

Перечень

информации о генно-инженерных организмах, относящихся к прочим организмам, отличным от высших растений, а также о мерах по предупреждению возможных вредных воздействий генно-инженерного организма на здоровье человека и окружающую среду

Заявитель:

Закрытое акционерное общество «Белорусская национальная биотехнологическая корпорация» (ЗАО «БНБК»)
222860, Минская область, Пуховичский район, Дукорский с/с, 27
тел./факс: 8(017) 555-40-61 (51)
E-mail: info@bnbc.by

Генно-инженерный организм: бактерии *Corynebacterium glutamicum*
JULY1801

Производитель штамма: Цзяннаньский университет (Jiangnan University), г. Уси, Китайская Народная Республика

1. Биологические особенности донорного и реципиентного организмов:

1.1. полное название:

Реципиентный организм (родительский штамм)

Домен: Бактерии (*Bacteria*)

Отдел: *Actinobacteria*

Класс: *Actinobacteria*

Порядок: *Mycobacteriales*

Семейство: *Corynebacteriaceae*

Род: *Corynebacterium*

Вид: *Corynebacterium glutamicum*

Обычное название: -

Другие названия: штамм ATCC 13032

(<https://www.atcc.org/products/13032>)

Corynebacterium glutamicum (ранее *Micrococcus glutamicus*) – это факультативно-анаэробные грамположительные палочковидные бактерии, которые используются в промышленности для крупномасштабного производства аминокислот.

Донорные организмы

Домен: Бактерии (*Bacteria*)

Отдел: *Actinobacteria*

Класс: *Actinobacteria*

Порядок: *Mycobacteriales*

Семейство: *Corynebacteriaceae*

Род: *Corynebacterium*

Вид: *Corynebacterium* sp.

Бактерии рода *Corynebacterium* – грамположительные бактерии, большинство которых являются аэробами. Широко распространены в природе и часто входят в состав нормальной микробиоты животных (включая человека). В основном безвредны, чаще всего существуют в комменсальных отношениях со своими хозяевами.

Домен: Бактерии (*Bacteria*)
Отдел: *Firmicutes*
Класс: *Bacilli*
Порядок: *Bacillales*
Семейство: *Bacillaceae*
Род: *Geobacillus*
Вид: *Geobacillus* sp.

Бактерии рода *Geobacillus* – термофильные грамположительные спорообразующие бактерии, которые образуют филогенетически связную кладу внутри семейства *Bacillaceae*. Распространены повсеместно: жизнеспособные споры геобацилл могут быть выделены в больших количествах не только из тёплых сред обитания, таких как гидротермальные источники, но и из почв умеренного пояса или холодных океанических отложений. Бактерии рода *Geobacillus* непатогенны, и представляют интерес для биотехнологии как источник термостабильных ферментов, а также как клеточные фабрики для гетерологичной экспрессии.

Домен: Бактерии (*Bacteria*)
Отдел: *Firmicutes*
Класс: *Bacilli*
Порядок: *Lactobacillales*
Семейство: *Streptococcaceae*
Род: *Streptococcus*
Вид: *Streptococcus mutans*

Бактерии вида *Streptococcus mutans* – это факультативно анаэробные грамположительные кокки, обычные обитатели полости рта человека.

1.2. степень родства между донорным и реципиентным организмами, информация о возможности обмена генетического материала между ними естественным путем:

Донорные и реципиентный организмы являются организмами одного домена прокариотических микроорганизмов – Бактерий. Для большинства бактерий характерен процесс горизонтального переноса генов в природных условиях. Есть свидетельства такого обмена наследственным материалом и у бактерий *Corynebacterium glutamicum* (Kalinowski J. *et al.* The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins. *J Biotechnol.* 2003 Sep 4;104(1-3):5-25. doi: 10.1016/s0168-1656(03)00154-8. PMID: 12948626.)

1.3. методы идентификации донорного и реципиентного организмов (фенотипические и генетические маркеры):

Идентификация реципиентного и донорных штаммов возможна с помощью физиолого-биохимических или молекулярно-биологических методов и детально изложена в руководстве Берджи по систематике архей и бактерий или статьях по систематике соответствующих таксономических групп:

Bernard, K.A. and Funke, G. (2015). *Corynebacterium*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman). <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00026>.

Whiley, R.A. and Hardie, J.M. (2015). *Streptococcus*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman). <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00612>

Logan, N.A., Vos, P.D. and Dinsdale, A. (2015). *Geobacillus*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman). <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00533>

Nazina TN, Tourova TP, Poltarauş AB, Novikova EV, Grigoryan AA, Ivanova AE, Lysenko AM, Petrunyaka VV, Osipov GA, Belyaev SS, Ivanov MV. Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenuatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. th.* // *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001 Mar;51(Pt 2):433-46. doi: 10.1099/00207713-51-2-433. PMID: 11321089.

1.4. методики, применяемые в лаборатории или природной среде для обнаружения, мониторинга, оценки количества донорного и реципиентного организмов, чувствительность, надежность и специфичность методики обнаружения и идентификации донорного и реципиентного организмов:

обнаружение, мониторинг и оценка количества донорных и реципиентного организмов возможны только в лаборатории; для этого используют те же методы, что и при идентификации микроорганизмов.

1.5. описание географического распространения и естественных мест обитания донорного и реципиентного организмов, включая информацию о естественных хищниках, жертвах, паразитах, конкурентах, симбионтах и хозяевах:

Непатогенные виды бактерий рода *Corynebacterium* часто входят в состав микробиоты кожи (иногда других частей тела) животных, их

выделяют из пищевых продуктов, предметов окружающей среды или воды. Например, реципиентный штамм был выделен из сточных вод.

Стрептококки чаще всего выделяют из образцов, полученных от млекопитающих или птиц. Большинство видов являются комменсалами и обычно встречаются на поверхности слизистых оболочек ротовой полости, верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта.

Бактерии рода *Geobacillus* повсеместно распространены в почвах по всему миру. Также эти бактерии выделяют из вод естественных и искусственных водоёмов и даже из арктических льдов. По данным Marchant *et al.*, 2002, до 10% культивируемых изолятов из разнообразных источников относятся к геобациллам.

Паразитами бактерий являются бактериофаги, которые описаны для каждой из указанных групп микроорганизмов.

1.6. потенциальная возможность переноса и обмена генетической информацией с другими организмами:

Существует на уровне естественных процессов генетического обмена между микроорганизмами.

1.7. генетическая стабильность донорного и реципиентного организмов и факторы, влияющие на нее:

генетическая стабильность реципиентного и донорных организмов не оценивалась.

Факторами, влияющими на генетическую стабильность бактерий, являются физические воздействия (радиоактивное, ионизирующее, УФ-излучения, ультразвук, экстремальная температура) или химические вещества (мутагены), а также некоторые биологические объекты (мобильные генетические элементы, вирусы).

1.8. патогенные, экологические и физиологические особенности донорного и реципиентного организмов:

Реципиентный штамм *S. glutamicum* ATCC13032 является непатогенным и нетоксигенным, относится к 1 группе риска по классификации Немецкого института технического надзора за биологической безопасностью (TRBA; <https://www.atcc.org/products/all/13032.aspx>). Это означает, что отсутствуют сведения о способности данного микроорганизма вызывать заболевания у здоровых взрослых людей. Таким образом, штамм ATCC13032 имеет минимальную потенциальную опасность для лабораторного персонала и окружающей среды. Также отсутствуют сообщения о том, что бактерии *S. glutamicum* способны продуцировать антибиотики (Chandra and Kumar, 2017). Оптимальный рост при 25–37 °C на богатых питательных средах.

Все виды бактерий *Geobacillus* являются облигатно термофильными хемоорганотрофами. Это аэробны или факультативные анаэробы, а кислород является конечным акцептором электронов, который у некоторых видов может быть заменен нитратом. Температурные диапазоны роста обычно находятся между 37 °C и 75 °C, с оптимумом в диапазоне от 55 °C до 65 °C.

Они нейтрофильны и растут в относительно узком диапазоне рН 6,0-8,5 (оптимум рН 6,2-7,5). Температура тела людей и других животных находится ниже или на уровне близком к минимальным температурам для роста бактерий рода *Geobacillus*, и, как следствие, сообщений об инфекциях, вызванных этими организмами, не поступало.

Бактерии вида *Streptococcus mutans* обитают в полости рта, в основном на поверхности зубов (зубной налет). Такой колонизации способствует высокий уровень сахарозы в пище. Ряд штаммов выделен также из фекалий. Оптимальный рост при 37 °С в анаэробных условиях, а некоторые штаммы зависят от повышенных концентраций CO₂. Считается, что бактерии *Streptococcus mutans* являются причиной кариеса и, в некоторых случаях, инфекционного эндокардита.

период генерации в естественных экосистемах, половой и бесполой репродуктивный цикл:

Бактерии размножаются посредством бинарного деления – формы бесполого размножения. Сведения о периоде генерации в естественных экосистемах для описываемых микроорганизмов отсутствуют.

информация о выживаемости в окружающей среде, включая сезонность и способность образовывать структуры, необходимые для выживания (споры, склероции и другое):

Только бактерии рода *Geobacillus* способны образовывать споры. Информация о выживаемости в окружающей среде (включая сезонность) описываемых групп микроорганизмов отсутствует.

патогенность (инфекционная способность, токсиногенность, вирулентность, аллергенность, наличие векторов для переноса патогенов, возможные вектора, круг хозяев, возможная активация латентных вирусов (провирусов), способность колонизировать другие организмы):

Реципиентный штамм является непатогенным. Гены, перенесённые из донорных штаммов, не кодируют факторов патогенности.

устойчивость к антибиотикам, возможное использование этих антибиотиков для профилактики и терапии у людей и домашних животных:

Реципиентный штамм не имеет устойчивости к антибиотикам, но несёт в составе хромосомы ген *cmr*. У бактерий *Escherichia coli* при экспрессии данного гена появляется устойчивость к эритромицину, тилозину, рифампицину и тетрациклину.

природа врожденных векторов (структура, частота мобилизации, специфичность, наличие генов устойчивости):

отсутствуют.

2. Биологические особенности вектора:

2.1. природа и происхождение вектора, естественная среда обитания и соответствующие характеристики безопасности:

Для модификации реципиентных бактерий использовалось два искусственных плазмидных вектора:

pFSC на основе стандартной плазмиды pXMJ19 (Jakoby M, Ngouoto-Nkili C-E, Burkovski A. Construction and application of new *Corynebacterium glutamicum* vectors // Biotechnol Tech. 1999;13:437–441. doi: 10.1023/A:1008968419217) с добавленным геном *cas9*, последовательностью Шайна-Дальгарно и изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозид-индуцибельным промотором P_{lac}.

Производные от плазмиды pFST, созданной на основе термочувствительного вектора pEC-ХК99Е (Nešvera J, Pátek M. Tools for genetic manipulations in *Corynebacterium glutamicum* and their applications. Appl Microbiol Biotechnol. 2011 Jun;90(5):1641-54. doi: 10.1007/s00253-011-3272-9), содержащего чувствительный к температуре *repA* из pDTW109 (Hu J, Tan Y, Li Y, Hu X, Xu D, Wang X. Construction and application of an efficient multiple-gene-deletion system in *Corynebacterium glutamicum*. Plasmid. 2013 Nov;70(3):303-13. doi: 10.1016/j.plasmid.2013.07.001), что позволяет быстро избавляться от плазмиды после акта редактирования.

pFSC и pFST несут гены устойчивости к канамицину и хлорамфениколу соответственно (Peng F, Wang X, Sun Y, Dong G, Yang Y, Liu X, Bai Z. Efficient gene editing in *Corynebacterium glutamicum* using the CRISPR/Cas9 system. Microb Cell Fact. 2017 Nov 14;16(1):201. doi: 10.1186/s12934-017-0814-6).

Следует заметить, полученный генно-инженерный штамм не несёт данных векторов, т.к. они были подвергнуты процессу элиминации.

2.2. структура транспозонов, промоторов и других некодирующих генетических сегментов, использованных для создания генетической конструкции, необходимых для ее переноса и функционирования в реципиентном организме:

Для увеличения экспрессии нативных или перенесённых генов использовался промотор супероксиддисмутазы (P_{sodA}) (три копии) из бактерий рода *Corynebacterium*:

```
1 CAGAAAATCC CAGCGCTACT AATAGGGAGC GTTGACCTTC CTTCCACGGA CCGGTAATCG GAGTGCCTAA AACCGCATGC
81 GGCTTAGGCT CCAAGATAGG TTCTGCGCGG CCGGGTAATG CATCTCTTT AGCAACAAGT TGAGGGGTAG GTACAAATAA
161 GAACGACATA GAAATCGTCT CCTTCTGT TTTAATCAAC ATACACCACC ACCTAAAAAT TCCCGGACCA GCAAGTTCAC
241 AGTATTCGGG CACAATATCG TTGCCAAAAT ATTGTTTCGG AATATCATGG GATACGTACC CAACGAAAGG AAACASTCAT
```

В остальных случаях были использованы нативные промоторные последовательности переносимых генов.

2.3. частота мобилизации (способность приобретения мобильности) встроенного вектора или переноса в другие организмы:

Использованные векторы не встраивались в геном реципиентной бактерии.

2.4. факторы, которые могут влиять на способность вектора адаптироваться в других организмах-хозяевах:

Использованные векторы не встраивались в геном реципиентной бактерии и отсутствуют у итогового трансгенного микроорганизма.

3. Характеристика генно-инженерного организма:

3.1. информация, относящаяся к генно-инженерной модификации:

методы, использованные при создании, переносе трансгенной конструкции и отборе трансгенных организмов:

Для внесения генетической информации в реципиентный микроорганизм использовалась система CRISPR / Cas9. При отборе трансгенных бактерий использовались методы полимеразной цепной реакции и секвенирования ДНК.

описание встроенного в геном реципиентного организма фрагмента ДНК, включая регуляторные и другие элементы, влияющие на функционирование трансгенов:

1) промотор гена супероксиддисмутазы (P_{sodA}) из *Corynebacterium* sp. перед геном, кодирующим аспараткиназу;

2) промотор гена супероксиддисмутазы (P_{sodA}) из *Corynebacterium* sp. и гены *pntAB*, кодирующие альфа- и бета-субъединицы фермента НАДФ-трансгидрогеназы из *Corynebacterium* sp.;

3) ген *ruc*, кодирующий пируваткарбоксилазу;

4) гены, кодирующие 2,3,4,5-тетрагидропиридин-2,6-дикарбоксилат-N-ацетилтрансферазу, N-ацетилдиаминопимелатдеацетилазу и аминотрансферазу A из бактерий *Geobacillus* sp.;

5) промотор гена супероксиддисмутазы (P_{sodA}) из *Corynebacterium* sp. перед геном, кодирующим аргинин-tРНК-лигазу;

6) промотор гена, кодирующего мезо-диаминопимелат-D-дегидрогеназу перед геном, кодирующим фосфоглюконатдегидрогеназу.

7) 5 гомологичных локусов с генами, кодирующими:

- 4-гидрокси-тетрагидродипиколинатредуктазу (DapB);

- флаavin-зависимую-тимидилатсинтазу (ThyX);

- 4-гидрокси-тетрагидродипиколинатсинтазу (DapA);

- рибонуклеазу J;

- мезо-диаминопимелат-D-дегидрогеназу (DapDH);

- аргинин-tРНК-лигазу (ArgS);

- диаминопимелатдекарбоксилазу (LysA);

- аспараттрансаминазу;

- аспартокиназу (LysC);

- аспарат-полуальдегиддегидрогеназу (AsdB);

8) ген, кодирующий НАДФ-зависимую глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу из *Streptococcus mutans*.

структура (сиквенс) и функциональное соответствие встроенного фрагмента ДНК, присутствие в нем известных потенциально опасных последовательностей:

потенциально опасные последовательности отсутствуют.

Последовательности нуклеотидов встроенных фрагментов ДНК:

Фрагмент №1:

```
1 CAGAAAATCC CAGCGCTACT AATAGGGAGC GTTGACCTTC CTCCACGGG CCGGTAATCG GAGTGCCTAA AACCCGATGC
81 GGCTTAGGCT CCAAGATAGG TTCTGCGCGG CCGGGTAATG CATCTTCTTT AGCAACAAGT TGAGGGGTAG GTACAATAAA
161 GAACGACATA GAAATCGTCT CCTTCTGTGT TTTAATCAAC ATACACCACC ACCTAAAAAT TCCCCGACCA GCAAGTTCAC
241 AGTATTCGGG CACAATATCG TTGCCAAAAA ATTGTTTCGG AATATCATGG GATACGTACC CAACGAAAGG AAACACTCAT
```

Фрагмент №2:

```
1 TCCCAGCGCT АСТААТАГГГ АГCGTTGACC TTCCTTCCAC GGACCGGTAA TCGGAGTGCC ТААААСССГА TGCGGCTTAG
81 GCTCCAAGAT АGGTTCTGCG CCGCCGGGTA ATGCATCTTC TTTAGCAACA АGTTGAGGGG TAGGTGCAAA ТААГААССГАС
161 АТАГАААТСГ ТСТСТТТСТ GTTTTAAATC AACATACACC ACCACCTAAA ААТТСССССГ ССAGCAAGTT САСAGТATCC
241 GGGCACAATA TCGTTGCCAA ААТАТТГТТТ СGGААТATCA TGGGATACGT ACCCAACGAA АGGAAACATA ТATGCGTATC
321 GGTATTCGGG TTGAGCCGGG TGAGAACCAG CCGCTGGTGG CAGCCACACC АGACCCGGT GGCAAGTCA ТСАAGCTTGG
401 СТАТGACGTT GAAGTACAGG CAGGTGCCGG CGAAGACGGC GCCTACCCTG АСGСССТТТА ССGCGAGGC GGCGCGAGCA
481 TCGTAGGCGA GGAGTCTGG GAAGCGGACA TCGTACGAC GCTCGACACC ССGСССАAGG АGАAGCGCGA ССТСАТGCGC
561 TCCGGAGCCA CCCTGATCTG CCGCATGGCT ССAGGCCGCA АСGAGGAGCT САТСААСGAG СТGСССАACC GTGGCATCAC
641 CCGGCTCGCG ATGGACGCTG TGCCGCGTAT TTCGCGCGCA CAGTCCATGG ATGTCTCTC ТТССАТGGCA ААСАТСGССG
721 GCTACCAGCG AGTCATCGAG GCCGCCAACG CCTTCGGTGG АСТGTTCACC GGCCAGGTCA ССGCGGСAGG ТАAGGTGCCG
801 ССGGСААAGG ТСТАСGТСАТ СGGCGCTGGT GTCGCTGGCC TGCCCGGAT СGGTACCGCC ААСТССАТGG СGCGGATCGT
881 САAGGCCACC GACCTGCGCG TCGAGGCAGG CGAGCAGGTC GAGTCCATGG GGGCGGAATT СGTСGССАТC СAGGAAGAGG
961 ССGGAAGTCT CAGGACGGC TACGCCAAGG АGATGACCCA АGACCAGGGC ААСТСGCTG СGAAGATCTA ТТСССAGCAG
1041 TCCGCCGAAG ССGACATCGT СATCAACCAC СGAААСАТТC СGGGCCGСAC СТGСССGGTG СТGCTACCCG АGGAAAGATGT
1121 СGССААСАТG СGTCCGGGCA GCGTCTGCTG СGACTGGCG GCAGCCAACG GTGGTAACTG СGCGCTGACG АAGCCGGGCG
1201 АGGTCTTCGT СACCГATAAC GGCCTGACCA ТСАТТGGTCA СACCГACCTG СGGGGCCGCC TGCCCTGCCA GGCCTCCCAG
1281 СТGTTCGGCC АGАСАТСГТ СААСТGTTC АAGCTGATCA СGССGAGAA GAGCCGGCAG СGCGTCTGG АССТGGATGA
1361 СGAGATCATT СGCACCATA ССGTCACCCT САATGACGGC CAGGAGACCT СGTCTCTG ССGСССАСА ССGGTAGCG
1441 TGTCCTGCTG ССCGCAGCAG CAGCCCGCGC АGGACACGCA GGCСCGGAG GAGCCGGAGA АGСАAGCCTT САТGGGTGGC
1521 ССТТСGССА АGATCGGTCT GGCATCGCC ATCCTACTGG СGCTGCAAT СGTCTGGTC АGСССGCTG GAATAGCGG
1601 СААСТТСГТG GTCTGACC TGGCАТСГТ TCGGGCTTC TACGTGATCT СCGCTGTCA ССGACCCTG САСАССССТG
1681 TGATGTCCGA GACGAACGGC АТТТСАGGA TCGTCTGTGT СGCGCCGATC TTGCAAGTCA АСAGССССАА ТATСАТСГТТ
1761 АСGGTCTCG СGTTCCTGGC ААТСГТСГТG ТССТСGТСА АСGTGTTCCG TGGCTTCGCC АТСАСАGACC GСАТGCTCGG
1841 САТGТТСГТТ АAGGAGGATG САТАААССАТ GACTGCCACT СТGATCTTT СGСAGGСAGC GACCСGGСAG ААСGССАСGС
1921 TGCTGGATTG GTGGCCCGG АТСТСGAACC TGGCSTACAT СGTGGCTGCC GTGCTCTTCC ТСАТGGCACT GGCCGGCCTC
2001 ТСАAGCCGGC АGACCСGААА GCGCGGTAAC АСGCTGGGCA TGAGCGGTAT GGCTGTTGCC АТСGССCTGG ССАТСТТССА
2081 GGCCGTGGTT САСТСАССА ССGATTCGA TGCCCTGGAC СGGTCAТCA ССGTCTCTT САТТGСССТG GCTATGAGCC
2161 TCGGTGCGGC СТАСGСАТC АAGCGCGCGC АСТСGCTCA GATGACTGGT СТGСССAGC TGATCGCGCT GTTCAACGGC
2241 АТGGTСGГТC TGGGCGCGGT СТТСАТСGGT TACAАСТССТ TCGTTTCCGA GTCCGCCGAC ТCGATGGGTG СТGССGСТА
2321 СААСТТССАC СТGGGTGAGG TCTTCTCGG САТСТСАТC GGTCTCAGAA СGTGCCGTGA ССТТСАСGG СТGСАТССТG АСТGGCTGA
2401 АGCTCTCCGG САAGGTCAAG GGCGCCCGC TGCTGCTGCC GGCСCGTAAС СТGCTGAACG ТCGCАТССТ GGTGATCAGC
2481 СТСГТGCTCA TGGTCTGTGT САТСТСGCG GGTGAAGGCA ССACCСCTG GATCGCGGTT GGCATCATGA ССGСССТGGC
2561 СGTGTTCAТG GGCTGGCACC TGGTCTGCTG САТТGGCCGT GGCAGACATG СGGTCTGCT GTCCATCATG ААСТССТАТ
2641 CCGGCTGGG АGCTGCTTC АСCGTCTGA АСGCTGAGAA ССGCTGCTG АТСАТСАСGG GTGCGCTGGT GTGCGCTTCC СGGTCTTCC
2721 GGTGCATTC TCTCTACGT GATGTGCCAG GCGATGAACC GCTCCTTCTT GAACGTCTG СТGGGCGGT TCGGCACCGA
2801 СGGTGGCGCG GTCGCGGAGG GTGTСGACGG СACCСАСACC GAGATCGACA СGACGAGGC TGTСGСGATG СТСАAGGACG
2881 СGAAGAASAT САТGATCACC ССGGGCTACG GATGGCTGT СТССАAGCG CAGTACAGG ТCGTGAГT GACCСGCAAG
2961 СТGCGGACC АGGGTAAAGC TGTCCAGTTC GGTATCCACC СGTGCGCGG TCGCTTGCTT GGCACATGA АСGTCTGCT
3041 GGCTGAGGCG АAGGTCCCTT АТGACATCGT САТGGATATG GAGGAGATCA АСGACGACTT СGACGAGGTG GACGTGGTCC
3121 TGGTCAТCGG СGCGAACGAT АСGGTCAACC СGAGCGCTGA GATGCCGGG TCCCAGATCG СGGCАТGCC GGTТCTGAAG
3201 GTGTGGGAGG СТGAGCGCGT GATCGTGTG АAGCGTTCCA TGGGTGCCGG TТАСТСGGT GCGCAGAAС СGTGTТCTT
3281 СААСGAGAAC АССGACATG ТGCTCGGTGA TGCGAAGGCA ТССАТСGAGA АGCTGGCCG АGGGATCAG ААСТААAGCCT
3361 GGAACCCCG СGGTACCCG GCCACCCACC СGGGTGGTGC АСCGAGAAAA ТСССGТСGA TGCGACAAGC АТСGCGGGG
3441 АТТТТGACGT СССТААAGGG АСААСGATCC GGAАСТТАG GGGTGGCGAA GGCCACTCCC СAGTCGGGA TGGGGCTAG
3521 АAGAGGCCCT СGTТСТ
```

Фрагмент №3:

```
1 GGCCACTAG TCTCGAGTTA АGAGTAAGA TGTCTGCAGG TGGAAGCGTT ТАААТGCGTT АААСТТGGCC АААТGTGGCA
81 АССТТТGСАА GGTGAAAAAC TGGGGCGGGG TTAGATCCTG GGGGTTTAT TTCATTCACT TTGGCTTGA GTCTGTCAGG
161 TCAGGGGAGT GTTGCCCGAA ААСАТТGAGA GGAАААСАА ААССGATGT TGAТТGGGGG ААТСGТTGG TATGATGGTA
241 GGACGСААСА СТGCTACTG ТССТТGGCGG ТАСТТGTGT ААAGGAATA TТАСТТАG TCGACTCAC АСАТТСАА
321 СGCTTCCAGC АТТСААААAG АТCTTGGTAG ССAGCCCGG СGAААТСGCG GTCCGTGCTT TCCGTGСAGC АСТСGAACC
401 GGTGCAGCCA СGGTAGCTAT ТТАСССССТG GAAGATCGGG GATCATCCA ССGCTCTTTT GCTTCTGAAG СТGTCCGAT
481 TGGTACCГAA GGCTCACCAG ТСАAGGCGTA ССТGGACATC GATGAAATTA TCGGTGСAGC ТАААААAGTT ААAGCAGATG
```


561	CCATTTACCC	GGGATACGGC	TTCTGTCTG	AAAATGCCCA	GCTTGCCCGC	GAGTGTGCGG	AAAACGGCAT	TACTTTTATT
641	GGCCCAACCC	CAGAGTTTCT	TGATCTCACC	GGTGATAAGT	CTCGCGCGGT	AACCGCCCGC	AAGAAGGCTG	GTCTGCCAGT
721	TTTGGCGGAA	TCCACCCCGA	GCAAAAACAT	CGATGAGATC	GTAAAAGCG	CTGAAGGCCA	GACTTACCCC	ATCTTTGTGA
801	AGGCAGTTGC	CGGTGGTGGC	GGACGCGGTA	TGCGTTTTGT	TGTTTCACTT	GATGAGCTTC	GCAAATFAGC	AACAGAAGCA
881	TCTCGTGAAG	CTGAAGCGGC	TTTCGGCGAT	GGCGCGGTAT	ATGTCGAACG	TGCTGTGATT	AACCCCTCAG	ATATTGAAGT
961	GCAGCATCCTT	GGCGATCACA	CTTGAGAAAGT	TGTCACCCCT	TATGAAACGTG	ACTGCTCACT	GCAGCTGCTC	CACCAAAAAG
1041	TTGTGAAAT	TGCGCCAGCA	CAGCATTTGG	ATCCAGAACT	GCCTGATCGC	ATTTGTGCGG	ATGCAGTAAA	GTCTGCCCGC
1121	TCCATTTGGT	ACCAGGGCGC	GGGAACCGTG	GAATTCCTGG	TCGATGAAAA	GGCAACCCAC	GTCTTCATCG	AAATGAACCC
1201	ACGTATCCAG	GTTGAGCACA	CCGTGACTGA	AGAAGTCACC	GAGGTGGACC	TGGTGAAGGC	GCAGATGCGC	TTGGCTGCTG
1281	GTGCAACCTT	GAAGGAATTG	GGTCTGACCC	AAGATAAGAT	CAAGACCCAC	GGTGCAGCAC	TGCAGTGCCG	CATCACCACG
1361	GAAGATCCAA	ACAACGGCTT	CCGCCAGAT	ACCGGAACATA	TCACCGCGTA	CCGCTCACCA	GGCGGAGCTG	CGCTTCGTCT
1441	TGACGGTGCA	GCTCAGCTCG	GTGGCGAAAT	CACCGCACAC	TTTGACTCCA	TGCTGGTGAA	AATGACCTGC	CGTGGTTCCG
1521	ACTTTGAAAC	TGCTGTGTCT	CGTGACACAG	GCGCGTTGGC	TGAGTTCACC	GTGTCTGGTG	TTGCAACCAA	CATTGGTTTC
1601	TTGCCGTGCGT	TGCTGCGGGA	AGAGGACTTC	ACTTFCGACC	GCATCGCCAC	CGGATTCATT	GCCGATCCCT	CAGCATCCCT
1681	TCAGGCTCCA	CCTGTGTATG	ATGAGCAGGG	AGCATCCTG	GATTACTTGG	CAGATGTAC	CGTGAACAAG	CCTCATGGTG
1761	TGCGTCCAAA	GGATGTTGCA	GCTCCTATCG	ATAAGCTGCC	TAACATCAAG	GATCTGCCAC	TGCCACGGG	TTCCCGTGAC
1841	CGCCTGAAGC	AGCTTGGCCC	AGCCCGCTTT	GCTCGTGATC	TCCGTGAGCA	GGACGCACTG	GCAGTTACTG	ATACCACTT
1921	COCGATGCA	CACCACTCTT	TGCTTGGCAC	TGCTTGGCAC	TGAGCTCCG	TGAGCTCCG	GGCAGGCTG	ATCCCAAGG
2001	TGACTCCTGA	GCTTTTGTCC	TGCGAGGCTT	GGGCGGCGC	GACCTACGAT	GTGGCGATGC	GTTTCTCTTT	TGAGGATCCG
2081	TGGGACAGGC	TCGAGGAGCT	GCGGAGGGC	ATGCCGAATG	TAAACATTCA	GATGCTGCTT	CGCGGCCGA	ACACCGTGGG
2161	ATACACCCCG	TACCCAGACT	CCGTCTGCCG	CGCGTTTGT	AAGGAAGCTG	CCAGCTCCGG	CGTGGACATC	TTCCCGATCT
2241	TCGACGGCT	TAACGACGCT	TCCAGATGC	CTCCAGCAAT	CGACGAGTC	TCGGAGACA	ACACCGGCTG	AGCCCGGCTG
2321	GCTATGGCTT	ATTCTGGTGA	TCTCTCTGAT	CCAAATGAAA	AGCTCTACAC	CCTGGATTAC	TACCTAAAAG	TGGCAGAGGA
2401	GATCGTCAAG	TCTGGCGCTC	ACATCTTGGC	CATTAAAGAT	ATGGCTGGTC	TGCTTCGCCC	AGCTGCGGTA	ACCAAGCTGG
2481	TCACCGCACT	GCGCCGTGAA	TTCGATCTGC	CAGTGCACGT	GCACACCCAC	GACACTGCGG	GTGGCCAGT	GGCAACCTAC
2561	TTTGGTCAAG	CTCAAGCTGG	TGCAGATGCT	GTTGACGGTG	CTTCCGCACC	ACTGTCTGGC	ACCACCTCCC	ATCCCACTT
2641	GTCTGCCATT	GTTTGTGCAT	TCGCGCACAC	CCGTCGACAT	ACCGGTTTGA	GCCTCGAGGC	TGTTTCTGAC	CTCGAGCCGT
2721	ATTGGGAAGC	AGTGCAGGCA	CTGTACCTGC	CATTTGAGTC	TGGAACCCCA	GGCCAAACCG	GTCCGCTCTA	CCGCCACGAA
2801	ATCCACAGCG	GACAGTTGTC	CAACCTGCGT	GCACAGGCCA	CCGCACTGGG	CCTTGGCGAT	CGTTTCCGAC	TCATCGAAGA
2881	CAACTACGCA	CCCGTTAATG	AGATGCTGGG	ACGCCAACCC	AAGTCCACCC	CATCCTCCAA	GGTGTGTGGC	GACCTCGCAC
2961	TCCACCTCGT	TGGTCCGGGT	GTGGATCCAG	CTTCCGCTTC	TGGCGATCCA	CAAAAGTACG	ACATCCGAGA	CTCTGTCTATC
3041	GCGTTCCTGC	GCGGAGAGCT	TGGTAACCTT	CCAGGTGGCT	GGCCAGAGCC	ACTGCGCACC	CGCGCACTGG	AAGGCCGCTC
3121	CGAAGGCAAG	GCACCTCTGA	CGGAAGTTCC	TGAGGAAGAG	CAGGCGCAC	TCGACGCTGA	TGATTCCAAG	GAACGTCGCA
3201	ATAGCCTCAA	CCGCCTGTCT	TTCCCGAAGC	CAACCGAAGA	GTTCCTCGAG	CACCGCTCGC	GCTTCGGCAA	CACCTCTGCG
3281	CTGGATTAGT	TGGAATCTT	CTACGCGCTG	CTACGAGGCC	CTCGCACTTT	GATCCGCGTG	CCAGATGTGC	GCACCCCACT
3361	GCTTGTTCGC	CTGGATGCGA	TCTCTGAGCC	AGACGATAAG	GGTATGCGCA	ATGTTGTGGC	CAACGTCAAC	GGCCAGATCC
3441	GCCCAATGCG	TGTGCGTGAC	CGCTCCGTTG	AGTCTGTCA	CGCAACCCCA	GAAAAGGCAG	ATTCTCCAA	CAAGGCCCAT
3521	GTTGCTGCAC	CATTTGCTGG	TGTTGTCAAC	GTGACTGTTG	CTGAAGGTGA	TGAGGTCAAG	GCTGGAGATG	CAGTGCATAT
3601	CATCGAGGCT	ATGAAGATGG	AAGCAACAAT	CACGTCTTCT	TTTGGACGCA	AAATCGATCG	CGTTGTGGTT	CTCTGTCGAA
3681	CGAAGGTGGA	AGGTGGCGAC	TTGATCGTGC	TCGTTTCTTA	AACCTTTCTG	TAAAAGGCC	CGCGTCTTCC	TCATGGAGGA
3761	GGCGGGGCTT	TTTGGGCCAA	GATGGGAGAT	GGGTGAGTTG	GATTTGGTCT	GATCTCGAG		

Фрагмент №4:

1	ATGGGCGACG	GCGTTTAGTT	TGAATGTAGC	GTTCAAGGCG	ATCCAGACCC	TCTTTGAGAA	CGTCCAAAGA	GTATGCGTAA
81	GACAGGCGCA	CGTGGCCTTC	GCCGTACTION	CTAAATGCGG	AGCCAGGAAC	CAGCGCGACG	CCTGCGTFTT	CAACAACATC
161	CAGTGC AAAA	TCAAACGAGC	TCATGCCGAA	GGCCGCAATG	GATGGGAACA	GGTAGAAGGC	TCCATCAGGC	TTTTCCACGG
241	GCAAACCCAT	CGCAGTCAGA	CGGCTGTATG	CGTATTCAAG	TCGTTACAGC	TACGCCGCTC	GCATGACCTC	TGCATCATT
321	TTACCCGGCTG	TGAGTGCTTC	AACATGCGGCT	TTTTGGGAGA	CGAGCTCGT	ACAGGACACA	GAATACTGGT	GACCCCTGAC
401	CATTTGTTTCG	ACAGCGAAGC	CGGGAGCGAA	CACAAAGCCG	ATACGCCAAC	CGGTCAATGA	GTGGGACTTG	GACAGGCCAT
481	TGATCACGAT	CGTCTGTTC	GGGAGCCATT	CCGCGATCGA	ATGGTGGCGA	CCGTGGTAGA	CGAGTTCAGA	GTAGATTTCA
561	TCAGAAACGA	TCCAGATTGG	GCGTCTTTTC	AGAAGTGACG	CGATGTTTTT	CAATCTTCTC	GCGGAGAGAG	CCGTGCCCGT
641	AGGGTTAGAG	GGGTAAGGCA	ACACGAGACA	TCGAGTTTTT	CTGTCAAAT	ATGGTGCAT	AAGCTCGCGC	GACAGGCGAA
721	ATCCGTTGGG	ACGGGTGTCG	ATGTAGACTG	GCTTAGCGCC	GCAAAGACGA	ATCAGGGGCT	CGTAGCCCGG	ATAGACCGGC
801	GCTGGCAGCA	GTACTTCAGT	ACCTCTTTCG	AGGATGGTGC	GGAAAGCAAT	GTCCAGGGCC	TGAGATGCAC	CCACGGTGGC
881	GATTACTION	TCTGGGGTGT	AGCGCAATCC	ATACTTGTCA	GCAACGAATT	GGCAAGCTGC	CTGACGCAAT	TCCAGCAGAC
961	CAGCGTTAGC	TGTGTAGGTT	GTGAAATCCG	CTGCAATGTC	TTCTTCCGCA	GCAGCCCTCA	CATGGTGGG	AGTGGCGAAA
1041	TCCGGTTGGC	CGATGGTCAG	CGACACCAGG	CCAGGGCGGT	CTGCCACCAG	GTTGAAGAAC	TGGCGGATGC	CCGACAACATG
1121	AATAGCCTGT	ACGCGTGGTT	GGATCAGATG	TTTTCATGAA	GTCCAGAATA	ATTTCTATCG	GCCTATTACT	CAGCGTTACC
1201	CTTCCAGGAG	AAGTAGTCAA	TAAGAAATGC	GATTGCGCGG	TCGATTGCTT	CTTCGTTGGT	AACGAGCTTG	CGCTGGTGCA
1281	GGCCATAAGG	TGAGTCAACT	CCGAGCCAAA	ACATGAAGCC	CGGATCTTCG	GCAAGCATGT	AGCCAAAATC	TTACCCAGTC
1361	ATGGCTTCTT	TGCAACGGAT	CACGTTGACT	CCGCCGTGAG	CCTTAGCGAA	CTTCATAAAT	TCTGCGGTCA	AGTCCGGGATC
1441	ATTGTACACC	TCATGGTACA	TTGTCCATA	TGCTGATGAA	GCCTCGCAAT	CATAGGCGAC	TTCAATGCCG	TGGACGATAG
1521	CTTCCGATTC	GCGCTTGACG	TTCTGCATGG	TAGCCGTTGA	CAGCGTACGA	ATGGTGCCTT	CAAGACGAGC	GTGTTCCAGC
1601	ATAACATTCT	GCACGGTACC	CCCTGCGATT	TTGCCGATG	TAGTACGCGC	AGAGTCAAGC	GGGTCCACAT	TACGTCGCAC
1681	AATTGACTGG	AGCTGGGTGA	CCAAGGCACA	GGCCGCCACG	ACCATGTTCAT	TTGCCAAGTG	TGGAAATGCT	CGCTGGCCAC
1761	CACGGCCTTT	GAGATCGATA	AACAGCTCCG	AGGTGTTTTG	GAACAAAAGT	CCCTCTTTGG	TTGCGATTGT	GCCTACTGGG
1841	TATTTCTGGT	CGATGTGGAG	AGCCACAATC	ATGTCGGGTT	TCCATTCCGC	CATGATATCG	GACTCAAGCA	TAGGCTTTTG
1921	GCCACCTGGG	CCCTCTTCG	CTGGCTGGAA	CACGAGGATA	AGATCGTCTT	CGAGAGGGTG	ATGGGCGAAA	TGGGTTCAAA
2001	CTCCAGTGC	AATGCTCATG	TGTACATCAT	GTCCGCAAGC	GTGCATGTGG	CCCTCATGCT	TCGAGCGGTA	CGGCAAAACA
2081	GTCTCTTCGC	GGATGGGAAG	TCCGTCCATA	TCAGCACGGT	AGCCAATGGT	TTTTCGCGGG	CTTGTACCGT	TAACCTTAAC
2161	AAAGTACCC	GTTTTCCATG	TGCGCACGTC	CAAGCGCTCC	TGAGGCAGGG	ACTGAATATA	GCGCAGGAGA	TATTTGTGCG
2241	TCTTGAACCT	TTGAAATCCC	AGCTCTGGAA	TTTTGGTGGT	ATCTCGGCGA	ATCCGCCAGA	ATGGGGAAT	AGCCGACATG
2321	TATCAACCGT	AAACCCACAT	GGCACTGGTT	ATGAAAATGG	GTTACAATTG	GCGAAGTTCC	TGTTTGTATT	CCGTCTTAGC
2401	ACGGGTCTGC	TCATCGATCT	GCTTGATAAC	TCGCGCAGGC	ACGCTTGCGA	CGACGGTATA	TGGCGGAACG	TCCTCAACGA
2481	CAACCGCTCC	CGCAGCTACC	ACCGCACCTT	TACCGACTGT	CACGCTTTCG	AGAATTACCG	CATTAGCGCC	CACCACTACA
2561	TCGTCCTCAA	TCACAACCGG	CTTTGCCGAG	GGCGCTCGA	TAAACCCGGC	AAGGACGGCT	CCAGCCCGCA	TATGGCAGTT

2641 TTTGCCGACG GTGGCAGCAG CGCCGAGAAC TGCCTTCATA TCGATCATGG TACCCCTACC AACTACGGCT CCGATGTTGA
 2721 TCACGGCACC CATCATAATG ACAGCATTAT CACCAATCTC GACGTGATCG CGGATAATGG CACCGGGTTC AATACGTGCC
 2801 TTGATGCCCT TGAGATCAAG CAGCGGGATC GCGCTGTTTC GACGGTCATT CTCGACAACA TAGTCCTCGA TCTTATCTTG
 2881 GTTTGTCTCG ATGGCTGCCT GAATATCTTG CCATTCGCCA AACACCAGCG CGACGTTTCC GGTAATGAAA GTCTTTGCTG
 2961 AGCTACCGAA GTCGATACCT TCCAAGTCAC CTTAAATGTA AACTTTCACT GGGGTGGACT TCTTGCTGTT CTGAATGAAG
 3041 CTAATGATTT CGTTTGCATC CATCATTTTT ATATG

Фрагмент №5:

1 GGATCCTCTA GAGTCGACAG AAAATCCCAG CGTACTAAT AGGGAGCGTT GACCTTCCCT CCACGGACCG GTAATCGGAG
 81 TGCCTAAAAC CGCATGCGGC TTAGGCTCCA AGATAGGTTT TCGCGGGCCG GGTAATGCAT CTCTTTTAGC AACAAGTTGA
 161 GGGGTAGGTA CAAAATAAGAA CGACATAGAA ATCGTCTCCT TTCTGTTTTT AATCAACATA CACCACCACC TAAAAATTCC
 241 CCGACCAGCA AGTTCACAGT ATTCGGGCAC AATATCGTTG CCAAAATATT GTTTCGGAAAT ATCATGGGAT ACGTACCCAA
 321 CGAAAGGAAA CACTCATATG

Фрагмент №6:

1 ATGCTTGTA TCCCTCAAAA TTGTGGTGGC ACTGTCCCTG TCGAGCTTAC CACAATGCAT ACTTAGATGA TGATTCAAGG
 81 ACATCTCTTT CATCAGGACC GAAAGCGAAC GTTTCGTATT GTTGAGCCTT TTGGTTCCAC CACGGATGCG CTGATCTATT
 161 TTCATGGCTC CCAGCAGTCA GGATCTGTGG GGCAGGATTT CACCAACAGG ACTTTTGTAT CGTTGCCGTT CATGGTGGTT
 241 TATCCGGATG GGGTGGATCA GCATTGGAAT GATGCGCGGT TGGGTTTGA TGAATAATACC CCCGGG

Фрагмент №7:

1 GTGCTATCAG CAGTGTTTCC CCTGCTAAAG AAACCTAAAA CTTGTGGAAA ATTCCACTTC ACAAGCTCGA CCCCCATCGC
 81 CCCTCAAACA TTA AAAACCCC GCTTAAAGTG TAGCACTCAA GCGGAGTTTT TAATGGCGGG TTTTACTTA ACCAGCAGCT
 161 CAGCGATCTG GATGGTGTTC AGCGCAGCAC CCTTGC GGAG GTTGTGCGCA GATACGACGA GAACCAGACC GCGGTTATCG
 241 TCGACAGTGG AGTCCTGACG GATGCGTCCA ACGAGGGATT CGTCAATGCC GGCAGCTGCA AGTGGGGTTG GGACGTCGAC
 321 AAGCTTGGAG CCTGAAGCGG CACCCAAGAT CTCCTGCGCC TGGTCCACGG TGATTGCTTT GTCGAATTCG GCGTGAATGG
 401 TCAGCGTGTG CCGGGTGAAA ACCGGCACGC GGACGCGAGT GCCTGAGACC TTGAGGTCTG GGAGACCGAG AATCTTGCGG
 481 GATTCGTTGC GCCAGTCTTG CTCTTCATCG GTTTCGAAGG TGCCGTCATC GACGAGGTTT CCGGCGAATG GCAGCACGTT
 561 GTAAGCGATT GGTGAAACAT AAGGTCCGAC ATCGCCTGCG TCAGCAGCCT GTCCATCATG GACGAACTCA ACGTTGTGGT
 641 TCCCACTGCG AGCAACCTGC TTTGCCAAGG TTTCCACACC TGAAGACCA GAACCGGAAA CAGCCTGGTA AGAGGAAACG
 721 TGAAGCTTTA CAAGACCAGC GGCATCGTGA AGTGGCTTCA GCACTGGCAT CGCAGCCATG GTGGTGCAGT TAGGGTTCCG
 801 AATAATGCCC TTGACCAGGG AATCCTTGTC GGAAGGGTTC ACCTCAGAGA CGATTAGTGG AACCTCGTCC TCCCTGCGCC
 881 AAGCAGAAGA GTTATCCACA ACAGTCGCGC CTGCAGCAGC GAACAGTGGG CCGTACTGCT TGAAGCGGT GCCTCCAGCG
 961 GAGAACAACG CAACGTCGAT GTCCTTGAGG GACTCCTCGG TTGCCTGAGT AATGTCTTCT ACCTCGATTT CCGTGCCACG
 1041 GAATTCACAT TTACGGCCTG CGGAACGTTG GGAAGCAAAG AACGCAACAG TGTGAGCTGG GAAATGCGC TCTTCAAAA
 1121 GGGTTCGCGAT AACCTGGCCG TACCTGGCCGG TTGCACCAAC AACTGCGATG GTGGTCAATG TAAAACACTC CTTTAAAAAC
 1201 TTTAGCGTCC GGTGCCTGCA TAAACGACGG CTTCTGCTTC GCGCCACAGC TGGAACTGCT CATGCAATGC ACGTGCAGCA
 1281 GCATCCAGAT CATCTTCACG GATCAGCAGC GAAATACGAA TCTCAGAGGT GGAATCAAT TCGATGTTC ACGTTGACATC
 1361 GCGCAGAGCT TCCATGAAC TGTCCGTAAC ACCTGGGTGA GACTTCATGC CAGCACCAC GAGGGAGACT TTGCCGACCT
 1441 GGTTCGTGTA AAGCACATTG CTCAGTTGCG GTCCAGCTTC AACCTTCTTC AAGATCTCCA TCGCCGCGCG CCGTTCGGAA
 1521 CGAGGGCAGG TGAAGATGAT GTCGGTGGTG CCGTCTTCTA CAGAAGAGAC GTTCTGCAGA ACCATGTCAA TGTGATTTT
 1601 TGCATCAGCC AACGCACGGA AAACCTTCGC AGCCTCGCCT GGCTTATCGG AAATACCCAG AACGGTACT TTGGCTTCGG
 1681 ACTTGTGCGT TGGCAGACCG GTAAGGACTG CTTCTTCCAC AGGAATATCC TCCATAGAGC CGGCAATCAA AGTGCCGGGA
 1761 TCATTAAGTTC AAGACGAGCG TACGCGAAGT GGCACATTGA ATGCACGAGC GTATTCAACA CTGTGCAGCA CCAAAATCTT
 1841 GGAGCCAACA GCAGCAAGTT CCAGCATTTT TTCGAAGCTG AGCTTTTCCA GCTTCTGTGC ATTAGGAACG ATGCGCGGGT
 1921 CAGCGGTATA CACACCGTCA ACGTCCGAGT AAATCTCACA CACATCAGCG TTCAAAGCAG CTGCCAACGC AACTGCAGTG
 2001 GTGTGAGATA CACCACGACC CAACGTGGTG ACATCGCGGG TTTCTTTATT AACACCTGTT AAACAGCAA CAATGCAGAT
 2081 CTTGCGCTCA TCGAGTGCTT CACGCACAGC ACCCTGGAGT GATCAACAAA TGGTGCAGCA TCCGTGCGCG CCGTTCGGTA
 2161 GCACACCAGC CTGAGAGCCC GTGAAAGATT GGGCTTCTGC GCCAAGGGAC TCAATAGCCA TGGCGACGAG AGCGTTAGAA
 2241 ATACGCTCAG CAGCAGTCA GAGCATATCC ATTTACAGAG CTGGCGGAA GGGATTCACT GCCGCTCAA GTTCTAGAA
 2321 TTCATCCGTT GTGTCTCCCA TTGCGGAGCA GACAACCAC ACATCATTTT CAGCCTTCTT GGTGGCAACG ATCCGTTTAC
 2401 CGACGTTTCT AATGCGTTTC GCACTTCTCA GCATATTTT CCGATATTTT TGTACGACCA GGGCCACCTT TGTGCACCTT
 2481 TCGATCTACG TGCTGACAGT TACCCGCTCA ATTATACCTT TATAAACTGT GTCTACCTAG CCAGAGGAGT GTTTTCTTTC
 2561 TGCACAGGGT TCCTGGGGCT TTAGCGGATG CGTCTCAGCC ACTGGGACGC GTTCCAATAA ACAGACCATA TATTGATATT
 2641 CGAATTAATA TTTGAGACAA AAGTGCAGG TGCTACTTCG CGAGCAACTC TTTAGTCAAC TACCCTGAAT CAAGTGCAA
 2721 GCAATCTGCT CCGCGTCTT TTCCGCTAG CATCGGCATT AACAAATCGCA TGGGGCACCG TGGTCAGACA CCGGATCGCG
 2801 CTCCGCACCC CAAAAGATGG CTCCTAAGG AGCTCACCTT TACTCATATG CATCCTCAAG CGTGTAACTT GCCACTTTAA
 2881 ACGCGCAAC CTGGTGGAA TCCGGTGTCC CAGGAAGCAG ACGGTTAATC CAATGTGCTG TCTCCGCTGT ATTCACTTTT
 2961 AGTTAGCGTA ATGCTCCGCT GCTGCCAACA GCACACAGGT AGCCACGCCA TCCATGGCAA CCTCAAGTTC CTCAACTGGA
 3041 GGCAGCGACG GTGCCAAACG GAGATTTTTG TTTCCGGAT CCGTACGAG CCGGTAAAGAA GAACCCGCAC CCGTCAACGC
 3121 GATGCCGGCT TCCTTAGCCA ACTCAGCCAC GCGAGACGCC GTACCAGGAA CCACATCAAG GGAAATGAAG TAACCGCCCG
 3201 CAGGGACAGT CCACTGCGCG ACACCGTACT CAGCAAGGGG AGAATCCAGA ATCTCCAGAA CCTTGTGTGA CTTCGAGCC
 3281 AACGACGAG CATGCTTACG CATCACCCTG CGCACTCCCT CAGCATCGCC AAAGTAAACG GCATGAGCCA ACTGATTGAC
 3361 CTTGTTAGGG CCAATGCCAC GGATACCCCG ATGCGCGGAT TACCACTTGC GTTCTCCGCG AGAGGTGAGG AAGAAGCACA
 3441 CGCCCGCACC CGCGAGAGTG ATCTTCGAAG TAGAAGTGAA CGCCAGAAA CCGTTCGGGT TGCCAGCGGC CTCACCAAGC
 3521 CCGACGATAT CGATAACCTC AGGGAATTCA TCGGTCAAGG TATGAACGGC GTAGGCATTA TCCACACAAA CGCGGAAGTC
 3601 CCGAGCTGCG GTTTCCATTG CGCTTAGACG CTTTGCAGC TCTTCTGTCA CCGTGAACAT AGTCCGGGTTA GAAAACACCG
 3681 GAACAACCCA CATTGCTAGG CATGCCCTTA ACCTGCGGAT TTTCAACAAA TCCCTCAACA GCATCCATAT CAGGGCCGTC TCAATCATT
 3761 GGCACAGAAA TCATCTCAA GCGGAAACGC TCCGTGATGG AGAAATGGCG ATCATAGCCC GGAACAGGGC AAATCCACTT
 3841 AACGGTTTCT TCCTTCGACC AAGGCTGAAC CGAATCATTT TACCAGAAA TGTACGACCA GCTGATCACA TCAAAATGTA
 3921 TGTTCAGGCT CGAAGCATCC CCGGCAAGA CCTGCTCCAC AGGAACACCC AGCAAATCCG CCAAAATCTG CCGAATATCA

4001 ACGATGCCAT CCAGCCC GCCG ATAGTTACGG ACATCAGTAC CATCCGCAGC CTTGAAATCA CCCTTACCAG GCAACGCCAA
4081 CAACTCATCA GCGAAATCCA ACTGCTCCGA CGAAGGCTTA CCGCGAGTAA GATCCAGCTT CAGATTTTTT GACTTGAGCT
4161 CATCAAATT GCGCTTAATG TCCTCGTGGA ACAAACCAAT TCCTCTGCA TCAAAATCCT GCAGCGAAAC TGAACTCATA
4241 ACTGCGTACC TCCGCATGTG GTGGCAAAAT AGACGGACCA AAAAAGGCA CAAAAAAGA GCAGTGACCT CAAGCCACTA
4321 CTCTAGTCGT TTTAGGGGAT CCCCAGCACC CGTCAGAGCT CGCTGACCTT TGCTGCATTC CTGCCCTGGG GGAGTTTACA
4401 AGATAAACCG CGACGGGAT CTTTCGCATA ACCTCGCTG AACCGCCCCA GAAACCGCCA ATCCGAGCGG GATTTGAGTT
4481 TCTAAACGAC TTTTGTGTAA TCTAATCCCC AGAACAAGC AGCCATGCGT TGCAGCCGTT CTATCTAGCC CTCTGAAGCC
4561 TCGACTGCAG ACCCTAGAC ACCTTAAGTT CGCAAGAAA CCCAGAAACC CAAAACGCC CTCCACGGCG AAGGTGAAGG
4641 GCGGGGTCAG GCGTCGAAAA GCGTTATGCC TCTAGTGAGA GGATGTCGTC GAGCGTTTCG CGGCGCAGCA TGAGGCGGGA
4721 GCTGCCAGCG CGACGGGACA CGACGGCGGG CCGTGTGAAG CCGTGTGAGC GGGAGCTCAT GGCGTAGCAG TATGCCCGCG
4801 TGGCTGCGAG TGCAAGGAAG TCGCCGCTGG TGATGTCAGA TGGGTAGATT TCATCGTTGA TCAGGATATC GCCGGATTTC
4881 CAGTGGGAGC CCACGATGCG GGTGCTTACT GGTCTCCTT CCGCGAAGCG GGATACTACG CGGGCGTCTG ATTCGGAGCC
4961 GTAGAGTGTG GGGCGGATGT TGTCGGACAT GCCTCCGTC ACGGCGATGT AACGGCGGGT TTTGTCGTCG TCTACGTGGA
5041 CGTCTTTGGT GGTGCCGACT TCGTAGATGG TCAGGTTGGA GGGCGCTGCG ATAGCCGGCC CCGGCTCAAC AAGCAGCCAG
5121 GGTGCGTCGA TGCCTAGTTC CGCTGCCATT TTTCCGACTG CCGTGAGCAG GTCGGAGGCA ACTTCTGCGA CGTTGAGTGG
5201 TTCTTCAAGT GCGGTATAGG CAATGCCGTA TCCGCCACCG AGATCCAGTT CAGGAAGGGC AACGCCAGT TCGCTGTGGA
5281 TCTGTGAGTA CAGGCCAAC ACAGGTTCTG TCCGCCAGTT GAAGCCTTCG CCGTCAACA CCTGGGAAC AACGTCGAC
5361 TCGAGCCAA CAGGTTTCAG GTTTTCTGCG TTGTTGCTGC CTTTGTGCTG TTCGAATGCG GAACCGATG CACGGGAGAA
5441 TCCGAACTTC TGGTCTTCGT GGCTAGTGGC GATGAACCTG TGGGTGTGTG CTTGATGCC TGGCTTTACG CGGATCAACA
5521 CGTCTGAAT CTTGCCTTCA CCAGCGGCAA CGTAATCCAA CAGTTCTAGT TCCTGTGGG AGTCCAGCAC CACGTGTCCC
5601 ACACCGTTTT GAACCAACCG CGCGAGGAAC TCTACGCCTT TGTTGTTGCC GTGCGCGGTC ATACGGTCTG CCGGGAACCT
5681 TGCCGCGAG CAAATGCCCA GTTTCGTTGAT TCCAGTGCCA CCCCCTCTT ATCAACCCAA CGTGCATAGG CCGTGAATGG
5761 TCTTGGTCAG GAACGCTTTA GATGCGTAGT GCACATGCTG TGGTCCACCG AATGCGGTAG CCATGTGCGC ACAGCGGGAA
5841 CGGAAATCGT CCTCGTCGAC TACGAACAGT GGGTTCCCGT ATTCTTCAGC GAGGTCAGGC AGAGGCACAC CAGCGACGGT
5921 GACAACGCGG TCTTCTTGGC GCACGGCATT GCGTGGCCAT ACCTGTGCGG GAAGTTTCAT GAAATTTTCA ACTGTAGCCA
6001 TTGTTACATC TTCTCCGATT CCGAAGCATT AACCAGTGC AGGGCCTTAG CGAGGCTCTG CCGGTTGCTG GCTGCAAGTG
6081 CCAGACGTGC TGTGTGGATT GGTGCGGTAT CCCCATGAAC CTTTGGAAAG ATGTGGCAGG AATCGTAGAA GCGTCCGAAA
6161 GTTCCAGCTA ATTCCTCAGC ATAGCGGGCA ATGCGGTGTG GTTACGCTAG GTCAGCGGCA GCCTTACCA CTGCTGGGAA
6241 CTCTCCGAGT GTGCGGATGA GATCGCCTTC CCGTCTGTTG GTCAGTAGAG ATAGGTTCTG GCCTTCTCAG GTGACACCCA
6321 AGTCTCTCTG CTTGCGCGCG ATGGAGCACA GACGAGCTTC TCCGACTGC ACGTAGTACA CAGGTTGCTG GGAGGACTGG
6401 GATTGCTTCA CCGAGGATCA GATATCCAGG GATATCCAGG AAGAATCCA CCGAGGAACG GATCAGGGAG TAACCGCCCG CATCGATGCC
6481 GATTGCTTCA CCGAGGATCA CTAGGGTGC CACGGTGCCT GCACGCTTGG ACATACGCAC TGCCTTGCCG TCGCGAAGCA
6561 GGTTCACCAT CTGGCCAATC AGGACTTCAA CGCCTTCTGG CTTGTAGCCA AGTGCCCGCG CCGCTGCCTT CAGGCGCGCG
6641 ATGTAACCAT GGTGGTCAGC ACCCAACATG TAGATGTTA GGTGTGTGCC CCGGGAGAAC TTATCAGCCA CGTACGCGAT
6721 ATCGCCAGCG ATGTAGGCTG CTGCGCCGTC GATGTTGTTA ACCACGCGGT CTTTGTCTATC GCCGAATTCG GTGGAAGCGA
6801 GCCACCAAGC GCCCTCGTTT TCGTACAGGT TGCCGTTGTC CTTACGACCC TGCACGGCCT TGTCCACCGC ACCGGACTCG
6881 AACAGGGAGT TCTCGTGGTA GTAGACATCG AAATCGGTCG CGAACTCATG CAGGGAAGAT TTGATGTGCT CGAACATCAT
6961 CTCCAGCCTC TCAGCGCGGA AAAGCTCCTG GGTGCGGCA GGCTCCAAAG CCAACGCTTC AGGATGCTTT TCGACGATTG
7041 CTTCCGCAAT TTTCTTAATG TATTGCGGTC TATTGCGGCT TTTGCGGCTT TCGCTCGCCT TCGCCGCGGT AAGAAGGGAC
7121 AAAGCGAAAC GATCGATCTG GCGACCGTGA TCGTTGAAGT AGTATTGCGG GGTCACTTTC GCGCCGGAAG CCTCCAGCAC
7201 ACGACCCAAA GAGTACCCCA CCGCAGCCCA CCGGGTTCGG CCAAGGTGAA TAGGTCGGGT TGGGTTTGA GAAACGAACT
7281 CGAGGTTTAC GTCCAAGTGG GAAAGGTGAT GCGAGTTTCC GAAAGTCTCG CCCTGTGCCA GAATCTTGGC CACAATTTCA
7361 CCCTGTGCTG TCGCAGCAAG CCGAATGTTT AAAAGGCAAT TTAGAGCAA TCAATGCGCT TCAATGCTCAGC GTCGAGCAGC
7441 CAATGCCTCT GCCAGCCAGG TAGCCAATC CCGAGGGTTC TGACCGACCT TTTTAGCCAC CTGCAATGCA ATGTTGGTGG
7521 CGTAATCGCC GTGCTCTGGG TTACGCGGAC GCTCCACAAC TACCTGCTCC GGAAGAACAG AAGTATCGAG CTCGCGGGAG
7601 GTCAAAACCT CTACCCGCGT CTCCTTAATC AATGTGCGA GATCAGCTGG TGTGATGGG AGAAATTTCA GCACAGGTAC
7681 ACCCCGCGCA CAGAATACGA CCCCATCTTA ATACAAATCC CAGCCTTTTT AATGAAAAAT CATTGTTCTC TGTATGTGCT
7761 TTTTGGGGTA ACTGACCCAG AAAACAACG TCCTTGGAGC CGTAATGCCC CGTTCGACAA TAAAAAGGGT AGTAGCAGTT
7841 CTTGCGCCTC CGACTGCGCT TAGCCCTTTT TTGGTATCAA TGCCCACTGC AGCAGCGCAA GAAAACATCC GCTGGGAAGA
7921 ATGCCACCTC CAGGTAGATA TTGCCTCCGC TCAATGTGGC AGCATCGAGC TGCCCCGGG GCACGTGTGT CCGGTTTCTC
8001 ATCCCCATAA CCAGACAGGC GTGCCAAAAC CCGCGGATAA TCCAGATTTT TGTACCGCCT TGTGCTTCTC CTCTGCTTCC
8081 AGCGAAGACA CCCTCTGAAA AGGCTAAAAG AGGCAAGGAA ACCACACTGT TTCCTTGCCC CTCGAGCTAA ATTAGACGTC
8161 GCGTGCATC AGATCGTCCA AGTTCCTCTG GAGAGCAGG TATGGAGCAA CTTGAGGAC GGTGAAAGT CCGCTTTGGC
8241 CCTGCTGCTT CATGCGGTGA GCTGCGCGAC CGAAGCGAT CTGTGAGGAA CCGGTGAAAT CTGGGTTTCC GTCCAGCTTG
8321 AGGATGTATT CCACGGTGTG GTTGAAGCCA CCGTGTCTCC CCGTGGTAA CACGTGGGCA CCGTGGTTCC TGCCGCTGTG
8401 CTCGGAGTCG AAGGTTGCTT CGTCGATGAA GTTGACTTCG ACTTCGTAGC CAACGAAGTA ATCAGGCATG GTGCGGATGT
8481 CGTTTTTCAG GCGCTCGTGA TCGGCGCGCT CCGCAACCAC GAAGCATTGG CGCTTGTGGG TTTGCTTTCC GGTAAAGTTC
8561 CCGGCTTFCG CGCGGCGGGC CTTTTCCAGG CCGCTTTCGG ATGGGAGGGT GTACTGGACT GCCTTTTGA GCGCAGGGAT
8641 GCGTCCGCAA GCATCGGAGT GGCCTGTGTA CACAACCTGG CCCACGAAGG TGTGCTGCTG GTGCTCGCTG CATGTCGGCG
8721 CTGCGTAGAC GCGGTTGATG GAGAACATTC CTGGATCCCA GCCGGTAGAG ACCAGTGCAA CGTTGCCCGC TGCGGTGGCG
8801 GCTTCGTTCA TGACCTGGCG GTGCGGTGGG ATGTCGCGGT GGTGTGCTGA GGTGTCTACG GTGCAGGCGA ACTGCCGGA
8881 CTTTGGTGCC TGCTCAGGGA TGTCGGTGGC GAGGCCATG CACAGGAACA GCACGTCCAC GTCGTCGGCG TGCTTGTCCA
8961 CGTCCGCGAC ATCAAAGACT GCGCTCTTTG TGTGAGGGT GCGCCGGCGC GAGAAGATT CTAAGAAGT CTAAGAGT CATTGCGGGC
9041 TGCTTGGCAA TAAGCTTTTC GACGCTGCGT CCCAGGTTTC CGTAGCCAC GATAGCTACG CGGATGTTGG TCAATGTTCT
9121 GTAATCCTCC AAAATGTGGG TGGCACTGTC CTGGTCGAGC TTACCACAAT GCATACCTAG ATGATGATTC AGGGACATCT
9201 CTTTCACTAG CAGCCGAAAG GAACGTTTCC TATTGTTGAG CTTTTGGTTC CCACACGGA TGCCTGATC TATTTTCACTG
9281 GCTCCGACGA GTCAGGATCT GTGGGCGCA CCTTACCAA CAGGACTTTT GATCCGTTGC CGTTCATGGT GGTTTTCCG
9361 GATGGGGTGG ATCAGCATTG GAATGATGCG CCGTGGGTTT TGGATGAAAA TACACTAGTC ATATGGGATC CTTGAGCACC
9441 TTGCGCAGCA TCCCGATTGT CGTTPCCGGC GGTCTCAGCT TTTACAGCGC TCTGGTTAGA GGAAGCATCT GGTGCCTGAA
9521 AGACAGGGGT ATCCAGATGG TTTTCTGAC CAGCTTCTGG TGGGCGCGCC TTGCGGGTAA CCTTCCGGCC GCGATTTCCG
9601 GAATCATTTA TATTTATAGA ACTCCAGCTT TTTTCAATGC TTTCTCGAGA GCCTCAAGT CCGTCTCAT TCTGATTCATA
9681 ATTGGAAGTC GAGGATCTCC TACGTTGATG CCCTGCAGC GCAGAGCAGC TTTTGCCAAG CTGACTCCAC CCAAGCGACC
9761 TTGGGCGAGT ACCAGCGGTG ATAGTTTGGC GTTGAATTC CCGCACCGGA CGAGGTGCC TCTCTGGAAG CTTGTGTACA
9841 ACTCACGTA TGCTGTGGGG GCTGCATGTC CAATTACGGA AATGAAACCT GATCCGCCA AAGCAAGCCA AACAAGGTTT
9921 AGTGGGTTCAT GCCTTGAATA CCAGGCAAGT CCGTTCCTT TGTCAATGA CCGTGGCTCA CGTGGCTGCA ACGAGGTCAC TGGAGGCTC
10001 CTTGACCGCC AAAATCGTAG GTAATTCACT CAGGCGTCTC ATGGTATCAG ACTCAATTGG AATACCTGAC CGACCAGGAA
10081 TGTCATAGAG ACAAATTGGA ACCTCTGTTG CTGAGCAAT TGACCCGAG TCGCCAGCA ATCCCTCTG GCTCGGCTTG
10161 GAGTAATAAG GAGTTACAAC TAAAAGGCCG TCTGCGCCAG CAGAAGCAGC AGCTTCCGCA AGTTCACAG ATGTCCCGCT
10241 GTTGTGGTTC CCGACACCGG CGATGAGCTT CGCCGATCC CCAACTTCT CACGACCGC CTTGAGCAGT TCTAGTTTTT

10321 CAGCGGGCGT TGTCGTTGGG GATTCACCAG TGGTGCCCGC GAGAACCAAA GAATCCAAGC CCTTATCAAC CAAATAAGCC
10401 GCGACTTCGC GGCCAGCAGC GATAFCGATG TCTCCGGATT CCGTGAATGG AGTAACCATT GCTACTCCA CCGTGGCGAA
10481 GTGCTCTACT CCGGTCTTAG CTGTAAACC TGTGCTCATA GAGTTCAATG ATACCACATT CCCTCATTTG GGGGTAAAC
10561 AACCCGCAA AAAACCTAAC AACTTTTGCA TAACAATCGC CCAAGCCACA TTCGATFAAG AACAAATGAC ACGAGCAAGA
10641 GGTTTTTTACG GCTGTCTTCT ACAGCCAAA ATGTTGTCTT AACTATATGA ATTTTTAGCT CGTGGGTGTG AGCTTTGCGT
10721 TAAAAGTCCA TGACATACGG GCTTGTGGCC ATTTGCGATC CGTCTGCCAA AGTTTCAATC TCAAAAACAC CGAAAACAGT
10801 TGGCGTGCT ACCTGCAGCT TTCTTAAACA TTCTACCGCT ACTTCGCGGA TTTCGACGTC TGCATGTTCA CTGGCTCGCA
10881 TGCCAAATGAA ATGCCTCCAG GTGCGGAAGT TTCAGACAC CACGATTCTG GACTCTGTAG CGTTGGCGAG CACAGCGCGA
10961 GCTGCTTGAC GAGCCTGCTT TTTCTTAAA AGTGCATTCG GTTCATCGCC AAGTTTTTCT TCCAGCGCAT TAAGCAGCTC
11041 ATTGAAAGCC AACCGAGACT CATCCATGGC GTGCATGAAA AGTTCACGCA ACTGCGGATC TTCATCGATG AGAGTGGGCA
11121 CCACTACTTC CGATTCTCCG CTGTGCACGA AACGCTGAGA CAGTTGAGAG AAGGAAAAAT GCGGGTGTG GACCAATTCA
11201 TGGGTGCGCG ACCGAGAAAT GCCTCGGATA TACATCGTGG CATTTGGCATG CTCAGCAAAA GCAGTGTGCC CCACCTCCAT
11281 GATGTGGCGC AGATACGCAG CATTGGAAGC AGTTCGAGGG TTCGGCTTAT CAAAAGTTTC GTAGCAGGCA CGACCCGCAA
11361 ACTCGACGAG TGCTTCCGCG CCTCAACAT CAGTTGACCA CTCACATCA GCGGGTGGAG TAAAAGAACT GCACGCTATC
11441 AACTCCACGC TCAATTTAAC TTGTTCGGCC ACAGCCTTTA AACGCTCCTT TAAAAAAT CACCCCGCTG CTGAAATGAG
11521 CCTTTACAGG CCTAGGTAAT GCTCAAGTCC TACGACTAGG CCTGGGTGCT GTGCAATGTT GCGCACACC ACCAAGACAC
11601 STGGTGCAAA TGAGTTGCGA TCATAGGAGT CCTGCTTGT GGTCAAGGTC TGACCCCTGG TGCCAAAAGT AACTTGCTCG
11681 TGAGCAACCA TGCCGGACAT CCGGACTGCA TGAACGGAT TCCATCTAC GCTTGCGCCA CGGGAACCT CGGAACTCG
11761 CTCGGTTCGCA TCTGGCTGTG CGTCCATGCC TGCTTCTTTG CGTGCCGAG CAATGCCCTG AGCAGTGTGG ATCGCGGTGC
11841 CTGAAGGTGC ATCCAGCTTG TTGGGTGGT GCAGCTCAAT AACTTCAGCT GATTGGAAGA AGCGGGCAGC CTGCTTGAA
11921 AAGACCATGG TCAACACCGC AGAGATAGCA AAGTTAGGT CGATCAGAAC ACCGACATG TCTTTTCTT CAAGCCAGTC
12001 GCGAACCTGC TCCAACGAG CATCATCGAA GCGCTGGTT CCAACAACCG CAGAAATGCG GTTGTGATG CAGAATCTC
12081 GGTTCGCCAT CACAGCGTTA GGAGTGGTGA AGTCAACGCG AACTTCAGCG CCGTTGTCTA CCAGAAGGCT CAAATCATCG
12161 TCGACGCCGA TCTCTGCAAC AAGTCCAGA TCGTGGACT CATGACTGC TGCCACAATA GTTTGACCAA CACGGCCTTT
12241 GGCTCCGAGA ACGCAACCT TGATTTCCAT TATGCTCCTT CATTTTCTGT GGGCGAAGAG TTTTTCAAA GCCCACCATT
12321 ATACCAACA CCGTTCAGAA GGTGCTGATA TCCATACCTA ACTGACCGTT TTGGTCTGTG TTGTTAACA TTGTTTCATCA
12401 GTTTGTTCCG TTCTAGGGAT TAATCACACA GGTGGAAC TA TGTTTGAAAT ATGAGACTTA AGTTGCCCTT CACCGCCCGT
12481 TCCGCAGGTA GTTCTTGGC GCTTGT

Фрагмент №8:

1 CTCGAGGGCG STTCAATGTC ACAAATCTTTA ACGTTTTTCAA GTTCACAAGT CGTGTTCAAA TGGTGACAAG ATTGGACACT
81 GTGCTGAATT GGCACCAAGC CCTCATAAAT GATAGATCTA AATCGAATAT CAATATATGG TCTGTTTATT GGAACGCGTC
161 CCAGTGGCTG AGACGCATCC GCTAAAAGCC CAGGAACCTT GTGCAGAAAG AACAAATAAT CGTGAATTTT GGCAGCAACA
241 GCGGGGCTTG GTATAATTGA AAACGTGCAA AAGCATAGAT TATTTGGAGGA GATCAAAACA CATATGACAA AACAAATATA
321 AAATTTATGC AATGGCGAGT GGAAGCTTTC AGAAAAATCT ATTAAAAATCT ACGAACCGGC CAGTGGAGCT GAATTTGGTT
401 CAGTTCCAGC AATGAGTACT GAAGAAGTAG ATTTATGTTTA TGCTTCAGCC AAGAAAGCTC AACCCAGCTT GCGATCACTT
481 TCATACATAG AACGTGCTGC CTACCTTCAC AAGGTAGCAG ATATTTTGAT GCGTGATAAA GAAAAAATAG GTGCTGTTCT
561 TTCCAAAGAG GTTGCTAAAG GTTATAAATC AGCAGTCAGC GAAGTTGTTC GFACTGCAGA AATCATTAAT TATGCACTG
641 AAGAAGGCCT TCGTATGGAA GGTGAAGTCC TTGAAGGCGG CAGTTTTGAA GCAGCCAGCA AGAAAAAAT TGCCGTTGTT
721 CGTCTGGAAG CAGTAGGCTT TGATTTAGCT ATTTACCAT TTAACCTACC TGTTAACTTG GCAGGTCGA AAATTTGCACC
801 GGCTCTTATT GCGGGAAATG TTATTTGCTTT TAAACCACCG ACGCAAGGAT CAATCTCAGG GCTCTTACTT GCTGAAGCAT
881 TTGCTGAAGC TGGACTTCCT GCAGGTGTCT TTAATACCAT TACAGGTCGT GGTCTGAAA TTGGAGACTA TATTTAGAAA
961 CATCAAGCCG TTAATTTTAT CAATTTTACT GGTTCACAG GAATTTGGGA ACGTATTGGC AAAATGGCTG GTATGCGTCC
1041 GATTAATGCTT GAACTCGGTG GAAAAGATTC AGCCATCGTT CTTGAAGATG CAGACCTTGA ATTTGACTGT AAAAAATTA
1121 TTGCAGGTGC TTTTGGTTAT TCAGGTCAAC GCTGTACAGC AGTTAAACGT GTTCTTTGTA TGGAAAGTGT TGCTGATGAA
1201 STGGTTCGAAA AAATCCGTGA AAAAGTCTTT GCATTAACAA TTGGTAATCC AGAAGACGAT GCAGATATTA CACCGTTGAT
1281 TGATACAAAA TCAGCTGATT ATGTAGAAGG TCTTATTAAT GATGCCAATG ATAAAGGAGC CGCTGCCCTT ACTGAAATCA
1361 AACGTGAAGG TAATCTTATC TGTCCTAATC TCTTTGATAA GGTAAACGACA GATATCGCTC TTGCTTGGGA AGAACCATTT
1441 GGTCTGTGTT TTCCGATCAT TCGTGTGACA TCTGTAGAAG AAGCCATTGA AATTTCTAAC AAATCGGAAT ATGGACTTCA
1521 GGCTTCTATC TTTTCAAAATG ATTTCCACG CGCTTTTGGT ATTTGCTGAGC AGCTTGAAGT TGGTACAGTT CATATCAATA
1601 ATAAGACACA GCGCGGCACG GACAACCTCC CATCTTAGG GGTAACAAAA TCAGGTGCAG GTATTTCAAGG GGTAACAAAT
1681 TCTATTGAAG CTATGACAAC TGTTAAATCC GTCGTATTTG ATATCAAAATA ATCTAGAACT AGTGGGCC

наличие во встроенной ДНК каких-либо неизвестных последовательностей и информация о том, в какой степени вставка ограничена ДНК, необходимой для осуществления предполагаемой функции:

все последовательности известны и содержат только гены, необходимые для осуществления запланированных функций.

характеристика сайта модификации реципиентного генома, локализация вставки;

Координаты вставок приведены согласно последовательности нуклеотидов генома *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 с кодом доступа в ГенБанке CP025533:

271 103;

442 658;
1 116 833;
1 154 107;
1 240 005;
1 533 517;
2 086 485;
2 631 846.

стабильность инкорпорации привнесенной ДНК в геном реципиентного организма:

исследования не проводились.

описание методики обнаружения и идентификации встроенного фрагмента ДНК, чувствительность, надежность и специфичность этой методики:

встроенные фрагменты ДНК могут быть идентифицированы со 100% надежностью и специфичностью с помощью полногеномного секвенирования трансгенного микроорганизма.

3.2. информация о генно-инженерном организме:

описание генетических признаков или фенотипических характеристик, в особенности новых признаков и характеристик, которые стали проявляться или перестали проявляться у генно-инженерных организмов по сравнению с реципиентными организмами:

фенотипические признаки (новые по сравнению с родительским штаммом):

1. повышенный синтез и накопление аминокислоты L-лизина;
2. более медленный рост в схожих условиях.

генетическая стабильность генно-инженерных организмов:

геном генно-инженерного штамма JULY1801 стабилен на уровне исходного штамма ATCC 13032.

степень и уровень экспрессии трансгена(ов), метод оценки экспрессии трансгена(ов), его чувствительность:

анализ уровня экспрессии трансгенов не проводился.

активность и свойства протеина(ов), кодируемого трансгеном(ами):

трансгены кодируют ферменты, участвующие в биохимическом пути синтеза лизина, а именно:

- альфа- и бета-субъединицы фермента НАДФ-трансгидрогеназы;
- пируваткарбоксилазу;
- 2,3,4,5-тетрагидропиримидин-2,6-дикарбоксилат-N-ацетилтрансферазу,
- N-ацетилдиаминопимелат-деацетилазу;
- аминотрансферазу А;
- 4-гидрокси-тетрагидродипиколинатредуктазу;
- флаavin-зависимую-тимидилатсинтазу;

- 4-гидрокси-тетрагидродипиколинатсинтазу;
- рибонуклеазу J;
- мезо-диаминопимелат-D-дегидрогеназу;
- аргинин-тРНК-лигазу;
- диаминопимелатдекарбоксилазу;
- аспартаттрансаминазу;
- аспартокиназу;
- аспартат-полуальдегиддегидрогеназу;
- НАДФ-зависимую глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу.

история прежних генно-инженерных модификаций генно-инженерных организмов:

отсутствует.

3.3. характеристика генно-инженерных организмов в связи с безопасностью для здоровья человека:

токсические или аллергенные эффекты генно-инженерных организмов и (или) продуктов их метаболизма:

не выявлены (приложение: заключение токсиколого-гигиенической экспертизы РУП «Научно-практический центр гигиены»)

риски возможных вредных воздействий на здоровье человека, связанные с использованием продуктов, полученных из генно-инженерных организмов: отсутствуют.

способность генно-инженерных организмов к колонизации: информация отсутствует.

патогенность генно-инженерных организмов для иммунокомпетентного человеческого организма:

штамм является непатогенным для человека и животных (приложение: заключение о непатогенности штамма).

4. Информация о потенциальной принимающей среде:

4.1. местоположение участка, где будет осуществляться высвобождение (область, район, населенный пункт, принадлежность земельного участка землевладельцу или землепользователю с его полным наименованием):

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено; работа со штаммом будет осуществляться в замкнутой системе биореакторов и сопутствующего технологического оборудования, расположенных на заводе по производству кормовых аминокислот ЗАО «БНБК» (Адрес производства – Минская область, Пуховичский район, Дукорский с/с, 27).

4.2. физическая и биологическая близость к человеку и (или) какой-либо другой значительной биоте:

работа со штаммом будет осуществляться в замкнутой системе без контакта с другими биологическими объектами.

4.3. близость к заповедникам, заказникам и другим природоохраняемым объектам и территориям, расстояние участка от мест водозабора (питьевой воды):

Работа со штаммом в замкнутой системе будет осуществляться на участке, который частично расположен на территориях, подлежащих специальной охране: на расстоянии 1 км от водоохранной зоны канала Дричинский.

Источником водоснабжения предприятия являются подземные воды водозабора «Бор»; зона водозаборных сооружений водозабора «Бор» располагается в юго-западном направлении на расстоянии ~12,0 км от территории основной площадки ЗАО «БНБК».

4.4. численность населения в районе высвобождения и деятельность населения, экономически связанная с использованием природных ресурсов местности:

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено.

4.5. описание участка, включающее его размер и обработанность, климатическую, геологическую и агрохимическую характеристики:

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено.

4.6. флора и фауна, включая домашних животных, мигрирующие виды и возделываемые сельскохозяйственные культуры:

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено.

4.7. описание экосистем, организмов-мишеней и организмов, не являющихся продуктами трансгенов, которые могут быть затронуты в результате высвобождения генно-инженерных организмов:

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено.

4.8. сравнение мест естественного обитания реципиентных организмов с предполагаемым местом высвобождения генно-инженерных организмов;

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено.

4.9. методы вмешательства в природу участка (методы культивации, ирригации и другие):

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено.

5. Информация о взаимодействии генно-инженерных организмов с окружающей средой:

5.1. биологические особенности генно-инженерных организмов (по сравнению с интактными реципиентными организмами), которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение и распространение в потенциальной принимающей среде:

отсутствуют.

5.2. известные и прогнозируемые условия потенциальной принимающей среды, которые могут оказывать влияние на выживаемость, размножение, рассеивание генно-инженерных организмов:

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено. После культивирования микроорганизма в замкнутой системе вся биомасса и реактор будет подвергаться обеззараживанию.

5.3. чувствительность или устойчивость к специфическим агентам: устойчивости к антибиотикам не выявлено.

5.4. характеристика и поведение генно-инженерных организмов, и их экологические воздействия в условиях, симулирующих естественную среду (теплица, ростовая комната):

характеристики трансгенных и нетрансгенных штаммов не отличаются;

5.5. способность к переносу генетической информации: вероятность переноса трансгенов от генно-инженерных организмов к организмам, населяющим потенциальную принимающую среду обитания, либо от этих организмов к генно-инженерным организмам:

способность к переносу генетической информации отсутствует, т.к. культивирование трансгенных микроорганизмов будет осуществляться в замкнутой системе без контакта с другими биологическими объектами.

5.6. вероятность проявления у генно-инженерных организмов в потенциальной принимающей среде непредвиденных и (или) нежелательных свойств, признаков:

На уровне природных бактерий.

5.7. пути рассеивания генно-инженерных организмов в потенциальной принимающей среде, известные или потенциальные способы взаимодействия с рассеивающими агентами, включая вдыхание, заглатывание, поверхностный контакт, проникновение в поры и другое:

отсутствуют.

5.8. вероятность резкого увеличения численности популяции генно-инженерных организмов в потенциальной принимающей среде:

культивирование в замкнутой системе сопровождается прогнозируемым накоплением биомассы бактерий, которая затем подвергается обеззараживанию.

5.9. конкурентное преимущество генно-инженерных организмов по сравнению с интактными реципиентными организмами:
отсутствует.

5.10. идентификация и описание организмов – мишеней продуктов трансгенов:
организмы-мишени отсутствуют.

5.11. предполагаемые механизм и результат взаимодействия генно-инженерных организмов с организмами-мишенями:
организмы-мишени отсутствуют.

5.12. идентификация и описание организмов, не являющихся мишенями продуктов трансгенов, которые могут быть подвержены влиянию генно-инженерных организмов:
организмы отсутствуют.

5.13. вероятность сдвига в характере взаимоотношений генно-инженерных организмов с другими организмами, изменения круга хозяев:
отсутствует.

5.14. известное или предполагаемое вовлечение генно-инженерных организмов в биогеохимические процессы:
отсутствует.

5.15. другие потенциально возможные взаимодействия генно-инженерных организмов с окружающей средой:
отсутствуют.

6. Информация об осуществлении высвобождения, о мониторинге, контроле, очистке территории и действиях при непредвиденных обстоятельствах:

6.1. информация о высвобождении генно-инженерных организмов:
описание предполагаемого высвобождения генно-инженерных организмов, его цели:

высвобождение генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 в окружающую среду не предусмотрено. Культивирование трансгенных микроорганизмов будет осуществляться в замкнутой системе с целью производства кормовых добавок «L-лизин моногидрохлорид 98,5%», «L-лизин сульфат 70%». Работа с генно-инженерным организмом будет осуществляться в соответствии с Постановлениями Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь «О порядке работы с непатогенными генно-инженерными организмами» от 31.05.2019 №12 и «О требованиях безопасности к замкнутым системам при

осуществлении работ первого уровня риска генно-инженерной деятельности» от 17.08.2006 №50.

предполагаемые сроки начала и окончания высвобождения и календарный план экспериментов, связанных с высвобождением, включая количество и продолжительность экспериментов:

не предусмотрены.

предполагаемое количество высвобождаемых генно-инженерных организмов:

0.

метод высвобождения генно-инженерных организмов:

не предусмотрен.

подготовка участка к высвобождению:

не предусмотрена.

меры по защите сотрудников во время высвобождения:

не предусмотрены.

обработка участка после высвобождения:

не предусмотрена.

информация о наличии и результатах предыдущих высвобождений генно-инженерных организмов в окружающую среду:

отсутствует, поскольку генно-инженерный штамм *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 предназначен для использования в замкнутой системе и его высвобождение в окружающую среду не предусмотрено.

6.2. методы мониторинга:

методы наблюдения за генно-инженерными организмами, мониторинга их взаимодействий с окружающей средой:

на производстве ЗАО «БНБК» будет осуществляться полный контроль за состоянием, перемещением, утилизацией генно-инженерного штамма *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 с составлением отчетности по установленным формам и стандартам, принятым на предприятиях с соответствующим видом деятельности (приложение: Инструкция по осуществлению производственного контроля в области безопасности генно-инженерной деятельности ЗАО «БНБК», Инструкция о порядке обезвреживания непатогенных генно-инженерных штаммов микроорганизмов ЗАО «БНБК»).

специфичность (то есть возможность идентифицировать генно-инженерные организмы, отличить их от реципиентного и донорного организмов), чувствительность и надежность методов мониторинга генно-инженерных организмов:

отличить генно-инженерный штамм от реципиентного и донорных организмов можно с помощью молекулярно-генетических методов.

Предполагается использовать метод полимеразной цепной реакции со специфическими праймерами (LIS-ch-F: GCATCAAAGACGCGCTGAC и LIS-ch-R: TTGACATGAAGCGCCCTCG; температура отжига: 52°C, время элонгации: 40 с), которые способны парно отжечься только на цепи ДНК генно-инженерного микроорганизма и сформировать ампликон длиной в 676 п.н. Чувствительность такого метода по литературным данным составляет 1-10 молекул ДНК на анализируемый объём.

методы выявления переноса трансгенов другим организмам:

сравнение генома генно-инженерных бактерий с геномом организма, в который мог произойти перенос трансгенов.

продолжительность и частота мониторинга:

по мере необходимости.

6.3. контроль высвобождения генно-инженерных организмов:

методы и процедуры, позволяющие избежать или минимизировать рассеивание генно-инженерных организмов за пределы территории, определенной для проведения высвобождения генно-инженерных организмов:

работа с генно-инженерным штаммом *Corynebacterium glutamicum* JULY1801 будет осуществляться в полностью замкнутой системе, без его высвобождения в окружающую среду. После культивирования микроорганизма в замкнутой системе вся биомасса и реактор будет подвергаться обеззараживанию. Обеззараживание будет проводиться согласно Инструкции о порядке обеззараживания непатогенных генно-инженерных организмов, утвержденной Постановлениями Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь от 31.05.2019 №12.

методы и процедуры, направленные на охрану территории высвобождения от вторжения посторонних лиц:

На производстве ЗАО «БНБК» имеется система контроля доступа для защиты от вторжения посторонних лиц (КПП с постоянным присутствием охраны, система электронных пропусков).

методы и процедуры, предохраняющие территорию от нежелательного посещения другими организмами:

работа только со стерильными средами и ёмкостями.

6.4. очистка территории:

тип и предполагаемый объем загрязнения территории в результате высвобождения генно-инженерных организмов:

предполагается контаминация генно-инженерными микроорганизмами только замкнутой системы линии по производству кормовых добавок «L-лизин моногидрохлорид 98,5%», «L-лизин сульфат 70%», которая после

завершения каждого производственного цикла будет подвергаться обеззараживанию.

возможные риски, связанные с загрязнением территории:
отсутствуют.

описание предполагаемых действий по устранению загрязнения:
обработка поверхностей дезинфицирующими растворами;
автоклавирование отработанных материалов.

6.5. план действий в чрезвычайных ситуациях:

методы и процедуры контроля генно-инженерных организмов в случае непредвиденного распространения:

на поверхностях оборудования, мебели, стен и полов, одежды и кожных покровов людей используется метод смывов.

Отбор проб проводится следующим образом:

- маркируют пробирки (с вмонтированными в пробки аппликаторами с вискозными тампонами): указывают номер точки отбора проб, дату отбора;
- увлажняют аппликатор в 0,2 мл раствора натрия хлорида 0,9%;
- извлекают стерильный аппликатор из пробирки;
- делают смыв с участка общей площадью 100 см² (4 по 25 см²):
 - очерчивают смоченным тампоном квадрат размером приблизительно 5×5 см² (либо используют трафарет для взятия смыва);
 - тщательно заштриховывают очерченную поверхность в вертикальном направлении, проводя последовательные полосы и вращая аппликатор в соответствии со схемой, представленной на *Рис. 1*, под углом 5-10°;
 - переворачивают аппликатор на 90 °С и аналогично заштриховывают очерченную поверхность в горизонтальном направлении;
- при отборе проб с мелких предметов смыв делают со всей поверхности предмета;
- после отбора смыва аппликатор вставляют в пробирку, не касаясь края, наружной/ внутренней поверхности пробирки и остатков раствора натрия хлорида 0,9%;
- пробирки с отобранными пробами устанавливают в штатив.

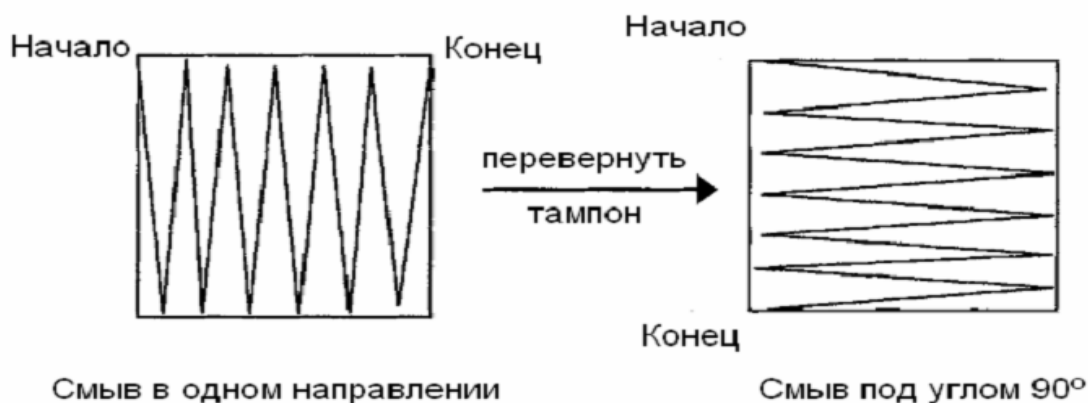


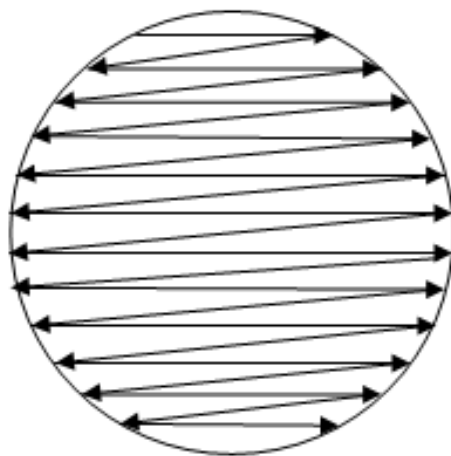
Рис.1.Схема отбора смыва

Пробы транспортируют в микробиологическую лабораторию и немедленно осуществляют посев на питательные среды.

Испытание проводит инженер-микробиолог/ лаборант-микробиолог в боксе в ламинарном шкафу (зона А класса чистоты).

Посев смыва на питательную среду осуществляют следующим образом:

- маркируют чашки Петри: указывают номер точки отбора проб, дату отбора;
- извлекают аппликатор, не касаясь поверхностей и края пробирки;
- слегка надавливая и вращая тампон частыми штрихами, переносят содержимое аппликатора на поверхность двух чашек с агаром LB, согласно схеме, представленной на *Рис.2*;



– *Рис.2 Схема пересева на чашку*

- Чашки Петри с посевами инкубируют при температуре $(30\pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 24-72 часов.

в воздухе производственных помещений - седиментационный метод:

Чашки Петри с агаром LB расставляют в контрольные точки производственных помещений и оставляют в открытом состоянии на 1 час.

Пробы транспортируют в микробиологическую лабораторию и инкубируют 24-72 часа при температуре $(30\pm 2)^\circ\text{C}$.

в образцах воды и почвы – высев на агаризованную среду.

10 мл образца или количество, соответствующее 1 г (мл) продукта, поместить в соответствующее количество среды LB-бульон, перемешать и инкубировать в течение 24-72 часов при температуре $(30\pm 2)^\circ\text{C}$.

Со среды LB-бульон сделать пересев на среду LB-агар и инкубировать 24-72 часа при температуре $(30\pm 2)^\circ\text{C}$.

Интерпретация результатов

морфология выросших колоний: округлые колонии диаметром 2–4 мм, слегка выпуклые, окрашенные в слабо–желтый цвет; поверхность гладкая, матовая, структура однородная тестообразная, края ровные

микроскопирование мазков: клетки неподвижные, овальные, размером 1,0–1,5 x 0,6–0,6–0,8 мкм, грамположительные;

для более полной диагностики – постановка биохимических тестов:

тест на каталазу: проводится путем нанесения капли перекиси водорода на предметное стекло микроскопа. К колонии прикасаются палочкой-аппликатором, а затем кончик мазка наносится на каплю перекиси водорода. Если смесь образует пузыри или пену, организм считается «каталазоположительным». В противном случае организм «каталаза-отрицательный». Бактерии рода *Corynebacterium* являются каталазоположительными.

тест на оксидазу: проводится путем нанесения 1 капли реагента (1% раствор тетраметил-*p*-фенилендиамин дигидрохлорида) непосредственно на изучаемую колонию; далее при положительной реакции наблюдают появление темно-фиолетового окрашивания. Бактерии рода *Corynebacterium* являются цитохромоксидазонегативными.

посев на среды для определения подвижности: в две пробирки со столбиком 0,3% полужидкого агара. Пробирки инкубируют при разных температурах: одну – 22±1°C, вторую – 37±1°C. Бактерии рода *Corynebacterium* неподвижные;

посев на ряд дифференциальнодиагностических сред для изучения биохимической активности (ферментация сахаров, наличие нитратредуктазы, тест с метиловым красным (MR), щелочной фосфатазы, цистеназы, пиразинамидазы, уреазы, тирозиназы). Среди тестов биохимической идентификации можно использовать пять наиболее информативных: определение уреазы, щелочной фосфатазы, пиразинамидазы, нитратредуктазы и оценку степени кислородообразования при ферментации глюкозы (MR-тест).

Видовая идентификация *C. glutamicum*: отсутствие ферментации лактозы, уреазоположительны, отсутствие щелочной фосфатазы, наличие нитрат-редуктазы, MR+, ферментация сахаров: глюкоза+, галактоза-, манит+, сахароза-.

методы обеззараживания пораженных территорий, например, уничтожения генно-инженерных организмов:

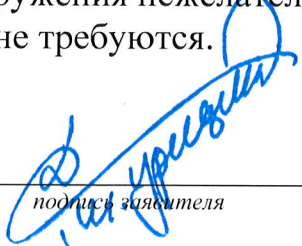
использование дезинфицирующих средств в соответствии с инструкцией по применению;

методы утилизации или оздоровления растений, животных и других организмов, которые оказались подвергнуты воздействию генно-инженерных организмов в ходе или после их непредвиденного распространения:

не требуются;

методы изоляции пораженных территорий:
не требуются;

планы защиты здоровья человека и охраны окружающей среды в случае
обнаружения нежелательных воздействий генно-инженерных организмов:
не требуются.



подпись заявителя

Д.Т.Урицкий