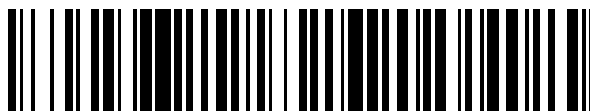


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 739 002**

51 Int. Cl.:

C12N 9/10 (2006.01)

C12P 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2016** **E 16175996 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2019** **EP 3109318**

54 Título: **Microorganismos para producir putrescina u ornitina y proceso para producir putrescina u ornitina usando los mismos**

30 Prioridad:

24.06.2015 KR 20150090021

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

28.01.2020

73 Titular/es:

CJ CHEILJEDANG CORPORATION (100.0%)
CJ Cheiljedang Center, 330, Dongho-ro, Jung-gu
Seoul 04560, KR

72 Inventor/es:

JUNG, HEE KYOUNG;
UM, HYE WON;
LI, HONG XIAN;
PARK, SU JIN;
YANG, YOUNG LYEOL;
LEE, KYOUNG MIN y
LEE, HYO HYOUNG

74 Agente/Representante:

PADIAL MARTÍNEZ, Ana Belén

ES 2 739 002 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Microorganismos para producir putrescina u ornitina y proceso para producir putrescina u ornitina usando los mismos

5 **[Campo Técnico]**

La presente invención se refiere a un microorganismo recombinante para producir putrescina u ornitina, y un método para producir putrescina u ornitina usando los mismos.

10 **[Antecedentes de la Técnica]**

La putrescina se encuentra en bacterias u hongos gram negativos y está presente en diversas especies en alta concentración. Por lo tanto se espera que desempeñe funciones importantes en el metabolismo de los microorganismos. En general, la putrescina es un material de base muy importante para la síntesis de poliamina nailon-4,6 y se produce principalmente mediante un método de síntesis química. El método de síntesis química consiste en un proceso de 3 etapas que incluye una reacción de oxidación catalítica, una etapa en la que se usa un compuesto de cianuro y una reacción de hidrogenación que usa hidrógeno a alta presión. En este sentido, para la producción de putrescina, se requiere el desarrollo de un método más respetuoso con el medio ambiente usando biomasa que pueda reducir el consumo de energía.

En estas circunstancias, como métodos para producir putrescina usando un microorganismo, se desvelaron métodos para la producción de putrescina con un rendimiento elevado mediante transformación de *E. coli* y un microorganismo del género *Corynebacterium* (Publicación de Patente Internacional N.º WO 2006/005603; Publicación de Patente Internacional N.º 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).

La ornitina es un material que se encuentra ampliamente en plantas, animales y microorganismos y se usa como un precursor en la biosíntesis de arginina, prolina, y poliaminas. La ornitina desempeña un papel importante en la ruta de excreción de urea producida a partir de aminoácidos o amoniaco por el ciclo de ornitina en el metabolismo *in vivo* de animales superiores. La ornitina también se usa como suplemento nutricional o fármacos farmacéuticos en la industria para mejorar la cirrosis hepática y trastornos de la función hepática. Los métodos conocidos para producir ornitina incluyen el tratamiento de caseína de leche con enzimas digestivas y el uso de *E. coli* transformada o un microorganismo del género *Corynebacterium* (Patente Coreana N.º 10-1372635; T. Gotoh *et al.*, Bioprocess Biosyst. Eng., 33: 773 - 777, 2010).

SugR, que es un regulador transcripcional del metabolismo del azúcar (en lo sucesivo en el presente documento, SugR), es un regulador transcripcional conocido en *Corynebacterium*, y hubo un informe previo de que SugR inhibe el gen que codifica la fosfotransferasa de la proteína PEP del sistema PTS y los genes asociados con la glicólisis de azúcares (VF Wendisch, *et al.*, J. Bacteriol. 190: 24, 8033 - 8044, 2008). La citrato sintasa es una enzima que en primer lugar actúa en el ciclo del TCA y puede regular su velocidad. Se informó que una cepa modificada de *Corynebacterium* con actividad reducida de GltA aumentó la producción de aspartato y lisina (Shiio *et al.*, Agric Biol Chem. 46: 101 - 107, 1982).

Jiang L-Y *et al.*, (J. Ind Microbiol Biotechnol 2013; 40: 1143-1151) desvela *Corynebacterium glutamicum* para la producción de ornitina. La citrato sintasa (gltA) entre otras enzimas dependientes de NAPD se sobreexpresan.

[Divulgación]50 **[Problema Técnico]**

Los presentes inventores han confirmado que la manipulación de *sugR*, el gen que codifica SugR y *gltA*, el gen que codifica la sintasa de citrato, mejora la productividad de la putrescina o de la ornitina, completando de ese modo la presente invención.

[Solución Técnica]

Un objeto de la presente invención es proporcionar un microorganismo recombinante que pueda producir putrescina u ornitina con alto rendimiento.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un método para producir putrescina u ornitina usando el microorganismo mencionado anteriormente.

[Efectos Ventajosos]

Los presentes inventores han confirmado que el aumento de manera simultánea de la actividad de la citrato sintasa

(en lo sucesivo en el presente documento, GltA) a la vez que se debilita la actividad de SugR en un microorganismo del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina aumenta la cantidad de producción de putrescina u ornitina. Por lo tanto, el microorganismo de la presente invención se puede usar ampliamente para la producción industrial de putrescina u ornitina, y el microorganismo se puede usar ampliamente como un medio eficaz y deseable en términos de aspectos económicos y ambientales para proporcionar un material de base para la producción de diversos productos poliméricos, en los que se usan putrescina u ornitina como materiales sin procesar.

[Mejor Modo de Llevar a Cabo la Invención]

Un aspecto de la presente divulgación proporciona un microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el microorganismo se ha modificado de modo que una actividad de regulador transcripcional del metabolismo del azúcar (SugR) se debilita en comparación con la actividad de SugR en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium* y una actividad de citrato sintasa (GltA) aumenta en comparación con su actividad de GltA en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, en el que la actividad de SugR se debilita por: 1) delección de una parte o la totalidad de un polinucleótido que codifica la proteína; 2) modificación de la secuencia de control de la expresión para reducir la expresión del polinucleótido; 3) modificación de la secuencia de polinucleótidos en los cromosomas para debilitar la actividad de la proteína; o 4) un método seleccionado entre una combinación de los mismos; y la actividad de GltA aumenta por: 1) aumento del número de copias de un polinucleótido que codifica la enzima; 2) modificación de la secuencia de control de la expresión para aumentar la expresión del polinucleótido; 3) modificación de la secuencia de polinucleótidos en el cromosoma para aumentar la actividad de la enzima; o 4) modificación por una combinación de los mismos.

Una realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el SugR consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o de SEQ ID NO: 3.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el GltA consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o de SEQ ID NO: 7.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el microorganismo del género *Corynebacterium* se selecciona entre el grupo que consiste en *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium thermoaminogenes*, *Brevibacterium flavum*, y *Brevibacterium lactofermentum*.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que además se introduce una actividad de ornitina descarboxilasa (ODC).

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el ODC consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que una actividad de i) ornitina carbamoiltransferasa (ArgF) se debilita en comparación con la actividad de ArgF en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, ii) un agente exportador de glutamato se debilita en comparación con la actividad del agente exportador de glutamato en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, o iii) la ornitina carbamoiltransferasa y un agente exportador de glutamato se debilitan en comparación con la actividad de ornitina carbamoiltransferasa y el agente exportador de glutamato en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación además proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el ornitina carbamoiltransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o de SEQ ID NO: 11, y el agente exportador de glutamato consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o de SEQ ID NO: 15.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que una actividad de al menos una enzima seleccionada entre el grupo que consiste en acetil-gamma-glutamyl-fosfato reductasa (ArgC), acetilglutamato sintasa u ornitina acetiltransferasa (ArgJ), acetilglutamato quinasa (ArgB), y acetilornitina aminotransferasa (ArgD) aumenta en comparación con la actividad de dicha enzima o enzimas en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el acetil-gamma-glutamyl fosfato reductasa consiste en

una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 o de SEQ ID NO: 21, the acetilglutamato sintasa u ornitina acetiltransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 o de SEQ ID NO: 25, the acetilglutamato quinasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 o de SEQ ID NO: 29, y la acetilornitina aminotransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 o de SEQ ID NO: 33.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación además proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que una actividad de acetiltransferasa se debilita en comparación con la actividad de acetiltransferasa en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el acetiltransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 o de SEQ ID NO: 37.

Otra realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que una actividad de una proteína que consiste en la SEQ ID NO: 39 o la SEQ ID NO: 41 aumenta en comparación con la actividad de dicha proteína en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método para producir putrescina u ornitina, que incluye:

- (i) cultivar un microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina en un medio, en el que una actividad de regulador transcripcional del metabolismo del azúcar (SugR) se debilita en comparación con su actividad endógena y una actividad de citrato sintasa (GltA) aumenta en comparación con su actividad endógena; y
- (ii) recuperar putrescina u ornitina del microorganismo cultivado por el medio cultivado en la etapa (i).

Una realización a modo de ejemplo de la presente divulgación proporciona el método para producir putrescina u ornitina, en el que el microorganismo del género *Corynebacterium* es *Corynebacterium glutamicum*.

En lo sucesivo en el presente documento, la presente divulgación se describe con detalle.

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a un microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que una actividad de regulador transcripcional del metabolismo del azúcar (SugR) se debilita en comparación con la actividad de SugR en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium* y una actividad de citrato sintasa (GltA) aumenta en comparación con su actividad de GltA en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*. Como se usa en el presente documento, la expresión "regulador transcripcional del metabolismo del azúcar (SugR)" se refiere a una enzima que funciona ampliamente como un inhibidor con respecto a los genes asociados con diversos aspectos del metabolismo del azúcar, tal como absorción de azúcar y el sistema de fosfotransferasa, glicólisis, fermentación relacionada con la lactato deshidrogenasa, etc. En la presente divulgación, SugR incluye tanto las proteínas endógenas como las proteínas extrañas dentro de un microorganismo del género *Corynebacterium*, y específicamente, un SugR obtenido a partir de un microorganismo del género *Corynebacterium*.

En la presente divulgación, el regulador transcripcional del metabolismo del azúcar puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que incluye la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o de SEQ ID NO: 3, o cualquier proteína que incluya una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que el regulador transcripcional del metabolismo del azúcar.

Además, dado que la secuencia de aminoácidos de una proteína que codifica la actividad mencionada anteriormente puede variar dependiendo de la especie o cepa del microorganismo, el SugR puede estar limitado con respecto a su origen en la presente divulgación, pero el SugR se puede obtener, por ejemplo, a partir de un microorganismo del género *Corynebacterium*, y específicamente, se puede obtener a partir de *Corynebacterium glutamicum*. Es evidente que cualquier secuencia de aminoácidos que tenga una homología con respecto a las secuencias mencionadas anteriormente y que tenga una actividad biológica sustancialmente igual o correspondiente a la proteína de SEQ ID NO: 1 o de SEQ ID NO: 3 también puede pertenecer al alcance de la presente divulgación, aunque la secuencia de aminoácidos puede tener una delección, modificación, sustitución, o adición en parte de la secuencia.

El polinucleótido que codifica el regulador transcripcional del metabolismo del azúcar de la presente divulgación, siempre y cuando tenga una actividad similar a la del regulador transcripcional del metabolismo del azúcar, puede incluir cualquier polinucleótido que codifique la proteína que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o de SEQ ID NO: 3, o los polinucleótidos que codifican proteínas que tienen una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más

específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente. Con respecto al polinucleótido que codifica el regulador transcripcional del metabolismo del azúcar, teniendo en cuenta los codones basándose en la degeneración del codón o los preferidos por organismos para expresar el regulador, se pueden realizar diversas modificaciones en la región codificante dentro del alcance sin cambiar la secuencia de aminoácidos del polipéptido, y específicamente, el polinucleótido puede incluir la secuencia de polinucleótidos de SEQ ID NO: 2 o de SEQ ID NO: 4, pero no se limita a estas.

Como se usa en el presente documento, la expresión "citrato sintasa (GltA)" se refiere a una enzima que está implicada en la producción de diversos compuestos intermedios biosintéticos intracelulares y la producción de ácido nucleico con contenido reducido de purina. Se sabe que GltA actúa para mediar la condensación hidrolítica entre acetil-CoA y oxaloacetato para la producción de citrato. En la presente divulgación, GltA incluye tanto las enzimas endógenas como las proteínas extrañas presentes en un microorganismo del género *Corynebacterium*, y específicamente, GltA obtenido a partir de un microorganismo del género *Corynebacterium*.

En la presente divulgación, GltA puede incluir, pero no se limita a, las proteínas que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o de SEQ ID NO: 7, o cualquier proteína que incluya una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, y que tenga la actividad sustancial de mediar la condensación hidrolítica entre acetil-CoA y oxaloacetato para la producción de citrato.

Además, dado que la secuencia de aminoácidos de la proteína que presenta la actividad puede variar de acuerdo con la especie o cepa del microorganismo, GltA se puede obtener, por ejemplo, *Corynebacterium*, y específicamente, *Corynebacterium glutamicum*, pero el origen de GltA no se limita a esto en la presente divulgación. Es evidente que cualquier secuencia de aminoácidos que tenga una homología con respecto a las secuencias mencionadas anteriormente y que tenga una actividad biológica sustancialmente igual o correspondiente a la proteína de SEQ ID NO: 5 o de SEQ ID NO: 7 también puede pertenecer al alcance de la presente divulgación, aunque la secuencia de aminoácidos puede tener una delección, modificación, sustitución, o adición en parte de la secuencia.

El polinucleótido que codifica GltA de la presente divulgación puede incluir los polinucleótidos que codifican el aminoácido de SEQ ID NO: 5 o de SEQ ID NO: 7, o los polinucleótidos que codifican proteínas que tienen una homología de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente. Con respecto al polinucleótido que codifica GltA, teniendo en cuenta los codones basándose en la degeneración del codón o los preferidos por organismos para expresar el GltA, se pueden realizar diversas modificaciones en la región codificante dentro del alcance sin cambiar la secuencia de aminoácidos del polipéptido, y específicamente, el polinucleótido puede incluir la secuencia de polinucleótidos de SEQ ID NO: 6 o de SEQ ID NO: 8, pero no se limita a estas.

Como se usa en el presente documento, el término "homología" se refiere a un grado de identidad en comparación con una secuencia de aminoácidos dada o una secuencia de polinucleótidos y se puede indicar como un porcentaje. En la presente divulgación, las secuencias homólogas que tienen una actividad igual o similar a la de la secuencia de aminoácidos dada o la secuencia de polinucleótidos se indican en términos de " % de homología". Por ejemplo, la homología se puede confirmar usando un software convencional para calcular parámetros (por ejemplo, parámetros tales como puntuación, identidad y similitud), específicamente BLAST 2.0, o comparando secuencias por transferencia de Southern en condiciones de hibridación rigurosas definidas, y las condiciones de hibridación apropiadas que se van a definir se pueden determinar con un método que está dentro del alcance de la técnica y que es bien conocido para alguien con una experiencia habitual en la materia (por ejemplo, J. Sambrook *et al.*, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2ª Edición, 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., Nueva York).

Además, los polinucleótidos que codifican SugR y citrato sintasa de la presente divulgación se pueden hibridar en condiciones rigurosas con las secuencias de polinucleótidos de SEQ ID NO: 2 o 4, o de SEQ ID NO: 6 u 8, o sondas obtenidas a partir de las secuencias de polinucleótidos, respectivamente, y pueden ser un tipo modificado que codifica SugR y citrato sintasa que están implicados en las funciones normales. Como se usa en el presente documento, la expresión "condiciones rigurosas" se refiere a una condición que permite una hibridación específica entre polinucleótidos. Por ejemplo, las condiciones rigurosas se describen específicamente en las referencias (por ejemplo, J. Sambrook *et al.*, en el mismo lugar).

En la presente divulgación, se realizaron intentos para debilitar la actividad de SugR, o para aumentar la actividad de GltA, o para aplicar tanto un debilitamiento de la actividad de SugR como un aumento de la actividad de GltA de forma simultánea con respecto a un microorganismo del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina,

y como resultado, se confirmó que la cantidad de producción de putrescina u ornitina aumentó en todas las cepas modificadas.

En particular, el microorganismo de la presente divulgación puede incluir microorganismos tanto de tipo silvestre como de tipo modificado siempre y cuando puedan producir putrescina u ornitina. Por ejemplo, el microorganismo puede pertenecer al género *Escherichia*, el género *Shigella*, el género *Citrobacter*, el género *Salmonella*, el género *Enterobacter*, el género *Yersinia*, el género *Klebsiella*, el género *Erwinia*, el género *Corynebacterium*, el género *Brevibacterium*, el género *Lactobacillus*, el género *Selenomonas*, el género *Vibrio*, el género *Pseudomonas*, el género *Streptomyces*, el género *Arcanobacterium*, y el género *Alcaligenes*. De forma específica, el microorganismo de la presente divulgación puede pertenecer al género *Corynebacterium*, y más específicamente, se puede seleccionar entre el grupo que consiste en *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium thermoaminogenes*, *Brevibacterium flavum*, y *Brevibacterium lactofermentum*, e incluso más específicamente, puede ser *Corynebacterium glutamicum*, pero no se limita a estos.

De forma específica, como se usa en el presente documento, la expresión "que produce putrescina u ornitina" se refiere a un microorganismo proporcionado con productividad de putrescina u ornitina en una cepa precursora que tiene la putrescina o la ornitina en un estado natural o no tiene actividad de putrescina u ornitina.

Además, el microorganismo que produce putrescina u ornitina se puede modificar de modo que una actividad de ornitina carbamoiltransferasa (ArgF), que está implicada en la síntesis de la arginina, se debilita en comparación con la actividad de ArgF en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium* y/o una actividad de agente exportador de glutamato (NCgl1221), que es una proteína implicada en la secreción de glutamato, se debilita en comparación con la actividad del agente exportador de glutamato en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

Además, el microorganismo que tiene productividad de putrescina se puede modificar para debilitar la actividad de la acetiltransferasa (NCgl1469), que es una proteína que acetila la putrescina, en comparación con la actividad en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium* y/o para introducir la actividad de ODC, que es una proteína que convierte la ornitina en putrescina.

En particular, la modificación de las actividades de mejora o debilitamiento se puede producir mediante un proceso denominado transformación en la presente divulgación. Como se usa en el presente documento, el término "transformación" se refiere a un proceso de introducción de un polinucleótido que codifica una proteína particular o un vector que incluye una secuencia promotora con actividad fuerte o débil, etc., en una célula hospedadora, permitiendo de este modo la expresión de la proteína codificada por el polinucleótido en la célula hospedadora o la inducción de la modificación del cromosoma de la célula hospedadora.

Además, el polinucleótido incluye ADN y ARN que codifican la proteína diana. El polinucleótido se puede insertar en cualquier forma siempre y cuando pueda introducirse en una célula hospedadora y expresarse en la misma. Por ejemplo, el polinucleótido se puede introducir en una célula hospedadora en forma de un casete de expresión, que es un constructo genético que incluye todos los elementos esenciales necesarios para la autoexpresión. El casete de expresión puede incluir convencionalmente un promotor conectado de forma operativa al polinucleótido, una señal de terminación de la transcripción, un dominio de unión a ribosoma y una señal de terminación de la traducción. El casete de expresión puede tener la forma de un vector de expresión capaz de autorreplicación. Además, el polinucleótido se puede introducir en una célula hospedadora como tal y se conecta de manera operativa a una secuencia necesaria para su expresión en la célula hospedadora, pero no se limita a esta.

Además, como se usa en el presente documento, la expresión "conectado de forma operativa" se refiere a una conexión funcional entre una secuencia promotora, que inicia y media la transcripción del polinucleótido que codifica la proteína diana de la presente divulgación, y la secuencia genética mencionada anteriormente.

Como se usa en el presente documento, el término "vector" se refiere a cualquier constructo de ADN que incluye la secuencia de polinucleótidos que codifica la proteína diana, que está conectada de forma operativa a una secuencia de control apropiada capaz de expresar la proteína diana en una célula hospedadora apropiada. La secuencia de control incluye un promotor capaz de iniciar la transcripción, cualquier secuencia de operador capaz de controlar la transcripción, una secuencia que codifica un dominio de unión a ribosoma de ARNm apropiado, y secuencias capaces de controlar la terminación de la transcripción y la traducción. El vector, después de transformarse en una célula hospedadora apropiada, se puede replicar o funcionar independientemente del genoma del hospedador, o se puede integrar en el propio genoma hospedador.

El vector que se va a usar en la presente divulgación puede no estar particularmente limitado siempre y cuando el vector se puede replicar en una célula hospedadora, y se pueda usar cualquier vector conocido en la técnica. Los ejemplos del vector usado convencionalmente pueden incluir plásmidos, cósmidos, virus, y bacteriófagos naturales o recombinantes. Por ejemplo, como vector fago o vector cósmido, se pueden usar, *pWE15*, *M13*, *MBL3*, *MBL4*, *IXII*, *ASHII*, *APII*, *t10*, *t11*, *Charon4A*, *Charon21A*, etc.; y como un vector plasmídico, se pueden usar aquellos basados en *pBR*, *pUC*, *pBluescriptII*, *pGEM*, *pTZ*, *pCL*, *pET*, etc.. El vector que se va a usar en la presente divulgación puede no

estar particularmente limitado, pero se puede usar cualquier vector de expresión conocido. De forma específica, se pueden usar los vectores *pDZ*, *pDZTn*, *pACYC177*, *pACYC184*, *pCL*, *pECCG117*, *pUC19*, *pBR322*, *pMW118*, *pCC1BAC*, etc.

Como tal, el polinucleótido que codifica una proteína diana extraña se puede sustituir por un polinucleótido modificado en el cromosoma mediante un vector para la inserción en el cromosoma bacteriano. La inserción del polinucleótido en el cromosoma se puede llevar a cabo usando cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, por recombinación homóloga, pero no se limita a esta. Dado que el vector de la presente divulgación se puede insertar en el cromosoma mediante recombinación homóloga, se puede incluir un marcador de selección para confirmar la inserción en el cromosoma. El marcador de selección se usa para la selección de una célula transformada, es decir, para confirmar si se ha insertado el polinucleótido diana, y se pueden usar marcadores capaces de proporcionar fenotipos seleccionables tales como resistencia a fármacos, requisito de nutrientes, resistencia a agentes citotóxicos y expresión de proteínas de superficie. En las circunstancias tratadas con agentes selectivos, solo las células capaces de expresar los marcadores de selección pueden sobrevivir o expresar otros rasgos fenotípicos, y de ese modo las células transformadas se pueden seleccionar.

Como se usa en el presente documento, la expresión "mejora de la actividad" no solo incluye la provisión de un efecto más alto que la función original debido a la nueva introducción de una actividad o un aumento de la actividad de una proteína en sí misma, sino que también incluye el aumento de su actividad por un aumento de la actividad de un gen endógeno, amplificación de un gen endógeno a partir de uno o varios factores internos o externos, delección de uno o varios factores reguladores para inhibir la expresión génica, un aumento del número de copias del gen, introducción de un gen del exterior, modificación de la secuencia de control de la expresión, y específicamente, un aumento de la actividad enzimática debido a la sustitución o modificación de un promotor y una mutación dentro de un gen, etc.

De forma específica, en la presente divulgación, la mejora o aumento de actividad se puede llevar a cabo mediante:

- 1) aumento del número de copias de un polinucleótido que codifica la enzima,
 - 2) modificación de la secuencia de control de la expresión para aumentar la expresión del polinucleótido,
 - 3) modificación de la secuencia de polinucleótidos en el cromosoma para aumentar la actividad de la enzima, y
 - 4) modificación por una combinación de los mismos,
- pero el método no se limita a esto.

El aumento del número de copias de un polinucleótido (método 1) se puede llevar a cabo de una manera en la que el polinucleótido se une de forma operativa a un vector, o insertando el polinucleótido en el cromosoma de una célula hospedadora, aunque el método no es particularmente limitado al mismo. De forma específica, el aumento del número de copias de un polinucleótido dentro del cromosoma de la célula hospedadora se puede llevar a cabo mediante la introducción de un vector que se puede replicar y funcionar independientemente de una célula hospedadora y al que el polinucleótido que codifica la proteína de la presente divulgación se une de forma operativa; o se puede llevar a cabo introduciendo un vector que puede insertar el polinucleótido en el cromosoma de una célula hospedadora y al que el polinucleótido se une de forma operativa, en una célula hospedadora.

A continuación, la modificación de la secuencia de control de la expresión para aumentar la expresión de un polinucleótido (método 2) se puede llevar a cabo induciendo una modificación en la secuencia de polinucleótidos mediante delección, inserción, sustitución no conservativa o conservativa de la secuencia de polinucleótidos, o una combinación de los mismos para mejorar aún más la actividad de la secuencia de control de la expresión, o sustituyendo la secuencia de polinucleótidos por una secuencia de polinucleótidos que tiene una actividad más fuerte, aunque el método no está particularmente limitado a ello. La secuencia de control de expresión incluye un promotor, una secuencia de operador, una secuencia que codifica el sitio de unión a ribosoma y una secuencia que regula la terminación de la transcripción y la traducción.

Un promotor exógeno fuerte, en lugar del promotor original, se puede conectar a la región cadena arriba de la unidad de expresión del polinucleótido. Los ejemplos del promotor fuerte pueden ser el promotor *CJ7*, el promotor *lysCP1*, el promotor *EFTu*, el promotor *groEL*, el promotor *aceA* o *aceB*, etc., y más específicamente, la velocidad de expresión se puede mejorar al conectarse de forma operativa al promotor *lysCP1* obtenido a partir de *Corynebacterium* (documento WO 2009/096689) o del promotor *CJ7* (Patente Coreana N.º 0620092 y documento WO 2006/065095), pero el promotor fuerte no se limita a los mismos.

Además, la modificación de una secuencia de polinucleótidos en el cromosoma (método 3) se puede llevar a cabo mediante la inducción de una modificación en la secuencia de control de la expresión mediante delección, inserción, sustitución no conservativa o conservativa de la secuencia de polinucleótidos, o una combinación de las mismas para mejorar aún más la actividad de la secuencia de polinucleótido, o destituyendo la secuencia de polinucleótido con una secuencia de polinucleótido mejorada que tiene una actividad más fuerte, aunque el método no está particularmente limitado a la misma.

Como se usa en el presente documento, el "debilitamiento de la actividad" se puede conseguir mediante delección de

una parte o la totalidad de un polinucleótido que codifica la proteína para debilitar la actividad de la proteína, mediante modificación de la secuencia de control de la expresión para reducir la expresión del polinucleótido, mediante modificación de la secuencia de polinucleótidos en los cromosomas para debilitar la actividad de la proteína, y mediante un método seleccionado entre una combinación de los mismos.

De forma específica, en la presente divulgación, el debilitamiento de la actividad se puede conseguir mediante:

- 1) delección de una parte o la totalidad de un polinucleótido que codifica la proteína,
 - 2) modificación de la secuencia de control de la expresión para reducir la expresión del polinucleótido,
 - 3) modificación de la secuencia de polinucleótidos en los cromosomas para debilitar la actividad de la proteína, y
 - 4) un método seleccionado entre una combinación de los mismos,
- pero el método no se limita a esto.

De forma específica, el método de delección de una parte o de la totalidad de un polinucleótido que codifica una proteína se puede llevar a cabo sustituyendo el polinucleótido que codifica la proteína diana endógena dentro del cromosoma con un polinucleótido que tiene una delección parcial en la secuencia de polinucleótidos o un gen marcador que usa un vector para la inserción cromosómica dentro de las bacterias. Como se usa en el presente documento, el término "una parte" puede variar dependiendo de los tipos de polinucleótidos, y puede hacer referencia de forma específica de 1 a 300, más específicamente de 1 a 100, e incluso más específicamente de 1 a 50.

Además, el método de modificación de la secuencia de control de la expresión se puede llevar a cabo induciendo una modificación en la secuencia de control de expresión mediante delección, inserción, sustitución no conservativa o conservativa de una secuencia de polinucleótidos, o una combinación de las mismas para debilitar aún más la actividad de la secuencia de control de la expresión, o sustituyendo la secuencia de polinucleótidos con una secuencia de polinucleótidos que tiene una actividad más débil. La secuencia de control de la expresión incluye un promotor, una secuencia de operador, una secuencia que codifica un sitio de unión a ribosoma y una secuencia que regula la terminación de la transcripción y la traducción.

Además, el método de modificación de una secuencia de polinucleótidos en el cromosoma se puede llevar a cabo mediante la inducción de una modificación en la secuencia de polinucleótidos mediante delección, inserción, sustitución no conservativa o conservativa de la secuencia de polinucleótidos, o una combinación de las mismas para debilitar aún más la actividad de la proteína, o mediante sustitución de la secuencia de polinucleótidos con una secuencia de polinucleótidos mejorada que tiene una actividad más fuerte.

Además, el método de delección del factor regulador que inhibe la expresión del polinucleótido de la proteína se puede llevar a cabo sustituyendo el polinucleótido para el factor de inhibición de la expresión con un polinucleótido que tiene una delección parcial en la secuencia del polinucleótido o un gen marcador. Como se usa en el presente documento, el término "una parte" puede variar dependiendo de los tipos de polinucleótidos, y puede hacer referencia de forma específica de 1 a 300, más específicamente de 1 a 100, e incluso más específicamente de 1 a 50.

Como se usa en el presente documento, la expresión "actividad endógena" se refiere a un estado activo de una enzima en un estado no modificado, por ejemplo, en un estado natural, que un microorganismo tiene originalmente, y la expresión "mejora en comparación con su actividad endógena" se refiere a un estado de aumento de la actividad de la proteína que el microorganismo tiene después de su manipulación, tal como la introducción de un gen que presenta una actividad o un aumento del número de copias del gen correspondiente, delección del factor de control de la inhibición de la expresión del gen, o una modificación de la secuencia de la secuencia de control de la expresión, por ejemplo, el uso de un promotor mejorado, en comparación con la actividad que el microorganismo tiene antes de su manipulación.

El microorganismo del género *Corynebacterium* de la presente divulgación puede ser un microorganismo del género *Corynebacterium* que tiene productividad de putrescina, en el que además se introduce el actividad de ornitina descarboxilasa (ODC).

Como se usa en el presente documento, la expresión "ornitina descarboxilasa (ODC)" se refiere a una enzima que tiene productividad de putrescina mediando en la descarboxilación de la ornitina. Aunque el microorganismo del género *Corynebacterium* no tiene una ruta de biosíntesis de putrescina, cuando ODC se introduce desde el exterior, la putrescina se sintetiza y se libera por vía extracelular. En la presente divulgación, la ODC puede consistir en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, o puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que tenga una homología de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad de ODC.

Además, dado que la secuencia de aminoácidos de la proteína que presenta la actividad puede variar de acuerdo

con la especie o cepa del microorganismo, el origen de ODC no está limitado en la presente divulgación, y específicamente, puede ser una ODC obtenida a partir de *E. coli*. Es evidente que cualquier secuencia de aminoácidos que tenga una homología con respecto a las secuencias mencionadas anteriormente y que tenga una actividad biológica sustancialmente igual o correspondiente a la proteína de SEQ ID NO: 17 también puede pertenecer al alcance de la presente divulgación, aunque la secuencia de aminoácidos puede tener una delección, modificación, sustitución, o adición en parte de la secuencia.

El polinucleótido que codifica ODC de la presente divulgación puede incluir los polinucleótidos que codifican el aminoácido de SEQ ID NO: 17, o los polinucleótidos que codifican proteínas que tienen una homología de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a la secuencia de aminoácidos mencionada anteriormente. Con respecto al polinucleótido que codifica la ODC, teniendo en cuenta los codones basándose en la degeneración del codón o los preferidos por organismos para expresar la proteína, se pueden realizar diversas modificaciones en la región codificante dentro del alcance sin cambiar la secuencia de aminoácidos del polipéptido.

El microorganismo del género *Corynebacterium* puede ser un microorganismo del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que las actividades de i) ornitina carbamoiltransferasa (ArgF) se debilitan en comparación con la actividad de ArgF en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, ii) el agente exportador de glutamato (NCgl1221) se debilita en comparación con la actividad del agente exportador de glutamato en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, o iii) la ornitina carbamoiltransferasa y un agente exportador de glutamato se debilitan en comparación con las actividades de ornitina carbamoiltransferasa y el agente exportador de glutamato en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

En la presente divulgación, la ornitina carbamoiltransferasa puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o de SEQ ID NO: 11, o cualquier proteína que consista en una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga o sustancialmente la misma actividad que la ornitina carbamoiltransferasa.

Además, el agente exportador de glutamato en la presente divulgación puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o de SEQ ID NO: 15, o cualquier proteína que incluya una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que el agente exportador de glutamato.

Además, el microorganismo del género *Corynebacterium* de la presente divulgación puede ser un microorganismo del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que al menos una actividad enzimática seleccionada entre el grupo que consiste en acetil-gamma-glutamil fosfato reductasa (ArgC), acetilglutamato sintasa u ornitina acetiltransferasa (ArgJ), acetilglutamato quinasa (ArgB), y acetilornitina aminotransferasa (ArgD) aumenta en comparación con la actividad de dicha enzima o enzimas en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

En la presente divulgación, la acetil-gamma-glutamil fosfato reductasa puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 o de SEQ ID NO: 21, o cualquier proteína que consista en una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que la acetil-gamma-glutamil fosfato reductasa.

Además, la acetilglutamato sintasa u ornitina acetiltransferasa puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 o de SEQ ID NO: 25, o cualquier proteína que consista en una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que acetilglutamato sintasa u ornitina acetiltransferasa.

En la presente divulgación, la acetilglutamato quinasa puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 o de SEQ ID NO: 29, o cualquier proteína que consista en una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente

un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que acetilglutamato quinasa.

Además, en la presente divulgación, la acetilornitina aminotransferasa puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 o de SEQ ID NO: 33, o cualquier proteína que consista en una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que acetilornitina aminotransferasa.

Además, el microorganismo del género *Corynebacterium* de la presente divulgación puede ser un microorganismo del género *Corynebacterium* que tiene productividad de putrescina, en el que la actividad de acetiltransferasa (NCgl1469) se debilita en comparación con la actividad de acetiltransferasa en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

En la presente divulgación, la acetiltransferasa puede incluir cualquier proteína que pueda transferir un grupo acetilo a la putrescina. La acetiltransferasa puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 o de SEQ ID NO: 37, o cualquier proteína que consista en una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que acetiltransferasa.

Por último, el microorganismo del género *Corynebacterium* de la presente divulgación puede ser un microorganismo del género *Corynebacterium* que tiene productividad de putrescina, en el que la actividad de NCgl2522 aumenta en comparación con su actividad del NCgl2522 en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

En la presente divulgación, NCgl2522 es una proteína que desempeña el papel de liberar putrescina, y puede incluir cualquier proteína que pueda transferir un grupo acetilo a la putrescina. La acetiltransferasa puede incluir, pero no se limita a, cualquier proteína que consista en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 o de SEQ ID NO: 41, o cualquier proteína que consista en una secuencia de aminoácidos que tenga una homología de secuencia de un 70 % o superior, específicamente un 80 % o superior, más específicamente un 90 % o superior, incluso más específicamente un 95 % o superior, además incluso más específicamente un 98 % o superior, y lo más específicamente un 99 % o superior con respecto a las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente, siempre y cuando la proteína tenga sustancialmente la misma actividad que NCgl2522.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para producir putrescina u ornitina, que incluye:

- (i) cultivar el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina en un medio; y
- (ii) recuperar putrescina u ornitina del microorganismo cultivado pues cultivo en la etapa (i).

En la presente divulgación, el microorganismo del género *Corynebacterium* puede ser *Corynebacterium glutamicum*.

El microorganismo del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina de la presente divulgación es el mismo que el que se ha descrito anteriormente.

En el método mencionado anteriormente, el microorganismo se puede cultivar mediante cultivo discontinuo, cultivo continuo, y cultivo semicontinuo conocido en la técnica, aunque no se limitan particularmente a los mismos. En particular, con respecto a la condición de cultivo, el pH apropiado (es decir, un pH óptimo de 5 a 9, específicamente un pH de 6 a 8, y lo más específicamente un pH de 6,8) se puede mantener usando un compuesto químico básico (por ejemplo, hidróxido sódico, hidróxido potásico, o amoníaco) o un producto químico ácido (por ejemplo, ácido fosfórico o ácido sulfúrico), aunque no se limita en particular a los mismos. Además, una condición aerobia se puede mantener añadiendo oxígeno o una mezcla de gases que contiene oxígeno a un cultivo celular. La temperatura del cultivo se puede mantener de 20 °C a 45 °C, y específicamente de 25 °C a 40 °C, y el microorganismo se puede cultivar de aproximadamente 10 horas a 160 horas. La putrescina o la ornitina producida con el cultivo mencionado anteriormente se puede secretar a un medio de cultivo o puede permanecer dentro de las células.

Además, en el medio de cultivo, las fuentes de carbono, tales como azúcares y carbohidratos (por ejemplo, glucosa, sacarosa, lactosa, fructosa, maltosa, molasas, almidón y celulosa), aceites y grasas (por ejemplo, aceite de soja, aceite de semilla de girasol, aceite de cacahuete, y aceite de coco), ácidos grasos (por ejemplo, ácido palmítico, ácido esteárico y ácido linoleico), alcoholes (por ejemplo, glicerol y etanol) y ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido

acético), se pueden usar individualmente o en combinación, pero no se limitan a los mismos; las fuentes de nitrógeno, tales como compuestos orgánicos que contienen nitrógeno (por ejemplo, peptona, extracto de levadura, jugo de carne, extracto de malta, licor de maíz fermentado, harina de soja, y urea) o compuestos inorgánicos (por ejemplo, sulfato de amonio, cloruro de amonio, fosfato de amonio, carbonato de amonio y nitrato de amonio), se pueden usar individualmente o en combinación, pero no se limitan a los mismos; y las fuentes de potasio, tales como dihidrogenofosfato de potasio, hidrogenofosfato de dipotasio o sales que contienen sodio que corresponden a los mismos, se pueden usar individualmente o en combinación, pero no se limitan a las mismas. Además, en el medio pueden estar contenidas otras sustancias esenciales que estimulan el crecimiento incluyendo sales metálicas (por ejemplo, sulfato de magnesio o sulfato de hierro), aminoácidos y vitaminas.

El método de recuperación de la putrescina o de la ornitina producida durante el cultivo de la presente divulgación se puede llevar a cabo a cabo con un método de cultivo apropiado conocido en la técnica, por ejemplo, cultivo discontinuo, cultivo continuo o cultivos semicontinuo y, por lo tanto, el material objetivo se puede recuperar del cultivo.

[Modos para llevar a cabo la invención]

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá en detalle con las realizaciones adjuntas a modo de ejemplo. Sin embargo, las realizaciones a modo de ejemplo que se desvelan en el presente documento son solo para fines ilustrativos y no se deberían interpretar como limitantes del alcance de la presente invención.

Ejemplo 1: Preparación de cepas con debilitamiento del gen *sugR* a partir de cepas que tienen productividad de putrescina

Los presentes inventores han confirmado el efecto del debilitamiento de *sugR*, que es el gen que codifica SugR, en una cepa que tiene productividad de putrescina.

1-1. Preparación de cepas con debilitamiento del gen *sugR* a partir de la cepa basada en ATCC13032 que tiene productividad de putrescina

Con el fin de confirmar si el debilitamiento del gen *sugR* estaba relacionado con la productividad de la putrescina en una cepa basada en ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum* que tiene productividad de putrescina (Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2013-0082478), se preparó una cepa con debilitamiento del gen *sugR*. De forma específica, la cepa con debilitamiento del gen *sugR* se preparó cambiando el codón de inicio del gen *sugR* y sustituyendo el promotor por el promotor con debilitamiento de B6 (Patek M (2005) *Regulation of gene expression*. En: Eggeling L, Bott M (eds) *Handbook of Corynebacterium glutamicum*. CRC, BocaRaton).

En primer lugar, se preparó un vector para cambiar el codón de iniciación del gen *sugR*. Con respecto a la proximidad de la secuencia de polinucleótidos del gen que codifica el SugR descrito por la SEQ ID NO: 2, se prepararon los pares de cebadores de las SEQ ID NOS: 43 y 44 para obtener el fragmento recombinante homólogo cadena arriba del codón de inicio del gen *sugR* y los padres de cebadores de las SEQ ID NOS: 45, 46 y 47 para obtener el fragmento recombinante homólogo cadena abajo del codón de inicio del gen *sugR*. Los cebadores usados para el cambio de los codones de inicio se resumen en la Tabla 1 que sigue a continuación.

[Tabla 1]

Cebador	Secuencia (5' -> 3')
sugR F1_Sall (SEQ ID NO: 43)	CTTGCATGCCTGCAGGTCGACAGGATTCATCTG GCATCTGGC
sugR -R1 (SEQ ID NO: 44)	GTCACCTCCTTAAAGCAAAAAGCC
sugR -F2_GTG (SEQ ID NO: 45)	TTTTTGCTTTAAGGAGTGACGTGTACGCAGAGG AGCGCCGTC
sugR -F2_TTG (SEQ ID NO: 46)	TTTTTGCTTTAAGGAGTGACTTGTACGCAGAGG AGCGCCGTC

sugR -R2_BamHI (SEQ ID NO: 47)	CGAGCTCGGTACCCGGGGATCCGCGAGAGTACG AAGCGCAGT
--------------------------------	--

La PCR se llevó a cabo usando el ADN genómico de la cepa ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum* como un molde a lo largo junto con 2 pares de cebadores, respectivamente, para amplificar la región cadena arriba y la región cadena abajo del codón de inicio del gen *sugR*, respectivamente, y los resultados se sometieron a electroforesis para obtener los fragmentos deseados. En particular, la PCR se llevó a cabo mediante 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, hibridación a 55 °C durante 30 segundos, y con extensión a 72 °C durante 30 segundos. Los fragmentos obtenidos de ese modo se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 0,8 %, y las bandas de los tamaños deseados se eluyeron y se purificaron.

El vector *pDZ* (Patente Coreana N.º 10-0924065) se trató con *Bam*HI y *Sal*I y a continuación los productos de PCR de la cepa ATCC13032 se sometieron a clonación por fusión. La clonación por fusión se llevó a cabo usando el Kit de Clonación En-Fusion® HD (Clontech). Por lo tanto, se prepararon los plásmidos *pDZ-1'sugR*(GTG) y que *pDZ-1'sugR*(TTG).

En el caso del vector para la sustitución en un promotor con debilitamiento de B6, la SEQ ID NO: 48 para la preparación del vector se preparó como se muestra en la Tabla 2 que sigue a continuación.

[Tabla 2]

Cebador	Secuencia (5' -> 3')
sugR F3 (SEQ ID NO: 48)	TTTTTGCTTTAAGGAGTGACGAAGGCAACCATGAAC TCTAATGTACGCAGAGGAGCGCCGTC

La PCR se llevó a cabo usando los pares de cebadores de las SEQ ID NOS: 43 y 44 para obtener el fragmento recombinante homólogo cadena arriba del codón de inicio del gen *sugR* y los pares de cebadores de las SEQ ID NOS: 48 y 47 para obtener el fragmento recombinante homólogo cadena abajo el codón de inicio del gen *sugR*, que se preparó con respecto a la proximidad de la secuencia de polinucleótidos del gen que codifica el SugR descrito por la SEQ ID NO: 2, y la región cadena arriba y la región cadena abajo del codón de inicio del gen *sugR* se amplificaron, respectivamente, y los resultados se sometieron a electroforesis para obtener los fragmentos deseados. Los fragmentos obtenidos de ese modo se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 0,8 %, y las bandas de los tamaños deseados se eluyeron y se purificaron. El vector *pDZ* se trató con *Bam*HI y *Sal*I y a continuación los productos de PCR de la cepa ATCC13032 se sometieron a clonación por fusión. La clonación por fusión se llevó a cabo usando el Kit de Clonación En-Fusion® HD (Clontech). Por lo tanto, se preparó el plásmido *pDZ-1'sugR*(B6).

Los plásmidos *pDZ-1'sugR*(GTG), *pDZ-1'sugR*(TTG), y *pDZ-1'sugR*(B6) se introdujeron en un microorganismo del género *Corynebacterium* KCCM11240P (Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2013-0082478) por electroporación para obtener transformantes, y los transformantes se sembraron en placas en medios de placa BHIS (37 g/l de infusión de cerebro y corazón, 91 g/l de sorbitol, y agar al 2 %) que contenían kanamicina (25 µg/ml) y X-gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil-D-galactósido) y se cultivaron para obtener colonias. Entre las colonias, se seleccionaron colonias azules y por lo tanto se seleccionaron las cepas introducidas con los plásmidos *pDZ-1'sugR*(GTG), *pDZ-1'sugR*(TTG), y *pDZ-1'sugR*(B6).

Las cepas seleccionadas se cultivaron con agitación (30 °C, 8 horas) en medio CM (10 g/l de glucosa, 10 g/l de polipeptona, 5 g/l de extracto de levadura, 5 g/l de extracto de carne, 2,5 g/l de NaCl, 2 g/l de urea, pH 6,8) y se diluyeron secuencialmente de 10⁻⁴ a 10⁻¹⁰, se sembraron en placas en un medio sólido que contenía X-gal, y se cultivaron para formar colonias.

Entre las colonias formadas de ese modo, se seleccionaron colonias blancas que aparecían a una tasa relativamente baja y las cepas en las que el codón de inicio de *sugR* se cambió a GTG o TTG por un cruce secundario o las cepas en las que el promotor se cambió a B6 se seleccionaron en último lugar. Con respecto a las cepas seleccionadas en último lugar, la PCR se llevó a cabo usando un par de cebadores de SEQ ID NOS: 43 y 47 y se confirmó que el codón de inicio de *sugR* se cambió a GTG o TTG, o el promotor se convirtió en un promotor con debilitamiento de B6, y las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* se denominaron KCCM11240P *sugR* (GTG), KCCM11240P *sugR* (TTG), KCCM11240P *sugR* (B6).

1-2. Preparación de una cepa con debilitamiento del gen *sugR* a partir de una cepa basada en ATCC13869 que tiene productividad de putrescina

DAB12-a ΔNCgl1469 (Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2014-0115244), que es una cepa de *Corynebacterium glutamicum* basada en ATCC13869 que tiene productividad de putrescina, se denominó DAB12-b, y una cepa con debilitamiento de *sugR* se preparó basándose en la cepa DAB12-b.

- 5 De forma específica, para confirmar las secuencias del gen que codifica SugR obtenido a partir de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* y la proteína expresada a partir de las mismas, la PCR se llevó a cabo usando el ADN genómico de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* como un molde junto con un par de cebadores de SEQ ID NO: 43 y de SEQ ID NO: 49.

10

[Tabla 3]

Cebador	Secuencia (5' -> 3')
sugR R (SEQ ID NO: 49)	GGACTTGCAGTGAAGTAAAGAA

En particular, la PCR se llevó a cabo mediante 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, hibridación a 55 °C durante 30 segundos, y con extensión a 72 °C durante 1 minuto y 30 segundos.

- 15 Los productos de PCR obtenidos de ese modo se separaron mediante electroforesis y se sometieron al análisis de secuencias, y como resultado, se confirmó que el gen que codifica SugR obtenido a partir de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* incluye una secuencia de polinucleótidos descrita por la SEQ ID NO: 4. La comparación de la secuencia de proteínas que se está codificando a partir de la misma y la secuencia de aminoácidos del SugR obtenido a partir de la cepa ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum* (SEQ ID NO: 1) reveló que su homología era de un 99 %.

20

Con el fin de cambiar el codón de inicio de *sugR* obtenido a partir de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* y sustituir el promotor con debilitamiento de B6, la PCR se llevó a cabo como en el Ejemplo 1-1 usando el ADN genómico de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* como molde junto con los cebadores que se han descrito en las Tablas 1 y 2 mencionadas anteriormente, y los fragmentos de PCR de la región cadena arriba y de la región cadena abajo del codón de inicio de *sugR* se amplificaron, respectivamente, y a continuación se sometieron a electroforesis para obtener los fragmentos deseados. En particular, la PCR se llevó a cabo mediante 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, hibridación a 55 °C durante 30 segundos, y con extensión a 72 °C durante 30 segundos. Los fragmentos obtenidos de ese modo se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 0,8 %, y las bandas de los tamaños deseados se eluyeron y se purificaron.

25

30

El vector *pDZ* se trató con *Bam*HI y *Sall* y a continuación los productos de PCR de la cepa ATCC13032 se sometieron a clonación por fusión. La clonación por fusión se llevó a cabo usando el Kit de Clonación En-Fusion® HD (Clontech). Por lo tanto, se prepararon los plásmidos *pDZ-2'sugR(GTG)*, *pDZ-2'sugR(TTG)*, y *pDZ-2'sugR(B6)*.

35

Los plásmidos *pDZ-2'sugR(GTG)*, *pDZ-2'sugR(TTG)*, y *pDZ-2'sugR(B6)* se transformaron en la cepa DAB12-b de *Corynebacterium glutamicum* de la misma manera que en el Ejemplo 1-1, y se seleccionaron las cepas en las que el codón de inicio de *sugR* se cambió y/o el promotor se convirtió en un promotor con debilitamiento de B6. Las cepas de *Corynebacterium glutamicum* modificadas seleccionadas de ese modo se denominaron DAB12-b *sugR(GTG)*, DAB12-b *sugR(TTG)*, y DAB12-b *sugR(B6)*, respectivamente.

40

Ejemplo 2: Preparación de una cepa con potenciación de *gltA* a partir de una cepa que tiene productividad de putrescina

- 45 Con el fin de confirmar el efecto de potenciación de la actividad de *gltA*, que es citrato sintasa, en una cepa que tiene productividad de putrescina, se preparó una cepa modificada en la que el gen *gltA* se introdujo en un gen transposón dentro del cromosoma de la cepa que tiene productividad de putrescina. El vector *pDZTn* (documento WO 2009/125992) a la transformación, que puede introducir un gen en el cromosoma, y se usó la región del gen transposón del microorganismo del género *Corynebacterium*.

50

2-1. Preparación de una cepa con potenciación de *gltA* a partir de una cepa basada en ATCC13032 que tiene productividad de putrescina

- 55 Los fragmentos del gen *gltA* se amplificaron usando el ADN genómico de la cepa ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum* como molde junto con los cebadores de las SEQ ID NOS: 50 y 51 (Tabla 4). En particular, la PCR se llevó a cabo mediante 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, hibridación a 55 °C durante 30 segundos, y con extensión a 72 °C durante 30 segundos o 1 minuto y 30 segundos. Los fragmentos obtenidos de ese modo se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 0,8 %, y las bandas de los tamaños deseados se eluyeron y se purificaron.

60

El vector *pDZTn* se trató con *Spe*I y a continuación los productos de PCR se sometieron a clonación por fusión, respectivamente. La clonación por fusión se llevó a cabo usando el Kit de Clonación En-Fusion® HD (Clontech). El

plásmido obtenido de este modo se denominó *pDZTn1'-gltA*.

[Tabla 4]

Cebador	Secuencia (5' -> 3')
<i>gltA</i> F_speI (SEQ ID NO: 50)	GAAGGAATGAGTTCCTCGAGACTAGTACTCGGCAC TCCTTGTC
<i>gltA</i> R_speI (SEQ ID NO: 51)	GTTATTAGATGTCGGGCCCACTAGTGTGCTGTACAT TCCTTGAAAATC

El plásmido preparado de ese modo se introdujo en la cepa KCCM11240P mediante electroporación para obtener un transformante, y el transformante se cultivó con agitación (30 °C, 8 horas) en medio CM (10 g/l de glucosa, 10 g/l de polipeptona, 5 g/l de extracto de levadura, 5 g/l de extracto de carne, 2,5 g/l de NaCl, 2 g/l de urea, pH 6,8), se diluyó secuencialmente de 10^{-4} a 10^{-10} , se sembró en placas en un medio sólido que contenía X-gal, y se cultivó para formar colonias.

Entre las colonias formadas de ese modo, se seleccionaron colonias blancas que aparecían a una tasa relativamente baja y por último se seleccionó la cepa en la que el gen que codifica *gltA* se introdujo mediante un cruce secundario. Con respecto a la cepa seleccionada en último lugar, se confirmó que la PCR se llevó a cabo usando un par de cebadores de SEQ ID NOS: 50 y 51 y que el gen que codifica *gltA* se introdujo en la misma, y la cepa modificada de *Corynebacterium glutamicum* se denominó KCCM11240P Tn::gltA.

2-2. Preparación de una cepa con potenciación de *gltA* a partir de una cepa basada en ATCC13869 que tiene productividad de putrescina

Con respecto a la cepa *DAB12-b* usada en el Ejemplo 1-2, se preparó una cepa con potenciación de *gltA*.

De forma específica, para confirmar las secuencias del gen que codifica *gltA* obtenido a partir de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* y la proteína expresada a partir de la misma, la PCR se llevó a cabo usando el ADN genómico de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* como un molde junto con un par de cebadores de SEQ ID NO: 50 y SEQ ID NO: 51.

En particular, la PCR se llevó a cabo mediante 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, hibridación a 55 °C durante 30 segundos, y con extensión a 72 °C durante 1 minuto y 30 segundos. Los productos de PCR obtenidos de ese modo se separaron mediante electroforesis y se sometieron al análisis de secuencias, y como resultado, se confirmó que el gen que codifica *gltA* obtenido a partir de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* incluye una secuencia de polinucleótidos descrita por la SEQ ID NO: 8. La comparación de la secuencia de proteínas que se está codificando a partir de la misma y la secuencia de aminoácidos del gen *gltA* obtenido a partir de la cepa ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum* (SEQ ID NO: 5) reveló que su homología era de un 99 %.

Con el fin de potenciar el *gltA* obtenido a partir de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*, la PCR se llevó a cabo como en el Ejemplo 2-1 usando el ADN genómico de la cepa ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum* como molde junto con los cebadores de las SEQ ID NOS: 50 y 51 para amplificar fragmentos del gen. En particular, la PCR se llevó a cabo mediante 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 segundos, hibridación a 55 °C durante 30 segundos, y con extensión a 72 °C durante 30 segundos o 1 minuto y 30 segundos. Los fragmentos de PCR obtenidos de ese modo se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 0,8 %, y las bandas de los tamaños deseados se eluyeron y se purificaron.

El vector *pDZTn* se trató con *SpeI* y a continuación los productos de PCR se sometieron a clonación por fusión, respectivamente. La clonación por fusión se llevó a cabo usando el Kit de Clonación En-Fusion® HD (Clontech). El plásmido obtenido de ese modo se denominó *pDZTn2'-gltA*. El plásmido *pDZTn2'-gltA* se transformó en la cepa *DAB12-b* de *Corynebacterium glutamicum* de la misma manera que en el Ejemplo 2-1 y por lo tanto se seleccionó la cepa en la que se potenció *gltA*. La cepa modificada de *Corynebacterium glutamicum* seleccionada de ese modo se denominó *DAB12-b Tn:gltA*.

Ejemplo 3: Preparación de cepas que tienen productividad de putrescina con la integración de debilitamiento de *sugR* y potenciación de *gltA* y confirmación de la productividad de putrescina de las cepas

Con el fin de confirmar la mejora de la productividad de putrescina de las cepas con debilitamiento de *sugR* preparadas en los Ejemplos 1-1 y 1-2 mediante la inserción del gen *gltA*, el gen *gltA* se introdujo en el gen

transposón. En particular, se usaron los vectores *pDZTn1'-gltA* y *pDZTn2'-gltA* preparados en los Ejemplos 2-1 y 2-2.

De forma específica, el plásmido *pDZTn1'-gltA* se transformó en las cepas KCCM11240P sugR(GTG), -KCCM11240P sugR(TTG), y -KCCM11240P sugR(B6) de *Corynebacterium glutamicum* de la misma manera que en el Ejemplo 2-1 para preparar cepas con potenciación de *gltA*. Las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* preparadas de ese modo se denominaron KCCM11240P sugR(GTG) Tn::gltA, KCCM11240P sugR(TTG) Tn::gltA, y KCCM11240P sugR(B6) Tn::gltA, respectivamente, y entre ellas, KCCM11240P sugR(TTG) Tn::gltA (*Corynebacterium glutamicum* CC01-1147) se depositó en el Korean Culture Center of Microorganisms (KCCM) el 28 de noviembre de 2014, con el número de acceso KCCM11615P.

Además, el plásmido *pDZTn2'-gltA* se transformó en las cepas DAB12-b sugR(GTG), -DAB12-b sugR(TTG), y -DAB12-b sugR(B6) de *Corynebacterium glutamicum* de la misma manera que en el Ejemplo 2-2 para preparar cepas con potenciación de *gltA*. Las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* preparadas de ese modo se denominaron DAB12-b sugR(GTG) Tn::gltA, DAB12-b sugR(TTG) Tn::gltA, y DAB12-b sugR(B6) Tn::gltA, respectivamente.

Ejemplo 4: Evaluación de la productividad de putrescina de cepas que tienen productividad de putrescina con la integración de debilitamiento de *sugR* y potenciación de *gltA*

Con el fin de confirmar el efecto del debilitamiento de *sugR* y de potenciación de *gltA* en cepas que tienen productividad de putrescina en la producción de putrescina, la productividad de putrescina se comparó entre las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* que tienen productividad de putrescina preparadas en los Ejemplos 1, 2, y 3.

De forma específica, 6 tipos diferentes de cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum*, es decir, (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, y DAB12-b sugR (B6) Tn::gltA), y 2 tipos diferentes de cepas precursoras (es decir, KCCM11240P y DAB12-b) se sembraron en placas respectivamente en medio de placas CM que contiene arginina 1 mM (glucosa al 1 %, polipeptona al 1 %, extracto de levadura al 0,5 %, extracto de carne al 0,5 %, NaCl al 0,25 %, urea al 0,2 %, 100 µl de NaOH al 50 %, agar al 2 %, pH 6,8, basándose en 1 l), y se cultivó a 30 °C durante 24 horas.

Cada una de las cepas cultivadas a partir del mismo en una cantidad de aproximadamente un bucle de platino se inoculó en una cantidad de 25 ml de medio de título (glucosa al 8 %, proteína de soja al 0,25 %, sólidos de maíz fermentado al 0,50 %, (NH₄)₂SO₄ al 4 %, KH₂PO₄ al 0,1 %, MgSO₄·7H₂O al 0,05 %, urea al 0,15 %, 100 g de biotina, 3 mg de HCl de tiamina, 3 mg de calcio-ácido pantoténico, 3 mg de nicotinamida, CaCO₃ al 5 %, basándose en 1 l), y se cultivó con agitación a 30 °C a una tasa de 200 rpm durante 50 horas.

En todos los cultivos de las cepas, si añadió arginina 1 mM a los medios. Después de finalizar el cultivo, la concentración de la putrescina producir en cada cultivo se midió y los resultados se muestran en la Tabla 5 que sigue continuación.

[Tabla 5]

Cepa	Putrescina (g/l)	Productividad (g/l/h)	Índice (%)
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

Como se muestra en la Tabla 5 mencionada anteriormente, las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* con debilitamiento de sugR o con potenciación de gltA mostraron un aumento de la productividad de putrescina en comparación con la cepa no modificada, KCCM11240P, de un 3 % a un 9 %, y también, las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* con debilitamiento de sugR y con potenciación de gltA de forma simultánea mostraron un aumento de la productividad de putrescina de un 9 % a un 17 %.

Además, las cepas modificadas de la cepa DAB12-b con debilitamiento de sugR o con potenciación de gltA mostraron un aumento de la productividad de putrescina en comparación con la cepa no modificada, de un 4 % a un 9 % y también, las cepas modificadas de la cepa DAB12-b con debilitamiento de sugR y con potenciación de gltA de forma simultánea mostraron un aumento de la productividad de putrescina de un 10 % a un 13 %.

Ejemplo 5: Preparación de cepas con un aumento de capacidad de secreción de putrescina basándose en cepas que tienen productividad de putrescina con integración de debilitamiento de sugR y potenciación de gltA y confirmación de productividad de putrescina de las cepas

5-1. Preparación de cepas con un aumento de la capacidad de secreción de putrescina basándose en cepas con integración de debilitamiento de sugR y potenciación de gltA

Con el fin de confirmar si la cepa KCCM11401P con un aumento de la capacidad de secreción de putrescina (Publicación de Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2014-0115244) puede mejorar la productividad de putrescina mediante el debilitamiento de la actividad del gen *sugR* y la potenciación de la actividad del gen *gltA*, se prepararon cepas modificadas.

De forma específica, en primer lugar, los plásmidos *pDZ1-1'sugR(GTG)*, *pDZ-1'sugR(TTG)*, y *pDZ-1'sugR(B6)* preparados en el Ejemplo 1-1 se transformaron en la cepa KCCM 11401P de *Corynebacterium glutamicum*, y a partir de la misma se seleccionaron las cepas en las que el codón de inicio de *sugR* se convirtió en TTG dando como resultado del debilitamiento de *sugR*. Las cepas de *Corynebacterium glutamicum* modificadas seleccionadas de ese modo se denominaron KCCM11401P sugR(GTG), KCCM11401P sugR(TTG), y KCCM11401P sugR(B6), respectivamente.

A continuación, con el fin de confirmar si la productividad de putrescina se puede mejorar con la potenciación de la actividad del gen *gltA*, el gen *gltA* se introdujo en un gen transposón de las cepas con debilitamiento del gen *sugR* preparadas anteriormente. En particular, se usó el vector *pDZTn1'-gltA* preparado en el Ejemplo 2-1.

De forma específica, el plásmido *pDZTn1'-gltA* preparado en el Ejemplo 2-1 se transformó en KCCM11401P sugR(GTG), KCCM11401P sugR(TTG), y KCCM11401P sugR(B6), y se seleccionaron las cepas con potenciación de *gltA*. Las cepas de *Corynebacterium glutamicum* modificadas seleccionadas de ese modo se denominaron KCCM11401P sugR(GTG) Tn::gltA, KCCM11401P sugR(TTG) Tn::gltA, y KCCM11401P sugR(B6) Tn::gltA.

5-2. Evaluación de cepas con un aumento de capacidad de secreción de putrescina basándose en cepas que tiene productividad de putrescina con integración de debilitamiento de sugR y potenciación de gltA con respecto a la productividad de putrescina

Con el fin de confirmar el efecto del debilitamiento de sugR y de la potenciación de gltA en cepas que tienen productividad de putrescina con respecto a su producción de putrescina, la productividad de putrescina se comparó entre las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* preparadas en el Ejemplo 5-1.

De forma específica, 7 tipos diferentes de cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* (es decir, KCCM11401P sugR(GTG), KCCM11401P sugR(TTG), KCCM11401P sugR(B6), KCCM11401P Tn::gltA, KCCM11401P sugR(GTG) Tn::gltA, KCCM11401P sugR(TTG) Tn::gltA, y KCCM11401P sugR(B6) Tn::gltA) y una cepa precursora única (KCCM11401P) se sembraron en placas respectivamente en medio de placas CM que contiene arginina 1 mM (glucosa al 1 %, polipeptona al 1 %, extracto de levadura al 0,5 %, extracto de carne al 0,5 %, NaCl al 0,25 %, urea al 0,2 %, 100 µl de NaOH al 50 %, agar al 2 %, pH 6,8, basándose en 1 l), y se cultivaron a 30 °C durante 24 horas.

Cada una de las cepas cultivadas a partir del mismo en una cantidad de aproximadamente un bucle de platino se inoculó en una cantidad de 25 ml de medio de título (glucosa al 8 %, proteína de soja al 0,25 %, sólidos de maíz fermentado al 0,50 %, (NH₄)₂SO₄ al 4 %, KH₂PO₄ al 0,1 %, MgSO₄·7H₂O al 0,05 %, urea al 0,15 %, 100 g de biotina, 3 mg de HCl de tiamina, 3 mg de calcio-ácido pantoténico, 3 mg de nicotinamida, CaCO₃ al 5 % 1 L, basándose en 1 l), y se cultivó con agitación a 30 °C a una tasa de 200 rpm durante 50 horas.

[Tabla 6]

Cepa	Putrescina (g/l)	Productividad (g/l/h)	Índice (%)
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

Como se muestra en la Tabla 6 mencionada anteriormente, las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* con debilitamiento de sugR o con potenciación de gltA mostraron un aumento de la productividad de putrescina en comparación con la cepa no modificada, KCCM11401P, de un 2 % a un 6 %, y también, las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* con debilitamiento de sugR y con potenciación de gltA de forma simultánea mostraron un aumento de la productividad de putrescina de un 9 % a un 15 % en la productividad de putrescina. Se confirmó que los resultados están de acuerdo con la interpretación de los resultados de la Tabla 5.

Ejemplo 6. Preparación de cepas con debilitamiento de sugR a partir de una cepa que tiene productividad de ornitina

Con el fin de confirmar si el debilitamiento de sugR obtenido a partir de la cepa ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum* tiene un efecto en la productividad de ornitina, se prepararon cepas modificadas usando los vectores preparados en el Ejemplo 1-1.

Los plásmidos preparados en el Ejemplo 1-1, es decir, pDZ-1'sugR(GTG), pDZ-1'sugR(TTG), y pDZ-1'sugR(B6), se introdujeron en la cepa KCCM11137P (Patente Coreana N.º 10-1372635), que se preparó usando la cepa ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum* como la cepa precursora, por electroporación para obtener transformantes, y los transformantes se sembraron en placas en medios de placa BHIS (37 g/l de infusión de cerebro y corazón, 91 g/l de sorbitol, y agar al 2 %) que contenían kanamicina (25 µg/ml) y X-gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil-D-galactósido) y se cultivaron para obtener colonias. Entre las colonias, se seleccionaron colonias azules y por lo tanto se seleccionaron las cepas introducidas con los plásmidos pDZ-1'sugR(GTG), pDZ-1'sugR(TTG), y pDZ-1'sugR(B6).

Las cepas seleccionadas se cultivaron con agitación (30 °C, 8 horas) en medio CM (10 g/l de glucosa, 10 g/l de polipeptona, 5 g/l de extracto de levadura, 5 g/l de extracto de carne, 2,5 g/l de NaCl, 2 g/l de urea, pH 6,8) y se diluyeron secuencialmente de 10^{-4} a 10^{-10} , se sembraron en placas en un medio sólido que contenía X-gal, y se cultivaron para formar colonias. Entre las colonias formadas de ese modo, se seleccionaron colonias blancas que aparecían a una tasa relativamente baja y las cepas, en las que el codón de inicio de sugR se cambió a GTG o TTG por un cruce secundario o las cepas en el que el promotor se cambió a B6 se seleccionaron en último lugar. Con respecto a las cepas seleccionadas en último lugar, la PCR se llevó a cabo usando un par de cebadores de SEQ ID NO: 43 y 47 y a continuación se confirmó que el codón de inicio de sugR se cambió a GTG o TTG. Las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* obtenidas se denominaron KCCM11137P sugR(GTG), KCCM11137P sugR(TTG), y KCCM11137P sugR(B6), respectivamente.

Ejemplo 7. Preparación de cepas con potenciación de gltA a partir de cepas que tienen productividad de ornitina

Con el fin de confirmar el efecto de la potenciación del gen gltA en una cepa que tiene productividad de ornitina en su producción de ornitina, se preparó una cepa modificada insertando gen gltA en el cromosoma de la cepa que tiene productividad de ornitina usando los vectores preparados en el Ejemplo 2-1.

De forma específica, los vectores preparados en el Ejemplo 2-1 se introdujeron en la cepa KCCM11137P (Patente Coreana N.º 10-1372635) por electroporación para obtener transformantes, y los transformantes se cultivaron con agitación (30 °C, 8 horas) en medio CM (10 g/l de glucosa, 10 g/l de polipeptona, 5 g/l de extracto de levadura, 5 g/l de extracto de carne, 2,5 g/l de NaCl, 2 g/l de urea, pH 6,8), diluidos secuencialmente de 10^{-4} a 10^{-10} , se sembraron en placas en un medio sólido que contenía X-gal, y se cultivaron para formar colonias.

Entre las colonias formadas de ese modo, se seleccionaron colonias blancas que aparecían a una tasa relativamente baja y en último lugar se seleccionó la cepa en la que el gen que codifica gltA se introdujo mediante un

cruce secundario. Con respecto a la cepa seleccionada en último lugar, la PCR se llevó a cabo usando un par de cebadores de SEQ ID NOS: 50 y 51 y se confirmó que el gen que codifica *gltA* se había introducido la misma, y la cepa de *Corynebacterium glutamicum* modificada se denominó KCCM11137P Tn::gltA.

5 **Ejemplo 8. Preparación de cepas con integración de debilitamiento de *sugR* y potenciación de *gltA* y confirmación de la productividad de putrescina de las cepas**

8-1. Preparación de cepas basadas en ATCC13032 que tienen productividad de ornitina con integración de debilitamiento de *sugR* y potenciación de *gltA*

Con el fin de confirmar el efecto de potenciación de la actividad de productividad de ornitina en las cepas con debilitamiento de *sugR*, KCCM11137P *sugR*(GTG), KCCM11137P *sugR*(TTG), y KCCM11137P *sugR*(B6) preparadas en el Ejemplo 6 mediante la inserción del gen *gltA* en el cromosoma, el gen *gltA* se introdujo en un gen transposón. En particular, se usó el vector *pDZTn1'-gltA* preparado en el Ejemplo 2-1.

El plásmido *pDZTn1'-gltA* se transformó en la cepa KCCM11137P *sugR* TTG) de *Corynebacterium glutamicum* de la misma manera que en el Ejemplo 2-1 y se seleccionaron cepas con potenciación de *gltA*. Las cepas de *Corynebacterium glutamicum* modificadas seleccionadas de ese modo se denominaron KCCM11137P *sugR*(GTG) Tn::gltA, KCCM11137P *sugR*(TTG) Tn::gltA, y KCCM11137P *sugR*(B6) Tn::gltA, respectivamente.

8-2. Evaluación de cepas con integración de debilitamiento de *sugR* y potenciación de *gltA* en la productividad de ornitina

Con el fin de confirmar el efecto del debilitamiento de *sugR* y de la potenciación de *gltA* en cepas que tienen productividad de ornitina con respecto a su producción de ornitina, la productividad de ornitina se comparó entre las cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* preparadas en el Ejemplo 8-1.

De forma específica, 7 tipos diferentes de cepas modificadas de *Corynebacterium glutamicum* (es decir, KCCM11137P *sugR*(GTG), KCCM11137P *sugR*(TTG), KCCM11137P *sugR*(B6), KCCM11137P Tn::gltA, KCCM11137P *sugR*(GTG) Tn::gltA, KCCM11137P *sugR*(TTG) Tn::gltA, y KCCM11137P *sugR*(B6) Tn::gltA) y una cepa precursora única (KCCM11137P) se sembraron en placas respectivamente en medio de placas CM que contiene arginina 1 mM (glucosa al 1 %, polipeptona al 1 %, extracto de levadura al 0,5 %, extracto de carne al 0,5 %, NaCl al 0,25 %, urea al 0,2 %, 100 µl de NaOH al 50 %, agar al 2 %, pH 6,8, basándose en 1 l), y se cultivó a 30 °C durante 24 horas.

Cada una de las cepas cultivadas a partir del mismo en una cantidad de aproximadamente un bucle de platino se inoculó en una cantidad de 25 ml de medio de título (glucosa al 8 %, proteína de soja al 0,25 %, sólidos de maíz fermentado al 0,50 %, (NH₄)₂SO₄ al 4 %, KH₂PO₄ al 0,1 %, MgSO₄·7H₂O al 0,05 %, urea al 0,15 %, 100 g de biotina, 3 mg de HCl de tiamina, 3 mg de calcio-ácido pantoténico, 3 mg de nicotinamida, CaCO₃ al 5 % basándose en 1 l), y se cultivó con agitación a 30 °C a una tasa de 200 rpm durante 50 horas. En todos los cultivos de cepas, se añadió arginina 1 mM a los medios. Después de finalizar el cultivo, la concentración de ornitina producida en cada cultivo se midió y los resultados se muestran en la Tabla 7 que sigue a continuación.

[Tabla 7]

Cepa	Ornitina (g/l)	Productividad (g/l/h)	Índice (%)
KCCM11137P	11,5	0,230	100
KCCM11137P <i>sugR</i> (TTG)	12,5	0,250	109
KCCM11137P <i>sugR</i> (GTG)	12,3	0,246	107
KCCM11137P <i>sugR</i> (B6)	12,5	0,250	109
KCCM11137P Tn::gltA	12,4	0,248	108
KCCM11137P <i>sugR</i> (TTG) Tn::gltA	13,5	0,270	117
KCCM11137P <i>sugR</i> (GTG) Tn::gltA	13	0,260	113
KCCM11137P <i>sugR</i> (B6) Tn::gltA	12,9	0,258	112

Como se muestra en la Tabla 7 mencionada anteriormente, las cepas de *Corynebacterium glutamicum* modificadas con debilitamiento de *sugR* o con potenciación de *gltA* mostraron un aumento de la productividad de ornitina en comparación con la cepa no modificada, KCCM11137P, de un 7 % a un 9 %, y también, las cepas de *Corynebacterium glutamicum* modificadas con debilitamiento de *sugR* y con potenciación de *gltA* de forma simultánea mostraron un aumento de la productividad de ornitina de un 12 % a un 17 % en la productividad de ornitina.

En conclusión, en una cepa de *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, se confirmó que la producción de putrescina y ornitina se puede aumentar mediante el debilitamiento de sugR o la potenciación de gltA, y que cuando gltA se potenciaba a la vez que sugR se debilitaba, la producción de putrescina y ornitina aumentaba de forma más significativa.

5 <110> CJ CHEILJEDANG CORPORATION

<120> MICROORGANISMOS PARA PRODUCIR PUTRESCINA U ORNITINA Y PROCESO PARA PRODUCIR
10 PUTRESCINA U ORNITINA USANDO LOS MISMOs

<130> KMC/80313EP1

<150> KR10-2015-0090021
15 <151> 24-06-2015

<160> 51

<170> KopatentIn 2.0

20 <210> 1
<211> 259
<212> PRT
<213> SugR de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*

25 <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> SugR de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 2

```

atgtacgcag aggagcgccg tcgacagatt gcctcattaa cggcagttga gggacgtgta      60
aatgtcacag aattagcggg ccgattcgat gtcactgcag agacgattcg acgagacctt      120
gcggtgctag accgcgaggg aattgttcac cgcgttcacg gtggcgcagt agccacccaa      180
tctttccaaa ccacagagtt gagcttggat actcgtttca ggtctgcac gtcagcaaag      240
tactccattg ccaaggcagc gatgcagttc ctgccgcgtg agcatggcgg actgttcctc      300
gatgcgggaa ctactgttac tgctttggcc gatctcattt ctgagcatcc tagctccaag      360
cagtggctga tcgtgaccaa ctgcctcccc atcgcaacta atctggccaa cgccgggctt      420
gatgatgtcc agctgcttgg aggaagcgtt cgcgcgatca cccaggctgt tgtgggtgac      480
actgcgcttc gtactctgcg gctgatgcgt ggggatgtag tgttcacgg caccaacgcg      540
ttgacgttgg atcacggatt gtctacggcc gattcccaag aggctgccat gaaatctgcg      600
atgatcacca acgcccacaa ggtggtggtg 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> SugR de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
 <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> SugR de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 4

atgtacgcag aggagcgccg tcgacagatt gcctcattaa cggcagttga gggacgtgta	60
aatgtcacag aattagcggg ccgattcgat gtcactgcag agacgattcg acgagacctt	120
gcggtgctag accgcgaggg aattgttcac cgcgttcacg gtggcgaggt agccacccaa	180
tctttccaaa ccacagagtt gagcttggat actcgtttca ggtctgcac gtcagcaaag	240
tactccattg ccaaggcagc gatgcagttc ctgcccgctg agcatggcgg actgttcctc	300
gatgcgggaa ctactgttac tgctttggcc gatctcattt ctgagcatcc tagcgccaag	360
cagtggtcga tcgtgaccaa ctgcctcccc atcgcaacta atctggccaa cgcggggctt	420
gatgatgtcc agctacttgg aggaagcgtt cgcgcgatca cccaggctgt tgtgggtgac	480
actgcgcttc gtactctcgc gctgatgcgt gcggatgtag tgttcacgg caccaacgg	540
ttgacgttgg atcacggatt gtctacggcc gattcccaag aggctgccat gaaatctgcg	600
atgatcacca acgcccacaa ggtggtggtg 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> GltA de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 5

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> gltA de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 6

atgtttgaaa gggatatcgt ggctactgat aacaacaagg ctgtcctgca ctaccccggt	60
ggcgagttcg aaatggacat catcgaggct tctgagggta acaacgggtg tgtcctgggc	120
aagatgctgt ctgagactgg actgatcact ttgacccag 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 cagcgcagcg tcacccaatg	420
gcaacottgg ottcctoggt taacatthttg tctacctaact accaggacca gctgaacca	480
ctcgatgagg cacagcttga taaggcaacc gttcgccctca tggcaaagggt tccaatgctg	540
gctgcgtacg cacaccgcgc acgcaagggt gctccttaca tgtaccacaga caactccctc	600
aatgcgcgtg agaacttctt gcgcgatgatg ttcggttacc caaccgagcc atacgagatc	660
gacccaatca tgggtcaaggc tctggacaag ctgctcatcc tgcacgctga ccacgagcag	720
aactgctoca cctccaccgt togtatgato ggttcgcac aggccaaacat gtttgtctcc	780
atcgctggtg gcatcaacgc totgtccggc cactgcacg gtggcgcaaa ccaggctgtt	840
ctggagatgc tccaagacat caagagcaac caagggtggcg acgcaaccga gttcatgaac	900
aagggtcaaga acaaggaaga cggcgtccgc ctcatgggct tcggacaccg cgtttacaag	960
aactacgata cacgtgcagc aatcgtaag gagaccgac acgagatcct cgagcacctc	1020
ggtggcgacg atctttctgga tctggcaatc aagctggaag aaattgcact ggctgatgat	1080
tacttcatct ccgcgaagct ctaccogaac gtagacttct acaccggcct gatctaccgc	1140
gcaatgggct tcccaactga cttcttcacc gtattgttgc caatcggtcg tctgccagga	1200
tggatcgctc actaccgca gcagctcggg gcagcaggca acaagatcaa ccgccacgc	1260
cagggtctaca ccggcaacga atcccgcaag ttggttcctc gcgaggagcg ctaa	1314

<210> 7
 <211> 437
 <212> PRT
 <213> GluA de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 7

Met 1	Phe	Glu	Arg	Asp 5	Ile	Val	Ala	Thr	Asp 10	Asn	Asn	Lys	Ala	Val 15	Leu
His	Tyr	Pro	Gly 20	Gly	Glu	Phe	Glu	Met 25	Asp	Ile	Ile	Glu	Ala 30	Ser	Glu
Gly	Asn	Asn 35	Gly	Val	Val	Leu	Gly 40	Lys	Met	Leu	Ser	Glu 45	Thr	Gly	Leu
Ile	Thr 50	Phe	Asp	Pro	Gly	Tyr 55	Val	Ser	Thr	Gly	Ser 60	Thr	Glu	Ser	Lys
Ile 65	Thr	Tyr	Ile	Asp	Gly 70	Asp	Ala	Gly	Ile	Leu 75	Arg	Tyr	Arg	Gly	Tyr 80
Asp	Ile	Ala	Asp	Leu 85	Ala	Glu	Asn	Ala	Thr 90	Phe	Asn	Glu	Val	Ser 95	Tyr
Leu	Leu	Ile	Asn 100	Gly	Glu	Leu	Pro	Thr 105	Pro	Asp	Glu	Leu	His 110	Lys	Phe
Asn	Asp	Glu 115	Ile	Arg	His	His	Thr 120	Leu	Leu	Asp	Glu	Asp 125	Phe	Lys	Ser
Gln	Phe 130	Asn	Val	Phe	Pro	Arg 135	Asp	Ala	His	Pro	Met 140	Ala	Thr	Leu	Ala
Ser 145	Ser	Val	Asn	Ile	Leu 150	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Gln 155	Asp	Gln	Leu	Asn	Pro 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
 305 310 315 320
 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 Cys 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 Lys Glu Ser Arg Lys Leu Val
 420 425 430
 Pro Arg Glu Glu Arg
 435

<210> 8
 <211> 1314
 <212> ADN
 <213> gltA de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 8

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 tcttgcgtta ccgcccgtat	240
gacatcgctg atctggctga gaatgccacc ttcaacgagg ttctttacct acttatcaac	300
ggtgagctac caaccccgaga tgagcttcac aagtttaacg acgagattcg ccaccacacc	360
cttctggacg aggacttcaa gtcccagttc aacgtgttcc cagcgacgc tcacccaatg	420
gcaaccttgg cttcctcggg taacattttg tctacctact accaggatca gctgaacca	480
ctcgatgagg cacagcttga taaggcaacc gttcgcttca tggcaaaggt tccaatgctg	540
gctgcgtacg cacaccgcgc acgcaagggg gctccttaca tgtaccaga caactccctc	600
aacgcgcgtg agaacttctt gcgcatgatg ttccggttacc caaccgagcc atacgagatc	660
gacccaatca tgggtcaaggc tctggacaag ctgctcatcc tgcacgctga ccacgagcag	720
aactgctcca cctccaccgt tcgtatgatc gggtccgcac aggccaacat gtttgtctcc	780
atcgctgggt gcatcaacgc tctgtccggc ccactgcacg gtggcgcaaa ccaggctggt	840
ctggagatgc tcgaagacat caagaacaac caccggtggcg acgcaaccgc gttcatgaac	900
aaggtcaaga acaaggaaga cggcgccgc ctcattgggt tcggacaccg cgtttacaag	960
aactacgatc cacgtgcagc aatcgtcaag gagaccgcac acgagatcct cgagcacctc	1020
ggtggcgacg atcttctgga tctggcaatc aagctggaag aaattgcact ggctgatgat	1080
tgcttcatct ccgcgaagct ctaccggaac gtagacttct acaccggcct gatctaccgc	1140
gcaatgggct tcccaactga cttcttcacc gtattgttcg caatcggtcg tctgccagga	1200
tggatcgctc actaccgca gcagctcggg gcagcaggca acaagatcaa ccgcccacgc	1260
caggtctaca ccggcaagga atcccgaag ttggttcctc gcgaggagcg ctaa	1314

<210> 9
 <211> 319
 <212> PRT
 <213> ArgF de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 9

5

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	

ES 2 739 002 T3

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

5

<400> 10

atgacttcac aaccacaggt tcgccathtt ctggctgatg atgatctcac ccctgcagag	60
caggcagagg ttttgacct agccgcaaag ctcaaggcag cgcctgtttc ggagcgtcca	120
ctcagaggac caaagtcogt tgcagttctt tttgataaga cttcaactcg tactcgcttc	180
tccttcgaag cgggcatcgc tcatttgggt ggacacgcca tcgtcgtgga ttcoggtagc	240
tcacagatgg gtaagggcga gtccctgcag gacaccgcag ctgtattgtc ccgctacgtg	300
gaagcaattg tgtggcgcac ctacgcacac agcaatttcc acgccatggc ggagacgtcc	360
actgtgcgc tgggtgaactc cttgtccgat gatctgcacc catgccagat tctggctgat	420
ctgcagacta tcgtggaaaa cctcagccct gaagaaggcc cagcaggcct taagggttaag	480
aaggctgtgt aactgggoga tggcgacaac aacatggcca actcctacat gattggcttt	540
gccaccgcgg gcatggatat ttocatcatc gctcctgaag ggttcagcc tcgtgcggaa	600
ttcgtggagc ggcgggaaaa gcgtggccag gaaaccggcg cgaagggtgt tgtcaccgac	660
agcctcgacg aggttgccgg cgcgatgtt gtcacaccg atacctgggt atccatgggt	720
atggaaaacg acggcatcga tcgcaccaca cctttcgttc cttaccaggt caacgatgag	780
gtcatggoga aagctaacga cggcgccatc ttctgcact gccttcctgc ctaccgtggc	840
aaagaagtgg cagcctcogt gattgatgga ccagcgtcca aagttttcga tgaagcagaa	900
aaccgcctcc acgctcagaa agcactgctg gtgtggctgc tggccaacca gccagagtaa	960

10

<210> 11
 <211> 319
 <212> PRT
 <213> ArgF de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

15

<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> argF de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

5

```

atgacttcac aaccacaggt tcgccatttc ctggctgatg atgatctcac ccctgcagag      60
caggcagagg ttttgaccct agccgcaaag ctcaaggcag cgccgttttc ggagcgtcca      120
ctcgagggac caaagtcctg tgcagttctt tttgataaga cttcaactcg tactcgcttc      180
tccttcgacg cgggcatcgc tcatttgggt ggacatgcca tcgtcgtgga ttcgggcagc      240
tcacagatgg gtaagggcga gacctgcag gacaccgcag ctgtattgtc ccgctacgtg      300
gaagcaattg tgtggcgcac ctacgcacac agcaatttcc acgccatggc ggagacgtcc      360
actgtgccac tgggtgaactc cttgtccgat gatctgcacc catgccagat tctggctgat      420
ctgcagacca tcgtggaaaa cctcagccct gaagaaggcc cagcaggcct taagggtaa      480
aaggctgtgt acctgggcga tggcgacaac aacatggcca actcctacat gattggcttt      540
gccaccgcgg gcatggatat ctccatcacc gctcctgaag ggttcagacc togtgoggaa      600
ttcgtggagc gcgcggaaaa gcgtggccag gaaaccggcg cgaaggttgt tgtcacogac      660
agcctcgacg aggttgccgg cgccgatgtt gtcaccacgg atacctgggt atocatgggt      720
atggaaaacg acggcatcga tcgcaccaca cctttcgttc cctaccaggt caacgatgag      780
gtcatggcga aagctaacga cggcgccatc ttctgcact gccttcctgc ctaccgcggc      840

aaagaagtgg cagcctccgt gattgatgga ccagcgtcca aagttttcga tgaagcagaa      900
aaccgcctcc acgctcagaa agcactgctg gtgtggctgc tggcccacca gccgaggtaa      960
    
```

<210> 13
 <211> 533
 <212> PRT
 <213> NCgl1221 de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*

10

<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> NCg1221 de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
<400> 14

atgatttttag gcgtagccat tcaatatttg ctctattcat tgtggaattg gattgtogat	60
accgggttttg atgtagcaat tatcctgggc ttggcgtttt tgattccacg tatcggcoga	120
ctggccatgc gtattatcaa gcgccgagtg gagtctgcag ccgatgcgga caccactaag	180
aaccagctcg cgttcgcccg cggtggcggt tatatcgcg aaattgtggc gtttttcatg	240
cttgccgtct ccgcgatgca ggcttttggg ttctctctcg cgggcgctgc gattccggca	300
accattgcgt cagctgccat tggccttggg gcgcagtcga ttgttgcgga cttcttggcc	360
ggatttttca tcctgacgga aaagcaattc ggcggtgggtg actgggtgcg ttttgagggc	420
aacggcatcg ttgtcgaagg caccgtcatt gagatcacca tgcgcgcgac caaaattcgc	480
acgattgcac aagagaccgt gatcatcccc aactccacgg cgaaagtgtg catcaacaat	540
tctaataact ggtcgcgtgc ggttgtcggt attccgatcc ccattgtggg ttctgaaaac	600
atcacagatg tcacgcgcg ctctgaagct gcgactcgtc gcgcacttgg ccaggagaaa	660
atcgccacgg aaatcctcgg tgaactcgat gtgcaccacg ccacggaagt caccgcgcca	720
acgggtggtc gcatgcctg gatggtcacc atgcgtttcc tegtgcgaagt caccgcgggc	780
aatcaatggc tggtcgaacg cgcctccgc acagaaatca tcagcgaatt ctgggaagaa	840
tacggcagcg caaccactac atcggaacc ctcatcgatt ccttacacgt tgagcatgaa	900
gagccaaaga cctcgcttat cgacgcctcc ccccggtc ttaaggaacc gaagccggag	960
gctgcggcga cggttgcac gctagctgca tcctctaacg acgatgcaga caatgcagac	1020
gcctcggtga tcaatgcagg caatccagag aaggaacttg attccgatgt gctggaacaa	1080
gaactctcca gcgaagaacc ggaagaaaca gcaaaaccag atcactctct ccgaggcttc	1140
ttccgcactg attactacc aaatcggtgg cagaagatcc tgtcgtttgg cggacgtgtc	1200
cgcgatgaca cgtccctgtt gttgggtgcg ctgctcttgc tgtcactatt taaggctcatg	1260
actgtggaac caagtgagaa ttggcaaac tcagtggtg ggctgtcacc aagcactgcc	1320
acctcaactg cggtgaccac ctccgaaact tccgcgccag taagcaogcc ttcgatgaca	1380
gtgcccacta cgggtggagga gaccccaacg atggaatcta acgtcgaaac gcagcaggaa	1440
acctcaacc ctgcaaccgc aacgccccag cgagccgaca ccacgaacc gaccgaggaa	1500
gccacgtcgc aggaggaaac gactgcgtcg cagacgcagt ctccagcagt ggaagcacca	1560
accgcggtcc aagagacagt tgcgcccagc tcacccctt ag	1602

<210> 15

<211> 533

<212> PRT

<213> NCgl1221 de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

<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
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
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
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
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							400	
Arg	Met	Ser	Thr	Ser	Leu	Leu	Leu	Gly	Ala	Leu	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu		
									410							415	
Phe	Lys	Val	Met	Thr	Val	Glu	Pro	Ser	Glu	Asn	Trp	Gln	Asn	Ser	Ser		
									425							430	
Gly	Trp	Leu	Ser	Pro	Ser	Thr	Ala	Thr	Ser	Thr	Ala	Val	Thr	Thr	Ser		
						440			445								
Glu	Thr	Ser	Ala	Pro	Ala	Ser	Thr	Pro	Ser	Met	Thr	Val	Pro	Thr	Thr		
450						455			460								
Val	Glu	Glu	Thr	Pro	Thr	Met	Glu	Ser	Ser	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		
									490							495	
Pro	Thr	Glu	Glu	Ala	Thr	Ser	Gln	Glu	Glu	Thr	Thr	Ala	Ser	Gln	Thr		
									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> 16
<211> 1602
<212> ADN
<213> NCgl1221 de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
<400> 16

atgatttttag gcgtaaccoat tcaatatttg ctctattcat tgtggaattg gattgtcgat	60
accggttttg atgtagcaat tatectgggc ttggcgtttt tgattccacg tatcgggcca	120
ctggccatgc gtattatcaa gcagcgagtg gagtctgcag ccgatgcgga caccactaag	180
aaccagctcg cgttcgctgg cgttggcggt tatatcgcg aaattgtggc gtttttcatg	240
cttgccgtct ccgcgatgca ggcttttggg ttctctctcg ogggcgctgc gattccggca	300
accattgcgt cagctgccat tggctttggg ggcagctoga ttgttgcgga cttcttggcc	360
ggatttttca tcttgacgga aaagcaattc ggcggtgggtg actgggtgog ctttgagggc	420
aacggcatcg ttgttgaagg caccgtcatt gagatcacca tgcgcgcgac caaaattcgc	480
acgattgcac aagagaccgt gatcatcccg aactccacgg cgaaagtgtg catcaacaat	540
tctaataact ggtcgcgtgc ggttgcgtt attccgatcc ccatgttggg ttctgaaaac	600
atcacagatg tcatcgcgcg ctctgaagct ggcactcgtc gcgcacttgg ccaggagaaa	660
atcgacccgg aaatcctcgg tgaactogat gtgcacccag ccacggaagt cacaccgcca	720
acggtggctg gcatgcctg gatggtcacc atgogtttcc tcgtgcaagt caccgcccgc	780
aatcaatggc tggtcgaacg cgcctccgc acagaaatca tcaacgaatt ctgggaagaa	840
tacggcagcg caaccactac atogggaaac ctcatgatt ccttacacgt tgagcatgaa	900
gagccaaaga cctcgcttat cgacgcctcc ccccaggctc ttaaggaacc gaagccggag	960
gctgcccga cggttgcatc gctagctgca tcgtotaacg acgatgcaga caatgcagac	1020
gcctcggcga tcaatgcagg caatccagag aaggaaactg attccgatgt gctggaacaa	1080
gaactctcca gcgaagaacc ggaagaaaca gcaaaaccag atcactctct ccgaggcttc	1140
ttccgcactg attactacco aaatcggtgg cagaagatcc tgtcgtttgg cggacgtgtc	1200
cgcgatgaca cttccctgtt gttgggtgog ctgctottgc tgtcactatt taaggtcatg	1260
actgtggaac caagtgagaa ttggcaaaac tccagtggat ggctgtcacc aagcactgcc	1320
acctcaactg cggtgaccac ctccgaaact tccgcgccag caagcacgcc ttcgatgaca	1380
gtgcccacta cgggtggagga gaccccaacg atggaatcta gcgtcgaaac gcagcaggaa	1440
acctcaacc ctgcaaccgc aacgcccag cgagccgaca ccatcgaacc gaccgaggaa	1500
gccacgtcg aggaggaaac gactgcatog cagacgcagt ctccagcagt ggaagcacca	1560
accgcggtcc aagaaacagt tgcgcgacg tocacccott ag	1602

<210> 17
 <211> 711
 <212> PRT
 <213> SpeC de *Escherichia coli*

 <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	160	
145					150					155							
Leu	Leu	Ile	His	Glu	Gly	Ser	Ala	Lys	Asp	Ala	Gln	Lys	Phe	Ala	Ala	175	
				165					170								
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	240	
225					230					235							
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	320	
305					310					315							
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	400	
385					390					395							
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
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
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> SpeC de *Escherichia coli*
 <400> 18

atgaaatcaa tgaatattgc cgcagtagt gaactggtat ccgactttc ttctcatcgt	60
cgcgtggtgg cgttgggaga tactgatttt acggacgtcg cggcagtcgt cattaccgct	120
gcggatagtc gcagtggcat tcttgcggtg cttaagegca ccggttttca tctaccggtg	180
tttttgtatt ccgaacatgc tgttgaatta cctgogggog ttacggcggt aatcaacggc	240
aacgagcagc agtggctgga gctggaatcc gcagcctgtc agtatgaaga gaatttgctg	300

ccaccgtttt atgacacgct gacgcagtac gttgagatgg gcaacagcac ctttgcttgc	360
cctggacatc aacatgggtgc gttttttaaa aagcatcctg ccggaacgcca tttttacgat	420
ttcttttggtg agaacgtctt tcgcgccgat atgtgtaacg ctgacgtaaa attgggcgat	480
ctgcttattc atgaaggatc ggcgaaagat ggcagaaaat tcgcagccaa agtctttcat	540
gocgataaaa cctattttgt gctgaacggc acatcggcag cgaataaagt ggtgacgaat	600
gcgctgttaa cgcgtggoga tctggtgctc ttgcaccgta acaaccataa gtcgatcat	660
cacggcgcg c tgattcaggc gggggcgacg ccggtctatc tggaagcttc acgcaacccg	720
tttggtttca ttggcgggat tgatgogcac tgttttaatg aagagtatct ggcgcagcaa	780
attcgcgacg ttgcgccaga aaaagccgac ctgcgcgcgc 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 atatccgcgg acaggcgcgt ttttgcccgc ataagcgggt gaataacgcc	1140
tttatgctcc atgcttctac cagcccttcc tatccgctgt ttgctgcaat ggatgttaac	1200
gccaaaatcc atgaagggga gagtgggcgt cggctgtggg ctgagtgtgt tgagataggg	1260
attgaagcgc gcaaggctat tottgcgcg tgtaagctgt tccgcccgtt tatcccgcgc	1320
gttgttgatg gcaaattgtg gcaggattat ccgacatcag tgttagccag cgaccgccgt	1380
tttttcagtt ttgagccggg ggogaagtgg cacggctttg aaggatatgc cgcggatcag	1440
tattttgttg atccgtgcaa gctgttactc actacaccag gtatcgatgc cgaaaccggc	1500
gaatatagcg actttggcgt tccggcgacg attctggcgc actatctgcg tgagaacggc	1560
attgtgccgg agaagtgcga totcaactcc attctgtttt tattaactcc ggcggaaagc	1620
cacgagaagc tggcacaact ggtggcgatg ctggcgcaat ttgaacagca tattgaggat	1680
gactcgccgc tggttgaggt gttgcgagc gtttataaca agtatccgtt gcgctatcgc	1740
gactacaccc tcgcgccagt gtgtcaggag atgcacgac tgatatgtcag tttcgacgtc	1800
aaagacctac aaaaagcgat gttccgcag cagagtttcc cgtcagtggt gatgaacccc	1860
caggatgcgc atagcgctta tattecggtt gacgtggagt tggcgcgat tcgtgatgcc	1920
gaagggcgaa ttgcggcaga aggggcgttg cottatccac ctggcgtgct ttgcgtggta	1980
cccggggaa g tctggggtgg ggcggttcaa cgttatttcc ttgcaactgga agaaggggtg	2040
aattttgttg cgggattttc gccggagctg caaggtgttt atagcgaaac cgatgcggat	2100
ggcgtgaaac gggtgtacgg ttatgtgttg aagtaa	2136

5
<210> 19
<211> 357
<212> PRT
<213> ArgC de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
<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> argC de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 20

atgatcatgc ataacgtgta tgggtgtaact atgacaatca aggttgcaat cgcaggagcc 60
 agtggatatg cgggoggaga aatccttcgt ctcttttag gccatccagc ttatgcatct 120
 ggtgaactag aaatcggagc actcacgcg gcaccaaccg caggcagcac gctcggtgaa 180
 ttgatgccac acattccgca gttggcggat cgtgttattc aagacaccac agctgaaact 240
 ctageccggtc atgatgtcgt atttctagga cttccacacg gattctctgc agaaattgca 300
 cttcagctcg gaacagatgt cacagtgatt gactgtgcag ctgactttcg tctgcaaaat 360
 gctgcagatt gggagaagtt ctacggctca gagcaccagg gaacatggcc ttatggcatt 420
 ccagaaatgc caggacacog cgaggctcct cgtgggtgcta agcgtgtagc agtgccagga 480
 tgtttcccaa cgggtgcaac cttggtctct cttcctgcgg ttcaagcggg acttatcgag 540
 ccagatgttt ccgtagtgtc catcacccgc gtatcagggtg caggtaagaa agcatctgtt 600
 gcactacttg gctcggaaac catgggttca ctcaaggcgt acaacacctc cggaaagcac 660
 cgccacaacc oggaaattgc ccagaacctc ggogaagtca gcgacaagcc agtcaagggtg 720
 agcttcaccc cagtgttgc accgttaoct cgcggaattc tcaccactgc aaccgcacct 780
 ttgaaagaag gcgttaaccg agaacaggct cgcgcagtat atgaagagtt ctatgcacag 840
 gaaaccttcg tgcattgttct tccagaaggc gcacagccac aaacccaagc agttcttggc 900
 tccaacatgt gccacgtgca ggtagaaatt gatgaggaag caggcaaagt ccttggtacc 960
 tccgcaatcg ataacctcac caagggaact gccggcgccg ctgttcagtg catgaactta 1020
 agcgttggtt ttgatgaggc agcaggcctg ccacaggctg gcgtcgcacc ttaa 1074

<210> 21
 <211> 347
 <212> PRT
 <213> ArgC de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
 <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

5 <210> 22
<211> 1044
<212> ADN
<213> argC de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

<400> 22

atgacaatca aggttgcaat cgcaggagcc agtggatatg cgggaggaga aatccttcgt	60
ctccttttag gccatccagc ttatgcatct ggtgaactag aaatcggagc actcaaccgcg	120
gcatcaaccg caggcagcac gctcgggtgaa ttgatgccac acattccgca gttggcggat	180
cgtgtttattc aagacaccac agctgaaact ctacccgggc atgatgtcgt atttctagga	240
cttccacacg gattctctgc agaaattgca cttcagctcg gaccagatgt cacagtgtatt	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 ccgtagtgtc catcaaccgcg	540
gtatcagggtg caggtaagaa agcatctgtt gcactacttg gctcggaaac catgggttca	600
ctcaaggcgt acaacacctc cggaagcac cgccacacc cggaattgc ccagaacctc	660
ggcgaagtca gcgacaagcc agtcaagggt agcttcaccc cagtgccttc accgttacct	720
cgcggaattc tcaccactgc aaccgcacct ttgaaagaag gcgttacgc agagcaggct	780
cgcgagtat atgaagagtt ctatgcacag gaaaccttcg tgcattgtt tocagaaggt	840
gcacagccac aaaccaagc agttcttggc tocaacatgt gccacgtgca ggtagaaatt	900
gatgaggaag caggcaaagt cttgtttacc tccgcaatcg ataacctcac caagggaact	960
gccggcgccg ctgttcagt catgaactta agcgttggct ttgatgaggc agcaggcctg	1020
ccacagggtcg gcgtcgcacc ttaa	1044

10

<210> 23
<211> 388
<212> PRT
15 <213> ArgJ de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*

<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	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					320
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

5 <213> argJ de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*

<400> 24

```

atggcagaaa aaggcattac cgcgcgaaa ggcttcggtg cttctgcaac gaccgcgggt      60
attaaagctt ctggcaatcc tgacatggcg ttggtggtta accaggggtcc agagttttcc      120
gcagcggcgg tgtttacacg taacogagtt ttgcgcgcgc ctgtgaaggt gagccgagag      180
aacgttgctg atggccagat cagggctggt ttgtacaacg ctggtaaatgc taatgcgtgt      240
aatggtctgc aggggtgagaa ggatgctcgt gagtctgttt ctcatctagc tcaaaatttg      300
ggcttgaggg attccgatat tgggtgtgtt tccactggtc ttattggtga gttgcttccg      360
atggataagc tcaatgcagg tattgatcag ctgaccgctg agggcgcttt gggtgacaat      420
ggtgcagctg ctgccaaagg gatcatgacc actgacacgg tggataagga aaccgctcgtg      480
tttgctgatg gttggactgt cggcgggaat ggcaaggggc tgggcatgat ggcgccgtct      540
cttgccacca tgctggtctg cttgaccact gatgcacccg ttactcagga aatggctcag      600
atcgcgctgg ctaatgctac ggccgttaac ttgtacaccc tggatattga tggatcaacc      660
tccaccaatg acacogtgtt cctgctggca tctggcgcta ggggaatcac cccaactcag      720
gatgaactca acgatgcggg gtacgcagct tgttctgata tcgcagcgaa gcttcaggct      780
gatgcagagg gtgtgaccaa gcgcggttct gtgacagtgg tgggaaccac caacaacgag      840
caggcgatta atgcggctcg cactgttgct cgtgacaatt tggtcaagtg cgcaatgttt      900
ggatctgato caaactgggg tcgcgtgttg gctgcagtcg gcatggctga tgctgatatg      960
gaaccagaga agatttctgt gttcttcaat ggtcaagcag tatgccttga ttccactggc      1020
gctcctgggt ctctgaggtt ggatctttcc ggcgctgaca ttgatgtccg aattgatattg      1080
ggcaccagtg gggaaggcca ggcaacagtt cgaaccactg acctgagctt ctctacgtg      1140
gagatcaact ccgcgtacag ctcttaa                                     1167

```

10

<210> 25

<211> 388

<212> PRT

<213> ArgJ de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

15

<400> 25

ES 2 739 002 T3

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

5

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

atggccaaaa aaggcattac cgcgcgaaa ggcttcgttg cttctgcaac gaccgcgggt	60
attaaagctt ctggcaatcc tgacatggcg ttggtggtta accaggggtcc agagttttcc	120
gcagcggccg tgtttacacg caaccgagtt ttgcgagcgc ctgtgaaggt gagccgggag	180
aacgttgctg atggccagat cagggctggt ttgtacaacg ctggtaatgc taatgcgtgt	240
aatggtctgc aggggtgagaa ggatgctcgt gagtctgttt ctcatctagc tcaaaatttg	300
ggcttgagg attccgatat tgggtgtgtg tccactggtc ttattggtga gttgcttccg	360
atggataagc tcaatacagg tattgatcag ctgaccgctg agggcgcttt gggtgacaat	420
ggtgcagctg ctgccaaggc gatcatgacc actgacacgg tggataagga aaccgtcgtg	480
tttgctgatg gttggactgt cggcggaatg ggcaagggcg tgggcatgat ggcgccgtct	540
cttgccacca tgctggtctg cttgaccact gatgcatccg ttactcagga aatggctcag	600
attgcgctgg ctaatgctac ggccgttacg ttgacaccc tggatattga tggatcaacc	660
tccaccaatg acaccgtgtt cctgctggca tctggcgcta gcggaatcac cccaactcag	720
gatgaactca acgatgcggt gtacgcagct tgttctgata tcgcagcgaa gcttcaggct	780
gatgcagagg ggggtgacaa gcgcgttgct gtgacagtgg tgggaaccac caacaacgag	840
caggcgatca atgcggctcg cagggttgct cgtgacaatt tgttcaagtg cgcaatgttt	900
ggatctgatc caaactgggg tcgcgtgttg gctgcagtcg gcatgggtga tgctgatatg	960
gaaccagaga agatttctgt gttcttcaat gatcaagcag tatgccttga ttccactggc	1020
gctcctgggtg ctcgtgaggt ggatctttcc ggcgctgaca ttgatgtcgg aattgatttg	1080
ggcaccagtg gggaaggcca ggcaacagtt cgaaccactg aactgagott ctactacgtg	1140
gagatcaact ccgcgtacag ctcttaa	1167

10

<210> 27
<211> 317
<212> PRT
<213> ArgB de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
<400> 27

15

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> 28
 <211> 954
 <212> ADN
 <213> argB de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*

5

<400> 28

```

atgaatgact tgatcaaaga tttaggctct gaggtgcgcg caaatgtcct cgctgaggcg      60
ttgccatggt tgcagcactt ccgcgacaag attggtgtcg tgaaatatgg cggaaacgcc      120
atggtggatg atgatctcaa ggctgctttt gctgcgcaca tggctcttctt gcgcacogtg      180
ggcgcaaaac cagtgggtgg gcacgggtgg ggacctcaga tttctgagat gctaaaccgt      240
gtgggtctcc agggcgagtt caagggtggg ttccgtgtga ccactcctga ggtcatggac      300
attgtgcgca tgggtgctctt tggtcaggtc ggtcgcgatt tagttggttt gatcaactct      360
catggccctt acgctgtggg aacctccggt gaggatgcgc goctgtttac ccgcgagaag      420
cgcatggtca acatcgatgg cgtaccact gatattggtt tggtcggaga catcattaat      480
gtcgatgcct ctcccttgat ggatatcacc gaggcgggtc gcattcctgt ggtctctacg      540
attgctccag gcgaagacgg ccagatttac aacattaacg ccgataccgc agcagggtgct      600
ttggctgcag cgattggtgc agaacgcctg ctggttctca ccaatgtgga aggtctgtac      660
accgattggc ctgataagag ctactgggtg tccaagatca aggccaccga gctggaggcc      720
attcttcogg gacttgattc cggcatgatt ccaaagatgg agtcttgctt gaacgcgggtg      780
cgtgggggag taagcgctgc tcatgtcatt gacggcgcca tcgcgcactc ggtgttgctg      840
gagcttttga ccatgggtgg aattggcacg atggtgctgc cggatgtttt tgatcgggag      900
aattatcctg aaggcacctg ttttagaaaa gacgacaagg atggggaact gtaa          954
    
```

10

<210> 29
 <211> 317
 <212> PRT
 <213> ArgB de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

15

<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> argB de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

5 <400> 30

atgaatgact tgatcaaaga tttaggctct gaggtgcgcg caaatgtcct cgctgaggcg	60
ttgccatggt tgcagcattt ccgcgacaag attgttgctg tgaaatatgg cggaaacgcc	120
atggtggatg atgatctcaa ggctgctttt gctgcgcaca tggctcttct gcgcacccgtg	180
ggcgcaaaac cagtgggtgg gcacgggtgg ggacctcaga tttctgagat gctaaaccgt	240
gtgggtctcc agggcgagtt caagggtggg ttccgtgtga ccactcctga ggtcatggac	300
attgtgcgca tgggtctctt tggtcaggct ggtcgcgatt tagttgggtt gatcaactct	360
catggccctt acgctgtggg aacctccggt gaggatgcgc gcctgtttac ccgcgcagaag	420
cgcatggtca acatcgatgg cgtaccact gatattggtt tggtcggaga catcattaat	480
gtcgatgcct ctcccttgat ggatatcatc gaggcgggtc gcattcctgt ggtctctaog	540
attgctccag gcgaagacgg ccagatttac aacatcaacg ccgataaccg agcgggtgct	600
ttggctgcag cgattggtgc agaacgctg ctggttctca ccaatgtgga aggtctgtac	660
accgattggc ctgataagag ctactgggtg tccaagatca aggccaccga gctggaggcc	720
attcttccgg gacttgattc cggcatgatt ccaaagatgg agtcttgctt gaatgcggtg	780
cgtgggggag taagcgctgc tcatgtcatt gacggcgcga tcgcgcactc ggtgttgctg	840
gagcttttga ccatgggtgg aattggcacg atggtgctgc cggatgtttt tgatcgggag	900
aattatccgg aaggcaccgt ttttagaaaa gacgacaagg atggggaact gtaa	954

10 <210> 31
 <211> 391
 <212> PRT
 <213> ArgD de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*

15 <400> 31

Met 1	Ser	Thr	Leu	Glu 5	Thr	Trp	Pro	Gln	Val 10	Ile	Ile	Asn	Thr	Tyr 15	Gly
Thr	Pro	Pro	Val 20	Glu	Leu	Val	Ser	Gly 25	Lys	Gly	Ala	Thr	Val 30	Thr	Asp
Asp	Gln	Gly 35	Asn	Val	Tyr	Ile	Asp 40	Leu	Leu	Ala	Gly	Ile 45	Ala	Val	Asn
Ala	Leu 50	Gly	His	Ala	His	Pro 55	Ala	Ile	Ile	Glu	Ala 60	Val	Thr	Asn	Gln
Ile 65	Gly	Gln	Leu	Gly	His 70	Val	Ser	Asn	Leu	Phe 75	Ala	Ser	Arg	Pro	Val 80
Val	Glu	Val	Ala	Glu 85	Glu	Leu	Ile	Lys	Arg 90	Phe	Ser	Leu	Asp	Asp	Ala
Thr	Leu	Ala	Ala 100	Gln	Thr	Arg	Val	Phe 105	Phe	Cys	Asn	Ser	Gly 110	Ala	Glu
Ala	Asn	Glu 115	Ala	Ala	Phe	Lys	Ile 120	Ala	Arg	Leu	Thr	Gly 125	Arg	Ser	Arg
Ile 130	Leu	Ala	Ala	Val	His	Gly 135	Phe	His	Gly	Arg	Thr 140	Met	Gly	Ser	Leu
Ala 145	Leu	Thr	Gly	Gln	Pro 150	Asp	Lys	Arg	Glu	Ala 155	Phe	Leu	Pro	Met	Pro 160
Ser	Gly	Val	Glu	Phe 165	Tyr	Pro	Tyr	Gly	Asp 170	Thr	Asp	Tyr	Leu	Arg 175	Lys
Met	Val	Glu	Thr 180	Asn	Pro	Thr	Asp	Val 185	Ala	Ala	Ile	Phe	Leu 190	Glu	Pro
Ile	Gln	Gly 195	Glu	Thr	Gly	Val	Val 200	Pro	Ala	Pro	Glu	Gly 205	Phe	Leu	Lys
Ala 210	Val	Arg	Glu	Leu	Cys	Asp 215	Glu	Tyr	Gly	Ile	Leu 220	Met	Ile	Thr	Asp
Glu 225	Val	Gln	Thr	Gly	Val 230	Gly	Arg	Thr	Gly	Asp 235	Phe	Phe	Ala	His	Gln 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> argD de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 32

atgagcacgc tggaaacttg gccacaggtc attattaata cgtacggcac cccaccagtt	60
gagctggtgt ccggcaaggg cgcaaccgtc actgatgacc agggcaatgt ctacatogac	120
ttgctcgcgg gcatcgcagt caacgcgttg ggccacgccc acccggggat catogaggcg	180
gtcaccaacc agatcggcc aacttggtcac gtctcaaact tgttcgcac caggcccgtc	240
gtcgaggtcg ccgaggagct catcaagcgt ttttcgcttg acgacgccac cctcgccgcg	300
caaaccggg ttttcttctg caactcgggc gccgaagcaa acgaggctgc tttcaagatt	360
gcacgcttga ctggtcgttc ccggattctg gctgcagttc atggtttcca cggccgcacc	420
atgggttccc tcgcgctgac tggccagcca gacaagcgtg aagcgttctt gccaatgcc	480
agcgggtgtg agttctaccc ttacggcgac accgattact tgcgcaaat ggtagaaacc	540
aaccacaagg atgtggctgc tatcttcttc gagccaatcc agggtgaaac gggcgttgtt	600
ccagcacctg aaggattcct caaggcagtg cgcgagctgt gcgatgagta cggcatcttg	660
atgatcaccg atgaagtcca gactggcgtt ggccgtacg gogatttctt tgcacatcag	720
cacgatggcg ttgttcccga tgtggtgacc atggccaagg gacttggcgg cggctctccc	780
atcggtgctt gtttggccac tggccgtgca gctgaattga tgacccagg caagcacggc	840
accactttcg gtggcaacc agttgcttgt gcagctgcc aaggcagtgt gtctgttgtc	900
gatgacgctt tctgcgcaga agttgccgc aagggcgagc tgttcaagga acttcttgcc	960
aaggttgacg gcgttgtaga cgtccgtggc aggggcttga tgttggcgt ggtgctggag	1020
cgcgacgtcg caaagcaagc tgttcttgat ggttttaagc acggcgttat tttgaatgca	1080
ccggcggaca acattatccg tttgaccccg ccgctggtga tcaccgacga agaaatcgca	1140
gacgcagtca aggctattgc cgagacaatc gcataa	1176

<210> 33

<211> 391

<212> PRT

<213> ArgD de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

<400> 33

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

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> argD de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

<400> 34

atgagcacgc tggaaacttg gccacaggtc attattaata cgtacggcac cccaccagtt	60
gagctggtgt cgggcaaggg cgcaaccgtc accgatgacc agggcaaagt ctacatcgac	120
ttgctcgcgg gcatcgagct caacgcgttg ggccacgccc acccggcgat catcgaggcg	180
gtcaccaacc agatcggcca acttggtcac gtotcaaact tggtcgcac caggcccgtc	240
gtcgaggtcg cggaggagct catcaagcgt ttttcgcttg acgacggcac cctcgccg	300
caaaccggg ttttcttctg caactcgggc gccgaagcaa acgaggctgc tttcaagatt	360
gcacgcttga ctggtcgttc ccgattctg gctgcagttc atggtttcca cggccgcacc	420
atgggttccc tcgcgctgac tggccagcca gacaagcgtg aagcattcct gccaatgcca	480
agcgggtgtg agttctaccc ttacggcgac accgattact tgcgcaaat ggtagaaacc	540
aaccaacgg atgtggtgc tatcttctc gagccaatcc agggtgaaac gggcgttgtt	600
ccagcacctg aaggattcct caaggcagtg cgcgagctgt gcgatgagta cggcatcttg	660
atgatcaccg atgaagtcca gactggcgtt ggccgtaccg gcgatttctt tgcacatcag	720
cacgatggcg ttgttcccga tgtggtgacc atggccaagg gacttggcgg cggctctccc	780
atcgggtgctt gtttggccac tggccgtgca gctgaattga tgacccagg caagcacggc	840
accactttcg gtggcaacc agttgcttgt gcagctgcca aggcagtgt gtctgttgtc	900
gatgacgctt tctgcgcaga agttaccgc aaggcgagc tgttcaagga acttcttgcc	960
aaggttgacg gcgtttaga cgtccgtggc aggggcttga tgttggcggt ggtgctggag	1020
cgcgacgtcg caaagcaagc tgttcttgat ggttttaagc acggcgttat tttgaatgca	1080
ccggcggaca acattatccg tttagcccc cgcgtggtga tcaccgacga agaaatcgca	1140
gacgcagtca aggtattgc cgagacaatc gcataa	1176

5 <210> 35
 <211> 203
 <212> PRT
 <213> NCgl1469 de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 35

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

<210> 36
<211> 612
<212> ADN
<213> NCgl1469 de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
<400> 36

```

atgagtccca ccgttttgcc tgctacacaa gctgacttcc ctaagatcgt cgatgttctg      60
gttgaagcat tcgccaacga tccagcattt ttacgatgga tcccgcagcc ggaccccgggt      120
tcagcaaaagc ttogagcact ttctgaactg cagattgaga agcagtatgc agtggcgggga      180
aatattgatg tcgcgcgtga ttctgaggga gaaatcgtcg gcgtcgcgtt atgggatcgg      240
ccagatggta atcacagtgc caaagatcaa gcagcgatgc tccccgggt cgtctccatt      300
ttcgggatca aggctgcgca ggtggcgtgg acggatttga gttcggctcg ttccacccc      360
aaattcccc attggtacct ctacaccgtg gcaacatcta gttctgcccg tggaacgggt      420
gttggcagtg cgcttcttaa tcacggaatc gctcgcgcgg gtgatgaagc tatctatttg      480
gaggcgacgt cgactcgtgc ggctcaacta tataaccgtc tgggatttgt gcccttgggt      540
tatatccoct cagatgatga tggcactoct gaactggcga tgtggaaacc gccagcgatg      600
ccaactgttt aa                                                                612

```

<210> 37

<211> 203

<212> PRT

<213> NCgl1469 de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

<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> NCgl1469 de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 38

atgagtccca	ccgttttgcc	tgctacacaa	gctgacttcc	ctaagatcgt	cgatgttctg	60
ggtgaagcat	tcgccaacga	tccagcattt	ttacgatgga	tccgcagcc	ggaccccggt	120
tcagcaaagc	ttcgagcact	tttcgaactg	cagattgaga	agcagtatgc	agtggcggga	180
aatattgatg	tcgcgcgtga	ttotgagggg	gaaatcgctc	gcgtcgcgtt	atgggatcgg	240
ccagatggta	atcacagtgc	caaagatcaa	gcagcgatac	tcccccggt	cgtctccatt	300
ttcgggatca	aggctgcgca	ggtggcggtg	acggatttga	gttcggctcg	tttccacccc	360
aaattcccc	attggtacct	ctacaccgtg	gcaacatcta	gttctgccc	tggaacgggt	420
gttggcagt	cgcttcttaa	tcacggaatc	gctcgcgcgg	gtgatgaagc	tatctatttg	480
gaggcgacgt	cgactcgtgc	ggctcaacta	tataaccgtc	tgggatttgt	gccottgggt	540
tatatccct	cagatgatga	tggcactcct	gaactggcga	tgtggaaacc	gccagcgatg	600
ccaactgttt	aa					612

<210> 39
 <211> 494
 <212> PRT
 <213> NCgl2522 de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 39

ES 2 739 002 T3

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	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> NCgl2522 de ATCC13032 de *Corynebacterium glutamicum*

<400> 40

atgacttcag aaacettaca ggogcaagcg cctacgaaaa cccaacgttg ggctttcctc	60
gccgttatca gccgttgtct ctttctgac ggtgtagaca actcgattct ctacacogca	120
ctccctctgc tgcgtgaaca gctgcagcc accgaaacc aagcgttgtg gatcatcaac	180
gcataccccc tgcctatggc gggocttctt ttgggtaccg gcaactttggg tgacaaaatc	240
ggccaccgcc ggatgttctt catgggcttg agcattttcg gaatcgcttc acttgggtgt	300
gcgtttgtct caactgcgtg ggctcttggt gctgcgagag ctttccttgg catcggtgcg	360
gcaacgatga tgctgcaac cttggctctg atccgcatta cgtttgagga tgagcgtgag	420
cgcaacactg caattggtat ttggggttcc gtggcaattc ttggcgctgc ggcaggcccg	480
atcattggtg gtgcgtgtt ggaattcttc tgggtgggtt cggttttctt cattaacgtt	540
ccggtggctg ttatogcgtt gatogctacg ctttttgttg cgcggcccaa tatcggaat	600
ccgtctaagc attgggattt cttgtcgtcg ttctatgcgc tgctcacact tgctgggttg	660
atcatcacga tcaaggaatc tgtgaatact gcacgccata tgctcttctt tttgggtgca	720
gtcatcatgt tgatcattgg tgcggtgttg tttagcagtc gtcagaagaa gatcgaggag	780
ccacttctag atctgtcgtt gttccgtaat ogccttttct taggcggtgt ggttgctgog	840
ggcatggcga tgtttactgt gtcgggtttg gaaatgacta cctgcgagcg tttccagtgt	900
tctgtgggtt tcaactcaact tgaggctggt ttgctcatga toccagctgc attgggtagc	960
ttcccgatgt ctattatcgg tgggtgcaaac ctgcacgtt ggggcttcaa accgctgac	1020
agtgggtggt ttgctgccac tgccgttggc atcgccctgt gtatttgggg cgcgactcat	1080
actgatggtt tgccgttttt catcgcggtt ctattcttca tgggcgcggg tgctggttcg	1140
gtaatgtctg tgtcttcac tgcgattatc ggttcgcgc cggtgcgtaa ggctggcatg	1200
gcgtcgtcga tcgaagaggt ctcttatgag ttccggcacgc tgttgtctgt cgcgattttg	1260
ggtagcttgt tccattctt ctactcgtg catgccccgg cagagggttc ggataacttc	1320
tcggcgggtg ttcaccacgc gattgatggc gatgcggcgc gtgcatcttt ggacaccgca	1380
tacattaacg tgttgatcat tgccctagta tgogcagtag cggctgctct gatcagcagt	1440
tacottttcc gcggaaatcc gaaggagcc aataatgcgc actag	1485

<210> 41

<211> 494

<212> PRT

<213> NCgl2522 de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*

<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	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	Val	Thr	Ile	210	215	220	
Lys	Glu	Ser	Val	Asn	Thr	Ala	Arg	His	Leu	Pro	Leu	Leu	Val	Gly	Ala	225	230	235	240
Ile	Ile	Leu	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	Leu	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			
Tyr	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> 42
 <211> 1485
 <212> ADN
 <213> NCgl2522 de ATCC13869 de *Corynebacterium glutamicum*
 <400> 42

atgatttcag aaactttgca ggogcaagcg cctacgaaaa cccaacgttg ggctttcctc	60
gctgttatca gcggtggtct ctttctgac ggtgtagaca actcaatcct ctacaccgca	120
ctccccctgc tgcgtgaaca actcgcagcc actgaaaccc aagcgttggtg gatcatcaac	180
gcataatcccc tgcctcatggc gggctcttctt ttgggtaccg gcactttggg tgacaaaatc	240
ggccaccgcc ggatgttctt catgggcttg agcattttcg gaatcgcttc acttggeget	300
gcgtttgctc caactgcgtg ggctcttggt gctgcgagag ctttcttgg catcggtgcg	360
gcgacgatga tgcccgcaac cttgggtctg atccgcatta cgtttgaaga tgaacgcgaa	420
cggaacaccg cgattggcat ttgggggtct gtggcaattc ttggcgcgcc ggaggtccg	480
atcattggtg gtgcgctgtt ggaattcttc tgggtgggtt cggttttctt cattaacgtt	540
cgggtggtg ttatcgctt gatcgctacg ctttttgttg cgcggccaa tatcgcgat	600
ccgtccaagc actgggattt cttatctctg ttctatgcat tgcttacct tgcaggtttg	660
attgtacca tcaaagaatc ggtaaacact gcacgtcatc tgccactgct tgtaggtgcc	720
atcatcttgc ttatcattgg tgoggtgttg tttagcagtc gtcagaagaa gatcgaggag	780
ccacttctag atctgtcgtt gttcogtaac cgccttttct tagggcgtgt gggtgtgcg	840
ggcatggcga tgtttactgt gtccgggttg gaaatgacta cctcgcagcg tttccagttg	900
tctgtgggtt tcaactccact tgaggtggt ttgctcatga tcccagctgc attgggtagc	960
ttcccgatgt ctattatcgg tgggtgcaaac ttgcatcgtt ggggcttcaa accgctgac	1020
agtgggtggt tcttggccac ggcagtcggc atcgccctgt gtatttgggg cgcgactcat	1080
actgatgggt tgcggttttt catcgcggtt ctgttcttca tgggcgcggg tgctgggtcg	1140
gtaatgtctg tgtcttccac tgogattatc ggttcgcgcg cgggtgcgtaa ggctggcatg	1200
gcgtcgtcga tcgaagaggt ctcttatgag ttgggcacgc tgttgtctgt cgcgattttg	1260
ggtagcttgt tcccattctt ctactcgtg catgccccgg cagaggttgc ggataacttc	1320
tgggcgggtg ttcaccacgc gatttatggc gatgcggcgc gtgcactttt ggacaccgca	1380
tacattaacg tgttgatcat tgccctagta tgccgagtag cggctgctct gatcagcagt	1440
taccttttcc ggggaaatcc gaaggagcc aataatgcgc actag	1485

<210> 43
 <211> 42
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> sugR F1_ cebador Sall

<400> 43
 ctgcatgcc tgcaggtcga caggattcat ctggcatctg gc 42

5 <210> 44
 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> sugR -cebador R1
 <400> 44
 10 **gtcactc**dt aaagcaaaaa gcc 23
 <210> 45
 <211> 42
 <212> ADN
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> sugR -F2_cebador GTG
 <400> 45
 20 **ttttgcttt aaggagtgac gtgtacgcag aggagcgccg tc** 42
 <210> 46
 <211> 42
 25 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> sugR -F2_cebado TTG
 30 <400> 46
ttttgcttt aaggagtgac ttgtacgcag aggagcgccg tc 42
 <210> 47
 <211> 42
 35 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> sugR -R2_cebador BamHI
 <400> 47
cgagctcggg acccggggat ccgcgagagt acgaagcgca gt 42
 <210> 48
 <211> 62
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 50 <220>
 <223> cebador sugR F3
 <400> 48
tttttgcttt aaggagtgac gaaggcaacc atgaactcta atgtacgcag aggagcgccg 60
 55 **tc** 62
 <210> 49
 <211> 22
 <212> ADN
 60 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> cebador sugR R

 <400> 49
 5 ggacttcag tgactgtaag aa 22

 <210> 50
 <211> 46
 <212> ADN
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> gltA F_cebador spel

 15 <400> 50
 gaaggaatga gttcctcgag actagtactc ggcacccatc cttgtc 46

 <210> 51
 <211> 50
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> gltA R_cebador spel
 25
 <400> 51
 gttattagat gtcgggcca ctagtgtgt gtacatgctc cttgaaaatc 50

REIVINDICACIONES

1. Un microorganismo modificado del género *Corynebacterium* que produce putrescina u ornitina, en el que el microorganismo se ha modificado de modo que una actividad de regulador transcripcional del metabolismo del azúcar (SugR) se debilita en comparación con la actividad de SugR en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium* y una actividad de citrato sintasa (GltA) aumenta en comparación con su actividad de GltA en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, en el que la actividad de SugR se debilita por:
 - 1) delección de una parte o la totalidad de un polinucleótido que codifica la proteína;
 - 2) modificación de la secuencia de control de la expresión para reducir la expresión del polinucleótido;
 - 3) modificación de la secuencia de polinucleótidos en los cromosomas para debilitar la actividad de la proteína; o
 - 4) un método seleccionado entre una combinación de los mismos,
 y la actividad de GltA aumenta por:
 - 1) aumento del número de copias de un polinucleótido que codifica la enzima;
 - 2) modificación de la secuencia de control de la expresión para aumentar la expresión del polinucleótido;
 - 3) modificación de la secuencia de polinucleótidos en el cromosoma para aumentar la actividad de la enzima; o
 - 4) modificación por una combinación de los mismos.
2. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el regulador transcripcional del metabolismo del azúcar consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 3.
3. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la citrato sintasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 7.
4. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el microorganismo del género *Corynebacterium* se selecciona entre el grupo que consiste en *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium thermoaminogenes*, *Brevibacterium flavum*, y *Brevibacterium lactofermentum*.
5. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que además se introduce una actividad de ornitina descarboxilasa (ODC).
6. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la ornitina descarboxilasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17.
7. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que una actividad de i) ornitina carbamoiltransferasa (ArgF) se debilita en comparación con la actividad de ArgF en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, ii) un agente exportador de glutamato se debilita en comparación con la actividad del agente exportador de glutamato en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*, o iii) la ornitina carbamoiltransferasa y un agente exportador de glutamato se debilitan en comparación con la actividad de ornitina carbamoiltransferasa y el agente exportador de glutamato en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.
8. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la ornitina carbamoiltransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11, y el agente exportador de glutamato consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 15.
9. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que una actividad de al menos una enzima seleccionada entre el grupo que consiste en acetil-gamma-glutamyl-fosfato reductasa (ArgC), acetilglutamato sintasa u ornitina acetiltransferasa (ArgJ), acetilglutamato quinasa (ArgB), y acetilornitina aminotransferasa (ArgD) aumenta en comparación con la actividad de dicha enzima o enzimas en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.
10. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la acetil-gamma-glutamyl-fosfato reductasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 o SEQ ID NO: 21, la acetilglutamato sintasa o la ornitina acetiltransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 25, la acetilglutamato quinasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 o SEQ ID NO: 29, y la acetilornitina aminotransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 o SEQ ID NO: 33.
11. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que una actividad de acetiltransferasa se debilita en comparación con la actividad de acetiltransferasa en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.
12. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 11, en el que la acetiltransferasa consiste en una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 o SEQ ID NO: 37.

13. El microorganismo de la reivindicación 1, en el que una actividad de una proteína que consiste en la SEQ ID NO: 39 o la SEQ ID NO: 41 aumenta en comparación con la actividad de dicha proteína en la misma cepa pero no modificada de *Corynebacterium*.

5 14. Un método para producir putrescina u ornitina, que comprende:

(i) cultivar el microorganismo modificado del género *Corynebacterium* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 en un medio; y

(ii) recuperar putrescina u ornitina del microorganismo cultivado o el medio cultivado.

10 15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en el que el microorganismo del género *Corynebacterium* es *Corynebacterium glutamicum*.