,
- 2) cải biến trình tự kiểm soát sự biểu hiện để làm gia tăng sự biểu hiện của polynucleotit,
- 3) cải biến trình tự polynucleotit trên nhiễm sắc thể để làm tăng cường hoạt tính của enzym, và
- 4) cải biến bằng cách tổ hợp các phương pháp trên, nhưng không bị giới hạn ở các phương pháp này.

Việc làm gia tăng số bản sao của polynucleotit (phương pháp 1) có thể được thực hiện ở dạng trong đó polynucleotit được liên kết linh hoạt với vectơ, hoặc bằng cách cài xen polynucleotit vào nhiễm sắc thể của vật chủ, mặc dù phương pháp này không bị giới hạn cụ thể như thế này. Cụ thể là, việc làm gia tăng số bản sao của polynucleotit cùng với nhiễm sắc thể của tế bào chủ có thể được thực hiện bằng cách đưa vectơ mà có thể sao chép và tạo chức năng bất chấp vật chủ và polynucleotit mã hóa protein theo sáng chế được liên kết linh hoạt vào đó; hoặc có thể được thực hiện bằng cách đưa vectơ mà có thể cài xen polynucleotit vào nhiễm sắc thể của vật chủ và polynucleotit được liên kết linh hoạt vào đó, vào vật chủ.

Tiếp theo, việc cải biến trình tự kiểm soát sự biểu hiện để làm gia tăng sự biểu hiện của polynucleotit (phương pháp 2) có thể được thực hiện bằng cách gây ra cải biến lên trình tự polynucleotit nhờ làm khuyết, cài xen, thay thế không bảo toàn, thay thế bảo toàn, hoặc kết hợp của chúng để làm tăng cường thêm hoạt tính của trình tự kiểm soát sự biểu hiện; hoặc bằng cách thay thế trình tự polynucleotit bằng trình tự polynucleotit có hoạt tính mạnh hơn, mặc dù phương pháp không chỉ bị giới hạn cụ thể ở đây. Trình tự polynucleotit này có thể bao gồm gen khởi đầu, gen điều khiển, trình tự mã hoá miền gắn kết với ribosom, và trình tự điều hòa sự kết thúc sự phiên mã và sự dịch mã.

Trình tự khởi đầu ngoại sinh mạnh, thay cho trình tự khởi đầu ban đầu, có thể được nối với vùng ngược dùng của đơn vị biểu hiện polynucleotit. Ví dụ về gen khởi đầu mạnh có thể là gen khởi đầu *CJ7*, gen khởi đầu *lysCP1*, gen khởi đầu *EF-Tu*, gen khởi đầu *groEL*, gen khởi đầu *aceA* hoặc *aceB*, v.v..., và cụ thể hơn là, tỷ lệ biểu hiện có thể được cải thiện bằng cách kết nối linh hoạt với

gen khởi đầu *lysCP1* có nguồn gốc từ *Corynebacterium* (Công bố đơn quốc tế số WO 2009/096689) hoặc gen khởi đầu *CJ7* (Patent Hàn quốc số 0620092 và Công bố đơn quốc tế số WO 2006/065095), nhưng gen khởi đầu mạnh không chỉ bị giới hạn ở những gen này.

Ngoài ra, việc cải biến trình tự polynucleotit trên nhiễm sắc thể (phương pháp 3) có thể được thực hiện bằng cách gây ra cải biến lên trình tự kiểm soát sự biểu hiện nhờ làm khuyết, cài xen, thay thế không bảo toàn, thay thế bảo toàn, hoặc kết hợp của chúng để làm tăng cường thêm hoạt tính của trình tự polynucleotit; hoặc bằng cách

thay thế trình tự polynucleotit bằng trình tự polynucleotit đã được cải thiện có hoạt tính mạnh hơn, mặc dù phương pháp không chỉ bị giới hạn cụ thể ở đây.

Như được sử dụng ở đây, việc “làm suy yếu hoạt tính” có thể được thực hiện bằng cách làm khuyết một phần hoặc toàn bộ polynucleotit mã hóa protein làm suy yếu hoạt tính của protein, bằng cách cải biến trình tự kiểm soát sự biểu hiện để làm giảm sự biểu hiện của polynucleotit, bằng cách cải biến trình tự polynucleotit trên nhiễm sắc thể làm suy yếu hoạt tính của protein, và bằng phương pháp được chọn từ tổ hợp trên.

Cụ thể là, trong bản mô tả sáng chế này, việc làm suy yếu hoạt tính có thể được thực hiện bằng cách:

- 1) làm khuyết một phần hoặc toàn bộ polynucleotit mã hóa protein,
- 2) cải biến trình tự kiểm soát sự biểu hiện để làm giảm sự biểu hiện của polynucleotit,
- 3) cải biến trình tự polynucleotit trên nhiễm sắc thể làm suy yếu hoạt tính của protein, và
- 4) phương pháp được chọn từ tổ hợp trên đây, nhưng phương pháp này không chỉ bị giới hạn ở đó.

Cụ thể là, phương pháp làm khuyết một phần hoặc toàn bộ polynucleotit mã hóa protein có thể được thực hiện bằng cách thay thế polynucleotit mã hóa protein đích nội sinh trong nhiễm sắc thể bằng polynucleotit có làm khuyết một phần trong trình tự polynucleotit hoặc gen đánh dấu bằng cách sử dụng vectơ để xen cài nhiễm sắc thể ở trong vi khuẩn. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “một phần” sẽ có thể biến đổi tùy thuộc vào loại polynucleotit, và đặc biệt là nó có thể dùng để chỉ 1 đến 300, đặc biệt hơn nữa là 1 đến 100, và thậm chí đặc biệt hơn nữa là 1 đến 50.

Ngoài ra, phương pháp cải biến trình tự kiểm soát sự biểu hiện có thể được thực hiện bằng cách gây ra cải biến lên trình tự kiểm soát sự biểu hiện nhờ làm khuyết, cài xen, thay thế không bảo toàn, thay thế bảo toàn trình tự polynucleotit, hoặc kết hợp của chúng để làm suy yếu thêm hoạt tính của trình tự kiểm soát sự biểu hiện, hoặc bằng cách thay thế trình tự polynucleotit bằng trình tự polynucleotit có hoạt tính yếu hơn. Trình tự kiểm soát sự biểu hiện bao gồm gen khởi đầu, trình tự điều khiển, trình

tự mã hoá miền gắn kết với ribosom, và trình tự điều hòa sự kết thúc sự phiên mã và sự dịch mã.

Ngoài ra, phương pháp cải biến trình tự polynucleotit trên nhiễm sắc thể có thể được thực hiện bằng cách gây ra cải biến lên trình tự polynucleotit nhờ làm khuyết, cài xen, thay thế không bảo toàn, thay thế bảo toàn trình tự polynucleotit, hoặc kết hợp của chúng để làm suy yếu thêm hoạt tính của protein, hoặc bằng cách thay thế trình tự polynucleotit bằng trình tự polynucleotit đã được cải thiện có hoạt tính mạnh hơn.

Ngoài ra, phương pháp làm khuyết yếu tố điều hòa mà ức chế sự biểu hiện của polynucleotit của protein có thể được thực hiện bằng cách thay thế polynucleotit cho yếu tố ức chế sự biểu hiện bằng polynucleotit có làm khuyết một phần trong trình tự polynucleotit hoặc gen đánh dấu. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “một phần” có thể biến đổi tùy thuộc vào loại polynucleotit, và ít may đặc biệt là nó có thể dùng để chỉ 1 đến 300, đặc biệt hơn nữa là 1 đến 100, và thậm chí đặc biệt hơn nữa là 1 đến 50

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “hoạt tính nội sinh” là để chỉ trạng thái hoạt tính của enzym trong trạng thái chưa được cải biến, ví dụ, ở trạng thái tự nhiên, được hình thành 1 cách tự nhiên từ vi sinh vật, và thuật ngữ “gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó” là để chỉ trạng thái đã được tăng cường về hoạt tính của protein được hình thành từ vi sinh vật sau khi cải biến, như việc đưa gen có hoạt tính hoặc gia tăng số bản sao của gen tương ứng, làm khuyết yếu tố kiểm soát ức chế của việc biểu hiện gen, hoặc cải biến trình tự kiểm soát sự biểu hiện, ví dụ, sử dụng gen khởi đầu đã được cải tiến, so với hoạt tính có được từ vi sinh vật trước khi thực hiện cải biến.

Vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* theo sáng chế có thể là vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* có khả năng tạo ra putresxin, trong đó hoạt tính của ornithin decarboxylaza (ODC) cũng được đưa vào.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “ornithin decarboxylaza (ODC)” là để chỉ enzym có khả năng tạo ra putresxin bằng cách trung gian gây ra sự khử carboxyl hóa ornithin. Mặc dù vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* không có con đường sinh tổng hợp putresxin, khi ODC được đưa vào từ bên ngoài, putresxin được tổng hợp và giải phóng ngoại bào. Trong bản mô tả sáng chế này, ODC có thể bao gồm trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17, hoặc có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ có độ tương đồng là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn

nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính ODC gần như tương đương.

Ngoài ra, do trình tự axit amin của protein thể hiện hoạt tính có thể thay đổi theo loài hoặc chủng của vi sinh vật, nguồn gốc của ODC là không bị giới hạn trong bản mô tả sáng chế này, và cụ thể là, nó có thể là ODC có nguồn gốc từ *E. coli*. Rõ ràng rằng, trình tự axit amin bất kỳ mà có độ tương đồng với các trình tự trên đây và có hoạt tính sinh học gần như giống với hoặc tương ứng với protein có trình tự SEQ ID NO: 17 cũng có thể thuộc phạm vi của sáng chế, mặc dù trình tự axit amin có thể có làm khuyết, cải biến, thay thế, hoặc bổ sung một phần của trình tự này.

Polynucleotit mã hóa ODC theo sáng chế có thể bao gồm polynucleotit mà mã hóa axit amin có trình tự SEQ ID NO: 17, hoặc polynucleotit mà mã hóa protein có độ tương đồng là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn trình tự axit amin nêu trên. Về polynucleotit mã hóa ODC, việc xem xét codon trên cơ sở sự suy biến codon hoặc các dạng được ưu tiên của chúng bằng các sinh vật để biểu thị protein, những cải biến khác nhau có thể được thực hiện dựa trên vùng mã hóa trong phạm vi sáng chế mà không làm thay đổi trình tự axit amin polypeptit.

Vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* có thể là vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của i) ornithin carbamoyltransferaza (ArgF), ii) chất xuất glutamat (NCgl1221), hoặc iii) ornithin carbamoyltransferaza và chất xuất glutamat bị làm suy yếu thêm so với hoạt tính nội sinh của chúng.

Trong bản mô tả sáng chế này, ornithin carbamoyltransferaza có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 9 hoặc SEQ ID NO: 11, hoặc protein bất kỳ chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu

trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với ornithin carbamoyltransferaza.

Ngoài ra, chất xuất glutamat theo sáng chế có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 15, hoặc protein bất kỳ bao gồm cả trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với chất xuất glutamat.

Ngoài ra, vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* theo sáng chế có thể là vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó ít nhất một hoạt tính được chọn từ nhóm bao gồm axetyl-gama-glutamyl phosphat reductaza (ArgC), axetylglutamat syntaza hoặc ornithin axetyltransferaza (ArgJ), axetylglutamat kinaza (ArgB), và axetylornithin aminotransferaza (ArgD) còn được tăng cường so với hoạt tính nội sinh của chúng.

Trong bản mô tả sáng chế này, axetyl-gama-glutamyl phosphat reductaza có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 19 hoặc SEQ ID NO: 21, hoặc protein bất kỳ chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với axetyl-gama-glutamyl phosphat reductaza.

Ngoài ra, axetylglutamat syntaza hoặc ornithin axetyltransferaza có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 23 hoặc SEQ ID NO: 25, hoặc protein bất kỳ chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với axetylglutamat syntaza hoặc ornithin axetyltransferaza.

Trong bản mô tả sáng chế này, axetylglutamat kinaza có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 27 hoặc SEQ ID NO: 29, hoặc protein bất kỳ chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với axetylglutamat kinaza.

Ngoài ra, trong bản mô tả sáng chế này, axetylornithin aminotransferaza có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 31 hoặc SEQ ID NO: 33, hoặc protein bất kỳ chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với axetylornithin aminotransferaza.

Ngoài ra, vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* theo sáng chế có thể là vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* có khả năng tạo ra putresxin, trong đó hoạt tính của axetyltransferaza (NCgl1469) còn được làm suy yếu so với hoạt tính nội sinh của nó.

Trong bản mô tả sáng chế này, axetyltransferaza có thể bao gồm protein bất kỳ có thể làm biến chuyển nhóm axetyl thành putresxin. Axetyltransferaza có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 35 hoặc SEQ ID NO: 37, hoặc protein bất kỳ chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với axetyltransferaza.

Cuối cùng, vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* theo sáng chế có thể là vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* có khả năng tạo ra putresxin, trong đó hoạt tính của NCgl2522 còn được tăng cường so với hoạt tính nội sinh của nó.

Trong bản mô tả sáng chế này, NCgl2522 là protein đóng vai trò giải phóng putresxin, và có thể bao gồm protein bất kỳ có thể làm biến chuyển nhóm axetyl thành putresxin. Axetyltransferaza có thể bao gồm, mà không giới hạn ở, protein bất kỳ chứa trình tự axit amin SEQ ID NO: 39 hoặc SEQ ID NO: 41, hoặc protein bất kỳ chứa trình tự axit amin có độ tương đồng trình tự là 70% hoặc cao hơn, đặc biệt là 80% hoặc cao hơn, đặc biệt hơn nữa là 90% hoặc cao hơn, thậm chí đặc biệt hơn nữa là 95% hoặc cao hơn, còn thậm chí đặc biệt hơn nữa là 98% hoặc cao hơn, và đặc biệt nhất là 99% hoặc cao hơn so với trình tự axit amin nêu trên, miễn sao protein có hoạt tính gần như giống hoàn toàn với NCgl2522.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin, phương pháp này bao gồm:

- (i) nuôi cấy vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin trong môi trường; và
- (ii) thu hồi putresxin hoặc ornithin từ vi sinh vật đã được nuôi cấy hoặc môi trường nuôi cấy trong bước (i).

Trong bản mô tả sáng chế này, vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* có thể là *Corynebacterium glutamicum*.

Vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin theo sáng chế là giống như được mô tả trên đây.

Trong phương pháp nêu trên, vi sinh vật có thể được nuôi cấy bằng cách nuôi cấy theo mẻ, nuôi cấy liên tục, và nuôi cấy theo mẻ nạp liệu đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, mặc dù chúng không chỉ bị giới hạn ở đây. Cụ thể, về điều kiện nuôi cấy, độ pH = thích hợp (tức là độ pH = tối ưu từ 5 đến 9, đặc biệt là pH = từ 6 đến 8, và đặc biệt nhất là độ pH=6,8) có thể được duy trì bằng cách sử dụng hóa chất bazơ (ví dụ, natri hydroxit, kali hydroxit, hoặc amoniac) hoặc hóa chất axit (ví dụ, axit phosphoric hoặc axit sulfuric), mặc dù nó không chỉ bị giới hạn cụ thể ở đây. Ngoài ra, điều kiện hiếu khí có thể được duy trì bằng cách thêm oxygen hoặc hỗn hợp khí chứa oxy vào môi trường nuôi cấy tế bào. Nhiệt độ nuôi cấy có thể được duy trì ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 45°C, và đặc biệt là ở nhiệt độ từ 25°C đến 40°C, và vi sinh vật có thể được nuôi cấy trong khoảng 10 giờ đến 160 giờ. Putresxin hoặc ornithin được tạo

ra bằng cách nuôi cấy như nêu trên có thể được tiết vào môi trường nuôi cấy hoặc được duy trì cùng với tế bào.

Ngoài ra, trong môi trường nuôi cấy, nguồn cacbon, như đường và hydrat cacbon (ví dụ, glucoza, sucroza, lactoza, fructoza, maltoza, molaza, tinh bột, và xenluloza), dầu và chất béo (ví dụ, dầu đậu nành, dầu hạt hướng dương, dầu lạc, và dầu dừa), axit béo (ví dụ, axit palmitic, axit stearic, và axit linoleic), rượu (ví dụ, glyxerol và etanol), và axit hữu cơ (ví dụ, axit axetic), có thể là được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp, nhưng không chỉ bị giới hạn ở đó; nguồn nitơ, như hợp chất hữu cơ chứa nitơ (ví dụ, pepton, dịch chiết nấm men, dịch chiết thịt, dịch chiết mal, dịch ngâm ngô, bột đậu nành, và ure), hoặc các hợp chất vô cơ (ví dụ, amoni sulfat, amoni clorua, amoni phosphat, amoni cacbonat, và amoni nitrat), có thể là được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp, nhưng không chỉ bị giới hạn ở đó; và kali sources, như kali dihydro phosphat, dikali hydro phosphat, hoặc muối chứa natri tương ứng với nó, có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp, nhưng không chỉ bị giới hạn ở đó. Ngoài ra, các chất kích thích tăng trưởng cần thiết khác bao gồm cả các muối kim loại (ví dụ, magie sulfat hoặc sắt sulfat), axit amin, và vitamin cũng có thể được chứa trong môi trường này.

Phương pháp thu hồi putresxin hoặc ornithin được tạo ra trong quá trình nuôi cấy theo sáng chế có thể được thực hiện bằng phương pháp nuôi cấy thích hợp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, nuôi cấy theo mẻ, nuôi cấy liên tục, hoặc nuôi cấy theo mẻ nạp liệu, và nhờ đó chất đích có thể được thu hồi từ môi trường nuôi cấy này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết bằng cách thực hiện các phương án làm ví dụ. Tuy nhiên, các phương án làm ví dụ được bộc lộ ở đây chỉ nhằm mục đích minh họa cho sáng chế và không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Điều chế chủng đã được làm suy yếu gen *sugR* từ các chủng có khả năng tạo ra putresxin

Tác giả sáng chế đã khẳng định được tác dụng của việc làm yếu *sugR*, là gen mã hóa SugR, trong chủng có khả năng tạo ra putresxin.

1-1. Điều chế chủng đã được làm suy yếu gen *sugR* từ chủng trên cơ sở ATCC13032 có khả năng tạo ra putresxin

Để khẳng định liệu việc làm suy yếu gen *sugR* có liên quan đến khả năng tạo ra putresxin trong chủng *Corynebacterium glutamicum* trên cơ sở ATCC13032 có khả năng tạo ra putresxin (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn Quốc số 10-2013-0082478) hay không, chủng đã được làm suy yếu *sugR* được chuẩn bị. Cụ thể là, chủng đã được làm suy yếu *sugR* được chuẩn bị bằng cách thay đổi codon khởi đầu của gen *SugR* và thay thế trình tự khởi đầu bằng trình tự khởi đầu được làm suy yếu B6 (Patek M (2005) *Regulation of gene expression*. In: Eggeling L, Bott M (eds) *Handbook of Corynebacterium glutamicum*. CRC, BocaRaton).

Trước hết, vector để thay đổi codon khởi đầu của gen *SugR* được chuẩn bị. Về quan hệ không gian của trình tự polynucleotit là gen mã hóa *SugR* được mô tả bằng SEQ ID NO: 2, các cặp đoạn môi của SEQ ID NOS: 43 và 44 để thu được đoạn tái tổ hợp tương đồng ngược dòng với codon khởi đầu của gen *SugR* và các cặp đoạn môi của SEQ ID NOS: 45, 46 và 47 để thu được đoạn tái tổ hợp tương đồng xuôi dòng với codon khởi đầu của gen *SugR* được chuẩn bị. Đoạn môi được sử dụng để thay đổi codon khởi đầu được tóm tắt trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1

Đoạn môi	Trình tự (5' -> 3')
<i>sugR</i> F1_ SalI (SEQ ID NO: 43)	CTTGCATGCCTGCAGGTCGACAGGATTCATC TGGCATCTGGC
<i>sugR</i> -R1 (SEQ ID NO: 44)	GTCACCTCCTTAAAGCAAAAAGCC
<i>sugR</i> -F2_GTG (SEQ ID NO: 45)	TTTTTGCTTTAAGGAGTGACGTGTACGCAGA GGAGCGCCGTC
<i>sugR</i> -F2_TTG (SEQ ID NO: 46)	TTTTTGCTTTAAGGAGTGACTTGTACGCAGA GGAGCGCCGTC
<i>sugR</i> -R2_BamHI (SEQ ID NO: 47)	CGAGCTCGGTACCCGGGGATCCGCGAGAGT ACGAAGCGCAGT

PCR được thực hiện bằng cách sử dụng ADN hệ gen của *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 làm mẫu cùng với 2 cặp đoạn mồi, một cách tương ứng, để khuếch đại vùng ngược dòng và vùng xuôi dòng của codon khởi đầu của gen *sugR*, một cách tương ứng, và các chất tạo thành được đưa vào điện di để thu được các đoạn mong muốn. Cụ thể, PCR được thực hiện bằng 30 chu trình làm biến tính ở 95°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây, và giãn nở ở 72°C trong 30 giây. Các đoạn vừa thu được được đưa vào điện di trong 0,8% agarosa gel, và các dải có kích cỡ mong muốn được rửa giải và tinh chế.

Vector pDZ (Patent Hàn quốc số 10-0924065) được xử lý bằng *Bam*HI và *Sal*I và tiếp theo sản phẩm PCR của chủng ATCC13032 được đưa vào tách dòng nóng chảy. Bước tách dòng nóng chảy được thực hiện bằng cách sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion® HD (Clontech). Như thế, plasmid *pDZ-1'sugR(GTG)* và *pDZ-1'sugR(TTG)* được điều chế.

Trong trường hợp của vector để thay thế trong trình tự khởi đầu được làm suy yếu B6, SEQ ID NO: 48 đối với việc điều chế vector được chuẩn bị như được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

Đoạn mồi	Trình tự (5' -> 3')
<i>sugR</i> F3 (SEQ ID NO: 48)	TTTTTGCTTTAAGGAGTGACGAAGGCAACCATG AACTCTAATGTACGCAGAGGAGCGCCGTC

PCR được thực hiện bằng cách sử dụng các cặp đoạn mồi của SEQ ID NOS: 43 và 44 để thu được đoạn tái tổ hợp tương đồng ngược dòng với codon khởi đầu của gen *SugR* và các cặp đoạn mồi của SEQ ID NOS: 48 và 47 để thu được đoạn tái tổ hợp tương đồng xuôi dòng với codon khởi đầu của gen *SugR*, mà được điều chế về quan hệ không gian của trình tự polynucleotit là gen mã hóa *SugR* được mô tả bằng trình tự SEQ ID NO: 2, và vùng ngược dòng và vùng xuôi dòng của codon khởi đầu của gen *sugR* được khuếch đại, một cách tương ứng, và các chất tạo thành được đưa vào điện di để thu được các đoạn mong muốn. Các đoạn vừa thu được được đưa vào điện di ở nồng độ 0,8% agarosa gel, và các dải có kích cỡ mong muốn được rửa giải và tinh chế. Vector pDZ được xử lý bằng *Bam*HI và *Sal*I và tiếp theo sản phẩm PCR của

chủng ATCC13032 được đưa vào tách dòng nóng chảy. Bước tách dòng nóng chảy được thực hiện bằng cách sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion® HD (Clontech). Như thế, plasmid *pDZ-1'sugR(B6)* được điều chế.

Plasmid *pDZ-1'sugR(GTG)*, *pDZ-1'sugR(TTG)*, và *pDZ-1'sugR(B6)* được đưa vào vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* KCCM11240P (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn Quốc số 10-2013-0082478) bằng phép điện di để thu được thể biến nạp, và thể biến nạp này được dàn lên đĩa trong môi trường đĩa BHIS (dịch truyền tim Braine 37 g/l, sorbitol 91 g/l, và agar 2%) chứa kanamycin (25 µg/ml) và X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolin-*D*-galactosit) và được nuôi cấy để thu được tập đoàn. Trong số các tập đoàn này, tập đoàn màu xanh được chọn và nhờ đó các chủng được đưa vào cùng với plasmid *pDZ-1'sugR(GTG)*, *pDZ-1'sugR(TTG)*, và *pDZ-1'sugR(B6)* được chọn.

Chủng được chọn được nuôi cấy bằng cách lắc (30°C, 8 giờ) trong môi trường (glucoza 10 g/l, polypepton 10 g/l, dịch chiết nấm men 5 g/l, dịch chiết bò 5 g/l, NaCl 2.5 g/l, ure 2 g/l, pH = 6.8) và được pha loãng theo bậc từ 10^{-4} đến 10^{-10} , dàn lên đĩa trong môi trường rắn chứa X-gal, và được nuôi cấy để tạo thành tập đoàn.

Trong số các tập đoàn vừa được tạo ra, tập đoàn màu trắng mà xuất hiện ở tốc độ chảy tương ứng được chọn và các chủng trong đó codon khởi đầu của *sugR* được thay đổi thành GTG hoặc TTG bằng cách trao đổi chéo thứ cấp hoặc các chủng trong đó gen khởi đầu được thay đổi thành B6 cuối cùng cũng được chọn. Về chủng cuối cùng được chọn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng cặp đoạn mồi của SEQ ID NOS: 43 và 47 và khẳng định rằng codon khởi đầu của *sugR* được thay đổi thành GTG hoặc TTG, hoặc gen khởi đầu được chuyển hóa thành gen khởi đầu được làm suy yếu B6, và chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là KCCM11240P *sugR* (GTG), KCCM11240P *sugR* (TTG), KCCM11240P *sugR* (B6).

1-2. Điều chế chủng đã được làm suy yếu gen *sugR* từ chủng trên cơ sở ATCC13869 có khả năng tạo ra putresxin

DAB12-a ΔNCgl1469 (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn Quốc số 10-2014-0115244), là chủng trên cơ sở *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 có khả năng tạo ra putresxin, được gọi là DAB12-b, và chủng đã được làm suy yếu *sugR* được chuẩn bị trên cơ sở chủng DAB12-b.

Cụ thể là, để khẳng định trình tự của gen mã hóa SugR có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 và protein được biểu hiện từ đó, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng ADN hệ gen của *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 làm mẫu cùng với cặp đoạn mồi của SEQ ID NO: 43 và SEQ ID NO: 49.

Bảng 3

Đoạn mồi	Trình tự (5' -> 3')
sugR R (SEQ ID NO: 49)	GGACTTGCAGTGACTGTAAGAA

Cụ thể, PCR được thực hiện bằng 30 chu trình làm biến tính ở 95°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây, và giãn nở ở 72°C trong 1 phút và 30 giây.

Sản phẩm PCR vừa thu được được tách ra bằng cách điện di và được đưa vào phân tích trình tự, và kết quả là, nó được khẳng định rằng gen mã hóa SugR có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 bao gồm trình tự polynucleotit được mô tả bằng SEQ ID NO: 4. Việc so sánh trình tự protein đã được mã hóa từ đó và trình tự axit amin SugR có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 (SEQ ID NO: 1) cho thấy rằng độ tương đồng của nó là 99%.

Để làm thay đổi codon khởi đầu của *sugR* có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 và thay thế gen khởi đầu được làm suy yếu B6, PCR được thực hiện như trong Ví dụ 1-1 bằng cách sử dụng ADN hệ gen của *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 làm mẫu cùng với đoạn mồi được mô tả trong các Bảng 1 và 2 trên đây, và các đoạn PCR của vùng ngược dòng và vùng xuôi dòng của codon khởi đầu của *sugR* được khuếch đại, một cách tương ứng, và tiếp theo được đưa vào điện di để thu được các đoạn mong muốn. Cụ thể, PCR được thực hiện bằng 30 chu trình làm biến tính ở 95°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây, và giãn nở ở 72°C trong 30 giây. Các đoạn vừa thu được được đưa vào điện di ở dạng 0,8% agarose gel, và các dải có kích cỡ mong muốn được rửa giải và tinh chế.

Vector pDZ được xử lý bằng bằng *Bam*HI và *Sal*I và tiếp theo sản phẩm PCR của chủng ATCC13032 được đưa vào tách dòng nóng chảy. Bước tách dòng nóng chảy được thực hiện bằng cách sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion® HD (Clontech).

Như thế, plasmid *pDZ-2'sugR(GTG)*, *pDZ-2'sugR(TTG)*, và *pDZ-2'sugR(B6)* được điều chế.

Plasmid *pDZ-2'sugR(GTG)*, *pDZ-2'sugR(TTG)*, và *pDZ-2'sugR(B6)* được chuyển hóa thành *Corynebacterium glutamicum* DAB12-b theo cách giống như trong Ví dụ 1-1, và các chủng trong đó codon khởi đầu của *sugR* được làm thay đổi và/hoặc gen khởi đầu được chuyển hóa thành gen khởi đầu được làm suy yếu B6 được chọn. Các chủng đã được cải biến vừa được chọn của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là DAB12-b *sugR(GTG)*, DAB12-b *sugR(TTG)*, và DAB12-b *sugR(B6)*, một cách tương ứng.

Ví dụ 2: Điều chế chủng đã được tăng cường *gltA* từ chủng có khả năng tạo ra putresxin

Để khẳng định tác dụng của việc làm tăng cường hoạt tính của *gltA*, mà là xitrat syntaza, trong chủng có khả năng tạo ra putresxin, chủng đã được cải biến được điều chế trong đó gen *gltA* được đưa vào transposon cùng với nhiễm sắc thể của chủng có khả năng tạo ra putresxin. Vector pDZTn (Công bố đơn quốc tế số WO 2009/125992) để biến nạp, có thể đưa một gen vào nhiễm sắc thể, và vùng gen transposon của vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* được sử dụng.

2-1. Điều chế chủng đã được tăng cường *gltA* từ chủng trên cơ sở ATCC13032 có khả năng tạo ra putresxin

Các đoạn của gen *gltA* được khuếch đại bằng cách sử dụng ADN hệ gen của *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 làm mẫu cùng với đoạn môi của SEQ ID NOS: 50 và 51 (Bảng 4). Cụ thể, PCR được thực hiện bằng 30 chu trình làm biến tính ở 95°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây, và giãn nở ở 72°C trong 30 giây hoặc 1 phút và 30 giây. Các đoạn vừa thu được được đưa vào điện di ở dạng 0,8% agarose gel, và các dải có kích cỡ mong muốn được rửa giải và tinh chế.

Vector pDZTn được xử lý bằng bằng *SpeI* và tiếp theo sản phẩm PCR được đưa vào tách dòng nóng chảy, một cách tương ứng. Bước tách dòng nóng chảy được thực hiện bằng cách sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion® HD (Clontech). Plasmid vừa thu được được gọi là *pDZTn1'-gltA*.

Bảng 4

Đoạn môi	Trình tự (5' -> 3')
gltA F_speI (SEQ ID NO: 50)	GAAGGAATGAGTTCCTCGAGACTAGTACTCGGCAC CCATCCTTGTC
gltA R_speI (SEQ ID NO: 51)	GTTATTAGATGTCGGGCCCCACTAGTGTGCTGTACA TGCTCCTTGAAAATC

Plasmid vừa được điều chế được đưa vào chủng KCCM11240P bằng cách điện di để thu được thể biến nạp, và thể biến nạp được nuôi cấy bằng cách lắc (30°C, 8 giờ) trong môi trường (glucoza 10 g/l, polypepton 10 g/l, dịch chiết nấm men 5 g/l, dịch chiết bò 5 g/l, NaCl 2.5 g/l, ure 2 g/l, pH = 6.8), được pha loãng theo bậc từ 10^{-4} đến 10^{-10} , dàn lên đĩa trong môi trường rắn chứa X-gal, và được nuôi cấy để tạo thành tập đoàn.

Trong số các tập đoàn vừa được tạo ra, tập đoàn màu trắng mà xuất hiện ở tốc độ chảy tương ứng được chọn và chủng trong đó gen mã hóa gltA được đưa vào bằng cách trao đổi chéo thứ cấp cuối cùng được chọn. Về chủng được chọn sau cùng này, khẳng định rằng PCR được thực hiện bằng cách sử dụng cặp đoạn môi của SEQ ID NOS: 50 và 51 và gen mã hóa gltA được đưa vào trong đó, và chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là KCCM11240P Tn::gltA.

2-2. Điều chế chủng đã được tăng cường gltA từ chủng trên cơ sở ATCC13869 có khả năng tạo ra putresxin

Về chủng DAB12-b được sử dụng trong Ví dụ 1-2, chủng đã được tăng cường gltA được chuẩn bị.

Cụ thể là, để khẳng định trình tự của gen mã hóa gltA có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 và protein được biểu hiện từ đó, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng ADN hệ gen của *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 làm mẫu cùng với cặp đoạn môi của SEQ ID NO: 50 và SEQ ID NO: 51.

Cụ thể, PCR được thực hiện bằng 30 chu trình làm biến tính ở 95°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây, và giãn nở ở 72°C trong 1 phút và 30 giây. Sản phẩm PCR vừa thu được được tách ra bằng cách điện di và được đưa vào phân tích trình tự,

và kết quả là, khẳng định rằng gen mã hóa *gltA* có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 bao gồm trình tự polynucleotit được mô tả bằng SEQ ID NO: 8. Việc so sánh trình tự protein đã được mã hóa từ đó và trình tự axit amin *GltA* có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 (SEQ ID NO: 5) cho thấy rằng độ tương đồng của nó là 99%.

Để làm tăng cường *GltA* có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869, PCR được thực hiện như trong Ví dụ 2-1 bằng cách sử dụng ADN hệ gen của *Corynebacterium glutamicum* ATCC13869 làm mẫu cùng với đoạn môi của SEQ ID NOS: 50 và 51 để khuếch đại các đoạn của gen. Cụ thể, PCR được thực hiện bằng 30 chu trình làm biến tính ở 95°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây, và giãn nở ở 72°C trong 30 giây hoặc 1 phút và 30 giây. Các đoạn PCR vừa thu được được đưa vào điện di ở dạng 0,8% agarose gel, và các dải có kích cỡ mong muốn được rửa giải và tinh chế.

Vector *pDZTn* được xử lý bằng *SpeI* và tiếp theo sản phẩm PCR được đưa vào tách dòng nấu chảy, một cách tương ứng. Bước tách dòng nóng chảy được thực hiện bằng cách sử dụng bộ kit tách dòng In-Fusion® HD (Clontech). Plasmid vừa thu được được gọi là *pDZTn2'-gltA*. Plasmid *pDZTn2'-gltA* được biến nạp thành chủng *Corynebacterium glutamicum* DAB12-b theo cách giống như trong Ví dụ 2-1 và nhờ đó chủng trong đó *gltA* được làm tăng cường sẽ được lựa chọn. Chủng đã được cải biến vừa được lựa chọn của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là *DAB12-b Tn:gltA*.

Ví dụ 3: Điều chế chủng có khả năng tạo ra putresxin với sự liên hợp làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA* và khẳng định khả năng tạo ra putresxin cc các chủng này

Để khẳng định việc cải thiện khả năng tạo ra putresxin của chủng đã được làm suy yếu *sugRs* được điều chế trong các Ví dụ 1-1 và 1-2 bằng cách xen cài gen *gltA*, gen *gltA* được đưa vào gen transposon. Cụ thể, vector *pDZTn1'-gltA* và *pDZTn2'-gltA* được điều chế trong các Ví dụ 2-1 và 2-2 được sử dụng.

Cụ thể là, plasmid *pDZTn1'-gltA* được biến nạp thành *Corynebacterium glutamicum* KCCM11240P *sugR*(GTG), -KCCM11240P *sugR*(TTG), và -KCCM11240P *sugR*(B6) theo cách giống như trong Ví dụ 2-1 để điều chế chủng được tăng cường *gltA*. Chủng được cải biến vừa điều chế được của *Corynebacterium*

glutamicum được gọi là KCCM11240P sugR(GTG) Tn::gltA, KCCM11240P sugR(TTG) Tn::gltA, và KCCM11240P sugR(B6) Tn::gltA, một cách tương ứng, và trong số này, KCCM11240P sugR(TTG) Tn::gltA (*Corynebacterium glutamicum* CC01-1147) được lắng theo Trung tâm nuôi cấy vi sinh vật Hàn quốc (Korean Culture Center of Microorganisms: KCCM) vào 28.11.2014, theo số KCCM11615P.

Ngoài ra, plasmid *pDZTn2'-gltA* được biến nạp thành *Corynebacterium glutamicum* *DAB12-b sugR(GTG)*, *-DAB12-b sugR(TTG)*, và *-DAB12-b sugR(B6)* theo cách giống như trong Ví dụ 2-2 để điều chế chủng được tăng cường *gltA*. Chủng được cải biến vừa điều chế được của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là *DAB12-b sugR(GTG) Tn::gltA*, *DAB12-b sugR(TTG) Tn::gltA*, và *DAB12-b sugR(B6) Tn::gltA*, một cách tương ứng.

Ví dụ 4: Đánh giá khả năng tạo ra putresxin cc chủng có khả năng tạo ra putresxin kết hợp tích hợp làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA*

Để khẳng định tác dụng làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA* ở chủng có khả năng tạo ra putresxin lên sự hình thành putresxin, khả năng tạo ra putresxin được so sánh trong số các chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* có khả năng tạo ra putresxin được điều chế trong các Ví dụ 1, 2, và 3,

Cụ thể là, 6 loại khác nhau của chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum*, tức là, (KCCM11240P sugR (GTG) Tn::gltA/ KCCM11240P sugR (TTG) Tn::gltA/ KCCM11240P sugR (B6) Tn::gltA/ DAB12-b sugR (GTG) Tn::gltA/ DAB12-b sugR (TTG) Tn::gltA, và DAB12-b sugR (B6) Tn::gltA)), và 2 loại khác nhau của chủng gốc (tức là, KCCM11240P và DAB12-b) được dàn trên đĩa một cách tương ứng lên môi trường đĩa CM chứa arginin 1mM (1% glucoza, 1% polypepton, 0,5% dịch chiết nấm men, 0,5% dịch chiết bò, 0,25% NaCl, 0,2% ure, 100 µl of 50% NaOH, 2% aga, pH = 6,8, trên cơ sở 1 lít), và được nuôi cấy ở 30°C trong 24 giờ.

Mỗi chủng được nuôi cấy từ đó với lượng khoảng 1 vòng platin được nuôi cấy trong 25ml môi trường chuẩn độ (8% glucoza, 0,25% protein đậu nành, 0,50% chất rắn chiết ngô, 4% (NH₄)₂SO₄, 0,1% KH₂PO₄, 0,05% MgSO₄·7H₂O, 0,15% ure, biotin 100 g, thiamin HCl 3mg, axit canxi-pantothenic 3mg, nicotinamit 3mg, 5% CaCO₃ , trên cơ sở 1 lít), và được nuôi cấy bằng cách lắc ở 30°C ở tốc độ 200 vòng/phút trong 50 giờ.

Trong tất cả những lần nuôi cấy chủng, 1mM arginin được thêm vào môi trường. Sau khi hoàn thành việc nuôi cấy, nồng độ của putresxin được tạo ra trong mỗi lần nuôi cấy được đo và kết quả được thể hiện trong Bảng 5 dưới đây.

Bảng 5

Chủng	Putresxin (g/l)	Năng suất (g/l/h)	Giá trị (%)
KCCM11240P	5,8	0,116	100
KCCM11240P sugR (TTG)	6,3	0,126	109
KCCM11240P sugR (GTG)	6,3	0,126	109
KCCM11240P sugR (B6)	6,0	0,120	103
KCCM11240P Tn::gltA	6,2	0,124	107
KCCM11240P sugR (TTG) Tn::gltA	6,8	0,136	117
KCCM11240P sugR (GTG) Tn::gltA	6,5	0,130	112
KCCM11240P sugR (B6) Tn::gltA	6,3	0,126	109
DAB12-b	6,5	0,129	100
DAB12-b sugR (TTG)	6,9	0,138	107
DAB12-b sugR (GTG)	6,8	0,136	105
DAB12-b sugR (B6)	6,7	0,134	104
DAB12-b Tn::gltA	7,0	0,140	109
DAB12-b sugR (TTG) Tn::gltA	7,3	0,146	113
DAB12-b sugR (GTG) Tn::gltA	7,1	0,142	110
DAB12-b sugR (B6) Tn::gltA	7,1	0,142	110

Như được thể hiện trong Bảng 5 trên đây, chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* với sugR đã được làm suy yếu hoặc gltA đã được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về khả năng tạo ra putresxin so với chủng không được cải biến, KCCM11240P, từ 3% đến 9%, và ngoài ra, chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* đồng thời với sugR đã được làm suy yếu và gltA đã

được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về khả năng tạo ra putresxin từ 9% ds 17%.

Ngoài ra, chủng đã được cải biến của chủng DAB12-b với *sugR* đã được làm suy yếu hoặc *gltA* đã được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về khả năng tạo ra putresxin so với chủng không được cải biến, từ 4% đến 9% và ngoài ra, chủng đã được cải biến của chủng DAB12-b đồng thời với *sugR* đã được làm suy yếu và *gltA* đã được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về khả năng tạo ra putresxin từ 10% đến 13%.

Ví dụ 5: Điều chế chủng với khả năng gia tăng của việc tiết putresxin trên cơ sở chủng có khả năng tạo ra putresxin kết hợp với sự tiếp hợp làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA* và khẳng định khả năng tạo ra putresxin của các chủng

5-1. Điều chế chủng với khả năng gia tăng của việc tiết putresxin trên cơ sở chủng kết hợp với sự tiếp hợp làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA*

Để khẳng định liệu chủng KCCM11401P với khả năng gia tăng của việc tiết putresxin (Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn Quốc số 10-2014-0115244) có thể làm cải thiện khả năng tạo ra putresxin bằng cách làm suy yếu gen hoạt tính của *gen sugR* và làm tăng cường hoạt tính của *gen gltA* hay không, chủng cải biến được điều chế.

Cụ thể là, trước hết, plasmid *pDZ-1'sugR(GTG)*, *pDZ-1'sugR(TTG)*, và *pDZ-1'sugR(B6)* được điều chế trong Ví dụ 1-1 được chuyển hóa thành *Corynebacterium glutamicum* KCCM 11401P, và các chủng trong đó codon khởi đầu của *sugR* được chuyển hóa thành TTG vừa được tạo thành khi làm suy yếu *sugR* được chọn từ đó. Các chủng đã được cải biến vừa được chọn của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là KCCM11401P *sugR(GTG)*, KCCM11401P *sugR(TTG)*, và KCCM11401P *sugR(B6)*, một cách tương ứng.

Tiếp theo, để khẳng định liệu khả năng tạo ra putresxin có thể được làm cải thiện bằng cách làm tăng cường hoạt tính của *gen gltA* hay không, gen *gltA* được đưa vào gen transposon của các chủng với gen *sugR* đã được làm suy yếu được điều chế như trên. Cụ thể, vectơ *pDZTn1'-gltA* được điều chế trong Ví dụ 2-1 được sử dụng.

Cụ thể là, plasmid *pDZTn1'-gltA* được điều chế trong Ví dụ 2-1 được biến nạp thành KCCM11401P *sugR(GTG)*, KCCM11401P *sugR(TTG)*, và KCCM11401P *sugR(B6)*, và chủng được tăng cường *gltA* được chọn. Các chủng đã được cải biến vừa

được chọn của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là KCCM11401P sugR(GTG) Tn::gltA, KCCM11401P sugR(TTG) Tn::gltA, và KCCM11401P sugR(B6) Tn::gltA.

5-2. Đánh giá chủng với khả năng gia tăng của việc tiết putresxin trên cơ sở chủng có khả năng tạo ra putresxin kết hợp với sự tiếp hợp làm suy yếu gltA và làm tăng cường gltA về khả năng tạo ra putresxin

Để khẳng định tác dụng làm suy yếu gltA và làm tăng cường gltA ở chủng có khả năng tạo ra putresxin về sự tạo thành putresxin của chúng, khả năng tạo ra putresxin được so sánh trong số chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* được điều chế trong Ví dụ 5-1.

Cụ thể là, 7 loại khác nhau của chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* (tức là, (KCCM11401P sugR(GTG), KCCM11401P sugR(TTG), KCCM11401P sugR(B6), KCCM11401P Tn::gltA, KCCM11401P sugR(GTG) Tn::gltA, KCCM11401P sugR(TTG) Tn::gltA, và KCCM11401P sugR(B6) Tn::gltA) và chủng gốc đơn (KCCM11401P) được dàn tương ứng lên môi trường đĩa CM chứa arginin 1mM (1% glucoza, 1% polypepton, 0,5% dịch chiết nấm men, 0,5% dịch chiết bò, 0,25% NaCl, 0,2% ure, 100 μ l of 50% NaOH, 2% aga, pH = 6,8, trên cơ sở 1 lít), và được nuôi cấy ở 30°C trong 24 giờ.

Mỗi chủng được nuôi cấy từ đó với lượng khoảng 1 vòng platin được nuôi cấy trong 25ml môi trường chuẩn độ (8% glucoza, 0,25% protein đậu nành, 0,50% chất rắn chiết ngô, 4% (NH₄)₂SO₄, 0,1% KH₂PO₄, 0,05% MgSO₄·7H₂O, 0,15% ure, biotin 100 g, thiamin HCl 3mg, axit canxi-pantothenic 3mg, nicotinamit 3mg, 5% CaCO₃ 1 lít, trên cơ sở 1 lít), và được nuôi cấy bằng cách lắc ở 30°C ở tốc độ 200 vòng/phút trong 50 giờ.

Bảng 6

Chủng	Putresxin (g/l)	Năng suất (g/l/h)	Giá trị (%)
KCCM11401P	5,3	0,106	100
KCCM11401P sugR (TTG)	5,6	0,112	106
KCCM11401P sugR (GTG)	5,5	0,110	104
KCCM11401P sugR (B6)	5,4	0,108	102

KCCM11401P Tn::gltA	5,6	0,112	106
KCCM11401P sugR (TTG) Tn::gltA	6,1	0,122	115
KCCM11401P sugR (GTG) Tn::gltA	5,9	0,118	111
KCCM11401P sugR (B6) Tn::gltA	5,8	0,116	109

Như được thể hiện trong Bảng 6 trên đây, chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* với sugR đã được làm suy yếu hoặc gltA đã được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về khả năng tạo ra putresxin so với chủng không được cải biến, KCCM11401P, từ 2% đến 6%, và ngoài ra, chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* đồng thời với sugR đã được làm suy yếu và gltA đã được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về khả năng tạo ra putresxin từ 9% đến 15% với khả năng tạo ra putresxin. Khẳng định rằng, các kết quả này phù hợp với việc làm sáng tỏ các kết quả của Bảng 5.

Ví dụ 6. Điều chế chủng đã được làm suy yếu sugR từ chủng có khả năng tạo ra ornithin

Để khẳng định liệu việc làm suy yếu gen sugR có nguồn gốc từ *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 có ảnh hưởng đến khả năng tạo ra ornithin, chủng cải biến được điều chế bằng cách sử dụng vector được điều chế trong Ví dụ 1-1.

Plasmid được điều chế trong Ví dụ 1-1, tức là, pDZ-1'sugR(GTG), pDZ-1'sugR(TTG), và pDZ-1'sugR(B6), được đưa vào chủng KCCM11137P (Patent Hàn quốc số 10-1372635), được chuẩn bị bằng cách sử dụng *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 làm chủng gốc, bằng cách điện di để thu được thể biến nạp, và thể biến nạp được dàn lên đĩa trong môi trường đĩa BHIS (dịch truyền tim Braine 37 g/l, sorbitol 91 g/l, và agar 2%) chứa kanamycin (25 µg/ml) và X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolin-D-galactosid) và được nuôi cấy để thu được tập đoàn. Trong số các tập đoàn này, tập đoàn màu xanh được chọn và nhờ đó các chủng được đưa vào cùng với plasmid plasmid pDZ-1'sugR(GTG), pDZ-1'sugR(TTG), và pDZ-1'sugR(B6) được chọn.

Chủng được chọn được nuôi cấy bằng cách lắc (30°C, 8 giờ) trong môi trường (glucoza 10 g/l, polypepton 10 g/l, dịch chiết nấm men 5 g/l, dịch chiết bò 5 g/l, NaCl 2,5 g/l, ure 2 g/l, pH = 6,8) và được pha loãng theo bậc từ 10^{-4} đến 10^{-10} , dàn lên đĩa trong môi trường rắn chứa X-gal, và được nuôi cấy để tạo thành tập đoàn. Trong số các tập đoàn vừa được tạo ra, tập đoàn màu trắng mà xuất hiện ở tốc độ chảy tương ứng được chọn và các chủng, trong đó codon khởi đầu của *sugR* được thay đổi thành GTG hoặc TTG bằng cách trao đổi chéo thứ cấp hoặc các chủng trong đó gen khởi đầu được thay đổi thành B6 cuối cùng cũng được chọn. Về chủng cuối cùng được chọn, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng cặp đoạn mồi của SEQ ID NO: 43 và 47 và tiếp theo khẳng định rằng codon khởi đầu của *sugR* được thay đổi thành GTG hoặc TTG. Các chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là KCCM11137P *sugR*(GTG), KCCM11137P *sugR*(TTG), và KCCM11137P *sugR*(B6), một cách tương ứng.

Ví dụ 7. Điều chế chủng được tăng cường *gltA* từ các chủng có khả năng tạo ra ornithin

Để khẳng định tác dụng của việc làm tăng cường Gen *gltA* trong chủng có khả năng tạo thành ornithin lên sự hình thành ornithin của nó, chủng đã được cải biến được chuẩn bị bằng cách xen cài Gen *gltA* vào nhiễm sắc thể của chủng có khả năng tạo ra ornithin bằng cách sử dụng vector được điều chế trong Ví dụ 2-1.

Cụ thể là, vector được điều chế trong Ví dụ 2-1 được đưa vào chủng KCCM11137P (Patent Hàn quốc số 10-1372635) bằng cách điện di để thu được thể biến nạp, và thể biến nạp được nuôi cấy bằng cách lắc (30°C, 8 giờ) trong môi trường (glucoza 10 g/l, polypepton 10 g/l, dịch chiết nấm men 5 g/l, dịch chiết bò 5 g/l, NaCl 2,5 g/l, ure 2 g/l, pH = 6,8), được pha loãng theo bậc từ 10^{-4} đến 10^{-10} , dàn lên đĩa trong môi trường rắn chứa X-gal, và được nuôi cấy để tạo thành tập đoàn.

Trong số các tập đoàn vừa được tạo ra, tập đoàn màu trắng mà xuất hiện ở tốc độ chảy tương ứng được chọn và chủng trong đó gen mã hóa *gltA* được đưa vào bằng cách trao đổi chéo thứ cấp cuối cùng được chọn. Về chủng được chọn sau cùng này, PCR được thực hiện bằng cách sử dụng cặp đoạn mồi của SEQ ID NOS: 50 và 51 và khẳng định rằng gen mã hóa *gltA* được đưa vào đó, và chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là KCCM11137P Tn::*gltA*.

Ví dụ 8. Điều chế chủng kết hợp tích hợp làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA* và khẳng định khả năng tạo ra putresxin của các chủng

8-1. Điều chế chủng trên cơ sở *ATCC13032s* có khả năng tạo ra ornithin kết hợp tích hợp làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA*

Để khẳng định tác dụng của việc làm tăng cường hoạt tính của năng suất ornithin trong KCCM11137P đã được làm suy yếu *sugR* (*sugR* (GTG), KCCM11137P *sugR* (TTG), và KCCM11137P *sugR* (B6) được điều chế trong Ví dụ 6 bằng cách xen cài gen *gltA* vào nhiễm sắc thể, gen *gltA* được đưa vào gen transposon. Cụ thể, vector *pDZTn1'-gltA* được điều chế trong Ví dụ 2-1 được sử dụng.

Plasmid *pDZTn1'-gltA* được biến nạp thành *Corynebacterium glutamicum* KCCM11137P *sugR* TTG) theo cách giống như trong Ví dụ 2-1 và chủng được tăng cường *gltA* được chọn. Các chủng đã được cải biến vừa được chọn của *Corynebacterium glutamicum* được gọi là KCCM11137P *sugR*(GTG) Tn::*gltA*, KCCM11137P *sugR*(TTG) Tn::*gltA*, và KCCM11137P *sugR*(B6) Tn::*gltA*, một cách tương ứng.

8-2. Đánh giá chủng kết hợp với sự tiếp hợp làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA* lên khả năng tạo ra ornithin

Để khẳng định tác dụng làm suy yếu *gltA* và làm tăng cường *gltA* ở chủng có khả năng tạo thành ornithin về sự tạo thành ornithin của chúng, năng suất ornithin được so sánh trong số chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* được điều chế trong Ví dụ 8-1.

Cụ thể là, 7 loại khác nhau của chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* (tức là, (KCCM11137P *sugR*(GTG), KCCM11137P *sugR*(TTG), KCCM11137P *sugR*(B6), KCCM11137P Tn::*gltA*, KCCM11137P *sugR*(GTG) Tn::*gltA*, KCCM11137P *sugR*(TTG) Tn::*gltA*, và KCCM11137P *sugR*(B6) Tn::*gltA*) và chủng gốc đơn (KCCM11137P) được dàn tương ứng lên môi trường đĩa CM chứa arginin 1mM (1% glucoza, 1% polypepton, 0,5% dịch chiết nấm men, 0,5% dịch chiết bò, 0,25% NaCl, 0,2% ure, 100 µl of 50% NaOH, 2% aga, pH = 6,8, trên cơ sở 1 lít), và được nuôi cấy ở 30°C trong 24 giờ.

Mỗi chủng được nuôi cấy từ đó với lượng khoảng 1 vòng platin được nuôi cấy trong 25ml môi trường chuẩn độ (8% glucoza, 0,25% protein đậu nành, 0,50% chất rắn

chiết ngô, 4% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1% KH_2PO_4 , 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,15% ure, biotin 100 g, thiamin HCl 3mg, axit canxi-pantothenic 3mg, nicotinamit 3mg, 5% CaCO_3 trên cơ sở 1 lít), và được nuôi cấy bằng cách lắc ở 30°C ở tốc độ 200 vòng/phút trong 50 giờ. Trong tất cả những lần nuôi cấy chủng, 1mM arginin được thêm vào môi trường. Sau khi hoàn thành việc nuôi cấy, nồng độ của ornithin được tạo ra trong mỗi lần nuôi cấy được đo và kết quả được thể hiện trong Bảng 7 dưới đây.

Bảng 7

Chủng	Ornithin (g/l)	Năng suất (g/l/h)	Giá trị (%)
KCCM11137P	11,5	0,230	100
KCCM11137P sugR(TTG)	12,5	0,250	109
KCCM11137P sugR(GTG)	12,3	0,246	107
KCCM11137P sugR(B6)	12,5	0,250	109
KCCM11137P Tn::gltA	12,4	0,248	108
KCCM11137P sugR(TTG) Tn::gltA	13,5	0,270	117
KCCM11137P sugR(GTG) Tn::gltA	13	0,260	113
KCCM11137P sugR(B6) Tn::gltA	12,9	0,258	112

Như được thể hiện trong Bảng 7 trên đây, chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* bằng sugR đã được làm suy yếu hoặc gltA đã được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về năng suất ornithin so với chủng không được cải biến, KCCM11137P, từ 7% đến 9%, và ngoài ra, chủng đã được cải biến của *Corynebacterium glutamicum* đồng thời với sugR đã được làm suy yếu và gltA đã được làm tăng cường cho thấy mức gia tăng về năng suất ornithin từ 12% đến 17% về năng suất ornithin.

Chắc chắn là, trong chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, khẳng định rằng sự hình thành putresxin và ornithin có thể được gia tăng bằng cách làm suy yếu sugR hoặc làm tăng cường gltA, và khi gltA được làm tăng cường trong khi làm suy yếu sugR, sự hình thành putresxin và ornithin được gia tăng đáng kể.

Từ phần trên đây, người có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế sẽ có thể hiểu rằng sáng chế có thể được thực hiện ở các dạng cụ thể mà không làm thay đổi

bản chất kỹ thuật hoặc các đặc tính thiết yếu của sáng chế. Về điểm này, các phương án được đưa ra làm ví dụ được bộc lộ trong bản mô tả này chỉ để dùng cho mục đích minh họa và không được xem là giới hạn phạm vi của sáng chế. Thật ra, sáng chế được dự định để bao hàm không chỉ các phương án được đưa ra làm ví dụ mà còn bao gồm các phương án thay thế, các cải biến, tương đương khác nhau và các phương án khác mà có thể được tính đến trong nội dung và phạm vi của sáng chế như được xác định trong yêu cầu bảo hộ kèm theo.



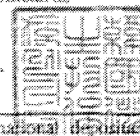
BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

INTERNATIONAL FORM

To, CJ CheilJedang Corporation
CJ CHEILJEDANG CENTER,
330, DONGHO-RO,
JUNG-GU, SEOUL 100-400,
REPUBLIC OF KOREA

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR : <i>Corynebacterium glutamicum</i> CC01-1147	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: KCCM11615P
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I above was accompanied by: ☐ a scientific description ☐ a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable)	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I above, which was received by it on November. 28. 2014. (date of the original deposit) ¹	
IV. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name : Korean Culture Center of Microorganisms Address : Yurim B/D 45, Hongjeonae-2ga-gil Seodaemun-gu SEOUL 120-861 Republic of Korea	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): Date: November. 28. 2014.



¹ Where Rule 5.4(d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired; where a deposit made outside the Budapest Treaty after the acquisition of the status of international depositary authority is converted into a deposit under the Budapest Treaty, such date is the date on which the microorganism was received by the international depositary authority.

Form BP/4

Sole page

한국미생물보존센터

KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS

KOREAN CULTURE CENTER OF MICROORGANISMS

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Vi sinh vật biến đổi thuộc chủng *Corynebacterium* để tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó hoạt tính của chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường (SugR) được làm yếu đi so với hoạt tính nội sinh của nó và hoạt tính của xitrat syntaza (GltA) được gia tăng so với hoạt tính nội sinh của nó.
2. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó chất điều hòa phiên mã của cơ chế chuyển hóa đường chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 1 hoặc SEQ ID NO: 3.
3. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó xitrat syntaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 5 hoặc SEQ ID NO: 7.
4. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* được chọn từ nhóm bao gồm *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium thermoaminogenes*, *Brevibacterium flavum*, và *Brevibacterium lactofermentum*.
5. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó hoạt tính của ornithin decarboxylaza (ODC) cũng được đưa vào.
6. Vi sinh vật theo điểm 5, trong đó ornithin decarboxylaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 17.
7. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó hoạt tính của i) ornithin carbamoyltransferaza (ArgF), ii) chất xuất glutamat, hoặc iii) ornithin carbamoyltransferaza và chất xuất glutamat còn được làm suy yếu so với hoạt tính nội sinh của nó.
8. Vi sinh vật theo điểm 7, trong đó ornithin carbamoyltransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 9 hoặc SEQ ID NO: 11, và chất xuất glutamat chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 13 hoặc SEQ ID NO: 15.
9. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó hoạt tính của ít nhất một chất được chọn từ nhóm bao gồm axetyl-gama-glutamyl-phosphat reductaza (ArgC), axetylglutamat syntaza hoặc ornithin axetyltransferaza (ArgJ), axetylglutamat kinaza (ArgB), và axetylornithin aminotransferaza (ArgD) còn được tăng cường so với hoạt tính nội sinh của nó.
10. Vi sinh vật theo điểm 9, trong đó axetyl-gama-glutamyl-phosphat reductaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 19 hoặc SEQ ID NO: 21, axetylglutamat syntaza

hoặc ornithin axetyltransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 23 hoặc SEQ ID NO: 25, axetylglutamat kinaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 27 hoặc SEQ ID NO: 29, và axetylornithin aminotransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 31 hoặc SEQ ID NO: 33.

11. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó hoạt tính của axetyltransferaza còn được làm suy yếu so với hoạt tính nội sinh của nó.

12. Vi sinh vật theo điểm 11, trong đó axetyltransferaza chứa trình tự axit amin là SEQ ID NO: 35 hoặc SEQ ID NO: 37.

13. Vi sinh vật theo điểm 1, trong đó hoạt tính của protein chứa SEQ ID NO: 39 hoặc SEQ ID NO: 41 còn được tăng cường so với hoạt tính nội sinh của nó.

14. Phương pháp tạo ra putresxin hoặc ornithin, trong đó phương pháp này bao gồm:

(i) nuôi cấy vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13 trong môi trường; và

(ii) thu hồi putresxin hoặc ornithin từ vi sinh vật đã được nuôi cấy hoặc môi trường đã được nuôi cấy.

15. Phương pháp theo điểm 14, trong đó vi sinh vật thuộc chủng *Corynebacterium* là *Corynebacterium glutamicum*.

```

<110>    CJ CHEILJEDANG CORPORATION
<120>    VI SINH VẬT BIẾN ĐỔI THUỘC CHỦNG CORYNEBACTERIUM ĐỂ TẠO RA
PUTRESXIN HOẶC ORNITHIN VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA PUTRESXIN HOẶC ORNITHIN BẰNG
CÁCH SỬ DỤNG VI SINH VẬT NÀY
<130>    OPA16044
<150>    KR10-2015-0090021
<151>    2015-06-24
<160>    51
<170>    KopatentIn 2.0
<210>    1
<211>    259
<212>    PRT
<213>    Corynebacterium glutamicum ATCC13032 SugR
<400>    1
Met Tyr Ala Glu Glu Arg Arg Arg Gln Ile Ala Ser Leu Thr Ala Val
  1           5           10           15
Glu Gly Arg Val Asn Val Thr Glu Leu Ala Gly Arg Phe Asp Val Thr
          20           25           30
Ala Glu Thr Ile Arg Arg Asp Leu Ala Val Leu Asp Arg Glu Gly Ile
          35           40           45
Val His Arg Val His Gly Gly Ala Val Ala Thr Gln Ser Phe Gln Thr
          50           55           60
Thr Glu Leu Ser Leu Asp Thr Arg Phe Arg Ser Ala Ser Ser Ala Lys
          65           70           75           80
Tyr Ser Ile Ala Lys Ala Ala Met Gln Phe Leu Pro Ala Glu His Gly
          85           90           95
Gly Leu Phe Leu Asp Ala Gly Thr Thr Val Thr Ala Leu Ala Asp Leu
          100          105          110
Ile Ser Glu His Pro Ser Ser Lys Gln Trp Ser Ile Val Thr Asn Cys
          115          120          125
Leu Pro Ile Ala Leu Asn Leu Ala Asn Ala Gly Leu Asp Asp Val Gln
          130          135          140
Leu Leu Gly Gly Ser Val Arg Ala Ile Thr Gln Ala Val Val Gly Asp
          145          150          155          160
Thr Ala Leu Arg Thr Leu Ala Leu Met Arg Ala Asp Val Val Phe Ile
          165          170          175
Gly Thr Asn Ala Leu Thr Leu Asp His Gly Leu Ser Thr Ala Asp Ser
          180          185          190
Gln Glu Ala Ala Met Lys Ser Ala Met Ile Thr Asn Ala His Lys Val
          195          200          205
Val Val Leu Cys Asp Ser Thr Lys Met Gly Thr Asp Tyr Leu Val Ser
          210          215          220
Phe Gly Ala Ile Ser Asp Ile Asp Val Val Val Thr Asp Ala Gly Ala
          225          230          235          240
Pro Ala Ser Phe Val Glu Gln Leu Arg Glu Arg Asp Val Glu Val Val
          245          250          255
Ile Ala Glu

<210>    2
<211>    780
<212>    ADN
<213>    Corynebacterium glutamicum ATCC13032 sugR
<400>    2
atgtacgcag aggagcgccg tcgacagatt gcctcattaa cggcagttga gggacgtgta
60
aatgtcacag aattagcggg ccgattcgat gtcactgcag agacgattcg acgagacctt
120
gcggtgctag accgcgaggg aattgttcac cgcgttcacg gtggcgagc agccacccaa
180
tctttccaaa ccacagagtt gagcttggat actcgtttca ggtctgcac gtcagcaaag
240

```

tactccattg ccaaggcagc gatgcagttc ctgcccgctg agcatggcgg actgttcctc
 300
 gatgcgggaa ctactgttac tgctttggcc gatctcattt ctgagcatcc tagctccaag
 360
 cagtggtcga tcgtgaccaa ctgcctcccc atcgcaacta atctggccaa cgccggggtt
 420
 gatgatgtcc agctgcttgg aggaagcggt cgcgcgatca cccaggctgt tgtgggtgac
 480
 actgcgcttc gtactctcgc gctgatgcgt gcggatgtag tgttcacgg caccaacgcg
 540
 ttgacgttgg atcacggatt gtctacggcc gattcccaag aggctgccat gaaatctgcg
 600
 atgatcacca acgcccacaa ggtgggtggtg ttgtgtgact ccaccaagat gggcaccgac
 660
 tacctcgtga gctttggcgc aatcagcgat atcgatgtgg tggtcaccga tgcgggtgca
 720
 ccagcaagtt tcgttgagca gttgcgagaa cgcgatgtag aagttgtgat tgcagaatga
 780

780

<210> 3

<211> 257

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 SugR

<400> 3

Met Tyr Ala Glu Glu Arg Arg Arg Gln Ile Ala Ser Leu Thr Ala Val
 1 5 10 15
 Glu Gly Arg Val Asn Val Thr Glu Leu Ala Gly Arg Phe Asp Val Thr
 20 25 30
 Ala Glu Thr Ile Arg Arg Asp Leu Ala Val Leu Asp Arg Glu Gly Ile
 35 40 45
 Val His Arg Val His Gly Gly Ala Val Ala Thr Gln Ser Phe Gln Thr
 50 55 60
 Thr Glu Leu Ser Leu Asp Thr Arg Phe Arg Ser Ala Ser Ser Ala Lys
 65 70 75 80
 Tyr Ser Ile Ala Lys Ala Ala Met Gln Phe Leu Pro Ala Glu His Gly
 85 90 95
 Gly Leu Phe Leu Asp Ala Gly Thr Thr Val Thr Ala Leu Ala Asp Leu
 100 105 110
 Ile Ser Glu His Pro Ser Ala Lys Gln Trp Ser Ile Val Thr Asn Cys
 115 120 125
 Leu Pro Ile Ala Leu Asn Leu Ala Asn Ala Gly Leu Asp Asp Val Gln
 130 135 140
 Leu Leu Gly Gly Ser Val Arg Ala Ile Thr Gln Ala Val Val Gly Asp
 145 150 155 160
 Thr Ala Leu Arg Thr Leu Ala Leu Met Arg Ala Asp Val Val Phe Ile
 165 170 175
 Gly Thr Asn Ala Leu Thr Leu Asp His Gly Leu Ser Thr Ala Asp Ser
 180 185 190
 Gln Glu Ala Ala Met Lys Ser Ala Met Ile Thr Asn Ala His Lys Val
 195 200 205
 Val Val Leu Cys Asp Ser Thr Lys Met Gly Thr Asp Tyr Leu Val Ser
 210 215 220
 Phe Gly Ala Ile Ser Asp Ile Asp Val Val Val Thr Asp Ala Gly Ala
 225 230 235 240
 Pro Ala Ser Phe Val Glu Gln Leu Arg Glu Arg Asp Val Glu Val Val
 245 250 255
 Ile

<210> 4

<211> 780

<212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 sugR
 <400> 4
 atgtacgcag aggagcgccg tcgacagatt gcctcattaa cggcagttga gggacgtgta
 60
 aatgtcacag aattagcggg ccgattcgat gtcactgcag agacgattcg acgagacctt
 120
 gcggtgctag accgcgaggg aattgttcac cgcgttcacg gtggcgagc agccacccaa
 180
 tctttccaaa ccacagagtt gagcttggat actcgtttca ggtctgcatc gtcagcaaag
 240
 tactccattg ccaaggcagc gatgcagttc ctgcccgtg agcatggcgg actgttcctc
 300
 gatgcgggaa ctactgttac tgctttggcc gatctcattt ctgagcatcc tagcgccaag
 360
 cagtggtcga tcgtgaccaa ctgcctcccc atcgactta atctggccaa cgccgggctt
 420
 gatgatgtcc agctacttgg aggaagcgtt cgcgcgatca cccaggctgt tgtgggtgac
 480
 actgcgcttc gtactctcgc gctgatgcgt gcggatgtag tgttcacg caccaacgcg
 540
 ttgacgttgg atcacggatt gtctacggcc gattcccaag aggctgccat gaaatctgcg
 600
 atgatcacca acgcccacaa ggtgggtggtg ttgtgtgact ccaccaagat gggcaccgac
 660
 tacctcgtga gctttggcgc aatcagcgat atcgatgtgg tggtcaccga tgcgggtgca
 720
 ccagcaagtt tcgttgagca gttgcgagaa cgcgatgtag aagttgtgat tgcagaatga
 780

780

<210> 5
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 GltA
 <400> 5
 Met Phe Glu Arg Asp Ile Val Ala Thr Asp Asn Asn Lys Ala Val Leu
 1 5 10 15
 His Tyr Pro Gly Gly Glu Phe Glu Met Asp Ile Ile Glu Ala Ser Glu
 20 25 30
 Gly Asn Asn Gly Val Val Leu Gly Lys Met Leu Ser Glu Thr Gly Leu
 35 40 45
 Ile Thr Phe Asp Pro Gly Tyr Val Ser Thr Gly Ser Thr Glu Ser Lys
 50 55 60
 Ile Thr Tyr Ile Asp Gly Asp Ala Gly Ile Leu Arg Tyr Arg Gly Tyr
 65 70 75 80
 Asp Ile Ala Asp Leu Ala Glu Asn Ala Thr Phe Asn Glu Val Ser Tyr
 85 90 95
 Leu Leu Ile Asn Gly Glu Leu Pro Thr Pro Asp Glu Leu His Lys Phe
 100 105 110
 Asn Asp Glu Ile Arg His His Thr Leu Leu Asp Glu Asp Phe Lys Ser
 115 120 125
 Gln Phe Asn Val Phe Pro Arg Asp Ala His Pro Met Ala Thr Leu Ala
 130 135 140
 Ser Ser Val Asn Ile Leu Ser Thr Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Asn Pro
 145 150 155 160
 Leu Asp Glu Ala Gln Leu Asp Lys Ala Thr Val Arg Leu Met Ala Lys
 165 170 175
 Val Pro Met Leu Ala Ala Tyr Ala His Arg Ala Arg Lys Gly Ala Pro
 180 185 190
 Tyr Met Tyr Pro Asp Asn Ser Leu Asn Ala Arg Glu Asn Phe Leu Arg

	195		200		205
Met	Met Phe Gly Tyr Pro Thr Glu Pro Tyr Glu Ile Asp Pro Ile Met				
	210		215		220
Val	Lys Ala Leu Asp Lys Leu Leu Ile Leu His Ala Asp His Glu Gln				
225		230		235	240
Asn	Cys Ser Thr Ser Thr Val Arg Met Ile Gly Ser Ala Gln Ala Asn				
		245		250	255
Met	Phe Val Ser Ile Ala Gly Gly Ile Asn Ala Leu Ser Gly Pro Leu				
		260		265	270
His	Gly Gly Ala Asn Gln Ala Val Leu Glu Met Leu Glu Asp Ile Lys				
		275		280	285
Ser	Asn His Gly Gly Asp Ala Thr Glu Phe Met Asn Lys Val Lys Asn				
		290		295	300
Lys	Glu Asp Gly Val Arg Leu Met Gly Phe Gly His Arg Val Tyr Lys				
305		310		315	320
Asn	Tyr Asp Pro Arg Ala Ala Ile Val Lys Glu Thr Ala His Glu Ile				
		325		330	335
Leu	Glu His Leu Gly Gly Asp Asp Leu Leu Asp Leu Ala Ile Lys Leu				
		340		345	350
Glu	Glu Ile Ala Leu Ala Asp Asp Tyr Phe Ile Ser Arg Lys Leu Tyr				
		355		360	365
Pro	Asn Val Asp Phe Tyr Thr Gly Leu Ile Tyr Arg Ala Met Gly Phe				
		370		375	380
Pro	Thr Asp Phe Phe Thr Val Leu Phe Ala Ile Gly Arg Leu Pro Gly				
385		390		395	400
Trp	Ile Ala His Tyr Arg Glu Gln Leu Gly Ala Ala Gly Asn Lys Ile				
		405		410	415
Asn	Arg Pro Arg Gln Val Tyr Thr Gly Asn Glu Ser Arg Lys Leu Val				
		420		425	430
Pro	Arg Glu Glu Arg				
	435				

<210> 6

<211> 1314

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 gltA

<400> 6

```

atgtttgaaa gggatatcgt ggctactgat aacaacaagg ctgtcctgca ctaccccggt
60
ggcgagttcg aaatggacat catcgaggct tctgagggta acaacggtgt tgtcctgggc
120
aagatgctgt ctgagactgg actgatcact tttagaccag gttatgtgag cactggctcc
180
accgagtcga agatcaccta catcgatggc gatgcgggaa tcctgcgtta ccgcggctat
240
gacatcgctg atctggctga gaatgccacc ttcaacgagg tttcttacct acttatcaac
300
ggtgagctac caaccccaga tgagcttcac aagtttaacg acgagattcg ccaccacacc
360
cttctggacg aggacttcaa gtcccagttc aacgtgttcc cacgcgacgc tcacccaatg
420
gcaaccttgg cttcctcggt taacattttg tctacctact accaggacca gctgaaccca
480
ctcgaatgagg cacagcttga taaggcaacc gttcgcctca tggcaaagggt tccaatgctg
540
gctgcgtacg cacaccgcgc acgcaagggt gtccttaca tgtacccaga caactccctc
600
aatgcgcgtg agaacttcct gcgcatgatg ttcggttacc caaccgagcc atacgagatc
660
gacccaatca tgggtcaaggc tctggacaag ctgctcatcc tgcacgctga ccacgagcag
720

```

aactgctcca cctccaccgt tcgtatgata ggttccgcac aggccaacat gtttgtctcc
780
atcgctgggtg gcatcaacgc tctgtccggc ccaactgcacg gtggcgcaaa ccaggctggt
840
ctggagatgc tcgaagacat caagagcaac cacggtggcg acgcaaccga gttcatgaac
900
aaggtcaaga acaaggaaga cggcgtccgc ctcatgggct tcggacaccg cgtttacaag
960
aactacgata cacgtgcagc aatcgtcaag gagaccgcac acgagatcct cgagcacctc
1020
gggtggcgacg atcttctgga tctggcaatc aagctggaag aaattgcact ggctgatgat
1080
tacttcatct cccgcaagct ctacccgaac gtagacttct acaccggcct gatctaccgc
1140
gcaatgggct tcccaactga cttcttcacc gtattgttcg caatcggtcg tctgccagga
1200
tggtatgctc actaccgcga gcagctcggg gcagcaggca acaagatcaa ccgcccacgc
1260
caggtctaca ccggcaacga atcccgaag ttggttcctc gcgaggagcg ctaa
1314

<210> 7

<211> 437

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 GltA

<400> 7

Met	Phe	Glu	Arg	Asp	Ile	Val	Ala	Thr	Asp	Asn	Asn	Lys	Ala	Val	Leu
1				5					10					15	
His	Tyr	Pro	Gly	Glu	Phe	Glu	Met	Asp	Ile	Ile	Glu	Ala	Ser	Glu	
			20					25				30			
Gly	Asn	Asn	Gly	Val	Val	Leu	Gly	Lys	Met	Leu	Ser	Glu	Thr	Gly	Leu
			35					40				45			
Ile	Thr	Phe	Asp	Pro	Gly	Tyr	Val	Ser	Thr	Gly	Ser	Thr	Glu	Ser	Lys
	50					55					60				
Ile	Thr	Tyr	Ile	Asp	Gly	Asp	Ala	Gly	Ile	Leu	Arg	Tyr	Arg	Gly	Tyr
	65				70					75				80	
Asp	Ile	Ala	Asp	Leu	Ala	Glu	Asn	Ala	Thr	Phe	Asn	Glu	Val	Ser	Tyr
				85					90					95	
Leu	Leu	Ile	Asn	Gly	Glu	Leu	Pro	Thr	Pro	Asp	Glu	Leu	His	Lys	Phe
			100					105					110		
Asn	Asp	Glu	Ile	Arg	His	His	Thr	Leu	Leu	Asp	Glu	Asp	Phe	Lys	Ser
	115						120					125			
Gln	Phe	Asn	Val	Phe	Pro	Arg	Asp	Ala	His	Pro	Met	Ala	Thr	Leu	Ala
	130					135					140				
Ser	Ser	Val	Asn	Ile	Leu	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Gln	Asp	Gln	Leu	Asn	Pro
	145				150					155				160	
Leu	Asp	Glu	Ala	Gln	Leu	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Arg	Leu	Met	Ala	Lys
			165						170				175		
Val	Pro	Met	Leu	Ala	Ala	Tyr	Ala	His	Arg	Ala	Arg	Lys	Gly	Ala	Pro
			180					185					190		
Tyr	Met	Tyr	Pro	Asp	Asn	Ser	Leu	Asn	Ala	Arg	Glu	Asn	Phe	Leu	Arg
	195						200					205			
Met	Met	Phe	Gly	Tyr	Pro	Thr	Glu	Pro	Tyr	Glu	Ile	Asp	Pro	Ile	Met
	210					215					220				
Val	Lys	Ala	Leu	Asp	Lys	Leu	Leu	Ile	Leu	His	Ala	Asp	His	Glu	Gln
	225				230					235				240	
Asn	Cys	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Arg	Met	Ile	Gly	Ser	Ala	Gln	Ala	Asn
			245						250				255		
Met	Phe	Val	Ser	Ile	Ala	Gly	Gly	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Gly	Pro	Leu
			260					265					270		
His	Gly	Gly	Ala	Asn	Gln	Ala	Val	Leu	Glu	Met	Leu	Glu	Asp	Ile	Lys

275	280	285
Asn Asn His Gly Gly Asp Ala Thr Ala Phe Met Asn Lys Val Lys Asn		
290	295	300
Lys Glu Asp Gly Val Arg Leu Met Gly Phe Gly His Arg Val Tyr Lys		
305	310	315
Asn Tyr Asp Pro Arg Ala Ala Ile Val Lys Glu Thr Ala His Glu Ile		
	325	330
Leu Glu His Leu Gly Gly Asp Asp Leu Leu Asp Leu Ala Ile Lys Leu		
	340	345
Glu Glu Ile Ala Leu Ala Asp Asp Cys Phe Ile Ser Arg Lys Leu Tyr		
	355	360
Pro Asn Val Asp Phe Tyr Thr Gly Leu Ile Tyr Arg Ala Met Gly Phe		
	370	375
Pro Thr Asp Phe Phe Thr Val Leu Phe Ala Ile Gly Arg Leu Pro Gly		
385	390	395
Trp Ile Ala His Tyr Arg Glu Gln Leu Gly Ala Ala Gly Asn Lys Ile		
	405	410
Asn Arg Pro Arg Gln Val Tyr Thr Gly Lys Glu Ser Arg Lys Leu Val		
	420	425
Pro Arg Glu Glu Arg		430
435		

<210> 8
 <211> 1314
 <212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 gltA
 <400> 8
 atgtttgaaa gggatatcgt ggctactgat aacaacaagg ctgtcctgca ctaccccgggt
 60
 ggcgagttcg aaatggacat catcgaggct tctgagggta acaacgggtgt tgtcctgggc
 120
 aagatgctgt ctgagactgg actgatcact tttgaccag gttatgtgag cactggctcc
 180
 accgagtcga agatcaccta catcgatggc gatgcgggaa tcctgcgtta ccgcggctat
 240
 gacatcgctg atctggctga gaatgccacc ttcaacgagg tttcttacct acttatcaac
 300
 ggtgagctac caacccaga tgagcttcac aagttaacg acgagattcg ccaccacacc
 360
 cttctggacg aggacttcaa gtcccagttc aacgtgttcc cacgcgacgc tcacccaatg
 420
 gcaaccttgg cttcctcggt taacattttg tctacctact accaggatca gctgaacca
 480
 ctcgatgagg cacagcttga taaggcaacc gttcgcctca tggcaaagggt tccaatgctg
 540
 gctgcgtacg cacaccgcgc acgcaagggt gtccttaca tgtacccaga caactccctc
 600
 aacgcgcgtg agaacttct gcgcgatgatg ttcggttacc caaccgagcc atacgagatc
 660
 gacccaatca tgggtcaaggc tctggacaag ctgctcatcc tgcacgctga ccacgagcag
 720
 aactgctcca cctccaccgt tcgtatgatc ggttccgcac aggccaacat gtttgtctcc
 780
 atcgtgggtg gcatcaacgc tctgtccggc cactgcacg gtggcgcaaa ccaggctgtt
 840
 ctggagatgc tcgaagacat caagaacaac cacgggtggcg acgcaaccgc gttcatgaac
 900
 aaggtcaaga acaaggaaga cggcgtccgc ctcattgggt tcggacaccg cgtttacaag
 960
 aactacgatc cacgtgcagc aatcgtcaag gagaccgcac acgagatcct cgagcacctc
 1020

ggtggcgacg atcttctgga tctggcaatc aagctggaag aaattgcact ggctgatgat
 1080
 tgcttcatct cccgcaagct ctaccggaac gtagacttct acaccggcct gatctaccgc
 1140
 gcaatgggct tcccaactga cttcttcacc gtattgttcg caatcggtcg tctgccagga
 1200
 tggatcgctc actaccgcga gcagctcggg gcagcaggca acaagatcaa ccgcccacgc
 1260
 caggtctaca ccggcaagga atcccgcaag ttggttcctc gcgaggagcg ctaa
 1314

<210> 9
 <211> 319
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 ArgF
 <400> 9
 Met Thr Ser Gln Pro Gln Val Arg His Phe Leu Ala Asp Asp Asp Leu
 1 5 10 15
 Thr Pro Ala Glu Gln Ala Glu Val Leu Thr Leu Ala Ala Lys Leu Lys
 20 25 30
 Ala Ala Pro Phe Ser Glu Arg Pro Leu Glu Gly Pro Lys Ser Val Ala
 35 40 45
 Val Leu Phe Asp Lys Thr Ser Thr Arg Thr Arg Phe Ser Phe Asp Ala
 50 55 60
 Gly Ile Ala His Leu Gly Gly His Ala Ile Val Val Asp Ser Gly Ser
 65 70 75 80
 Ser Gln Met Gly Lys Gly Glu Ser Leu Gln Asp Thr Ala Ala Val Leu
 85 90 95
 Ser Arg Tyr Val Glu Ala Ile Val Trp Arg Thr Tyr Ala His Ser Asn
 100 105 110
 Phe His Ala Met Ala Glu Thr Ser Thr Val Pro Leu Val Asn Ser Leu
 115 120 125
 Ser Asp Asp Leu His Pro Cys Gln Ile Leu Ala Asp Leu Gln Thr Ile
 130 135 140
 Val Glu Asn Leu Ser Pro Glu Glu Gly Pro Ala Gly Leu Lys Gly Lys
 145 150 155 160
 Lys Ala Val Tyr Leu Gly Asp Gly Asp Asn Asn Met Ala Asn Ser Tyr
 165 170 175
 Met Ile Gly Phe Ala Thr Ala Gly Met Asp Ile Ser Ile Ile Ala Pro
 180 185 190
 Glu Gly Phe Gln Pro Arg Ala Glu Phe Val Glu Arg Ala Glu Lys Arg
 195 200 205
 Gly Gln Glu Thr Gly Ala Lys Val Val Val Thr Asp Ser Leu Asp Glu
 210 215 220
 Val Ala Gly Ala Asp Val Val Ile Thr Asp Thr Trp Val Ser Met Gly
 225 230 235 240
 Met Glu Asn Asp Gly Ile Asp Arg Thr Thr Pro Phe Val Pro Tyr Gln
 245 250 255
 Val Asn Asp Glu Val Met Ala Lys Ala Asn Asp Gly Ala Ile Phe Leu
 260 265 270
 His Cys Leu Pro Ala Tyr Arg Gly Lys Glu Val Ala Ala Ser Val Ile
 275 280 285
 Asp Gly Pro Ala Ser Lys Val Phe Asp Glu Ala Glu Asn Arg Leu His
 290 295 300
 Ala Gln Lys Ala Leu Leu Val Trp Leu Leu Ala Asn Gln Pro Arg
 305 310 315

<210> 10
 <211> 960
 <212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 argF

<400> 10
 atgacttcac aaccacaggt tcgccatttt ctggctgatg atgatctcac ccctgcagag
 60
 caggcagagg ttttgaccct agccgcaaag ctcaaggcag cgccgttttc ggagcgtcca
 120
 ctcgagggac caaagtccgt tgcagttctt tttgataaga cttcaactcg tactcgcttc
 180
 tccttcgacg cgggcatcgc tcatttgggt ggacacgcca tcgtcgtgga ttccggtagc
 240
 tcacagatgg gtaagggcga gtccctgcag gacaccgcag ctgtattgtc ccgctacgtg
 300
 gaagcaattg tgtggcgcac ctacgcacac agcaatttcc acgccatggc ggagacgtcc
 360
 actgtgccgc tgggtgaactc cttgtccgat gatctgcacc catgccagat tctggctgat
 420
 ctgcagacta tcgtggaaaa cctcagccct gaagaaggcc cagcaggcct taagggttaag
 480
 aaggctgtgt acctggggcga tggcgacaac aacatggcca actcctacat gattggcttt
 540
 gccaccgcgg gcatggatat ttccatcatc gtcctgaag ggttccagcc tcgtgcggaa
 600
 ttctgtggagc gcgcggaaaa gcgtggccag gaaaccggcg cgaaggttgt tgtcaccgac
 660
 agcctcgacg aggttgccgg cgccgatgtt gtcacaccg atacctgggt atccatgggt
 720
 atgaaaaacg acggcatcga tcgcaccaca cctttcgttc cttaccaggt caacgatgag
 780
 gtcattggcga aagctaacga cggcgccatc ttctgcact gccttctgc ctaccgtggc
 840
 aaagaagtgg cagcctccgt gattgatgga ccagcgtcca aagttttcga tgaagcagaa
 900
 aaccgcctcc acgtcagaa agcactgctg gtgtggctgc tggccaacca gccgaggtaa
 960

960
 <210> 11
 <211> 319
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 ArgF
 <400> 11
 Met Thr Ser Gln Pro Gln Val Arg His Phe Leu Ala Asp Asp Asp Leu
 1 5 10 15
 Thr Pro Ala Glu Gln Ala Glu Val Leu Thr Leu Ala Ala Lys Leu Lys
 20 25 30
 Ala Ala Pro Phe Ser Glu Arg Pro Leu Glu Gly Pro Lys Ser Val Ala
 35 40 45
 Val Leu Phe Asp Lys Thr Ser Thr Arg Thr Arg Phe Ser Phe Asp Ala
 50 55 60
 Gly Ile Ala His Leu Gly Gly His Ala Ile Val Val Asp Ser Gly Ser
 65 70 75 80
 Ser Gln Met Gly Lys Gly Glu Thr Leu Gln Asp Thr Ala Ala Val Leu
 85 90 95
 Ser Arg Tyr Val Glu Ala Ile Val Trp Arg Thr Tyr Ala His Ser Asn
 100 105 110
 Phe His Ala Met Ala Glu Thr Ser Thr Val Pro Leu Val Asn Ser Leu
 115 120 125
 Ser Asp Asp Leu His Pro Cys Gln Ile Leu Ala Asp Leu Gln Thr Ile
 130 135 140
 Val Glu Asn Leu Ser Pro Glu Glu Gly Pro Ala Gly Leu Lys Gly Lys
 145 150 155 160
 Lys Ala Val Tyr Leu Gly Asp Gly Asp Asn Asn Met Ala Asn Ser Tyr

				165					170					175	
Met	Ile	Gly	Phe	Ala	Thr	Ala	Gly	Met	Asp	Ile	Ser	Ile	Ile	Ala	Pro
			180					185					190		
Glu	Gly	Phe	Gln	Pro	Arg	Ala	Glu	Phe	Val	Glu	Arg	Ala	Glu	Lys	Arg
		195					200					205			
Gly	Gln	Glu	Thr	Gly	Ala	Lys	Val	Val	Val	Thr	Asp	Ser	Leu	Asp	Glu
	210					215					220				
Val	Ala	Gly	Ala	Asp	Val	Val	Ile	Thr	Asp	Thr	Trp	Val	Ser	Met	Gly
225					230					235					240
Met	Glu	Asn	Asp	Gly	Ile	Asp	Arg	Thr	Thr	Pro	Phe	Val	Pro	Tyr	Gln
				245					250					255	
Val	Asn	Asp	Glu	Val	Met	Ala	Lys	Ala	Asn	Asp	Gly	Ala	Ile	Phe	Leu
			260					265					270		
His	Cys	Leu	Pro	Ala	Tyr	Arg	Gly	Lys	Glu	Val	Ala	Ala	Ser	Val	Ile
		275					280					285			
Asp	Gly	Pro	Ala	Ser	Lys	Val	Phe	Asp	Glu	Ala	Glu	Asn	Arg	Leu	His
	290					295					300				
Ala	Gln	Lys	Ala	Leu	Leu	Val	Trp	Leu	Leu	Ala	His	Gln	Pro	Arg	
305					310					315					

<210> 12

<211> 960

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 argF

<400>	12
-------	----

atgacttcac aaccacaggt tcgccatttc ctggctgatg atgatctcac ccctgcagag
60

caggcagagg ttttgaccct agccgcaaag ctcaaggcag cgccgttttc ggagcgtcca
120

ctcgaggagc caaagtcctg tgcagttctt ttgataaga cttcaactcg tactcgcttc
180

tccttcgacg cgggcatcgc tcatttgggt ggacatgcc a tcgtcgtgga ttccggcagc
240

tacacagatgg gtaagggcga gaccctgcag gacaccgcag ctgtattgtc ccgctacgtg
300

gaagcaattg tgtggcgcac ctacgcacac agcaatttcc acgccatggc ggagacgtcc
360

actgtgccac tggatgaactc cttgtccgat gatctgcacc catgccagat tctgggtgat
420

ctgcagacca tcgtgaaaaa cctcagccct gaagaaggcc cagcaggcct taagggtaag
480

aaggtgtgt acctgggcga tggcgacaac aacatggcca actcctacat gattggcttt
540

gccaccgcgg gcatggatat ctccatcatc gctcctgaag ggttccagcc tcgtgcggaa
600

ttcgtggagc ggcgcgaaaa gcgtggccag gaaaccggcg cgaaggttgt tgtcaccgac
660

agcctcgacg aggttgccg cgccgatgtt gtcattaccg atacctgggt atccatgggt
720

atggaaaaacg acg'gcac'tga tgc'caccaca cctttc'gttc cctaccaggt caacgat'gag
780

gtcatggcga aagctaacga cggcgccatc ttcctgcact gccttctctgc ctaccgcggc
840

aaagaagtgg cagcctccgt gattgatgga ccagcgtcca aagttttcga tgaagcagaa
900

aaccgctcc acgctcagaa agcactgctg gtgtggctgc tggccacca gccgaggtaa
960

960

<210> 13

<211> 533

```

<212>      PRT
<213>      Corynebacterium glutamicum ATCC13032 NCgl1221
<400>      13
Met Ile Leu Gly Val Pro Ile Gln Tyr Leu Leu Tyr Ser Leu Trp Asn
 1           5           10           15
Trp Ile Val Asp Thr Gly Phe Asp Val Ala Ile Ile Leu Val Leu Ala
 20           25           30
Phe Leu Ile Pro Arg Ile Gly Arg Leu Ala Met Arg Ile Ile Lys Arg
 35           40           45
Arg Val Glu Ser Ala Ala Asp Ala Asp Thr Thr Lys Asn Gln Leu Ala
 50           55           60
Phe Ala Gly Val Gly Val Tyr Ile Ala Gln Ile Val Ala Phe Phe Met
 65           70           75           80
Leu Ala Val Ser Ala Met Gln Ala Phe Gly Phe Ser Leu Ala Gly Ala
 85           90           95
Ala Ile Pro Ala Thr Ile Ala Ser Ala Ala Ile Gly Leu Gly Ala Gln
100          105          110
Ser Ile Val Ala Asp Phe Leu Ala Gly Phe Phe Ile Leu Thr Glu Lys
115          120          125
Gln Phe Gly Val Gly Asp Trp Val Arg Phe Glu Gly Asn Gly Ile Val
130          135          140
Val Glu Gly Thr Val Ile Glu Ile Thr Met Arg Ala Thr Lys Ile Arg
145          150          155          160
Thr Ile Ala Gln Glu Thr Val Ile Ile Pro Asn Ser Thr Ala Lys Val
165          170          175
Cys Ile Asn Asn Ser Asn Asn Trp Ser Arg Ala Val Val Val Ile Pro
180          185          190
Ile Pro Met Leu Gly Ser Glu Asn Ile Thr Asp Val Ile Ala Arg Ser
195          200          205
Glu Ala Ala Thr Arg Arg Ala Leu Gly Gln Glu Lys Ile Ala Pro Glu
210          215          220
Ile Leu Gly Glu Leu Asp Val His Pro Ala Thr Glu Val Thr Pro Pro
225          230          235          240
Thr Val Val Gly Met Pro Trp Met Val Thr Met Arg Phe Leu Val Gln
245          250          255
Val Thr Ala Gly Asn Gln Trp Leu Val Glu Arg Ala Ile Arg Thr Glu
260          265          270
Ile Ile Ser Glu Phe Trp Glu Glu Tyr Gly Ser Ala Thr Thr Thr Ser
275          280          285
Gly Thr Leu Ile Asp Ser Leu His Val Glu His Glu Glu Pro Lys Thr
290          295          300
Ser Leu Ile Asp Ala Ser Pro Gln Ala Leu Lys Glu Pro Lys Pro Glu
305          310          315          320
Ala Ala Ala Thr Val Ala Ser Leu Ala Ala Ser Ser Asn Asp Asp Ala
325          330          335
Asp Asn Ala Asp Ala Ser Val Ile Asn Ala Gly Asn Pro Glu Lys Glu
340          345          350
Leu Asp Ser Asp Val Leu Glu Gln Glu Leu Ser Ser Glu Glu Pro Glu
355          360          365
Glu Thr Ala Lys Pro Asp His Ser Leu Arg Gly Phe Phe Arg Thr Asp
370          375          380
Tyr Tyr Pro Asn Arg Trp Gln Lys Ile Leu Ser Phe Gly Gly Arg Val
385          390          395          400
Arg Met Ser Thr Ser Leu Leu Leu Gly Ala Leu Leu Leu Leu Ser Leu
405          410          415
Phe Lys Val Met Thr Val Glu Pro Ser Glu Asn Trp Gln Asn Ser Ser
420          425          430
Gly Trp Leu Ser Pro Ser Thr Ala Thr Ser Thr Ala Val Thr Thr Ser
435          440          445
Glu Thr Ser Ala Pro Val Ser Thr Pro Ser Met Thr Val Pro Thr Thr
450          455          460

```

Val	Glu	Glu	Thr	Pro	Thr	Met	Glu	Ser	Asn	Val	Glu	Thr	Gln	Gln	Glu
465					470					475					480
Thr	Ser	Thr	Pro	Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Gln	Arg	Ala	Asp	Thr	Ile	Glu
				485					490					495	
Pro	Thr	Glu	Glu	Ala	Thr	Ser	Gln	Glu	Glu	Thr	Thr	Ala	Ser	Gln	Thr
			500					505					510		
Gln	Ser	Pro	Ala	Val	Glu	Ala	Pro	Thr	Ala	Val	Gln	Glu	Thr	Val	Ala
		515					520					525			
Pro	Thr	Ser	Thr	Pro											
	530														

<210> 14

<211> 1602

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 NCgl1221

<400> 14

```

atgatttttag gcgtagcccat tcaatatttg ctctattcat tgtggaattg gattgtcgat
60
accggttttg atgtagcaat tatcctgggc ttggcggttt tgattccacg tatcgccga
120
ctggccatgc gtattatcaa gcgcgagtg gagtctgcag ccgatgcgga caccactaag
180
aaccagctcg cgttcgccgg cgttggcggt tatatcgcg aaattgtggc gtttttcag
240
cttgccgtct ccgcgatgca ggcttttggt ttctctctcg cgggcgctgc gattccggca
300
accattgcgt cagctgccat tggccttggt gcgcagtcga ttgttgcgga cttcttggcc
360
ggatttttca tctgacgga aaagcaattc ggcggtgggtg actgggtgcg ttttgagggc
420
aacggcatcg ttgtcgaagg caccgtcatt gagatcacca tgcgcgcgac caaaattcgc
480
acgattgcac aagagaccgt gatcatcccc aactccacgg cgaaagtgtg catcaacaat
540
tctaataact ggtagcggtgc ggttgtaggtt attccgatcc ccatgttggg ttctgaaaac
600
atcacagatg tcatcgcgcg ctctgaagct gcgactcgtc gcgcacttgg ccaggagaaa
660
atcgacccgg aaatcctcgg tgaactcgat gtgcacccag ccacggaagt caccgccga
720
acggtggtcg gcatgccgtg gatggtcacc atgcgtttcc tcgtgcaagt caccgccggc
780
aatcaatggc tggtagaacg cgccatccgc acagaaatca tcagcgaatt ctgggaagaa
840
tacggcagcg caaccactac atcggaacc ctcatgatt ccttacacgt tgagcatgaa
900
gagccaaaga cctcgcttat cgacgcctcc cccaggtc ttaaggaacc gaagccggag
960
gctgcgggca cggttgcatc gctagctgca tctctaacg acgatgcaga caatgcagac
1020
gcctcggtga tcaatgcagg caatccagag aaggaaactg attccgatgt gctggaacaa
1080
gaactctcca gcgaagaacc ggaagaaaca gcaaaaccag atcactctct ccgaggcttc
1140
ttccgactg attactaccc aaatcggtgg cagaagatcc tgcgttttg cgacgtgtc
1200
cgcatgagca cgtccctgtt gttgggtgcg ctgctcttgc tgcactatt taaggctcatg
1260
actgtggaac caagtgagaa ttggcaaaac tccagtggat ggctgtcacc aagcactgcc
1320

```

acctcaactg cgggtgaccac ctccgaaact tccgcgccag taagcacgcc ttcgatgaca
 1380
 gtgcccacta cgggtggagga gaccccaacg atggaatcta acgtcgaaac gcagcaggaa
 1440
 acctcaaccc ctgcaaccgc aacgccccag cgagccgaca ccatcgaacc gaccgaggaa
 1500
 gccacgtcgc aggaggaaac gactgcgtcg cagacgcagt ctccagcagt ggaagcacca
 1560
 accgcggtcc aagagacagt tgcgccgacg tccacccctt ag
 1602

<210> 15
 <211> 533
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 NCgl1221
 <400> 15
 Met Ile Leu Gly Val Pro Ile Gln Tyr Leu Leu Tyr Ser Leu Trp Asn
 1 5 10 15
 Trp Ile Val Asp Thr Gly Phe Asp Val Ala Ile Ile Leu Val Leu Ala
 20 25 30
 Phe Leu Ile Pro Arg Ile Gly Arg Leu Ala Met Arg Ile Ile Lys Gln
 35 40 45
 Arg Val Glu Ser Ala Ala Asp Ala Asp Thr Thr Lys Asn Gln Leu Ala
 50 55 60
 Phe Ala Gly Val Gly Val Tyr Ile Ala Gln Ile Val Ala Phe Phe Met
 65 70 75 80
 Leu Ala Val Ser Ala Met Gln Ala Phe Gly Phe Ser Leu Ala Gly Ala
 85 90 95
 Ala Ile Pro Ala Thr Ile Ala Ser Ala Ala Ile Gly Leu Gly Ala Gln
 100 105 110
 Ser Ile Val Ala Asp Phe Leu Ala Gly Phe Phe Ile Leu Thr Glu Lys
 115 120 125
 Gln Phe Gly Val Gly Asp Trp Val Arg Phe Glu Gly Asn Gly Ile Val
 130 135 140
 Val Glu Gly Thr Val Ile Glu Ile Thr Met Arg Ala Thr Lys Ile Arg
 145 150 155 160
 Thr Ile Ala Gln Glu Thr Val Ile Ile Pro Asn Ser Thr Ala Lys Val
 165 170 175
 Cys Ile Asn Asn Ser Asn Asn Trp Ser Arg Ala Val Val Val Ile Pro
 180 185 190
 Ile Pro Met Leu Gly Ser Glu Asn Ile Thr Asp Val Ile Ala Arg Ser
 195 200 205
 Glu Ala Ala Thr Arg Arg Ala Leu Gly Gln Glu Lys Ile Ala Pro Glu
 210 215 220
 Ile Leu Gly Glu Leu Asp Val His Pro Ala Thr Glu Val Thr Pro Pro
 225 230 235 240
 Thr Val Val Gly Met Pro Trp Met Val Thr Met Arg Phe Leu Val Gln
 245 250 255
 Val Thr Ala Gly Asn Gln Trp Leu Val Glu Arg Ala Ile Arg Thr Glu
 260 265 270
 Ile Ile Asn Glu Phe Trp Glu Glu Tyr Gly Ser Ala Thr Thr Thr Ser
 275 280 285
 Gly Thr Leu Ile Asp Ser Leu His Val Glu His Glu Glu Pro Lys Thr
 290 295 300
 Ser Leu Ile Asp Ala Ser Pro Gln Ala Leu Lys Glu Pro Lys Pro Glu
 305 310 315 320
 Ala Ala Ala Thr Val Ala Ser Leu Ala Ala Ser Ser Asn Asp Asp Ala
 325 330 335
 Asp Asn Ala Asp Ala Ser Ala Ile Asn Ala Gly Asn Pro Glu Lys Glu
 340 345 350
 Leu Asp Ser Asp Val Leu Glu Gln Glu Leu Ser Ser Glu Glu Pro Glu

355	360	365
Glu Thr Ala Lys Pro Asp His Ser Leu Arg Gly Phe Phe Arg Thr Asp		
370	375	380
Tyr Tyr Pro Asn Arg Trp Gln Lys Ile Leu Ser Phe Gly Gly Arg Val		
385	390	395
Arg Met Ser Thr Ser Leu Leu Leu Gly Ala Leu Leu Leu Ser Leu		400
	405	410
Phe Lys Val Met Thr Val Glu Pro Ser Glu Asn Trp Gln Asn Ser Ser		415
	420	425
Gly Trp Leu Ser Pro Ser Thr Ala Thr Ser Thr Ala Val Thr Thr Ser		430
	435	440
Glu Thr Ser Ala Pro Ala Ser Thr Pro Ser Met Thr Val Pro Thr Thr		445
	450	455
Val Glu Glu Thr Pro Thr Met Glu Ser Ser Val Glu Thr Gln Gln Glu		460
465	470	475
Thr Ser Thr Pro Ala Thr Ala Thr Pro Gln Arg Ala Asp Thr Ile Glu		480
	485	490
Pro Thr Glu Glu Ala Thr Ser Gln Glu Glu Thr Thr Ala Ser Gln Thr		495
	500	505
Gln Ser Pro Ala Val Glu Ala Pro Thr Ala Val Gln Glu Thr Val Ala		510
	515	520
Pro Thr Ser Thr Pro		525
530		

<210> 16
 <211> 1602
 <212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 NCgl1221
 <400> 16
 atgatttttag gcgtacccat tcaatatttg ctctattcat tgtggaattg gattgtcgat
 60
 accggttttg atgtagcaat tatcctgggtc ttggcgtttt tgattccacg tatcggccga
 120
 ctggccatgc gtattatcaa gcagcgagtg gagtctgcag ccgatgcgga caccactaag
 180
 aaccagctcg cgttcgctgg cgttggcggtt tatatcgcg aaattgtggc gtttttcatg
 240
 cttgccgtct ccgcgatgca ggcttttgggt ttctctctcg cgggcgctgc gattccggca
 300
 accattgcgt cagctgccat tgggtcttgggt gcgcagtcga ttgttgcgga cttcttggcc
 360
 ggatttttca tcctgacgga aaagcaattc ggcgtgggtg actgggtgcg ctttgagggc
 420
 aacggcatcg ttgttgaagg caccgtcatt gagatcacca tgcgcgcgac caaaattcgc
 480
 acgattgcac aagagaccgt gatcatcccg aactccacgg cgaaagtgtg catcaacaat
 540
 tctaataact ggtcgcgtgc ggttgtcggtt attccgatcc ccatgttggg ttctgaaaac
 600
 atcacagatg tcatcgcgcg ctctgaagct gcgactcgtc gcgcacttgg ccaggagaaa
 660
 atcgcaccgg aaatcctcgg tgaactcgat gtgcacccag ccacggaagt cacaccgcca
 720
 acggtggtcg gcatgccgtg gatggtcacc atgcgtttcc tcgtgcaagt caccgccggc
 780
 aatcaatggc tggtcgaacg cgccatccgc acagaaatca tcaacgaatt ctgggaagaa
 840
 tacggcagcg caaccactac atcgggaacc ctctattgatt ccttacacgt tgagcatgaa
 900
 gagccaaaga cctcgcttat cgacgcctcc cccagggctc ttaaggaacc gaagccggag
 960

gctgcgggcga cggttgcacg gctagctgca tcgtctaacg acgatgcaga caatgcagac
 1020
 gcctcggcga tcaatgcagg caatccagag aaggaacttg attccgatgt gctggaacaa
 1080
 gaactctcca gcgaagaacc ggaagaaaca gcaaaaccag atcactctct ccgaggcttc
 1140
 ttccgcactg attactaccc aaatcggtagg cagaagatcc tgtcgtttgg cggacgtgtc
 1200
 cgcacgagca cttccctggt gttgggtgag ctgctcttgc tgtcactatt taaggatcatg
 1260
 actgtggaac caagtgcaga ttggcaaaac tccagtggat ggctgtcacc aagcactgcc
 1320
 acctcaactg cggtagaccac ctccgaaact tccgcgccag caagcacgcc ttcgatgaca
 1380
 gtgcccacta cggtaggagga gaccccaacg atggaatcta gcgtcgaaac gcagcaggaa
 1440
 acctcaaccc ctgcaaccgc aacgccccag cgagccgaca ccatcgaacc gaccgaggaa
 1500
 gccacgtcgc aggaggaaac gactgcacgc cagacgcagt ctccagcagt ggaagcacca
 1560
 accgcggtcc aagaaacagt tgcgccgacg tccaccctt ag
 1602

<210> 17
 <211> 711
 <212> PRT
 <213> Escherichia coli SpeC
 <400> 17
 Met Lys Ser Met Asn Ile Ala Ala Ser Ser Glu Leu Val Ser Arg Leu
 1 5 10 15
 Ser Ser His Arg Arg Val Val Ala Leu Gly Asp Thr Asp Phe Thr Asp
 20 25 30
 Val Ala Ala Val Val Ile Thr Ala Ala Asp Ser Arg Ser Gly Ile Leu
 35 40 45
 Ala Leu Leu Lys Arg Thr Gly Phe His Leu Pro Val Phe Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Glu His Ala Val Glu Leu Pro Ala Gly Val Thr Ala Val Ile Asn Gly
 65 70 75 80
 Asn Glu Gln Gln Trp Leu Glu Leu Glu Ser Ala Ala Cys Gln Tyr Glu
 85 90 95
 Glu Asn Leu Leu Pro Pro Phe Tyr Asp Thr Leu Thr Gln Tyr Val Glu
 100 105 110
 Met Gly Asn Ser Thr Phe Ala Cys Pro Gly His Gln His Gly Ala Phe
 115 120 125
 Phe Lys Lys His Pro Ala Gly Arg His Phe Tyr Asp Phe Phe Gly Glu
 130 135 140
 Asn Val Phe Arg Ala Asp Met Cys Asn Ala Asp Val Lys Leu Gly Asp
 145 150 155 160
 Leu Leu Ile His Glu Gly Ser Ala Lys Asp Ala Gln Lys Phe Ala Ala
 165 170 175
 Lys Val Phe His Ala Asp Lys Thr Tyr Phe Val Leu Asn Gly Thr Ser
 180 185 190
 Ala Ala Asn Lys Val Val Thr Asn Ala Leu Leu Thr Arg Gly Asp Leu
 195 200 205
 Val Leu Phe Asp Arg Asn Asn His Lys Ser Asn His His Gly Ala Leu
 210 215 220
 Ile Gln Ala Gly Ala Thr Pro Val Tyr Leu Glu Ala Ser Arg Asn Pro
 225 230 235 240
 Phe Gly Phe Ile Gly Gly Ile Asp Ala His Cys Phe Asn Glu Glu Tyr
 245 250 255
 Leu Arg Gln Gln Ile Arg Asp Val Ala Pro Glu Lys Ala Asp Leu Pro

	260		265		270										
Arg	Pro	Tyr	Arg	Leu	Ala	Ile	Ile	Gln	Leu	Gly	Thr	Tyr	Asp	Gly	Thr
	275						280					285			
Val	Tyr	Asn	Ala	Arg	Gln	Val	Ile	Asp	Thr	Val	Gly	His	Leu	Cys	Asp
	290					295					300				
Tyr	Ile	Leu	Phe	Asp	Ser	Ala	Trp	Val	Gly	Tyr	Glu	Gln	Phe	Ile	Pro
305					310					315					320
Met	Met	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Leu	Leu	Leu	Glu	Leu	Asn	Glu	Asn	Asp
			325					330					335		
Pro	Gly	Ile	Phe	Val	Thr	Gln	Ser	Val	His	Lys	Gln	Gln	Ala	Gly	Phe
		340						345					350		
Ser	Gln	Thr	Ser	Gln	Ile	His	Lys	Lys	Asp	Asn	His	Ile	Arg	Gly	Gln
		355					360					365			
Ala	Arg	Phe	Cys	Pro	His	Lys	Arg	Leu	Asn	Asn	Ala	Phe	Met	Leu	His
	370					375					380				
Ala	Ser	Thr	Ser	Pro	Phe	Tyr	Pro	Leu	Phe	Ala	Ala	Leu	Asp	Val	Asn
385					390					395					400
Ala	Lys	Ile	His	Glu	Gly	Glu	Ser	Gly	Arg	Arg	Leu	Trp	Ala	Glu	Cys
			405					410					415		
Val	Glu	Ile	Gly	Ile	Glu	Ala	Arg	Lys	Ala	Ile	Leu	Ala	Arg	Cys	Lys
		420					425					430			
Leu	Phe	Arg	Pro	Phe	Ile	Pro	Pro	Val	Val	Asp	Gly	Lys	Leu	Trp	Gln
	435					440					445				
Asp	Tyr	Pro	Thr	Ser	Val	Leu	Ala	Ser	Asp	Arg	Arg	Phe	Phe	Ser	Phe
	450				455					460					
Glu	Pro	Gly	Ala	Lys	Trp	His	Gly	Phe	Glu	Gly	Tyr	Ala	Ala	Asp	Gln
465					470				475						480
Tyr	Phe	Val	Asp	Pro	Cys	Lys	Leu	Leu	Leu	Thr	Thr	Pro	Gly	Ile	Asp
			485					490					495		
Ala	Glu	Thr	Gly	Glu	Tyr	Ser	Asp	Phe	Gly	Val	Pro	Ala	Thr	Ile	Leu
		500					505					510			
Ala	His	Tyr	Leu	Arg	Glu	Asn	Gly	Ile	Val	Pro	Glu	Lys	Cys	Asp	Leu
	515					520					525				
Asn	Ser	Ile	Leu	Phe	Leu	Leu	Thr	Pro	Ala	Glu	Ser	His	Glu	Lys	Leu
	530				535					540					
Ala	Gln	Leu	Val	Ala	Met	Leu	Ala	Gln	Phe	Glu	Gln	His	Ile	Glu	Asp
545				550				555							560
Asp	Ser	Pro	Leu	Val	Glu	Val	Leu	Pro	Ser	Val	Tyr	Asn	Lys	Tyr	Pro
		565					570						575		
Val	Arg	Tyr	Arg	Asp	Tyr	Thr	Leu	Arg	Gln	Leu	Cys	Gln	Glu	Met	His
		580					585						590		
Asp	Leu	Tyr	Val	Ser	Phe	Asp	Val	Lys	Asp	Leu	Gln	Lys	Ala	Met	Phe
	595					600					605				
Arg	Gln	Gln	Ser	Phe	Pro	Ser	Val	Val	Met	Asn	Pro	Gln	Asp	Ala	His
	610				615						620				
Ser	Ala	Tyr	Ile	Arg	Gly	Asp	Val	Glu	Leu	Val	Arg	Ile	Arg	Asp	Ala
625				630				635							640
Glu	Gly	Arg	Ile	Ala	Ala	Glu	Gly	Ala	Leu	Pro	Tyr	Pro	Pro	Gly	Val
			645					650					655		
Leu	Cys	Val	Val	Pro	Gly	Glu	Val	Trp	Gly	Gly	Ala	Val	Gln	Arg	Tyr
		660					665					670			
Phe	Leu	Ala	Leu	Glu	Glu	Gly	Val	Asn	Leu	Leu	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro
	675					680					685				
Glu	Leu	Gln	Gly	Val	Tyr	Ser	Glu	Thr	Asp	Ala	Asp	Gly	Val	Lys	Arg
	690				695						700				
Leu	Tyr	Gly	Tyr	Val	Leu	Lys									
705					710										

<210> 18
 <211> 2136
 <212> ADN

```

<213>      Escherichia coli speC
<400>      18
atgaaatcaa tgaatattgc cgccagtagt gaactggtat cccgactttc ttctcatcgt
60
cgcggtggtgg cggttgggaga tactgatttt acggacgtcg cggcagtcgt cattaccgct
120
gcggatagtc gcagtggcat tcttgcgttg ctttaagcgca ccggttttca tctaccggtg
180
tttttgtatt ccgaacatgc tggtgaatta cctgcgggcg ttacggcggt aatcaacggc
240
aacgagcagc agtggtctga gctggaatcc gcagcctgtc agtatgaaga gaatttgctg
300
ccaccgtttt atgacacgct gacgcagtag gttgagatgg gcaacagcac ctttgcttgc
360
cctggacatc aacatggtgc gttttttaaa aagcatcctg ccggacgcca tttttacgat
420
ttctttggtg agaacgtctt tcgcgccgat atgtgtaacg ctgacgtaaa attgggcgat
480
ctgcttattc atgaaggatc ggcgaaagat gcgcagaaat tcgcagccaa agtctttcat
540
gccgataaaa cctattttgt gctgaacggc acatcggcag cgaataaagt ggtgacgaat
600
gcgctgttaa cgcggtggcg tctggtgctc ttcgaccgta acaaccataa gtcgaatcat
660
cacggcgcgc tgattcaggc gggggcgacg ccggtctatc tggaagcttc acgcaacccg
720
tttggtttca ttggcggtat tgatgcgcac tgttttaatg aagagtatct gcgccagcaa
780
attcgcgacg ttgcgccaga aaaagccgac ctgccgcgcc cgtatcgctt ggcgattatt
840
cagctgggaa cctatgacgg cactgtctat aacgcccgtc aggtgatcga taccgttggg
900
catctgtgtg attacattct gtttgattcc gcgtgggtcg gttatgaaca atttatcccg
960
atgatggcgg atagctcgcc gctgctgtta gaacttaacg aaaacgatcc ggggatcttt
1020
gtgactcagt cgggtgcacaa acagcaggcg ggattctcac agacgtcgca gatccataaa
1080
aaagataacc atatccgagg acaggcgcggt ttttgcccgc ataagcggtt gaataacgcc
1140
tttatgctcc atgcttctac cagccctttc tatccgctgt ttgctgcact ggatgttaac
1200
gccaaaattc atgaagggga gagtgggcgt cggctgtggg ctgagtgtgt tgagataggg
1260
attgaagcgc gcaaggctat tcttgcgcgc tgtaagctgt tccgcccgtt tatcccgcgc
1320
gttggtgatg gcaaattgtg gcaggattat ccgacatcag tgttagccag cgaccgccgt
1380
tttttcagtt ttgagccggg ggcgaagtgg cacggctttg aaggatatgc cgcggatcag
1440
tattttgttg atccgtgcaa gctgttactc actacaccag gtatcgatgc cgaaaccggc
1500
gaatatagcg actttggcgt tccggcgacg attctggcgc actatctgcg tgagaacggc
1560
attgtgccgg agaagtgcga tctcaactcc attctgtttt tattaactcc ggcggaaagc
1620
cacgagaagc tggcacaact ggtggcgatg ctggcgcaat ttgaacagca tattgaggat
1680
gactcgccgc tggttgaggt gttgccgagc gtttataaca agtatccggt gcgctatcgc
1740

```

gactacaccc tgcgccagtt gtgtcaggag atgcacgatac tgtatgtcag tttcgacgtc
 1800
 aaagacctac aaaaagcgat gttccgccag cagagtttcc cgtcagtggg gatgaacccc
 1860
 caggatgcgc atagcgctta tattcgcggt gacgtggagt tggcgcgat tcgtgatgcc
 1920
 gaagggcgaa ttgcggcaga aggggcgttg ccttatccac ctggcgtgct ttgcgtggta
 1980
 cccggggaag tctgggggtg ggcgggttcaa cgttatttcc ttgcactgga agaaggggtg
 2040
 aatttggtgc cgggattttc gccggagctg caagggtgtt atagcgaaac cgatgcggat
 2100
 ggcgtgaaac gggtgtacgg ttatgtgttg aagtaa
 2136

<210> 19
 <211> 357
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 ArgC
 <400> 19
 Met Ile Met His Asn Val Tyr Gly Val Thr Met Thr Ile Lys Val Ala
 1 5 10 15
 Ile Ala Gly Ala Ser Gly Tyr Ala Gly Gly Glu Ile Leu Arg Leu Leu
 20 25 30
 Leu Gly His Pro Ala Tyr Ala Ser Gly Glu Leu Glu Ile Gly Ala Leu
 35 40 45
 Thr Ala Ala Ser Thr Ala Gly Ser Thr Leu Gly Glu Leu Met Pro His
 50 55 60
 Ile Pro Gln Leu Ala Asp Arg Val Ile Gln Asp Thr Thr Ala Glu Thr
 65 70 75 80
 Leu Ala Gly His Asp Val Val Phe Leu Gly Leu Pro His Gly Phe Ser
 85 90 95
 Ala Glu Ile Ala Leu Gln Leu Gly Pro Asp Val Thr Val Ile Asp Cys
 100 105 110
 Ala Ala Asp Phe Arg Leu Gln Asn Ala Ala Asp Trp Glu Lys Phe Tyr
 115 120 125
 Gly Ser Glu His Gln Gly Thr Trp Pro Tyr Gly Ile Pro Glu Met Pro
 130 135 140
 Gly His Arg Glu Ala Leu Arg Gly Ala Lys Arg Val Ala Val Pro Gly
 145 150 155 160
 Cys Phe Pro Thr Gly Ala Thr Leu Ala Leu Leu Pro Ala Val Gln Ala
 165 170 175
 Gly Leu Ile Glu Pro Asp Val Ser Val Val Ser Ile Thr Gly Val Ser
 180 185 190
 Gly Ala Gly Lys Lys Ala Ser Val Ala Leu Leu Gly Ser Glu Thr Met
 195 200 205
 Gly Ser Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Ser Gly Lys His Arg His Thr Pro
 210 215 220
 Glu Ile Ala Gln Asn Leu Gly Glu Val Ser Asp Lys Pro Val Lys Val
 225 230 235 240
 Ser Phe Thr Pro Val Leu Ala Pro Leu Pro Arg Gly Ile Leu Thr Thr
 245 250 255
 Ala Thr Ala Pro Leu Lys Glu Gly Val Thr Ala Glu Gln Ala Arg Ala
 260 265 270
 Val Tyr Glu Glu Phe Tyr Ala Gln Glu Thr Phe Val His Val Leu Pro
 275 280 285
 Glu Gly Ala Gln Pro Gln Thr Gln Ala Val Leu Gly Ser Asn Met Cys
 290 295 300
 His Val Gln Val Glu Ile Asp Glu Glu Ala Gly Lys Val Leu Val Thr
 305 310 315 320
 Ser Ala Ile Asp Asn Leu Thr Lys Gly Thr Ala Gly Ala Ala Val Gln

325 330 335
 Cys Met Asn Leu Ser Val Gly Phe Asp Glu Ala Ala Gly Leu Pro Gln
 340 345 350
 Val Gly Val Ala Pro
 355

<210> 20
 <211> 1074
 <212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 argC
 <400> 20
 atgatcatgc ataacgtgta tgggtgtaact atgacaatca aggttgcaat cgcaggagcc
 60
 agtggatatg ccggcggaga aatccttcgt ctccttttag gccatccagc ttatgcatct
 120
 ggtgaactag aaatcggagc actcaccgcg gcatcaaccg caggcagcac gctcggtgaa
 180
 ttgatgccac acattccgca gttggcggat cgtgttattc aagacaccac agctgaaaact
 240
 ctagccggtc atgatgtcgt atttctagga cttccacacg gattctctgc agaaattgca
 300
 cttcagctcg gaccagatgt cacagtgatt gactgtgcag ctgactttcg tctgcaaaat
 360
 gctgcagatt gggagaagtt ctacggctca gagcaccagg gaacatggcc ttatggcatt
 420
 ccagaaatgc caggacaccg cgaggctcct cgtgggtgcta agcgtgtagc agtgccagga
 480
 tgtttcccaa ccggtgcaac cttggtcctt cttcctgcgg ttcaagcggg acttatcgag
 540
 ccagatgttt ccgtagtgtc catcaccggc gtatcagggtg caggtaagaa agcatctgtt
 600
 gcactacttg gctcggaaac catgggttca ctcaaggcgt acaacacctc cggaaagcac
 660
 cgccacaccc cggaaattgc ccagaacctc ggcgaggtca gcgacaagcc agtcaagggtg
 720
 agcttcaccc cagtgtttgc accgttacct cgcggaattc tcaccactgc aaccgcacct
 780
 ttgaaagaag gcgttaccgc agaacagggt cgcgcagtat atgaagagtt ctatgcacag
 840
 gaaaccttcg tgcattgttct tccagaagggt gcacagccac aaaccaagc agttcttggc
 900
 tccaacatgt gccacgtgca ggtagaaatt gatgaggaag caggcaaagt cttgttacc
 960
 tccgcaatcg ataacctcac caagggaact gccggcgccg ctgttcagtg catgaactta
 1020
 agcgttggtt ttgatgaggc agcaggcctg ccacaggctg gcgtcgcacc ttaa
 1074

<210> 21
 <211> 347
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 ArgC
 <400> 21
 Met Thr Ile Lys Val Ala Ile Ala Gly Ala Ser Gly Tyr Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Glu Ile Leu Arg Leu Leu Leu Gly His Pro Ala Tyr Ala Ser Gly Glu
 20 25 30
 Leu Glu Ile Gly Ala Leu Thr Ala Ala Ser Thr Ala Gly Ser Thr Leu
 35 40 45
 Gly Glu Leu Met Pro His Ile Pro Gln Leu Ala Asp Arg Val Ile Gln
 50 55 60

Asp Thr Thr Ala Glu Thr Leu Ala Gly His Asp Val Val Phe Leu Gly
 65 70 75 80
 Leu Pro His Gly Phe Ser Ala Glu Ile Ala Leu Gln Leu Gly Pro Asp
 85 90 95
 Val Thr Val Ile Asp Cys Ala Ala Asp Phe Arg Leu Gln Asn Ala Ala
 100 105 110
 Asp Trp Glu Lys Phe Tyr Gly Ser Glu His Gln Gly Thr Trp Pro Tyr
 115 120 125
 Gly Ile Pro Glu Ile Pro Gly His Arg Glu Ala Leu Arg Gly Ala Lys
 130 135 140
 Arg Val Ala Val Pro Gly Cys Phe Pro Thr Gly Ala Thr Leu Ala Leu
 145 150 155 160
 Leu Pro Ala Val Gln Ala Gly Leu Ile Glu Pro Asp Val Ser Val Val
 165 170 175
 Ser Ile Thr Gly Val Ser Gly Ala Gly Lys Lys Ala Ser Val Ala Leu
 180 185 190
 Leu Gly Ser Glu Thr Met Gly Ser Leu Lys Ala Tyr Asn Thr Ser Gly
 195 200 205
 Lys His Arg His Thr Pro Glu Ile Ala Gln Asn Leu Gly Glu Val Ser
 210 215 220
 Asp Lys Pro Val Lys Val Ser Phe Thr Pro Val Leu Ala Pro Leu Pro
 225 230 235 240
 Arg Gly Ile Leu Thr Thr Ala Thr Ala Pro Leu Lys Glu Gly Val Thr
 245 250 255
 Ala Glu Gln Ala Arg Ala Val Tyr Glu Glu Phe Tyr Ala Gln Glu Thr
 260 265 270
 Phe Val His Val Leu Pro Glu Gly Ala Gln Pro Gln Thr Gln Ala Val
 275 280 285
 Leu Gly Ser Asn Met Cys His Val Gln Val Glu Ile Asp Glu Glu Ala
 290 295 300
 Gly Lys Val Leu Val Thr Ser Ala Ile Asp Asn Leu Thr Lys Gly Thr
 305 310 315 320
 Ala Gly Ala Ala Val Gln Cys Met Asn Leu Ser Val Gly Phe Asp Glu
 325 330 335
 Ala Ala Gly Leu Pro Gln Val Gly Val Ala Pro
 340 345

<210> 22

<211> 1044

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 argC

<400> 22

atgacaatca aggttgcaat cgcaggagcc agtggatatg ccggcggaga aatccttcgt
 60
 ctcttttttag gccatccagc ttatgcatct ggtgaactag aaatcggagc actcaccgcg
 120
 gcatcaaccg caggcagcac gctcggtgaa ttgatgccac acattccgca gttggcggat
 180
 cgtgttattc aagacaccac agctgaaact ctagccggtc atgatgtcgt atttctagga
 240
 cttccacacg gattctctgc agaaattgca cttcagctcg gaccagatgt cacagtgatt
 300
 gactgtgcag ctgactttcg tctgcaaaat gctgcagatt gggagaagtt ctacggctca
 360
 gagcaccagg gaacatggcc ttatggcatt ccagaaatac caggacaccg cgaggctctt
 420
 cgtggtgcta agcgtgtagc agtgccagga tgtttcccaa ccggtgcaac cttggctctt
 480
 cttcctgcgg ttcaagcggg acttatcgag ccagatgttt ccgtagtgc catcaccggc
 540

gtatcaggtg caggtaagaa agcatctgtt gcactacttg gctcggaaac catgggttca
 600
 ctcaaggcgt acaacacctc cggaaagcac cgccacaccc cggaaattgc ccagaacctc
 660
 ggcgaagtca gcgacaagcc agtcaaggtg agcttcaccc cagtgccttg accgttacct
 720
 cgcggaattc tcaccactgc aaccgcacct ttgaaagaag gcgttaccgc agagcaggct
 780
 cgcgcagtat atgaagagtt ctatgcacag gaaaccttcg tgcattgttct tccagaaggt
 840
 gcacagccac aaacccaagc agttcttggc tccaacatgt gccacgtgca ggtagaaaatt
 900
 gatgaggaag caggcaaagt ccttggttacc tccgcaatcg ataacctcac caagggaact
 960
 gccggcgccg ctgttcagtg catgaactta agcgttggct ttgatgaggc agcaggcctg
 1020
 ccacaggtcg gcgtcgccacc ttaa
 1044

<210> 23
 <211> 388
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 ArgJ
 <400> 23
 Met Ala Glu Lys Gly Ile Thr Ala Pro Lys Gly Phe Val Ala Ser Ala
 1 5 10 15
 Thr Thr Ala Gly Ile Lys Ala Ser Gly Asn Pro Asp Met Ala Leu Val
 20 25 30
 Val Asn Gln Gly Pro Glu Phe Ser Ala Ala Val Phe Thr Arg Asn
 35 40 45
 Arg Val Phe Ala Ala Pro Val Lys Val Ser Arg Glu Asn Val Ala Asp
 50 55 60
 Gly Gln Ile Arg Ala Val Leu Tyr Asn Ala Gly Asn Ala Asn Ala Cys
 65 70 75 80
 Asn Gly Leu Gln Gly Glu Lys Asp Ala Arg Glu Ser Val Ser His Leu
 85 90 95
 Ala Gln Asn Leu Gly Leu Glu Asp Ser Asp Ile Gly Val Cys Ser Thr
 100 105 110
 Gly Leu Ile Gly Glu Leu Leu Pro Met Asp Lys Leu Asn Ala Gly Ile
 115 120 125
 Asp Gln Leu Thr Ala Glu Gly Ala Leu Gly Asp Asn Gly Ala Ala Ala
 130 135 140
 Ala Lys Ala Ile Met Thr Thr Asp Thr Val Asp Lys Glu Thr Val Val
 145 150 155 160
 Phe Ala Asp Gly Trp Thr Val Gly Gly Met Gly Lys Gly Val Gly Met
 165 170 175
 Met Ala Pro Ser Leu Ala Thr Met Leu Val Cys Leu Thr Thr Asp Ala
 180 185 190
 Ser Val Thr Gln Glu Met Ala Gln Ile Ala Leu Ala Asn Ala Thr Ala
 195 200 205
 Val Thr Phe Asp Thr Leu Asp Ile Asp Gly Ser Thr Ser Thr Asn Asp
 210 215 220
 Thr Val Phe Leu Leu Ala Ser Gly Ala Ser Gly Ile Thr Pro Thr Gln
 225 230 235 240
 Asp Glu Leu Asn Asp Ala Val Tyr Ala Ala Cys Ser Asp Ile Ala Ala
 245 250 255
 Lys Leu Gln Ala Asp Ala Glu Gly Val Thr Lys Arg Val Ala Val Thr
 260 265 270
 Val Val Gly Thr Thr Asn Asn Glu Gln Ala Ile Asn Ala Ala Arg Thr
 275 280 285
 Val Ala Arg Asp Asn Leu Phe Lys Cys Ala Met Phe Gly Ser Asp Pro

290	295	300
Asn Trp Gly Arg Val	Leu Ala Ala Val Gly Met	Ala Asp Ala Asp Met
305	310	315
Glu Pro Glu Lys Ile	Ser Val Phe Phe Asn Gly	Gln Ala Val Cys Leu
325	330	335
Asp Ser Thr Gly Ala	Pro Gly Ala Arg Glu Val	Asp Leu Ser Gly Ala
340	345	350
Asp Ile Asp Val Arg	Ile Asp Leu Gly Thr Ser	Gly Glu Gly Gln Ala
355	360	365
Thr Val Arg Thr Thr	Asp Leu Ser Phe Ser Tyr	Val Glu Ile Asn Ser
370	375	380
Ala Tyr Ser Ser		
385		

<210> 24

<211> 1167

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 argJ

<400> 24

atggcagaaa aaggcattac cgcgccgaaa ggcttcgttg cttctgcaac gaccgcgggt
 60
 attaaagctt ctggcaatcc tgacatggcg ttggtgggta accaggggtcc agagttttcc
 120
 gcagcggccg tgtttacacg taaccgagtt ttcgcagcgc ctgtgaagggt gagccgagag
 180
 aacgttgctg atggccagat cagggctggt ttgtacaacg ctggtaatgc taatgcgtgt
 240
 aatggtctgc agggtgagaa ggatgctcgt gagtctgttt ctcatctagc tcaaaatttg
 300
 ggcttgaggg attccgatat tgggtgtgtg tccactggtc ttattgggtga gttgcttccg
 360
 atggataagc tcaatgcagg tattgatcag ctgaccgctg agggcgcttt gggtgacaat
 420
 ggtgcagctg ctgccaaggc gatcatgacc actgacacgg tggataagga aaccgtcgtg
 480
 tttgctgatg gttggactgt cggcggaatg ggcaagggcg tgggcatgat ggcgccgtct
 540
 cttgccacca tgctgggtctg cttgaccact gatgcatccg ttactcagga aatggctcag
 600
 atcgcgctgg ctaatgctac ggccgttacg tttgacaccc tggatattga tggatcaacc
 660
 tccaccaatg acaccgtgtt cctgctggca tctggcgcta gcggaatcac cccaactcag
 720
 gatgaactca acgatgcggt gtacgcagct tgttctgata tcgcagcgaa gcttcaggct
 780
 gatgcagagg gtgtgaccaa gcgcgttgct gtgacagtgg tgggaaccac caacaacgag
 840
 caggcgatta atcgggctcg cactgttgct cgtgacaatt tgttcaagtg cgcaatgttt
 900
 ggatctgata caaactgggg tcgcgtgttg gctgcagtcg gcatggctga tgctgatatg
 960
 gaaccagaga agattttctgt gttcttcaat ggtcaagcag tatgccttga ttccactggc
 1020
 gctcctgggtg ctcgtagggt ggatctttcc ggcgctgaca ttgatgtccg aattgatttg
 1080
 ggcaccagtg gggaaggcca ggcaacagtt cgaaccactg acctgagctt ctctacgtg
 1140
 gagatcaact ccgcgtacag ctcttaa
 1167

<210> 25

```

<211>      388
<212>      PRT
<213>      Corynebacterium glutamicum ATCC13869 ArgJ
<400>      25
Met Ala Lys Lys Gly Ile Thr Ala Pro Lys Gly Phe Val Ala Ser Ala
 1          5          10          15
Thr Thr Ala Gly Ile Lys Ala Ser Gly Asn Pro Asp Met Ala Leu Val
          20          25          30
Val Asn Gln Gly Pro Glu Phe Ser Ala Ala Ala Val Phe Thr Arg Asn
          35          40          45
Arg Val Phe Ala Ala Pro Val Lys Val Ser Arg Glu Asn Val Ala Asp
          50          55          60
Gly Gln Ile Arg Ala Val Leu Tyr Asn Ala Gly Asn Ala Asn Ala Cys
          65          70          75          80
Asn Gly Leu Gln Gly Glu Lys Asp Ala Arg Glu Ser Val Ser His Leu
          85          90          95
Ala Gln Asn Leu Gly Leu Glu Asp Ser Asp Ile Gly Val Cys Ser Thr
          100          105          110
Gly Leu Ile Gly Glu Leu Leu Pro Met Asp Lys Leu Asn Thr Gly Ile
          115          120          125
Asp Gln Leu Thr Ala Glu Gly Ala Leu Gly Asp Asn Gly Ala Ala Ala
          130          135          140
Ala Lys Ala Ile Met Thr Thr Asp Thr Val Asp Lys Glu Thr Val Val
          145          150          155          160
Phe Ala Asp Gly Trp Thr Val Gly Gly Met Gly Lys Gly Val Gly Met
          165          170          175
Met Ala Pro Ser Leu Ala Thr Met Leu Val Cys Leu Thr Thr Asp Ala
          180          185          190
Ser Val Thr Gln Glu Met Ala Gln Ile Ala Leu Ala Asn Ala Thr Ala
          195          200          205
Val Thr Phe Asp Thr Leu Asp Ile Asp Gly Ser Thr Ser Thr Asn Asp
          210          215          220
Thr Val Phe Leu Leu Ala Ser Gly Ala Ser Gly Ile Thr Pro Thr Gln
          225          230          235          240
Asp Glu Leu Asn Asp Ala Val Tyr Ala Ala Cys Ser Asp Ile Ala Ala
          245          250          255
Lys Leu Gln Ala Asp Ala Glu Gly Val Thr Lys Arg Val Ala Val Thr
          260          265          270
Val Val Gly Thr Thr Asn Asn Glu Gln Ala Ile Asn Ala Ala Arg Thr
          275          280          285
Val Ala Arg Asp Asn Leu Phe Lys Cys Ala Met Phe Gly Ser Asp Pro
          290          295          300
Asn Trp Gly Arg Val Leu Ala Ala Val Gly Met Ala Asp Ala Asp Met
          305          310          315          320
Glu Pro Glu Lys Ile Ser Val Phe Phe Asn Asp Gln Ala Val Cys Leu
          325          330          335
Asp Ser Thr Gly Ala Pro Gly Ala Arg Glu Val Asp Leu Ser Gly Ala
          340          345          350
Asp Ile Asp Val Arg Ile Asp Leu Gly Thr Ser Gly Glu Gly Gln Ala
          355          360          365
Thr Val Arg Thr Thr Asp Leu Ser Phe Ser Tyr Val Glu Ile Asn Ser
          370          375          380
Ala Tyr Ser Ser
          385

<210>      26
<211>      1167
<212>      ADN
<213>      Corynebacterium glutamicum ATCC13869 argJ
<400>      26

```

atggccaaaa aaggcattac cgcgccgaaa ggcttcggtg cttctgcaac gaccgcgggt
 60
 attaaagctt ctggcaatcc tgacatggcg ttggtgggta accaggggtcc agagttttcc
 120
 gcagcggccg tgtttacacg caaccgagtt ttgcgagcgc ctgtgaaggt gagccgggag
 180
 aacgttgctg atggccagat cagggctggt ttgtacaacg ctggtaaatgc taatgcgtgt
 240
 aatggtctgc aggggtgagaa ggatgctcgt gagtctgttt ctcatctagc tcaaaatttg
 300
 ggcttgaggg attccgatat tgggtgtgtg tccactggtc ttattgggtga gttgcttccg
 360
 atggataagc tcaatacagg tattgatcag ctgaccgtg agggcgcttt ggggtgacaat
 420
 ggtgcagctg ctgccaaggc gatcatgacc actgacacgg tggataagga aaccgtcgtg
 480
 tttgctgatg gttggactgt cggcggaatg ggcaagggcg tgggcatgat ggcgccgtct
 540
 cttgccacca tgctgggtctg cttgaccact gatgcatccg ttactcagga aatgggtcag
 600
 attgcgctgg ctaatgctac ggccggttac tttgacaccc tggatattga tggatcaacc
 660
 tccaccaatg acaccgtggt cctgctggca tctggcgcta gcggaatcac cccaactcag
 720
 gatgaactca acgatgcggt gtacgcagct tgttctgata tcgcagcgaa gcttcaggct
 780
 gatgcagagg ggggtgaccaa gcgcggttgc gtgacagtgg tgggaaccac caacaacgag
 840
 caggcgatca atgcggctcg caccggttgc cgtgacaatt tgttcaagtg cgcaatgttt
 900
 ggatctgate caaactgggg tcgcgtgttg gctgcagtcg gcatggctga tgctgatatg
 960
 gaaccagaga agattttctgt gttcttcaat gatcaagcag tatgccttga ttccactggc
 1020
 gctcctgggtg ctctgagagt ggatctttcc ggcgctgaca ttgatgtccg aattgatttg
 1080
 ggcaccagtg gggaaggcca ggcaacagtt cgaaccactg acctgagctt ctctacgtg
 1140
 gagatcaact ccgcgtacag ctcttaa
 1167

<210> 27

<211> 317

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 ArgB

<400> 27

Met	Asn	Asp	Leu	Ile	Lys	Asp	Leu	Gly	Ser	Glu	Val	Arg	Ala	Asn	Val
1				5					10					15	
Leu	Ala	Glu	Ala	Leu	Pro	Trp	Leu	Gln	His	Phe	Arg	Asp	Lys	Ile	Val
			20					25					30		
Val	Val	Lys	Tyr	Gly	Gly	Asn	Ala	Met	Val	Asp	Asp	Asp	Leu	Lys	Ala
		35					40					45			
Ala	Phe	Ala	Ala	Asp	Met	Val	Phe	Leu	Arg	Thr	Val	Gly	Ala	Lys	Pro
	50					55					60				
Val	Val	Val	His	Gly	Gly	Gly	Pro	Gln	Ile	Ser	Glu	Met	Leu	Asn	Arg
	65				70					75				80	
Val	Gly	Leu	Gln	Gly	Glu	Phe	Lys	Gly	Gly	Phe	Arg	Val	Thr	Thr	Pro
			85					90					95		
Glu	Val	Met	Asp	Ile	Val	Arg	Met	Val	Leu	Phe	Gly	Gln	Val	Gly	Arg
		100						105					110		
Asp	Leu	Val	Gly	Leu	Ile	Asn	Ser	His	Gly	Pro	Tyr	Ala	Val	Gly	Thr

	115		120		125	
Ser	Gly	Glu	Asp	Ala	Gly	Leu
	130		135		140	
Ile	Asp	Gly	Val	Pro	Thr	Asp
145			150		155	
Val	Asp	Ala	Ser	Ser	Leu	Met
		165			170	
Val	Val	Ser	Thr	Ile	Ala	Pro
	180		185		190	
Asn	Ala	Asp	Thr	Ala	Ala	Gly
	195		200		205	
Arg	Leu	Leu	Val	Leu	Thr	Asn
	210		215		220	
Asp	Lys	Ser	Ser	Leu	Val	Ser
225			230		235	
Ile	Leu	Pro	Gly	Leu	Asp	Ser
		245			250	
Leu	Asn	Ala	Val	Arg	Gly	Gly
	260		265		270	
Arg	Ile	Ala	His	Ser	Val	Leu
	275		280		285	
Gly	Thr	Met	Val	Leu	Pro	Asp
	290		295		300	
Gly	Thr	Val	Phe	Arg	Lys	Asp
305			310		315	

<210> 28
 <211> 954
 <212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 argB
 <400> 28
 atgaatgact tgatcaaaga tttaggctct gaggtgcgcg caaatgtcct cgctgaggcg
 60
 ttgccatggt tgcagcactt ccgcgacaag attgttgtcg tgaaatatgg cggaacgcc
 120
 atggtggatg atgatctcaa ggctgctttt gctgccgaca tggctcttctt gcgcaccgtg
 180
 ggcgcaaaac cagtgggtgg gcacgggtgg ggacctcaga tttctgagat gctaaaccgt
 240
 gtgggtctcc agggcgagtt caagggtggg ttccgtgtga ccaactcctga ggtcatggac
 300
 attgtgcgca tgggtgctctt tggtcagggtc ggtcgcgatt tagttggttt gatcaactct
 360
 catggccctt acgctgtggg aacctccggt gaggatgccg gcctgtttac cgcgcagaag
 420
 cgcattggtca acatcgatgg cgtaccact gatattggtt tggtcggaga catcattaat
 480
 gtcgatgcct cttccttgat ggatatcatc gaggccggtc gcattcctgt ggtctctacg
 540
 attgctccag gcgaagacgg ccagatttac aacattaacg ccgataaccgc agcaggtgct
 600
 ttggctgcag cgattggtgc agaacgcctg ctggttctca ccaatgtgga aggtctgtac
 660
 accgattggc ctgataagag ctactgggtg tccaagatca aggccaccga gctggaggcc
 720
 attcttccgg gacttgattc cggcatgatt ccaaagatgg agtcttgctt gaacgcgggtg
 780
 cgtgggggag taagcgtgc tcatgtcatt gacggccgca tcgcgcactc ggtgttgctg
 840
 gagcttttga ccatgggtgg aattggcacg atggtgctgc cggatgtttt tgatcgggag
 900

aattatcctg aaggcaccgt ttttagaaaa gacgacaagg atgggggaact gtaa
954

<210> 29

<211> 317

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 ArgB

<400> 29

```

Met Asn Asp Leu Ile Lys Asp Leu Gly Ser Glu Val Arg Ala Asn Val
 1           5           10           15
Leu Ala Glu Ala Leu Pro Trp Leu Gln His Phe Arg Asp Lys Ile Val
           20           25           30
Val Val Lys Tyr Gly Gly Asn Ala Met Val Asp Asp Asp Leu Lys Ala
           35           40           45
Ala Phe Ala Ala Asp Met Val Phe Leu Arg Thr Val Gly Ala Lys Pro
           50           55           60
Val Val Val His Gly Gly Gly Pro Gln Ile Ser Glu Met Leu Asn Arg
           65           70           75           80
Val Gly Leu Gln Gly Glu Phe Lys Gly Gly Phe Arg Val Thr Thr Pro
           85           90           95
Glu Val Met Asp Ile Val Arg Met Val Leu Phe Gly Gln Val Gly Arg
           100          105          110
Asp Leu Val Gly Leu Ile Asn Ser His Gly Pro Tyr Ala Val Gly Thr
           115          120          125
Ser Gly Glu Asp Ala Gly Leu Phe Thr Ala Gln Lys Arg Met Val Asn
           130          135          140
Ile Asp Gly Val Pro Thr Asp Ile Gly Leu Val Gly Asp Ile Ile Asn
           145          150          155          160
Val Asp Ala Ser Ser Leu Met Asp Ile Ile Glu Ala Gly Arg Ile Pro
           165          170          175
Val Val Ser Thr Ile Ala Pro Gly Glu Asp Gly Gln Ile Tyr Asn Ile
           180          185          190
Asn Ala Asp Thr Ala Ala Gly Ala Leu Ala Ala Ala Ile Gly Ala Glu
           195          200          205
Arg Leu Leu Val Leu Thr Asn Val Glu Gly Leu Tyr Thr Asp Trp Pro
           210          215          220
Asp Lys Ser Ser Leu Val Ser Lys Ile Lys Ala Thr Glu Leu Glu Ala
           225          230          235          240
Ile Leu Pro Gly Leu Asp Ser Gly Met Ile Pro Lys Met Glu Ser Cys
           245          250          255
Leu Asn Ala Val Arg Gly Gly Val Ser Ala Ala His Val Ile Asp Gly
           260          265          270
Arg Ile Ala His Ser Val Leu Leu Glu Leu Leu Thr Met Gly Gly Ile
           275          280          285
Gly Thr Met Val Leu Pro Asp Val Phe Asp Arg Glu Asn Tyr Pro Glu
           290          295          300
Gly Thr Val Phe Arg Lys Asp Asp Lys Asp Gly Glu Leu
           305          310          315

```

<210> 30

<211> 954

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 argB

<400> 30

atgaatgact tgatcaaaga tttaggctct gaggtgcgcg caaatgtcct cgctgaggcg
60
ttgccatggg tgcagcattt ccgcgacaag attgttgtcg tgaaatatgg cggaacgcc
120
atggtggatg atgatctcaa ggctgctttt gctgccgaca tggctcttctt gcgcaccgtg
180

ggcgcaaaac cagtgggtggt gcacgggtggt ggacctcaga tttctgagat gctaaaccgt
 240
 gtgggtctcc agggcgagtt caaggggtggt ttccgtgtga ccactcctga ggtcatggac
 300
 attgtgcgca tgggtgctctt tggtcaggtc ggtcgcgatt tagttggttt gatcaactct
 360
 catggccctt acgctgtggg aacctccggt gaggatgccg gcctgtttac cgcgcagaag
 420
 cgcattggtca acatcgatgg cgtaccact gatattggtt tggtcggaga catcattaat
 480
 gtcgatgcct ctctcttgat ggatatcatc gaggcgggtc gcattcctgt ggtctctacg
 540
 attgctccag gcgaagacgg ccagatttac aacatcaacg ccgataccgc agcgggtgct
 600
 ttggctgcag cgattggtgc agaacgcctg ctggttctca ccaatgtgga aggtctgtac
 660
 accgattggc ctgataagag ctactgggtg tccaagatca aggccaccga gctggaggcc
 720
 attcttccgg gacttgattc cggcatgatt ccaaagatgg agtcttgctt gaatgcggtg
 780
 cgtgggggag taagcgtgc tcatgtcatt gacggcgcga tcgcgcactc ggtgttgctg
 840
 gagcttttga ccatgggtgg aattggcacg atggtgctgc cgatgtttt tgatcgggag
 900
 aattatccgg aaggcaccgt ttttagaaaa gacgacaagg atgggggaact gtaa
 954

<210> 31
 <211> 391
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 ArgD
 <400> 31
 Met Ser Thr Leu Glu Thr Trp Pro Gln Val Ile Ile Asn Thr Tyr Gly
 1 5 10 15
 Thr Pro Pro Val Glu Leu Val Ser Gly Lys Gly Ala Thr Val Thr Asp
 20 25 30
 Asp Gln Gly Asn Val Tyr Ile Asp Leu Leu Ala Gly Ile Ala Val Asn
 35 40 45
 Ala Leu Gly His Ala His Pro Ala Ile Ile Glu Ala Val Thr Asn Gln
 50 55 60
 Ile Gly Gln Leu Gly His Val Ser Asn Leu Phe Ala Ser Arg Pro Val
 65 70 75 80
 Val Glu Val Ala Glu Leu Ile Lys Arg Phe Ser Leu Asp Asp Ala
 85 90 95
 Thr Leu Ala Ala Gln Thr Arg Val Phe Phe Cys Asn Ser Gly Ala Glu
 100 105 110
 Ala Asn Glu Ala Ala Phe Lys Ile Ala Arg Leu Thr Gly Arg Ser Arg
 115 120 125
 Ile Leu Ala Ala Val His Gly Phe His Gly Arg Thr Met Gly Ser Leu
 130 135 140
 Ala Leu Thr Gly Gln Pro Asp Lys Arg Glu Ala Phe Leu Pro Met Pro
 145 150 155 160
 Ser Gly Val Glu Phe Tyr Pro Tyr Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Arg Lys
 165 170 175
 Met Val Glu Thr Asn Pro Thr Asp Val Ala Ala Ile Phe Leu Glu Pro
 180 185 190
 Ile Gln Gly Glu Thr Gly Val Val Pro Ala Pro Glu Gly Phe Leu Lys
 195 200 205
 Ala Val Arg Glu Leu Cys Asp Glu Tyr Gly Ile Leu Met Ile Thr Asp
 210 215 220
 Glu Val Gln Thr Gly Val Gly Arg Thr Gly Asp Phe Phe Ala His Gln

225					230					235					240		
His	Asp	Gly	Val	Val	Pro	Asp	Val	Val	Thr	Met	Ala	Lys	Gly	Leu	Gly		
				245					250					255			
Gly	Gly	Leu	Pro	Ile	Gly	Ala	Cys	Leu	Ala	Thr	Gly	Arg	Ala	Ala	Glu		
				260					265					270			
Leu	Met	Thr	Pro	Gly	Lys	His	Gly	Thr	Thr	Phe	Gly	Gly	Asn	Pro	Val		
				275					280					285			
Ala	Cys	Ala	Ala	Ala	Lys	Ala	Val	Leu	Ser	Val	Val	Asp	Asp	Ala	Phe		
				290					295					300			
Cys	Ala	Glu	Val	Ala	Arg	Lys	Gly	Glu	Leu	Phe	Lys	Glu	Leu	Leu	Ala		
305					310					315					320		
Lys	Val	Asp	Gly	Val	Val	Asp	Val	Arg	Gly	Arg	Gly	Leu	Met	Leu	Gly		
				325					330					335			
Val	Val	Leu	Glu	Arg	Asp	Val	Ala	Lys	Gln	Ala	Val	Leu	Asp	Gly	Phe		
				340					345					350			
Lys	His	Gly	Val	Ile	Leu	Asn	Ala	Pro	Ala	Asp	Asn	Ile	Ile	Arg	Leu		
				355					360					365			
Thr	Pro	Pro	Leu	Val	Ile	Thr	Asp	Glu	Glu	Ile	Ala	Asp	Ala	Val	Lys		
				370					375					380			
Ala	Ile	Ala	Glu	Thr	Ile	Ala											
385					390												

<210> 32
<211> 1176
<212> ADN
<213> *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 argD
<400> 32

atgagcacgc tggaaacttg gccacaggtc attattaata cgtacggcac cccaccagtt
60
gagctggtgt ccggcaaggg cgcaaccgtc actgatgacc agggcaatgt ctacatcgac
120
ttgctcgcg gcatcgcagt caacgcgttg ggccacgccc acccggcgat catcgaggcg
180
gtcaccaacc agatcggcc aacttggtcac gtctcaaact tgttcgcata caggccccgtc
240
gtcagagtcg ccgaggagct catcaagcgt ttttcgcttg acgacgccac cctcgccgcg
300
caaaccgagg ttttcttctg caactcgggc gccgaagcaa acgaggctgc tttcaagatt
360
gcacgcttga ctggtcgttc ccggattctg gctgcagttc atggtttcca cggccgcacc
420
atgggttccc tcgcgctgac tggccagcca gacaagcgtg aagcgttctt gccaatgcc
480
agcgggtgtg agttctaccc ttacggcgac accgattact tgcgcaaaat ggtagaaacc
540
aaccacaacg atgtggctgc tatcttcttc gagccaatcc aggggtgaaac gggcgttggt
600
ccagcacctg aaggattcct caaggcagtg cgcgagctgt gcgatgagta cggcatcttg
660
atgatcaccg atgaagtcca gactggcggt ggccgtaccg gcgatttctt tgcacatcag
720
cacgatggcg ttgttcccga tgtggtgacc atggccaagg gacttggcgg cggctcttcc
780
atcggtgctt gtttggccac tggccgtgca gctgaattga tgaccccagg caagcacggc
840
accactttcg gtggcaaccc agttgcttgt gcagctgcca aggcagtgtc gtctgttgtc
900
gatgacgctt tctgcgcaga agttgcccg caggggcgagc tgttcaagga acttcttgcc
960
aagggtgacg gcgttgtaga cgtccgtggc aggggcttga tgttgggcgt ggtgctggag
1020

cgcgacgtcg caaagcaagc tggttcttgat gggttttaagc acggcggttat tttgaatgca
 1080
 ccggcgggaca acattatccg tttgacccccg ccgctgggtga tcaccgacga agaaatcgca
 1140
 gacgcagtca aggctattgc cgagacaatc gcataa
 1176

<210> 33
 <211> 391
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 ArgD
 <400> 33
 Met Ser Thr Leu Glu Thr Trp Pro Gln Val Ile Ile Asn Thr Tyr Gly
 1 5 10 15
 Thr Pro Pro Val Glu Leu Val Ser Gly Lys Gly Ala Thr Val Thr Asp
 20 25 30
 Asp Gln Gly Lys Val Tyr Ile Asp Leu Leu Ala Gly Ile Ala Val Asn
 35 40 45
 Ala Leu Gly His Ala His Pro Ala Ile Ile Glu Ala Val Thr Asn Gln
 50 55 60
 Ile Gly Gln Leu Gly His Val Ser Asn Leu Phe Ala Ser Arg Pro Val
 65 70 75 80
 Val Glu Val Ala Glu Leu Ile Lys Arg Phe Ser Leu Asp Asp Ala
 85 90 95
 Thr Leu Ala Ala Gln Thr Arg Val Phe Phe Cys Asn Ser Gly Ala Glu
 100 105 110
 Ala Asn Glu Ala Ala Phe Lys Ile Ala Arg Leu Thr Gly Arg Ser Arg
 115 120 125
 Ile Leu Ala Ala Val His Gly Phe His Gly Arg Thr Met Gly Ser Leu
 130 135 140
 Ala Leu Thr Gly Gln Pro Asp Lys Arg Glu Ala Phe Leu Pro Met Pro
 145 150 155 160
 Ser Gly Val Glu Phe Tyr Pro Tyr Gly Asp Thr Asp Tyr Leu Arg Lys
 165 170 175
 Met Val Glu Thr Asn Pro Thr Asp Val Ala Ala Ile Phe Leu Glu Pro
 180 185 190
 Ile Gln Gly Glu Thr Gly Val Val Pro Ala Pro Glu Gly Phe Leu Lys
 195 200 205
 Ala Val Arg Glu Leu Cys Asp Glu Tyr Gly Ile Leu Met Ile Thr Asp
 210 215 220
 Glu Val Gln Thr Gly Val Gly Arg Thr Gly Asp Phe Phe Ala His Gln
 225 230 235 240
 His Asp Gly Val Val Pro Asp Val Val Thr Met Ala Lys Gly Leu Gly
 245 250 255
 Gly Gly Leu Pro Ile Gly Ala Cys Leu Ala Thr Gly Arg Ala Ala Glu
 260 265 270
 Leu Met Thr Pro Gly Lys His Gly Thr Thr Phe Gly Gly Asn Pro Val
 275 280 285
 Ala Cys Ala Ala Ala Lys Ala Val Leu Ser Val Val Asp Asp Ala Phe
 290 295 300
 Cys Ala Glu Val Thr Arg Lys Gly Glu Leu Phe Lys Glu Leu Leu Ala
 305 310 315 320
 Lys Val Asp Gly Val Val Asp Val Arg Gly Arg Gly Leu Met Leu Gly
 325 330 335
 Val Val Leu Glu Arg Asp Val Ala Lys Gln Ala Val Leu Asp Gly Phe
 340 345 350
 Lys His Gly Val Ile Leu Asn Ala Pro Ala Asp Asn Ile Ile Arg Leu
 355 360 365
 Thr Pro Pro Leu Val Ile Thr Asp Glu Glu Ile Ala Asp Ala Val Lys
 370 375 380
 Ala Ile Ala Glu Thr Ile Ala

385

390

<210> 34
 <211> 1176
 <212> ADN
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 argD
 <400> 34
 atgagcacgc tggaaacttg gccacaggtc attattaata cgtacggcac cccaccagtt
 60
 gagctggtgt cgggcaaggg cgcaaccgtc accgatgacc agggcaaagt ctacatcgac
 120
 ttgctcgcgg gcatcgagc caacgcgttg ggccacgccc acccggcgat catcgaggcg
 180
 gtcaccaacc agatcgcca acttggtcac gtctcaaact tggtcgcatc caggcccgtc
 240
 gtcgaggtcg ccgaggagct catcaagcgt ttttcgcttg acgacgccac cctcgccgcg
 300
 caaacccggg ttttcttctg caactcgggc gccgaagcaa acgaggctgc tttcaagatt
 360
 gcacgcttga ctggctgttc ccggattctg gctgcagttc atggtttcca cggccgcacc
 420
 atgggttccc tcgcgtgac tggccagcca gacaagcgtg aagcattcct gccaatgcca
 480
 agcgggtgtg agttctaccc ttacggcgac accgattact tgcgcaaat ggtagaaacc
 540
 aacccaacgg atgtggctgc tatcttctc gagccaatcc agggtgaaac gggcgttgtt
 600
 ccagcacctg aaggattcct caaggcagtg cgcgagctgt gcgatgagta cggcatcttg
 660
 atgatcacgg atgaagtcca gactggcgtt ggccgtaccg gcgatttctt tgcacatcag
 720
 cacgatggcg ttgttcccga tgtggtgacc atggccaagg gacttggcgg cggctcttccc
 780
 atcgggtgctt gtttggccac tggccgtgca gctgaattga tgaccccagg caagcacggc
 840
 accactttcg gtggcaaccc agttgcttgt gcagctgcca aggcagtgtc gtctgttgtc
 900
 gatgacgctt tctgcgcaga agttaccgc aagggcgagc tggtcaagga acttcttgcc
 960
 aaggttgacg gcgttgtaga cgtccgtggc aggggcttga tggtggcgt ggtgctggag
 1020
 cgcgacgtcg caaagcaagc tgttcttgat ggttttaagc acggcgttat tttgaatgca
 1080
 ccggcggaca acattatccg tttgaccccg ccgctggtga tcaccgacga agaaatcgca
 1140
 gacgcagtca aggctattgc cgagacaatc gcataa
 1176

<210> 35
 <211> 203
 <212> PRT
 <213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 NCg11469
 <400> 35
 Met Ser Pro Thr Val Leu Pro Ala Thr Gln Ala Asp Phe Pro Lys Ile
 1 5 10 15
 Val Asp Val Leu Val Glu Ala Phe Ala Asn Asp Pro Ala Phe Leu Arg
 20 25 30
 Trp Ile Pro Gln Pro Asp Pro Gly Ser Ala Lys Leu Arg Ala Leu Phe
 35 40 45
 Glu Leu Gln Ile Glu Lys Gln Tyr Ala Val Ala Gly Asn Ile Asp Val
 50 55 60

Ala Arg Asp Ser Glu Gly Glu Ile Val Gly Val Ala Leu Trp Asp Arg
65 70 75 80
Pro Asp Gly Asn His Ser Ala Lys Asp Gln Ala Ala Met Leu Pro Arg
85 90 95
Leu Val Ser Ile Phe Gly Ile Lys Ala Ala Gln Val Ala Trp Thr Asp
100 105 110
Leu Ser Ser Ala Arg Phe His Pro Lys Phe Pro His Trp Tyr Leu Tyr
115 120 125
Thr Val Ala Thr Ser Ser Ser Ala Arg Gly Thr Gly Val Gly Ser Ala
130 135 140
Leu Leu Asn His Gly Ile Ala Arg Ala Gly Asp Glu Ala Ile Tyr Leu
145 150 155 160
Glu Ala Thr Ser Thr Arg Ala Ala Gln Leu Tyr Asn Arg Leu Gly Phe
165 170 175
Val Pro Leu Gly Tyr Ile Pro Ser Asp Asp Asp Gly Thr Pro Glu Leu
180 185 190
Ala Met Trp Lys Pro Pro Ala Met Pro Thr Val
195 200

<210> 36
<211> 612
<212> ADN
<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 NCgl1469
<400> 36
atgagtccca cggttttgcc tgctacacaa gctgacttcc ctaagatcgt cgatgttctg
60
gttgaagcat tcgccaacga tccagcattt ttacgatgga tcccgcagcc ggaccccggt
120
tcagcaaagc ttcgagcact tttcgaactg cagattgaga agcagtatgc agtggcggga
180
aatattgatg tcgcgcgtga ttctgaggga gaaatcgtcg gcgtcgcgtt atgggatcgg
240
ccagatggta atcacagtgc caaagatcaa gcagcgatgc tcccccggt cgtctccatt
300
ttcgggatca aggctgcgca ggtggcgtgg acggatttga gttcggctcg tttccacccc
360
aaattccccc attggtacct ctacaccgtg gcaacatcta gttctgcccg tggaacgggt
420
gttggcagtg cgcttcttaa tcacggaatc gctcgcgcgg gtgatgaagc tatctatttg
480
gaggcgacgt cgactcgtgc ggctcaacta tataaccgtc tgggatttgt gcccttgggt
540
tatatccct cagatgatga tggcactcct gaactggcga tgtggaaacc gccagcgatg
600
ccaactgttt aa
612

<210> 37
<211> 203
<212> PRT
<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 NCgl1469
<400> 37
Met Ser Pro Thr Val Leu Pro Ala Thr Gln Ala Asp Phe Pro Lys Ile
1 5 10 15
Val Asp Val Leu Val Glu Ala Phe Ala Asn Asp Pro Ala Phe Leu Arg
20 25 30
Trp Ile Pro Gln Pro Asp Pro Gly Ser Ala Lys Leu Arg Ala Leu Phe
35 40 45
Glu Leu Gln Ile Glu Lys Gln Tyr Ala Val Ala Gly Asn Ile Asp Val
50 55 60
Ala Arg Asp Ser Glu Gly Glu Ile Val Gly Val Ala Leu Trp Asp Arg

```

      65              70              75              80
Pro Asp Gly Asn His Ser Ala Lys Asp Gln Ala Ala Ile Leu Pro Arg
      85              90              95
Leu Val Ser Ile Phe Gly Ile Lys Ala Ala Gln Val Ala Trp Thr Asp
      100             105             110
Leu Ser Ser Ala Arg Phe His Pro Lys Phe Pro His Trp Tyr Leu Tyr
      115             120             125
Thr Val Ala Thr Ser Ser Ser Ala Arg Gly Thr Gly Val Gly Ser Ala
      130             135             140
Leu Leu Asn His Gly Ile Ala Arg Ala Gly Asp Glu Ala Ile Tyr Leu
145             150             155             160
Glu Ala Thr Ser Thr Arg Ala Ala Gln Leu Tyr Asn Arg Leu Gly Phe
      165             170             175
Val Pro Leu Gly Tyr Ile Pro Ser Asp Asp Asp Gly Thr Pro Glu Leu
      180             185             190
Ala Met Trp Lys Pro Pro Ala Met Pro Thr Val
      195             200

```

```

<210>      38
<211>      612
<212>      ADN
<213>      Corynebacterium glutamicum ATCC13869 NCgl1469
<400>      38
atgagtccca cggttttgcc tgctacacaa gctgacttcc ctaagatcgt cgatgttctg
60
gttgaagcat tcgccaacga tccagcattt ttacgatgga tcccgcagcc ggaccccggt
120
tcagcaaagc ttcgagcact tttcgaactg cagattgaga agcagtatgc agtggcgggga
180
aatattgatg tcgcgcgtga ttctgaggga gaaatcgctg gcgtcgcgtt atgggatcgg
240
ccagatggta atcacagtgc caaagatcaa gcagcgatac tcccccggt cgtctccatt
300
ttcgggatca aggctgcgca ggtggcgtgg acggatttga gttcggctcg tttccacccc
360
aaattcccc attggtacct ctacaccgtg gcaacatcta gttctgcccg tggaaacgggt
420
gttggcagtg cgcttcttaa tcacggaatc gctcgcgcgg gtgatgaagc tatctatttg
480
gaggcgacgt cgactcgtgc ggctcaacta tataaccgtc tgggatttgt gcccttgggt
540
tatatccct cagatgatga tggcactcct gaactggcga tgtggaaacc gccagcgatg
600
ccaactgttt aa
612

```

```

<210>      39
<211>      494
<212>      PRT
<213>      Corynebacterium glutamicum ATCC13032 NCgl2522
<400>      39
Met Thr Ser Glu Thr Leu Gln Ala Gln Ala Pro Thr Lys Thr Gln Arg
1      5      10      15
Trp Ala Phe Leu Ala Val Ile Ser Gly Gly Leu Phe Leu Ile Gly Val
20     25     30
Asp Asn Ser Ile Leu Tyr Thr Ala Leu Pro Leu Leu Arg Glu Gln Leu
35     40     45
Ala Ala Thr Glu Thr Gln Ala Leu Trp Ile Ile Asn Ala Tyr Pro Leu
50     55     60
Leu Met Ala Gly Leu Leu Gly Thr Gly Thr Leu Gly Asp Lys Ile
65     70     75     80

```

Gly His Arg Arg Met Phe Leu Met Gly Leu Ser Ile Phe Gly Ile Ala
 85 90 95
 Ser Leu Gly Ala Ala Phe Ala Pro Thr Ala Trp Ala Leu Val Ala Ala
 100 105 110
 Arg Ala Phe Leu Gly Ile Gly Ala Ala Thr Met Met Pro Ala Thr Leu
 115 120 125
 Ala Leu Ile Arg Ile Thr Phe Glu Asp Glu Arg Glu Arg Asn Thr Ala
 130 135 140
 Ile Gly Ile Trp Gly Ser Val Ala Ile Leu Gly Ala Ala Ala Gly Pro
 145 150 155 160
 Ile Ile Gly Gly Ala Leu Leu Glu Phe Phe Trp Trp Gly Ser Val Phe
 165 170 175
 Leu Ile Asn Val Pro Val Ala Val Ile Ala Leu Ile Ala Thr Leu Phe
 180 185 190
 Val Ala Pro Ala Asn Ile Ala Asn Pro Ser Lys His Trp Asp Phe Leu
 195 200 205
 Ser Ser Phe Tyr Ala Leu Leu Thr Leu Ala Gly Leu Ile Ile Thr Ile
 210 215 220
 Lys Glu Ser Val Asn Thr Ala Arg His Met Pro Leu Leu Leu Gly Ala
 225 230 235 240
 Val Ile Met Leu Ile Ile Gly Ala Val Leu Phe Ser Ser Arg Gln Lys
 245 250 255
 Lys Ile Glu Glu Pro Leu Leu Asp Leu Ser Leu Phe Arg Asn Arg Leu
 260 265 270
 Phe Leu Gly Gly Val Val Ala Ala Gly Met Ala Met Phe Thr Val Ser
 275 280 285
 Gly Leu Glu Met Thr Thr Ser Gln Arg Phe Gln Leu Ser Val Gly Phe
 290 295 300
 Thr Pro Leu Glu Ala Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Ala Leu Gly Ser
 305 310 315 320
 Phe Pro Met Ser Ile Ile Gly Gly Ala Asn Leu His Arg Trp Gly Phe
 325 330 335
 Lys Pro Leu Ile Ser Gly Gly Phe Ala Ala Thr Ala Val Gly Ile Ala
 340 345 350
 Leu Cys Ile Trp Gly Ala Thr His Thr Asp Gly Leu Pro Phe Phe Ile
 355 360 365
 Ala Gly Leu Phe Phe Met Gly Ala Gly Ala Gly Ser Val Met Ser Val
 370 375 380
 Ser Ser Thr Ala Ile Ile Gly Ser Ala Pro Val Arg Lys Ala Gly Met
 385 390 395 400
 Ala Ser Ser Ile Glu Glu Val Ser Tyr Glu Phe Gly Thr Leu Leu Ser
 405 410 415
 Val Ala Ile Leu Gly Ser Leu Phe Pro Phe Phe Tyr Ser Leu His Ala
 420 425 430
 Pro Ala Glu Val Ala Asp Asn Phe Ser Ala Gly Val His His Ala Ile
 435 440 445
 Asp Gly Asp Ala Ala Arg Ala Ser Leu Asp Thr Ala Tyr Ile Asn Val
 450 455 460
 Leu Ile Ile Ala Leu Val Cys Ala Val Ala Ala Ala Leu Ile Ser Ser
 465 470 475 480
 Tyr Leu Phe Arg Gly Asn Pro Lys Gly Ala Asn Asn Ala His
 485 490

<210> 40

<211> 1485

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032 NCgl2522

<400> 40

atgacttcag aaaccttaca ggcgcaagcg cctacgaaaa cccaacgttg ggctttcctc
60

gccgttatca gcggtggtct ctttctgac ggtgtagaca actcgattct ctacaccgca
 120
 ctccctctgc tgcgtgaaca gctcgcagcc accgaaaccc aagcgttggt gatcatcaac
 180
 gcataatcccc tgctcatggc gggccttctt ttgggtaccg gcactttggg tgacaaaatc
 240
 ggccaccgcc ggatgttctt catgggcttg agcattttcg gaatcgcttc acttggtgct
 300
 gcgtttgctc caactgcgtg ggctcttggt gctgcgagag ctttccttgg catcggtgctg
 360
 gcaacgatga tgccctgcaac cttggctctg atccgcatta cgtttgagga tgagcgtgag
 420
 cgcaacactg caattggtat ttgggggttcc gtggcaattc ttggcgctgc ggcaggcccg
 480
 atcattggtg gtgcgctggt ggaattcttc tgggtggggt cggttttctt cattaacgtt
 540
 ccggtggctg ttatcgctgt gatcgctacg ctttttgttg cgccggccaa tatcgcgaaat
 600
 ccgtctaagc attgggattt cttgtcgtcg ttctatgcgc tgctcacact tgctgggttg
 660
 atcatcacga tcaaggaatc tgtgaatact gcacgccata tgccctcttct tttgggtgca
 720
 gtcacatgt tgatcattgg tgcggtggtt tttagcagtc gtcagaagaa gatcgaggag
 780
 ccacttctag atctgtcgtt gttccgtaat cgccttttct taggcggtgt ggttgctgctg
 840
 ggcattggcg tgtttactgt gtccgggttg gaaatgacta cctcgcagcg tttccagttg
 900
 tctgtgggtt tcaactccact tgaggctggt ttgctcatga tcccagctgc attgggtagc
 960
 ttcccgatgt ctattatcgg tgggtgcaaac ctgcacgtt ggggcttcaa accgctgatc
 1020
 agtgggtggt ttgctgccac tgccgttggt atcgccctgt gtatttgggg cgcgactcat
 1080
 actgatggtt tgccgttttt catcgcggtt ctattcttca tgggcgcggg tgctgggttcg
 1140
 gtaatgtctg tgtcttccac tgcgattatc ggttccgcgc cgggtgcgtaa ggctggcatg
 1200
 gcgtcgtcga tcgaagaggt ctcttatgag ttccggcacgc tgttgctctgt cgcgattttg
 1260
 ggtagcttgt tcccattctt ctactcgtg catgccccgg cagagggttc ggataacttc
 1320
 tcggcgggtg ttcaccacgc gattgatggc gatgcggcgc gtgcatcttt ggacaccgca
 1380
 tacattaacg tgttgatcat tgccctagta tgcgcagtag cggctgctct gatcagcagt
 1440
 taccttttcc gcggaaatcc gaaggagacc aataatgcgc actag
 1485

<210> 41

<211> 494

<212> PRT

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 NCgl2522

<400> 41

Met	Ile	Ser	Glu	Thr	Leu	Gln	Ala	Gln	Ala	Pro	Thr	Lys	Thr	Gln	Arg
1				5				10						15	
Trp	Ala	Phe	Leu	Ala	Val	Ile	Ser	Gly	Gly	Leu	Phe	Leu	Ile	Gly	Val
			20					25					30		
Asp	Asn	Ser	Ile	Leu	Tyr	Thr	Ala	Leu	Pro	Leu	Leu	Arg	Glu	Gln	Leu
		35					40					45			
Ala	Ala	Thr	Glu	Thr	Gln	Ala	Leu	Trp	Ile	Ile	Asn	Ala	Tyr	Pro	Leu

50	55	60
Leu Met Ala Gly Leu Leu Leu Gly Thr Gly Thr Leu Gly Asp Lys Ile		
65	70	75
Gly His Arg Arg Met Phe Leu Met Gly Leu Ser Ile Phe Gly Ile Ala		80
	85	90
Ser Leu Gly Ala Ala Phe Ala Pro Thr Ala Trp Ala Leu Val Ala Ala		95
	100	105
Arg Ala Phe Leu Gly Ile Gly Ala Ala Thr Met Met Pro Ala Thr Leu		110
	115	120
Ala Leu Ile Arg Ile Thr Phe Glu Asp Glu Arg Glu Arg Asn Thr Ala		125
	130	135
Ile Gly Ile Trp Gly Ser Val Ala Ile Leu Gly Ala Ala Ala Gly Pro		140
145	150	155
Ile Ile Gly Gly Ala Leu Leu Glu Phe Phe Trp Trp Gly Ser Val Phe		160
	165	170
Leu Ile Asn Val Pro Val Ala Val Ile Ala Leu Ile Ala Thr Leu Phe		175
	180	185
Val Ala Pro Ala Asn Ile Ala Asn Pro Ser Lys His Trp Asp Phe Leu		190
	195	200
Ser Ser Phe Tyr Ala Leu Leu Thr Leu Ala Gly Leu Ile Val Thr Ile		205
	210	215
Lys Glu Ser Val Asn Thr Ala Arg His Leu Pro Leu Leu Val Gly Ala		220
225	230	235
Ile Ile Leu Leu Ile Ile Gly Ala Val Leu Phe Ser Ser Arg Gln Lys		240
	245	250
Lys Ile Glu Glu Pro Leu Leu Asp Leu Ser Leu Phe Arg Asn Arg Leu		255
	260	265
Phe Leu Gly Gly Val Val Ala Ala Gly Met Ala Met Phe Thr Val Ser		270
	275	280
Gly Leu Glu Met Thr Thr Ser Gln Arg Phe Gln Leu Ser Val Gly Phe		285
	290	295
Thr Pro Leu Glu Ala Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Ala Leu Gly Ser		300
305	310	315
Phe Pro Met Ser Ile Ile Gly Gly Ala Asn Leu His Arg Trp Gly Phe		320
	325	330
Lys Pro Leu Ile Ser Gly Gly Phe Leu Ala Thr Ala Val Gly Ile Ala		335
	340	345
Leu Cys Ile Trp Gly Ala Thr His Thr Asp Gly Leu Pro Phe Phe Ile		350
	355	360
Ala Gly Leu Phe Phe Met Gly Ala Gly Ala Gly Ser Val Met Ser Val		365
	370	375
Ser Ser Thr Ala Ile Ile Gly Ser Ala Pro Val Arg Lys Ala Gly Met		380
385	390	395
Ala Ser Ser Ile Glu Glu Val Ser Tyr Glu Phe Gly Thr Leu Leu Ser		400
	405	410
Val Ala Ile Leu Gly Ser Leu Phe Pro Phe Phe Tyr Ser Leu His Ala		415
	420	425
Pro Ala Glu Val Ala Asp Asn Phe Ser Ala Gly Val His His Ala Ile		430
	435	440
Tyr Gly Asp Ala Ala Arg Ala Ser Leu Asp Thr Ala Tyr Ile Asn Val		445
	450	455
Leu Ile Ile Ala Leu Val Cys Ala Val Ala Ala Ala Leu Ile Ser Ser		460
465	470	475
Tyr Leu Phe Arg Gly Asn Pro Lys Gly Ala Asn Asn Ala His		480
	485	490

<210> 42

<211> 1485

<212> ADN

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13869 NCgl2522

<400> 42

atgatttcag aaactttgca ggcgcaagcg cctacgaaaa cccaacgttg ggctttcctc
 60
 gctgttatca gcggtggtct ctttctgato ggtgtagaca actcaatcct ctacaccgca
 120
 ctccccctgc tgcgtgaaca actcgcagcc actgaaaccc aagcgttgtg gatcatcaac
 180
 gcatatcccc tgctcatggc gggctcttctt ttgggtaccg gcactttggg tgacaaaatc
 240
 ggccaccgcc ggatgttcct catgggcttg agcattttcg gaatcgcttc acttggcgct
 300
 gcgtttgctc caactgcgtg ggctcttggt gctgcgagag ctttccttgg catcggtgcg
 360
 gcgacgatga tgcccgcaac cttggctctg atccgcatta cgtttgaaga tgaacgcgaa
 420
 cggaacaccg cgattggcat ttggggttct gtggcaattc ttggcgcggc ggcaggtccg
 480
 atcattggtg gtgcgctggt ggaattcttc tgggtggggt cggttttcct cattaacgtt
 540
 ccggtggctg ttatcgctt gatcgctacg ctttttgtgg cgccggccaa tatcgcgaaat
 600
 ccgtccaagc actgggattt cttatcctcg ttctatgcat tgettaccct tgcaggtttg
 660
 attgtcacca tcaaagaatc ggtaaacact gcacgtcatc tgccactgct tgtaggtgcc
 720
 atcatcttgc ttatcattgg tgcggtgttg ttttagcagtc gtcagaagaa gatcgaggag
 780
 ccacttctag atctgtcgtt gttccgtaat cgccctttct taggcggtgt ggttgctgcg
 840
 ggcattggcg tgtttactgt gtccggtttg gaaatgacta cctcgcagcg tttccagttg
 900
 tctgtgggtt tcaactccact tgaggctggt ttgctcatga tcccagctgc attgggtagc
 960
 ttcccgatgt ctattatcgg tgggtgcaaac ttgcatcggt ggggcttcaa accgctgac
 1020
 agtgggtggt tccttgccac ggcagtcggc atcgccctgt gtatttgggg cgcgactcat
 1080
 actgatgggt tgccgttttt catcgcggtt ctgttcttca tgggcgcggg tgctggttcg
 1140
 gtaatgtctg tgtcttccac tgcgattatc gggtccgcgc cgggtgcgtaa ggctggcatg
 1200
 gcgtcgtcga tcgaagaggt ctcttatgag ttcggcacgc tgttgtctgt cgcgattttg
 1260
 ggtagcttgt tcccattctt ctactcgctg catgccccgg cagagggttc ggataacttc
 1320
 tcggcggttg ttcaccacgc gatttatggc gatgcggcgc gtgcatcttt ggacaccgca
 1380
 tacattaacg tgttgatcat tgccctagta tgcgcagtag cggctgctct gatcagcagt
 1440
 taccttttcc gcggaaatcc gaaggagacc aataatgcgc actag
 1485

<210> 43
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Gen mồi sugR F1_ SalI

<400> 43
 cttgcatgcc tgcaggtcga caggattcat ctggcatctg gc
 42

<210> 44
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Gen mồi sugR -R1

<400> 44
 gtcactcctt aaagcaaaaa gcc
 23

<210> 45
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Gen mồi sugR -F2_GTG

<400> 45
 tttttgcttt aaggagtgac gtgtacgcag aggagcgccg tc
 42

<210> 46
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Gen mồi sugR -F2_TTG

<400> 46
 tttttgcttt aaggagtgac ttgtacgcag aggagcgccg tc
 42

<210> 47
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Gen mồi sugR -R2_BamHI

<400> 47
 cgagctcggg acccggggat ccgcgagagt acgaagcgca gt
 42

<210> 48
 <211> 62
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> Gen mồi sugR F3

<400> 48
 tttttgcttt aaggagtgac gaaggcaacc atgaactcta atgtacgcag aggagcgccg
 60
 tc
 62

<210> 49
 <211> 22
 <212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gen mỗi sugR R

<400> 49
ggacttgcag tgactgtaag aa
22

<210> 50
<211> 46
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gen mỗi gltA F_speI

<400> 50
gaaggaatga gttcctcgag actagtactc ggcacccatc cttgtc
46

<210> 51
<211> 50
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo
<220>
<223> Gen mỗi gltA R_speI

<400> 51
gttattagat gtcgggcca ctagtgtgct gtacatgctc cttgaaaatc
50